

290. Über Steroide und Sexualhormone.

157. Mitteilung¹⁾.

Über die reduktive Aufspaltung von Steroid-epoxyden mit Lithium-aluminiumhydrid, II. Eine neue Synthese der Cortico-Steroide J und O

von Pl. A. Plattner, H. Heusser und M. Feurer.

(20. X. 48.)

Bei der Oxydation von $\Delta^{16}\text{-}3\beta\text{-Acetoxy-20-keto-5-allo-pregnen}$ (Ia) mit Wasserstoffperoxyd in Eisessig erhielten Marker und Mitarbeiter²⁾ eine Verbindung der Bruttozusammensetzung $C_{23}H_{34}O_4$, für die keine Konstitution angegeben wurde. In einer früheren Mitteilung dieser Reihe³⁾ konnten wir zeigen, dass dieselbe Verbindung auch bei der Behandlung des α, β -ungesättigten Ketons Ia mit Benzopersäure entsteht. Wir teilten diesem Oxydationsprodukt von Ia die Formel II eines Oxido-ketons zu. Obwohl im allgemeinen α, β -ungesättigte Ketone von Persäuren nicht angegriffen werden⁴⁾, verlief in diesem Falle die Reaktion glatt und mit guter Ausbeute.

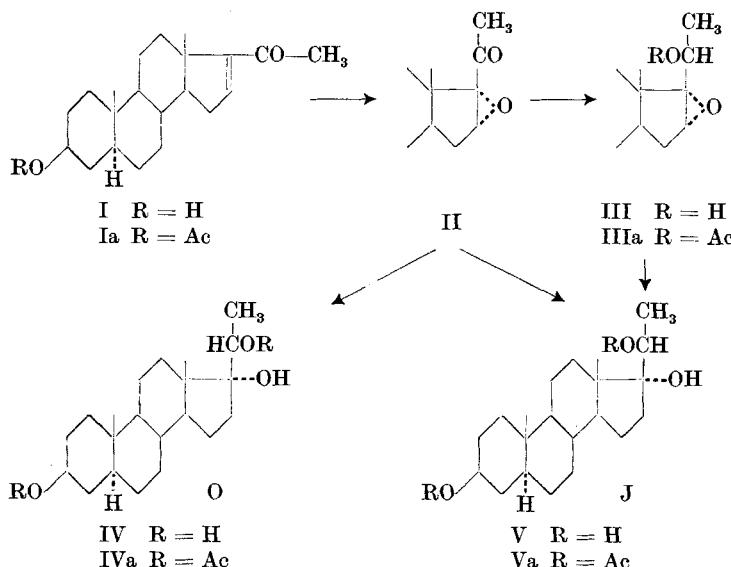
Über die Konfiguration dieses Oxido-ketons II an den Kohlenstoffatomen 16 und 17 wurden in unserer früheren Mitteilung⁵⁾ keine Angaben gemacht. Die Bildungsweise dieser Substanz⁶⁾ liess jedoch das Vorliegen einer $16\alpha, 17\alpha$ -Oxido-Verbindung vermuten, d. h. die Seitenkette wäre bei II in 17β -Stellung angeordnet und der Oxido-Sauerstoff somit in sterisch gleicher Lage wie das 17-ständige Hydroxyl der natürlichen 17-Oxy-Cortico-Steroide.

Nun ist in diesen letzteren das Hydroxyl ausserordentlich reaktionsträge, während an der Ketogruppe C 20 leicht Reaktionen vorgenommen werden können⁷⁾. Entsprechend konnte im Oxyd II die Keto-Gruppe an C 20 leicht zum Alkohol reduziert werden, und dieser lieferte bei der Oxydation mit Chromtrioxyd das Ausgangsmaterial zurück. Es gelang jedoch auch unter sehr energischen Reaktionsbedingungen nicht, die Oxido-Brücke in II auf katalytischem Wege reduktiv aufzuspalten.

¹⁾ 156. Mitteilung Helv. **31**, 1885 (1948).²⁾ R. E. Marker, E. M. Jones und E. L. Wittbecker, Am. Soc. **64**, 468 (1942).³⁾ Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser und E. Angliker, Helv. **30**, 385 (1947).⁴⁾ E. Weitz und A. Scheffer, B. **54**, 2327 (1921).⁵⁾ Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser und E. Angliker, Helv. **30**, 385 (1947).⁶⁾ Über den sterischen Verlauf von Reaktionen am Kohlenstoffatom 17 vgl. L. F. Fieser und M. Fieser, Exper. **4**, 285 (1948).⁷⁾ Vgl. J. von Euw und T. Reichstein, Helv. **30**, 205 (1947); bei epimerer Lage von Hydroxyl und Seitenkette liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt; die 17-Oxy-Gruppe (17β) ist leicht acetylierbar, während die Carbonyl-Gruppe der Seitenkette gehemmt erscheint.

