

239. Selektive Reduktion der Carbonylgruppe in Stellung 3 von Steroiden durch Hefe¹⁾

von B. Camerino, C. G. Alberti und A. Vercellone.

(21. IX. 53.)

Die Reduktion der Carbonylgruppe von Steroiden durch die Einwirkung von gärender Hefe wurde mit Erfolg in der Gruppe der männlichen Wirkstoffe und der östrogenen Hormone durchgeführt²⁾. Bei Vertretern der Pregnanreihe hingegen wurde bisher keine biochemische Hydrierung von Ketogruppen durch Hefe festgestellt; zum Beispiel werden Pregnan-3,20-dion bzw. Allopregnan-3,20-dion nicht reduziert³⁾.

Mit dem Ziel, Pregnan-3 α -ol-11,20-dion⁴⁾, ein wichtiges Zwischenprodukt bei der Cortisonsynthese nach *Gallagher*⁵⁾, aus Pregnan-3,11-20-trion⁴⁾ herzustellen, haben wir letztere Verbindung einer 48-stündigen Einwirkung von gärender Hefe bei 27° ausgesetzt. Nach dieser Zeit waren etwa 20 % des Triketons reduziert; 60 % Ausgangsmaterial wurden zurückgewonnen. Nach 6-tägiger Gärung erhielten wir Pregnan-3 α -ol-11,20-dion mit einer Ausbeute von 60 %; die Verbindung war nach Smp., Misch-Smp., optischer Drehung sowie Smp. und Misch-Smp. seines Acetates mit authentischem, aus 3 α -Oxy-11-ketocholansäure durch Seitenkettenabbau⁶⁾ gewonnenem Material identisch.

Dasselbe Produkt wurde kürzlich durch Reduktion des Pregnan-3,11,20-trions mit Natriumborhydrid in wässrigem Pyridin hergestellt⁷⁾⁸⁾. In diesem Fall erfolgen also die chemische und die biochemische Reduktion in derselben sterischen Richtung. Es ist nun bekannt, dass durch chemische Mittel (katalytische Hydrierung, Natriumborhydrid, Lithiumaluminiumhydrid) aus Ketonen der 5 β -Reihe 3 α -Alkohole, und aus Ketonen der 5 α -Reihe 3 β -Alkohole gewonnen werden.

¹⁾ Vorgetragen auf der Somerversammlung der Schweiz. Chem. Gesellschaft am 6. September 1953 in Lugano; veröffentlicht mit besonderer Genehmigung des Redaktionskomitees.

²⁾ L. Mamoli & A. Vercellone, Z. physiol. Ch. **245**, 93 (1937), und folgende Arbeiten. Zusammenfassender Bericht: F. G. Fischer, „Biochemische Hydrierungen“ in „Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe“, Band III, S. 30, Verlag von Julius Springer, Wien 1939.

³⁾ L. Mamoli, B. **71**, 2701 (1938).

⁴⁾ J. von Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 821 (1944).

⁵⁾ T. H. Kritchevsky, D. L. Garmaise & T. F. Gallagher, Am. Soc. **74**, 483 (1952).

⁶⁾ B. Camerino, C. G. Alberti & A. Vercellone, G., **83**, 802 (1953).

⁷⁾ O. Mancera, H. J. Ringold, C. Djerassi, G. Rosenkranz & F. Sondheimer, Am. Soc. **75**, 1286 (1953).

⁸⁾ A. H. Soloway, A. S. Deutsch & T. F. Gallagher, Am. Soc. **75**, 2356 (1953).

Unter Berücksichtigung der Konstellationsanalyse wurde dieser Befund kürzlich von *D. H. R. Barton*¹⁾ in einer zusammenfassenden Darstellung über den sterischen Verlauf der Reduktion von Steroid-Ketonen diskutiert.

