

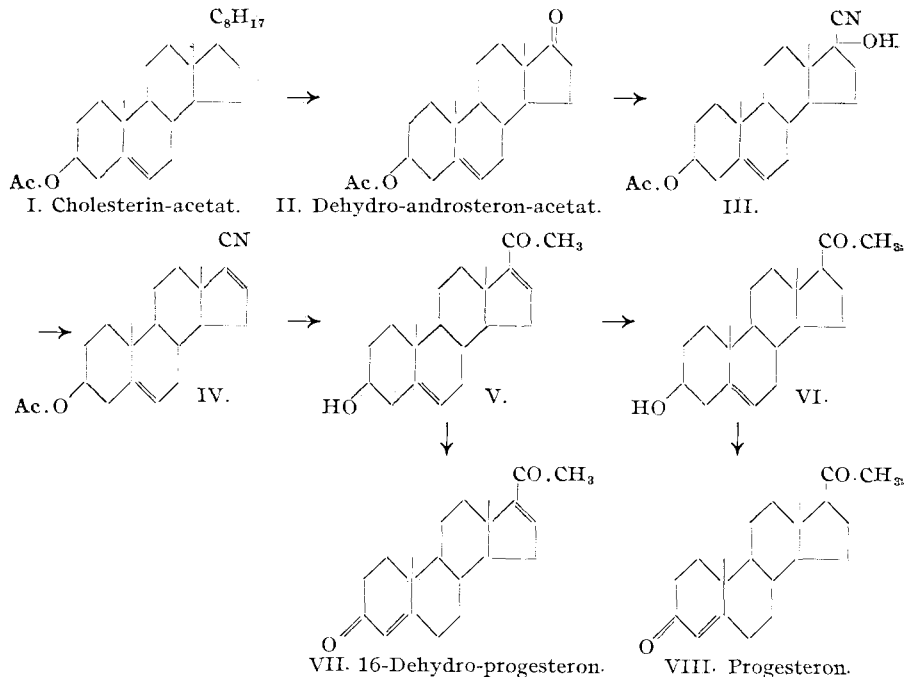
### 34. Adolf Butenandt und Josef Schmidt-Thomé: Überführung von Dehydro-androsteron in Progesteron: ein einfacher Weg zur künstlichen Darstellung des Schwangerschaftshormons aus Cholesterin.

[Aus d. Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 22. Dezember 1938.)

Seitdem wir im Jahre 1934 das Gelbkörperhormon Progesteron (VIII) aus Pregnandiol<sup>1)</sup> und aus Stigmasterin<sup>2)</sup> künstlich gewonnen haben, sind wir ununterbrochen damit beschäftigt gewesen, einen Weg zu finden, der eine einfache Darstellung des Progesterons aus Cholesterin ermöglicht. In erster Linie haben wir versucht, das aus Cholesterin technisch leicht zu bereitende Dehydro-androsteron<sup>3)</sup>, das bereits Ausgangsmaterial für die Synthese des männlichen Prägungstoffes Testosteron<sup>4)</sup> bildet, in Progesteron überzuführen. Dazu war in erster Linie notwendig, die im 5-Ring vorliegende  $>\text{CO}$ -Gruppe in eine  $>\text{CH.CO.CH}_3$ -Gruppe abzuwandeln. Sehr zahlreiche Versuche unter Verwendung verschiedenartigster Reaktionswege führten lange Zeit zu keinem befriedigenden Ergebnis; nunmehr haben wir einen Weg gefunden, der die Überführung des Dehydro-androsterons in Progesteron in einfacher Weise und sehr guter Ausbeute gestattet. Damit wurde das Ziel unserer Arbeit, Progesteron aus Cholesterin zu gewinnen, erreicht.

Der von uns eingeschlagene Weg durchläuft die aus folgender Formelzusammenstellung ersichtlichen Stufen:



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

<sup>2)</sup> A. Butenandt, U. Westphal u. H. Cobler, B. **67**, 1611, 2085 [1934]; **69**, 443 [1936].

<sup>3)</sup> Literatur: Ztschr. physiol. Chem. **237**, 57 [1935].

