

STOFFWECHSEL VON STEROIDPHARMAKA

VI. METABOLITEN VON 4-CHLOR-17 α -METHYL-17 β - HYDROXY-1,4-ANDROSTADIEN-3-ON* DURCH MIKROBIELLE HYDRIERUNG†

K. SCHUBERT, J. SCHLEGEL, C. HÖRHOLD und H. FRISCHLEDER

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Zentral-Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena, Abteilung für Steroidforschung und der Karl-Marx-Universität Leipzig, Physikalisches Institut, DDR

(Received 18 February 1970)

SUMMARY

The anabolic steroid Oral-Turinabol (4-chloro-17 α -methyl-17 β -hydroxy-1,4-androstadien-3-one) was hydrogenated with *Clostridium paraputrificum* and *Rhodotorula glutinis*. These micro-organisms stereospecifically reduce Δ^4 -3-ketosteroids to 5 β /3 α - and 5 α /3 α -hydroxy-derivatives respectively.

C1. paraputrificum transformed Oral Turinabol to 4 β -chloro-17 α -methyl-17 β -hydroxy-5 β -1-androsten-3-one and 4 β -chloro-17 α -methyl-5 β -1-androsten-3 α ,17 β -diol; *Rh. glutinis* to 4 α -chloro-17 α -methyl-17 β -hydroxy-5 α -1-androsten-3-one and 4 α -chloro-17 α -methyl-5 α -1-androstene-3 β ,17 β -diol.

In human beings the hydrogenation of Oral Turinabol is markedly inhibited. The microbiological hydrogenation is also diminished.

BIOCHEMISCHE Reaktionen am Steroidmolekül wie sie beim Stoffwechsel von Steroidhormonen und Steroidpharmaka im Säugetierorganismus ablaufen, können auch bei Mikroorganismen beobachtet werden. So eignen sich Mikroorganismen zur präparativen Herstellung von Steroidmetaboliten und zur Untersuchung bestimmter enzymatischer Reaktionen des Steroidstoffwechsels an einfachen Modellen.

Metaboliten werden für Vergleichszwecke bei Untersuchungen des Stoffwechsels von Steroidpharmaka und zur Testung ihrer Partialwirkungen bzw. toxikologischen Eigenschaften benötigt. Bekanntlich werden Steroidmetaboliten nicht mehr als unwirksame Ausscheidungsprodukte angesehen.

Substituierte und dadurch in der Wirkung differenzierte Steroidpharmaka lassen häufig Unterschiede in der Metabolisierung erkennen. Für die Erarbeitung von Grundlagen über Steroidstruktur, Stoffwechsel und Wirkung können in ausgewählten Fällen bei Mikroorganismen erhaltene Substrat-Stoffwechselbeziehungen herangezogen werden.

Hydrierungsreaktionen stellen bei endogenen Steroiden einen Hauptumwandlungsweg dar. Bei Oral-Turinabol (OT) ist jedoch aufgrund der strukturellen Merkmale des Ringes A eine Hydrierung erschwert [1]. Es wurde daher die Hydrierung dieses anabol wirksamen Steroids mit Mikroorganismen untersucht, die Δ^4 -3-Ketogruppen stereospezifisch hydrieren [2-5].

*Oral-Turinabol[®], VEB Jenapharm, Jena.

†V. Mitteilung, K. Schubert, G. Hobe und G. Frankenberg: Die Verteilung von Tritium markiertem 4-Chlor-17 α -methyl-17 β -hydroxy-1,4-androstadien-3-on im Pavian nach oraler Applikation, *Endokrinologie* 1970 (im Druck).

MATERIAL UND METHODEN

Fermentation

Clostridium paraputrificum (H2) wurde in 100 ml-Flaschen 24 Std. bei 37°C anaerob auf Gesamtanaerobenmedium angezüchtet und auf die Hauptkultur übertragen (Impfmateriale/Hauptkultur = 1/5).

Gleichzeitig wurde 200–300 mg Steroid/Liter Kultur in Aceton gelöst zugegeben. Die Fermentation erfolgte anaerob bei 37°C 2–4 Tage.