Wir haben nun das Verhalten des Allopregnan-3,11,20-trions²⁾ bei der biochemischen Reduktion untersucht und fanden, dass in diesem Fall das isolierte Reduktionsprodukt nicht der 3β -Alkohol³⁾ ist, der mit chemischen Mitteln gewonnen wird, sondern das Allopregnan-3 α -ol-11,20-dion. Ein Beweis, dass nur die nicht konjugierte C-3-Carbonylgruppe zur Reduktion durch Hefe fähig ist, wird durch die Tatsache erbracht, dass 11-Ketoprogesteron⁴⁾, das eine zum C-3-Carbonyl konjugierte Doppelbindung besitzt, wie erwartet keine Reduktion erleidet.

Aus diesen Beispielen kann man den Schluss ziehen, dass bei der biochemischen Reduktion die Anwesenheit der C-11-Carbonylgruppe, und nicht die Konfiguration an C-5, die sterische Richtung der Reaktion bestimmt.

Das Vorhandensein eines 11α -Hydroxyls im Allopregnangerüst scheint dagegen den sterischen Verlauf der biochemischen Reduktion im Sinne der Bildung eines 3β -Alkohols zu bestimmen. So wird aus Allopregnan-11 α -ol-3,20-dion⁵⁾ das Allopregnan-3 β ,11 α -diol-20-on⁵⁾, identisch mit dem durch Reduktion mit Natriumborhydrid hergestellten Produkt, erhalten. Merkwürdigerweise wird Pregnan-11 α -ol-3,20-dion⁶⁾ durch Hefe nicht hydriert, ebenso wenig wie die 11-Acetate des Pregnan-⁶⁾ oder Allopregnan-11 α -ol-3,20-dions⁵⁾.

Das 11 α -Oxyprogesteron⁷⁾ wird, wie vorausszusehen, nicht reduziert.

Wir haben uns ausserdem mit der Frage beschäftigt, in welcher Weise eine Substitution mit Oxygruppen in anderen Stellungen als 11 in der Molekel des Pregnandions die Fähigkeit des C-3-Carbonyls zur Anlagerung von Wasserstoff beeinflusst.

Das Pregnan-17 α -ol-3,20-dion⁸⁾ und das Pregnan-21-ol-3,20-dion⁹⁾, der Gärung unterworfen, werden nicht reduziert. Auch eine

1) *D. H. R. Barton*, „The Stereochemistry of cycloHexane Derivatives“, Soc. **1953**, 1029; Fussnote 23.

2) *M. Steiger & T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 161 (1937).

3) *A. H. Soloway, A. S. Deutsch & T. F. Gallagher*, *Am. Soc.* **75**, 2356 (1953).

4) *T. Reichstein & H. G. Fuchs*, *Helv.* **23**, 684 (1940).

5) *O. Mancera, J. Romo, F. Sondheimer, G. Rosenkranz & C. Djerassi*, *J. Org. Chem.* **17**, 1066 (1952).

6) *O. Mancera, H. J. Ringold, C. Djerassi, G. Rosenkranz & F. Sondheimer*, *Am. Soc.* **75**, 1286 (1953).

7) *D. H. Peterson, H. C. Murray, S. H. Eppstein, L. M. Reineke, A. Weintraub, P. D. Meister & H. M. Leigh*, *Am. Soc.* **74**, 5933 (1952).

8) *T. H. Kritchevsky & T. F. Gallagher*, *Am. Soc.* **73**, 184 (1951).

9) *A. Wettstein & F. Hunziker*, *Helv.* **23**, 764 (1940).

Dioxy-aceton-Seitenkette in 17 hindert die Reduktion: so wird Allopregnan-17 α ,21-diol-3,11,20-trion-21-acetat (Dihydro-allocortison)¹⁾ unter gleichen Bedingungen durch Hefe nicht reduziert. Dasselbe ist der Fall für das Allopregnan-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dion-21-acetat (Dihydro-allo-17 α -oxy-corticosteron)²⁾, aus welchem wir durch Reduktion die „Substanzen C“ oder „V“ von Reichstein³⁾ zu bekommen hofften, je nachdem ein 3 α - oder 3 β -Alkohol gebildet worden wäre. Substanz C ist der einzige der aus Nebennieren isolierten Körper, der noch nicht teilsynthetisch erhalten wurde.

