

Zusammenfassung.

Die Konstitution des früher erhaltenen 7-Keto-1,4-dimethoxy-13-methyl-5,6,7,9,10,13-hexahydro-phenanthrens (II) wurde durch Reduktion zum gesättigten Alkohol IV und anschliessende Selen-Dehydrierung zu 1,4-Dimethoxy-phenanthren bewiesen. Letztere Verbindung wurde zu Phenanthren abgebaut und ferner auf eindeutigen Wege synthetisiert. Im Zusammenhang mit dieser Synthese wurde ein neues 1,4-Dimethoxy-hexahydro-phenanthren (VIIb) und ein entsprechendes Octahydro-derivat VIII hergestellt.

Es wurde ferner die Herstellung der Äthylenketale des 4-Cholesten-3-ons, des 2-Keto- $\Delta^{1:9}$ -octalins und des Phenanthrenderivates II studiert. Die Hydrolysegeschwindigkeit letzterer Verbindung in verdünnter Salzsäure wurde gemessen und mit derjenigen des Enoläthers XII verglichen. Da letzterer um ein mehrfaches schneller gespalten wird, ergibt sich die Möglichkeit, entsprechend gebaute Enoläther in Gegenwart einer Äthylenketalgruppe partiell zu hydrolysieren.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

315. Untersuchungen über Organextrakte und Harn.

17. Mitteilung¹⁾.

Über die Isolierung von Progesteron aus dem Corpus luteum des Wales

von V. Prelog und P. Meister.

(20. X. 49.)

Seitdem das Progesteron fast gleichzeitig von mehreren Forschergruppen aus dem Corpus luteum des Schweines isoliert worden war²⁾ und durch die teilsynthetische Herstellung aus den Sterinen und gewissen Sapogeninen verhältnismässig leicht zugänglich geworden ist, hat man die Corpora lutea nicht mehr eingehender chemisch untersucht³⁾.

¹⁾ 16. Mitt. Helv. **32**, 2082 (1949).

²⁾ K. H. Slotta, H. Ruschig und E. Fels, B. **67**, 1270 (1934); M. Hartmann und A. Wettstein, Helv. **17**, 878, 1365 (1934); A. Butenandt und U. Westphal, B. **67**, 1440 (1934); W. M. Allen und O. Wintersteiner, Science **80**, 190 (1934); J. biol. Chem. **107**, 321 (1934).

³⁾ Vgl. L. Fieser und M. Fieser, Natural Products Related to Phenanthrene, 3rd Ed., New York 1949, S. 382ff.

Die Isolierung des Progesterons aus dem Corpus luteum wurde von den früheren Bearbeitern dieses Gebietes meistens nicht genau beschrieben, und die isolierten Mengen des Hormons, insofern sie überhaupt angegeben sind, waren im Verhältnis zu der Menge, welche man nach der biologischen Wirksamkeit erwarten würde, entsprechend dem damaligen Stand der Isolierungstechnik gering. Nach der biologischen Auswertung sollte z. B. 1 kg der Schweine-Corpora lutea ungefähr 40 mg Progesteron enthalten¹⁾. A. *Butenandt* und U. *Westphal*²⁾ erhielten dagegen aus 240 kg Drüsenmaterial zuerst 23 mg und später nach einem verbesserten Verfahren insgesamt 135 mg Progesteron, also 0,56 mg pro kg Drüse. Bessere, aber immer noch unbefriedigende Ausbeuten geben O. *Wintersteiner* und W. M. *Allen*³⁾ an, welche aus 19,7 kg Schweine-Corpora lutea etwa 50 mg, d. i. 2,5 mg pro kg Drüse, Progesteron isolierten.