Rhodotorula glutinis (H86) wurde von 3–4 Tage alten Agarschrägröhrchen auf 1 liter-Schüttelkolben mit 100 ml Malzwasser überimpft und gleichzeitig 5 mg Steroid in 0,5 ml Aceton gelöst zugegeben. Die Fermentation erfolgte bei 25°C unter aeroben Bedingungen 4–5 Tage.

Aufarbeitung, Isolierung und Identifizierung der Umwandlungsprodukte

Die Kulturen wurden mit Äther bzw. Chloroform extrahiert. Äther ergab reinere Extrakte. Die Lösungen wurden 1 × mit 1 n Natronlauge und 3 × mit Wasser gewaschen. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wurden die Extrakte im Vakuum getrocknet.

Die Isolierung der Steroide erfolgte säulenchromatographisch durch Gradient-Elution oder dünnenschichtchromatographisch. Zur Charakterisierung wurde die Papierchromatographie herangezogen.

Von den nach mehrfacher Kristallisation erhaltenen Umwandlungsprodukten wurden der Schmelzpunkt, der Drehwert $[\alpha]_D$, das UV-Absorptions-Maximum und die C, H, Cl-Zusammensetzung bestimmt sowie die UR- und NMR-Spektren aufgenommen. Durch Acetylierung, Oxidation und katalytische Hydrierung wurden Derivate gebildet und deren physikalisch-chemische Eigenschaften ermittelt. In 2 Fällen wurde der Circular dichroismus gemessen.

Die spezifischen Drehwerte wurden mit einem lichtelektrischen Polarimeter Zeiss-Opton (Oberkochen) unter Anwendung einer Mikromethode bestimmt (Chloroform: C = 0,5).

Die UV-Absorption wurde mit einem UV-Spektralphotometer Sp 700 Unicam gemessen. Die Registrierung der UR-Spektren erfolgte mit einem Zeiss-UR-10-Spektralphotometer (VEB Carl-Zeiss, Jena). Für die Aufnahme der Spektren wurden von den Substanzen Mikro-KBr-Preßlinge $1 \times 1 \times 4$ mm mit 20–30 μ g Steroid angefertigt. Die NMR-Spektren der in CDCl_3 gelösten Steroide wurden mit einem Varian-HA-100 Spektrometer erhalten. Der Circular dichroismus wurde mit einem Roussel Jouan Dichrograph in Äthanol gemessen.

Acetylierungen sekundärer Hydroxygruppen erfolgten mit Pyridin-Acetanhydrid 1:1 bei Zimmertemperatur und Oxidation mit 0,2%iger Chromsäurelösung in reinem Eisessig bei 40–50°C. Katalytische Hydrierungen von Δ^1 -Doppelbindungen wurden mit einem 10% igen Palladium/Kohle-Katalysator in Methanol bei Zimmertemperatur (Katalysator/Substanz 1:1) durchgeführt. Für die Säulenchromatographie fand Aluminiumoxid neutral (Merck) Verwendung. Die Gradient-Elution erfolgte mit einem Benzol-Äthanol-Gemisch 0–1,33%. Als Adsorptionsmittel für die Dünnschichtchromatographie wurden Aluminiumoxid D (VEB Chemiewerk Greiz-Döhlau) sowie Kieselgel G (Merck) benutzt. Mit Kieselgel D und G wurden gleiche R_s -Werte erhalten. Die Laufstrecken betragen 14 cm. Zum Erkennen der bei 230–280 nm UV-Licht absorbierenden Steroide wurde 3% Leuchtstoff N 40 grün (VEB Leuchtstoffwerk Bad Liebenstein) zugesetzt. Bei analytischen Trennungen kamen 0,25 mm Schichten zum

Einsatz, bei präparativen Arbeiten 1 mm Schichten auf 20 × 80 cm Glasplatten. Die Papierchromatographie wurde mit Schleicher-Schüll-Papier 2043 bm durchgeführt. Die Trennungen erfolgten absteigend im Durchlauf mit dem System Bush A (Ligroin (100–120°)-Methanol-Wasser, 100:85:15. v/v/v/).

Die Substanzen wurden durch Phosphorwolframsäure (15%ig, Äthanol) und anschließendes Erhitzen der Papierstreifen auf 90°C bzw. der Dünnschichtplatten auf 120–130° sichtbar gemacht.

