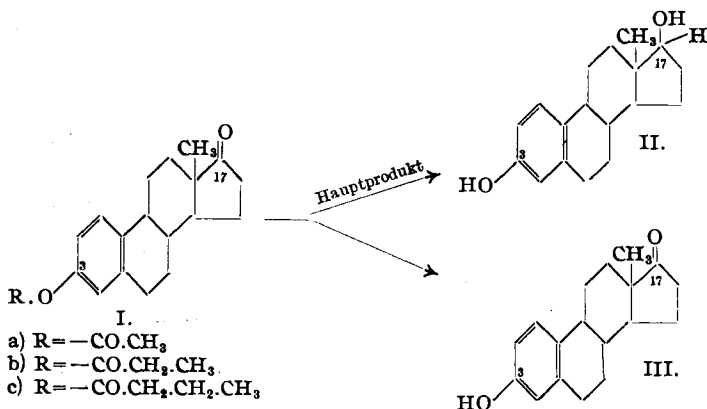


#### 448. Luigi Mamoli: Über das Verhalten oestrogenen Hormone bei der Einwirkung von gärender Hefe: Biochemische Umwandlung von Oestron-estern in $\alpha$ -Oestradiol.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]  
(Eingegangen am 23. November 1938.)

Oestron (III) liefert durch katalytische Hydrierung der in  $C_{17}$  befindlichen Ketogruppe  $\alpha$ - und  $\beta$ -Oestradiol<sup>1)</sup>, die sich in der sterischen Konfiguration der Hydroxylgruppe am  $C_{17}$  voneinander unterscheiden. Beide Reduktionsprodukte besitzen eine beträchtlich höhere physiologische Wirksamkeit als das Oestron;  $\alpha$ -Oestradiol (II) stellt den im Allen-Doisy-Test wirksamsten Vertreter der Oestrongruppe dar; es wurde auch aus Follikelflüssigkeit<sup>2)</sup> und aus Stutenharn<sup>3)</sup> isoliert. Es erschien daher wichtig, festzustellen, ob die Umwandlung von Oestron in  $\alpha$ -Oestradiol auch auf enzymatischem Wege zu verwirklichen war.

Mamoli und Vercellone<sup>4)</sup> haben gezeigt, daß bei den Vertretern der Androsterongruppe isolierte Ketogruppen in der 3- oder 17-Stellung mittels gärender Hefe leicht zu hydrieren sind. Da es sich bei der Umwandlung von Oestron in  $\alpha$ -Oestradiol auch um die Hydrierung einer isolierten Ketogruppe am  $C_{17}$  handelt, wurde erwartet, daß diese Umwandlung ebenfalls durch gärende Hefe leicht erreichbar sein würde. Einige diesbezügliche Versuche unter den bisher von mir verwendeten Bedingungen führten jedoch zu keinem befriedigenden Ergebnis; überraschenderweise konnte ich nun beobachten, daß sich einige Ester des Oestrons (I) vorteilhafter verhalten.



Fügt man Oestron-acetat (Ia) zu in voller Gärung befindlicher Bäckerhefe, so isoliert man nach 5-tägiger Gärung als Reaktionsprodukt ein Krystallisat, das nach Trennung in Keton- und Nichtketonanteile mittels

<sup>1)</sup> Schwenk u. Hildebrandt, *Naturwiss.* **21**, 177 [1933]; Wintersteiner, *Journ. Amer. chem. Soc.* **59**, 765 [1937]; Whiteman, Wintersteiner u. Schwenk, *Journ. biol. Chem.* **118**, 789 [1937]; Butenandt u. Goergens, *Ztschr. physiol. Chem.* **248**, 129 [1937].

<sup>2)</sup> Mac Corquodale, Thayer u. Doisy, *Journ. biol. Chem.* **115**, 435 [1936].

