

Entfernung noch geringer Anteile von Wachs (Präparat B₂) noch einmal mit Chloroform durchgeschüttelt.

Analysenergebnisse: Methoxyl wurde nach F. Vieböck und C. Brecher¹⁶⁾ bestimmt, Pentosan nach Tollens (Phloroglucid-Methode), Phosphor gravimetrisch nach H. Lieb¹⁷⁾ und Stickstoff durch Mikro-Kjeldahl. Zur Ermittlung des Hexosan-Gehaltes wurden 1—2 g der wasserlöslichen Präparate (C₁, C₂) mit 200 ccm 2.5-proz. HCl 2.5 Stdn. unter Rückfluß gekocht, mit Natronlauge neutralisiert, zur Entfernung von Eiweiß, Phosphatid usw. mit überschüss. Bleiacetat gefällt, mit Wasser auf 250 ccm aufgefüllt und der Zucker im Filtrat nach Bertrand bestimmt. Der Hexosan-Gehalt ist in allen Fällen in üblicher Weise unter Berücksichtigung des nach Tollens ermittelten Pentosan-Gehalts berechnet worden. Zur Ermittlung des Hexosan-Gehalts im wasserunlöslichen Koloptilen-Rückstand wurden Totalhydrolysen mit 72-proz. Schwefelsäure nach E. Flechsig, H. Ost und L. Wilkening¹⁸⁾ durchgeführt. Dabei blieben etwa 2.2% unangegriffen. Vor der Bestimmung des Zucker-Gehaltes nach Bertrand wurde die Lösung wie oben mit Bleiacetat behandelt, wobei ähnlich wie bei den wasserlöslichen Präparaten große Mengen gefällt wurden. Die Ermittlung des Hexosan-Wertes erfolgte in allen Fällen unter Berücksichtigung des Pentosan-Gehalts. Es ist bemerkenswert, daß die Hydrolyse der wasserlöslichen Präparate mit stärkeren Säure-Konzentrationen zu wesentlich kleineren Werten für den Hexosan-Gehalt führte, was offenbar auf die Gegenwart von gegen Säure empfindlichen Kohlenhydraten zurückzuführen ist.

24. Alberto Vercellone und Luigi Mamoli: Über biochemische Dehydrierung in der Reihe des Keimdrüsenhormons. Weiterer Beitrag zur Genese der Sexualhormone.

[Aus d. Istituto di Perfezionamento in Chimica Industriale „Giuliana Ronzoni“ u. d. Istituto Sieroterapico Milanese, Mailand.]

(Eingegangen am 1. Dezember 1937.)

L. Mamoli und A. Vercellone¹⁾ haben durch biochemische Hydrierungen auf dem Gebiet der Keimdrüsenhormone den experimentellen Beweis erbracht, daß die Möglichkeit besteht, mittels biologischer Katalysatoren alle jene Umwandlungen, welche nach allgemeiner Ansicht im Organismus stattfinden, in vitro zu erzielen. Es ist bekannt, daß die physiologische Wirksamkeit eine Änderung erfährt, wenn man bei diesen Stoffen die Ketogruppen durch alkoholische Gruppen oder umgekehrt ersetzt.

In den vorhergehenden Arbeiten¹⁾ haben wir unter anderem schon die Möglichkeit gezeigt, die Ketogruppen zu alkoholischen Gruppen zu reduzieren. In unserem weiteren Arbeitsprogramm über die Genese des Keimdrüsenhormons behandelten wir den entgegengesetzten Fall, und zwar die Oxydation alkoholischer Gruppen zu Ketogruppen. Zu diesem

¹⁶⁾ B. **63**, 3207 [1930]; Anordnung wie bei F. Neumann, B. **70**, 734 [1937].

¹⁷⁾ Pregl-Roth, „Die quantitative organische Mikroanalyse“, 4. Aufl., S. 156 [1935].

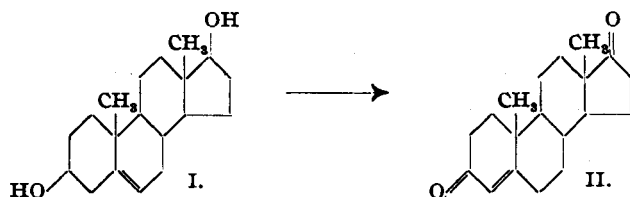
¹⁸⁾ Chemiker-Ztg. **34**, 461 [1910].

¹⁾ Ztschr. physiol. Chem. **245**, 93 [1937]; **248**, 277 [1937]; B. **70**, 470, 2079 [1937].

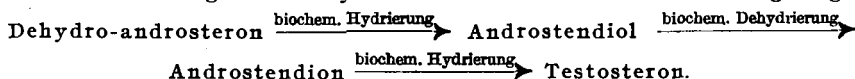
Zweck benutzten wir eine nach H. Wieland und Mitarbeitern²⁾ vorher mit Sauerstoff geschüttelte Aufschwemmung von Hefe. Diese Autoren konnten so Alkohol und andere Stoffe dehydrieren²⁾.

Unseres Wissens wurde aber die Dehydrierung auf biochemischem Wege niemals mit Erfolg auf Stoffe der Keimdrüsenhormon- und im allgemeinen auf solche der Sterin-Gruppe angewandt.

Bei unseren Versuchen über die biochemische Reduktion¹⁾ haben wir in einzelnen Fällen einen ausgesprochenen Unterschied in der Reduktionsfähigkeit der verschiedenen Ketogruppen durch Hefe, je nach ihrer Stellung im Molekül, festgestellt. Wir haben daher dehydrierende, verarmte Hefe auf das Androstendiol (I) einwirken lassen, in welchem zwei sekundäre alkoholische Gruppen in C 17 und C 3 vorhanden sind, um zu sehen, ob beide oxydiert werden. Dies trat interessanterweise ein. Aus Androstendiol (I) erhielten wir Androstendion (II).



