

Die Verseifung des Acetates (VII) geschah durch 1-stdg. Erhitzen von 72 mg in 13 ccm 10-proz. methylalkohol. Kalilauge. Das nach dem Ansäuern durch Wasser-Zusatz ausgefällte *allo*-Pregnanolon-(20) (VIII) wurde aus verd. Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 50 mg, Schmp. 194.5°. Die Mischprobe mit dem Oxy-keton  $C_{21}H_{34}O_2$  aus Corpora lutea ergab keine Depression.

4.490 mg Sbst.: 12.925 mg  $CO_2$ , 4.390 mg  $H_2O$ .

$C_{21}H_{34}O_2$ . Ber. C 79.18, H 10.77.

Gef. „, 78.50, „, 10.85.

Oxim: Aus 34 mg *allo*-Pregnanol-(3)-on-(20) wurden durch 3-stdg. Erwärmen mit überschüssigem Hydroxylamin-Acetat in alkohol. Lösung 28 mg eines Oxims bereitet, das nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 224—225° schmolz. Die Mischprobe mit dem Oxim aus dem Oxy-keton  $C_{21}H_{34}O_2$  aus Gelbkörpern ergab keine Depression.

2.935 mg Sbst.: 0.109 ccm N (24°, 760 mm).

$C_{21}H_{35}O_2N$ . Ber. N 4.20. Gef. N 4.26.

### 373. Adolf Butenandt und Josef Schmidt: Überführung des Pregnanidiols in Corpus-luteum-Hormon.

[Aus d. Institut für Organ. Chemie d. Techn. Hochschule Danzig-Langfuhr.]

(Eingegangen am 26. Oktober 1934.)

Wir haben eine einfache Methode gefunden, nach der man das Pregnan-diol<sup>1)</sup> (I) in Corpus-luteum-Hormon<sup>2)</sup> überführen kann, dessen Konstitution (II) durch die Untersuchungen von Butenandt, Westphal und Cobler<sup>3)</sup>, sowie Butenandt und Mamoli<sup>4)</sup> weitgehend gesichert wurde.

Im gleichen Heft dieser Zeitschrift<sup>5)</sup> haben wir über die Darstellung des Pregnanolons-(3) (III) aus Pregnan-diol berichtet. Behandelt man dieses Oxy-keton (III) mit 1 Mol Brom in Eisessig-Lösung, so tritt neben der Keto-gruppe ein Brom-Atom in das Molekül ein. Dem bei 185° unt. Zers. schmelzenden gebromten Keto-alkohol kommt mit größter Wahrscheinlichkeit die Formel (IV) zu; er geht durch Behandlung mit Chromsäure in der Kälte in das gebromte Diketon (V) über, das aus verd. Aceton in Nadeln vom Schmp. 186° krystallisiert. Dasselbe Produkt (V) wird bemerkenswerterweise auch erhalten, wenn man direkt vom leicht zugänglichen Pregnan-dion<sup>1)</sup> (VI) ausgeht und dieses vorsichtig bromiert. Durch diese Reaktionsfolge ist das gebromte Diketon (V) ein leicht zugänglicher Stoff geworden.

Erhitzt man das Diketon (V) mit wasser-freiem Pyridin zum Sieden, so tritt in glatter Reaktion die Abspaltung von Bromwasserstoff ein, und es entsteht das ungesättigte Diketon  $C_{21}H_{30}O_2$  der Formel (II).

<sup>1)</sup> B. **63**, 659 [1930], **64**, 2529 [1931].