ERGEBNISSE

Bei der Einwirkung von *Cl. paraputrificum* auf OT (I) wurden 2 Hauptumwandlungsprodukte im Verhältnis von etwa 1:1 bei 50–70%iger Umsetzung des Substrates gebildet. Auf Aluminiumoxid D Schichten mit Äther als Laufmittel haben beide Metaboliten den gleichen Rf-Wert, im System Methylenchlorid/Essigester (17/3) bzw. Methylenchlorid/2%Äthanol/Wasser erfolgte jedoch eine Trennung in ein UV-positives (II) und ein UV-negatives (III) Umwandlungsprodukt nach 2 maligem Lauf (Tabelle 1). Papierchromatographisch konnten die Substanzen im Bush A-System und säulenchromatographisch mit Gradient-Elution getrennt werden.

Tabelle 1. Dünnschicht- und papierchromatographisches Verhalten der mikrobiellen Hydrierungsprodukte von Oral-Turinabol (OT)

Substanz	Dünnschichtchromatographie*		Papierchromatographie†	
	Rs	PWS-Spray	Rs	PWS-Spray‡
I (Oral-Turinabol)	1	Gelb	1	Gelb
II	1,2	Orange	1,8	Orange
III	0,7	Braun	1,2	Braun
IV	1,2	Orange	1,8	Orange
V	0,7	Rot-orange	0,9	Rot-orange

* Kieselgel G, Merck, System Methylenchlorid/2% Äthanol/Wasser.

† Schleicher-Schüll 2043 bm, System Bush A, 15 Std. Durchlauf.

‡ PWS-Phosphorwolframsäure, 15%ig in Äthanol.

Bei der Einwirkung von *Rhodotorula glutinis* auf OT wurde ein UV-negatives Hauptumwandlungsprodukt (V) erhalten. Die mittlere Ausbeute betrug 65%. In geringerer Menge (< 5%) wurde ein UV-positiver Metabolit (IV) gebildet. Die Umwandlungsrate lag bei etwa 80%. Papier- und dünnschichtchromatographisch ließen sich die Substanzen in den Systemen Bush A bzw. Methylenchlorid/Essigester und Methylenchlorid/2% Äthanol/Wasser gut trennen (Tabelle 1).*

Nach mehrfacher Kristallisation bis zur Schmelzpunktskonstanz wurden die physikalischen Daten der Umwandlungsprodukte bestimmt (Tabelle 2).

Zur Sicherung der Konfiguration der Ringe A/B, der 3-Hydroxygruppe und des 4-Chloratoms wurden Derivate der mikrobiellen Hydrierungsprodukte hergestellt (Abb. 1).

* Bei Versuchen, OT mit *Mycobacterium smegmatis* abzubauen, wurde von K. H. Böhme in unserer Abteilung eine Umwandlung zu 4-Chlor-17 α -methyl-testosterone festgestellt.

Tabelle 2. Physikalische Konstanten der mikrobiellen Hydrierungsprodukte von Oral-Turinabol (OT)

	I (OT)*	II	III	IV	V
Fp.	149–151°	172–175° (Ac./Chxn.)	208–210° (Chlf./l.gm.)	194–196° (Chlf./l.gm.)	181–183° (Chlf./EtOH)
$[\alpha]_D^{25}$	+56°	+90°	+51°	–32°	–10°
UV: λ_{Max} [nm]	246; 267 sh	232	—	232	—
UR: ν_{Max} [cm ⁻¹]	1636	1630, 1700	3020, 1660	1625, 1700	3035, 1650
C=C–H, C=C	1590	700–850	650–850	700–850	650–850
$\Delta^{1,3}$ -Keto					
Cl					
NMR: δ [ppm]; Multiplizität					
CH ₂ –17	1,15; s	1,21; s	1,18; st	1,22; s	1,20; s
CH ₂ –18	0,91; s	0,89; s	0,86; s	0,89; s	0,86; s
CH ₂ –19	1,28; s	1,28; s	1,11; s	1,11; s	0,96; s
H–1	7,08; d	6,88; d	5,74; d	7,17; d	5,94; q
H–2	6,32; d	6,00; d	5,34; q	5,95; d	5,50; q
H–3			5,45; sxt		4,28; sxt
H–4			4,38; q		4,00; q
CH ₂ –CO–O–		4,85; d	2,11; s	4,46; d	
Kopplungskonstanten J [Hz]	J _{1,2} = 10,0	J _{1,2} = 10,0; J _{4,5} = 14,0;	J _{1,2} = 10,0; J _{1,3} = 2,2; J _{2,3} = 2,2; J _{3,4} = 8,7; J _{4,5} = 12,5	J _{1,2} = 10,0; J _{4,5} = 13,0	J _{1,2} = 10,0; J _{1,3} = 2; J _{2,3} = 2; J _{3,4} = 8,2; J _{4,5} = 11,5
C ber.	71,30	71,1	70,9	71,1	70,9
gef.	70,80	70,8	69,7	71,6	70,3
H ber.	8,13	8,7	9,2	8,7	9,2
gef.	8,40	8,9	9,3	8,8	9,1
Cl ber.	10,59	10,3	10,4	10,3	10,4
gef.	10,39	10,2	10,5	9,2	10,5

