

azides with an hexapeptide. The two latter have been obtained from the hexapeptide by the recurring method, using active trichlorophenyl esters.

Comparison of the biological activities of these compounds with those of the corresponding analogues still bearing the α -amino group shows that suppression of this amino group decreases the pressoric/antidiuretic ratio of these compounds.

Laboratoires de Chimie pharmaceutique
SANDOZ S. A., Bâle

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **46**, 1669 (1963).
- [2] R. L. HUGUENIN, *Helv.* **47**, 1934 (1964).
- [3] V. DU VIGNEAUD, G. WINESTOCK, V. V. S. MURTI, D. B. HOPE & R. D. KIMBROUGH, *J. biol. Chemistry* **235**, PC 64 (1960); D. B. HOPE, V. V. S. MURTI & V. DU VIGNEAUD, *ibid.* **237**, 1563 (1962).
- [4] W. Y. CHAN & V. DU VIGNEAUD, *Endocrinology* **71**, 977 (1962); R. D. KIMBROUGH, W. D. CASH, L. A. BRANDA, W. Y. CHAN & V. DU VIGNEAUD, *J. biol. Chemistry* **238**, 1411 (1963).
- [5] R. L. HUGUENIN, E. STÜRMER, R. A. BOISSONNAS & B. BERDE, *Experientia* **21**, 68 (1965).
- [6] R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **49**, 695 (1966).
- [7] R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1629 (1962).
- [8] E. STÜRMER, R. L. HUGUENIN, R. A. BOISSONNAS & B. BERDE, *Experientia* **21**, 583 (1965).
- [9] P. G. KATSOYANNIS & V. DU VIGNEAUD, *J. biol. Chemistry* **233**, 1352 (1958); B. BERDE, R. L. HUGUENIN & E. STÜRMER, *Experientia* **18**, 444 (1962); M. BODANSZKY, M. A. ONDETTI, C. A. BIRKHIMER & P. L. THOMAS, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 4452 (1964).
- [10] R. A. BOISSONNAS & ST. GUTTMANN, *Helv.* **43**, 190 (1960); J. MEIENHOFER & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 6336 (1960).
- [11] R. A. BOISSONNAS & R. L. HUGUENIN, *Helv.* **43**, 182 (1960); voir également [7] (note 8) et [12] (tableau Nr. 8); R. D. KIMBROUGH & V. DU VIGNEAUD, *J. biol. Chemistry* **236**, 778 (1961).
- [12] B. BERDE & R. A. BOISSONNAS, dans «The Pituitary Gland» **3**, p. 624 (Ed.: G. W. HARRIS, Butterworths, London 1965).
- [13] P. A. JAQUENOUD & R. A. BOISSONNAS, cité dans [12].
- [14] J. PLESS & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **46**, 1609 (1963).
- [15] A. SCHÖNBERG & Y. ISKANDER, *J. chem. Soc.* **1942**, 90.
- [16] E. SANDRIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **46**, 1637 (1963).
- [17] TH. WIELAND & G. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **67**, 257 (1955).
- [18] ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **43**, 200 (1960).
- [19] H. B. F. DIXON, *Biochim. biophysica Acta* **34**, 251 (1959).
- [20] O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL, *J. biol. Chemistry* **193**, 265 (1951).

83. Über die adrenale Steroid-Biosynthese *in vitro*

III. Selektive Hemmung der Nebennierenrinden-Funktion

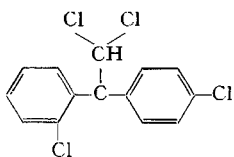
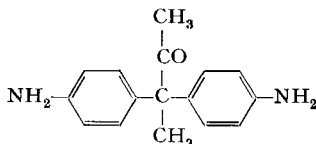
von F. W. Kahnt und R. Neher

(I. XII. 65)

