

Die gewogene Ölprobe, die zur Erreichung günstiger Verhältnisse 0,6 g nicht überschreiten soll, wird in dem oben erwähnten Reaktionskölbchen mit 5 cm³ absolutem Alkohol übergossen und während 5 Minuten unter Erwärmen energisch geschüttelt. Nach Zugabe von 1 cm³ konz. Salpetersäure wird in genau gleicher Weise wie oben verfahren. Nach dem Abkühlen hat sich die Hauptmenge des Öles am Boden des Kölbchens abgeschieden. Die überstehende Alkohollösung wird nun sorgfältig durch ein Filter abgehebert, am besten unter Verwendung der für die mikroanalytische Bestimmung von Halogenniederschlägen von *Pregl* angegebenen Filtriervorrichtung. Die alkoholische Lösung wird in einem Messgläschen aufgefangen und das Volumen, wenn notwendig, durch Alkoholzusatz auf 6 cm³ gebracht. Die Öllösung wird nun mit 3 cm³ reinem Aceton versetzt und durch dasselbe Filter in ein weiteres Messgläschen abgesaugt. Kölbchen und Filter werden nun mit 3 × ca. 1 cm³ reinem Aceton sorgfältig nachgewaschen, bis das Volumen der Acetonlösung ebenfalls 6 cm³ beträgt. Jede Lösung wird für sich photometriert, wobei selbstverständlich bei der Acetonlösung in den Vergleichsstrahlengang zur Kompensation der Lösungsmittelabsorption eine gleiche Schicht Aceton mit einer entsprechenden Menge des ursprünglichen Öles eingeschaltet wird. — Die Summe der beiden Extinktionswerte ergibt mit Hilfe der Eichkurve den Gehalt an Tocopherolen.

Es wäre gegen diese Methodik einzuwenden, dass die Extinktion des roten Farbstoffes in Acetonlösung nicht mit derjenigen in Alkohol übereinzustimmen braucht. Anscheinend ist ein dadurch hervorgerufener Fehler sehr klein, da sonst die Modellversuche in Sesamöl nicht so gute Resultate liefern könnten. Wir sind im übrigen damit beschäftigt, die Absorption des roten Umsetzungsproduktes unter diesen Bedingungen in Aceton mit derjenigen in Alkohol durch spektrographische Messungen zu vergleichen.

Organ. Chem. Laboratorium, Mikroanalytische Abteilung,
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich und Wissenschaftliche
Laboratorien der *F. Hoffmann-La Roche & Co. A. G.*, Basel.

32. Phytochemische Hydrierung von Oestron zu α -Oestradiol

von **A. Wettstein.**

(30. XII. 38.)

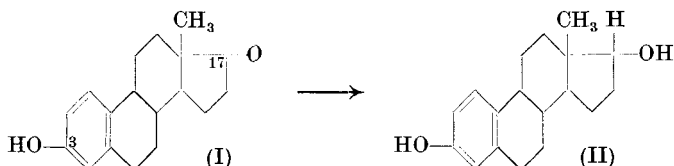
Im letzten Heft der „Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft“ beschreibt *L. Mamoli*¹⁾ das Verhalten oestrogener Hormone gegenüber gärender Hefe. Er findet, dass von niederen Fettsäuren abgeleitete Ester des Oestrons unter Verseifung der Estergruppe in 3-Stellung und Reduktion der 17-Ketogruppe in α -Oestradiol übergeführt werden; hingegen ergaben seine Versuche zur direkten Hydrierung von Oestron keine befriedigende Ergebnisse.

Ich habe mich vor 1½ Jahren, angeregt durch die elegante biochemische Überführung des Δ^4 -Androsten-3,17-dions in Testosteron²⁾, ebenfalls mit obigen Fragen beschäftigt. So konnte ich

¹⁾ *B.* **71**, 2696 (1938).

²⁾ *L. Mamoli* und *Vercellone*, *B.* **70**, 470 (1937).

damals in Übereinstimmung mit den heutigen Befunden von *Mamoli* die Umwandlung von Oestron-acetat durch gärende Hefe in α -Oestradiol feststellen. Unter den von mir benutzten Versuchsbedingungen war es aber auch ohne weiteres möglich, Oestron (I) phytochemisch zum α -Oestradiol (II) zu hydrieren:



Nach 7-tägiger Gärung erhielt ich ein Reaktionsprodukt, dessen Ketonfraktion etwas unverändertes Oestron zurücklieferte, während sich aus dem ketonfreien Anteil ein Oestradiol gewinnen liess, dessen Ausbeute unter Berücksichtigung des zurückgewonnenen Ausgangsmaterials etwa 70% betrug. Das erhaltene Diol war nach Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, optischer Drehung sowie Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt seines Dipropionates mit authentischem α -Oestradiol identisch. 17-Epimeres β -Oestradiol wurde nicht isoliert, dürfte sich aber mittels der jetzt bekannten einfachen Digitonin-Trennungsmethode¹⁾ eventuell noch in kleinen Mengen gewinnen lassen.

