

X-sostituiti: dove X è eguale ad NH_2 , $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, OH, OCH_3 in posizione para- o meta- nel fenile non nitro-sostituito rispetto allo zolfo.

Viene dimostrato che una coniugazione che si estenda da un fenile all'altro, attraverso il ponte di zolfo nella serie dei difenil-solfuri non è suffragata dai fatti spettroscopici.

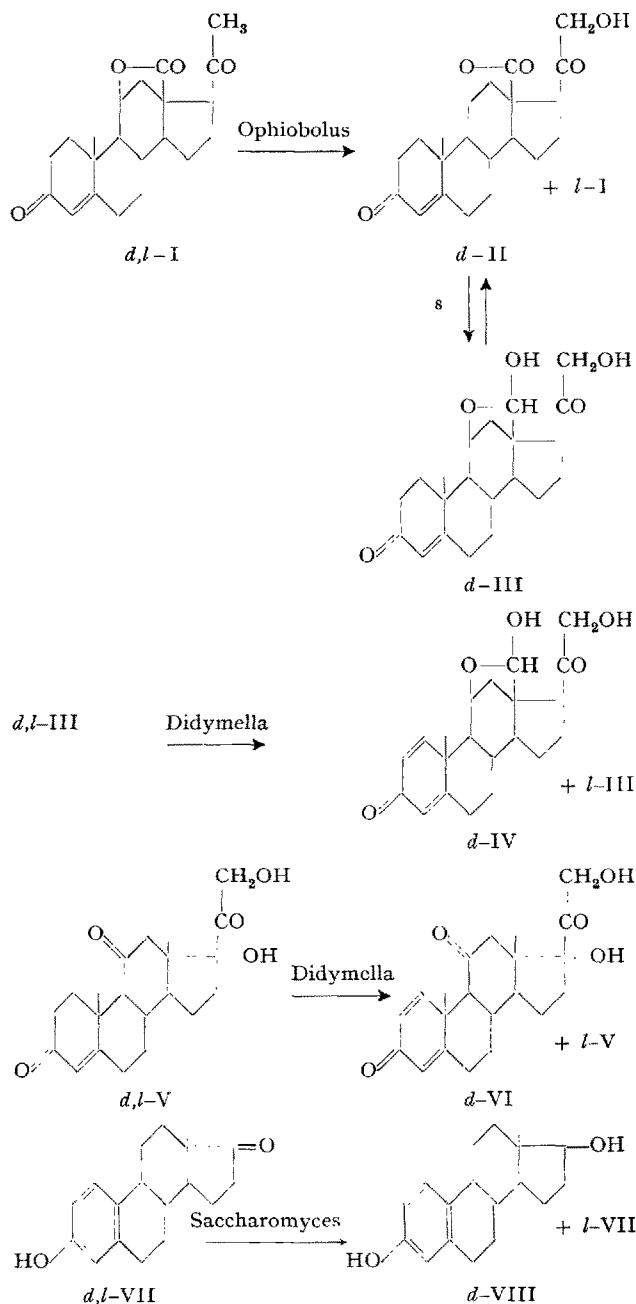
Mikrobiologische Spaltung racemischer Steroide¹. Synthese von *d*-Aldosteron^{2,3}

Im Verlaufe der Totalsynthese des racemischen Aldosterons⁴ haben wir kürzlich die Gewinnung des *d,l*- Δ^4 -3,20-Dioxo-11 β -oxy-pregnen-18-säure-lactons-(18 $\rightarrow$ 11) der Formel I beschrieben.

