

Aufnahme im alkohol-haltigen Äthylat und die Kohlendioxyd-Aufnahme bei alkohol-freiem Natriumäthylat. Vielmehr muß sie sekundär nach der Reaktion des Äthylates mit kleinen, in der Oberflächen-Schicht abgefangenen Mengen von Verunreinigungen (H_2O , O_2) des Gases eintreten. Auch hier wurde durch Behandeln der petrolätherischen Suspension mit Kohlendioxyd nachgewiesen, daß das Kohlenoxyd größtenteils (mindestens 86 %) als $H.C(OC_2H_5)_2(ONa)$ vorliegt. Dies wird mit Kohlendioxyd zu Ester und Natrium-äthyl-carbonat zersetzt, mit Petroläther allein ist der Ester dagegen nicht auswaschbar. Ein 2. Versuch zeigte dasselbe Bild.

284. Adolf Butenandt und Ulrich Westphal: Zur Isolierung und Charakterisierung des Corpus-luteum-Hormons.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Danzig-Langfuhr.]

(Eingegangen am 24. Juli 1934.)

Im letzten Heft dieser Zeitschrift¹⁾ ist eine vorläufige Mitteilung von K. H. Slotta, H. Ruschig und E. Fels über die „Reindarstellung der Hormone aus dem Corpus luteum“ erschienen, und gleichzeitig berichten M. Hartmann und A. Wettstein an anderer Stelle²⁾ über „Ein krystallisiertes Hormon aus Corpus luteum“. In beiden Arbeiten wird Bezug genommen auf die durch den einen von uns am 11. April 1934 vor der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin in Wiesbaden erfolgte Bekanntgabe unserer auf gleichem Gebiet erzielten Arbeits-Ergebnisse; der Hinweis der Autoren gründet sich jedoch in beiden Fällen auf lücken- und fehlerhafte Vortrags-Referate, die eine falsche Meinung aufkommen lassen über das, was vor der Drucklegung der beiden oben genannten Arbeiten auf diesem Forschungs-Gebiet bereits bekannt war. Um Mißverständnisse zu vermeiden, stellen wir im folgenden nochmals zusammen, welche Ergebnisse unserer Arbeiten wir bereits am 11. April 1934 in Wiesbaden und nochmals am 25. Mai 1934 in Wien ausführlich vorgetragen und gleichzeitig zum Druck gegeben haben³⁾:

In Fortsetzung unserer vergleichenden Untersuchung der Sexualhormone haben wir uns seit dem Herbst des letzten Jahres in Zusammenarbeit mit dem Hauptlaboratorium der Schering-Kahlbaum A.-G., Berlin (Prof. Schoeller und Dr. Hohlweg) mit der Charakterisierung des Corpus-luteum-Hormons beschäftigt. Im Verlauf dieser Arbeiten stellten wir fest, daß das Corpus-luteum-Hormon — gleich den übrigen Keimdrüsen-Hormonen — ein Keton darstellt, denn aus hochwirksamen, gereinigten Gelbkörper-Extrakten läßt sich praktisch die Gesamtwirksamkeit durch Umsatz mit Semicarbazid fällen. Durch vorsichtige Spaltung des schwer löslichen Roh-semicarbazons mit verd. Säure und durch anschließende Sublimation der Spaltprodukte im Hochvakuum ließ sich eine ausgezeichnet krystallisierte Substanz gewinnen, die nur aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauer-

¹⁾ B. 67, 1270 [1934].

²⁾ Helv. chim. Acta 17, 878 [1934].

³⁾ Verhandl. Dtsch. Gesellschaft für Innere Medizin, eingegangen am 11. 4. 1934 (Verl. C. Ritter, Wiesbaden); Wiener Klin. Wochenschr. 1934, Nr. 29/30, eingegangen am 25. 5. 34. Vortrags-Referate: Forsch. u. Fortschr. 1934, Nr. 20/22; Medizin. Klinik 30, 854 [1934].

stoff besteht, und die 35—40% der Corpus-luteum-Wirksamkeit des Ausgangs-Extraktes in einer hitze-, säure- und alkali-stabilen Form enthält. Dieses Produkt erwies sich als ein Gemisch mehrerer Stoffe und ist vielleicht vergleichbar mit den vor Jahren von drei Arbeitskreisen⁴⁾ aus Corpora lutea dargestellten, physiologisch wirksamen Krystallisaten, die nicht näher charakterisiert worden sind.