Von besonderem Interesse ist diese biochemische Darstellung von α -Oestradiol aus Oestron, da es vor einiger Zeit *Doisy* und seinen Mitarbeitern²⁾ gelungen ist, α -Oestradiol als hochwirksames Follikelhormon aus Ovarien (Follikelflüssigkeit von Schweinen) in kristallisierter Form zu erhalten. Ganz neulich konnte derselbe Arbeitskreis³⁾ auch die Anwesenheit von Oestron in Ovarien sehr wahrscheinlich machen. Es erscheint also durchaus möglich, dass auch im Organismus Oestron durch biochemische Hydrierung in Oestradiol übergeführt wird.

Experimenteller Teil⁴⁾.

Man liess ein Gemisch von 200 g reiner Glucose, 100 g frischer Presshefe (*A. G. Klippel & Co.*, Rheinfelden) und 1,2 Liter Leitungswasser in verschlossenem Gefäss mit Gasableitungsrohr unter heftigem Rühren bei 37° kurz angären, nachdem die ganze Apparatur und die Reagentien (ausser Hefe) sorgfältig bei 105° sterilisiert worden waren. Jetzt wurde eine Lösung von 1 g reinem Oestron in 50 cm³

¹⁾ *O. Wintersteiner*, Am. Soc. **59**, 765 (1937); *B. Whitman*, *Wintersteiner* und *Schwenk*, J. Biol. Chem. **118**, 793 (1937).

²⁾ *MacCorquodale*, *Thayer* und *Doisy*, Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. **32**, 1182 (1935); J. Biol. Chem. **115**, 435 (1936).

³⁾ *W. W. Westerfeld* und *Doisy*, Ann. intern. Med. **11**, 267 (1937); *W. W. Westerfeld*, *Thayer*, *MacCorquodale* und *Doisy*, J. Biol. Chem. **126**, 181 (1938).

⁴⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

frisch destilliertem Dioxan eingetroppt und das Ganze weiter 24 Stunden bei 37° gerührt. Dann gab man erneut 100 g Hefe, 200 g Glucose sowie 300 g Wasser zu und wiederholte die Zugabe nach je 24-stündiger Gärung viermal. Schliesslich wurde noch 42 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch ätherte man erschöpfend aus, wusch die vereinigten Ätherlösungen mit Wasser, gesättigter wässriger Natriumbicarbonat-Lösung und Wasser, trocknete sie und dampfte sie ein. Der Rückstand wurde zur Abtrennung unveränderten Oestrone in bekannter Weise nach *Girard* mit dem Chlorid des Trimethylamino-essigsäure-hydrazids¹⁾ umgesetzt und danach in einen wasser- und ätherlöslichen Anteil getrennt.

Aus der wässrigen Lösung setzte man die Ketonfraktion mittels Schwefelsäure wieder in Freiheit, saugte ab, wusch mit Wasser nach und krystallisierte unter Zusatz von Kohle aus verdünntem Methanol um. Es wurden so etwa 300 mg Oestron zurückgewonnen.

Die ätherische Lösung, enthaltend den carbonylfreien Anteil, wusch man mit Wasser, wässriger Bicarbonatlösung und Wasser, trocknete sie und dampfte sie ein. Der Rückstand lieferte durch Umkrystallisation aus verdünntem Methanol, wobei die erste kleine unreine Fraktion verworfen wurde, dann aus absolutem Methanol etwa 500 mg α -Oestradiol. Sein Smp. von 177—179,5° zeigte im Gemisch mit durch katalytische Reduktion von Oestron erhaltenem α -Oestradiol²⁾ keine Erniedrigung. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = +83^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,020$ in absolutem Alkohol; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,85^\circ \pm 0,02^\circ$).

Schliesslich erhitzte man noch 50 mg des Diols mit 1,2 cm³ Pyridin und 0,8 cm³ Propionsäure-anhydrid 1 Stunde auf 120°, fällte das erhaltene Produkt mit Wasser, saugte es ab, und krystallisierte es aus verdünntem Methanol um: Smp. 104—105,5°. Es ergab mit α -Oestradiol-dipropionat³⁾ keine Schmelzpunktserniedrigung.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba* in Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

¹⁾ Helv. **19**, 1095 (1936); Org. Synth. **18**, 10 (1938).

²⁾ S. u. a. *E. Schwenk* und *Hildebrandt*, Naturw. **21**, 177 (1933); *A. Girard*, *Sandulesco* und *Fridenson*, C. r. Soc. Biol. **112**, 964 (1933); *J. F. Danielli*, *Marrian* und *Haslewood*, Biochem. J. **27**, 311 (1933); *O. Wintersteiner*, Am. Soc. **59**, 765 (1937); *B. Whitman*, *Wintersteiner* und *Schwenk*, J. Biol. Chem. **118**, 793 (1937); *A. Butenandt* und *Goergens*, Z. physiol. Ch. **248**, 129 (1937).

³⁾ *K. Miescher* und *Scholz*, Helv. **20**, 268 (1937).