

## SHORT COMMUNICATION

# STEROIDSTOFFWECHSEL BEI PRIMATEN X. ISOLIERUNG VON $3\beta$ -HYDROXY-5-CHOLESTEN-7-ON AUS NEBENNIERENVENENBLUT UND PERIPHEREM BLUT VON *MACACUS RHEBUS* UND *PAPIO HAMADRYAS*\*

N. P. GONTSCHAROW, K. WEHRBERGER und K. SCHUBERT  
Institut für experimentelle Pathologie und Therapie, Suchumi, UdSSR und Zentralinstitut für  
Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena, DDR

(Received 26 April 1971)

### SUMMARY

$3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-one has been isolated from the adrenal venous blood of baboon (*Papio hamadryas*) and rhesus monkey (*Macacus rhesus*) and from the peripheral blood of rhesus monkey with haemorrhagic fever.

$3\beta$ -HYDROXY-5-cholesten-7-on wurde aus Ebertestes[1], Stierhoden[2] und Hodenvenenblut[3] isoliert. Kürzlich konnte  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on im peripheren Blut und im Ovargewebe des Haushuhnes nachgewiesen werden[4]. Ein Vorkommen dieser Substanz im Nebennierenvenenblut und peripheren Blut von Primaten wurde bislang nicht beschrieben. Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Steroide des Nebennierenvenenblutes von Affen wird hier über die Isolierung von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on aus dem Nebennierenvenenblut und peripheren Blut von gesunden und an einer Virusinfektion (hämorrhagisches Fieber)[5] erkrankten Affen sowie von Affen nach chronischer Belastung mit Natriumchlorid berichtet.

Die Gewinnung des Nebennierenvenenblutes erfolgte durch Katheterisierung unter Nembutal-Narkose[6]. Die Extraktion der Steroide wurde mit Essigester durchgeführt. Zur Reinigung wurde der Steroidextrakt einer Verteilung zwischen n-Hexan und 70%igem Methanol unterzogen[7]. Die Abtrennung der unpolaren Steroide erfolgte durch Papierchromatographie auf Whatman Nr. 1-Papier im System Bush A (Benzin 100–120°C/Methanol/Wasser, 100:85:15). Durch Kontaktphotographie wurde eine U.V.-positive Substanz mit dem gleichen  $R_f$ -Wert wie parallel laufendes  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on lokalisiert. Nach Elution mit Methanol konnte die weitere Reinigung der Substanz durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel GF 254 (E. Merck AG, Darmstadt) mit den Systemen Benzol/Äther (1:1) und Essigester/Chloroform (1:1) erreicht werden. Die  $R_f$ -Werte lagen bei 0,21 bzw. 0,40. Nach Elution mit Chloroform erfolgte die quantitative Bestimmung durch U.V.-Spektralphotometrie. Das in 96%igem Äthanol gemessene Absorptionsmaximum lag bei 238 nm. Das Ultrarotspektrum der isolierten Substanz (a) war mit dem Vergleichsspektrum (b) von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on identisch (Abb. 1). Die Messung der Ultrarotspektren wurde mit einem UR-10 Spektralphotometer (VEB Carl Zeiss Jena) unter Verwendung einer Mikrobeleuchtungseinrichtung als KBr-Pellet

\*N. P. Gontscharow, K. Wehrberger und K. Schubert: Steroidstoffwechsel bei Primaten—IX. Isolierung von  $11\beta,18$ -Dihydroxy-4-androsten-3-on-17 $\beta$ -Säurelacton (20  $\rightarrow$  18) aus Nebennierenvenenblut von *Papio hamadryas*. *J. steroid Biochem.* 1 (1970) 139–141.

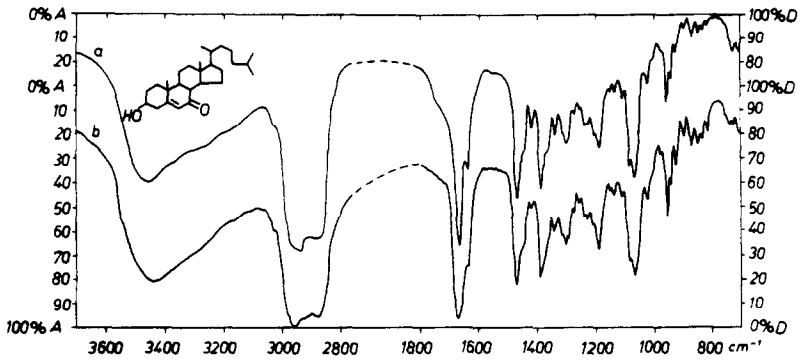


Abb. 1. Ultrarotspektren von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on (a = isolierte Substanz, b = Vergleichsstandard).

( $1 \times 2 \times 1$  mm) vorgenommen. Die Verluste an  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on im Verlauf der Isolierung wurden in Parallelversuchen unter Einsatz von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on (5 und 20  $\mu\text{g}$ ) bestimmt. Die Rückgewinnung betrug 85–92%. Die in der Tabelle angegebenen Werte sind nicht korrigiert. Zur Isolierung, Identifizierung und quantitativen Bestimmung des beschriebenen Steroids wurde 50 bis 80 ml Nebennierenvenenblut verwendet.

