

Daß es sich bei dem Antibiotikum der alkalischen Kulturfiltrate um Penicillin handelt, wurde durch Extraktion mit Essigester bei  $p_H$  2 und Aufarbeitung der Extrakte bewiesen.

In diesem Zusammenhang seien schließlich noch einige Naturstoffe aufgeführt, die in unseren dazumaligen Parallelversuchen besonders ausgesprochene «Wuchsstoffeigenschaften» besaßen, im Sinne einer rascheren und wesentlich vermehrten Penicillinbildung bei der Oberflächenkultur. Sie wurden einer 2%igen Rohrzuckerlösung mit *Czapek-Dox*-Salzen und gegebenenfalls Schwermetall- und weiteren anorganischen Salzen zugesetzt. Ihre Wirkung reicht im allgemeinen nicht ganz an diejenige des heute im großen verwendeten «Corn steep liquor» heran. Einige dieser Zusätze sind bereits früher oder inzwischen auch von anderer Seite benutzt worden.

- 1–2% zitronensaures K oder Na<sup>1</sup>
- 0,5–1% Obstkonzentrat (Trauben, Äpfel oder Birnen<sup>1</sup>)
- 3–4% rohe Watte (Extrakt aus –)<sup>2,3</sup>
- 0,3–1% Rübenmelasse
- 6% Rübenmelasse (ohne Zuckerzusatz)
- 1% Rübenschempe (Eindampfrückstand der alkoholisch vergorenen Rübenmelasse)
- 2% Rohrzucker aus Zuckerrohr (ohne Zuckerzusatz)
- 1–2% Weizenkleie oder Weizenkeimlinge (Extrakt aus –)
- 2% Weizenschempe (von der Stärkefabrikation).

A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 3. September 1946.

### Summary

Solutions containing 50 and more percent of whey and additional anorganic salts represent suitable substrates for the surface culture of *Penicillia* in the production of penicillin. Some other natural substances are enumerated, which, in our experiments, also enhanced the penicillin yield.

<sup>1</sup> Wie weit hier die Pufferwirkung mitspielt, soll offengelassen werden.

<sup>2</sup> Dr. L. ETTINGER, Zürich.

<sup>3</sup> Vgl. W. H. SCHOPFER und W. RYTZ, Arch. Mikrobiol. 8, 244 (1937).

### Einwirkung von N-Brom-succinimid auf $\Delta^4$ -3-Keto-steroid<sup>1</sup>

In dieser Zeitschrift beschrieb NG. PH. BUU-HOI<sup>2</sup> kürzlich die Umsetzung zweier aliphatischer Ketone, die eine Doppelbindung in Konjugation zur Keto-Gruppe aufweisen, mit N-Brom-succinimid<sup>3</sup>. Er schloß aus seinen Versuchen, daß in beiden Fällen die Methylgruppe in  $\alpha$ -Stellung zur Keto-Gruppe mit Brom substituiert wird, letzteres also nicht wie bei einfachen Äthylenverbindungen<sup>4</sup> an der  $\alpha$ -Stellung zur Doppelbindung (in der sogenannten Allylstellung) angreift. Eine Anzahl wichtigster Hormone der Steroidreihe stellen ebenfalls  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Ketone dar, und wir untersuchten des-

<sup>1</sup> 53. Mitteilung der Reihe «Über Steroide» (52. Mitt. s. Helv. chim. acta 29, 1231 (1946).

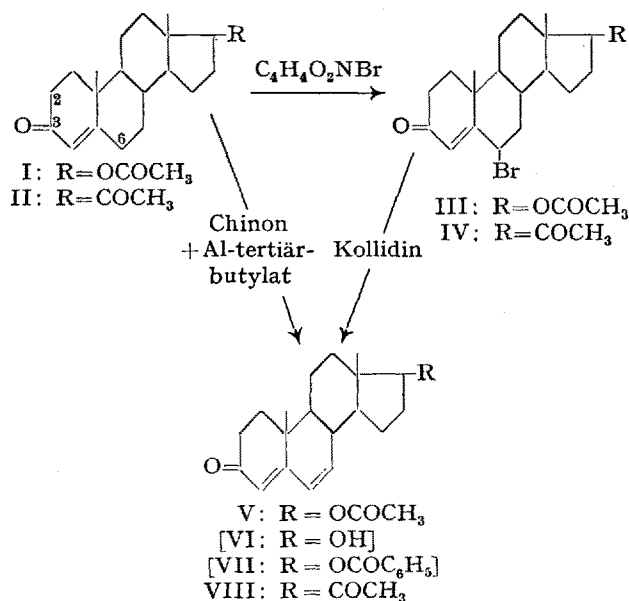
<sup>2</sup> NG. PH. BUU-HOI, Exper. 2, 310 (1946).

