

Interesse, bei welchen Temperaturen und Θ_D -Werten das wahre T^3 -Gebiet denn eigentlich beginnen soll.

6. Die praktische Bedeutung der Debyeschen Funktion für thermodynamische Rechnungen und Extrapolationen bei tiefen Temperaturen wird durch die beschriebenen Diskrepanzen übrigens nicht geschmälert, da man bei modernen Arbeiten die Atomwärme ohnehin bis zu möglichst tiefen

Temperaturen mißt und die so erhaltene Kurve unmittelbar benutzt. Der dann noch übrig bleibende Rest des Energieinhalts ist so klein, daß selbst ein erheblich falscher Θ_D -Wert das Gesamtergebn nicht merklich beeinflußt.

Bei der vorliegenden Untersuchung, deren experimenteller Teil schon 1934 in Göttingen erledigt wurde, unterstützte mich Hr. Dr. Jochen Goldmann, wofür auch hier gedankt sei.

Überführung von Oestron in Oestriol*

Von ADOLF BUTENANDT und ERNA-LUISE SCHÄFFLER

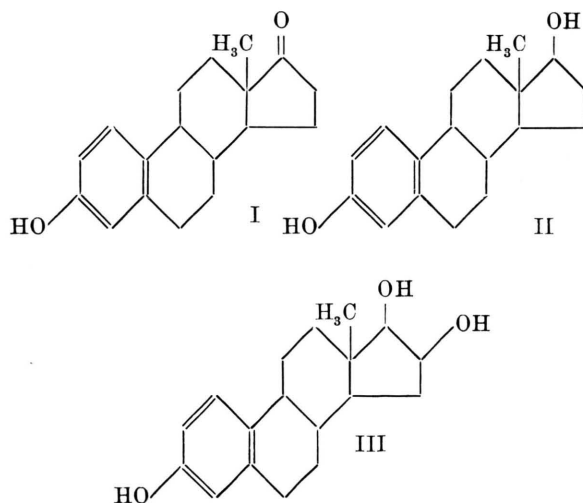
Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem, jetzt Tübingen

(Z. Naturforschg. 1, 82—87 [1946]; eingegangen am 31. August 1945)

Es wird eine Methode beschrieben, nach der das weibliche Keimdrüsenhormon Oestron über 5 Arbeitsstufen in einer Gesamtausbeute von 15% in das Placentahormon Oestriol überführt werden kann. Da Oestron synthetisch zugänglich ist, wird durch diese Verknüpfung auch die künstliche Darstellung des Hormons Oestriol ermöglicht.

Die Darstellungsart läßt den Schluß zu, daß im natürlichen Oestriol die 17-ständige Hydroxylgruppe in *trans*-, die 16-ständige in *cis*-Stellung zur angulären Methylgruppe am C₁₃ stehen.

Die Funktion des Follikelhormons wird im Organismus der Frau durch die 3 Steroidhormone *Oestron* (I), *Oestradiol* (II) und *Oestriol* (III) erfüllt, die qualitativ die gleiche physiologische Wirkung besitzen. Nach unserem heutigen Wissen vermögen wir nicht zu sagen, welche Bedeutung dem Nebeneinander der drei Stoffe im physiologischen Geschehen zuzuschreiben ist. Obwohl das Oestradiol in dem zum Nachweis des Follikelhormons zumeist verwendeten Test — dem Brunsttest am kastrierten Nagetier nach Allen und Doisy — in quantitativer Hinsicht die höchste Wirksamkeit zeigt, erscheint es doch nicht berechtigt, in ihm allein auf Grund dieses Befundes das „eigentliche“ Follikelhormon zu erblicken und die physiologische Bedeutung der beiden anderen oestrogen wirksamen Steroide nicht zu diskutieren, zumal quantitative Unterschiede in der physiologischen Wirksamkeit sich weitgehend nach der Art der Verabfolgung und der gewählten Testmethode richten können¹. Alle drei Stoffe sind — im Gegensatz zu anderen natürlich vor-



kommenden oestrogen wirksamen Steroiden, die im vorliegenden Zusammenhang nicht betrachtet werden sollen — nicht nur aus Harn, sondern aus hormonalen Produktionsstätten (Keimdrüsen, Nebenniere und Placenta) isoliert worden, und Stoffwechselversuche weisen darauf hin, an dieser Stelle erfolgt im Einvernehmen mit den Herausgebern der Ztschr. f. physiol. Chemie.

