

## Die Chemie der Nebennierenrindenhormone. Ihre Entwicklung in den letzten vier Jahren\*)

Von Dr. K. MIESCHER, Ciba, Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel

Eingeg. 30. Juni 1938

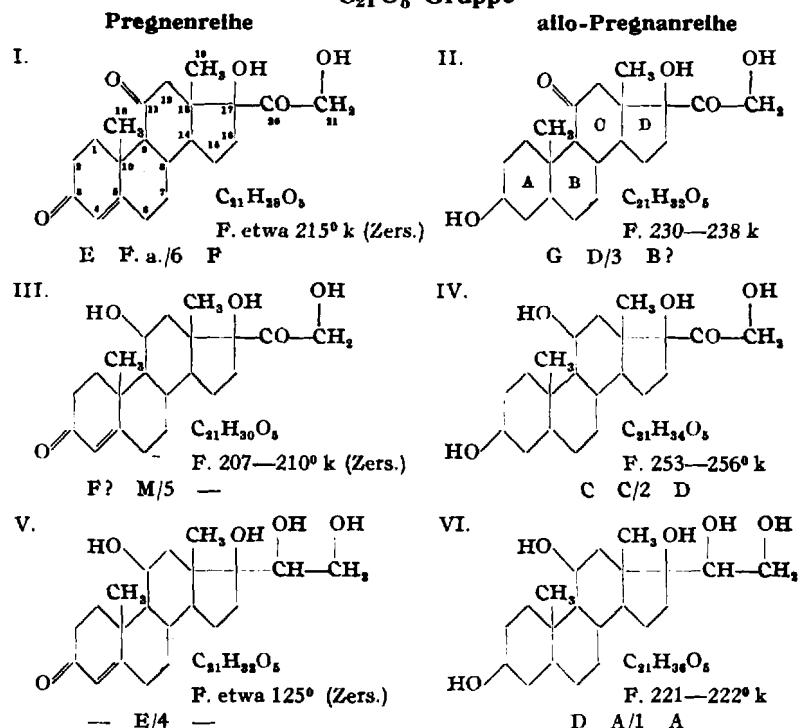
Über 80 Jahre sind verflossen, seit 1855 der Engländer Addison das in der Folgezeit nach ihm benannte Krankheitsbild mit einer tuberkulösen Zerstörung der Nebenniere in Verbindung brachte. Ein Jahr nach Addison bewies der Franzose Brown-Séquard durch Exstirpationsversuche die Lebensnotwendigkeit dieses Organs. Aber erst vor 10 Jahren gelang es erstmalig amerikanischen Forschern, wie Hartman und Mitarbeitern, Swingle u. Pfiffner, sowie Rogoff u. Stewart, adrenalinfreie wirksame Extrakte aus der Nebennierenrinde zu bereiten und damit die nach Exstirpation der Nebennieren entstandenen Ausfallserscheinungen zu beheben. Verschiedene Testmethoden, die sich nebennierenloser Tiere, insbesondere Hunde und Ratten, bedienten, erlaubten es schließlich dem Chemiker, die aus der Nebenniere gewonnenen Extrakte mit Erfolg nach einheitlichen Wirkstoffen, den Nebennierenrindenhormonen (auch Cortin genannt), zu durchsuchen.

Es würde zu weit führen, hier die Chemie dieses Gebietes in ihrer Vollständigkeit darzustellen. Eine vorzügliche systematische Übersicht ist erst kürzlich von Reichstein<sup>1)</sup> gegeben worden; auf sie sei daher angelegentlich hingewiesen. An der Suche nach neuen Verbindungen in der Nebennierenrinde und an der Ermittlung ihrer Konstitution beteiligten sich im wesentlichen drei Laboratorien, nämlich diejenigen von Kendall, Reichstein u. Wintersteiner. In der Tat überstürzten sich die Entdeckungen im Laufe der letzten vier Jahre. So erscheint es reizvoll, einmal mit den beteiligten Forschern die schrittweise Eroberung der wesentlichsten Tatsachen zeitlich zu verfolgen.

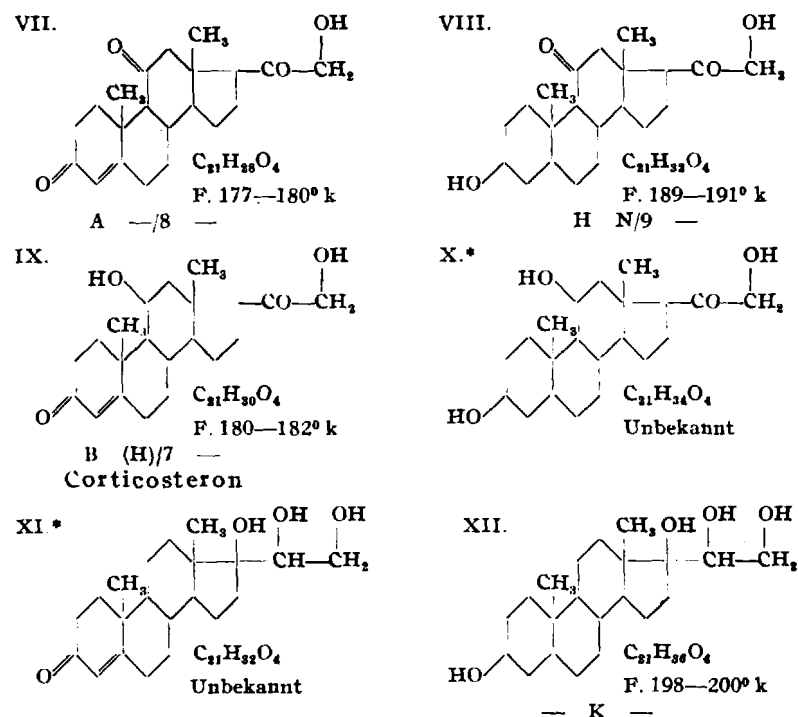
Die einzelnen Forschergruppen kennzeichnen die von ihnen gewonnenen Kristallite fortlaufend durch Buchstaben. Die gegenseitigen Bezeichnungen decken sich aber nicht<sup>2)</sup>. Um den Zusammenhang mit der heutigen Kenntnis des Gebietes zu erleichtern, sind die wichtigsten aus der Nebennierenrinde bisher isolierten Verbindungen sowie einige daraus sich ableitende Substanzen von Ketoncharakter in den Tabellen 1 und 2 nach abnehmendem Sauerstoffgehalt und zunehmendem Hydrierungsgrad zusammengestellt. Dabei sind die bisher nicht oder noch nicht in der Nebenniere aufgefundenen Verbindungen durch ein Sternchen gekennzeichnet. Links in den Tabellen befinden sich  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Ketone, rechts die durch Addition von 4 H daraus erhältlichen gesättigten Alkohole (mit Ausnahme von XIV; XIV steht lediglich aus Raumersparnis neben XIII). Außer der Struktur sind jeweils auch die Summenformel, der Schmelzpunkt (nach Reichstein), sowie die Buchstabenbezeichnungen von Kendall, Reichstein und Wintersteiner, soweit sie vorliegen, und zwar in der alphabetischen Reihenfolge der Autoren, verzeichnet. Neben dem Reichsteinschen Buchstaben ist auch die Nummer angegeben, unter der die Substanz in seiner bereits er-

Tabelle 1.