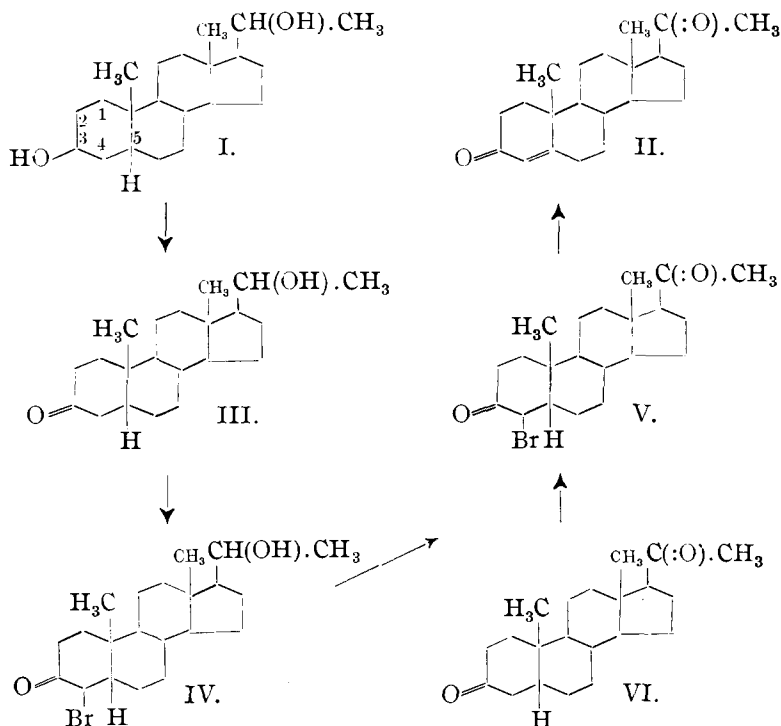
<sup>2)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **227**, 84 [1934].

<sup>3)</sup> B. **67**, 1611 [1934].

<sup>4)</sup> B. **67**, 1897 [1934].

<sup>5)</sup> B. **67**, 1893 [1934].

Wir haben das ungesättigte Diketon (II) zunächst mehrfach aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert und es in langen, charakteristischen Nadeln<sup>6)</sup>



erhalten, die bei  $121^{\circ}$  schmelzen. Durch Krystallisieren aus der Schmelze oder durch Animpfen ihrer alkohol. Lösung mit Corpus-luteum-Hormon vom Schmp.  $128.5^{\circ}$  ließen sie sich in gedrungene Prismen vom Schmp.  $128.5^{\circ}$  verwandeln. Für das aus Gelbkörpern isolierte<sup>7)</sup> Corpus-luteum-Hormon ist diese Eigenschaft besonders charakteristisch<sup>8)</sup>; es existiert ebenfalls in zwei Formen vom Schmp.  $128.5^{\circ}$  und  $121^{\circ}$ , die wir für polymorphe Krystall-Modifikationen halten; jedoch herrscht über ihre Beziehungen zueinander noch keine Sicherheit<sup>9)</sup>. Die natürlichen Corpus-luteum-Krystallisate geben bei der Mischprobe mit den aus Pregnanediol bereiteten keine Depression. Wir haben außerdem das Dioxim des künstlich bereiteten Diketons (II) dargestellt, sein Schmelz- und Misch-Schmelzpunkt ( $244^{\circ}$ ) liegt bei gleicher

<sup>6)</sup> Ihr Aussehen entspricht völlig dem Bild in Ztschr. physiol. Chem. **227**, Tafel II, Fig. 8 [1934].

<sup>7)</sup> Butenandt u. Westphal, B. **67**, 1440 [1934]; dies. u. Hohlweg, Ztschr. physiol. Chem. **227**, 84 [1934]; Slotta, Ruschig u. Fels, B. **67**, 1270, 1624 [1934]; Hartmann u. Wettstein, Helv. chim. Acta **17**, 878, 1365 [1934]; Allen u. Wintersteiner, Science **80**, 190 [1934].

<sup>8)</sup> Slotta, Ruschig u. Fels, B. **67**, 1625 [1934].

<sup>9)</sup> vergl. Literatur unter 7), sowie B. **67**, 1897 [1934], Anmerk. 8 u. A. Neuhaus, B. **67**, 1627 [1934].