<sup>4)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **237**, 89 [1935].

Man erkennt, daß es sich in allen Phasen um die Anwendung bekannter Umsetzungen handelt; die Ausarbeitung der experimentellen Durchführung hat jedoch sehr viel Mühe gemacht, und es waren jeweils eine große Zahl von Serienversuchen notwendig, um günstige Bedingungen für den Verlauf der einzelnen Reaktionsstufen aufzufinden.

Die Überführung des Dehydroandrosteron-acetates (II) in das Cyanhydrin (III) und das doppelt ungesättigte Nitril (IV) ist bereits in einer früheren Arbeit beschrieben worden<sup>5)</sup>. Wir fanden inzwischen, daß der nicht leicht zu erzielende Übergang vom Cyanhydrin (III) zum ungesättigten Nitril (IV) in der Ausbeute verbessert werden kann, wenn man die Umsetzung des Cyanhydrins mit Pyridin und Phosphoroxychlorid durch  $1\frac{1}{2}$ -stdg. Erhitzen auf  $150^\circ$  vornimmt. Unter diesen Bedingungen erfolgt die Wasserabspaltung zum Nitril (IV) in einer Ausbeute von 79%. Durch Erhitzen von IV mit alkoholischem Alkali wurde die 3-ständige Acetylgruppe verseift und auch das freie 17-Cyan- $\Delta^{5,16}$ -androstadien-ol-(3) dargestellt.

Bringt man das ungesättigte Nitril (IV) in ätherischer Lösung mit Methyl-magnesiumbromid in Reaktion, so erhält man — bei genauer Einhaltung der im Versuchsteil näher beschriebenen Bedingungen — in einer Ausbeute von 75% das  $\Delta^{5,16}$ -Pregnadien-ol-(3)-on-(20) (V). Der neue Stoff zeigt einen Schmp. von  $216^\circ$  (unkorr.) und ein für  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketone charakteristisches Maximum der Ultraviolettabsorption bei  $237 m\mu$  (s. Abbild.); er wurde durch ein Oxim und ein Acetat näher gekennzeichnet.

Die Umsetzung des ungesättigten Nitrils (IV) zum Pregnadienolon (V) läßt sich auch mit Methyl-magnesiumjodid durchführen, jedoch verläuft die Reaktion unter diesen Bedingungen sehr viel ungleichmäßiger und mit geringerer Ausbeute. Wie bereits in anderem Zusammenhang mitgeteilt wurde<sup>6)</sup>, haben wir in einem unter diesen Bedingungen durchgeführten Versuch das Pregnadienolon (V) in Blättchen vom Schmp.  $178^\circ$  isoliert. Das Auftreten einer Verbindung von diesem tiefer gelegenen Schmp. ist später nie mehr wieder beobachtet worden; wir nehmen an, daß es sich um eine poly-

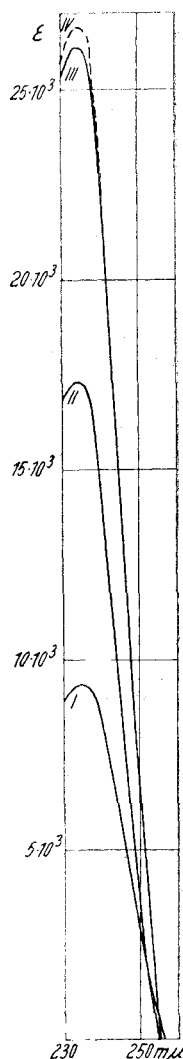
#### Absorptionskurven im Ultraviolett.

- I.  $\Delta^{5,16}$ -Pregnadien-ol-(3)-on-(20) [Formel V].
- II. Progesteron [Formel VIII].
- III. 16-Dehydro-progesteron [Formel VII].
- IV. ---- berechnet durch Addition von Kurve I und Kurve II.

$$\text{Extinktionskoeffizient } \varepsilon = \frac{M}{c \cdot d} \log \frac{J_0}{J} \text{ cm}^{-1}.$$

$M$  = Mol.-Gewicht,  $c$  = g pro  $l$ ,  $d$  = Schichtdicke in cm.