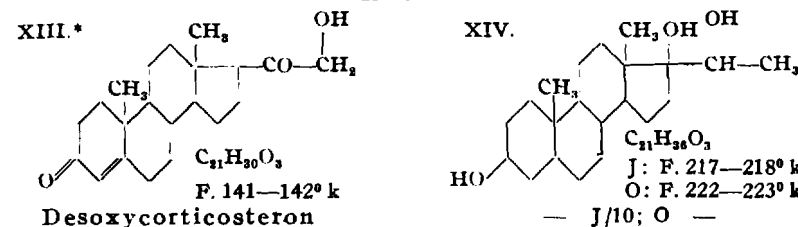
### C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>-Gruppe



### C<sub>21</sub>O<sub>4</sub>-Gruppe



### C<sub>21</sub>O<sub>3</sub>-Gruppe

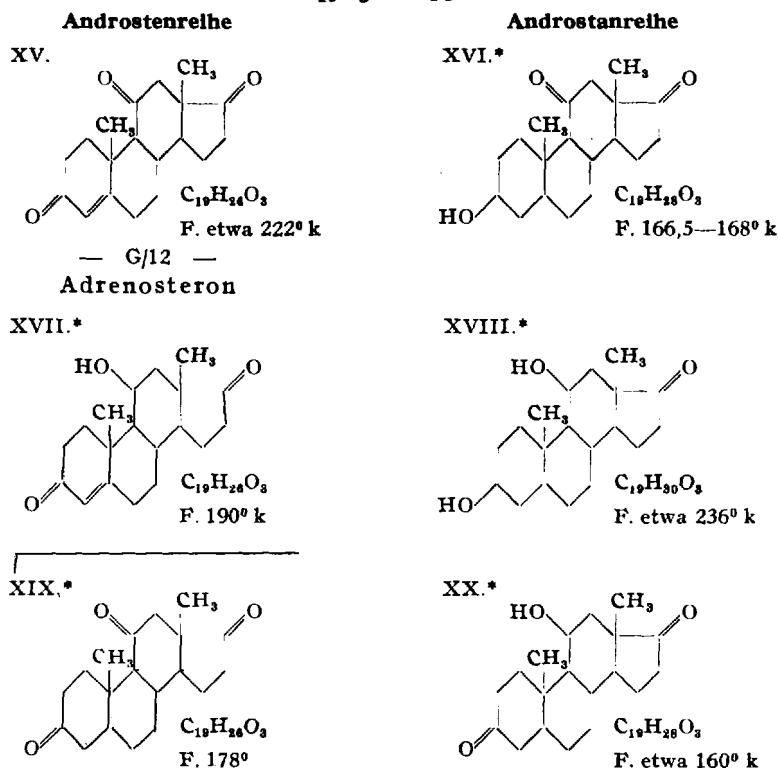


\*) Vortrag in der Fachgruppe für Medizinisch-pharmazeutische Chemie des VDCh zur Reichsarbeits-tagung Deutscher Chemiker in Bayreuth vom 10. Juni 1938.

<sup>1)</sup> Ergebn. Vitamin- u. Hormonforsch. 1, 334 [1938]. Leipzig, Akad. Verlagsges. m. b. H.

<sup>2)</sup> Reichstein, Helv. chim. Acta 20, 983 [1937].

Tabelle 2.  
C<sub>19</sub>O<sub>3</sub>-Gruppe



wählten Zusammenstellung beschrieben ist. In den beiden Tabellen sind die einzelnen Verbindungen durch römische Zahlen, und zwar die ungesättigten (mit Ausnahme von XIX) durch ungerade und die gesättigten durch gerade bezeichnet. Im Verlauf dieser Ausführungen werden neben den Buchstabenbenennungen jeweils die zugehörigen Tabellennummern angegeben, soweit sich ein Zusammenhang feststellen läßt. Dabei ist aber zu beachten, daß insbesondere anfänglich angegebene Formeln nach weiterer Reinigung der betreffenden Verbindungen später häufig einer Umformung unterzogen werden mußten.

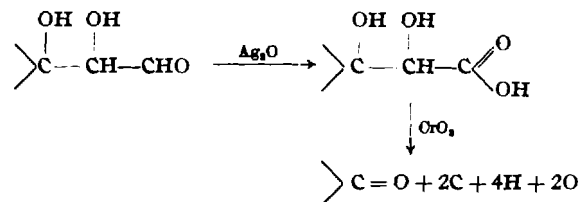
Die Namen *Kendall*, *Reichstein* und *Wintersteiner* stehen nachfolgend jeweils als Repräsentanten für die betreffenden Forschergruppen.

### 1934—1935.

Der Amerikaner *Kendall*<sup>3)</sup> von der Mayo Clinic, der Entdecker des Thyroxins, beschrieb als erster im April 1934 sicher zur Reihe der Rindenhormone gehörende Kristalle vom Schmelzpunkt 210° (IV?). Ihre Zusammensetzung wurde zu C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> und ihre Wirksamkeit damals zu 10—100 Hundeeinheiten pro 1 mg Substanz angegeben (1 H. E. entspricht nach *Pfiffner* der minimal erforderlichen Dosis pro Kilogramm, die bei einem nebennierenlosen Hunde zur Aufrechterhaltung des normalen Zustandes, insbesondere des Körpergewichtes und des Blutharnstoffes, erforderlich ist). Mit Phenylhydrazin trat Fällung ein; daraus und aus der Osazonbildung wurde auf Aldehydcharakter geschlossen. Neben dieser in Wasser schwerlöslichen Form sollte noch eine wasserleichtlösliche vorhanden sein.

Ein Jahr später, im April 1935, berichtete *Kendall*<sup>4)</sup>, daß durch Behandlung seines Kristallisats mit ammoniak-

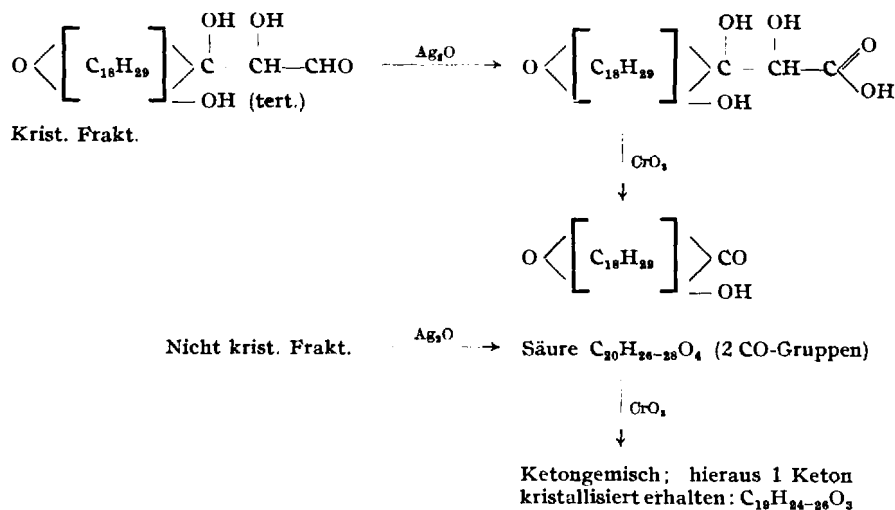
lischem Silber oder mit warmer Lauge ohne C-Verlust eine Säure und aus dieser mit Chromsäure unter Verlust von 2 C-, 4 H- und 2 O-Atomen ein Keton (XIX oder XX) entstehe. Den Ausgangskörper stellt er sich als Derivat eines Glycerinaldehyds vor:



Damit ist zum erstenmal die Anwesenheit einer sauerstoffreichen 2-Kohlenstoff-Seitenkette wahrscheinlich gemacht.

*Kendall* glaubt jetzt, daß für die Cortinwirkung zwei verschiedene Substanzen verantwortlich seien. Die anfänglich mit seinem Kristallizat erzielten günstigen Ergebnisse seien zum Teil durch den relativ hohen Kochsalzgehalt der Nahrung mitbedingt. Schon 1932 war nämlich die wichtige Beobachtung von *Loeb*<sup>5)</sup> gemacht worden, daß durch Kochsalz allein die Insuffizienzerscheinungen nach Epinephrektomie mehr oder weniger behoben werden können.