Wir stellten uns die Aufgabe, dieses Methylketon nach der von uns früher gefundenen mikrobiologischen Methode⁵ in 21-Stellung zu hydroxylieren, um damit das bewährte, aber mehrstufige Oxalesterverfahren^{4,6} zu umgehen. Bei der Einwirkung von *Ophiobolus herpotrichus* (Fr.) Sacc. auf racemisches I wurde dieses nur teilweise zum 21-Oxy-lacton II umgesetzt. Das durch präparative Papierchromatographie isolierte Hydroxylierungsprodukt war überraschenderweise stark optisch aktiv und stellte die reine *d*-Form von II dar. In seinen Eigenschaften stimmte es mit der aus natürlichem *d*-Aldosteron (III) gewonnenen, optisch aktiven Verbindung II⁷ überein: Smp. 208–220°; Mischschmelzpunkt 207–219°; $[\alpha]_D^{27} = +120^\circ \pm 10^\circ$, $c = 0,171$ in Azeton; IR.-Spektrum siehe Abb. 1 A. Letzteres erwies sich als identisch mit dem Spektrum, Abb. 1 B, der *d*-Verbindung II aus *d*-Aldosteron sowie mit dem Spektrum, Abb. 1 C, der nach der Oxalestermethode totalsynthetisch erhaltenen, racemischen Verbindung II⁴. Das nicht umgesetzte Ausgangsmaterial besaß eine negative optische Drehung: $[\alpha]_D^{24} = -154^\circ \pm 10^\circ$. Das Ergebnis zeigt, dass dieses Pilzenzym vom racemischen Ausgangsmaterial selektiv nur den *d*-Antipoden hydroxylierte und die *l*-Form unangegriffen liess.

Da das optisch aktive, aus natürlichem Aldosteron (III) gewonnene 21-Oxy-lacton II auf chemischem Wege in Aldosteron zurückverwandelt worden ist⁸, stellt die beschriebene, optisch spezifisch verlaufende mikrobiologische Hydroxylierung die bisher noch fehlende letzte Stufe in der Synthese des *d*-Aldosterons dar.

Angeregt durch dieses Resultat haben wir auch andere mikrobiologische Reaktionen auf ihre Stereospezifität untersucht. Racemisches Aldosteron (III)⁴ wurde mit der in 1-Stellung dehydrierenden *Didymella lycopersici* Kleb.⁹ inkubiert, worauf wir das neue *d*-1-Dehydroaldosteron (IV) (IR.-Banden u. a. bei 2,82 μ , 2,95 μ , 5,87 μ , 6,01 μ , 6,17 μ , 6,24 μ und 6,91 μ ; 21-Monoazetat: Smp. 182–185°, IR.-Banden u. a. bei 2,81 μ , 5,74 μ , 6,01 μ , 6,16 μ und 6,23 μ) und *l*-Aldosteron isolierten. Weiter gewannen wir durch Einwirkung des gleichen Pilzstammes auf *d,l*-Cortison (V)¹⁰ neben *l*-Cortison das be-



¹ 135. Mitteilung *Über Steroide*; 134. Mitteilung siehe F. W. KAHNT, R. NEHER und A. WETTSTEIN, Exper. 11, 446 (1955).

² «Über Synthesen in der Aldosteronreihe II». I siehe J. SCHMIDLIN, G. ANNER, J.-R. BILLETER und A. WETTSTEIN, Exper. 11, 365 (1955). Zur Nomenklatur siehe J. v. EUW, R. NEHER und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1423, Fussnote 3 (1955). Einen andern Nomenklaturvorschlag machen A. HOREAU, J. JACQUES und J. M. A. PETIT, Bull. Soc. chim. France 1955, 1304.

³ 8. Mitteilung: *Mikrobiologische Reaktionen*; 7. Mitteilung siehe E. VISCHER, CH. MEYSTRE und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1502 (1955).

⁴ J. SCHMIDLIN, G. ANNER, J.-R. BILLETER und A. WETTSTEIN, Exper. 11, 365 (1955).

⁵ CH. MEYSTRE, E. VISCHER und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 37, 1548 (1954). – Siehe auch A. ZAFFARONI, C. C. CAMPILLO, F. CORDOBA und G. ROSENKRANZ, Exper. 11, 219 (1955).

⁶ H. RUSCHIG, Angew. Chem. 60A, 247 (1952); Chem. Ber. 88, 878 (1955).

⁷ S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, Exper. 10, 132 (1954); Helv. chim. Acta 37, 1206, 1215, 1221 (1954). – J. v. EUW, R. NEHER und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1423 (1955); Verbindung Nr. 885: Smp. roh 203–218°, Smp. rein 215–228°. 21-Azetat = Verbindung Nr. 875: Smp. 200°, $[\alpha]_D^{24} = +117^\circ \pm 3^\circ$ in CHCl_3 .

⁸ J. v. EUW, R. NEHER und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1423 (1955).