* Die Pharmazie 18 (1963) 323.

† III-3-Azetat. Signale von Proton 3 und 4 bei III nicht aufgelöst.

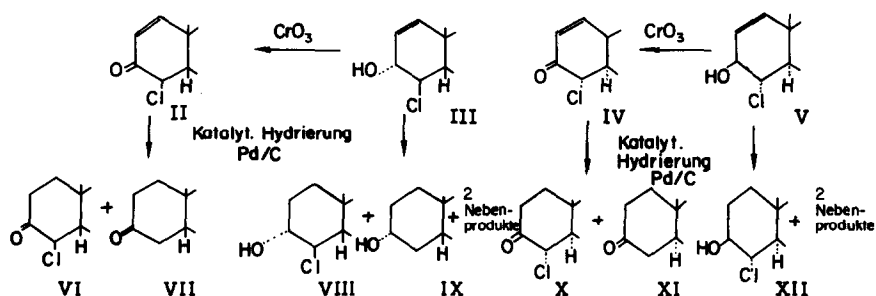
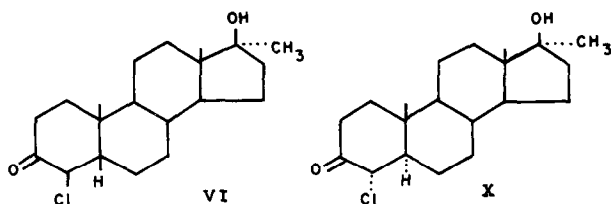


Abb. 1. Chromsäure-Oxidation und katalytische Hydrierung der mit *Clostridium paraputrificum* (H2) bzw. *Rhodotorula glutinis* (H86) erhaltenen Hydrierungsprodukte von Oral-Turinabol (OT).

Durch Chromsäureoxidation konnten die UV-negativen in die UV-*positiven Hydrierungsprodukte von *Clostridium paraputrificum* bzw. *Rhodotorula glutinis* überführt werden. Durch Acetylierung wurden die 3-Acetate hergestellt.

Die katalytische Hydrierung der UV-positiven Metaboliten II und IV ergab jeweils 2 Derivate im Verhältnis 2:3 (VI+VII und X+XI). Nach der dünn-schichtchromatographischen Trennung erwiesen sich die in größerer Menge gebildeten Derivate im chromatographischen Verhalten und hinsichtlich der UR-Spektren mit 5 α - bzw. 5 β -Dihydromethyltestosteron identisch. Von den chlorhaltigen Derivaten wurden außer den UR-noch die NMR-Spektren aufgenommen und der Circular dichroismus gemessen (Tabelle 3).

Tabelle 3. Physikalische Konstanten der Derivate VI und X



UR: $\nu_{\text{Max.}}^{\text{KBR}}$ [cm ⁻¹] C=O	1735	1735
NMR:		
δ [ppm]		
Multiplizität		
CH ₃ –17	1,22; s	1,22; s
CH ₃ –18	0,86; s	0,87; s
CH ₃ –19	1,08; s	1,12; s
H –4	4,78; d	4,40; d
Kopplungskonstante J [Hz]	J _{4,5} = 11,5	J _{4,5} = 12,2
CD: λ [nm]		
	313 (+0,16)	320 (–0,09)
	277 (–0,89)	290 (+2,47)
	214 (–0,29)	282 (+2,87)
		218 (–1,12)

Die katalytische Hydrierung der UV-negativen Metaboliten III und V ergab als Hauptprodukte die in Ring A gesättigten Derivate. Aus III wurde außerdem in geringer Menge ein Hydrierungsprodukt erhalten, das als $5\beta/3\alpha$ -Tetrahydro-methyltestosteron identifiziert werden konnte. Hinsichtlich des chromatographischen Verhaltens des Schmelzpunktes und des UR-Spektrums stimmte es mit der Vergleichsprobe überein.