Im August 1935 sieht nun *Kendall*<sup>6)</sup> sein Kristallizat als Gemisch isomerer Trihydroxy-aldehyde vom durchschnittlichen Molekulargewicht 370 (für IV ber. 366) an. Er zeigt ferner unter Verwendung von *Grignard*-Reagens, daß sein Kristallizat 3 OH-Gruppen, 1 CO- und 1 inerte Äthergruppe enthalten müsse. Die Formel wird jetzt zu C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> (IV) angegeben. Hier läge also der erste Vertreter der C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>-Gruppe vor. Aus dem bei Behandlung mit alkalischem Silberoxyd erhaltenen Säuregemisch isoliert er eine Säure von der Zusammensetzung C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub> und durch weitere Oxydation mit Chromsäure erhält er ein- gesättigtes Keton der Formel C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> (XIX oder XX). Aus einer nicht kristallisierten Fraktion konnte ganz analog je eine (ungesättigte) Säure und ein Keton (XV?) von ähnlicher Zusammensetzung, aber mit weniger Wasserstoff erhalten werden. Hierfür wird folgende Formulierung gegeben:



<sup>3)</sup> *Kendall, Mason, McKenzie, Myers u. Koelsche*, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic 9, 245 [1934].

<sup>4)</sup> *Kendall, Mason, McKenzie, Myers u. Allers*, ebenda 10, 245 [1935]; *Kendall, Mason, McKenzie u. Myers*, J. biol. Chemistry 109, Sci. Proc. XXIX, 1 [1935].

<sup>5)</sup> *F. R. Loeb*, Science 76, 420 [1932], Proc. Soc. exp. Biol. Med. 30, 808 [1933].

<sup>6)</sup> *Mason, Myers u. Kendall*, Abstracts of Papers, Division of Organic Chemistry of the American Chemical Society, San Francisco, Meeting 19.—23. August 1935.

Parallel zu den Arbeiten des *Kendallschen* Kreises liefen solche von *Wintersteiner* und *Pfiffner*<sup>7)</sup>. Dieselben erhielten durch Hochvakuumdestillation aus höchst wirksamen Extraktfraktionen mit einem Gehalt von 200–400 H.E. pro Milligramm nadelförmige Kristalle, die anscheinend inaktiv waren. Alle aktiven, aber nicht kristallisiert erhaltenen Fraktionen erwiesen sich als stark reduzierend; dabei wurde auf die Anwesenheit von mindestens zwei verschiedenen reduzierenden Körpern geschlossen. Ein Jahr später, im April 1935, zeigten sie<sup>8)</sup>, daß aus den wirksamen Fraktionen die Wirkstoffe durch Phenylhydrazin gefällt und aus der Fällung durch Behandlung mit Benzaldehyd wieder regeneriert werden können. Sie erhielten jetzt verschiedene Kristallisate. Einem vom F. 213,5<sup>0</sup> komme die Formel  $C_{20}H_{34}O_5$  und einem anderen, Nadeln vom F. 211<sup>0</sup>, die Formel  $(C_{24}H_{40}O)_x$  zu. Die Wirksamkeit dieser Verbindungen erschien fraglich.

Im November 1935 beschrieben dann *Wintersteiner* und *Pfiffner*<sup>9)</sup> die Isolierung von 5 inaktiven Verbindungen A bis E, wobei E sich als stickstoffhaltiges Nebenprodukt (l-Leucyl-l-prolin-anhydrid) erwies.

Den Verbindungen A bis C werden folgende Formeln zugewiesen: A (VI) =  $C_{20}H_{34}O_5$  oder  $C_{21}H_{36}O_5$ , B (II?) =  $C_{21}H_{38}O_5$  und C =  $C_{24}H_{40}O_7$ . B wird als identisch mit *Kendalls* Kristalliat angesehen. Die Anwesenheit einer Aldehydgruppe wird aber bestritten, da mit Bisulfit keine Reaktion eintrete. Ferner wird nachgewiesen, daß der aktive ölige Anteil stark alkalische Silberoxydlösung reduziert. Im Gegensatz zu den unwirksamen Kristallisaten zeigt er deutliche selektive Adsorption. Benzoylchlorid wirkt inaktivierend.

Beide Forschergruppen hatten sich zur Gewinnung ihrer Kristallisate und wirksamen Fraktionen, insbesondere nach dem Vorgang von *Swingle* und *Pfiffner*, der Entmischungsmethoden bedient. Es zeigte sich, daß die wirksamen Stoffe sowohl in organischen als auch in wäßrigen Medien löslich sind. Durch Behandlung mit Petroläther oder Benzol und Wasser oder besser wäßrigem Alkohol gehen sie vorzugsweise in die wäßrige Phase über. Eine scharfe Trennung durch Entmischung und Umkristallisation erwies sich aber schon im Hinblick auf die sehr geringen Mengen als äußerst schwierig. Die angegebenen Summenformeln der isolierten Verbindungen blieben daher noch recht fraglich.

### 1936.

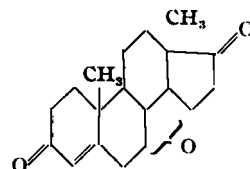
Inzwischen hatte sich der Schweizer Forscher *Reichstein*, dem wir die erste, auch technisch durchführbare Vitamin-C-Synthese verdanken, ebenfalls der Erforschung der Nebennierenrinde zugewendet. Als erster benutzt er zur Trennung der offenbar zahlreich anwesenden nahe verwandten Carbylverbindungen das *Girard*-Reagens T von der Formel  $(CH_3)_3CIN \cdot CH_2 \cdot CONH \cdot NH_2$ . Mit diesem ausgezeichneten Reagens gelang ihm zunächst die Isolierung von 7 kristallisierten Fraktionen A bis G, über die er Anfang Februar 1936 berichtet<sup>10)</sup>. Fünf davon, nämlich A (VI), C (IV), D (II), E (V) und F (I) gehören der  $C_{21}O_5$ -Gruppe an. F wurde nur als Disemicarbazon gewonnen. Es allein absorbierte im Ultraviolett. Der Grundkörper von F wurde als  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Diketon der Formel  $C_{21}H_{30}O_5 \pm H_2$  angesehen. Eine ähnliche Struktur wurde einem Diketon G (XV) der Formel  $C_{18}H_{24}O_3 \pm C \pm H_2$  zugeschrieben, da es übereinstimmende Absorption zeigt. Die Verbindung A (VI) erwies sich als besonders leicht zugänglich; sie bildet ein

Tetra- oder Penta-Acetat, spaltet bei Behandlung mit Bleitetraacetat nach *Criegee*, ähnlich Glycerin, Formaldehyd unter Verbrauch von 2,5 Atomen Sauerstoff ab und gibt auch ein Acetonderivat. Verbindung A stellt nach *Reichstein* wohl den weitmöglichst hydrierten Grundkörper der  $C_{21}O_5$ -Gruppe mit glycerinartiger Struktur dar und ist mit Substanz A von *Wintersteiner* und *Pfiffner* identisch.

Im Gegensatz zu A (VI) und E (V) reduzieren die Verbindungen C (IV) und D (II) alkalische Silberlösung schon in der Kälte, was auf die Anwesenheit von o-Oxyketongruppen deutet.

