

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

4) α -Oestradiol aus α -Oestradiol-3-monopropionat. a) Herstellung von α -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 Scholz⁶⁾ beschriebenen Konstanten für das α -Oestradiol-3-monopropionat aufwies. Schmp. 124⁰ bis 125⁰ (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 α -Oestradiol gewonnen. Schmp.: 173—174⁰ (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. 146⁰ (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 Androstendion¹⁾ und Testosteron (I)²⁾ durch Einwirkung eines Hengsthodenextraktes. Wir konnten zeigen, daß für diese Umwandlung Fäulnisbakterien verantwortlich zu machen sind³⁾. Das Testosteron geht hierbei unter Anlagerung von zwei Mol. Wasserstoff in *epi*-Ätiocholandioldiol-(3.17) (III) über, wobei als Zwischenstufe das von Ercoli²⁾ 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.

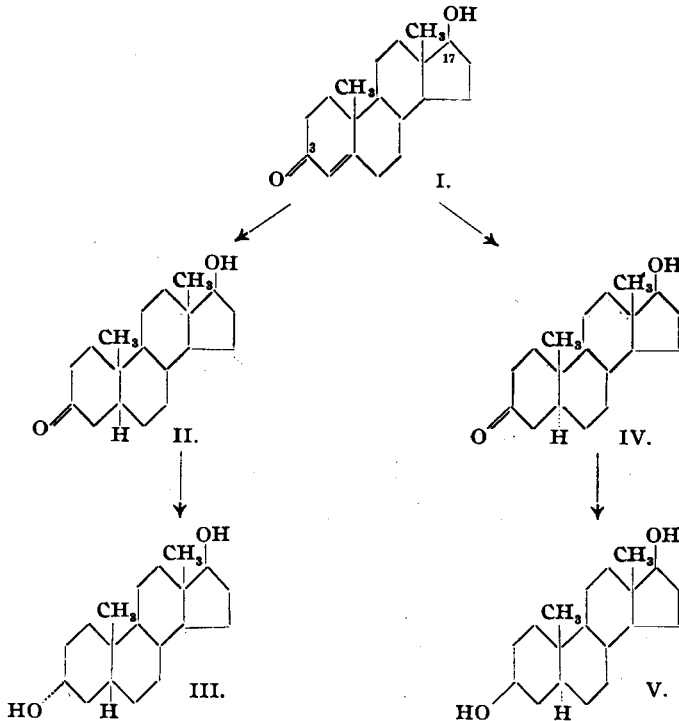
⁶⁾ Helv. chim. Acta **20**, 263 [1937].

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

²⁾ A. Ercoli, B. **71**, 650 [1938].

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

Als Zwischenstufe bei der Bildung des Iso-androstandiols-(3.17) (V) dürfen wir das Androstan-ol-(17)-on-(3) (IV) annehmen. Diese Annahme erscheint um so berechtigter, da wir fanden, daß das von uns benutzte Bakterien-gemisch imstande ist, auch gesättigte 3-Oxo-Derivate der Androstanreihe zu hydrieren. Wir untersuchten als Beispiel das Androstandion (VI). Während bei der Hydrierung dieses Stoffes mit Hefe⁴⁾ nur das Isoandrostandiol (V)



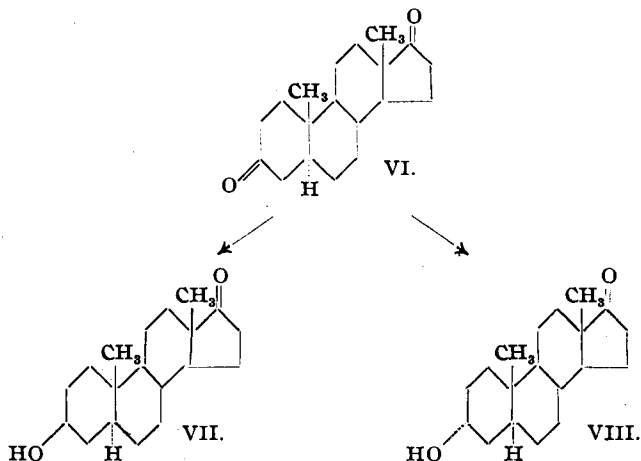
entsteht, erhielten wir bei der bakteriellen Hydrierung ein Gemisch der beiden am C₃ stereoisomeren Keto-alkohole Iso-androsteron (VII) und Androsteron (VIII). Die Bildung von Androsteron erscheint besonders bemerkenswert, da es als hauptsächlichstes biologisches Ausscheidungsprodukt der männlichen Keimdrüsenhormone betrachtet werden darf. Androstandion ist also eine mögliche Vorstufe bei der biologischen Bildung des Androsterons.

Bei der biochemischen Hydrierung der Keimdrüsenhormone mit gärender Hefe beobachteten L. Mamoli und A. Vercellone⁵⁾ den entscheidenden Einfluß der am C₁₇ angreifenden Seitenkette. Während Steroide ohne Seitenkette glatt hydriert wurden, blieb Cholestanon unverändert. Diese bemerkenswerte Spezifität besteht auch bei der bakteriellen Hydrierung. Unter denselben Versuchsbedingungen, bei denen Testosteron glatt hydriert wird, bleibt Cholestanon vollständig unverändert.

⁴⁾ A. Vercellone u. L. Mamoli, Ztschr. physiol. Chem. **248**, 277 [1937].

⁵⁾ B. **70**, 470 [1937].

Wir danken Hrn. Prof. A. Butenandt für die Förderung dieser Arbeit und der eine von uns (L. Mamoli) für die ihm 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.