¹ J. Schmidt-Thomé, *Ergebn. Physiol.* **39**, 192 [1937].

* Die vorliegende Arbeit ist am 24. Nov. 1944 von der Schriftleitung der Zeitschr. f. physiol. Chemie zur Drucklegung im Bd. 282 angenommen worden, aber daselbst nicht mehr erschienen. Die Veröffentlichung



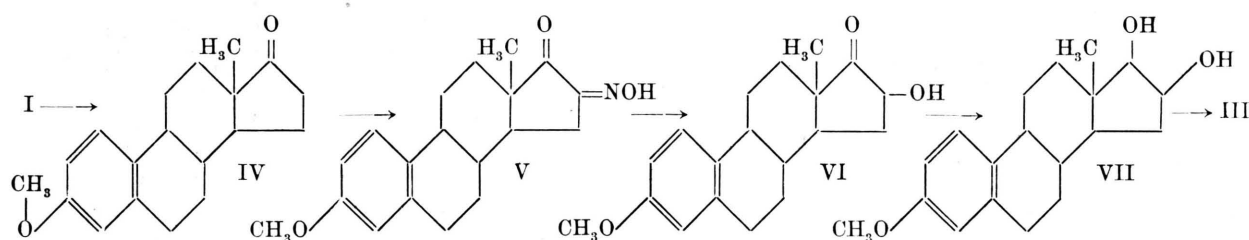
daß dem Organismus offenbar eine wechselseitige Überführung der drei Typen ineinander weitgehend geläufig ist².

In vitro wurden die drei Wirkstoffe durch Darstellung des Oestrone aus Oestriol unter Wasserabspaltung³, durch Reduktion des Oestrone zu Oestradiol⁴ und durch Dehydrierung des Oestradiols zu Oestron⁵ miteinander verknüpft. Dagegen fehlt es bisher an einer einfachen Methode zur Überführung des Oestrone (bzw. Oestradiols) in Oestriol. Diese Lücke ist um so auffallender, als der Organismus die Umwandlung von Oestron in Oestriol offenbar leicht vollziehen kann; die früher herrschende Auf-

fassung, daß die Reaktion in vivo sich nur unter Mitwirkung des Uterus vollziehe, ist durch den Befund widerlegt, daß auch der männliche Organismus nach Oestrongaben Oestriol (neben Oestron und Oestradiol) ausscheidet⁶.

Wir haben uns in unserem Arbeitskreis schon seit dem Jahre 1936 mit Versuchen beschäftigt, Oestriol aus Oestron darzustellen⁷. Obwohl sehr verschiedenartige Wege eingeschlagen wurden, ist es uns lange Zeit nicht gelungen, eine präparativ brauchbare Methode für diesen Übergang zu finden. Nachdem die Arbeiten wiederholt durch äußere Umstände unterbrochen werden mußten, erreichten wir vor kurzem das Ziel auf folgendem einfachen Wege, der die Überführung von Oestron in Oestriol über 5 Stufen

in einer Gesamtausbeute von 15% gestattet. 16-Isonitroso-oestronmethyläther (V), der durch Umsetzung von Oestronmethyläther (IV) mit Isoamylnitrit in tertiärem Butanol leicht darstellbar ist⁸, liefert beim Kochen mit Zinkstaub in Essigsäure⁹ einen 16-Oxy-oestronmethyläther (VI) vom Schmp. 169,5°, der durch die Darstellung eines *Acetates* (Schmp. 149°) und eines *Oxims* (Schmp. 211–213°) gekennzeichnet wurde. Durch Reduktion des 16-Oxy-oestronmethyläthers (VI) mit Natrium in Isopropanol läßt sich die 17-ständige Carbonylgruppe in eine sekundäre Alkoholgruppe umwandeln; das entstehende *Glykol* (VII) erwies



sich nach analytischer Zusammensetzung, Schmelz-, Mischschmelzpunkt und optischer Drehung sowie durch Vergleich der *Diacetate* als sicher identisch mit dem Methyläther des natürlichen Oestriols.

