

von O. Warburg und W. Christian übergeht. H. Theorell<sup>2)</sup> hat gezeigt, daß diese Paarung, ähnlich der Vereinigung von Globin mit Hämin zu Hämoglobin, auch *in vitro* stattfindet. Die vorliegende synthetische Darstellung eines Vitamins B<sub>2</sub> bedeutet somit gleichzeitig auch die Synthese eines Ferments. Dabei ist von dem spezifischen Protein, das als kolloider Träger des Vitamins fungiert und diesem erst die Ferment-Eigenschaften verleiht, abzusehen. Denn die künstliche Darstellung dieses, wie anderer, Proteine liegt außerhalb der synthetischen Möglichkeiten unserer Tage.

#### 416. Adolf Butenandt und Ulrich Westphal: Über die Darstellung des Corpus-luteum-Hormons aus Stigmasterin; die Konstitution des Corpus-luteum-Hormons.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Danzig-Langfuhr.]  
(Eingegangen am 20. November 1934.)

Wie wir bereits mitgeteilt haben, ist es gelungen, das Corpus-luteum-Hormon sowohl aus Pregnandiol<sup>1)</sup>, wie aus Stigmasterin<sup>2), 3)</sup> zu bereiten. Die nach beiden Methoden gewonnenen Krystallivate lassen keinen Unterschied zum natürlichen Hormon erkennen.

Während die Überführung des Pregnandiols in Corpus-luteum-Hormon ausführlich beschrieben wurde<sup>1)</sup>, ist der Abbau des Stigmasterins bisher nur bis zur Stufe des ungesättigten Oxy-ketons C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> (I), des  $\Delta^5$ -Pregnenol-(3)-ons-(20), mit experimentellen Angaben belegt worden<sup>2)</sup>. Die folgenden Befunde geben wir in vorläufiger Mitteilung bekannt: 1) Dehydriert man das ungesättigte Oxy-keton (I) direkt durch vorsichtige Behandlung mit Chromsäure in der Kälte<sup>2)</sup> oder durch Erhitzen mit Kupferoxyd<sup>3)</sup>, so erhält man Stoffgemische, die im Test auf Corpus-luteum-Hormon hoch wirksam sind; 2) Schützt man die Doppelbindung des Oxy-ketons (I) zunächst durch Anlagerung von Brom und oxydiert das Dibromid (II) vorsichtig mit Chromsäure, so läßt sich aus den Oxydationsprodukten nach der Entbromung das Corpus-luteum-Hormon (III) in reiner Form isolieren<sup>3).</sup>

Wir sind noch mit dem Studium der oxydativen Umwandlungsprodukte des  $\Delta^5$ -Pregnenolons-(20) beschäftigt und beabsichtigen, über die Ergebnisse der Untersuchung nach ihrem Abschluß zusammenfassend zu berichten<sup>3).</sup> Eine kurze Notiz von Fernholz<sup>4)</sup>, die gleichzeitig mit unserer letzten Mitteilung erschien, veranlaßt uns, in dieser Mitteilung die Reindarstellung des Corpus-luteum-Hormons aus Stigmasterin durch kurze experimentelle Angaben zu belegen. Fernholz hat die Umwandlung des Oxy-ketons (I) in Corpus-luteum-Hormon auf prinzipiell gleichem Wege, durch Dehydrierung des Dibromides (II), durchgeführt; das von ihm erhaltene Diketon C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub> wurde durch Schmelzpunkt (129°), Ultraviolett-Absorption und durch ein Dioxim (Schmp. 246–248°) gekennzeichnet; da ihm jedoch die Möglichkeit zum Vergleich mit natürlichem Corpus-luteum-Hormon fehlte,

<sup>2)</sup> H. Theorell, Biochem. Ztschr. **272**, 155 [1934].