610 g Stierhoden wurden zerkleinert, mit 1250 ccm Wasser vermischt und in einer verschlossenen Flasche 48 Stdn. bei 37° aufbewahrt. Dann wurde zentrifugiert und die klare Lösung, die in Fäulnis übergegangen war, in einem geschlossenen Gefäß aufbewahrt.

1) *epi*-Ätiochandiol und Iso-androstandiol aus Testosteron.

150 mg fein gepulvertes Testosteron wurden mit 200 ccm des Extractes versetzt und in einer geschlossenen Flasche 30 Tage bei 37° gehalten. Dann wurde die Lösung filtriert und der Filtrerrückstand in Aceton aufgenommen. Die Acetonlösung wurde durch Filtration gereinigt und eingengt. Das hierbei entstandene Krystallisat erwies sich als eine Mischung. Es wurde daher einer Trennung von Keton- und Nichtketon-Anteilen nach Girard⁶⁾ unterworfen. Zu diesem Zweck wurde das trockne Krystallisat in 30 ccm absol. Alkohol gelöst und mit 3 g Eisessig und 1.5 g Girard-Ketonreagens T versetzt. Nach 1-stdg. Erhitzen wurde die Mischung in Wasser gegossen, das die den Eisessig neutralisierende Menge Natronlauge enthielt. Die ketonfreien Anteile wurden ausgeäthert. Der nach dem Eindampfen der ätherischen Lösung verbliebene Rückstand (60 mg) wurde zur weiteren Trennung in 10 ccm 90-proz. Alkohol gelöst und mit 180 mg Digitonin in 10 ccm Alkohol versetzt. Das gebildete Digitonid wurde abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und durch Auflösen in Pyridin und Ausfällen des Digitonins mit Äther wieder gespalten. Nach dem Eindampfen der Äther-Pyridin-Lösung wurden 20 mg Iso-androstandiol vom Schmp. 163—164° erhalten (Mischschmelzpunkt).

Aus dem Filtrat des Digitonids wurden 17 mg *epi*-Ätiochandiol vom Schmp. 231° gewonnen.

⁶⁾ A. Girard u. Mitarb., Helv. chim. Acta **19**, 1095 [1936].

Die wäßrige Lösung der Ketonanteile wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert und nach 1-stdg. Stehenlassen mit Äther extrahiert. Es wurden 50 mg unverändertes Testosteron zurückgewonnen.

2) Androsteron und Iso-androsteron aus Androstandion.

140 mg Androstandion wurden wie oben mit 200 ccm des Stierhodenextraktes behandelt. Die nach der Aufarbeitung erhaltene Mischung wurde ebenfalls einer Trennung mit Girards Ketonreagens T⁶) unterworfen. Die ketonfreien Anteile enthielten nur wenige mg Substanz, die nicht untersucht wurden. Die Trennung der Ketone (95 mg) geschah auf folgende Weise:

a) 60 mg dieses Gemisches wurden mit 2 ccm Essigsäureanhydrid 20 Min. gekocht. Das Essigsäureanhydrid wurde entfernt und der Rückstand aus Methanol umkrystallisiert. Es wurden 17 mg Androsteron-acetat vom Schmp. 160—161° erhalten. Aus der Mutterlauge konnten keine weiteren Krystallisate erhalten werden.

b) 35 mg wurden durch Digitoninfällung getrennt, wobei 13 mg Iso-androsteron vom Schmp. 170—171° und 12 mg Androsteron vom Schmp. 178° erhalten wurden.

450. Luigi Mamoli: Bakterielle Dehydrierung von Pregnenolon zu Progesteron.

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

L. Mamoli und A. Vercellone¹⁾ haben kürzlich aus Mailänder Hefe ein Bakteriengemisch isoliert, das auf glatte Weise Dehydro-androsteron (I) zu Androstendion (II) dehydriert. Damit wurde die Möglichkeit aufgezeigt, in seitenkettenlosen Steroiden Alkoholgruppen auf enzymatischem Wege zu Ketogruppen zu dehydrieren.

Bei Versuchen zur biochemischen Hydrierung²⁾ von Steroid-Derivaten durch gärende Hefe wurde festgestellt, daß die am C₃ befindliche Keto-Gruppe des Cholestanons — im Gegensatz zur C₃-ständigen Carbonylgruppe in seitenkettenlosen Vertretern dieser Gruppe — nicht hydriert wird. Der aus diesem Befund ersichtliche Einfluß der Seitenkette macht sich auch bei der biochemischen Hydrierung von Vertretern der Pregnanreihe bemerkbar, die als Seitenkette am C₁₇ eine COCH₃-Gruppe aufweisen: *allo*-Pregnan-dion bzw. Pregnan-dion werden von gärender Hefe nicht reduziert.

Angesichts dieser Befunde war es von Interesse, den Einfluß der Steroid-Seitenkette auf die dehydrierende Wirkung der oben genannten Bakteriengemischung zu studieren. Als Substrate für diese Versuche wählte ich Cholesterin und Pregnenolon (III). Pregnenolon erschien von besonderer Wichtigkeit, weil es als Zwischenprodukt in der Corpus-luteum-Hormon-Synthese von A. Butenandt und U. Westphal³⁾ auftritt und durch Dehydrierung der am C₃ befindlichen alkoholischen Gruppe zur Ketogruppe unter gleichzeitiger Verschiebung der Doppelbindung Progesteron (IV) liefern mußte.

¹⁾ B. 71, 1686 [1938].

²⁾ L. Mamoli u. A. Vercellone, B. 70, 470 [1937].

³⁾ B. 67, 1611, 1903, 2085 [1934].