Der gewonnene *Oestriolmethyläther* (VII) läßt sich durch einstündiges Erhitzen mit einer Mischung 2 : 1 von Eisessig und Bromwasserstoff (*d* 1,48) in freies *Oestriol* (III) überführen. Wie aus umseitiger Tabelle hervorgeht, ließ sich die Identität des so dargestellten synthetischen Oestriols mit dem natürlichen Hormon durch Vergleich mit einem aus Schwangerenharn bereiteten Präparat und durch die Untersuchung der aus beiden Stoffen dargestellten *Triacetate* einwandfrei sichern.

Zur Identitätsbestimmung wurde mit Vorteil das Verhalten der Stoffe unter dem *Heizmikroskop*

² Westerfield u. Doisy, Chem. Zbl. **1938**, I, 348; Pincus u. Zahl, Chem. Zbl. **1937**, II, 3337; Fish u. Dorfman, J. biol. Chemistry **140**, 83 [1941]; Pearlman u. Pincus, J. biol. Chemistry **147**, 379 [1943].

³ A. Butenandt u. F. Hildebrandt, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **199**, 243 [1931].

⁴ E. Schwenk u. F. Hildebrandt, Naturwiss. **21**, 177, 286 [1933].

⁵ A. Butenandt u. C. Goergens, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **248**, 140 [1937].

⁶ Pearlman u. Pincus, l.c.

⁷ An diesen Arbeiten haben sich C. Goergens, I. Groß-Marquardt, J. Schmidt-Thomé, W. Weidel und Th. Weiß beteiligt: C. Goergens, Dissertat. Danzig 1937. Th. Weiß, Dissertat. Danzig 1919, I. Groß-Marquardt, Diplomarbeit Berlin 1942, E.-L. Schäffler, Diplomarbeit Berlin 1944.

⁸ Litvan u. Robinson, J. chem. Soc. [London] **1938**, 1997.

⁹ Methodik: F. H. Stodola, J. org. Chemistry **6**, 841 [1941].

	Schmelzpunkt	Optische Drehungen in		
		Pyridin	Chloroform	Alkohol
synthet. Oestriol .	279°	+ 34,6°	—	+ 66,7°
natürl. Oestriol .	280°	+ 32°	—	+ 66°
		+ 36,8°	—	+ 62°
synthet. Triacetat	127,5°	0°	—17,4°	—
natürl. Triacetat .	127,5°	0°	—18°	—

nach Kofler¹⁰ untersucht, nachdem die zu vergleichenden Proben unter völlig gleichen Bedingungen umgelöst waren. Die beiden *Oestriol-triacetate* schmolzen bei dieser Beobachtungsart bei 126—129°, ein Mikro-Mischschmelzpunkt ergab keine Depression und zeigte einen ganz einheitlichen Schmelzvorgang. Da die Schmelzen nicht wieder erstarrten, konnte in diesem Fall kein Schmelzdiagramm aufgenommen werden. — Synthetisches und natürliches *Oestriol* zeigten unter dem Schmelzpunktmikroskop einen um 8° höheren Schmelzpunkt als im Schmelzpunktsröhrchen, er lag bei 288°; ein für beide Stoffe kennzeichnendes, 30—40° unter dem Schmelzpunkt einsetzendes Sublimieren lieferte kleine Krystallite auf dem Deckgläschen. Beim Abkühlen erstarrte die *Oestriol*schmelze zu einem farnkrautartigen Krystallfilm, der sich besonders gut in polarisiertem Licht beobachten ließ. Getrennt unter ein gleiches Deckgläschen gebracht, liefen die beiden *Oestriol*präparate beim Schmelzen zu einer homogenen Mischung zusammen, die, an mehreren Stellen beginnend, einheitlich zu dem erwähnten Krystallfilm erstarrte, der beim Wiederschmelzen kein Eutektikum erkennen ließ, sondern den gleichen Schmelzpunkt zeigte wie die reinen Komponenten. — Wurde das Erhitzen der *Oestriol*proben vor dem ersten Schmelzen sehr rasch vorgenommen und anschließend die Temperatur um einige Grade über den Schmelzpunkt gesteigert, so konnte mehrmals bei beiden reinen Präparaten sowie bei ihrer Mischung ein um etwa 20° höherer Schmelzpunkt ($300 \pm 2^\circ$) der wieder erstarrten Schmelzen beobachtet werden; Resublimation der hochschmelzenden Modifikation führte wieder zu der bei 288° schmelzenden Form. *Oestriol* zeigt somit eine in diesem Stoffgebiet verbreitet beobachtete *Krystallpolymorphie*.