<sup>3</sup> Zur analogen Bromierung gesättigter Ketone vgl. H. SCHMID und P. KARRER, Helv. chim. acta 29, 573 (1946).

<sup>4</sup> K. ZIEGLER, A. SPÄTH, E. SCHAAF, W. SCHUMANN und E. WINKELMANN, Liebigs Ann. Chem. 551, 80 (1942). — Vgl. CH. MEYSTRE, H. FREY, A. WETTSTEIN und K. MIESCHER, Helv. chim. acta 27, 1815 (1944).

halb, wie in solchen Fällen die Einwirkung von N-Brom-succinimid verläuft. Würde hier das Brom in  $\alpha$ -Stellung zur 3-Keto-Gruppe eintreten, so ergäbe sich die Möglichkeit, durch anschließende Bromwasserstoffabspaltung in glatter Reaktion zu  $\Delta^4$ -3-Keto-dienen zu gelangen, die wichtige Zwischenprodukte bei der Aromatisierung des Ringes A darstellen<sup>1</sup>.

In den ersten Vorversuchen reagierte Testosteron-azetat (I) mit N-Brom-succinimid in Tetrachlorkohlenstoff unter der von uns früher als besonders vorteilhaft befundenen Belichtung<sup>2</sup> zwar sehr rasch, aber etwas uneinheitlich. Wurde es hingegen auf ähnliche Weise im Dunkeln mit 3 Mol Brom-succinimid erhitzt, so war nach 5 Stunden gerade ungefähr 1 Mol des letzteren verbraucht, und das Reaktionsprodukt ergab durch Kochen mit Kollidin (45 Minuten) und Umkristallisieren in 80%iger Ausbeute ein einheitliches reines Ke-



todien  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_3$ . Dieses erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und optischer Drehung<sup>3</sup> als identisch mit dem früher (durch Dehydrierung mittels Chinon und Aluminium-tertiär-butylat) direkt aus dem  $\Delta^4$ -3-Keton erhaltenen 6-Dehydro-testosteron-azetat (V)<sup>4</sup>. Die neue, stufenweise Umwandlung über das Bromid verläuft insgesamt mit wesentlich besserer Ausbeute als die direkte Überführung. Die Konstitution der Verbindung V wurde weiter durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge zum 6-Dehydro-testosteron  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_2$  (VI)<sup>4</sup> und durch Benzoylierung des letzteren zum 6-Dehydro-testosteron-benzoat (VII)<sup>4,5</sup> sichergestellt. Auch diese beiden Verbindungen zeigten mit authentischen Präparaten keine Schmelzpunktserniedrigung.

Aus der Natur der erhaltenen Verbindungen V–VII ergibt sich die Tatsache, daß bei der Umsetzung von  $\Delta^4$ -3-Keto-steroiden mit N-Brom-succinimid von den zwei Methylengruppen in 2- bzw. 6-Stellung die letztere stark bevorzugt reagiert. Es tritt hier also die übliche

<sup>1</sup> H. H. INHOFFEN und Mitarb., Ber. 73, 451 (1940); 74, 1911 (1941); Angew. Chem. 53, 471 (1940).

<sup>2</sup> CH. MEYSTRE, L. EHMAN, R. NEHER und K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 1252 (1945); CH. MEYSTRE und K. MIESCHER, *ibid.* 28, 1497 (1945); 29, 33 (1946); CH. MEYSTRE, H. FREY, R. NEHER, A. WETTSTEIN und K. MIESCHER, *ibid.* 29, 627 (1946).

