

376. Luigi Mamoli: Biochemische Umwandlung von Dehydroandrosteron in Testosteron.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

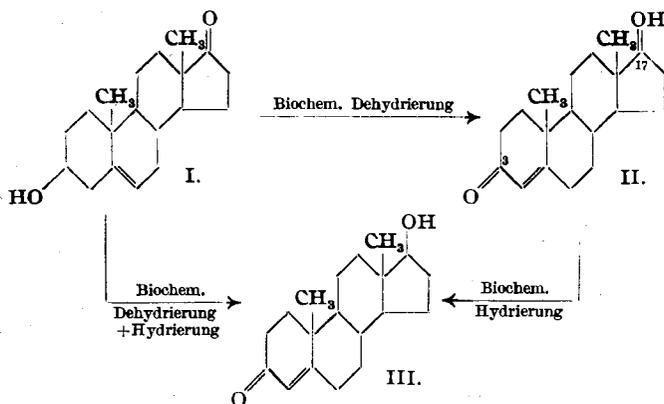
(Eingegangen am 11. Oktober 1938.)

Unter den bisher aus Naturprodukten isolierten Stoffen, denen die physiologische Wirksamkeit männlicher Sexualhormone zuzuschreiben ist, stellt das Testosteron (III) den physiologisch höchstwirksamen Vertreter dar. Die gleichzeitig von Butenandt und Hanisch¹⁾ und von Ruzicka und Wettstein²⁾ auf chemischem Wege durchgeführte künstliche Herstellung dieses Hormons geht vom Cholesterin aus, das über Dehydroandrosteron (I) als Zwischenprodukt durch eine Reihe von Umwandlungen in Testosteron (III) übergeführt wird.

Eine wesentliche Vereinfachung dieser Synthese ist Mamoli und Vercellone³⁾ gelungen; sie fanden, daß man Androstendion (II) auf biochemischem Wege mittels gärender Hefe glatt zu Testosteron (III) partiell reduzieren kann.

Die partielle Reduktion des Androstendions ist später auch auf chemischem Wege durchgeführt worden. Westphal und Hellmann⁴⁾ blockierten zu diesem Zweck die Carbonylgruppe am C₃ des Androstendions (II) durch Umsetzung mit Semicarbazid, während Serini und Köster⁵⁾ die 3-ständige Carbonylgruppe in einen Enoläthyläther überführten; nach Reduktion der Oxogruppe am C₁₇ wurde in beiden Verfahren die Carbonylgruppe am C₃ regeneriert.

Nachdem es kürzlich Mamoli und Vercellone⁶⁾ gelungen ist, Dehydroandrosteron (I) mit Bakterien zu Androstendion (II) zu oxydieren, habe ich eine einfache Methode ausgearbeitet, die in einer einzigen Operation — ohne Isolierung des Zwischenproduktes — die biochemische Umwandlung des Dehydroandrosterons (I) in Testosteron (III) in einer Ausbeute von 81% erlaubt.



¹⁾ B. **68**, 1859 [1935]; Ztschr. physiol. Chem. **237**, 89 [1935].

²⁾ Helv. chim. Acta **18**, 1264, 1478 [1935].

³⁾ B. **70**, 470 [1937]; Gazz. chim. Ital. **68**, 311 [1938].

⁴⁾ B. **70**, 2136 [1937].

⁵⁾ B. **71**, 1766 [1938].

⁶⁾ B. **71**, 1686 [1938]. Wie mir die Schering A.-G. mitteilte, ist die bakterielle Oxydation des Dihydroandrosterons u. a. Gegenstand einer Patentanmeldung der Schering A.-G. (Dtsch. Reichs-Pat. Anm. Sch. 113003 IV C/120 v. 3. 6. 1937, Erfinder Dr. H. Köster.)