Da die *physiologische Wirksamkeit* der Steroidhormone stark von der sterischen Konfiguration abhängt, wurden das synthetische und das natürliche *Oestriol-triacetat* auch vergleichend in ihrer Brunstwirkung an der kastrierten weiblichen Maus ausgewertet. In einem von Fräulein U. Meinerts ausgeführten Versuch wurde ermittelt, daß 1 γ beider Acetate unter

gleichen Bedingungen in ölgiger Lösung verabfolgt, an je 5 von 6 Tieren die Vollbrunstreaktion auslöst. Damit ist gezeigt, daß das synthetische *Oestriol* auch die gleiche physiologische Wirksamkeit wie das natürliche besitzt.

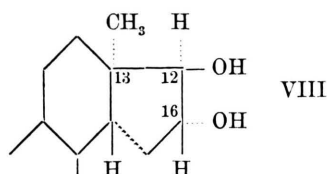
Obwohl die beschriebene Reaktionsfolge zur Darstellung des *Oestriols* durch die Anlage von zwei neuen asymmetrischen Kohlenstoffatomen gekennzeichnet ist, verläuft sie anscheinend bevorzugt in der gewünschten sterischen Richtung; zu erwartende raumisomere Nebenprodukte wurden nicht in reiner Form gefaßt¹¹.

Die neue Bildungsart des natürlichen *Oestriols* liefert uns zugleich einen Hinweis auf die *räumliche Stellung der Substituenten am Fünfring*. Da *Oestriol* auch unter energischen Bedingungen kein Acetonid bildet, darf als gesichert gelten, daß die beiden sekundären Alkoholgruppen im Fünfring zueinander in *trans*-Stellung stehen. Die 17-ständige Hydroxylgruppe wird im vorliegenden Beispiel durch Reduktion einer Carbonylgruppe mit Natrium und Alkohol eingeführt; zahlreiche frühere Erfahrungen zeigen, daß im Steroidsystem die Reduktion der 17-ständigen Carbonylgruppe unter diesen Bedingungen bevorzugt zu jenem Alkohol führt, dessen Hydroxylgruppe sich in *trans*-Stellung zur angulären Methylgruppe am C₁₃ befindet. Unter der Voraussetzung, daß eine 16-ständige Hydroxylgruppe diesen sterischen Verlauf nicht ändert, kann man folgern, daß im natürlichen *Oestriol* die 17-ständige Hydroxylgruppe — wie auch im natürlichen *Oestradiol* (α -*Oestradiol*) — in *trans*-Stellung zur angulären Methylgruppe steht. Für die Hydroxylgruppe am C₁₆ würde aus der Kombination dieser Befunde ihre *cis*-Stellung zur angulären Methylgruppe herzuleiten sein. Da die Ringe C und D im Steroidskelett in *trans*-Stellung miteinander verknüpft sind, ist die relative Lage der Substituenten am Fünfring des *Oestriols* somit wahrscheinlich im Sinne der Formel VIII wiederzugeben.

Die übrigen in bezug auf die verschiedene räumliche Lage der Hydroxylgruppen *möglichen drei isomeren Oestriole* würden für Un-

¹⁰ L. Kofler, Beihefte d. Angew. Chem. Nr. 36 [1940].

¹¹ Nur ein einziges Mal vermochten wir aus Mutterlaugen von etwa 200 mg synthetischem *Oestriol*-methyläther einige mg eines isomeren Produktes in Gestalt seines *Acetonids* vom Schmp. 153,5° zu isolieren (C₂₂H₃₃O₃, ber. C 77,15, H 8,83; gef. C 77,40, H 9,11).