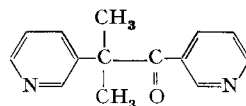
1. Möglichkeiten und praktische Anwendung der pharmakologischen Regulierung der Sekretion der Nebennierenrinde haben in den letzten Jahren erheblich zugenommen [1] [2]. Von den zahlreichen Angriffspunkten, welche das Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-System hierzu bietet [2] [3], erschien uns die *direkte Einwirkung* auf die Biosynthese in der Nebennierenrinde selbst von besonderem Interesse, da

damit nicht nur eine totale Blockade, sondern je nach Wunsch auch eine gezielte Beeinflussung der Bildung einzelner Corticosteroide möglich sein sollte. Eine totale Blockade der Corticosteroid-Bildung lässt sich schon mit allen Blockern der Cholesterin-Biosynthese erreichen [4], da Cholesterin offensichtlich die letzte oder eine der letzten gemeinsamen Zwischenstufen für *alle* Corticosteroide darstellt [5] [6] [7]. Eine Cholesterin-Blockade reicht aber weit über die Nebennierenrinden-Funktion hinaus und ruft erhebliche Störungen im Gesamtorganismus hervor; dagegen erschienen uns Verbindungen erwünscht, die die letzten Stufen der Corticosteroid-Biosynthese, *nach* Cholesterin oder z. B. *nach* Progesteron zu beeinflussen vermögen; nämlich solche, die auf die 20 α -, 21-, 17 α -, 18-, 19- oder 11 β -Hydroxylasen bzw. die 18-Hydroxysteroid-Dehydrogenase einwirken. So würde eine Hemmung der 20 α - oder 21-Hydroxylierung eine Blockade der Bildung aller Corticosteroidhormone verursachen; durch eine Hemmung der 17 α -Hydroxylase würde u. a. die Bildung von Substanz S¹⁾ und F, durch eine Hemmung der 11 β -Hydroxylierung u. a. die Bildung von F, B und Aldosteron, durch eine Hemmung der 18-Hydroxylase die Bildung von 18-Hydroxy-B und Aldosteron, usw. blockiert werden. Bei einer selektiven Blockierung ist gleichzeitig mit Mehrbildung anderer Reaktionsprodukte zu rechnen.

2. Einige der ersten Stoffe, von denen eine, wenn auch nicht selektive, so doch ausgeprägte Hemmung der Nebennierenrinden-Funktion *in vivo* bekannt wurde, waren das Insektizid *o,p'*-DDD (I) [8] und Amphenon B (II) [9]; ausgehend von letzterem, welches u. a. die Abspaltung der Cholesterin-Seitenkette hemmt [10], stellten BENCZE & ALLEN [11] eine Reihe von Analogen her, von denen besonders 1,2-Bis-(3-pyridyl)-2-methyl-1-propanon(III)(Su-4885, Metopiron®) zunächst als starker 11 β -Hydroxylase-Blocker bekannt geworden ist und therapeutisch-diagnostisch angewandt wird.

*o,p'*-DDD (I)

Amphenon B (II)



Metopiron® (III)

Ähnliche Pyridin-Derivate erwiesen sich nach CHART und Mitarbeitern [12] als starke Hemmer der 17 α -Hydroxylierung. Weitere Untersuchungen ergaben, dass einige dieser Substanzen jedoch noch andere Nebennierenrinden-Enzyme blockieren, wie z. B. 18-Hydroxylase und 18-Hydroxysteroid-Dehydrogenase [13] [14], oder 19-

- 1) Die hier verwendeten Abkürzungen oder Trivialnamen bedeuten
- | | |
|------------------------------|---|
| (REICHSTEIN's) S | = Pregn-4-en-17, 21-diol-3, 20-dion |
| Cortisol = F | = Pregn-4-en-11 β , 17, 21-triol-3, 20-dion |
| Cortison = E | = Pregn-4-en-17, 21-diol-3, 11, 20-trion |
| Corticosteron = B | = Pregn-4-en-11 β , 21-diol-3, 20-dion |
| 11-Dehydrocorticosteron = A | = Pregn-4-en-21-ol-3, 11, 20-trion |
| 11-Desoxycorticosteron = DOC | = Pregn-4-en-21-ol-3, 20-dion |
| Aldosteron | = Pregn-4-en-11 β , 21-diol-18al-3, 20-dion
(11 β \rightarrow 18 Hemiacetal) |
| HO | = Hydroxy- |

Hydroxylase [13] [15]. Metopiron hemmt ferner die 16α -Hydroxylase [16], nicht aber die 17α -, 21- und 6β -Hydroxylasen [17].