Systematische Versuche zur Fraktionierung des Substanz-Gemisches führten zur Darstellung der folgenden einheitlichen Stoffe: 1) Als physiologisch unwirksamen Begleitstoff des Corpus-luteum-Hormons isolierten wir ein Oxy-keton von der gesicherten Zusammensetzung $C_{21}H_{34}O_2$; es krystallisiert in farblosen, durchscheinenden Blättchen, zeigt in völlig reinem Zustande einen Schmelzpunkt von 194° (unkorr.)⁵⁾; es wurde durch sein Acetat vom Schmp. 144.5° (unkorr.) und sein Oxim vom Schmp. 224° (unkorr.) näher charakterisiert. Bei der Behandlung mit Chromsäure in der Kälte geht es in ein gut krystallisiertes Diketon $C_{21}H_{32}O_2$ vom Schmp. 200.5° (unkorr.) über, das ein sich bei 254° zersetzendes Dioxim liefert. Die Formel $C_{21}H_{34}O_2$ macht eine nahe Beziehung dieses neuen Oxy-ketons zum Pregnandiol⁶⁾, $C_{21}H_{36}O_2$, wahrscheinlich, jedoch liefern beide Stoffe bemerkenswerterweise nicht dasselbe Diketon!

2) Der zweite einheitliche Stoff, den wir im März 1934 in einer Menge von 20 mg bereiteten, erwies sich im Corpus-luteum-Test am infantilen, mit Follikel-Hormon vorbehandelten Kaninchen⁷⁾ hoch wirksam: 0.75 μ g bewirken die drüsige Umwandlung der Gebärmutter-Schleimhaut; er übertrifft in seiner Wirkung alle bisher dargestellten und physiologisch charakterisierten Wirkstoffe aus Corpora lutea. Mit diesem Krystallinat haben wir den ersten einheitlichen Stoff mit Corpus-luteum-Wirkung dargestellt; er wurde wie folgt gekennzeichnet: Das Hormon krystallisiert aus verd. Alkohol in gut ausgebildeten Rhomben, die den konstanten Schmp. 128.5° (unkorr.) aufweisen; es entspricht nach seinen analytischen Daten dem Ausdruck $C_{21}H_{30}O_2$, jedoch ist die Formel $C_{20}H_{28}O_2$ noch nicht sicher auszuschließen⁸⁾. Überraschenderweise erwies sich das neue Keimdrüsen-Hormon — zum Unterschied von den beiden bisher bekannten — als Diketon; das Dioxim zeigt einen Schmelzpunkt von 243° . Die Zusammensetzung und die Eigenschaften dieses Corpus-luteum-Hormons lassen eine nahe Beziehung zu den übrigen Keimdrüsen-Hormonen und dem Pregnandiol durchaus möglich erscheinen.

3) Einige Wochen nach unserer Wiesbadener Publikation isolierten wir einen dritten einheitlichen Stoff⁹⁾; er ist aus den Mutterlaugen des bei 128.5° schmelzenden Diketons in langen, gut ausgebildeten Nadeln zu erhalten, die einen Schmelzpunkt von 120° aufweisen. Er steht dem Diketon vom Schmp. 128.5° auffallend nahe; weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob es sich bei diesem zweiten Hormon-Krystallinat um ein echtes Isomeres des Diketons oder um eine polymorphe Modifikation handelt.

⁴⁾ W. M. Allen u. Mitarb., Journ. biol. Chem. **98**, 591 [1932]; F. L. Hisaw u. Mitarb., Journ. Amer. chem. Soc. **54**, 254 [1932]; Fels u. Slotta, Zentralbl. Gynäkol. **55**, 2765 [1931]. ⁵⁾ In Wiesbaden wurde er zu 188° (unkorr.) angegeben.

⁶⁾ B. **63**, 659 [1930], **64**, 2529 [1931].

⁷⁾ C. Clauberg, „Die weiblichen Sexualhormone“ (Springer, 1933), S. 88ff.