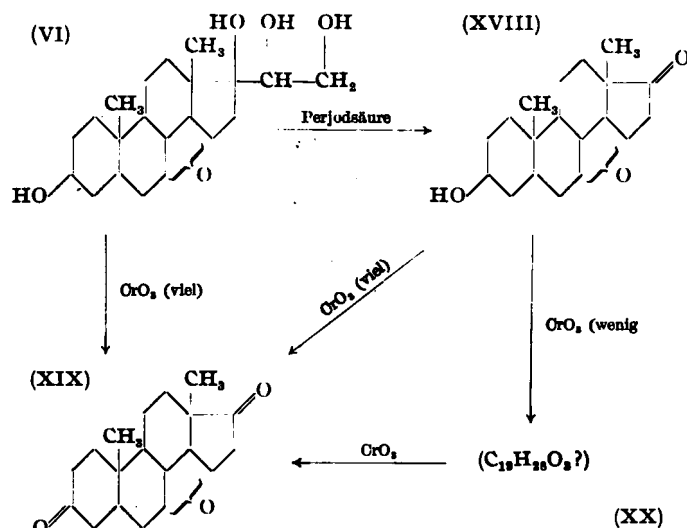
Gelegentlich eines Vortrages Ende März 1936 berichten *Pfiffner* und *Wintersteiner*<sup>11)</sup> über eine Verbindung  $C_{21}H_{38}O_5$  (I), die stark selektiv bei 240 m $\mu$  absorbiert und neben 2 Ketongruppen mindestens eine Hydroxylgruppe besitzen müsse. Sie ist am Hunde unwirksam. Die stark wirksame Mutterlauge zeigt noch dieselbe selektive Adsorption.

Mitte März 1936 teilt *Reichstein*<sup>12)</sup> die wichtige Entdeckung mit, daß das ungesättigte Diketon G (XV) im Schmierest am Hahnenkamm etwa  $\frac{1}{5}$  der Wirksamkeit des Androsterons zeige. Damit wird zum ersten Male der Steroidcharakter für eine Verbindung aus der Reihe der Cortinkristallisate wahrscheinlich gemacht. Das neue Keton wurde Adrenosteron genannt und als Derivat des Androstendions folgender Formel aufgefaßt:



Adrenosteron gibt bloß ein Disemicarbazon und wurde daher zunächst als Diketon angesehen; die Natur des inerten dritten Sauerstoffatoms blieb noch ungeklärt.

Dieser Befund führte *Reichstein*<sup>13)</sup> folgerichtig bereits anfangs Mai 1936 dazu, für die Körper der  $C_{21}$ -Reihe die Pregnanstruktur zu postulieren. In der Tat erhielt er durch oxydativen Abbau der Seitenkette der Substanzen A (VI), C (IV) und D (II) mit Perjodsäure und Chromsäure Ketone, die wiederum Kammwirksamkeit<sup>14)</sup> zeigten und somit dem Androsteron und Androstendion verwandt sein mußten:



<sup>7)</sup> *Wintersteiner, Vars u. Pfiffner*, J. biol. Chemistry 105, Sci. Proc. XXVIII, c [1934].

<sup>8)</sup> *Wintersteiner u. Pfiffner*, J. biol. Chemistry 109, Sci. Proc. XXIX, c [1935].

<sup>9)</sup> *Pfiffner, Wintersteiner u. Vars*, J. biol. Chemistry 111, 585 [1935]; *Wintersteiner u. Pfiffner*, ebenda 111, 599 [1935].

<sup>10)</sup> *Reichstein*, Helv. chim. Acta 19, 29 [1936].

<sup>11)</sup> *Pfiffner u. Wintersteiner*, J. biol. Chemistry 114, Sci. Proc. XXX, lxxx [1936], Vortrag in Washington.

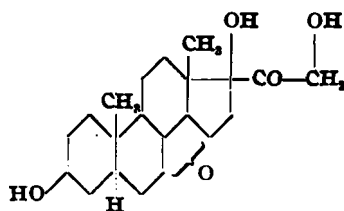
<sup>12)</sup> *Reichstein*, Helv. chim. Acta 19, 223 [1936].

<sup>13)</sup> *Reichstein*, ebenda 19, 402 [1936].

<sup>14)</sup> XIX war im Schmierest am Hahnenkamm noch aktiver als Adrenosteron und nur 3mal weniger wirksam als Androsteron.

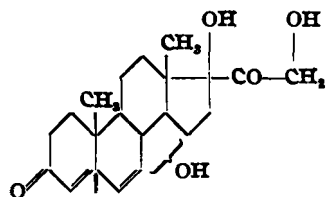
Da das Keton XVIII durch Digitonin gefällt wird, nahm Reichstein an, daß es, wie auch der Ausgangskörper VI, ähnlich dem transoiden<sup>15)</sup> Iso-androsteron der transoiden Cholestanol-Reihe angehöre.

Für die reduzierend wirkenden Verbindungen C (IV) und D (II) stellt Reichstein erstmals eine Ketol- bzw. Dioxy-acetonformel auf, wobei Stereoisomerie an C<sub>17</sub> erwogen wird:



Auch aus E (V) konnte er mit Chromsäure ein Neutralprodukt (XV) vom F. 211–216° erhalten, das aber noch nicht näher untersucht wurde.

Ende Mai 1936 berichtet Kendall<sup>16)</sup> seinerseits über die Isolierung eines Produktes E (I) von der Formel C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>. Im Gegensatz zum negativen Befund von Pfiffner und Wintersteiner, die ja schon früher diese Substanz in Händen hatten, erweist sich E nach Kendall im Ingle-Test an der nebennierenlosen Ratte als wirksam. Es absorbiert wie Androstendion und gibt beim Abbau mit Perjodsäure eine Säure C<sub>20</sub> und mit Chromsäure ein analog absorbierendes Diketon C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> (XV), das sich wie das Adrenosteron von Reichstein am Hahnenkamm als wirksam erweist und offenbar damit identisch ist. Damit war erstmalig der Zusammenhang zwischen den ungesättigten Ketonen der C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>- und C<sub>19</sub>O<sub>3</sub>-Gruppe sichergestellt. Der Verbindung E wird von Kendall folgende Formel mit 2 Doppelbindungen im Kern zugeschrieben:



Da Grignard-Reagens 3 Hydroxylgruppen anzeigte, soll der inerte Sauerstoff als tertiäre Hydroxylgruppe vorliegen. Auch die Verbindung C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> wird als doppelt ungesättigtes Diketon formuliert.

Im Juli 1936 gibt Kendall<sup>17)</sup> eine Zusammenstellung der von ihm isolierten Körper A bis E und ihrer Oxydationsprodukte. Danach besitzen A (VII) 26, B (IX) 24, C (IV) 21, D (II) 20 und E (I) wieder 21 C-Atome. Am Aldehydcharakter von C wird noch festgehalten. Insbes. vertritt jetzt Kendall auf Grund weiterer Oxydationsergebnisse die Ansicht, daß die Seitenkette in 17-Stellung von C bloß 1 Kohlenstoffatom enthalte. Demnach wird C als Derivat des Glykolaldehyds der Formel >C(OH)—CHO angesehen. Diese Formulierung wird aber später wieder verlassen.

Im Oktober 1936 gelingt Reichstein<sup>18)</sup> der endgültige Beweis der Steroidstruktur des durch Abbau von A (VI), C (IV) und D (II) erhaltenen gesättigten kammwirksamen Ketons XIX durch Reduktion nach Clemmensen unter Bildung von Androstan und 17-Androstanol. Dadurch war gezeigt, daß die zur gesättigten C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>-Gruppe

gehörenden Verbindungen zweifellos der allo-Cholanreihe angehören und daß die Seitenkette von C<sub>17</sub> aus abzweigt. Auch II und IV sind wie das Keton XVIII mit Digitonin fällbar. Dies berechtigt zu der Annahme, daß eine der vorhandenen Hydroxylgruppen sich in Analogie zu anderen Verbindungen der Steroidreihe in 3-Stellung befinde. Einzig die Lage des inerten Sauerstoffs blieb noch unsicher. Gleichzeitig gab Reichstein eine genaue Darstellung seiner Trennungsmethode mittels des Girard-Reagens. Er zeigte, daß sich nur die damit leicht reagierenden Fraktionen als cortinwirksam erweisen.