Im Rahmen dieser Befunde erschien uns eine erweiterte Prüfung verschiedener Verbindungstypen auf ihre mögliche Hemmung oder Aktivierung der für die selektive Steroid-Biosynthese wichtigen Hydroxylierungen angezeigt. Unter Berücksichtigung der zunehmenden Bedeutung der verschiedenen pathophysiologischen Formen des Hyperaldosteronismus stellte sich insbesondere das Problem, Stoffe für eine selektive oder präferentielle adrenale Aldosteron-Blockade aufzufinden.

3. Um die Wirkung verschiedenartiger Stoffe auf die einzelnen, oben erwähnten Stufen der adrenalen Biosynthese *in vitro* zu ermitteln, verfolgten wir die Neubildung von Corticosteroiden aus endogenem Cholesterin, mit oder ohne Zusatz radioaktiver Vorstufen, bei aerober Inkubation von Nebennierenrinden-Homogenaten des Rindes. Grundlagen und Bedingungen der verwendeten Methoden, welche die Bestimmung der Neubildung von DOC, S, B, A, F, E, Aldosteron, 19-HO-B und gelegentlich 18-HO-B gestatten, beschrieben wir kürzlich ausführlich [5] [6]. Hiernach gibt uns die Bildung der verschiedenen Steroide aus Cholesterin ein Mass für das Funktionieren einzelner Synthesestufen, wie:

Δ^4 -3-Ketosteroide allgemein für 20α - und 22-Hydroxylierung sowie Abspaltung einer C6-Seitenkette des Cholesterins, 3β -Hydroxysteroid-Dehydrierung und $\Delta^5 \rightarrow \Delta^4$ -Isomerisierung,

und im speziellen:

DOC	für 21-Hydroxylierung,
S	für 17α - und 21-Hydroxylierung,
B	für 21- und 11β -Hydroxylierung,
F	für 17α -, 21- und 11β -Hydroxylierung,
Aldosteron	für 18-, 21- und 11β -Hydroxylierung sowie 18-Hydroxysteroid-Dehydrierung,
19-HO-B	für 21-, 19- und 11β -Hydroxylierung,
A und E	für 11β -Hydroxysteroid-Dehydrierung.

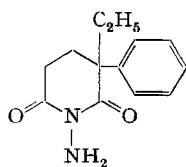
Eine Hemmung der Steroidbildung wurde dann als signifikant definiert, wenn der Mittelwert aus mindestens 2 Bestimmungen weniger als 50% des Kontrollmittelwertes ausmachte (EK_{25-50}); die hierfür nötige Konzentration wird im folgenden in $\mu\text{g/ml}$ angegeben. Betrug sie mehr als 30 $\mu\text{g/ml}$, so wurde der Hemmeffekt nicht mehr als spezifisch angesehen.

4. Über vorläufige Ergebnisse mit verschiedenen Verbindungstypen berichteten wir bereits 1963 in anderem Zusammenhang [18]. Dort wurde auch erwähnt, dass die *Heparinoide*, welche *in vivo* die Aldosteronwirkung selektiv antagonisieren, keine direkte Wirkung auf die Aldosteronbildung in den Nebennieren besitzen, wie es MAJOUR *et al.* [19] und neuerdings CONN *et al.* [20] vermutet hatten (vgl. hierzu [21]). Während wir die Bedeutung der *Steroide* als Hemmstoffe bzw. Regulatoren kürzlich ausführlich diskutierten [5], werden wir über *Pyridin*-Derivate, welche eine vielfältige Gruppe besonderer Art darstellen, separat berichten.

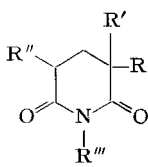
Die vorliegende Arbeit befasst sich mit einer Reihe anderer *synthetischer Verbindungsklassen*. Darunter befinden sich verschiedene Substanzen von anderweitigem

biologischem Interesse, welche in unserem System bis zu 60 $\mu\text{g/ml}$ keine direkte Hemmwirkung aufwiesen; dies betrifft z. B. Amphenon B, *o,p'*-DDD, andere Diarylmethan-Derivate und Cholesterinsynthese-Blocker vom Typ des Triparanol® (MER 25), der basischen Diphenylelessigsäureester oder der Triazine [4]. *trans*-1,4-Bis-(2-chlorbenzylamino-methyl)-cyclohexan-dihydrochlorid (AY 9944), einer der neueren Cholesterin-Blocker auf der Stufe 7-Dehydrocholesterin \rightarrow Cholesterin, hemmt in 10^{-4}M Konzentration nach GIVNER *et al.* [22] im Rattennebenieren-Homogenat die 11β -Hydroxylierung von Progesteron und DOC. Diese Hemmung scheint jedoch nicht für alle Spezies zu gelten, da wir sie selbst bei 4fach höherer Konzentration im Nebennierenrinden-Gewebe des Rindes nicht nachweisen konnten.