⁹ E. VISCHER, CH. MEYSTRE und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 1502 (1955).

¹⁰ L. H. SARETT, G. E. ARTH, R. M. LUKES, R. E. BEYLER, G. I. POOS, W. F. JOHNS und J. M. CONSTANTIN, J. Amer. chem. Soc. 74, 4974 (1952), und spätere Veröffentlichungen. – Wir danken Dr. M. TISHLER und Dr. L. H. SARETT bestens für die freundliche Überlassung einer Probe dieser totalsynthetischen Verbindung.

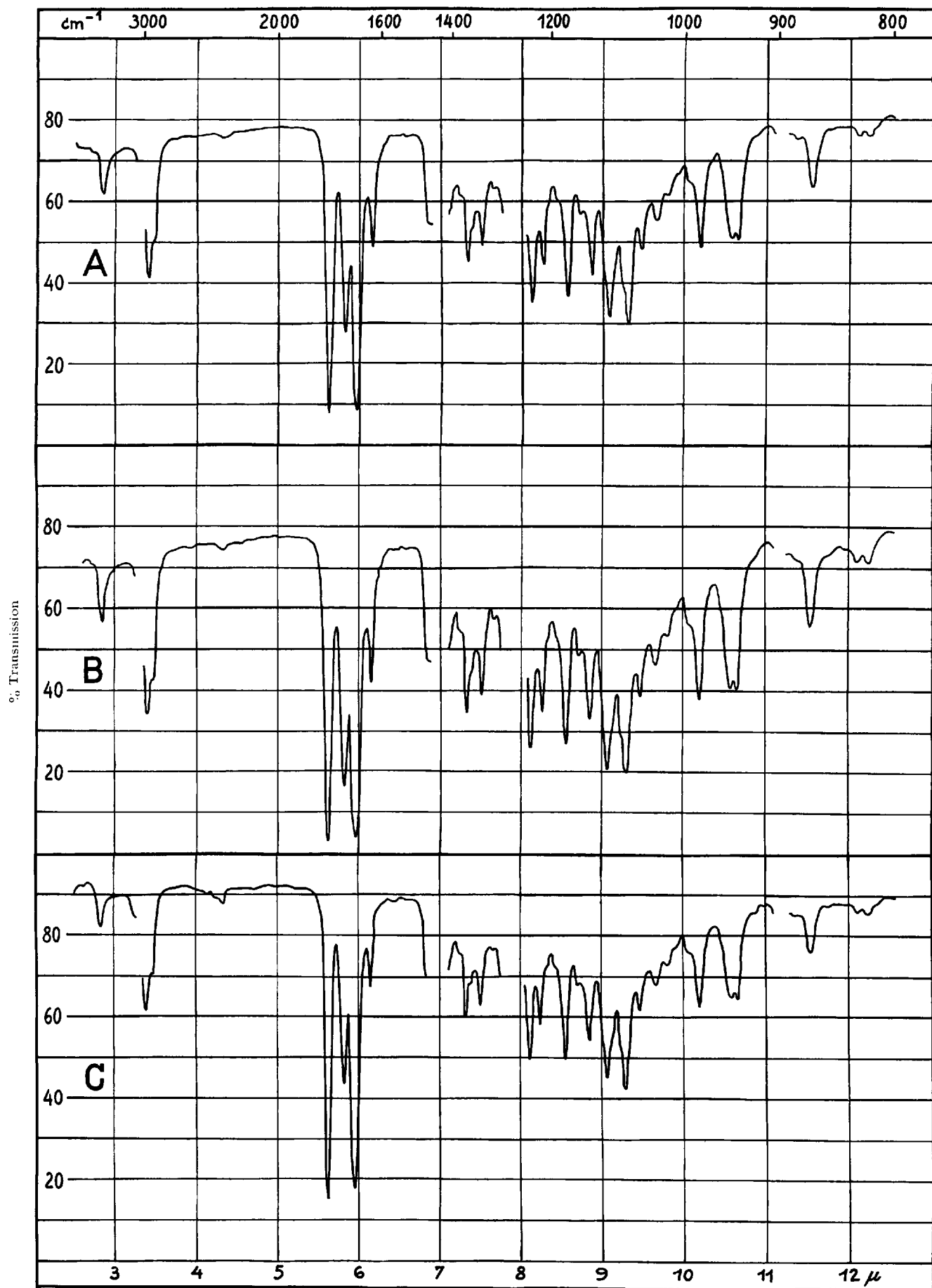


Abb. 1. IR-Absorptionsspektren in CH_2Cl_2 , kompensiert mit reinem CH_2Cl_2 , Schichtdicke 0,2 mm*. A Synthetisches, mikrobiologisch gewonnenes *d*-21-Oxy-lacton II. B Aus natürlichem Aldosteron-21-monoacetat gewonnenes *d*-21-Oxy-lacton II (REICHSTEINS Verbindung Nr. 885⁷). C Totalsynthetisches *d,l*-21-Oxy-lacton II⁴).

* Aufgenommen mit einem Perkin-Elmer-Spektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prisma; Resolution 4, Response $1/1$, Speed 2 min/ μ . Suppression 1. A und B in Mikrozele.

kannte *d*-1-Dehydro-cortison (VI)¹¹. Razemisches, total-synthetisches Östron (VII)¹² konnte nach einer vor längerer Zeit veröffentlichten Reduktionsmethode¹³ mittels Presshefe in *d*-Östradiol-(17 β) (VIII) und *l*-Östron übergeführt werden.

Die genannten experimentellen Ergebnisse sind auch in theoretischer Hinsicht interessant. Seit den klassischen Arbeiten von PASTEUR war es zwar bekannt, dass Enzyme aus Mikroorganismen in stereospezifischer Weise auf razemische Substrate einwirken können, indem die beiden optischen Antipoden oft verschieden rasch umgesetzt werden¹⁴. Diese Umsetzungen stellten aber meist, wenn sie nicht einfache Hydrolysen oder Decarboxylierungen betrafen, einen völligen Abbau selektiv des einen Antipoden im mikrobiologischen Metabolismus dar. Dabei ging im allgemeinen gerade der erwünschte natürliche Antipode verloren, während der unnatürliche intakt blieb. Ausserdem musste der eine Antipode vollständig angegriffen werden, damit der andere in optisch reiner Form anfiel. Aus allen diesen Gründen fand die enzymatische Auftrennung von Razematen nur ausnahmsweise praktische Anwendung und ist bisher bei totalsynthetischen *d,l*-Steroiden nicht verwendet worden.