Die Substanz E (V) ruft nach Reichstein<sup>19)</sup>, wie auch die inzwischen aus ihrem Disemicarbazon F gewonnene Substanz F.a. (I), selektive Absorption hervor. Beide lassen sich mit CrO<sub>3</sub> zu Adrenosteron (XV) oxydieren. E (V) wirkt nicht reduzierend und ist daher ein Glycerinderivat; dagegen stellt das reduzierend wirkende F.a. (I), wie schon Kendall festgestellt hatte, ein Derivat des Dioxyacetons dar. F.a. erweist sich nämlich als identisch mit E von Kendall und F von Wintersteiner. Im Gegensatz zu Kendall schreibt Reichstein die Formeln von E und F.a., wie schon früher diejenigen des Adrenosterons, als einfach ungesättigte Ketone. Ferner gelingt ihm die Überführung des Adrenosterons durch Hydrierung mit Wasserstoff in Gegenwart von Pd in das schon früher erhaltene gesättigte Keton XIX. Damit ist die Identität des Kerngerüsts sowie der Lage des Kernsauerstoffs für die gesättigten und ungesättigten Verbindungen der C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>-Gruppe sichergestellt.

Gleichzeitig beschreibt Reichstein eine neue Substanz H (IX) mit vermutlich 19 oder 23 C-Atomen. Da sie im Ultraviolett bei 240 mμ stark absorbiert, wird sie als α, β-ungesättigtes Keton angesehen. Diese Substanz sollte sich bald darauf als besonders wichtig erweisen. Schließlich findet er zum erstenmal eine Substanz J (XIV) der C<sub>21</sub>O<sub>5</sub>-Gruppe.

Im November 1936 gibt Kendall<sup>20)</sup> eine genaue Beschreibung seiner Befunde. An der Wirksamkeit von E (I) wird im Gegensatz zu Wintersteiner und Reichstein festgehalten.

Im gleichen Monat berichtet Wintersteiner<sup>21)</sup> in einer letzten Arbeit, daß seine Substanzen A bis D identisch seien mit entsprechenden Kristallisaten von Reichstein. F (I) wird genau charakterisiert und G neu beschrieben. Beide sind unwirksam. Das ungesättigte Keton F gibt mit konz. Schwefelsäure eine intensiv grüne Fluoreszenz<sup>22)</sup>. G erweist sich als ein Monoketon der Formel C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>. Die Kendallsche Formulierung der ungesättigten Substanzen mit 2 Doppelbindungen wird ebenfalls als unwahrscheinlich verworfen.

Anläßlich einer Sitzung der Königlichen Akademie der Wissenschaften in Amsterdam teilen Ende November 1936 Reichstein, Laqueur und Mitarbeiter<sup>23)</sup> erstmalig mit, daß Corticosteron, ein neuer von Reichstein isolierter Stoff, sowohl an der Ratte als auch am Hund starke Cortinwirksamkeit gezeigt habe. Corticosteron (IX) vom F. 180–182° war von Reichstein durch weitere Reinigung der Substanz H erhalten worden<sup>24)</sup>.

<sup>15)</sup> Reichstein, *Helv. chim. Acta* **19**, 1107 [1936].

<sup>16)</sup> Mason, Myers u. Kendall, *J. biol. Chemistry* **116**, 267 [1936].

<sup>17)</sup> Wintersteiner u. Pfiffner, ebenda **116**, 291 [1936].

<sup>18)</sup> Sie wird auch von den ungesättigten Ketonen III, V und IX, nicht aber von VII, XIII und XV gegeben.

<sup>19)</sup> Reichstein, Laqueur, Uylde, de Fremery u. Spanhoff, *Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam, Proc.* **89**, 1218 [1936]; s. auch *Nature* **139**, 26 [1937].

<sup>20)</sup> Mit Corticosteron ist auch die von Reichstein, *Helv. chim. Acta* **19**, 1116 [1936], als K bezeichnete Substanz identisch (s. hierzu Reichstein, ebenda **21**, 546 [1938], Anm. 3).

<sup>15)</sup> Über transoide und cisoidale Lage der Hydroxylgruppe s. K. Miescher u. W. H. Fischer, *Helv. chim. Acta* **21**, 336 [1938].

<sup>16)</sup> Kendall, Mason u. Myers, *Proc. Staff Meetings Mayo Clinic* **11**, 351 [1936].

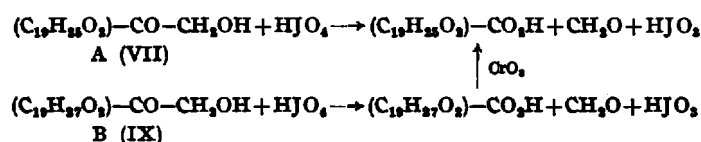
<sup>17)</sup> Mason, Myers u. Kendall, *J. biol. Chemistry* **114**, 613 [1936].

<sup>18)</sup> Reichstein, *Helv. chim. Acta* **19**, 979 [1936].

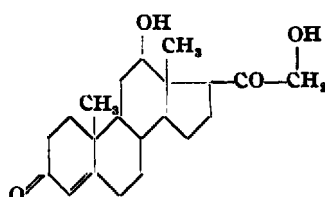
1937.

Im März 1937 berichtet *Kendall*<sup>24)</sup> seine früher gegebenen Formeln für seine Substanzen A (VII) und B (IX) und zeigt, daß sie der ungesättigten  $C_{21}O_4$ -Reihe angehören. Durch Mischprobe ergibt sich Identität von B mit Corticosteron. A enthält zwei Wasserstoffatome weniger. Von B genügen 1,5 mg täglich zur Erhaltung eines epinephrektomierten Hundes von 15 kg Gewicht in normalem Zustand. Auch die ungesättigten Ketole A (VII) und E (I) sind im *Ingle*-Test an der nebennierenlosen Ratte, wenn auch weniger als B (IX), wirksam. Durch Reduktion der Doppelbindung von A, B und E mit Palladium und Wasserstoff unter Bildung gesättigter Ketone geht die Wirksamkeit nahezu gänzlich verloren.

Durch die Oxydation von A (VII) und B (IX) mit Perjodsäure entstehen unter Formaldehydabspaltung keine Ketone der  $C_{19}O_3$ -Gruppe, sondern zwei Säuren, die durch Chromsäure ineinander überführbar sind. Daraus wird einerseits die Ketolstruktur von A und B abgeleitet und andererseits gezeigt, daß der relativ inerte Sauerstoff in B als Hydroxyl-, in A aber als Ketogruppe anwesend sein muß:



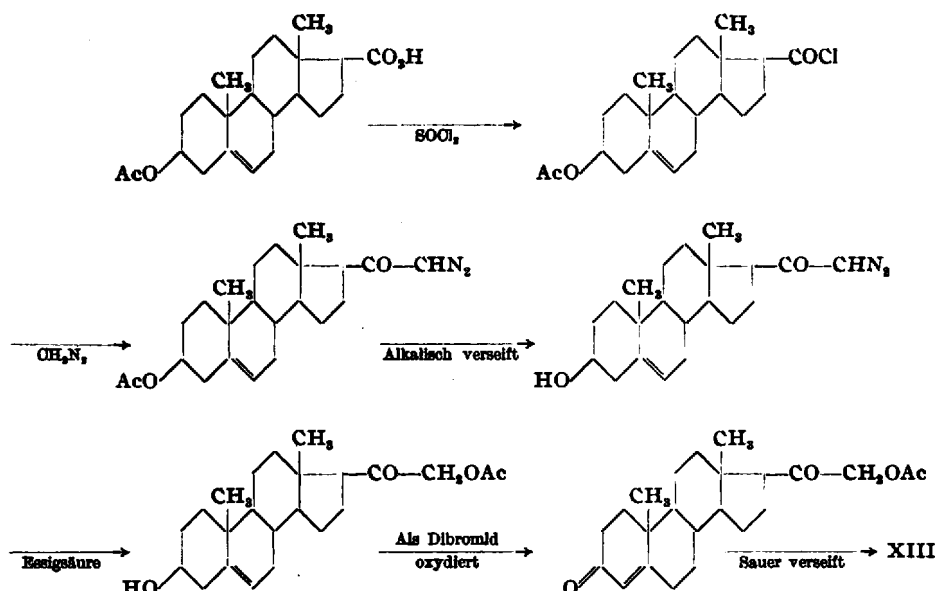
Für seine Verbindung B (Corticosteron von *Reichstein*) stellt *Kendall* folgende Formel auf mit der inerten Hydroxylgruppe in 12-Stellung:



Doch bereits im folgenden April wird auf Grund einer Arbeit von *Tschesche* und *Bohle*<sup>24a)</sup> erwogen, ob sich nicht die inerte Hydroxylgruppe wie beim Sarmentogenin in 11-Stellung befinde.

Im Juli 1937 zeigt *Reichstein*<sup>25)</sup>, daß das aus A (VI) durch Oxydation zu gewinnende Keton XVIII ein Diacetat ergibt, womit bewiesen ist, daß der inerte Sauerstoff in VI als Hydroxylgruppe vorliegt. XX erweist sich als Oxydiketon und XIX als Triketon. Letzteres gilt auch für Adrenosteron, das sich ja durch Hydrierung direkt in XIX überführen läßt. Auch *Reichstein* vertritt nun die Ansicht, daß sich der inerte Sauerstoff wahrscheinlicher in 11- und nicht in 12-Stellung befinden müsse. Im fol-

genden September entdeckt *Kendall*<sup>26)</sup> eine neue Substanz H (VIII), die vermutlich das dem Dehydro-corticosteron (VII) entsprechende Tetrahydroderivat und somit den ersten Vertreter der gesättigten  $C_{21}O_4$ -Reihe darstellt.



Eine wichtige Stütze für die Konstitution des Corticosterons, dessen Zugehörigkeit zur Steroidreihe noch keineswegs streng bewiesen war, erbrachte *Reichstein*<sup>27)</sup> im Mai 1937 durch die Mitteilung, daß ein künstlich hergestelltes 21-Oxy-progesteron (XIII) an nebennierenlosen Hunden und Ratten wirksam sei. Im folgenden Oktober wird seine Synthese wie oben beschrieben<sup>28)</sup>.

Die als Ausgangspunkt dieser Teilsynthese erforderliche 3-Oxy-äti-choleensäure stellt ein Abbauprodukt des Stigmasterins dar<sup>29)</sup>. *Reichstein* nennt die neue cortinwirksame Verbindung Desoxycorticosteron. Trotzdem die Hydroxylgruppe in 11-Stellung fehlt, erweist es sich im Tierversuch als dem Corticosteron durchaus gleichwertig, wenn nicht überlegen. Desoxycorticosteronacetat wird inzwischen auch bereits betriebsmäßig hergestellt und zurzeit klinisch untersucht. Die ersten damit erzielten Resultate lauten günstig.

Im Oktober 1937 klärt *Reichstein*<sup>30)</sup> für eine Reihe der isolierten Substanzen die Natur des Sauerstoffs in 11-Stellung als Hydroxyl- oder Ketogruppe noch endgültig auf. Daß er in E (V) als Hydroxylgruppe vorhanden ist, ergibt sich auch durch Abbau mit Perjodsäure, wobei das ungesättigte Oxydiketon XVII entsteht, das seinerseits mit Chromsäure in Adrenosteron XV übergeht. Auch eine neben Corticosteron aus H abgetrennte neue Substanz M (III) stellt ein ungesättigtes Ketol der  $C_{21}O_5$ -Gruppe mit Hydroxylgruppen in 11- und 17-Stellung dar, geht doch sein 21-Monoacetat durch Oxydation mit Chromsäure in das 21-Monoacetat von I über. Ein endgültiger Entscheid ließ

<sup>24)</sup> *Mason, Hoehn, McKenzie u. Kendall*, J. biol. Chemistry 120, 719 [1937]. Substanz H von *Kendall* ist wahrscheinlich identisch mit Substanz N von *Reichstein*.<sup>26)</sup> *Helv. chim. Acta* 21, 547 [1938].

<sup>27)</sup> *Steiger u. Reichstein*, Nature 139, 925 [1937].

<sup>28)</sup> *Steiger u. Reichstein*, *Helv. chim. Acta* 20, 1164 [1937].

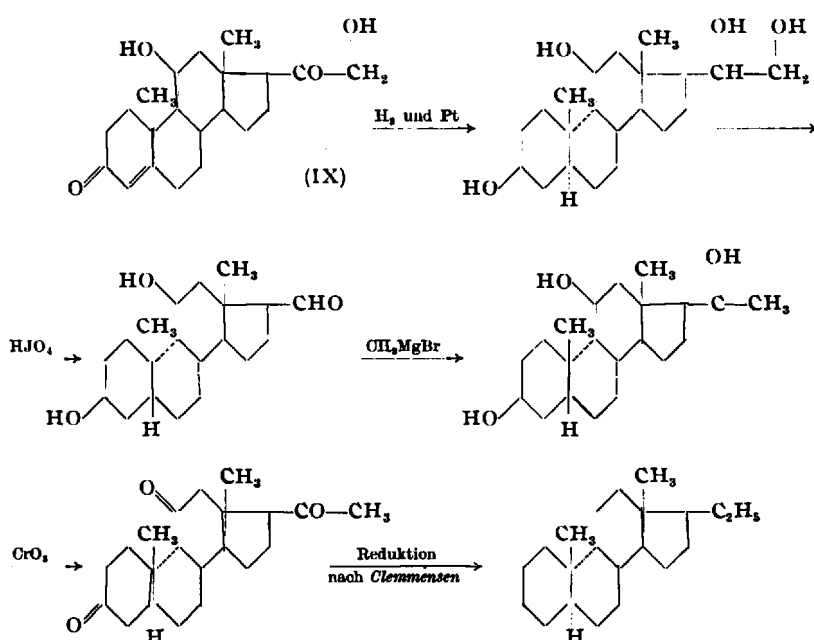
<sup>29)</sup> *Steiger u. Reichstein*, *Helv. chim. Acta* 20, 1040 [1937]. Anm. b. d. Korr. Die Säure wurde soeben von *Butenandt u. Schmidt-Thomé*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 71, 1487 [1938], aus Dehydroandron-cyanhydrin auch synthetisch erhalten.

<sup>30)</sup> *Reichstein*, ebenda 20, 953, 978 [1937].

sich jedoch bei den gesättigten Substanzen II und IV noch nicht treffen. M (III) erweist sich an der Nebennierenlosen Ratte wie am Hunde als weniger, an der Ratte als etwa halb so wirksam wie Corticosteron.

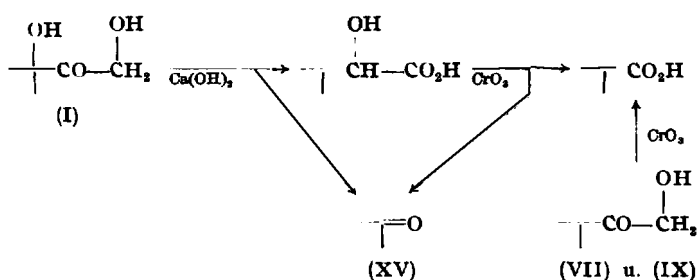
1938.