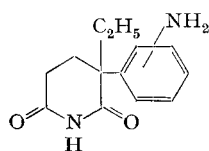
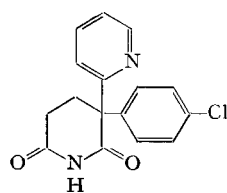
Nachdem wir bereits vor einiger Zeit im cyclischen α -Phenyl- α -äthyl-glutarsäurehydrazid (IV) eine Verbindung entdeckten, die mit 6 $\mu\text{g/ml}$ eine totale Blockade der Corticosteroidbildung verursachte [18], wandten wir uns der Glutarimid-Gruppe (V) zu, von welcher rund 100 Derivate zur Verfügung standen; sie wurden teils im Inkubations-System I, teils im System II geprüft [6].



IV



V

VI: *o*-Amino
VII: *p*-Amino

VIII

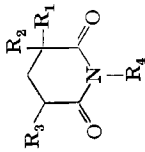
In Tab. 1 sind die Resultate mit den Derivaten der gemeinsamen Struktur V zusammengestellt. Es überraschte, dass ausser dem Hydrazid IV die Gruppe im grossen und ganzen unwirksam war, weshalb sich auch kaum Beziehungen zwischen Struktur und Wirksamkeit ableiten liessen. Nur 3 weitere Verbindungen, in R oder R' basisch substituiert, erwiesen sich als wirksam. Davon waren sowohl α -(*o*-Aminophenyl)- α -äthyl- wie α -(*p*-Aminophenyl)- α -äthyl-glutarsäureimid (VI bzw. VII) ebenfalls als Totalblocker anzusprechen, was sich durch Einsatz von [^3H]-Cholesterin als Vorstufe bestätigen liess.

Da kein Anstau von DOC oder S festzustellen war, wurde eine Blockierung der 21 -Hydroxylierung oder eine solche zwischen Cholesterin und Pregnenolon vermutet. Tatsächlich war ein Hemmeffekt nur bei Inkubation von endogenem Cholesterin oder exogenem [^3H]-Cholesterin, nicht aber von exogenem [^3H]-Pregnenolon, [^{14}C]-Progesteron und [^{14}C]- 17 -Hydroxyprogesteron nachzuweisen. Gleichzeitig ergab sich bei den [^3H]-Cholesterin-Versuchen gegenüber den Kontrollen ein wesentlicher Minderverbrauch an Cholesterin, aber kein Anstau hydroxylierter Cholesterin-Derivate. Dies liess darauf schliessen, dass die Blockierung durch die Verbindungen IV und VII gleich nach Cholesterin einsetzte und offensichtlich die 20α -Hydroxylierung betraf.

Bei dem α -(*p*-Chlorphenyl)- α -(2-pyridyl)-glutarimid (VIII) musste es sich hingegen um eine Blockierung der 11β -Hydroxylierung handeln, da sich gleichzeitig DOC und S anhäuferten.

Eine Abwandlung des Glutarimidringes durch Dehydrierung, Reduktion einer oder beider Carbonylgruppen oder Ersatz deren Sauerstoffatome durch Schwefel