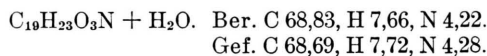
tersuchungen über die Beziehungen zwischen sterischem Bau und physiologischer Wirkung großes Interesse besitzen. Eins von ihnen ist 1942 von M. N. Huffman¹² beschrieben worden; die diesbezügliche Mitteilung ist erst kürzlich (am 30. Oktober 1944, vier Monate nach dem Abschluß vorliegender Arbeit) zu unserer Kenntnis gelangt. Überraschenderweise hat Huffman methodisch die gleiche Reaktionsfolge bearbeitet wie wir, nur mit dem Unterschied, daß er nicht vom Oestron-methyläther, sondern vom freien Oestron ausgegangen ist. Aus den von Huffman mitgeteilten Ergebnissen scheint hervorzugehen, daß unter diesen von ihm gewählten Bedingungen der sterische Verlauf der Reaktionen weniger einheitlich erfolgt als bei uns. Er isolierte aus dem durch Reduktion des Isonitroso-oestrone mit Zink und Essigsäure entstehenden Substanzgemisch ein 16-Oxy-oestron, das nach den angegebenen Daten für seinen Methyläther und dessen Oxim (Schmp. 174–177° bzw. 175 bis 177°) mit Sicherheit von unserem vorstehend beschriebenen 16-Oxy-oestron verschieden ist. Durch katalytische Hydrierung eines 16-Oxy-oestron-Gemisches wurde von Huffman ein Oestriol-Gemisch bereitet, aus dem bisher nur ein Isomeres des Oestriols (Schmp. 267–269°; $[\alpha]_D$: +88° in Äthanol; Methyläther, Schmp. 141–142°; Triacetat, Schmp. 152°) rein gewonnen werden konnte. — Es ist bemerkenswert, daß durch die geringfügig erscheinende Variation der Reaktionsfolge der sterische Ablauf so weitgehend beeinflusst wird, daß in der Veröffentlichung von Huffman kein einziges Oestronderivat beschrieben ist, das mit einer der von uns dargestellten Verbindungen identisch ist. Hätten wir lediglich von vornherein

den Schutz der phenolischen Hydroxylgruppe durch Methylierung unterlassen, so wären wir dem angestrebten Ziel, natürliches Oestriol aus Oestron zu gewinnen, auch auf diesem Wege nicht näher gekommen.

Oestron (bzw. Oestradiol) ist durch Abbau und Umwandlung des Cholesterins¹³ und auf dem Wege der Totalsynthese¹⁴ dargestellt worden¹⁵. Die Überführung von Oestron in Oestriol bedeutet somit zugleich, daß auch Oestriol auf synthetischem Wege darstellbar und somit unabhängig vom Schwangerenharn zu gewinnen ist. Vielleicht ist dadurch der Anstoß gegeben, dieses durch gute perorale Wirksamkeit ausgezeichnete Hormon einer näheren therapeutischen Prüfung zu unterziehen.

Beschreibung der Versuche

*Umsetzung des Oestronmethyläthers mit Isoamylnitrit*⁸. 1,5 g Kalium wurden in 100 ccm tert. Butanol gelöst, 4,98 g Oestronmethyläther¹⁶ hinzugefügt und die Mischung 1–1½ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen auf etwa 30° wurde unter kräftigem Umrühren frisch (bei 50–60 mm/30°) destilliertes Isoamylnitrit tropfenweise hinzugefügt. Die Lösung färbte sich sofort rot, sie wurde 1 Stde. bei 30°, 2–3 Stdn. bei 50°, und weitere 12 bis 15 Stdn. wieder bei 30° gerührt. Alle Operationen wurden unter Stickstoff durchgeführt. Nach Hinzufügen von Eis und Wasser wurde die klare Reaktionslösung sorgfältig mit Äther extrahiert, die wäßrigen Lösungen wurden abgetrennt und mit Essigsäure angesäuert. Die Abscheidung des gelben 16-Isonitroso-oestronmethyläthers war nach etwa 2 Stdn. beendet. Aus den ätherischen Lösungen konnte durch mehrfache Extraktion mit 0,1-n. Natronlauge und Ansäuern mit Essigsäure noch eine weitere Menge Isonitrosoketon gewonnen werden. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit viel Wasser fiel das Rohprodukt in einer Ausbeute von 90% (4,45 g) an; es wurde aus verd. Alkohol oder aus Essigester in schwach gelb gefärbten Blättchen vom Schmp. 198° erhalten¹⁷.