DISKUSSION

Ausgehend von den Ergebnissen der mikrobiellen stereospezifischen Hydrierung von Δ^4 -, $\Delta^{1,4}$ -, $\Delta^{1,4,6}$ und $\Delta^{4,6}$ -3-Ketosteroiden durch *Clostridium paraputrificum* [2–5] wurden bei der Hydrierung des 4-Chlor- $\Delta^{1,4}$ -3-Ketons OT (I) als Hauptprodukt das 5β -4Cl- Δ^1 -3-Keton und in geringer Menge das 5β -4-Cl- 3α OH-Hexahydroderivat erwartet [4, 5]. Abgesehen von der geringeren Umsetzungsrate des OT schien das Auftreten von 2 Hydrierungsprodukten (II u. III), von denen II ein UV-Maximum bei λ 232 nm besaß, den Erwartungen zu entsprechen. Überraschend war jedoch, daß der UV-negative Metabolit III durch Chromsäure-Oxidation in das UV-positive Hydrierungsprodukt II überführt werden konnte. Dies bedeutete, daß zwar die 3-Ketogruppe mikrobiell zur Hydroxygruppe reduziert wurde, jedoch nicht, wie erwartet, auch die Δ^1 -Doppelbindung. Obwohl die mikrobielle Hydrierung mit *Cl. paraputrificum* bei etwa 25 verschiedenen ungesättigten 3-Keto-Steroiden stets zu $5\beta/3\alpha$ -OH-Derivaten führte und $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosteroide im allgemeinen teilweise bis zum Hexahydroderivat reduziert wurden, deutet das Verbleiben der Δ^1 -Doppelbindung im Ring A bei III auf eine Beeinflussung des Hydrierungsverlaufes durch das 4-Chloratom hin. Dadurch wurde die Überprüfung der Konfiguration der Ringverknüpfung A/B und der 3-Hydroxygruppe in den Umwandlungsprodukten erforderlich. In diesem Zusammenhang mußte auch die Konfiguration des 4-Chloratoms geklärt werden.

Die Hefe *Rhodotorula glutinis* wurde bisher zur Gewinnung einiger $5\alpha/3\alpha$ -Hydroxymetaboliten von Δ^4 -3-Ketosteroiden verwendet, wobei Ausbeuten von 40–45% erzielt wurden. Aus der Literatur ist bekannt [6], daß *Rhodotorula mucilaginosa* 4-Androsten-3,17-dion und Testosteron in $5\alpha/3\alpha$ - und $5\alpha/3\beta$ -Hydroxyderivate umwandelt. Es wurde angenommen, daß die mit *Rhodotorula glutinis* aus OT erhaltenen Hydrierungsprodukte IV und V die entsprechenden 5α -Isomeren der *Clostridium paraputrificum* Metaboliten II und III darstellen. Das UV-negative Umwandlungsprodukt V konnte ebenfalls durch Chromsäure-Oxidation in das UV-positive Derivat mit einem UV-Maximum bei $\lambda = 232$ nm überführt werden. Die Ergebnisse der UR- und NMR-Messungen führten zu einer Bestätigung der Δ^1 -3-Ketogruppierung in II und IV. Im IR-Spektrum liegen die entsprechenden Banden bei 1700 cm^{-1} und 1630 cm^{-1} bzw. 1625 cm^{-1} . Im NMR-Spektrum erscheinen die Signale des C-1-Protons infolge der Polarisation der Δ^1 -Doppelbindung durch die 3-Ketogruppe bei tieferem Feld als die des C-2-Protons [7]. Die Protonen am C-1- und C-2-Atom weisen sich durch Dubletts aus. Durch Chlorabspaltung unter hydrierenden Bedingungen gelang es, aus II 5β -Dihydromethyltestosteron und aus IV 5α -Dihydromethyltestosteron zu erhalten, wodurch die Verknüpfung der Ringe A/B von II und IV gesichert werden konnte. Da durch Chromsäure-Oxidation III in II und V in IV überführt werden konnte, ist auch die Ringverknüpfung A/B in III und V bewiesen. Von III wurde unter den gleichen hydrierenden Bedingungen $5\beta/3\alpha$ -Tetrahydro-methyltestosteron erhalten, womit ein zusätzlicher Beweis für die Ringverk-