Temperatur wie das früher aus natürlichem Hormon bereitete. An der Identität der Stoffe kann kein Zweifel sein<sup>9a)</sup>.

Nach dem vorstehend dargelegten Verfahren ist es möglich, das Corpus-luteum-Hormon leicht und in größerer Menge rein darzustellen. Das Pregnandiol wird sich durch *allo*-Pregnanolon-(20)<sup>4)</sup> (bzw. das ihm entsprechende Diketon) als Ausgangsmaterial ersetzen lassen; wie an anderer Stelle dieser Zeitschrift<sup>4)</sup> mitgeteilt wird, kann man diesen Begleitstoff des Corpus-luteum-Hormons auf einfache Weise aus Stigmasterin darstellen. Mit der Überführung des *allo*-Pregnanolons-(20) in Corpus-luteum-Hormon auf völlig analogem Wege sind wir beschäftigt.

In vorliegender Mitteilung ist somit ein zweiter Weg gewiesen worden, um Corpus-luteum-Hormon aus Sterinen oder ihren Abkömmlingen zu bereiten; der erste Weg<sup>3)</sup> beruht auf der gelinden Oxydation eines aus Stigmasterin bereiteten ungesättigten Oxy-ketons  $C_{21}H_{32}O_2$  und führt bei Verwendung von Chromsäure als Oxydationsmittel zu schwer trennbaren Stoffgemischen. Wie wir bereits mitteilten<sup>10)</sup>, gelingt die Überführung des Oxy-ketons in hochwirksame Stoffe leichter, wenn man CuO als Dehydrierungsmittel benutzt<sup>11)</sup>. Über die verschiedenen, bei dieser ersten Hormon-Synthese auftretenden Stoffe werden wir erst später berichten und in diesem Zusammenhang nur bekanntgeben, daß es U. Westphal inzwischen gelungen ist, das ungesättigte Oxy-keton durch Oxydation seines Brom-Additionsproduktes mit Chromsäure in natürliches Corpus-luteum-Hormon überzuführen.

Durch die künstliche Herstellung des reinen Corpus-luteum-Hormons sind wir in die Lage versetzt, alle noch unsicheren Fragen in der Biochemie dieses Wirkstoffes prüfen zu können. Wir wollen vor allem die Beziehung der beiden Hormon-Krystallisate zueinander näher untersuchen. Darüber soll zusammenfassend an anderer Stelle<sup>12)</sup> berichtet werden.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft und der Schering-Kahlbaum A.-G., insbesondere Hrn. Prof. W. Schoeller, danken wir für die Unterstützung und Förderung unserer Arbeiten.

### Beschreibung der Versuche.

#### Bromierung des Pregnanolons-(3).

710 mg Pregnanolon-(3) wurden in 10 ccm Eisessig gelöst und tropfenweise mit 1.02 Mol. Brom in 1.25 ccm Eisessig (4-*n*. Brom-Lösung) versetzt. Bei 15—20° war die Reaktionslösung nach etwa 5' entfärbt. Das Umsetzungsprodukt wurde mit Wasser gefällt, abfiltriert, aus Alkohol und aus verd. Aceton umkrystallisiert: Seidenglänzende, feine Nadeln vom Schmp. 185° (unt. Zers.). Ausbeute 550 mg.

4.401 mg Sbst.: 2.010 mg AgBr.

$C_{21}H_{33}O_2Br$ . Ber. Br 20.12. Gef. Br 19.43.

<sup>9a)</sup> Unabhängig von uns haben Dr. Serini und Dr. Strassberger im Hauptlaboratorium der Schering-Kahlbaum A.-G. die Gewinnung des Corpus-luteum-Hormons durch Bromierung des Pregnandions in Angriff genommen. Ein von ihnen dargestelltes, nicht-krystallisiertes Rohprodukt war im Clauberg-Test nach Auswertung von Dr. Hohlweg mit 4 mg wirksam.