Lösungsmittel: Äther.



<sup>5)</sup> A. Butenandt u. J. Schmidt-Thomé, B. **71**, 1487 [1938].

<sup>6)</sup> A. Butenandt u. J. Schmidt-Thomé, Naturwiss. **26**, 253 [1938].

morphe Krystallmodifikation gehandelt hat, da wir bei der Umsetzung mit Hydroxylamin aus den beiden Krystallisaten vom Schmp. 216° bzw. 178° das gleiche Oxim erhalten haben.

Behandelt man das Pregnadienolon (V) mit Aluminiumisopropylat in Gegenwart von Cyclohexanon<sup>7)</sup>, so gelingt es leicht, die am C<sub>3</sub> befindliche Alkoholgruppe zur Ketogruppe zu oxydieren; unter gleichzeitiger Verschiebung der Doppelbindung bildet sich das 16-Dehydroprogesteron (VII). Es krystallisiert in Blättchen vom Schmp. 186—188°; das Ultraviolett-Absorptionsspektrum dieses 2-fach  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Ketons zeigt ein Maximum bei 234 m $\mu$ . Wie aus der Abbild. hervorgeht, ergibt sich die Höhe der Absorption genau durch Addition der Absorptionskurven des Pregnadienolons (V) und des Progesterons (VIII)<sup>8)</sup>.

Das Pregnadienolon (V) ist in alkalischer Lösung mit Raney-Nickel leicht partiell hydrierbar zum  $\Delta^5$ -Pregnenolon (VI)<sup>2)</sup>, dessen Überführung in Progesteron (VIII) eine bekannte Reaktion darstellt<sup>2)</sup>. Die Gesamtausbeute an Progesteron beträgt nach der beschriebenen Methode etwa 40%, bezogen auf Dehydro-androsteron.

#### Zur physiologischen Wirkung des 16-Dehydro-progesterons (VII).

Da das 16-Dehydro-progesteron (VII) sich nur durch das Mehr einer  $\alpha$ ,  $\beta$ -ständigen Doppelbindung vom Progesteron unterscheidet, erschien uns seine nähere physiologische Auswertung von Interesse. Im Test auf Progestin-Wirksamkeit<sup>9)</sup> am infantilen Kaninchen ist das Dehydroprogesteron mit 5 mg ohne Wirkung. Dieser Befund unterstreicht erneut die relativ hohe Spezifität der Progesteron-Wirksamkeit.

Während das 16-Dehydro-progesteron keine oestrogenen Eigenschaften entfaltet (4  $\times$  500  $\gamma$  sind ohne jeden Einfluß auf den Zellinhalt der Vagina einer kastrierten weiblichen Maus), bewirkt es ein geringes Wachstum des Kapaunenkammes: Nach subcutaner Injektion von 2  $\times$  3 mg ist zwar noch kein eindeutiges Flächenwachstum des Kammes feststellbar, jedoch wurde nach der Methode von Fußgänger durch direktes Aufpinseln von 5  $\times$  30  $\gamma$  in ölgiger Lösung auf den Kamm ein Flächenwachstum um 26—28%, von 5  $\times$  50  $\gamma$  ein solches um 35—39% erzielt.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Schering A.-G. für die weitgehende Unterstützung der vorliegenden Arbeit. Die Prüfung des Dehydro-progesterons auf Progestin-Wirkung wurde von Hrn. Dr. Hohlweg im Hauptlaboratorium der Schering A.-G., die übrigen physiologischen Versuche wurden von Frl. D. von Dresler und Frl. U. Meinerts in unserem Institut durchgeführt. Die Absorptionsmessungen verdanken wir Hrn. Dr. H. Dannenberg.

<sup>7)</sup> Methodik: R. V. Oppenauer, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **56**, 137 [1937]; H. H. Inhoffen, W. Logemann, W. Hohlweg u. A. Serini, *B.* **71**, 1032 [1938].

<sup>8)</sup> Über einen analogen Fall vergl. A. Butenandt u. D. Peters, *B.* **71**, 2688 [1938].