Im Laufe der zur Ausarbeitung einer entsprechenden Methode durchgeführten Versuche wurde zuerst fein gepulvertes Dehydroandrosteron (I) zu gepuffertem Hefewasser hinzugefügt und sterilisiert; nach Infizierung mit dem früher⁶⁾ beschriebenen Gemisch oxydierender Bakterien und 48-stdg. Schütteln unter Sauerstoff bei 32° wurde die Reaktionslösung mit Rohrzucker und Bäckerhefe versetzt und 4 Tage in Gärung gelassen. Nach der Aufarbeitung wurde jedoch ein Gemisch von Androstendion (II) und Testosteron (III) isoliert, aus dem sich nicht mehr als 20% Testosteron (III) gewinnen ließen.

In weiteren gleichartigen Versuchen wurde die Dauer der Gärung durch sukzessiven Zusatz von Zucker verlängert. Auf diese Weise ließ sich die Ausbeute an Testosteron zwar beträchtlich erhöhen, eine vollständige Reduktion des Androstendions (II) zu Testosteron (III) war jedoch mit dieser Methodik nicht zu erreichen. So wurde z. B. nach einer über 12 Tage anhaltenden Gärung eine 60-proz. Ausbeute an Testosteron (III) erzielt, während der Rest das obgenannte Gemisch darstellte. Der Grund für die langsame Reduktion des Androstendions (II) unter den obwaltenden Bedingungen ist zweifellos nur darauf zurückzuführen, daß es in kleinen Krystallen vorliegt, die eine Einwirkung der gärenden Hefe nur schwer zulassen. Ein hemmender Einfluß des oxydierenden Bakteriengemisches war nicht festzustellen, denn Ansätze, die vor dem Hefe- und Zucker-Zusatz sterilisiert wurden, lieferten genau dasselbe Ergebnis wie die nicht sterilisierten.

Das Ziel einer praktisch vollständigen Umwandlung des Dehydroandrosterons in Testosteron wurde dadurch erreicht, daß ich nach Einwirkung der oxydierenden Bakterien auf das Dehydroandrosteron (I) das Reaktionsgemisch filtrierte; ich nahm den Rückstand mit Alkohol auf, befreite ihn durch Filtrieren von den Bakterien und fügte die alkoholische Lösung allmählich (um eine feine Suspension des Reaktionsproduktes zu erzielen) zu einer in voller Gärung befindlichen Bäckerhefe hinzu. Die nach 4-tägiger Gärung aufgearbeitete Reaktionslösung lieferte 81% an reinem Testosteron (III).

Butenandt⁷⁾ hat nach der Entdeckung des Dehydroandrosterons darauf hingewiesen, daß dieses ungesättigte Oxyketon möglicherweise ein Zwischenprodukt bei der Entstehung des Testosterons im Organismus sein könne. Die vorstehend beschriebene, rein enzymatisch verlaufende Umwandlung des Dehydroandrosterons in Testosteron zeigt, daß diese Auffassung durchaus möglich ist; wieweit ihr eine Bedeutung für die Genese des Testosterons im Organismus der Wirbeltiere zukommt, ist noch unbekannt.

Ich danke Hrn. Professor A. Butenandt für die Förderung dieser Arbeit und für die mir am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie gewährte Gastfreundschaft. Frä. H. Teschen ist für wertvolle Mitarbeit und der Schering A.-G., Berlin, für die Unterstützung der Untersuchung zu danken.

Beschreibung der Versuche.

60 ccm steriles Hefewasser wurden durch Zugabe von 10 ccm $m/5$ -sek. Natriumphosphat und 10 ccm $m/5$ -prim. Kaliumphosphat gepuffert, mit 200 mg fein pulverisiertem Dehydroandrosteron versetzt und 1 Stde. im Dampftopf sterilisiert. Nach dem Erkalten wurde mit einigen Tropfen der frisch in Hefewasser gezüchteten oxydierenden Bakterienmischung

⁷⁾ Ztschr. physiol. Chem. **237**, 57, 75, 89 [1935].

