

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.

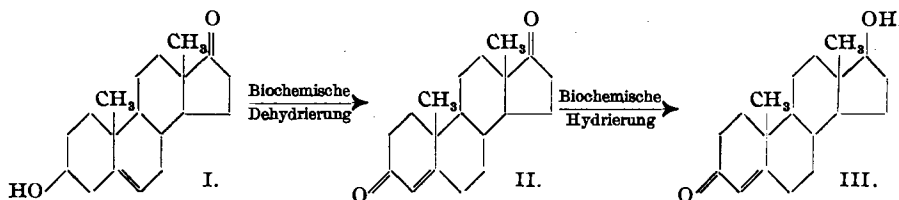
[Aus d. Istituto Sieroterapico Milanese u. d. Istituto di Perfezionamento in Chimica Industriale, Giuliana Ronzoni, Mailand.]

(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].



Erwartungsgemäß läßt sich Dehydro-androsteron (I) durch 48-stdg. Schütteln mit verarmter Hefe in Sauerstoff-Atmosphäre glatt zu Δ^4 -Androstendion (II) dehydrieren. Der Rückstand des ätherischen Extraktes krystallisiert aus Äther, wobei eine Substanz vom Schmp. 168—169⁰ (unkorr.) entsteht. Ihr Mischschmelzpunkt mit Δ^4 -Androstendion (II) ergibt keine Depression. Auch die entsprechenden Dioxime schmelzen ohne Erniedrigung. Die Ausbeute beträgt 70%.

Unter Berücksichtigung der von uns bei der biochemischen Reduktion von Δ^4 -Androstendion zu Δ^4 -Testosteron mittels gärender Hefe erhaltenen Ausbeute von über 80% ist es möglich, auf biochemischem Wege vom Dehydro-androsteron mit einer Ausbeute von etwa 53—55% zum Δ^4 -Testosteron zu gelangen. Die Ausbeute übertrifft die auf rein chemischem Wege bisher erzielte weitaus³⁾.

In der vorhergehenden Arbeit hatten wir das Androstendion aus der nach der Hefebehandlung erhaltenen Mischung mit Androstendiol mittels des Girardschen Ketonreagens⁴⁾ oder durch Hochvakuumdestillation isoliert. Bezüglich dieser Arbeitsweise blieb festzustellen, ob die Verschiebung der an C⁵⁻⁶ befindlichen Doppelbindung des Androstendiols nach C⁴⁻⁵, wie sie im Δ^4 -Androstendion vorhanden ist, während der biochemischen Dehydrierung oder bei der Aufarbeitung erfolgt. Die Tatsache, daß wir das Androstendion (II) nach der Dehydrierung von Dehydro-androsteron (I) nur durch einfaches Umkrystallisieren aus Äther und verdünntem Aceton erhalten haben, zeigt, daß die Verschiebung der Doppelbindung schon während der biochemischen Dehydrierung stattfindet.

Für die Genese des Keimdrüsenhormons ist es von großer Bedeutung, daß das Dehydro-androsteron auf enzymatischem Wege durch einfache Oxydation und nachfolgende Reduktion in Δ^4 -Testosteron umgewandelt werden kann, da wir es mit zwei Hormonen der Androsterongruppe zu tun haben, die beide aus Naturprodukten isoliert wurden.

Beschreibung der Versuche.

8 g Hefe (Mailand, flockige Fermente), 30 ccm Wasser und 20 ccm Pufferlösung werden 20 Stdn. bei 32⁰ mit Sauerstoff geschüttelt. Nach Zugabe von 200 mg in 30 ccm Wasser suspendiertem fein pulverisierten Dehydro-androsteron wird weitere 48 Stdn. unter Sauerstoff geschüttelt. Das Ganze wird dann mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit Wasser, Natronlauge, *n*-Salzsäure und wieder mit Wasser gewaschen. Die ätherische Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet und der Äther abgedampft. Der Rückstand

³⁾ Butenandt u. Hanisch, B. **68**, 1859 [1935]; Ztschr. physiol. Chem. **237**, 89 [1935]; L. Ruzicka u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta **18**, 1264 [1935].

