

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.

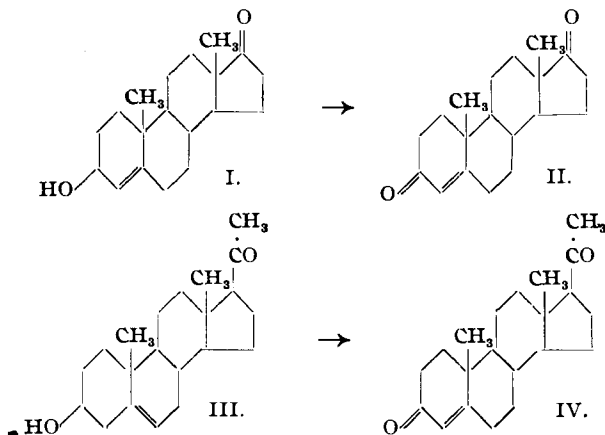
Angesichts dieser Befunde war es von Interesse, den Einfluß der Steroid-Seitenkette auf die dehydrierende Wirkung der oben genannten Bakteriengemischung zu studieren. Als Substrate für diese Versuche wählte ich Cholesterin und Pregnenolon (III). Pregnenolon erschien von besonderer Wichtigkeit, weil es 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].

Meine Versuche haben ergeben, daß die Seitenkette auch einen Einfluß auf den Verlauf der Dehydrierung durch Bakterien ausübt; während unter den von mir angewendeten Bedingungen Cholesterin vollkommen unverändert bleibt, wird Pregnenolon (III) zu Progesteron (IV) dehydriert. Diese Oxydation verläuft jedoch weniger glatt als die Dehydrierung des seitenkettenlosen Dehydro-androsterons (I) zu Androstendion (II), denn sie ist immer nur an einem Teil des Substrates durchführbar gewesen.



Ich fügte fein pulverisiertes Pregnenolon (III) zu sterilem und gepuffertem Hefewasser hinzu, infizierte mit dem dehydrierenden Bakteriengemisch¹⁾ und schüttelte zunächst 48 Stdn. unter Sauerstoff bei 32°. Bei dieser Versuchsanordnung konnte ich neben unverändertem Ausgangsmaterial nur geringe Mengen an Progesteron (IV) isolieren. Nach 6-tägiger Einwirkung desselben Bakteriengemisches konnte ich jedoch ein Reaktionsgemisch erhalten, das sich durch Umsetzung mit Chlorsulfonsäure nach der Methode von Butenandt und Westphal⁴⁾ in 40% Progesteron und 40% unverändertes Pregnenolon zerlegen ließ. Die Umwandlung von Pregnenolon zu Progesteron beschränkte sich auch auf insgesamt 40%, als ich das aus einer ersten Dehydrierung erhaltene Gemisch von Pregnenolon und Progesteron einer erneuten Einwirkung eines Bakteriengemisches unterwarf.

Butenandt ist der Auffassung, daß Pregnenolon eine Vorstufe bei der Entstehung von Progesteron im Organismus darstellen könnte. Die prinzipielle Möglichkeit einer Umwandlung von Pregnenolon zu Progesteron auf biochemischem Wege ist durch die vorstehend mitgeteilten Ergebnisse erwiesen.

Ich danke Hrn. Prof. 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.

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 Pregnenolon (III) versetzt und 1 Stde. im Dampf-

⁴⁾ B. 69, 443 [1936].

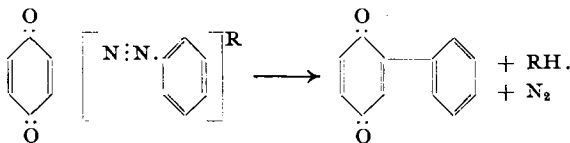
topf sterilisiert. Nach dem Erkalten wurde mit einigen Tropfen der frisch in Hefewasser gezüchteten dehydrierenden Bakterienmischung¹⁾ infiziert. Das Reaktionsgemisch wurde dann bei 32° unter Sauerstoff 6 Tage geschüttelt. Danach wurde der Versuch unterbrochen und die Suspension filtriert. Das Reaktionsprodukt wurde dem auf dem Filter verbliebenen Rückstand durch Auskochen mit Aceton entzogen und zur Krystallisation gebracht; es stellte ein Gemisch von Pregnenolon und Progesteron dar. Die Trennung dieses Gemisches wurde nach Butenandt und Westphal⁴⁾ auf folgendem Wege durchgeführt:

Das Gemisch wurde in 3 ccm Chloroform und 1½ ccm absol. Pyridin gelöst. Nach dem Abkühlen der Lösung auf 0° wurde eine ebenfalls gekühlte Mischung von 0.5 ccm Chlorsulfonsäure und 2 ccm Chloroform langsam hinzugegeben. Das Reaktionsgut wurde erwärmt und ½ Stde. auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurden etwa 40 ccm Äther und 20 ccm 2-*n*. Sodalösung hinzugefügt und kräftig geschüttelt. Das Natriumsalz des sauren Pregnenolon-sulfates fiel aus und wurde mit Äther gewaschen. Die gesamten ätherischen Lösungen wurden vereinigt, mit verd. Schwefelsäure und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in verd. Alkohol gelöst und ergab 80 mg Progesteron (Δ^4 -Pregnenon). Das Natriumsalz wurde durch Behandlung mit einem Gemisch aus 2 Tln. Alkohol und 1 Tl. 5-*n*. Schwefelsäure gespalten; es lieferte 80 mg Pregnenolon zurück.

451. Otto Neunhoeffer und Johannes Weise: Über die Einwirkung von Diazoniumverbindungen auf 2-Oxy-naphthochinon-(1.4).

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Universität u. Techn. Hochschule Breslau.]
(Eingegangen am 17. November 1938.)

In dem Dtsch. Reichs-Pat. 508395 der I.-G. von Fritz Günther¹⁾ ist ein Verfahren beschrieben, nach dem bei der Umsetzung von Chinonen mit Diazoniumverbindungen unter Austritt von Stickstoff arylsubstituierte Chinone erhalten werden nach folgendem Schema:



Das Verfahren arbeitet in alkoholisch wäßriger Lösung mit überschüssigem Natriumacetat und gibt gute Ausbeuten. Für Benzochinon ist eine größere Anzahl von Anwendungsbeispielen beschrieben, für das Naphthochinon-(1.4) eines.

Es ist erstaunlich, daß in einem derartig viel bearbeiteten Gebiet, wie es die Diazoniumverbindungen und die Chinone darstellen, diese glatt verlaufende Reaktion erst so spät aufgefunden wurde. Vielleicht wäre es nützlich, wenn diese Umsetzung auch in den Lehrbüchern erwähnt würde, die ja meist den Ersatz der Diazogruppe durch andere Reste mit erschöpfender Ausführlichkeit behandeln.

¹⁾ C. 1930 II, 137; 1931 I, 1675; Frdl., Fortschr. Teerfarb.-Fabrikat. 17, 557 [1930].