Ein schlüssiger Beweis für die Steroidstruktur des Grundskelettes der Cortinverbindungen der  $C_{21}O_4$ -Gruppe gelang schließlich Reichstein<sup>31)</sup> im Januar dieses Jahres durch Überführung von Corticosteron in allo-Pregnan auf folgendem Wege:



Allo-Pregnan entstand auf ganz dieselbe Weise auch aus dem synthetisch gewonnenen Desoxycorticosteron.

Ganz kürzlich, im April, führte schließlich Mason<sup>32)</sup>, der Mitarbeiter Kendalls, den Nachweis, daß sich der reaktionsträge Sauerstoff auch in der  $C_{21}O_4$ -Gruppe in der gleichen Lage befinden müsse wie in der  $C_{21}O_5$ -Gruppe, indem er durch Behandlung der Kendallschen Verbindung E (I) mit Calciumhydroxyd neben Adrenosteron eine Säure erhielt, welche ihrerseits bei darauffolgender Behandlung mit Chromsäure eine 3,11-Diketo-ätiol-choleensäure neben weiteren Mengen Adrenosteron ergab. Die gleiche Säure wurde schon früher aus den Kendallschen Substanzen A (VII) und B (Corticosteron, IX) der  $C_{21}O_4$ -Reihe durch Einwirkung von Chromsäure erhalten:



In der  $C_{21}O_5$ -Reihe findet bei dieser Reaktion offenbar eine ähnliche Umlagerung statt, wie sie auch bei Alkali-

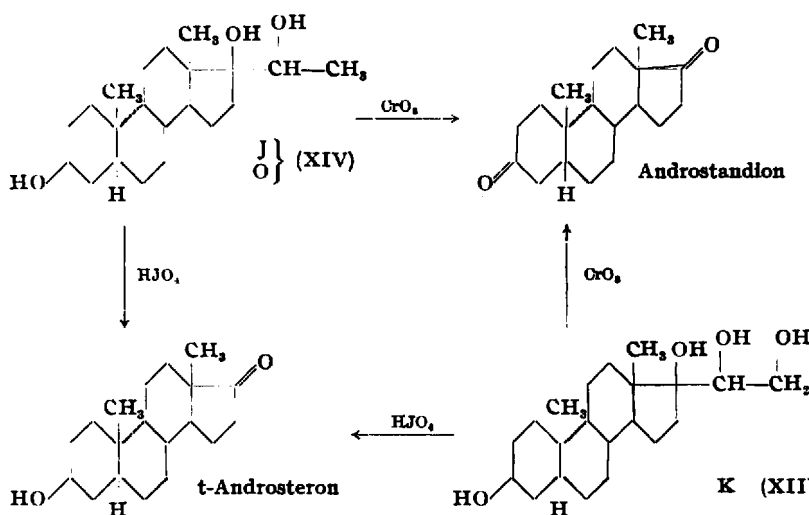
einwirkung auf Hexosen unter Bildung von Milchsäure zu sehen ist.

Interessanterweise sind in den Nebennieren auch Verbindungen ohne Hydroxyl- oder Keto-Gruppen im Ringe C gefunden worden. Es sind dies die Substanzen K (XII), J und O (XIV) von Reichstein.

Ihre Konstitution wurde im Mai von Reichstein<sup>33)</sup> durch oxydative Überführung in Androstandion sowie in das transoide iso-Androsteron bewiesen. (Formel nachstehend.)

Auch sie gehören somit, wie alle bisher in der Nebenniere aufgefundenen gesättigten Steroide, sterisch der transoiden Cholestanolreihe an. J und O sind nach Reichstein vermutlich Epimere in 17- oder 20-Stellung. J läßt sich durch Behandlung mit Schwefelsäure unter Wasserabsplaltung teilweise in allo-Pregnanol-(3)-on-(20) vom F. 197° überführen.

Zur  $C_{21}O_3$ -Gruppe ist auch das Monoketon G ( $C_{21}H_{34}O_3$ ) von Wintersteiner zu rechnen, mit dem die Substanz L, von Reichstein identisch zu sein scheint. Triole der Pregnanreihe sind übrigens auch schon von den Marrian- und Markerschen Arbeitskreisen<sup>34)</sup> im pathologischen Menschenharn (bei Nebennierentumor), sowie im Harn trächtiger Stuten gefunden worden. Mindestens eines der beiden von Marrian isolierten Triole stellt ein Raumisomeres von J und O dar. Sterisch entspricht es dem cisoiden Koprosterin (epi). Die von Marker im Stutenharn entdeckten Triole gehören ebenfalls nicht der allo-Pregnan-, sondern der Pregnan- (Triol B) und der sogenannten Uranreihe (Triol A) an. In der Pregnanreihe befinden sich die Ringe A und B, in der Uranreihe (wie im Sarmentogenin) auch die Ringe B und C in cis-Stellung zueinander. Zwei der Hydroxylgruppen der von Marker gefundenen Triole stehen in 3- und 20-Stellung, die dritte bei



Triol B in 4-, bei Triol A aber anscheinend, wie bei den Verbindungen der Cortinreihe, in 11-Stellung. Durch Vergleich der Reaktionsfähigkeit der 11-Hydroxylgruppen in Sarmentogenin, Digoxigenin, Urantriol B und ihren Epimeren

<sup>33)</sup> Steiger u. Reichstein, Helv. chim. Acta 21, 546 [1938].

<sup>31)</sup> Steiger u. Reichstein, Nature 141, 202 [1938]; Helv. chim. Acta 21, 161 [1938].

<sup>32)</sup> Mason, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic 18, 235 [1938].

<sup>34)</sup> Butler u. Marrian, J. biol. Chemistry 119, 565 [1937]; 124, 237 [1938]; Haslewood, Marrian u. Smith, Biochemical J. 28, 1316 [1934]; Marker, Kamm, Crooks, Oakwood, Wittle u. Lawson, J. Amer. chem. Soc. 60, 210 [1938]; Marker, Kamm, Oakwood, Wittle u. Lawson, ebenda S. 1061.

in 11-Stellung mit derjenigen der *Reichsteinschen* Substanz M (III) gelangt *Marker* an Hand von Modellen zur Ansicht, daß sich das 11-Hydroxyl in M wie in Sarmetogenin und Urantriol B in cis-Stellung, im Digoxigenin aber in trans-Stellung zu den beiden Methylgruppen befinden müsse. Selbstredend bedürfen diese Schlußfolgerungen noch weiterer experimenteller Begründung, um so mehr, als es durchaus noch nicht klaggestellt ist, ob gerade den Methylgruppen ein besonders starker reaktionshemmender Einfluß zukommt<sup>15)</sup>, wie dies von *Marker* und anderen ohne weiteres vorausgesetzt wird.

### Schlußbetrachtung.

Die Konstitution der bisher aus den Nebennieren isolierten Stoffe ist somit im wesentlichen erschlossen. Einzig die Lage der Doppelbindung in den ungesättigten Körpern sowie die der inerten Hydroxyl- bzw. Ketogruppe ist noch nicht völlig sichergestellt. Die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Konstitution und Cortinwirkung läßt sich zurzeit wie folgt beantworten: Wirksam sind nur die ungesättigten Ketole I, III, VII, IX und XIII. Neben der Steroidstruktur ist somit die Anwesenheit einer  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketogruppe in Ring A und einer Ketolseitenkette für die Cortinwirkung erforderlich. Bei Aufhebung der Doppelbindung verschwindet die Wirkung nahezu vollständig. Die Anwesenheit einer Hydroxylgruppe in 11-Stellung scheint unerheblich zu sein. Ersatz dieser Hydroxylgruppe durch eine Ketogruppe verringert sogar die Wirkung. Das gleiche gilt auch für den Fall der Anwesenheit einer Hydroxylgruppe in 17-Stellung. Reduziert man die Ketol- zur Diolgruppe (V), so verschwindet die Wirkung nahezu völlig oder wird zum mindesten stark herabgesetzt<sup>35)</sup>.