nüpfung geliefert ist. Die Messung des Circular dichroismus von den Derivaten VI und X, in denen die Δ^1 -Doppelbindung der Umwandlungsprodukte II und IV entfernt ist, ergab neben einer weiteren Bestätigung der räumlichen Anordnung der Ringe A/B einen Beweis für die Konfiguration des 4-Chloratoms. Der schwache Minuseffekt bei VI ist nur mit einer 5β -H/ 4β -Cl-Konfiguration und der Pluseffekt bei X mit einer 5α -H/ 4α -Cl-Konfiguration zu vereinbaren. Weitere Beweise für die Konfiguration des 4-Chloratoms wurden aus den UR- und NMR-Spektren erhalten. Hierzu wurden neben den Spektren der 4-Umwandlungsprodukte II-V auch die der Derivate VI, VIII, X und XII herangezogen, bei denen die Δ^1 -Doppelbindung entfernt wurde. In den Verbindungen II und IV sind die Ketonbanden im Ultrarot um 15 cm^{-1} sowie in VI und X um etwa 25 cm^{-1} nach höheren Frequenzen verschoben. Bei α -Halogenketonen wird dieser Effekt nur bei coplanarer Anordnung der Carbonylgruppe und des Halogenatoms beobachtet [8]. Somit besitzt das 4-Chloratom die äquatoriale Konfiguration d.h. bei 5β -Steroiden wie II und VI die β - und in 5α -Steroiden wie IV und X die α -Anordnung. Die aus dem NMR-Spektren ermittelten Kernspin-Kopplungskonstanten erlauben die Bestimmung der Konfiguration der Substituenten am Ring A. Die vicinalen Kopplungskonstanten zwischen dem C-4- und C-5-Proton liegen alle zwischen $10,5$ – $14,0\text{ Hz}$ und lassen sich nur durch eine axial-axial-Kopplung der beiden Protonen erklären [9]. In 5α -Steroiden hat das 4-Chloratom somit die α - und in 5β -Verbindungen die β -Konfiguration.

Bei den 5α -Verbindungen IV, V, X und XII ergibt sich außerdem für den 4-Chlor-Substituenten nach Abzug der von Zürcher [10] angegebenen Inkremente der übrigen Substituenten ein Beitrag zur chemischen Verschiebung der 19-Methyl-Resonanz von $0,04$ – $0,08\text{ ppm}$. Diese kleinen Werte sind mit einer α -Konfiguration des 4-Chloratoms gut zu vereinbaren. Bei 5β -Steroiden sind sowohl für die α - als auch β -Konfiguration des 4-Chloratoms nur kleine Inkremente zu erwarten.

Ein Beweis für das Vorliegen einer 3α -Hydroxygruppe in den mit *Clostridium paraputrificum* erhaltenen Metaboliten III konnte durch dechlorierende Hydrierung zu $5\beta/3\alpha$ -Tetrahydromethyltestosteron erbracht werden.

Ein weiterer Beweis ergab sich aus dem UR-Spektrum des 3-Acetats von III. Das einer äquatorialen C-O-Bindung entsprechende, nicht aufgespaltene Maximum bei 1245 cm^{-1} , ist im Falle eines 5β -Steroids nur mit einer 3α -Acetoxygruppe vereinbar. In Übereinstimmung damit lieferte auch das NMR-Spektrum des III-3-Acetats den Beweis für eine 3α -Acetoxygruppe.

Die Konfiguration der Hydroxygruppe von V wurde durch das UR-Spektrum des 3-Acetats und das NMR-Spektrum der freien Verbindung bestimmt. Die nicht aufgespaltene UR-Bande bei 1250 cm^{-1} zeigte eine äquatoriale C-O-Bindung und somit eine 3β -Hydroxygruppe an.