Tabelle 1. Sekretionsraten von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on im Nebennierenvenenblut gesunder, infizierter (hämorrhagisches Fieber) und mit NaCl belasteter Affen

| Affenart               | Zustand               | Anzahl<br>der<br>Tiere | Geschlecht | Alter<br>(Jahre) | Gewicht<br>(kg) | $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on<br>( $\mu\text{g}/100$ ml) |                           |
|------------------------|-----------------------|------------------------|------------|------------------|-----------------|---|---------------------------|
|                        |                       |                        |            |                  |                 | Peripheres<br>Blut  | Nebennieren-<br>venenblut |
| <i>Macacus rhesus</i>  | Gesund                | 5                      | ♂          | 6–12             | 7–12            | 0   | 4–5                       |
| <i>Papio hamadryas</i> | Gesund                | 5                      | ♂          | 8–15             | 12–24           | 0   | 5–6                       |
| <i>Macacus rhesus</i>  | Hämorrhag.<br>Fieber  | 4                      | ♂+♀        | 4–8              | 3–8             | 31–55   | 37–46                     |
| <i>Papio hamadryas</i> | Belastung<br>mit NaCl | 5                      | ♂          | 2–8              | 4–24            | 0   | 5–82                      |

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, liegt die Sekretion von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on bei gesunden Rhesusaffen und Pavianen im Bereich von 4–6  $\mu\text{g}/100$  ml Nebennierenvenenblut. Bei Rhesusaffen, die einer 'Stress-Situation' in einem Stuhlkäfig ausgesetzt waren, wurde kein  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on gefunden. Die Affen mit hämorrhagischem Fieber wiesen eine deutlich höhere Konzentration an  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on im Nebennierenvenenblut auf. Die Werte lagen bei 37–46  $\mu\text{g}/100$  ml.

Bei den mit Natriumchlorid behandelten Affen war die Menge des im Nebennierenvenenblut vorhandenen  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on ebenfalls stark erhöht. Auffallenderweise traten bei Affen, die an hämorrhagischem Fieber erkrankt waren, beträchtliche Mengen dieses Sterins im peripheren

Blut auf. Parallel mit der erhöhten Ausscheidung von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on konnten wir eine starke Erhöhung der Sekretion von  $3\beta$ -Hydroxy-5-androsten-7-on im Nebennierenvenenblut beobachten [8]. Im Gegensatz zu  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on war  $3\beta$ -Hydroxy-5-androsten-7-on im peripheren Blut nicht nachzuweisen.

Aufgrund der weiten Verbreitung von Cholesterin im Säugetierorganismus liegt der Gedanke nahe, daß das isolierte  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on bei der Aufarbeitung des Blutes durch Autoxydation aus Cholesterin entstehen könnte [2, 9, 10]. Entsprechende Parallelversuche unter Zugabe von Cholesterin führten jedoch zu keiner Bildung von Autoxydationsprodukten. Auch der Unterschied in der Sekretion von  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on bei gesunden und kranken, bzw. mit NaCl behandelten Tieren spricht gegen eine Artefaktbildung. Da  $3\beta$ -Hydroxy-5-cholesten-7-on bei den kranken Tieren auch in hohen Mengen im peripheren Blut auftritt (Tabelle 1), ist sowohl eine Bildung in der Nebennierenrinde als auch in der Leber in Betracht zu ziehen.

#### ANERKENNUNG

Frau Renate Schön danken wir für die Aufnahme der Ultrarotspektren und gewissenhafte Mitarbeit.

#### LITERATUR

1. E. Tagman, S. Liebermann und L. Ruzicka: *Helv. chim. Acta* **30** (1947) 1080.
2. R. Neher und A. Wettstein: *Helv. chim. Acta* **43** (1960) 1628.
3. C. D. West, V. P. Hollander, T. H. Kritchevsky und K. Dobriner: *J. clin. Endocr. Metabol.* **12** (1952) 915.
4. J. A. Furr und G. S. Pope: *Steroids* **16**, 471 (1970).
5. S. W. Schewzowa, M. I. Kuksova, E. K. Dschikidse, R. I. Krilowa und L. W. Danko: *Int. Symp. Suchumi (UdSSR)*, 17-22.9.1966, S. 146-150.
6. K. Schubert, K. Wehrberger und N. P. Gontscharow: *Acta biol. med. german.*: **18** (1967) 663.
7. N. A. Judaew, K. W. Druschinina und J. A. Pankow: *Probleme der Endokrinologie und Hormontherapie* Nr. 3 (1956) 78.
8. N. P. Gontscharow, K. Wehrberger, K. Schubert und S. W. Schewzowa: *Acta biol. med. german.* **23** (1969) 713.
9. R. P. Cook: *Cholesterol*. Academic Press, New York (1958).
10. E. R. Simpson und G. S. Boyd: In Mc Kerns, *Functions of the Adrenal Cortex*, Vol. 1, p. 50. North Holland, Amsterdam.