Einerseits wurde also durch diese Reaktionen die angenommene Konfiguration ($16\alpha, 17\alpha$ -Oxyd) bestätigt, anderseits konnte, vermutlich gerade wegen dieser sterisch stark gehinderten Anordnung des Oxido-Sauerstoffs, aus II kein 17α - bzw. 16α -Oxy-Steroid bereitet werden.

Nun fanden wir aber vor kurzem¹⁾, dass das neue Reduktionsmittel Lithiumaluminiumhydrid in einheitlicher Reaktion auch eine Reihe solcher Steroid-epoxyde reduktiv aufzuspalten vermag, die von katalytisch erregtem Wasserstoff kaum angegriffen werden. Bei der Übertragung dieser neuen Reduktionsmethodik für Epoxyde auf das Oxido-keton II wurde nun ein Gemisch von Substanzen erhalten, aus dem sich ca. 40 % Substanz J²⁾ ($3\beta, 17\alpha, 20\beta$ -Trioxy-5-allo-pregnan V) in Form des freien Alkohols V und des Diacetats Va, ca. 20 % Substanz O³⁾ ($3\beta, 17\alpha, 20\alpha$ -Trioxy-5-allo-pregnan IV) in Form des Diacetats IVa und ca. 25 % einer weiteren Verbindung (III?) isolieren liessen. Für die letzte dieser drei Substanzen nehmen wir auf Grund der Bruttoformel unter Vorbehalt die Konstitution



eines $3\beta, 20\beta$ -Dioxy- $16\alpha, 17\alpha$ -oxido-5-allo-pregnans (III) an, da diese Verbindung durch eine nochmalige Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid, allerdings nur mit schlechter Ausbeute, in Substanz J um-

¹⁾ Pl. A. Plattner, H. Heusser und A. B. Kulkarni, Helv. **31**, 1885 (1948).

²⁾ T. Reichstein, Helv. **19**, 1107 (1936).

³⁾ M. Steiger und T. Reichstein, Helv. **21**, 546 (1938); T. Reichstein und K. Gätzi, Helv. **21**, 1497 (1938); M. Sutter, J. C. Meystre und T. Reichstein, Helv. **22**, 618 (1939); H. Reich, M. Sutter und T. Reichstein, Helv. **23**, 170 (1940).

gewandelt werden kann. Durch die Überführung des Oxido-Ketons II in die Substanzen J und O ist gleichzeitig auch dessen Konfiguration an den Asymmetriezentren 16 und 17 bewiesen.

Somit ist es gelungen, auf einem neuen Weg zu 17α -Oxy-Steroiden zu gelangen, die in der räumlichen Anordnung des Asymmetriezentrums 17 der Konfiguration der natürlichen 17α -Oxy-Cortico-Steroide entsprechen. Der einzige bis heute präparativ gangbare Weg zur Bereitung solcher Verbindungen bestand bekanntlich in der Oxydation von $4^{17,20}$ -ungesättigten Steroiden mit Osmiumtetroxyd.

Wir danken der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹⁾.

Hydrierung von 3β -Acetoxy- $16\alpha, 17\alpha$ -oxido-20-keto-5-allo-pregnан (II) mit Lithiumaluminiumhydrid.

600 mg 3β -Acetoxy- $16\alpha, 17\alpha$ -oxido-20-keto-5-allo-pregnан (II)²⁾ vom Smp. 181° wurden in 30 cm³ absolutem Benzol gelöst und tropfenweise unter gutem Umrühren zu einer Lösung von 400 mg Lithiumaluminiumhydrid in 60 cm³ trockenem Äther gegeben. Nach Beendigung der ziemlich heftigen Reaktion wurde die Lösung noch weitere 40 Minuten unter Feuchtigkeitsausschluss zum Sieden erhitzt, anschliessend tropfenweise mit Wasser und dann mit 1-n. Schwefelsäure bis zur Trennung in eine klare wässrige und eine ätherische Schicht versetzt. Der Reaktionslösung wurde viel Äther zugefügt, die ätherische Schicht mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der amorphe Rückstand (604 mg) wurde an 30 g Aluminiumoxyd (Aktivität III) adsorbiert. Beinahe das gesamte eingesetzte Material wurde ohne wesentliche Trennung mit Benzol-Äther eluiert.

$3\beta, 17\alpha, 20\beta$ -Trioxy-5-allo-pregnан (V) (Substanz J).

