

### 36. Die biologische Oxydation von Fettsäuren mit Dreifachbindung

von Karl Bernhard und Urs Gloor.

(17. XII. 52.)

Fettsäuren mit Dreifachbindungen, wie z. B. die Taririn- oder die Isamsäure, können sich am Aufbau natürlicher Lipide beteiligen. Nach *Celmer & Solomons*<sup>1)</sup> soll 3,5,7,8-Tridecatetraen-10,12-diinsäure die aktive Komponente des Antibiotikums Mycomycin darstellen.

Nachdem über das Schicksal von Acetylenfettsäuren im Stoffwechsel bis anhin nichts bekannt war, verfütterten wir zum Studium des Verhaltens der Dreifachbindungen in Anlehnung an unsere kürzlichen Untersuchungen über den Abbau der Ölsäure<sup>2)</sup> an Hunde Stearolsäure, Stearolalkohol, Behenolsäure und Undecinsäure. Es kam dabei wiederum die Isotopenverdünnungstechnik zur Anwendung, d. h. wir verabreichten mit der zu prüfenden Verbindung ein aus ihr zu erwartendes Stoffwechselprodukt, welches signiert wurde und partiell wieder zur Ausscheidung gelangte, oder setzten ein solches den ätherischen Extrakten aus dem Harn zu. In beiden Fällen ist eine Verminderung des Isotopengehaltes für die intermediäre Entstehung einer derartigen Verbindung beweisend.

Stearolsäure könnte zu Öl- bzw. Stearinsäure hydriert werden, oxydative Spaltung der Dreifachbindung und Entstehung von Azelainsäure schienen in Analogie zum Verhalten der Ölsäure wenig wahrscheinlich. Dennoch enthielt bei gleichzeitigen Gaben von Stearol- und signierter Azelainsäure die im Harn wieder aufgefundene Nonandisäure weniger schweren Wasserstoff. Auch Stearolalkohol wurde in dieser Weise oxydiert, wobei indessen die Isotopenverdünnung der Azelainsäure weniger betont in Erscheinung trat.

Bei der Behenolsäure, deren Dreifachbindung sich in Stellung 13,14 befindet, war die Entstehung von Brassylsäure zu erwarten, welche wie *Verkade*<sup>3)</sup> zeigte, durch  $\beta$ -Oxydation abgebaut wird. Azelainsäure konnte dabei wieder als ein Intermediärprodukt in Erscheinung treten, womit sich die erwähnte Versuchsanordnung erneut verwenden liess, um eine mögliche Aufspaltung der Dreifachbindung zu beweisen. Die Isotopenverdünnung trat sehr merklich in Erscheinung; sie war indessen vor allem stark ausgeprägt, als wir Undecinsäure gemeinsam mit signierter Azelainsäure verabreichten.

<sup>1)</sup> *W. D. Celmer & J. A. Solomons*, Am. Soc. **74**, 1870 (1952).

<sup>2)</sup> *K. Bernhard & U. Gloor*, Helv. **35**, 608 (1952).

<sup>3)</sup> *P. E. Verkade, J. van der Lee & A. J. S. van Alphen*, Z. physiol. Ch. **250**, 47 (1937).

Hier ist zu bedenken, dass sich aus Undecylsäure durch  $\omega$ -Oxydation Undecandisäure bildet und daraus kleine Mengen Azelain- und Pimelinsäure entstehen<sup>1</sup>). Es bleibt somit, durch vergleichende Versuche mit Undecylsäure einerseits und Undecinsäure andererseits zu prüfen, inwieweit die auf Grund der Isotopenverdünnung festgestellte Azelainsäure-Bildung durch Spaltung der Dreifachbindung ermöglicht oder durch  $\omega$ -Oxydation bedingt wird. Indessen wäre auch eine Hemmung der letzteren als Folge der Dreifachbindung in Stellung 9,10 denkbar.

Die Ergebnisse unserer Stoffwechselversuche (s. Tab. 1) beweisen eindeutig die stattfindende oxydative Spaltung der Dreifachbindung zu Dicarbonsäuren.

**Tabelle 1.**  
Azelainsäure-Bildung nach Gaben von Fettsäuren usw.  
mit Dreifachbindung an Hunde.

	Hund	Atom-% D der Azelainsäure		Isotopen- verdünnung in %
		aufgenommen	ausgeschieden	
Stearolsäure . . . .	B	5,31	4,45	16
Stearolsäure . . . .	B	5,31	4,35	18
Stearolalkohol . . .	B	10,0	9,01	10
Stearolalkohol . . .	C	10,0	9,09	9
Behenolsäure . . . .	B	10,0	8,51	14
Behenolsäure . . . .	C	10,0	8,45	16
Undecinsäure . . . .	B	10,0	7,02	30
Undecinsäure . . . .	C	10,0	6,72	33

Dass es sich dabei nicht um durch chemische Einflüsse *in vitro* zustande kommende Reaktionen handelt, zeigte das Verhalten der Stearolsäure bei ihrem längeren Erhitzen in Natronlauge zusammen mit signierter Azelainsäure. Deren D-Gehalt veränderte sich dabei nicht wesentlich.