*Reduktion des 16-Isonitroso-oestronmethyläthers*⁹. 4,45 g 16-Isonitroso-oestronmethyläther wurden in 146 ccm Eisessig und 9 ccm Wasser suspendiert, bei

¹² J. Amer. Chem. Soc. **64**, 2235 [1942].

¹³ H. H. Inhoffen, Angew. Chem. **53**, 471 [1940]; Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 1941 [1941].

¹⁴ W. E. Bachman, W. Cole u. A. L. Wilds, J. Amer. Chem. Soc. **61**, 974 [1939]; **62**, 824 [1940]; R. E. Marker, J. Amer. Chem. Soc. **58**, 1503 [1936]; **60**, 1897 [1938]. (Vergl. dazu Windaus u. Deppe, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 76 [1937] und L. Ruzicka, Müller u. Mörgeli, Helv. chim. Acta **21**, 1394 [1938]).

¹⁵ Zusammenfassung der synthetischen Arbeiten: Butenandt, Naturwiss. **30**, 11 [1942].

¹⁶ A. Butenandt, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **208**, 167 [1932].

¹⁷ Litvan u. Robinson, l. c., geben einen Schmp. 161–162° an, den wir nie beobachtet haben; die Analyse zeigt, daß unser höher schmelzendes Produkt 1 Mol. Krystallwasser enthält.

einer Temperatur der Lösung von 40—45° mit 12,5 g *Zinkstaub* in kleinen Portionen versetzt und nach Zugabe von 63 ccm Wasser 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde vom *Zinkstaub* abfiltriert und dem Filtrat eine genügend starke Kaliumcarbonatlösung (150 g) hinzugefügt, um 90% des verbleibenden Eisessigs zu neutralisieren. Die noch saure Lösung wurde 5-mal mit Chloroform extrahiert, und die vereinigten Chloroformextrakte wurden mit 50 ccm 1-n. Schwefelsäure geschüttelt, um kleine Aminbeträge zu entfernen. Nach einmaliger Extraktion mit verd. Kalilauge wurde sorgfältig mit Wasser gewaschen und die Chloroformlösung im Vakuum eingedampft; es hinterblieben 2,54 g (57%) *16-Oxy-oestronmethyläther*, der aus verd. Aceton, verd. Methanol oder aus Essigester in farblosen Nadeln vom Schmp. 169—169,5° krystallisierte.

$C_{19}H_{24}O_3$. Ber. C 75,97, H 8,05. Gef. C 75,91, H 8,22.

Acetat: 70 mg *16-Oxy-oestronmethyläther* ergaben mit *Pyridin-Essigsäureanhydrid* nach eintägigem Stehenlassen, Eingießen in Wasser und Neutralisieren des Pyridins mit Salzsäure 58 mg *16-Acetoxy-oestronmethyläther*, der nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol in farblosen feinen Nadeln vom Schmp. 149° erhalten wurde.

$C_{21}H_{26}O_4$. Ber. C 73,66, H 7,65. Gef. C 73,57, H 7,53.

Oxim: 70 mg *16-Oxy-oestronmethyläther* wurden in alkoholischer Lösung mit überschüssigem *Hydroxylaminacetat* 1 Stde. am Steigrohr gekocht. Durch Füllen mit Wasser wurden 52 mg Oxim erhalten, das aus Alkohol bis zum konstanten Schmp. von 211 bis 213° umgelöst wurde.

$C_{19}H_{25}O_3N + \frac{1}{2}H_2O$. Ber. C 70,34, H 8,04, N 4,32.
Gef. C 70,81, H 8,35, N 4,38.