<sup>3</sup>  $[\alpha]_D^{25} = +35,5^\circ \pm 4^\circ$  (in Äthanol).

<sup>4</sup> A. WETTSTEIN, Helv. chim. acta 23, 388 (1940).

<sup>5</sup> L. RUZICKA und W. BOSSHARD, Helv. chim. acta 20, 328 (1937).

Bromierung<sup>1</sup> in  $\alpha$ -Stellung zur Doppelbindung (Verbindung III), nicht die von BUU-HOI<sup>2</sup> für ähnliche Fälle postulierte Bromierung in  $\alpha$ -Stellung zur Ketogruppe ein.  $\Delta^4$ -6-Brom-3-keto-steroiden waren früher in dreistufiger Reaktion durch Anlagerung von elementarem Brom an  $\Delta^5$ -3-Oxy-Verbindungen, Oxydation der 3-Hydroxyl- zur -Ketogruppe und Abspaltung von 1 Mol Bromwasserstoff erhalten und dann ebenfalls in  $\Delta^4$ : $\Delta^6$ -3-Ketone umgewandelt worden<sup>3,4,5</sup>.

In analoger Weise behandelten wir schließlich Progesteron (II) 1½ Stunden im Dunkeln mit N-Bromsuccinimid. Beim Einengen des Reaktionsfiltrates und Versetzen des Rückstandes mit Äther kristallisierte das schwerlösliche Bromid (IV) aus. Letzteres wurde ohne weitere Reinigung mit Kollidin gekocht und so 6-Dehydro-progesteron (VIII)<sup>6,5</sup> erhalten, das in Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und optischer Drehung mit authentischer Substanz übereinstimmte. Diese Verbindung besitzt bekanntlich besonderes Interesse, da sie zu den neben Progesteron wirksamsten Verbindungen im Corpus-luteum-Hormon-Test gehört<sup>6</sup>.

CH. MEYSTRE und A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 13. September 1946.

#### Summary

The bromination of  $\Delta^4$ -3-keto-steroids with the aid of N-bromo-succinimide takes place in 6-position, that is in allyl-position and not in  $\alpha$ -position to the keto group. By splitting off hydrogen bromide from these 6-bromo-compounds,  $\Delta^4$ : $\Delta^6$ -3-keto-steroids are obtained in known manner.

<sup>1</sup> K. ZIEGLER, A. SPÄTH, E. SCHAAF, W. SCHUMANN und E. WINKELMANN, Liebigs Ann. Chem. 551, 80 (1942).

<sup>2</sup> NG. PH. BUU-HOI, Exper. 2, 310 (1946).

<sup>3</sup> L. RUZICKA und W. BOSSHARD, Helv. chim. acta 20, 328 (1937).

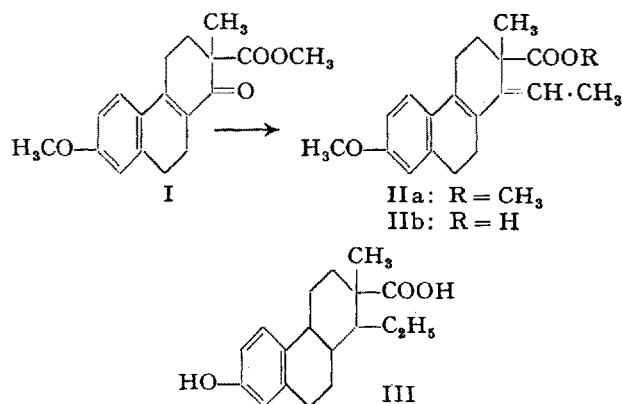
<sup>4</sup> E. DANE, Y. WANG und W. SCHULTE, Z. physiol. Chem. 245, 80 (1936).

<sup>5</sup> Franz. Pat. 833 102 (S. 2), Ges. f. Chemische Industrie in Basel; Franz. Pat. 835 524 (S. 13), Schering AG.

<sup>6</sup> A. WETTSTEIN, Helv. chim. acta 23, 388 (1940).