<sup>3)</sup> Wintersteiner, Schwenk u. Whiteman, *Proceed. Soc. exper. Biol. Med.* **82**, 1087 [1935]; dieselben u. Hirschmann, *Journ. Amer. chem. Soc.* **58**, 2652 [1936]; *Journ. Chem. Biol.* **119**, CVII [1937].

<sup>4)</sup> *B.* **70**, 470, 2079 [1937]; *Ztschr. physiol. Chem.* **245**, 93; **248**, 277 [1937].

des Ketonreagenses T von Girard<sup>5)</sup> als Hauptprodukt  $\alpha$ -Oestradiol (II) neben einer kleinen Menge Oestron (III) liefert.

Dieser Versuch zeigt, daß gärende Hefe die 17-ständige Carbonylgruppe des Oestron-acetates zu hydrieren vermag; gleichzeitig mit der Reduktion erfolgt jedoch die vollständige Verseifung des Acetylesters. Genau ebenso verhalten sich das Propionat (Ib) und das *n*-Butyrat (Ic) des Oestrons.

Setzt man das 3-Monopropionat des  $\alpha$ -Oestradiols der Einwirkung von gärender Hefe aus, so findet man nach 4-tägiger Reaktionsdauer nur vollständig verseiftes  $\alpha$ -Oestradiol vor. Aus diesem Versuch folgt, daß die Verseifung der hydrierbaren Oestronester durch Hefe unabhängig von der Hydrierung der Ketogruppe erfolgen kann. Dieses Verhalten der Oestronester steht im Gegensatz zu dem Verhalten der Ester männlicher Keimdrüsenhormone; so liefert das Dehydroandrosteron-acetat mit gärender Hefe Acetyl-androstendiol; die Hydrierung der Ketogruppe am C<sub>17</sub> erfolgt hier also ohne Verseifung der 3-ständigen Acetylgruppe, während die Ester der phenolischen Hydroxylgruppe des Oestrons durch gärende Hefe leicht verseifbar sind.

Bei allen bisher durchgeführten Hydrierungen von Oestronestern zu  $\alpha$ -Oestradiol konnte keine Reduktion der 17-ständigen Ketogruppe ohne gleichzeitige Verseifung des Esters beobachtet werden. Zur näheren Klärung dieser interessanten Beobachtung sind Versuche im Gange.

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

### Beschreibung der Versuche.

1) 200 mg Oestronacetat wurden in 20 ccm Alkohol gelöst und allmählich zu in voller Gärung befindlicher Bäckerhefe hinzugefügt (Ansatz 20 g Bäckerhefe, 40 g Rohrzucker, 300 ccm Leitungswasser). Nach 2-tägiger Gärung wurden noch 40 g in 50 ccm Wasser gelöster Rohrzucker hinzugefügt; das Reaktionsgut wurde weitere 5 Tage bei Zimmertemperatur in Gärung gelassen und anschließend erschöpfend mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der erhaltene Rückstand wurde in 30 ccm absol. Alkohol gelöst, mit 3 g Eisessig und 1.5 g Ketonreagens T (Girard)<sup>5)</sup> versetzt und 1 Stde. gekocht. Danach wurde in 200 ccm Wasser gegossen, das so viel Natronlauge enthielt, um 2.7 g Eisessig zu neutralisieren, und 3-mal mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung, welche die ketonfreien Anteile enthielt, wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol wurden 118 mg  $\alpha$ -Oestradiol isoliert. Schmp. 173—174° (unkorr.) (Mischschmelzpunkt).

Die aus dem Girard-Umsatz verbliebene wäßrige Lösung wurde mit 10 g Schwefelsäure versetzt und nach 2-stdg. Stehenlassen mit Äther extrahiert; es ließen sich 30 mg Oestron gewinnen.

2) 200 mg Oestronpropionat wurden in genau derselben Weise wie in 1) behandelt und aufgearbeitet; sie lieferten 110 mg  $\alpha$ -Oestradiol und 28 mg Oestron.

<sup>5)</sup> Helv. chim. Acta 19, 1095 [1936].