Desoxycorticosteron bzw. 21-Oxy-progesteron (XIII) ist der einfachste Vertreter mit Cortinwirkung. Trotz der nahen Verwandtschaft mit Progesteron können sich diese beiden Körper gegenseitig nicht ersetzen<sup>36a)</sup>. Nach *Verzar*<sup>36)</sup> werden mannigfache Phosphorylierungsvorgänge im Organismus durch die Anwesenheit von Rindenhormon erst ermöglicht. *Reichstein*<sup>37)</sup> glaubt, daß der Ketolgruppe dabei eine besondere Rolle als Phosphorsäureüberträger zukommt. Nur bemerkt sei, daß sich einfachere Ketole, wie das Benzoylcarbinol, als völlig wirkungslos erwiesen haben<sup>38)</sup>.

Die Verwandtschaft der Rinden- zu den Sexualhormonen scheint darin zum Ausdruck zu kommen, daß letztere, insbesondere das Oestradiol, in geringerem Maße auch Progesteron, Oestron, Pregnandiol und Testosteron, nach *Harrop*<sup>39)</sup> eine ähnliche Kochsalzretention bewirken sollen, wie sie nach Verabfolgung von Rindenhormonen gesehen wird.

Wenn auch die Chemie der Nebennierenrindenhormone und ihrer Begleitstoffe schon eine wesentliche Abrundung erfahren hat, so scheint doch von einem Abschluß noch nicht die Rede zu sein. Abgesehen davon, daß es durchaus möglich

erscheint, daß z. B. auch noch weitere in den Tabellen 1 und 2 mit Stern bezeichnete Verbindungen in der Natur gefunden werden können<sup>39a)</sup>, bleibt die Frage nach noch wirksameren Vertretern immer noch offen. Den beteiligten Forschergruppen ist es aufgefallen, daß ihre stärksten wirksamen amorphen Fraktionen, die sich gerade durch relativ gute Wasserlöslichkeit auszeichnen, Corticosteron noch an Wirksamkeit mehr oder weniger zu übertreffen scheinen, doch fehlen exakte Vergleichszahlen<sup>24b)</sup>. Kürzlich berichtete *Kendall*<sup>40)</sup> in Baltimore, daß Corticosteron (IX) wie auch sein Dehydroderivat (VII) zwar in jeder Beziehung das volle Äquivalent für den Gesamt-extrakt der Nebennierenrinde darstelle; nach Abtrennung aller kristallinen Bestandteile habe er jedoch eine amorphe Fraktion erhalten, die noch 60–100mal wirksamer sei. 1–2  $\gamma$  pro kg Tier sollen die Minimaldosis beim Hund darstellen. Übrigens benützten ja schon *Wintersteiner* und *Pfiffner* Extrakte, deren Wirksamkeit 2,5–5  $\gamma$  pro H.E. entsprach. Nach *Grollmann*<sup>41)</sup> weist ein von ihm gefundenes Kristallinat, dessen Reinheit aber noch nicht gewährleistet ist, eine Ratteneinheit in 10  $\gamma$  auf. Die Formel wird zu  $C_{19-20}H_{28-30}O_5$  angegeben. Es bleibt abzuwarten, ob in der Tat noch wirksamere Verbindungen vorliegen oder ob nach einer Annahme *Reichsteins* vielleicht Aktivatoren mit eine Rolle spielen.

Im Hinblick auf die Anwesenheit einer Reihe nahe verwandter Steroide in der Nebennierenrinde erhebt sich die Frage nach ihrer Genese. Hierüber läßt sich zurzeit noch nichts Bestimmtes sagen. Oxydative und reduktive Vorgänge spielen bei ihrer Bildung und Umwandlung jedenfalls die Hauptrolle. Da scheint es kein Zufall, daß gerade in der Nebenniere besonders große Mengen eines so kräftigen Oxydoreduktionskatalysators wie der Ascorbinsäure vorkommen. War man früher geneigt, sich die Entstehung der Sexualhormone durch Abbau aus den Sterinen entstanden zu denken, so weist neuerdings *Reichstein*<sup>1)</sup> darauf hin, daß die Steroide ganz allgemein auch durch direkten Aufbau aus zuckerartigen Baustoffen, wie Dioxyaceton und Glycerinaldehyd, gebildet sein könnten. Entsprechende Zwischenprodukte mit weniger als 4 Ringen sind aber noch nicht gefunden worden. Vielleicht laufen derartige Auf- und Abbaureaktionen nebeneinander her.

Man kann sich die Frage stellen, ob der Organismus in der Lage ist, den Steroidkern an verschiedenen von einander unabhängigen Stellen aufzubauen oder ob hierfür eine einzige Zentrale besteht. Sollte das letztere der Fall sein, so wäre gerade an die Nebennierenrinde zu denken, da die darin gebildeten sauerstoffreichen Steroide zu vielerlei Umwandlungen besonders geeignet erscheinen. Vor allem wird nach einem genetischen Zusammenhang zwischen den Rinden- und den eigentlichen Sexualhormonen zu forschen sein.

Zum Schluß sei hervorgehoben, daß der erstaunlich rasche Fortschritt der so schwierigen Chemie der Nebennierenrindenhormone kaum möglich gewesen wäre, wenn nicht teils kurz vorher, teils gleichzeitig Forscher wie *Butenandt*, *Ruzicka* und andere die Chemie der nahe verwandten Sexualhormone erschlossen hätten. Damit war die unentbehrliche Grundlage für den Aufbau des neuen Gebietes geschaffen. [A. 43.]

<sup>35)</sup> *Steiger* u. *Reichstein*, Helv. chim. Acta 21, 171 [1938].

<sup>36a)</sup> Anm. b. d. Korr. Nach neueren unveröffentlichten Befunden mit *Tschopp* erweist sich in der Tat auch das Desoxycorticosteron im *Corner-Olauberger*-Test am Kaninchenuterus als wirksam.

<sup>36)</sup> *Verzar*, Adrenal Cortex and Intestinal Absorption, Amer. J. Digestive diseases and nutrition 4, 545 [1937]; Schweiz. mediz. Wochenschr. 67, 823 [1937].

<sup>37)</sup> *Reichstein*, Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. 118, 122 [1937].

<sup>38)</sup> Diskussionsbemerkung von *Wettstein*, Naturforsch. Ges. Genf, August 1937.

<sup>39)</sup> *G. A. Harrop*, Cold Spring Harbor Symposia 5, 375 [1937].

<sup>39a)</sup> Anm. b. d. Korr. *Serini* u. *Logemann*, Ber. dtsch. chem. Ges. 71, 1362 [1938] ist inzwischen durch Anlagerung von 2 Hydroxylgruppen an 17-Aethenyltestosteron die Herstellung einer Verbindung der Formel XI gelungen.

<sup>40)</sup> *Kendall*, *Mason*, *Hoehn* u. *McKenzie*, S.-B. 32. Jahresvers. Soc. Biology, Baltimore, 30. März bis 2. April 1938, S. 67; J. biol. Chemistry 128, Sci. Proc. XXXII, cxvii [1938].

<sup>41)</sup> *A. Grollmann*, Cold Spring Harbor Symposia 5, 313 [1937].