<sup>9)</sup> A. Butenandt, U. Westphal u. W. Hohlweg, *Ztschr. physiol. Chem.* **227**, 84 [1934].

**Beschreibung der Versuche<sup>10)</sup>.**

Wasserabspaltung aus Dehydroandrosteron-cyanhydrin-acetat-(3) mit Phosphoroxychlorid und Pyridin<sup>11)</sup>.

400 mg Cyanhydrin-acetat-(3) (Isomerengemisch) wurden in einer Mischung von 10 ccm Pyridin und 0.15 ccm Phosphoroxychlorid (etwa 2-fache theoretische Menge) im Einschlußrohr 1½ Stdn. auf 150° erwärmt. Die dunkelbraune, aber noch durchsichtige Lösung wurde in eine Mischung von Eis und 40 ccm konz. Salzsäure gegossen und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Er wurde in Aceton gelöst und von unlöslichen, dunkelgefärbten Flocken durch Filtration getrennt. Nach dem Einengen der Lösung und Anspritzen mit Wasser krystallisierten 300 mg 17-Cyan-3-acetoxy- $\Delta^{5,16}$ -androstadien vom Schmp. 206°, Ausb. 79% d. Theorie.

Umsetzung des 17-Cyan-3-acetoxy- $\Delta^{5,16}$ -androstadiens (IV) mit Methyl-magnesiumbromid.

Zu 5 g Magnesiumspänen unter 20 ccm absol. Äther, denen zur Aktivierung einige Körnchen Jod zugegeben waren, wurde unter Eiskühlung allmählich (durch Kältemischung gekühltes) Methylbromid hinzugefügt, bis die nach einiger Zeit in Gang gekommene Auflösung des Metalles fast beendet war. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde noch einige Minuten zum Sieden erhitzt. Die siedende Grignard-Lösung wurde anschließend mit einer Lösung von 1.8 g 17-Cyan-3-acetoxy- $\Delta^{5,16}$ -androstadien versetzt und 46 Stdn. im Sieden erhalten. Zur Zersetzung des Grignard-Produktes wurden unter Rückfluß und äußerer Kühlung langsam 60 ccm Eisessig und nach Beendigung der heftigen Reaktion noch etwa 40 ccm Wasser hinzugefügt. Der Äther wurde aus der Mischung abdestilliert und die wäßrige Eisessiglösung mit soviel Wasser versetzt, daß die zunächst entstehende Trübung in der Wärme gerade wieder verschwand. Zur Spaltung von etwa noch nicht hydratisierten Ketiminen wurde nochmals 15 Min. zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde in Wasser gegossen; der entstandene Niederschlag lieferte durch Umlösen aus Aceton 1.26 g Rohprodukt in Blättchen vom Schmp. 212° (75% d. Th.). Zur Analyse wurde aus Essigester umkrystallisiert, wobei das  $\Delta^{5,16}$ -Pregnadien-ol-(3)-on-(20) (V) in kleinen prismatischen Nadeln erhalten wurde, die bei 216° unter Gelbfärbung schmolzen.

5.035 mg Sbst.: 14.760 mg CO<sub>2</sub>, 4.310 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 80.21, H 9.61. Gef. C 80.01, H 9.58.

Die Ultraviolett-Absorptionskurve zeigt das für  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Ketone charakteristische Maximum bei 237 m $\mu$  (s. Abbild.).

Oxim: 55 mg des Ketons (V) wurden in Alkohol mit Hydroxylaminacetat (aus 100 mg NH<sub>2</sub>OH, HCl + 100 mg NaAc) 25 Min. gekocht. Die Reaktionslösung wurde in Wasser eingegossen und der ausgefallene Niederschlag abfiltriert. Aus wäßr. Eisessig wurde das Oxim in feinen verfilzten Nadelchen erhalten, die sich bei 215–220° zersetzen. Durch den Eisessig tritt teilweise Spaltung des Oxims in der Lösung ein.

1.757 mg Sbst.: 0.060 ccm N (21°, 752 mm).