Der grosse Vorteil der neuen Methode zur mikrobiologischen Spaltung von razemischen Steroiden besteht nun darin, dass der natürliche *d*-Antipode nicht abgebaut, sondern zu einem an sich erwünschten Reaktionsprodukt umgewandelt wird¹⁵. Letzteres lässt sich im allgemeinen wegen seiner veränderten Polarität sehr leicht von der nicht umgesetzten *l*-Form des Ausgangsmaterials trennen. Selbst in den Fällen, wo keine völlige Umsetzung der *d*-Form erzielt wird, fällt diese als optisch reines Umwandlungsprodukt an. Nun sind aber heute schon einige mikrobiologische Reaktionen an Steroiden bekannt (vgl. ¹⁵), die praktisch quantitative Umsetzungen in der *d*-Reihe ergeben. Damit lassen sich bei der neuen Razematspaltungsmethode nahezu theoretische Ausbeuten erzielen und können auch die *l*-Antipoden der Ausgangsstoffe in optisch reiner Form erhalten werden.

Bei der Totalsynthese von Steroiden kann mit dieser Methode die oft mühsame und verlustreiche chemische Razematspaltung umgangen werden. An ihre Stelle tritt zum Beispiel eine mikrobiologische Hydroxylierung, Dehydrierung oder Hydrierung geeigneter Zwischenprodukte, wobei neben der für die betreffende Synthese erwünschten Umwandlung Razematspaltung erzielt wird.

Experimentelle Einzelheiten dieser Untersuchung werden in Helvetica chimica Acta veröffentlicht.

Die in dieser Arbeit erwähnten Pilzstämme wurden uns von den Herren Prof. E. GÄUMANN und Dr. L. ETLINGER, ETH, Zürich, zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle verbindlichst danken möchten. Herrn Dr. E. GANZ, Physikalische Laboratorien der CIBA sind wir für die Aufnahme der IR.-Spektren zu Dank verpflichtet.