<sup>10)</sup> U. Westphal, Vortrag Nordwestdtsh. Chemie-Dozenten, Haunover 22. Sept. 1934.

<sup>11)</sup> analog B. 37, 3099 [1904].

<sup>12)</sup> Ztschr. physiol. Chem.

## Oxydation des gebromten Pregnanolons-(3).

500 mg des gebromten Pregnanolons wurden in 20 ccm Eisessig gelöst und mit einer 1.05 Äquiv. Sauerstoff entsprechenden Menge Chromtrioxyd in Eisessig versetzt. Nach 12-stdg. Stehen bei 15–20° wurde das Reaktionsprodukt mit Wasser gefällt, aus Alkohol und verd. Aceton umkrystallisiert: Kleine Nadeln vom Schmp. 186°–187° (unt. Zers.). Ausbeute 350 mg.

5.700 mg Sbst.: 13.275 mg CO<sub>2</sub>, 4.05 mg H<sub>2</sub>O. — 7.015 mg Sbst.: 3.43 mg AgBr.

C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>Br. Ber. C 63.77, H 7.91, Br 20.22.

Gef. „ 63.52, „ 7.95, „ 20.81.

## Bromierung des Pregnandions.

2.05 g Pregnandion wurden in 30 ccm Eisessig gelöst, mit 10 Tropfen Eisessig/Bromwasserstoff und tropfenweise bei 15–20° mit 3.2 ccm Brom-Eisessig (1.05 Mol.) versetzt. Beim Eintropfen der Brom-Lösung trat sofort Entfärbung ein. Die Aufarbeitung der Reaktionslösung geschah wie beim gebromten Pregnanolon. Das Umsetzungsprodukt ist mit dem aus Pregnanolon erhaltenen gebromten Diketon identisch. Ausbeute 1.2 g.

## Überführung des gebromten Pregnandions in Corpus-luteum-Hormon.

500 mg des gebromten Diketons wurden in 15 ccm wasser-freiem Pyridin 12 Stdn. zum Sieden erhitzt; das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser gefällt, nach dem Neutralisieren des Pyridins mit verd. Schwefelsäure in Äther aufgenommen und aus alkohol. Lösung krystallisiert. Durch Umlösen aus verd. Alkohol wurden Nadeln vom Schmp. 121° (unkorr.) erhalten. Die Ausbeute betrug 125 mg, sie wird sich durch Änderung der Versuchs-Bedingungen erhöhen lassen. Mischprobe mit Hormon vom Schmp. 120° ergab keine Depression.

4.689 mg Sbst.: 13.640 mg CO<sub>2</sub>, 4.030 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 80.20, H 9.62.

Gef. „ 79.33, „ 9.62.

Die auf 121° erhitzten Nadeln lassen nach dem Erstarren im Schmelzpunkts-Röhrchen bei mikroskopischer Betrachtung die Umwandlung in gut ausgebildete Prismen deutlich erkennen; diese zeigen nunmehr einen Schmp. von 128°.

Etwa 50 mg der bei 121° schmelzenden Substanz wurden unter Animpfen mit Hormon vom Schmp. 128.5° aus reinem Alkohol umkrystallisiert; Schmp. 128.5°. Die Mischprobe mit Hormon vom Schmp. 128.5° ergab keine Depression.

4.567 mg Sbst.: 13.380 mg CO<sub>2</sub>, 3.960 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 80.20, H 9.62.

Gef. „ 79.95, „ 9.70.

Dioxim: Dargestellt aus den Stoffen vom Schmp. 121° und 128.5°; Schmp. beider Krystallisate 244° unt. Zers. Die Mischproben ergaben untereinander und mit dem Dioxim (Schmp. 243°) aus natürlichem Hormon keine Depression.

2.992 mg Sbst.: 0.212 ccm N (24°, 754 mm).

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>. Ber. N 8.13. Gef. N 8.08.