Wir haben in letzter Zeit die Lipide aus den Gonaden des Wales und insbesondere auch aus dem Corpus luteum des Wales untersucht. Es gelang uns dabei, nach einem in unserem Laboratorium zur Isolierung der Steroide aus Organextrakten angewandten Verfahren, mühelos etwa 33 mg krystallines Progesteron pro kg Drüse zu erfassen. Da nach den Untersuchungen von *Bomskow* und Mitarbeitern⁴⁾ die Corpora lutea des Wales ungefähr die gleiche Menge des gestagenen⁵⁾ Hormons (entsprechend etwa 40 mg Progesteron pro kg Drüse) enthalten, wie diejenige des Schweines, so kommt die isolierte Menge sehr nahe an die nach der biologischen Auswertung zu erwartende heran. Dadurch konnte gezeigt werden, dass im Corpus luteum des Wales neben Progesteron keine anderen gestagenen Hormone in grösserer Menge anwesend sind.

Im Zusammenhang damit sei nochmals darauf hingewiesen, wie schmal die experimentelle Basis für die allgemein verbreitete Annahme ist, dass die Gonaden aller Tiere und insbesondere verschiedener Säugetiere die gleichen Sexualhormone erzeugen⁶⁾. Ebenso wenig wurde auf chemischem Wege bewiesen, dass jeder hormonalen Gonadenwirkung nur ein typisches Sexualhormon entspricht, also der gestagenen Wirkung des Corpus luteum das Progesteron. Es wäre z. B. nach den bisherigen Untersuchungsergebnissen durchaus möglich gewesen, dass die gestagene Wirkung des Corpus luteum von einer Plejade verwandter Hormone erzeugt wird, wie es bei der Cortin-

¹⁾ Ch. *Bomskow*, B. *Wiesiollek* und W. *Doht*, Klin. Wochenschrift **19**, 392 (1940).

²⁾ B. **69**, 443 (1936).

³⁾ J. biol. Chem. **107**, 332 (1934).

⁴⁾ Klin. Wochenschrift **19**, 395 (1940).

⁵⁾ Nomenklatur nach K. *Miescher*, Recent Progress in Hormone Research, Vol. 3, New York 1948.

⁶⁾ Vgl. E. *Tagmann*, V. *Prelog* und L. *Ruzicka*, Helv. **29**, 440 (1946).

wirkung der Nebennierenrinde der Fall ist¹⁾. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen jedoch wenigstens für das Corpus luteum des Wales gegen die letztere Möglichkeit.

Es sei noch erwähnt, dass wir zur Herstellung der hormonthaltigen Konzentrate aus dem Corpus luteum des Wales nicht die von anderen Bearbeitern dieses Gebietes bevorzugte Methode von *W. M. Allen* verwendeten, sondern ein zuerst von *A. Ogata* und *S. Hirano*²⁾ für die Herstellung der aktiven Testesextrakte vorgeschlagenes Verfahren. Nach diesem letzteren wird der Organbrei mit Äther und 5-proz. Natronlauge in der Kälte behandelt, wodurch sofort säurefreie, hochaktive Extrakte erhalten werden. Das Verfahren ist deshalb bemerkenswert, weil allgemein hervorgehoben wird, dass sowohl das Testosteron als auch das Progesteron, besonders in Organextrakten, gegenüber Alkalien ausserordentlich empfindlich sind.

Neben dem Progesteron wurden aus dem Corpus luteum des Wales das Allo-pregnan-ol-(3 β)-on-(20) isoliert, welches ein ständiger Begleitstoff des Hormons zu sein scheint. Die Trennung der beiden Verbindungen, welche den früheren Bearbeitern des Gebietes einige Sorgen bereitete, lässt sich heute mühelos durch Chromatographieren an Aluminiumoxyd erreichen. Weitere Kristallisate, die wir im Laufe der Arbeit erhielten, kamen in so kleinen Mengen vor, dass ihre exakte Reinigung und nähere Untersuchung nicht möglich war. Wir erwähnen deshalb im experimentellen Teil nur ein in etwas grösseren Mengen vorkommendes α , β -ungesättigtes Keton (C₁₉H₃₀O₂?) vom Smp. 149—152°, [α]_D = +107°.