E. VISCHER, J. SCHMIDLIN und A. WETTSTEIN

¹¹ H. L. HERZOG und Mitarbeiter, Science 121, 176 (1955). – E. VISCHER, CH. MEYSTRE und A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 38, 835 (1955). – A. NOBILE und Mitarbeiter, J. Amer. chem. Soc. 77, 4184 (1955). – Vgl. auch Note ⁹, S. 50.

¹² G. ANNER und K. MIESCHER, Exper. 4, 25 (1948); Helv. chim. Acta 31, 2173 (1948).

¹³ A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta 22, 250 (1939).

¹⁴ Vgl. H. BROCKMANN in K. FREUDENBERG, Stereochemie (J. Deudicke, Leipzig und Wien 1933). – V. P. WHITTAKER in W. KLYNE, Progress in Stereochemistry (Butterworth, London 1954).

¹⁵ Die Reaktionsmechanismen der mikrobiologischen Umwandlung von Steroiden wurden kürzlich an dieser Stelle in Analogie zur heutigen Auffassung der enzymatischen Reaktionen diskutiert: A. WETTSTEIN, Exper. 11, 465 (1955).

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, Pharmazeutische Abteilung, den 13. September 1955.

Summary

A racemic intermediate in the total synthesis of *d,l*-aldosterone, the *d,l*-20-oxo-pregnene derivative I, was converted by incubation with a mold hydroxylating in the 21-position into the *d*-20-oxo-21-hydroxy-pregnene derivative II, whereas the *l*-antipode of the starting material remained unchanged. This stereospecific microbiological reaction, comprising a separation of racemic modifications, represents the last remaining step in the synthesis of natural *d*-aldosterone.

Other microbiological conversions of racemic steroids, dehydrogenation and hydrogenation, were also shown to proceed only with the *d*-enantiomer, leaving the *l*-form of the *d,l*-substrate intact.

The advantages of this new microbiological method for the resolution of racemic modifications during the total synthesis of steroids are discussed.

Extreme Chromosomal Polymorphism in a Coccinellid Beetle¹

Chilocorus stigma Say, a North American predator of scale insects (probably *Chionaspis lintneri* Comst. in this instance), is a species not previously reported in the cytological literature. A single adult male, collected June 19, 1955, from the north shore of Lake Michigan, some 70 miles to the south of Sault Ste. Marie, Ontario, proved to be heterozygous for a "centric fusion" (WHITE²): it has $2n = 26$ chromosomes – 11 bivalents, 1 trivalent, and a single *X* chromosome at the first meiotic metaphase. Further material was unavailable until 2 males were obtained on August 24, 1955, from near the Agawa River, about 100 miles north of Sault Ste. Marie. 1 has $2n = 25$ chromosomes – 9 bivalents, 2 trivalents, and the *X* chromosome (Figs. 1 and 2), the other $2n = 24$ – 7 bivalents, 3 trivalents, and the *X* (Figs. 3 and 4). Specimens collected since have all proved to be too old for cytological purposes.

It will be seen from the illustrations of the 24-chromosome male that the 3 trivalents are individually recognizable. If these are labelled *A*, *B*, and *C* from left to right in Figure 4, it is evident that trivalents *A* and *B* occur also in the one with 25 chromosomes. The *A* trivalent alone is present in the Lake Michigan male. It will also be noted that at least 2 of the bivalents accompanying the 3 trivalents are heteromorphic, their unassociated arms being of different sizes. Thus *C. stigma* comprises potentially $3^5 (= 243)$ chromosomally different types, or twice that number if the $XX \text{ } \text{♀}$: $XO \text{ } \text{♂}$ sex-determining mechanism is taken into account. Assuming that the "fusion" homozygotes are all viable, as indeed they must be unless the heterozygotes enjoy an immense selective advantage over the "non-fusion" types, the current evidence points to a numerical chromosome range for the species extending from $2n = 21$ (♂) to $2n = 28$ (♀).

¹ Contribution No. 258, Forest Biology Division, Science Service, Department of Agriculture, Ottawa, Canada.

² M. J. D. WHITE, Animal cytology and evolution (University Press, Cambridge 1954), p. 66, 203.