Diese von uns festgestellte Oxydation von Fettsäuren mit Dreifachbindungen entspricht bestimmt nicht dem in quantitativer Hinsicht vorherrschenden Abbau solcher Substanzen im Tierkörper. Andere Möglichkeiten gehen aus Stoffwechselversuchen hervor, über die wir später zu berichten gedenken.

### Experimentelles.

Herstellung der untersuchten Verbindungen. *Stearolsäure* (9,10-Octadecinsäure) erhielten wir durch Behandlung der Dibromstearinsäure mit Iso-Amylalkohol und KOH<sup>2</sup>). Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Alkohol-Wasser Smp. 45–46°; Ausbeute 63%.

$C_{18}H_{32}O_2$  Ber. C 77,09 H 11,50% Gef. C 76,98 H 11,48%

<sup>1</sup>) P. E. Verkade & J. van der Lee, *Biochem. J.* **28**, 31 (1934).

<sup>2</sup>) H. Adkins & R. E. Burks jr., *Organic Synthesis* **27**, 76 (1947).

*Stearolalkohol* gewannen wir in analoger Weise aus Oleylalkohol. Ausbeute 45%. Smp. 28°.

$C_{18}H_{34}O$  Ber. C 81,13 H 12,86% Gef. C 81,09 H 12,92%

Bei der Hydrierung in Eisessig mit Pt-Oxyd als Katalysator wurden 95% der berechneten Wasserstoffmenge aufgenommen unter Bildung von Octadecanol, das ohne Reinigung durch Umkristallisieren bei 57–58° schmolz.

*Behenolsäure* stellten wir über das Bromadditionsprodukt aus Erucasäure her, die wir aus Rapsöl isoliert hatten. Ausbeute 63%. Smp. 57–58°.

$C_{22}H_{40}O_2$  Ber. C 78,51 H 11,98% Gef. C 78,61 H 12,08%

*Undecinsäure*. Das Herstellungsverfahren war ausgehend von der Undecensäure mit demjenigen der Stearolsäure identisch. Ausbeute 53%. Nach Umkristallisieren aus Alkohol-Wasser Smp. 51°.

$C_{11}H_{18}O_2$  Ber. C 72,49 H 9,96% Gef. C 72,41 H 10,03%

Prüfung der Stabilität der Dreifachbindung beim Erwärmen mit Alkali. 2 g signierte Azelainsäure (10,0 Atom-% D) wurden mit Natronlauge neutralisiert, in 100 ml Wasser gelöst, mit 10 g Stearolsäure in 50 ml Alkohol versetzt und 6 Std. unter Rückfluss erwärmt. Die nach Ansäuern zurückgewonnene und wiederholt umkristallisierte Azelainsäure enthielt 9,70 Atom-% D.

Fütterungsversuche. Die beschriebenen Verbindungen, die mit Ausnahme des Stearolalkohols über der Körpertemperatur liegende Smp. aufweisen, wurden, in Olivenöl gelöst und in täglichen Dosen von 5 g einem normalen Futter beigemischt, an gesunde Hunde verabreicht. Wir haben die Resorption nicht kontrolliert, sie dürfte indessen in allen Fällen bei der gewählten Verabreichungsform in einem ausreichenden Ausmasse gewährleistet sein. Während der Fütterungs- und einer anschließenden Nachperiode von 3 Tagen sammelten wir den Harn quantitativ, der wie früher aufgearbeitet wurde.

*Stearolsäure*. Hund B (Gewicht 12 kg) erhielt davon insgesamt 25 g (415 mg/kg/die) und täglich 420 mg (35 mg/kg/die) D-Azelainsäure. Aus einer Harnmenge von 6,61 l ergaben sich 740 mg bzw. 35% und nach wiederholter Reinigung durch Umkristallisieren noch 224 mg Dicarbonsäure.

Von einem zweiten Hunde S (Gewicht 17 kg) sammelten wir nach Gaben von total 50 g Stearolsäure (585 mg/kg/die) 8,4 l Harn und bekamen durch Extraktion desselben mit Äther 7,19 g braunes Öl. Wir fügten dazu 500 mg D-Azelainsäure und gewannen die Dicarbonsäure nach Aufkochen mit Kohle in einem Ausmasse von 66% zurück.