Wir danken bestens Herrn Ing. *O. Aanderud Larsen jr.*, Sandefjord, Norwegen, der die Mühe des Sammelns der Drüsen auf sich nahm und für ihren sachgemässen Transport Sorge trug, und ebenso der Firma *A. S. Thor Dahl*, Sandefjord, welche ihre technischen Hilfsmittel dazu kostenlos zur Verfügung stellte.

Für die Durchführung der Arbeit konnten Mittel aus den *Eidg. Arbeitsbeschaffungskrediten* verwendet werden.

Experimenteller Teil.

Die Corpora lutea wurden in der Antarktis während des Winters 1947—1948 an Bord des Walfang-Mutterschiffes *Thorshavet* gesammelt, sofort bei –20 bis –25° eingefroren und nachher bis zu der Verarbeitung, welche im Mai 1948 erfolgte, bei –10 bis –20° gelagert und transportiert. Zur Verarbeitung gelangten 25 Corpora lutea des Finnwales (Einzelgewicht 500—1575 g; Gesamtgewicht 22,5 kg) und 1 Corpus luteum des Blauwales (Gewicht 2,15 kg).

¹⁾ Es ist in dieser Hinsicht interessant, dass das wirksamste Gestagen nicht das natürliche Hormon Progesteron, sondern eine teilsynthetisch hergestellte, nahe verwandte Verbindung, das 11-Dehydro-progesteron, ist: *Ch. Meystre* und *A. Wettstein*, *Helv.* **31**, 1463 (1948).

²⁾ *Proc. Imp. Academy Tokyo* **9**, 345 (1933); *J. Pharm. Soc. Japan* **52**, 187 (1933); **53**, 153 (1933); **54**, 199 (1934).

Die gefrorenen Drüsen wurden rasch gehackt und in Portionen von je 5 kg mit der gleichen Menge kalter 5-proz. Natronlauge versetzt. Der Brei wurde vorsichtig mit dem gleichen Volumen peroxydfreien Äthers umgeschwenkt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 1 bis 2 Tagen dekantierte man die Ätherschicht ab und wiederholte die Extraktion noch viermal. Die vereinigten Ätherauszüge wurden sorgfältig bis zur neutralen Reaktion gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, der eine gelbe Masse von fettähnlicher Konsistenz bildete, wog 119 g.

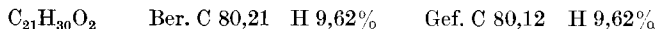
Zur Abtrennung der Ketone wurde der Extrakt nach früher angegebener allgemeiner Vorschrift¹⁾ zweimal hintereinander mit *Girard* Reagens T umgesetzt, wobei sich 9,16 g und 1,54 g „ketonische“ Anteile abtrennen liessen. Um die mitgerissenen, „nichtketonischen“ Anteile zu entfernen, wurden diese „Ketone“ nochmals mit *Girard* Reagens T behandelt, wobei schliesslich 8,53 g „ketonische“ Anteile gewonnen wurden. Diese gaben bei der Molekulardestillation bei 10^{-3} mm Druck 3,09 g eines zwischen 70° und 150° übergehenden Destillates. Das Destillat chromatographierte man an 90 g Aluminiumoxyd (Akt. III), wobei Fraktionen von je 100 cm³ Eluat aufgefangen wurden (Chromatogramm A).

Chromatogramm A.

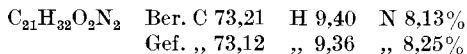
Fraktion	Eluierungsmittel	Eluat mg
1—5	Petroläther	81
6—33	Petroläther-Benzol . .10:1	1127
34—37	Petroläther-Benzol . . 5:1	126
38—41	Petroläther-Benzol . . 3:1	123
42—55	Petroläther-Benzol . . 1:1	504
56—65	Benzol	203
66—77	Benzol-Äther19:1	256
78—81	Benzol-Äther 4:1	111
82—89	Benzol-Äther 1:1	160
90—93	Äther.	10
94—101	Äther-Methanol . . .19:1	131
102—103	Methanol	41