Diese Benzol-Äther-Fraktionen (550 mg) lieferten aus Methanol-Wasser wenig Krystalle, die bei 180—195° schmolzen. Sie wurden zur Analyse 6-mal aus Methanol-Wasser umkristallisiert (79 mg) und anschliessend im Hochvakuum 42 Stunden bei 90° getrocknet. Smp. 223—224⁰³⁾.

$$[\alpha]_D^{21} = -7,9^{\circ} \text{ (c = 0,843 in Feinsprit)}$$

3,582 mg Subst. gaben 9,785 mg CO₂ und 3,389 mg H₂O

C₂₁H₃₆O₃ Ber. C 74,95 H 10,78% Gef. C 74,55 H 10,61%

Da durch das oben beschriebene Chromatogramm keine Trennung der freien Oxy-Verbindungen (III, IV und V) erzielt werden konnte und die Krystallisation der Hauptfraktionen nur 79 mg an reiner Substanz J lieferte, wurden sämtliche Mutterlaugen vereinigt (471 mg) und in einem Gemisch von 10 cm³ Pyridin und 15 cm³ Acetanhydrid in der Kälte in üblicher Weise acetyliert. Die rohen Acetate (493 mg) wurden nun einer zweiten chromatographischen Trennung an 25 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) unterworfen, wobei eine Trennung in folgende Substanzen erfolgte.

a) $3\beta, 20\beta$ -Diacetoxy- $16\alpha, 17\alpha$ -oxido-5-allo-pregnан (IIIa?). Die Petroläther-Benzol (4:1)-Fraktionen (192 mg) schmolzen roh bei 140—148° und gaben im Ge-

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

²⁾ Vgl. Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser und E. Angliker, Helv. **30**, 385 (1947).

³⁾ Gemischt mit authentischem Material vom Smp. 222—223° schmolz die Substanz bei 222—223°. Wir danken Hrn. Prof. Reichstein für die Überlassung einer Probe Substanz J.

misch mit dem weiter unten beschriebenen Diacetat Va eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Die Substanz wurde viermal bis zum konstanten Schmelzpunkt von 160—161° aus Methanol-Wasser umkristallisiert und anschliessend zur Analyse im Hochvakuum bei 90° 4 Tage getrocknet.

$$[\alpha]_D^{21} = +52,6^\circ \text{ (c = 0,679 in Aceton)}$$

3,732 mg Subst. gaben 9,792 mg CO₂ und 3,052 mg H₂O
 $C_{25}H_{38}O_5$ Ber. C 71,77 H 9,09% Gef. C 71,60 H 9,15%

b) 3β, 20β-Diacetoxy-17α-oxy-5-allo-pregnan (Va) (Substanz J-diacetat). Die Petroläther-Benzol (1:1)-Fraktionen (147 mg) schmolzen roh bei 148—152°. Zur Analyse wurde eine Probe viermal aus Äthanol-Wasser umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 160° sublimiert. Smp. 154—154,5°¹⁾.

$$[\alpha]_D^{21} = +29,8^\circ \text{ (c = 0,772 in Aceton)}$$

2,866 mg Subst. gaben 7,485 mg CO₂ und 2,465 mg H₂O
 $C_{25}H_{40}O_5$ Ber. C 71,39 H 9,59% Gef. C 71,27 H 9,62%

Substanz J (V). 40 mg Diacetat Va vom Smp. 152° wurden in 3,5 cm³ Methanol gelöst und mit 55 mg Kaliumhydroxyd 15 Minuten gekocht. Die Reaktionslösung wurde anschliessend in Wasser eingerührt und das ausgeschiedene Triol V durch Extraktion mit Äther aufgearbeitet. Das kristallisierte Rohprodukt (38 mg) schmolz nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äthanol-Wasser (28 mg) bei 223—224°. Die Mischung mit dem weiter vorne beschriebenen Präparat der Substanz J (V) schmolz genau gleich. Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum bei 90° 5 Tage getrocknet.

3,623 mg Subst. gaben 9,916 mg CO₂ und 3,478 mg H₂O
 $C_{21}H_{36}O_3$ Ber. C 74,95 H 10,78% Gef. C 74,69 H 10,74%

c) 3β, 20α-Diacetoxy-17α-oxy-5-allo-pregnan (IVa) (Substanz O-diacetat). Die Benzol-Fraktionen lieferten 112 mg eines kristallisierten Produktes vom Smp. 233—236°. Zur Analyse wurde eine Probe fünfmal aus Äthanol-Wasser umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum 60 Stunden bei 90° getrocknet. Smp. 243—244²⁾.

$$[\alpha]_D^{21} = -30,9^\circ \text{ (c = 0,377 in Aceton)}$$

3,641 mg Subst. gaben 9,501 mg CO₂ und 3,150 mg H₂O
 $C_{25}H_{40}O_5$ Ber. C 71,39 H 9,59% Gef. C 71,21 H 9,68%

Reduktion von 3β, 20-Diacetoxy-16α, 17α-oxido-5-allo-pregnan (IIIa ?) mit Lithiumaluminiumhydrid.