⁸⁾ Im Referat der Medizin. Klinik **30**, 854 [1934] befindet sich ein Druckfehler; die dort angegebene Formel $C_{21}H_{28}O_2$ ist von uns nicht diskutiert worden.

⁹⁾ vergl. Wien. Klin. Wochschr. **1934**, Nr. 29/30 und Forsch. u. Fortschr. **1934**, Nr. 22.

Nach diesen Ergebnissen ergibt sich folgende Stellungnahme zu den oben erwähnten Veröffentlichungen: a) Es ist ein Irrtum, daß der eine von uns „in Wiesbaden u. a. über ein noch nicht rein dargestelltes Krystalliat des Corpus-luteum-Hormons von Keton-Natur“¹⁰⁾ vorgetragen hat oder nur „ein Krystalliat erwähnte, das die Wirkung „des“ Corpus-luteum-Hormons hat“¹¹⁾; in Wiesbaden erfolgte die ausführliche Publikation der oben angegebenen Ergebnisse, d. h. es wurde über die Darstellung und chemische Charakterisierung des ersten einheitlichen Krystalliates mit quantitativ definierter Corpus-luteum-Wirkung berichtet. b) Die Mitteilung von Hartmann und Wettstein beschäftigt sich mit der Kennzeichnung eines wirksamen Stoffgemisches (Schmp. 175—177⁰), das offenbar dem seit 3 Jahren an anderen Arbeitsstätten¹²⁾ vorliegenden Krystalliat vergleichbar ist, und dessen Fraktionierung oben geschildert wurde. c) Abgesehen von den eingehenden (von A. Neuhaus durchgeführten) kristallographischen Messungen, erblicken wir in den von K. H. Slotta und Mitarbeitern veröffentlichten Ergebnissen über Schmelzpunkte und Analysen der „Luteosterone A, C und D“, die noch nicht durch Derivate gekennzeichnet wurden, Bestätigungen von einem Teil unserer bereits im April bekanntgegebenen Ergebnisse.

Eine ausführliche Mitteilung unserer Versuche befindet sich im Druck¹³⁾.

285. Kurt G. Stern und Ensor R. Holiday: Die Photo-flavine, eine Gruppe von Alloxazin-Derivaten¹⁾.

[Aus d. Courtauld Institute of Biochemistry, Middlesex Hosp. Med. School und aus d. Med. Unit., London Hospital, London.]

Eingegangen am 21. Juli 1934.)

Durch Einwirkung von Kalium-methyl- bzw. -äthyl-sulfat auf Alloxazin, sowie auf einige Homologe im Schmelzfluß gelingt es, Verbindungen zu erhalten, die wesentliche Merkmale des Farbstoffes aufweisen, welcher von O. Warburg und W. Christian²⁾ bei Belichtung ihres gelben Oxydations-Fermentes aus Hefe erhalten worden ist. Hierüber ist an diesem Orte bereits kurz berichtet worden¹⁾. Die neuen Verbindungen wurden aufgefaßt als am 9- bzw. 10-ständigen Stickstoffatom alkylierte Alloxazine. Einer analogen Formulierung des Licht-Spaltlings der Flavine schien zu jenem Zeitpunkt das Fehlen einer N-Alkyl-Gruppe im Lactoflavin³⁾, sowie ganz besonders der Befund von R. Kuhn und H. Rudy⁴⁾ entgegenzustehen, wonach der von ihnen bearbeitete Licht-Spaltling des Molken-Farbstoffs, Lumi-lactoflavin, im alkali-labilen Pyrimidin-Ring 2-fach methylierbar sei. Wir betrachten es als eine Bestätigung unserer synthetischen Versuche und der aus ihnen gezogenen Schlüsse, daß nunmehr

¹⁰⁾ *Helv. chim. Acta* **17**, 878, Zeile 9 v. u.

¹¹⁾ *B.* **67**, 1272, Anmerk. 6 [1934].

¹²⁾ vergl. Anmerk. 4.

¹³⁾ *Ztschr. physiol. Chem.*

¹⁾ Vorläuf. Mitteil.: K. G. Stern u. E. R. Holiday, *B.* **67**, 1104 [1934].

²⁾ *Naturwiss.* **20**, 980 [1932].

³⁾ R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg, *B.* **66**, 1577 [1933].

⁴⁾ *B.* **67**, 892, 1125 [1934].