C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>N. Ber. N 4.25. Gef. N 3.93.

Die Mischprobe mit dem bei 215° schmelzenden Oxim des bei 178° schmelzenden Pregnadienolons<sup>6)</sup> ergab keine Depression.

<sup>10)</sup> Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

<sup>11)</sup> Vergl. B. 71, 1490 [1938].

Acetat: 500 mg Pregnadienolon (V) wurden in einer Mischung von 5 ccm Essigsäure-anhydrid und 5 ccm Pyridin eine Nacht bei etwa 18° aufbewahrt. Das Reaktionsgemisch wurde in Wasser gegossen und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Aus wäßr. Aceton krystallisierten 455 mg Acetat in feinen langen Nadeln vom Schmp. 176° und der opt. Drehung  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-33.4^\circ$  (in Alkohol). Zur Analyse wurde aus Alkohol umkrystallisiert.

5.163 mg Sbst.: 14.660 mg CO<sub>2</sub>, 4.210 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.49, H 9.05. Gef. C 77.48, H 9.12.

#### Oxydation des Pregnadienolons (V) zum 16-Dehydroprogesteron (VII).

500 mg Pregnadienolon (V) wurden in 5 ccm trockenem Cyclohexanon gelöst, eine Lösung von 700 mg frisch destilliertem Aluminiumisopropylat in 30 ccm Toluol hinzugefügt und die Mischung 45 Min. zum Sieden erhitzt. Nach dem Zusatz von Wasser wurden das Cyclohexanon und das Toluol mit Wasserdampf übergetrieben. Die wäßrige Lösung wurde ohne Rücksicht auf ausgeschiedenes Aluminiumhydroxyd ausgeäthert. Der nach Abdampfen des Äthers hinterbliebene krystalline Rückstand ergab, aus Aceton umgelöst, 380 mg Rohprodukt vom Schmp. 175°; es enthielt noch unveränderten Ausgangsstoff. Zu dessen Entfernung wurde es in 15 ccm trockenem Chloroform gelöst, mit 5 ccm Pyridin und unter Eiskühlung mit einer gekühlten Mischung von 1.5 ccm Chlorsulfonsäure und 6 ccm Chloroform versetzt. Ungeachtet eines hierbei ausgefallenen krystallinen Niederschlags wurde das Reaktionsgemisch 15 Min. zum Sieden erhitzt. Darauf wurde eine Lösung von 8 g Soda in 20 ccm Wasser zugefügt und die Mischung mit Äther ausgeschüttelt. Nach Abfiltrieren unlöslicher Salze wurde die Ätherlösung mit verd. Schwefelsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wurden aus wäßr. Aceton 235 mg 16-Dehydroprogesteron (VII) in Blättchen vom Schmp. 186° erhalten. Zur Analyse wurde aus Essigester umkrystallisiert: Schmp. 186—188°. Da die Krystalle sehr hartnäckig Krystallwasser festhalten, wurde der reine Stoff im Wasserstrahlvakuum bei 210—220° sublimiert. Erst mit diesem Produkt wurden richtige Analysenwerte erhalten.

5.093 mg Sbst.: 15.085 mg CO<sub>2</sub>, 4.110 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 80.73, H 9.03. Gef. C 80.83, H 9.03.

Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum des 16-Dehydroprogestérons zeigt ein Maximum bei 234 mμ (s. Abbild.).

#### Hydrierung des Δ<sup>5,16</sup>-Pregnadien-ol-(3)-ons-(20) (V) zum Δ<sup>5</sup>-Pregnen-ol-(3)-on-(20) (VI).

300 mg Pregnadienolon (V) wurden in 20 ccm Alkohol gelöst und unter Zusatz von 0.15 g Natronlauge in 3 ccm Wasser mit Raney-Nickel bis zur Sättigung hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung in Wasser gegossen. Der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert und ergab nach dem Umkrystallisieren aus wäßr. Aceton 260 mg Δ<sup>5</sup>-Pregnenolon (VI) als Rohprodukt vom Schmp. 181°. Durch Umkrystallisieren aus wäßr. Alkohol wurde reines Δ<sup>5</sup>-Pregnen-ol-(3)-on-(20) in Blättchen vom Schmp. 188—190° erhalten, das mit aus Stigmasterin hergestelltem Pregnenolon<sup>2)</sup> bei der Mischprobe keine Depression ergab.