124 mg des vorne beschriebenen rohen 3β,20-Diacetoxy-16α,17α-oxido-5-allo-pregnans (IIIa ?) wurden in 10 cm³ absolutem Äther gelöst und tropfenweise unter gutem Röhren zu einer Lösung von 230 mg Lithiumaluminiumhydrid gegeben. Nach Beendigung der Reaktion wurde noch 45 Minuten zum Sieden erhitzt und anschliessend wie vorne beschrieben aufgearbeitet. Das amorphe Rohprodukt (103 mg) wurde acetyliert und anschliessend einer chromatographischen Reinigung an 12 g Aluminiumoxyd (Aktivität II—III) unterworfen. Die Petroläther-Benzol (1:1)-Fraktionen eluierten 38 mg Krystalle vom Smp. 141—147°. Nach dem Umkristallisieren aus Äthanol-Wasser schmolz die Substanz bei 147—149° und gab im Gemisch mit Substanz J-diacetat keine Schmelzpunktserniedrigung. Die übrigen Fraktionen konnten nicht zur Krystallisation gebracht werden.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

¹⁾ Im Gemisch mit authentischem Material vom Smp. 152,5—153,5° schmolz die Substanz bei 153—154°. Hrn. Prof. Reichstein danken wir für die Überlassung einer Probe Substanz-J-diacetat.

²⁾ Im Gemisch mit Substanz-O-diacetat vom Smp. 243—244° schmolz unser Präparat bei 242—243°. Wir danken Hrn. Prof. Reichstein für eine Probe O-diacetat.

Zusammenfassung.

Es wurde ein neuer Weg zur Bereitung von 17α -Oxy-Steroiden beschrieben. Diese entsprechen in der Konfiguration des Asymmetriezentrums 17 bekanntlich den 17-Oxy-Cortico-Steroiden. Die natürlichen Substanzen J und O wurden nach dieser Methodik partialsynthetisch hergestellt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

**291. Untersuchung der Lipidsynthese des Schimmelpilzes
Phycomyces Blakesleeanus mit Hilfe der Isotopentechnik¹⁾**
von Karl Bernhard und Hans Albrecht.

(20. X. 48.)

Mit Hilfe der Isotopen, besonders des schweren Wasserstoffes, konnte gezeigt werden, dass dem Aufbau der Lipide in pflanzlichen und tierischen Zellen Vorgänge zugrunde liegen, welche kleine Moleküle als Bausteine einschliessen. Hinweise über den Verlauf dieser Synthesen sind bereits vorhanden.

Der Deuterium-Gehalt von in Gegenwart von schwerem Wasser gebildeten Fettsäuren lässt das Ausmass stattfindender Fettsynthesen erkennen und erreicht bei Mäusen und Ratten für die gesättigten Fettsäuren 50—60% desjenigen des Körperwassers²⁾. Um im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Tieren von einem völlig fettfreien Milieu, also von vereinfachten Bedingungen auszugehen, haben wir die Fettsynthese beim Schimmelpilz *Phycomyces Blakesleeanus* mit Deuterium als Indicator untersucht und diesen Mikroorganismus, über dessen Fähigkeit zur Lipidbildung wir kürzlich berichteten³⁾, in einer Glucose- und D_2O -haltigen Nährlösung gezüchtet. Letztere wurde in Mengen von je 50 cm³ in Erlenmeyerkolben von 300 cm³ Inhalt verteilt. Nach Sterilisation impften wir mit reifen Sporen. Im ganzen führten wir 5 Züchtungsversuche zu je 40 Kulturen durch. Erfahrungsgemäss kommt das Pilzwachstum unter den gewählten Bedingungen nach etwa 10 Tagen zum Stillstand. Man darf an-

¹⁾ Vorgetragen auf Einladung der *Long Island Biological Association*, Cold Spring Harbor, New York (Symp. on quant. Biol. XIII. Biological Applications of Tracer Elements. 8.—16. Juni 1948).

²⁾ D. Rittenberg und R. Schoenheimer, J. Biol. Chem. **121**, 235 (1937); K. Bernhard und R. Schoenheimer, J. Biol. Chem. **133**, 713 (1940).

³⁾ K. Bernhard und H. Albrecht, Helv. **31**, 977 (1948).