infiziert. Das Reaktionsgemisch wurde dann 48 Stdn. bei 32° unter Sauerstoff geschüttelt. Danach wurde der Versuch unterbrochen und die Suspension filtriert. Der auf dem Filter verbliebene Rückstand wurde in Alkohol gelöst und durch Filtration von Bakterien befreit. Die alkoholische Lösung wurde auf 20 ccm aufgefüllt und allmählich unter Schütteln zu einer in voller Gärung befindlichen Bäckerhefe (Ansatz: 20 g Bäckerhefe, 40 g Rohrzucker und 300 ccm Leitungswasser) hinzugefügt. Nach 2 Tagen wurde der Ansatz mit weiteren 20 g Rohrzucker versetzt und nach einer Gesamt-Gärungsdauer von 4 Tagen erschöpfend mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wurde mit $n/1$ -Natronlauge, verd. Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand ergab nach dem Umlösen aus verd. Aceton 162 mg an reinem Testosteron (Mischschmelzpunkt).

377. Percy Brigl und Roland Herrmann: Über die Oktalin- und Dekalin-dicarbonensäure-(9.10) (vorläufige Mitteil.).

[Aus d. Institut für Veterinärchemie d. Universität Berlin.]
(Eingegangen am 11. Oktober 1938.)

In einer Arbeit¹⁾, betitelt: „Über partiell hydrierte Phthal- und Benzoesäuren. Der Aufbau von 9.10-Dicarbonensäuren des partiell und total hydrierten Naphthalins. Zur Kenntnis der Diensynthese (VII. Mitteil.)“, beschreiben Alder und Backendorf unter anderem die Oktalin- und Dekalin-dicarbonensäure-(9.10). Diese waren nun auch in unserem Laboratorium, in dem ja früher unter G. Schroeters Leitung viele Arbeiten über hydrierte Naphthaline durchgeführt worden sind, für bestimmte Fragestellungen von erheblichem Interesse und wurden deswegen von uns synthetisiert. Wir waren, ein Weg, den in kleinem Umfang auch Alder und Backendorf gehen, ausgegangen von der Δ^1 -Tetrahydro-phthalsäure von Baeyer²⁾, die sich zwar schlecht nach der ursprünglichen Arbeitsvorschrift von Baeyer, wohl aber bei entsprechender Auswertung der Angaben von Baeyer über die Umlagerungsfähigkeit der verschiedenen Tetrahydro-phthalsäuren in 60—70-proz. Ausbeute aus Phthalsäure gewinnen ließ. An ihr Anhydrid, dem der Maleinsäure vergleichbar, wurde Butadien angelagert und so die Oktalin-dicarbonensäure und ihr Anhydrid gewonnen. Von noch nicht beschriebenen Derivaten sei das cyclische Imid und Hydrazid erwähnt. Reduktion mit Platin-oxyd-Wasserstoff gab auch uns die Dekalin-dicarbonensäure-(9.10) und ihr Anhydrid; weiter stellten wir das Imid, Hydrazid und den sauren und neutralen Methyl- und Äthylester dar.

Was uns an der Dekalin-dicarbonensäure zunächst interessierte, war die Frage, ob sie sich in ihren Reaktionen mehr wie eine Phthalsäure oder eine aliphatische, ditertiäre Dicarbonensäure verhielt, etwa vergleichbar der Tetramethylbernsteinsäure. Das letztere ist offenbar der Fall. Für die dem Phthalsäureanhydrid eigene Neigung, bei Reduktionen und Kondensationen asymmetrisch an der einen CO-Gruppe zu reagieren, ist keine Andeutung beobachtet worden. Beispielsweise wird Phthalsäureanhydrid bei der katalytischen Reduktion nach Willstätter und Jaquet³⁾ zunächst in Phthalid verwandelt, das Anhydrid der Oktalin-dicarbonensäure dagegen auch mit dem

¹⁾ B. 71, 2199 [1938].

²⁾ A. 258, 198 [1890].

³⁾ B. 51, 767 [1918].