Durch diesen Befund ist es jetzt möglich, nach folgendem Schema auf biochemischem Wege vom Dehydro-androsteron zum Testosteron zu gelangen:



Die biochemische Oxydation erfolgte nach Zugabe von Androstendiol zu verarmter Hefe durch 47-stdg. Schütteln in Sauerstoff-Atmosphäre. Der ätherische Rückstand wurde mit Girard-Reagens³⁾ behandelt, um den Keton-Anteil zu isolieren. Dieser wurde aus Äther und verdünntem Aceton umkrystallisiert. Schmp. 168—169° (unkorr.). Der Mischschmelzpunkt mit Androstendion nach Butenandt und Kudzus⁴⁾ ergab keine Depression.

Aus dem nicht ketonartigen Teil erhielten wir das unveränderte Ausgangsmaterial zurück. Die Trennung des Androstendions vom Androstendiol gelingt nach der Hochvakuumdestillation auch durch einfaches Umkrystallisieren aus Äther, wie ein zweiter Versuch zeigte.

Unsere Arbeiten über derartige Dehydrierungen und über die Genese der Keimdrüsenhormone werden fortgesetzt.

Beschreibung der Versuche.

8 g Hefe (Mailand, flockige Fermente) werden mit 30 ccm H₂O und 20 ccm Pufferlösung⁵⁾ 20 Stdn. in Sauerstoff bei 32° geschüttelt. Dann werden 190 mg Androstendiol in 30 ccm Wasser suspendiert, hinzugefügt

²⁾ A. 492, 183 [1932], u. weitere Arb. ³⁾ Helv. chim. Acta 19, 1095 [1936].

⁴⁾ Ztschr. physiol. Chem. 237, 75 [1935]; L. Ruzicka u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta 18, 986 [1935].

⁵⁾ Die Pufferlösung besteht aus 10 ccm *n*/₅-Na₂HPO₄-Lösung und 10 ccm *n*/₅-KH₂PO₄-Lösung.

und das Ganze weitere 47 Stdn. mit Sauerstoff geschüttelt. Hierauf wird mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird mit Wasser, Natronlauge, *n*-Salzsäure und wieder mit Wasser gewaschen. Die ätherische Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet und der Äther abgedampft.

Der Rückstand wird in 30 ccm Alkohol gelöst, dazu 3 g Eisessig und 1.5 g P-Reagens [Girard³] gefügt und das Ganze unter Rückfluß 1 Stde. sieden gelassen. Das Reaktionsprodukt wird nach dem Erkalten in ein Gemisch von 140 ccm Wasser, 60 g Eis und der zur Neutralisation von 2.7 g Eisessig notwendigen Menge Natriumhydroxyd gegossen. Man extrahiert sodann 3-mal mit Äther, um den nicht ketonartigen Anteil zu entfernen. Zur wäbr. Lösung fügt man 20 g 50-proz. Schwefelsäure hinzu, wodurch eine Trübung entsteht, und läßt 1 Stde. stehen. Dann extrahiert man 3-mal mit Äther, wäscht die ätherische Lösung mit Wasser, trocknet sie über Natriumsulfat und dampft den Äther ab. Durch Hinzufügen von etwas Äther kristallisiert der Rückstand. Nach Umkrystallisieren aus verd. Aceton bekommt man eine Substanz vom Schmp. 168—169°, die mit Androstendion im Mischschmelzpunkt keine Depression ergibt. Ausb. 50 mg.

Von unserem Produkt haben wir auf übliche Weise das Dioxim hergestellt, welches mit Androstendion-dioxim keine Schmelzpunkts-Depression ergibt.

Der mit Äther extrahierte, nicht ketonartige Anteil liefert fast quantitativ unverändertes Androstendiol zurück.

25. Luigi Mamoli und Alberto Vercellone: Biochemische Umwandlung von Dehydro-androsteron in das Androstendion. Weiterer Beitrag zur Genese des Keimdrüsenhormons.

[Aus d. Istituto Sieroterapico Milanese u. d. Istituto di Perfezionamento in Chimica Industriale, Giuliana Ronzoni, Mailand.]

(Eingegangen am 8. Dezember 1937.)

In ihrer vorhergehenden Arbeit haben A. Vercellone und L. Mamoli¹⁾ gezeigt, daß die im Molekül der Stoffe der Keimdrüsenhormon-Gruppe enthaltenen alkoholischen Hydroxyle auf biochemischem Wege zu Ketogruppen oxydierbar sind, indem sie Δ^5 -Androstendiol zu Androstendion (II) mittels verarmter Hefe dehydriert haben. Wir haben daher erkannt, daß, wenn es uns gelingt, das Dehydro-androsteron zu Δ^4 -Androstendion zu dehydrieren, es möglich sein muß, im Zusammenhang mit unseren Versuchen über biochemische Hydrierungen²⁾, bei welchen wir unter anderem die biochemische Umwandlung von Δ^4 -Androstendion in das Δ^4 -Testosteron durchführen konnten, durch einfache Oxydation und nachfolgende Reduktion auf biochemischem Wege das Dehydro-androsteron (I) in das Δ^4 -Testosteron (III) nach folgendem Schema umzuwandeln:

¹⁾ B. 71, 152 [1938].

²⁾ L. Mamoli u. A. Vercellone, B. 70, 470, 2079 [1937]; Ztschr. physiol. Chem. 245, 93 [1937]; A. Vercellone u. L. Mamoli, Ztschr. physiol. Chem. 248, 277 [1937].