Die Fraktionen 12—17 krystallisierten auf Zusatz von einigen Tropfen Benzin nach einigem Stehen. Sie wurden aus Aceton bei -10° umgelöst, wodurch 40 mg Progesteron vom Smp. 123—125°, $[\alpha]_{D}^{20} = +199^{\circ} (\pm 3^{\circ})$ ($c = 1,15$ in Chloroform) abgetrennt werden konnten. Durch chromatographische Reinigung und Umkrystallisieren erhielt man aus den Mutterlauge noch 66 mg derselben Verbindung.

Aus den grösstenteils krystallinen Fraktionen A 28—55 liessen sich durch Umlösen aus Äther-Petroläther und nachfolgender Sublimation im Hochvakuum insgesamt 710 mg reines Progesteron gewinnen. Die Fraktionen 28—33 gaben ein Produkt, welches folgende Eigenschaften hatte: Smp. 127°; $[\alpha]_{D}^{20} = +212^{\circ} (\pm 4^{\circ})$ ($c = 1,21$ in Chloroform); Absorptionsmaximum im UV. in alkoholischer Lösung bei 242 m μ , $\log \epsilon = 4,14$.

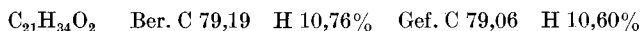


Das auf übliche Weise hergestellte Dioxim schmolz nach Umlösen aus Methanol bei 247°.

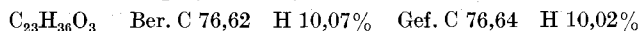


¹⁾ Helv. **26**, 986 (1943).

Die teilweise krystallinen Fraktionen A 56—81 lieferten nach Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther das bei 193—195° schmelzende Allo-pregnan-ol-(3 β)-on-(20)



Das Acetat des Allo-pregnan-ol-(3 β)-ons-(20) schmolz bei 136°.



Die Mutterlaugen von Allo-pregnanol-(3 β)-on-(20) fällte man auf übliche Weise mit Digitonin, wobei 158 mg fällbare und 244 mg nicht-fällbare Anteile erhalten wurden. Die nicht-fällbaren Anteile chromatographierte man an 8 g Aluminiumoxyd (Akt. III—IV), wobei Fraktionen von je 75 cm³ aufgefangen wurden (Chromatogramm B).

Chromatogramm B.

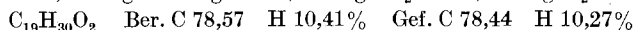
Fraktion	Eluierungsmittel	Eluat mg
1—9	Petroläther	95
10—24	Benzol	140
25—26	Äther	10

Die krystallinen Fraktionen B 1—6 gaben noch einige mg Progesteron, welches durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Drehung identifiziert wurde.

Die krystallinen Fraktionen B 25—26 zeigten ein $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +105^{\circ} (\pm 5^{\circ})$. Durch Umlösen aus Methanol und Sublimation im Hochvakuum liessen sich daraus 4,5 mg einer Verbindung vom Smp. 149—152° isolieren.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +107^{\circ} (\pm 3^{\circ}) \quad (c = 1,167 \text{ in Chloroform})$$

2,364 mg Subst. gaben 6,795 mg CO₂ und 2,170 mg H₂O



Die Verbindung zeigte ein Absorptionsmaximum bei 241 m μ , log $\epsilon = 4,14$. Sie war im Hahnenkamm-Test nach *Fussgänger* unwirksam.

Die Analysen wurden in unserer mikro-analytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Zusammenfassung.

Nach einem Verfahren, welches erlaubt, das Progesteron aus dem Corpus luteum auf einfache Weise in guter Ausbeute zu gewinnen, wurde aus dem Corpus luteum des Wales 33 mg Progesteron pro kg Drüse isoliert, eine Menge, welche der nach der biologischen Wirksamkeit zu erwartenden nahekommt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.