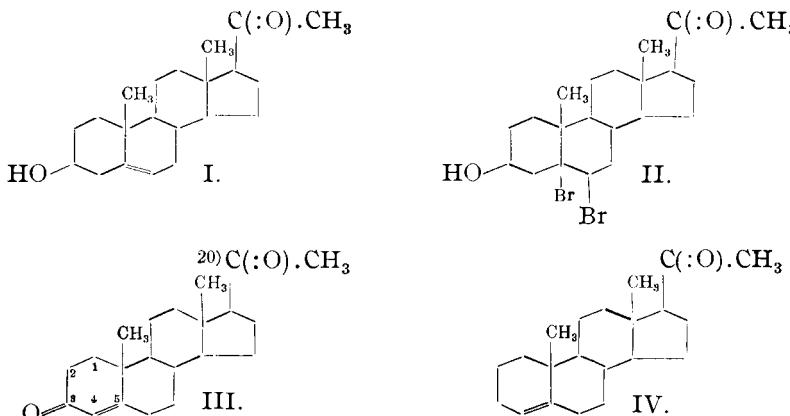
<sup>1)</sup> Butenandt u. Schmidt, B. **67**, 1901 [1934].

<sup>2)</sup> Butenandt, Westphal, Cobler, B. **67**, 1611 [1934].

<sup>3)</sup> B. **67**, 1903 [1934].

<sup>4)</sup> B. **67**, 1855 [1934].

ist die Frage nach der Identität seines Diketons mit dem Hormon des Gelbkörpers offen geblieben, sie soll „in eingehender Untersuchung geprüft werden“. Nach unseren Ergebnissen ist es nicht zweifelhaft, daß Fernholz die hochschmelzende Modifikation des Corpus-luteum-Hormons (III) in der Hand hat, die wir auf prinzipiell gleichartigem Wege darstellten.



Durch die beiden „Synthesen“ des Corpus-luteum-Hormons ist die Konstitution dieses Wirkstoffes in allen Einzelheiten aufgeklärt worden: es liegt ein  $\Delta^4$ -Pregnendion-(3.20) (III) vor. Der Beweis für die Lage der Doppelbindung zwischen C<sub>4</sub> und C<sub>5</sub> ergibt sich aus folgendem: 1) Die Darstellung des Hormons aus Pregnandiol fordert für die Stellung der Doppelbindung in Übereinstimmung mit dem Ultraviolet-Absorptionsspektrum<sup>5)</sup> eine  $\alpha, \beta$ -ständige Lage zur Ketogruppe, und zwar zwischen C<sub>4</sub>—C<sub>5</sub> oder C<sub>1</sub>—C<sub>2</sub>, je nachdem ob das Brom am C-Atom (2) oder (4) eingetreten ist. 2) Die Oxydation des ungesättigten Oxy-ketons (I) muß zu einem Diketon führen, das die Doppelbindung an der Ringverknüpfungsstelle (C<sub>5</sub>) trägt. Bei zusammenfassender Deutung der Befunde ist für die Lage der Doppelbindung nur die Stellung zwischen C<sub>4</sub>—C<sub>5</sub> möglich; bei der Entbromung des bei der Dehydrierung von II gebildeten Dibrom-diketons findet in völliger Analogie zum Übergang des Cholesterins in Cholestenon<sup>6)</sup> eine Verschiebung der Doppelbindung in die  $\alpha, \beta$ -Stellung zur Ketogruppe statt.

Gegenüber diesen Befunden, die die Richtigkeit der Konstitutionsformel III für das Corpus-luteum-Hormon außer Zweifel stellen, ist uns eine Feststellung von K. H. Slotta, H. Ruschig und E. Blanke<sup>7)</sup>, auf die sie einen Konstitutions-Beweis gründen, nicht verständlich: Sie haben aus Gelbkörper-Hormon einerseits und aus dem Oxy-keton I andererseits durch Hydrierung zu einem Diol-Gemisch und anschließende Oxydation ein und dasselbe Diketon bereitet, das durch einen Schmp. von 188° gekennzeichnet wurde. Nun läßt die Hormon-Formel III bei der Absättigung der Doppelbindung zwei isomere Diketone erwarten, das Pregnandion<sup>8)</sup> und das

<sup>5)</sup> Slotta u. Mitarb., B. **67**, 1270, 1947 [1934]; Allen u. Wintersteiner, Science **80**, 190 [1934]; Journ. biol. Chem. **107**, 321 [1934].