Tabelle 1. Struktur und Wirkung von Glutarimiden



		EK ₂₅₋₅₀ in µg/ml					
		F	B	Aldosteron ^{a)}	19-HO-B		
R ₁	R ₂	R ₃	R ₄				
(IV) Ph ^{b)}	C ₂ H ₅	H	NH ²	6	6 ^{h)}		
Cyclohexyl, <i>p</i> -dimethylaminocyclohexyl	C ₂ H ₅	H	H	}	}		
Ph	CH ₃	CH ₃	H				
Ph	C ₂ H ₅	H	H ^{e)}				
Ph	C ₂ H ₅	CH ₃	H				
Ph	C ₂ H ₅	CH ₃	H				
Ph	[CH ₂ =CH, C ₃ H ₇ , C ₄ H ₉ , C ₆ H ₅ , Cyclohexyl, Ph]	H	H			> 60	
Ph	Ph	H	CH ₃	}	}		
Ph	C ₃ H ₄ N(C ₂ H ₅) ₂	H	H ^{d)}				
	CH ₂ NHCH ₃	H	H				
	C ₂ H ₅	H	H				
(VI) <i>p</i> -HO-Ph, <i>o</i> , <i>m</i> -Di-CH ₃ O-Ph]	C ₂ H ₅	H	H			30	30 ^{h)}
<i>o</i> , <i>m</i> -, <i>p</i> -CH ₃ O-Ph	C ₂ H ₅	H	H			30	30 ^{h)}
(VII) <i>o</i> -NH ₂ -Ph	C ₂ H ₅	H	H ^{e)}	}	}		
<i>p</i> -NH ₂ -Ph	C ₂ H ₅	H	H				
<i>p</i> -NH-Ph	C ₂ H ₅	H	H				
	R ₅ f)	H	H	> 60			
	<i>p</i> -R ₆ -Ph g)	H	H	}	}		
2-Chinoly	C ₂ H ₅	H	H				
(VIII) <i>p</i> -Cl-Ph	2-Pyridyl	H	H	30	30 ^{h)}		

a) Die gleichen Werte gelten im allgemeinen auch für 18-HO-B.

b) Ph = Phenyl.

c) Doriden®.

d) Aturban®.

e) Elipten®.

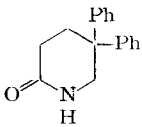
f) R₅ = CH₃, CH₂Ph, C₃H₇, C₂H₄OH, C₂H₄COOH, C₂H₄N(C₂H₅)₂

g) R₆ = (C₂H₅)₂N, (C₂H₅)₂NCH₂, O  NCH₂

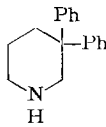
h) Totalblocker, keine Anreicherung von DOC und S.

i) 11β-Hydroxylaseblocker; als Endprodukte entstehen DOC und S.

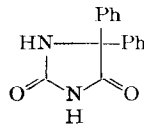
blieb mit Ausnahme der Verbindungen IX und X wirkungslos. Die zwei letzteren erwiesen sich mit 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ als Totalblocker. Der Ersatz des Glutarimidringes durch den Succinimidring oder teilweise reduzierte Succinimidringe führte im allgemeinen zu einem Abfall der Wirkung. In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, dass Diphenylhydantoin (XI), welches *in vivo* die Corticosteroidausscheidung verringert [23], und verschiedene Barbiturate (XII) keine direkte Wirkung auf die Nebennierenrinde aufweisen.



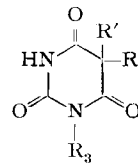
IX



X



XI



XII

Auf Grund der Befunde *in vitro* wurden die Verbindungen IV, VI, VII, IX und X an der Ratte *in vivo* anhand der Nebennierenvenen-Sekretion von Corticosteron und Aldosteron geprüft. Während IX und X mit 10 mg/kg *i.v.* keinen eindeutigen Effekt hervorzubringen vermochten, war die Sekretion der beiden Steroide durch die cyclischen Imide VI und VII mit 20 bzw. 10 mg/kg *i.v.* und durch das Hydrazid IV schon mit 3 mg/kg *i.v.* zu 50% oder stärker gehemmt; die Blockierung der Sekretion erwies sich in allen Fällen nach spätestens 2 Std. als reversibel.

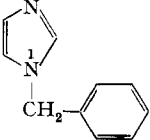
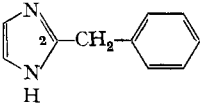
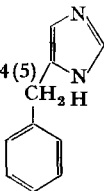
Unter zahlreichen anderen Verbindungsklassen (vgl. in [18]) fanden wir ferner in einigen einfachen Chinonen wie Juglon oder 1,2- und 1,4-Naphtochinon mässig starke Hemmer der Rindenfunktion im Sinne von Totalblockern (30 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Juglon hemmte die Bildung von F noch etwas stärker als diejenige der übrigen Corticosteroide.