Reduktion des 16-Oxy-oestronmethyläthers zum Oestriol-methyläther. 0,39 g *16-Oxy-oestronmethyläther* wurden in 20—25 ccm wasserfreiem *Isopropanol* in der Hitze gelöst und unter Rückfluß die berechnete Menge Natrium (etwa 4 g) hinzugefügt. Nach Beendigung der Reaktion wurde in Wasser gegossen, die trübe Lösung mit Schwefelsäure angesäuert und die entstehende Fällung abfiltriert. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methanol wurde ein Rohprodukt vom Schmp. 140—144° in etwa 50-proz. Ausbeute erhalten. Durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Alkohol und wäßrigem Pyridin wurde der reine, in weißen Blättchen krystallisierende *Oestriol-methyläther* vom Schmp. 166—168° erhalten. Nach Reinigung über das *Diacetat* ließ sich der Schmelzpunkt auf 167—169° erhöhen (s. u.).

$[\alpha]_D$ in Pyridin: +33,8° (7,1 mg, $\alpha = 0,30^\circ$)
 $[\alpha]_D$ in Eisessig: +63° (8 mg, $\alpha = 0,63^\circ$)
+60° (8 mg, $\alpha = 0,60^\circ$)
+61° (9,2 mg, $\alpha = 0,56^\circ$)

$C_{19}H_{26}O_3 + \frac{1}{2}H_2O$. Ber. C 73,28, H 8,42.
Gef. C 73,27, H 8,71.

Diacetat: 90 mg des vorstehend gewonnenen *Oestriolmethyläthers* (Schmp. 145—150°) wurden mit 2—3 ccm *Essigsäureanhydrid* $\frac{1}{2}$ Stde. am Steigrohr

gekocht. Nach Eingießen in etwa 15 ccm Wasser wurde mit Äther extrahiert, die Ätherlösung mit Natriumbicarbonat und Wasser gewaschen, getrocknet und abdestilliert. Umkrystallisieren aus Alkohol ergab 65 mg des *Diacetates* in farblosen Blättchen vom Schmp. 143,5—144,5°.

$[\alpha]_D$ in Alkohol: +12,8° (5,3 mg, $\alpha = 0,34^\circ$)

$[\alpha]_D$ in Pyridin: 0° (10,6 mg, $\alpha = 0^\circ$)

$C_{23}H_{30}O_5$. Ber. C 71,48, H 7,83.

Gef. C 71,29, 71,49; H 7,83, 7,64.

Verseifung: 60 mg *Oestriolmethyläther-diacetat* wurden mit 5 ccm 2-proz. alkohol. *Kalilauge* versetzt und $\frac{1}{2}$ Stde. am Steigrohr gekocht. Nach Eingießen in etwa 25 ccm Wasser wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Alkohol oder wäßrigem Pyridin umkrystallisiert. Ausb. 40,8 mg *Oestriolmethyläther*, Schmp. 167—169°.

$[\alpha]_D$ in Eisessig: +64,5° (6,2 mg, $\alpha = 0,40^\circ$)
+61° (12,8 mg, $\alpha = 0,78^\circ$)

$C_{19}H_{26}O_3 + \frac{1}{2}H_2O$. Ber. C 73,28, H 8,42.

Gef. C 72,96, H 8,84.

Ätherspaltung zum freien Oestriol. 100 mg *Oestriol-methyläther* wurden in 4 ccm *Eisessig* heiß gelöst und mit 2 ccm *Bromwasserstoffsäure* ($d = 1,48$) versetzt. Nach 1-stdg. Kochen am Steigrohr wurde in wenig Wasser gegossen, ausgeäthert, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen und mit 1-n. Natronlauge mehrfach ausgezogen. Beim Ansäuern der vereinigten alkalischen Extrakte mit konz. Salzsäure fiel das *Oestriol* in feinen Flocken aus. Umkrystallisieren aus Alkohol und Methanol führte zu weißen Blättchen vom Schmp. 271—274°. Ausb. 55%.

$C_{18}H_{24}O_3$. Ber. C 74,97, H 8,39.
Gef. C 75,15, 74,97; H 8,56, 8,58.