Zur weiteren Identifizierung wurden 100 mg des so erhaltenen Hydrierungsproduktes durch 5 Min. langes Kochen mit einer Mischung von 2 ccm Pyridin und 2 ccm Essigsäure-anhydrid acetyliert. Das reine Acetat vom Schmp. 144—146° zeigte mit aus Stigmasterin bereitetem Pregnenolon-acetat vom Schmp. 146° keine Depression bei der Mischprobe.

Verseifung des 17-Cyan-3-acetoxy- $\Delta^{5,16}$ -androstadiens zum 17-Cyan- $\Delta^{5,16}$ -androstadien-ol-(3).

300 mg des ungesättigten Nitril-acetates (IV) wurden in 10 ccm Alkohol gelöst, 0.1 g Natronlauge in 1 ccm Wasser hinzugefügt und die Mischung 10 Min. gekocht. Anschließend wurde in Wasser eingegossen und der ausgefallene Niederschlag abfiltriert. Aus verd. Aceton krystallisierten 210 mg Rohprodukt in Nadeln vom Schmp. 172°, die bei 149° stark sinterten. Nach dem Umkrystallisieren aus Essigester schmilzt das 17-Cyan- $\Delta^{5,16}$ -androstadien-ol-(3) scharf bei 176°. Da die Krystalle sehr fest gebundenes Krystallwasser enthielten, wurde im Wasserstrahlvakuum bei 220—230° sublimiert und die so erhaltenen Nadeln zur Analyse verwendet.

5.012 mg Sbst.: 14.835 mg CO<sub>2</sub>, 4.060 mg H<sub>2</sub>O. — 2.575 mg Sbst.: 0.100 ccm N (26°, 737 mm).

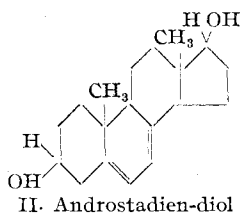
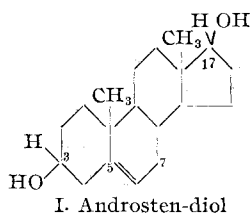
C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>ON. Ber. C 80.76, H 9.15, N 4.71. Gef. C 80.77, H 9.07, N 4.30.

Man erhält das freie 17-Cyan- $\Delta^{5,16}$ -androstadien-ol-(3) auch bei nicht genügend langer Einwirkung des Grignard-Reagens auf 17-Cyan-3-acetoxy- $\Delta^{5,16}$ -androstadien bei dessen Umsetzung mit CH<sub>3</sub>MgBr.

### 35. Karl Dimroth und Josef Paland: Über die Ultraviolettbestrahlung des $\Delta^{5,7}$ -Androstadien-diols-(3.17).

[Aus d. Allgem. Chem. Universitätslaborat. Göttingen u. d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]  
(Eingegangen am 22. Dezember 1938.)

Vor kurzem haben Butenandt, Hausmann und Paland<sup>1)</sup> aus  $\Delta^5$ -Androsten-diol-(3.17) (I) das  $\Delta^{5,7}$ -Androstadien-diol-(3.17) (II) dargestellt. Sie haben dabei denselben Weg eingeschlagen, der von A. Windaus, H. Lettré und F. Schenck<sup>2)</sup> zur Bereitung des 7-Dehydro-cholesterins benützt worden ist, und der inzwischen auch zur Darstellung anderer ähnlich gebauter Sterine aus den  $\Delta^5$ -ungesättigten Verbindungen geführt hat.



Das Androstadien-diol (II) besitzt ein hervorragendes Interesse für den physiologisch arbeitenden Chemiker, da es einerseits den Keimdrüsen-

<sup>1)</sup> B. 71, 1316 [1938].

<sup>2)</sup> A. 520, 98 [1935].