*Stearolalkohol*. Hund B (Gewicht 16 kg) bekam total 20 g (250 mg/kg/die) Stearolalkohol und täglich 500 mg (31 mg/kg/die) D-Azelainsäure. Die Harnaufarbeitung (9,5 l) führte zu 8,2 g braunem Öl, aus dem 840 mg bzw. 34% der verfütterten Azelainsäure isoliert wurden. Bei einem weiteren Versuch fütterten wir den Hund C (Gewicht 18 kg) an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit je 4 g (220 mg/kg/die) Stearolalkohol und 0,5 g (28 mg/kg/die) Azelainsäure und erhielten aus 3,2 l Harn 41% der Dicarbonsäure zurück.

*Behenolsäure*. Dem Hunde B (Gewicht 15,5 kg) gaben wir dann total 20 g (260 mg/kg/die) und 33 mg/kg/die D-Azelainsäure, welche aus 6,7 l Harn zu 41 bzw. 29% (analysenrein) zurückgewonnen wurde. Hund C nahm 4 g Behenolsäure (200 mg/kg/die) und 500 mg D-Azelainsäure (25 mg/kg/die) auf. Aus dem Harne (8,4 l) erhielten wir 825 mg rohe bzw. 665 mg reine Dicarbonsäure oder 35 bzw. 27%.

*Undecinsäure*. Hund C erhielt in einer Emulsion von 200 cm<sup>3</sup> Olivenöl-Wasser 1:1 20 g Undecinsäure (200 mg/kg/die) und 2,5 g D-Azelainsäure als Na-Salz (25 mg/kg/die). Das Futter wurde nicht völlig gefressen, auch konnte der Harn nicht quantitativ gesammelt werden. Aus 5,8 l isolierten wir 25 bzw. 18% der Dicarbonsäure. Bei einem zweiten Versuch mischten wir Undecinsäure und D-Azelainsäure (310 bzw. 31 mg/kg/die) einer täglichen Milchrätion bei, womit die Aufnahme beider Verbindungen erleichtert wurde und wobei keinerlei Störungen eintraten. Aus 7 l Harn gelang die Rückgewinnung der Dicarbonsäure zu 40 bzw. 32%.

Wir danken Fräulein Y. *Petignat* für ihre Mithilfe bei den Deuterium-Bestimmungen.

## SUMMARY.

By feeding of stearolic acid, stearyl-alcohol, behenic acid and hendecynoic acid to dogs we were able to prove the formation of azelaic acid and, therefore, the splitting of the triple bond.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

### 37. Über Steroide und Sexualhormone.

189. Mitteilung<sup>1</sup>).

#### 14-Methyl-11-keto-progesteron aus Lanosterin

(vorläufige Mitteilung)

von **W. Voser, H. Heusser, O. Jeger** und **L. Ruzicka**.

(22. XII. 52.)

In einer früheren Mitteilung haben wir über die Entfernung der geminalen Methylgruppen im Ring A des Lanosterins (I) berichtet<sup>2</sup>). Dabei wurde über mehrere Zwischenstufen das 1<sup>4,5</sup>-14-Methyl-3,11-diketo-cholesten (II) erhalten, welches in bezug auf die Ringe A, B und C, die Sauerstofffunktionen an den Kohlenstoffatomen 3 und 11 sowie die Doppelbindung im Ring A konstitutionell den biologisch wichtigen 11-Keto-corticosteroiden entspricht. Nachdem nun in der Zwischenzeit auch der endgültige Beweis über die Zugehörigkeit des Lanosterins zu den Steroiden geliefert werden konnte<sup>3</sup>), haben wir uns, in Fortführung unseres Arbeitsprogrammes, mit der Herstellung von Steroidhormon-Homologen aus Lanosterin beschäftigt. Auf Grund der bis heute vorliegenden Kenntnisse über den sterischen Bau des Lanosterins unterscheiden sich diese Verbindungen von den entsprechenden natürlichen Vertretern nur durch eine zusätzliche Methyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 14 des Gerüsts. Diese neuen Homologen besitzen namentlich im Hinblick auf unsere ausgedehnten Untersuchungen über die Zusammenhänge zwischen Konstitution und biologischer Wirksamkeit von Steroidhormonen ein erhebliches Interesse.

Im Folgenden berichten wir über die Herstellung des ersten Vertreters dieser Körperklasse, des 14-Methyl-11-keto-progesterons (VII).

<sup>1</sup>) 188. Mitt. Helv. **35**, 2437 (1952).

<sup>2</sup>) *W. Voser, D. E. White, H. Heusser, O. Jeger & L. Ruzicka*, Helv. **35**, 830 (1952).

<sup>3</sup>) *W. Voser, M. V. Mijović, H. Heusser, O. Jeger & L. Ruzicka*, Helv. **35**, 2414 (1952).