<sup>6)</sup> Bonstedt, Ztschr. physiol. Chem. **214**, 173 [1934].

<sup>7)</sup> B. **67**, 1947 [1934].

<sup>8)</sup> B. **63**, 659 [1930], **64**, 2529 [1931].

*allo*-Pregnandion<sup>9</sup>); beide sind durch unsere Arbeiten bekannt, sie schmelzen bei 123° bzw. 200.5°. Es wird zu prüfen sein, was in dem von Slotta bereiteten — noch nicht analysierten — Stoff vom Schmp. 188° vorliegt.

Wir wollen erwähnen, daß man bei Entbromung des durch Oxydation von II erhaltenen Dibrom-diketons mit Zink und Eisessig unter energischeren Bedingungen die Reduktion einer Carbonylgruppe im Corpus-luteum-Hormon erzielt; das so darstellbare Desoxo-Hormon C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O der sehr wahrscheinlichen Formel IV zeigt einen Schmp. von 105° (unkorr.). Es ist erwartungsgemäß mit 0.75 mg im Test auf Corpus-luteum-Hormon unwirksam.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, der Rockefeller Foundation und der Schering-Kahlbaum A.-G., Berlin, danken wir für die Unterstützung unserer Arbeiten.

### Beschreibung der Versuche.

#### Bromierung des Δ<sup>5</sup>-Pregneno1ons-(20) (I).

70 mg des Oxy-ketons (I) wurden in 10 ccm Eisessig gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 35.3 mg Brom in 3 ccm Eisessig versetzt. Es trat schnelle Entfärbung des Broms ein. Die Lösung wurde direkt der Oxydation unterworfen.

Oxydation des Dibromides (II): Zu der Bromierungs-Lösung wurde in der Kälte tropfenweise eine 5 Atomen Sauerstoff entsprechende Menge Chromtrioxyd in 13 ccm Eisessig hinzugegeben. Nach 20-stdg. Aufbewahren bei 20° wurde die Reaktions-Lösung in Wasser gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen der ätherischen Lösung hinterblieb ein farbloses Öl, das mit 2 ccm Eisessig und etwa 1 g Zinkstaub 10' auf dem Wasserbade erwärmt wurde; das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser gefällt, in Äther aufgenommen und im Hochvakuum (130°, 10<sup>-3</sup> mm) sublimiert. Das Roh-krystallisat zeigte einen Schmp. von 90—107°, es wurde aus verd. Alkohol bis zum konstanten Schmp. 128.5° umgelöst. Das Krystallisat zeigte alle Eigenschaften des natürlichen bzw. des aus Pregnadiol bereiteten Corpus-luteum-Hormons, mit dem es bei der Mischprobe keine Depression gab. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 193.5°,

Bei energischerer Behandlung des oxydierten Dibromids mit Zink und Eisessig tritt neben der Entbromung die Reduktion einer Ketogruppe zur Methylengruppe ein. Das auf diese Weise entstandene Desoxo-Corpus-luteum-Hormon (IV) krystallisiert aus verd. Alkohol in Nadeln vom Schmp. 105° (unkorr.). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 96.4°.

3.881 mg Sbst.: 11.910 mg CO<sub>2</sub>, 3.670 mg H<sub>2</sub>O. — 0.250, 0.237 mg Sbst. in 2.950, 2.770 mg Campher: Δ = 11.0, 11.0°.

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O. Ber. C 83.93, H 10.74. Molgew. 300.  
Gef. „ 83.70, „ 10.58. „ 307, 311.

<sup>9</sup>) Ztschr. physiol. Chem. 227, 84 [1934].