⁴⁾ A. Girard u. G. Sandulesco, Helv. chim. Acta **19**, 1095 [1936].

wird aus Äther und verd. Aceton umkrystallisiert. So erhält man 140 mg vom konstanten Schmelzpunkt 168—169°, die mit Δ^4 -Androstendion (nach Butenandt und Kudszus⁶) keine Mischschmelzpunktserniedrigung geben. Auch die entspr. Dioxime schmelzen in der Mischprobe ohne Depression.

In der Mutterlauge der ersten Krystallisation aus Äther findet sich eine kleine Menge eines Stoffes, der in nicht ganz reinem Zustande bei ungefähr 220—225° schmilzt und den wir infolge Materialmangels vorläufig nicht untersuchen konnten.

26. Alberto Ercoli und Luigi Mamoli: Umwandlung des Δ^4 -Androstendions in Ätio-cholan-dion-(3.17) mittels eines enzymatischen Extraktes von Hengsthoden.

[Aus d. Istituto Sieroterapico Milanese, Mailand.]

(Eingegangen am 11. Dezember 1937.)

Nachdem nunmehr die chemische Struktur der Sexualhormone zum größten Teil aufgeklärt ist, bleibt nun festzustellen, wie, auf welchem Wege, durch welche Zwischenstufen diese Stoffe vom Organismus verarbeitet werden, durch welchen Mechanismus sie ihre physiologische Wirksamkeit ausüben können, und wie dieselben schließlich vor ihrem Ausscheiden in Stoffe von verminderter Wirksamkeit umgewandelt werden. Trotzdem allgemein angenommen wird, daß diese Umwandlungen mittels biologischer Katalysatoren erfolgen, fehlte unseres Wissens noch ein mittels enzymatischer Extrakte aus Tiergeweben durch Isolierung und chemische Charakterisierung erzielter experimenteller Beweis¹).

Auf diesem Gebiet haben L. Mamoli und A. Vercellone²) mit ihren Arbeiten über die biochemische Hydrierung der Stoffe der Androsterongruppe den ersten Beleg für eine enzymatische Umwandlung erbracht und damit sehr wichtige Ergebnisse in der Frage der Genese der Keimdrüsenhormone erhalten.

Mit vorliegender Arbeit bringen wir den ersten Beweis für eine enzymatische Umwandlung in vitro mittels Extraktes von Tiergeweben.

Ein wäßriger Extrakt von Hengsthoden wurde durch 48-stdg. Autolyse des fein zerkleinerten Organs mit chloroformgesättigtem Wasser bei 37° gewonnen. Dieser vorher filtrierte Flüssigkeit fügten wir fein pulverisiertes Androstendion (I) hinzu und ließen das Ganze bei 37° stehen. Nach Ablauf von 20 Tagen wurde das Umwandlungsprodukt abfiltriert, im Hochvakuum destilliert und aus verd. Aceton umkrystallisiert. So erhielten wir in guter Ausbeute eine Substanz vom Schmp. 131—132° (unkorr.), $[\alpha]_D^{18}$: +113° (Alkohol), deren Analyse auf ein gesättigtes Diketon der Zusammensetzung $C_{19}H_{28}O_2$ stimmte. Da der Mischschmelzpunkt unseres Stoffes mit Androstendion (Schmp. 129—130°) eine starke Depression ergab, haben wir angenommen, daß es sich um das stereoisomere Ätio-cholandion (II) handelt³).

⁵) Ztschr. physiol. Chem. **237**, 75 [1935]; L. Ruzicka u. A. Wettstein, Helv. chim. Acta **18**, 986 [1935].

¹) Versuche mit Leberbrei und Cholesterin wurden von P. Rondoni, V. Carminati u. A. Corbellini durchgeführt (Ztschr. physiol. Chem. **241**, 71 [1936]).

²) Ztschr. physiol. Chem. **245**, 93; **248**, 277 [1937]; B. **70**, 470, 2079 [1937].

³) Butenandt, Tscherning u. Dannenberg, Ztschr. physiol. Chem. **248**, 205 [1937].