Von den geprüften heterocyclischen Verbindungen mit 2 oder mehr Ring-Stickstoffatomen oder 1 Stickstoffatom und einem oder mehreren anderen Heteroatomen im Ring erwiesen sich die meisten als völlig wirkungslos. Schliesslich wurde unter den Imidazolen eine neue aktive Substanzklasse aufgefunden; die Wirkung einiger einfacher Derivate ist in Tabelle 2 aufgeführt. Gegenüber dem inaktiven 2-Benzylimidazol erwiesen sich die 1- bzw. 4(5)-Derivate sowohl qualitativ wie quantitativ überraschend wirksam. Sie lassen sich hinsichtlich Aldosteron- und Cortisol-Blockade mit den Pyridin-Derivaten Su-9055 und Su-10603 [13] vergleichen; darüber hinaus hemmen sie auch noch die 19-Hydroxylierung stark. Imidazoline oder Benzimidazole besaßen diese Eigenschaften nicht, Pyrazole nur in abgeschwächter Form.

Aus einer grösseren Anzahl verschiedener Verbindungsklassen – ohne Steroide und Pyridinderivate – konnten somit nur einige wenige Substanzen gefunden werden, denen eine spezifische Hemmwirkung auf die Nebennierenrinden-Funktion zukommt. Innerhalb einer einzelnen Gruppe bedarf es nur kleiner chemischer Veränderungen, um die Wirkung qualitativ und quantitativ stark zu beeinflussen. Nach den bisherigen Ergebnissen hemmten einige der Substanzen in der kleinsten wirksamen Konzentration selektiv nur einzelne Hydroxylierungen, wie solche in Stellung 11 β oder 20 α ; andere hemmten gleichzeitig mehrere Reaktionen, z. B. Hydroxylierungen in Stellung 17, 18 und 19. Besonders mit den 20 α -Blockern scheint sich *in vivo* die Corticosteroid-

hormon-Sekretion gut hemmen oder unterdrücken zu lassen, ohne dass als Nebenprodukte noch teilweise hormonal wirksame Vorstufen wie DOC und S gebildet werden können.

Tabelle 2. *Konstitution und Wirksamkeit einiger Benzylimidazole*

	EK_{25-50} in $\mu\text{g/ml}$			
	F	B	Aldosteron	19-HO-B
	30	150	6	6
	>30	>30	>30	>30
	3	150	3	3

Den Herren Dres. K. HOFFMANN, K. SCHENKER, HJ. SCHMID, K. SCHMID, M. SPILLMANN, E. SURY und E. URECH verdanken wir eine grosse Zahl der in dieser Arbeit erwähnten Substanzen. Herrn Dr. GIVNER danken wir für die Überlassung einer Versuchsmenge von AY 9944 und Herrn Dr. P. DESAULLES für die Durchführung der Nebennieren-Venenkanulation.

SUMMARY

The possibility is discussed of inhibiting the adrenocortical functions either selectively or preferentially by blocking the hydroxylations in positions 11β , 17α , 18 and 19 of the steroid nucleus or in 20α , 21 and 22 of the side chain, which are necessary for the formation of the individual corticosteroids from cholesterol. Many compounds with or without other biological activities, such as *o*, *p'*-DDD, Amphenone B, various blockers of cholesterol biosynthesis, heparinoids and various heterocyclic compounds, are shown to be devoid of a specific blocking activity on the adrenal cortex *in vitro*. However, amongst a large group of glutaric imides a few compounds proved to be active, mainly by blocking the 20α -hydroxylation of cholesterol, the most active being a cyclic hydrazide; the secretion *in vivo* of corticosteroids greatly decreased in response to 3–20 mg/kg. A new class of compounds active *in vitro* was found among simple imidazole derivatives, which block 17α , 18 and 19-hydroxylation.