Die vicinalen Kopplungskonstanten der C-3 und C-4-Protonen in den Verbindungen III-acetat, V, VIII und XII liegen zwischen $8,2$ – $9,5\text{ Hz}$ und weisen auf eine axial-axiale Anordnung der Protonen hin. Infolge elektronegativer Substituenten am C-3- und C-4-Atom sind die Kopplungskonstanten $J_{3,4}$ kleiner als $J_{4,5}$ [11]. Den Hydroxygruppen in III und VIII ist somit die α - und in V sowie XII die β -Konfiguration zuzuordnen.

Durch Anwendung spezieller mikrobieller Reaktionen konnten somit von Oral-Turinabol (OT) vier neue Metaboliten mit hydriertem Ring A erhalten werden. Wie bereits in einer vorhergehenden Mitteilung berichtet wurde, ist

bei OT die Hydrierung des Ringes A im Verlaufe des Stoffwechsels beim Menschen erschwert. So wurde nur ein Hydrierungsprodukt mit einem UV-Absorptions-Maximum bei $\lambda = 232$ nm isoliert. Auch die mikrobielle Hydrierung von OT ist verlangsamt. Über die vergleichende mikrobielle Metabolisierung von Testosteron und Testosteron-Derivaten sowie über Struktur-Stoffwechselbeziehungen wird in einer nachfolgenden Arbeit berichtet.

ANERKENNUNG

Herrn Dr. G. Kaufmann danken wir für die Unterstützung bei den NMR-Messungen und Frau Hannelore Hicke für gewissenhafte Mitarbeit. Herrn Dr. Snatzke, Bonn, sind wir für die Messung des Circular dichroismus und die Interpretation der Ergebnisse zu Dank verbunden.

LITERATUR

1. K. Schubert und K. Wehrberger: *Endokrinologie* **55** (1970) 257.
2. K. Schubert, J. Schlegel und C. Hörhold: *Z. Naturf.* **18b** (1963) 284.
3. K. Schubert, J. Schlegel und C. Hörhold: *Z. physiol. Chem.* **332** (1963) 310.
4. K. Schubert, J. Schlegel und C. Hörhold: *Steroids, Suppl. I* (1965) 175.
5. K. Schubert, J. Schlegel, K.-H. Böhme und C. Hörhold: *Biochim. biophys. Acta* **144** (1967) 132.
6. J. Dmochowska, A. Siewinski und A. Nespiak: *Bull. Acad. pol. Sci. Ser. Sci. biol.* **17** (1969) 133.
7. N. S. Bhacca und D. M. Williams: *Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*. Holden Day (1964), p. 90.
8. J. C. P. Schwarz: *Physical Methods in Organic Chemistry*. Oliver and Boyd, Edinburgh/London (1964), p. 70.
9. N. S. Bhacca und D. M. Williams: *Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*. Holden Day (1964), p. 51.
10. R. F. Zürcher: *Helv. chim. Acta* **46** (1963) 2054.
11. M. Karplus: *J. Am. chem. Soc.* **85** (1963) 2870.

ZUSAMMENFASSUNG

Das anabol wirksame Steroid Oral Turinabol[®] (4-Chlor-17 α -methyl-17 β -hydroxy-1,4-androstadien-3-on) wurde mit *Clostridium paraputrificum* und *Rhodotorula glutinis* hydriert. Diese Mikroorganismen hydrieren Δ^4 -3-Ketosteroide stereospezifisch zu 5 β /3 α -OH- bzw. 5 α /3 α -OH-Derivaten.

Oral-Turinabol wird von *Clostridium paraputrificum* in 4 β -Chlor-17 α -methyl-17 β -hydroxy-5 β -1-androsten-3-on und 4 β -Chlor-17 α -methyl-3 α ,17 β -dihydroxy-5 β -1-androsten umgewandelt und von *Rhodotorula glutinis* in 4 α -Chlor-17 α -methyl-17 β -hydroxy-5 α -1-androsten-3-on und 4 α -Chlor-17 α -methyl-3 β ,17 β -dihydroxy-5 α -1-androsten.

Im Verlaufe von Stoffwechseluntersuchungen beim Menschen wurde eine stark verminderte Metabolisierung von Oral-Turinabol zu Hydrierungsprodukten festgestellt. Die mikrobielle Hydrierung ist ebenfalls verlangsamt.