#### Synthetische Versuche in der Doisynolsäurereihe<sup>1</sup>

Wir möchten im folgenden kurz Stellung nehmen zu einer soeben erschienenen vorläufigen Mitteilung von J. H. HUNTER und J. A. HOGG<sup>2</sup>, da sie sich mit eigenen Arbeitsergebnissen überschneidet.

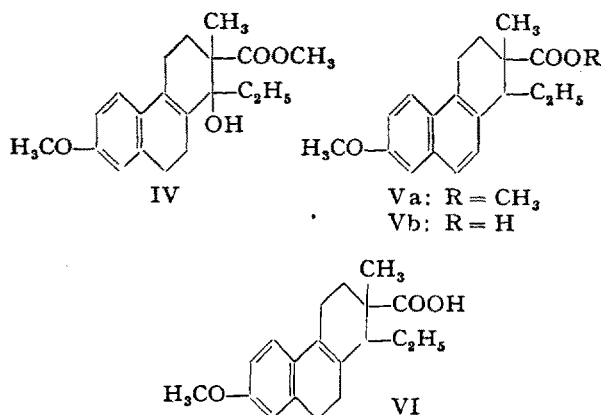


<sup>1</sup> 54. Mitt. «Über Steroide» sowie XI. Arbeit «Über östrogene Karbonsäuren». Vgl. Exper. 2, 408 (1946) und Helv. chim. acta 29, 1231 (1946).

<sup>2</sup> J. H. HUNTER und J. A. HOGG, J. amer. chem. Soc. 68, 1676 (1946).

Nach einem von uns eröffneten Weg führten die amerikanischen Autoren das Keton I in Verbindung IIa über und suchten diese durch Hydrierung und totale Verseifung in eine razemische Doisynolsäure III, einen Vertreter der Octahydro-phenanthrenkarbonsäure-Reihe, überzuführen. Sie erhielten dabei bloß ein amorphes, wenn auch östrogen wirksames «Diastereomergemisch».

An Hand eigener Erfahrungen<sup>1</sup> können wir darauf hinweisen, daß sich die Hexahydro-phenanthren-Derivate IIa und IV (hier nach primärer Wasserabspaltung) schon beim Erwärmen in Chloroformlösung mit einer Spur Jod zu den hochwirksamen entsprechenden Tetrahydro-phenanthrenverbindungen Va, den von uns früher gewonnenen Esteräthern der razemischen Bisdehydrodoisynolsäuren<sup>2</sup>, isomerisieren lassen.



Ferner sei erwähnt, daß die von uns durch partielle Hydrierung von IIb erhaltene Säure VI vom Smp. 168 bis 170° C bei der weiteren katalytischen Hydrierung teilweise zu Vb dehydriert wird. Die nach Abtrennung von Vb erhaltene nicht kristallisierte rohe Säure erwies sich im Allen-Doisy-Test als sehr wirksam. Ob die hohe östrogene Aktivität einer Beimischung von Vb oder einer Octahydro-phenanthrenkarbonsäure III zukommt, ist noch nicht abgeklärt.

Es scheint demnach nicht ausgeschlossen, daß das amorphe Produkt, dem J. H. HUNTER und J. A. HOGG<sup>3</sup> die Formel III zuschreiben, ein Gemisch verschiedener Hydrierungsstufen von Phenanthrenkarbonsäuren darstellt.

Über unsere Ergebnisse werden wir an anderem Ort noch ausführlicher berichten.

G. ANNER und K. MIESCHER

Forschungslaboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 26. September 1946.

#### Summary

The amorphous carboxylic acid of the doisynolic acid type, prepared by HUNTER and HOGG according to a new method developed by us, consists presumably of a mixture of products representing different hydrogenation stages.

<sup>1</sup> Schweiz. Patentanmeldung vom 7. 3. 1946.

<sup>2</sup> K. MIESCHER u. Mitarb., Helv. chim. acta 28, 1342 (1945); 29, 586 (1946).

<sup>3</sup> J. H. HUNTER und J. A. HOGG, J. amer. chem. Soc. 68, 1676 (1946).