Experimenteller Teil⁴⁾.

Gärung. Eine Suspension von 20 g Presshefe (*Distillerie Italiane*, Milano) in einer Lösung von 40 g Rohrzucker in 300 cm³ Leitungswasser wurde in eine geschlossene Flasche mit Gasableitungsrohr eingetragen. Nach 1 Std. war die Hefe in voller Gärung; man tropfte dann eine Lösung des Steroids (0,25–0,50 g) in 20–35 cm³ Alkohol ein und liess 48 Std. bei 27–30° gären. Dann gab man erneut 20 g Hefe in 300 cm³ Wasser und 40 g Zucker zu und wiederholte diese Zugabe nach 48 Std. Nach 6tägiger Gärung wurde filtriert, das Filtrat anschliessend mit Chloroform extrahiert, das Chloroform mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und abgedampft. Die Hefe wurde bei 80° getrocknet, mit Na₂SO₄ gemischt und in einer Soxhlet-Apparatur mit Aceton extrahiert. Das Aceton wurde dann eingedampft, der Rückstand mit Chloroform ausgeschüttelt, mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und abgedampft.

Pregnan-3 α -ol-11,20-dion⁵⁾. 0,5 g Pregnan-3,11,20-trion⁵⁾ vom Smp. 158–160°, in 25 cm³ Alkohol gelöst, wurden in die gärende Hefe eingetragen und wie oben angegeben behandelt. Aus dem Filtrat wurde ein Rückstand erhalten, der nach dem Umkristallisieren aus Aceton-Äther 0,3 g Pregnan-3 α -ol-11,20-dion in farblosen Nadeln vom Smp. 169–171°, $[\alpha]_D^{20} = +103^\circ \pm 4^\circ$, lieferte. Misch-Smp. mit authentischem Material ohne Erniedrigung.

Acetylierung des Alkohols mit Pyridin und Essigsäureanhydrid (16 Std. bei 20°) lieferte das 3-Acetate, das aus Methanol umkristallisiert, bei 132–134° schmolz; $[\alpha]_D^{20} = +135^\circ \pm 4^\circ$. Misch-Smp. ebenso.

Aus der Hefe wurden nur Spuren vom Ausgangsmaterial zurückgewonnen.

Allopregnan-3 α -ol-11,20-dion. Eine Lösung von 0,5 g Allopregnan-3,11,20-trion⁶⁾ vom Smp. 210–212° in 30 cm³ Alkohol wurde allmählich zur gärenden Hefe hinzugefügt und wie oben behandelt und aufgearbeitet. Aus dem Filtrat wurden 0,22 g einer Substanz erhalten, die aus Äther in verzweigten Nadeln vom Smp. 160–165°, $[\alpha]_D^{20} = +93^\circ \pm 4^\circ$, kristallisierte und mit Digitonin keine Fällung gab. Die Mischprobe mit Allopregnan-3 β -ol-11,20-dion, das durch NaBH₄-Reduktion des Allopregnan-3,11,20-trions⁷⁾ gewonnen wurde, gab eine Smp.-Depression.

C₂₁H₃₂O₃ Ber. C 75,86 H 9,70% Gef. C 75,47 H 9,58%

¹⁾ C. Djerassi, G. Rosenkranz, J. Pataki & S. Kauffmann, J. Biol. Chem. **194**, 115 (1952).

²⁾ J. Pataki, G. Rosenkranz & C. Djerassi, J. Biol. Chem. **195**, 751 (1952).

³⁾ J. von Euw & T. Reichstein, Helv. **25**, 988 (1942).