3) 200 mg Oestron-*n*-butyrat, wie oben behandelt und aufgearbeitet, lieferten 108 mg  $\alpha$ -Oestradiol und 28 mg Oestron.

4)  $\alpha$ -Oestradiol aus  $\alpha$ -Oestradiol-3-monopropionat. a) Herstellung von  $\alpha$ -Oestradiol-3-monopropionat: 220 mg Oestronpropionat wurden in Alkohol gelöst und mittels Raney-Nickel-Katalysators unter Wasserstoff hydriert. Nach 30 Min. war die Wasserstoffaufnahme beendet. Danach wurde das Reaktionsprodukt filtriert, das Filtrat in Wasser gegossen, mit Äther extrahiert und die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen. Durch Umkrystallisieren aus verd. Alkohol wurden 180 mg eines Stoffes erhalten, der die von Miescher und Scholz<sup>6)</sup> beschriebenen Konstanten für das  $\alpha$ -Oestradiol-3-monopropionat aufwies. Schmp. 124<sup>0</sup> bis 125<sup>0</sup> (unkorr.).

b) Einwirkung der gärenden Hefe: 150 mg Oestradiol-3-monopropionat wurden der Einwirkung von gärender Hefe wie in 1) unterworfen. Nach Extraktion mit Äther und Umkrystallisieren aus Alkohol wurden 95 mg  $\alpha$ -Oestradiol gewonnen. Schmp.: 173—174<sup>0</sup> (unkorr.).

5) Acetylandrostendiol aus Dehydroandrosteron-acetat: 180 mg Dehydroandrosteron-acetat wurden wie unter 1) behandelt. Nach der Extraktion mit Äther lieferte der Rückstand 120 mg 3-Acetyl-androstendiol. Schmp. 146<sup>0</sup> (unkorr.).

#### 449. Luigi Mamoli und Gerhard Schramm: Über bakterielle Hydrierung des Testosterons und Androstandions: Die Bildung von Iso-androstendiol, Iso-androsteron und Androsteron.

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

(Eingegangen am 23. November 1938.)

Ercoli und Mamoli beobachteten eine biochemische Hydrierung der männlichen Wirkstoffe Androstendion<sup>1)</sup> und Testosteron (I)<sup>2)</sup> durch Einwirkung eines Hengsthodenextraktes. Wir konnten zeigen, daß für diese Umwandlung Fäulnisbakterien verantwortlich zu machen sind<sup>3)</sup>. Das Testosteron geht hierbei unter Anlagerung von zwei Mol. Wasserstoff in *epi*-Ätiocholandioldiol-(3.17) (III) über, wobei als Zwischenstufe das von Ercoli<sup>2)</sup> ebenfalls isolierte gesättigte Oxyketon, das Ätiocholan-ol-(17)-on-(3) (II) anzunehmen ist. Das Auftreten stereoisomerer Verbindungen der Androstanreihe wurde bisher nicht beobachtet.

Bei der näheren Untersuchung der biochemischen Hydrierung des Testosterons durch die in einem Stierhodenextrakt wachsenden Fäulnisbakterien ist es uns nun gelungen, neben dem bisher allein aufgefundenen *epi*-Ätiocholandioldiol (III) auch Iso-androstendiol-(3.17) (V) nachzuweisen.

Wir erklären uns dieses von den bisherigen Befunden abweichende Ergebnis durch eine andersartige Zusammensetzung des von uns benutzten Bakteriengemisches, denn bei unserer Versuchsanordnung ist die wirksame Bakterienart von der zufälligen Infektion abhängig.

<sup>6)</sup> Helv. chim. Acta **20**, 263 [1937].

<sup>1)</sup> A. Ercoli u. L. Mamoli, B. **71**, 156 [1938].

<sup>2)</sup> A. Ercoli, B. **71**, 650 [1938].

<sup>3)</sup> L. Mamoli u. G. Schramm, B. **71**, 2083 [1938].