Forschungslaboratorien des Pharma-Departements der
CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. H. U. BROWN, *Nature* 187, 985 (1960).
 - [2] R. GAUNT, J. J. CHART & A. A. RENZI, *Science* 133, 613 (1961); *Annu. Rev. Pharmacol.* 3, 109 (1963); *idem*, *Ergebnisse der Physiologie*, Bd. 56, Springer 1965.
 - [3] F. E. YATES & J. URQUHART, *Physiol. Revs.* 62, 359 (1962).
 - [4] R. HESS, *Advances in Lipid Res.* 2, 295 (1964).
 - [5] F. W. KAHNT & R. NEHER, *Helv.* 49, 123 (1966).
 - [6] F. W. KAHNT & R. NEHER, *Helv.* 48, 1457 (1965).
 - [7] R. I. DORFMAN & D. C. SHARMA, *Steroids* 6, 229 (1965).
 - [8] A. H. NELSON & G. WOODWARD, *Arch. Pathol. (Lab. Med.)* 48, 387 (1949); C. CULTO & J. H. U. BROWN, *Endocrinology* 62, 326, 334 (1958); T. BLEDSOE, D. P. ISLAND, R. L. NEY & G. W. LIDDLE, *J. clin. Endocrinology Met.* 24, 1303 (1964).
 - [9] M. J. ALLEN & A. H. CORWIN, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 117 (1950); R. HERTZ, W. W. TULLNER, J. A. SCHRICKER, F. G. DHYSE & L. F. HALLMAN, in *Recent Progress in Hormone Research* 77, 119 (1955); W. L. BENCZE, L. I. BARSKY, M. J. ALLEN & E. SCHLITTLER, *Helv.* 41, 882 (1958); J. J. CHART & H. SHEPPARD, *J. med. pharm. Chemistry* 7, 407 (1959).
 - [10] J. A. KIBELSTIS & J. J. FERGUSON, JR., *Endocrinology* 74, 567 (1964).
 - [11] W. L. BENCZE & M. J. ALLEN, *J. med. pharm. Chemistry* 7, 395 (1959).
 - [12] J. J. CHART, H. SHEPPARD, T. MOWLES & N. HOWIE, *Endocrinology* 71, 479 (1962); H. SHEPPARD & J. J. CHART, *Biochem. Pharmacol.* 8, 128 (1961).
 - [13] F. W. KAHNT & R. NEHER, *Experientia* 18, 499 (1962).
 - [14] A. F. MÜLLER, in L. MARTIN (ed.), *Hormonal Steroids*, Vol. 1, Academic Press, London 1963, p. 233; T. BLEDSOE, D. P. ISLAND, A. M. RIONDEL & G. W. LIDDLE, *J. clin. Endocrinol.* 24, 740 (1964); J. STACHENKO & C. J. P. GIROUD, *Canad. J. Biochem.* 42, 1777 (1964).
 - [15] K. GRIFFITHS, *J. Endocrinology* 26, 445 (1963); H. LEVY, CHUNG HWA CHA & J. J. CARLO, *Steroids* 5, 469, 479 (1965).
 - [16] J. K. GRANT, private Mitteilung (1965).
 - [17] H. LEVY, CHUNG HWA CHA, D. INNES CARGILL & J. J. CARLO, *Steroids* 5, 147 (1965); H. LEVY, CHUNG HWA CHA & J. J. CARLO, *ibid.* 5, 327, 337 (1965).
 - [18] R. NEHER & F. W. KAHNT, *Drugs and Enzymes*, Proc. 2nd Intern. Pharmacolog. Meeting, Prag 1963; Pergamon, Oxford 1965, p. 209.
 - [19] C. L. H. MAJOOR, R. SCHLATMANN, A. P. JANSEN & H. PRENEN, *Clin. chim. Acta* 5, 591 (1960).
 - [20] J. W. CONN, D. R. ROVNER, E. L. COHEN & S. KLEINBERGS, *Clin. Res.* 12, 351 (1964).
 - [21] J. FACHET, E. STARK, K. VALLENT & M. PALKOWITZ, *Acta med. Acad. Sci. hung.* 18, 461 (1962); E. GLAZ & K. SUGAR, *Endocrinology* 74, 159 (1964); H. C. FORD & R. E. BAILEY, *Clin. Res.* 13, 114 (1965).
 - [22] M. L. GIVNER, M. KRAML, D. DVORNIK & R. GANDRY, *Nature* 203, 317 (1964).
 - [23] P. J. COSTA, G. H. GLASER & D. D. BONNYCASTLE, *Arch. Neurol. Psychiatry* 74, 88 (1955).
-