⁴⁾ Die Smp. sind nicht korrigiert; das spezifische Drehungsvermögen wurde in Chloroformlösung bei 27° und einer Konzentration von etwa 1% bestimmt.

⁵⁾ J. von Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 821 (1944).

⁶⁾ M. Steiger & T. Reichstein, Helv. **21**, 161 (1937).

⁷⁾ A. H. Soloway, A. S. Deutsch & T. F. Gallagher, Am. Soc. **75**, 2356 (1953).

70 mg Allopregnan-3 α -ol-11,20-dion wurden mit 0,14 cm³ Essigsäure-anhydrid und 0,35 cm³ Pyridin 20 Std. bei Zimmertemperatur acetyliert. Man fällte das erhaltene Produkt mit Wasser, saugte es ab und kristallisierte es aus Aceton-Äther um. Smp. 140–145°.

C₂₃H₃₄O₄ Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,61 H 9,15%

Die Extraktion der Hefe lieferte etwa 10% vom Ausgangsmaterial zurück.

Allopregnan-3 β ,11 α -diol-20-on. a) Mit Hefe: 0,5 g Allopregnan-11 α -ol-3,20-dion¹⁾ vom Smp. 193–195° in 25 cm³ Alkohol wurden, wie oben angegeben, der Einwirkung von gärender Hefe unterworfen. Nach Extraktion des Filtrats und Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurden 300 mg Allopregnan-3 β ,11 α -diol-20-on gewonnen. Smp. 179–181°, $[\alpha]_D^{20} = +62^\circ \pm 4^\circ$, in guter Übereinstimmung mit Literaturangaben²⁾. Mit Digitonin starke Fällung.

100 mg Diol wurden mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid 16 Std. bei 20° acetyliert. Übliche Aufarbeitung lieferte das Diacetat; aus Äther farblose Tafeln vom Smp. 165–168°. C. Djerassi und Mitarbeiter³⁾ geben für diese Substanz den Smp. 171–173° an. — Die Extraktion der Hefe lieferte nur einige mg Öl.

b) Mit Natriumborhydrid: 0,6 g Allopregnan-11 α -ol-3,20-dion¹⁾ in 6 cm³ Pyridin wurden mit 60 mg NaBH₄ in 6 Tropfen Wasser 7 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurde mit Wasser und 1 cm³ Essigsäure zersetzt und zweimal mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verd. Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 0,58 mg Öl, das auf Zusatz von Äther kristallisierte. Nach dem Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurden 250 mg Diol²⁾ vom Smp. 175–178° erhalten, das nach Mischprobe identisch war mit dem aus a) erhaltenen Präparat und mit Digitonin eine Ausfällung ergab.

Die Analysen wurden in unserem Mikrolaboratorium (Leitung Dr. F. Canal) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die Einwirkung von gärender Hefe auf Pregnan- oder Allopregnan-3,11,20-trion liefert das Pregnan- bzw. Allopregnan-3 α -ol-11,20-dion. Allopregnan-11 α -ol-3,20-dion, der Hefegärung unterworfen, wird zu Allopregnan-3 β ,11 α -diol-20-on reduziert.

Die Veresterung der 11 α -Oxygruppe, sowie die Anwesenheit einer konjugierten Doppelbindung an C-4 oder der Dioxyaceton-Seitenkette in Stellung 17 verhindern diese Reduktion der C-3-Carbonylgruppe.

Laboratori Sperimentali e di Ricerche
della Soc. An. „Farmaceutici Italia“,
Sezione Chimica, Milano.

¹⁾ O. Mancera, H. J. Ringold, C. Djerassi, G. Rosenkranz & F. Sonderheimer, Am. Soc. **75**, 1286 (1953).

²⁾ O. Mancera, J. Romo, F. Sonderheimer, G. Rosenkranz & C. Djerassi, J. Org. Chem. **17**, 1066 (1952).

³⁾ C. Djerassi, E. Batres, J. Romo & G. Rosenkranz, Am. Soc. **74**, 3634 (1952).