Triacetat: 70 mg *Oestriol* wurden mit 2—3 ccm *Essigsäureanhydrid* $\frac{1}{2}$ Stde. am Steigrohr gekocht. Nach Eingießen in Wasser wurde ausgeäthert, die ätherische Lösung mit Natriumbicarbonat und Wasser gewaschen und nach Abdestillieren des Äthers aus Alkohol—Wasser und Methanol—Wasser umkrystallisiert. Nach 7-maligem Umkrystallisieren stieg der Schmp. nicht über 121—124°, zeigte aber mit natürlichem *Oestriol-triacetat* (Schmp. 127,5°) keine Depression. Nach vorsichtiger Sublimation im Hochvakuum wurde auch für das synthetische Produkt ein Schmp. 127,5° gefunden. Die optischen Drehungen in Pyridin und Chloroform zeigten in Übereinstimmung mit den Literaturangaben¹⁸ folgende Werte:

$[\alpha]_D$ in Pyridin: 0° (7,8 mg, $\alpha = 0^\circ$).

$[\alpha]_D$ in Chloroform: -17,4° (7,5 mg, $\alpha = 0,13^\circ$).

$C_{24}H_{30}O_6$. Ber. C 69,59, H 7,30. Gef. C 69,18, H 7,44.

Verseifung: 60,6 mg *Triacetat* (Schmp. 119—121°) wurden $\frac{1}{2}$ Stde. mit 2-proz. alkoholischer *Kalilauge* gekocht, in Wasser gegossen, ausgeäthert und gewaschen. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol und Methanol—Wasser wurden 33,5 mg *Oestriol*

¹⁸ A. Butenandt u. J. S. L. Browne, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **216**, 49 [1933].

vom Schmp. 277—278° erhalten, der nach vorsichtiger Sublimation des Krystallisats im Hochvakuum auf 279° anstieg. Der Mischschmelzpunkt mit natürlichem Oestriol (Schmp. 280°) ergab keine Depression. Die optischen Drehungen betragen für das synthetische Produkt:

$[\alpha]_D$ in Alkohol: + 66,7° (7,8 mg, $\alpha = 0,26^\circ$).

$[\alpha]_D$ in Pyridin: + 34,6° (8,4 mg, $\alpha = 0,364^\circ$).

*Darstellung von natürlichem Oestriolmethyläther*¹⁹. 100 mg aus Schwangerenharn gewonnenes Oestriol wurden in der beim Oestronmethyläther angegebenen Weise mit Dimethylsulfat umgesetzt. Es wurden 56 mg Oestriolmethyläther isoliert, die nach Umkry-

¹⁹ Vergl. A. Butenandt u. F. Hildebrandt, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **199**, 263 [1931].

stallisieren aus wäßrigem Pyridin einen Schmp. von 168° zeigten. Mischschmelzpunkt mit synthet. Oestriolmethyläther ergab keine Depression.

$[\alpha]_D$ in Pyridin: 32,6° (8 mg, $\alpha = 0,32^\circ$).

$[\alpha]_D$ in Eisessig: 65° (8 mg, $\alpha = 0,65^\circ$).

Diacetat: 50 mg natürlicher Oestriolmethyläther wurden zu 53,9 mg Diacetat umgesetzt. Schmp. 141,5°. Mischschmelzpunkt des natürlichen mit dem synthet. Präparat zeigte keine Depression.

$[\alpha]_D$ in Alkohol: + 13,5° (5,9 mg, $\alpha = 0,398^\circ$).

$[\alpha]_D$ in Pyridin: — 1,5° (8,2 mg, $\alpha = -0,015^\circ$).

Der Schering-A.G., Berlin, danken wir für die Unterstützung der Untersuchung und die Bereitstellung von krystallisiertem Oestron.

Tyraminderivate als Pigmentvorstufen Ein Beitrag zur biologischen Adrenalin synthese

Von ROLF DANNEEL

Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Gastabteilung Göttingen

(Z. Naturforschg. **1**, 87—92 [1946]; eingegangen am 27. September 1945)

I. Fragestellung

Die zuerst von Th. Addison im Jahre 1855 beschriebene und nach ihm benannte *Nebennierenerkrankung* äußert sich u. a. in einer *braunen Verfärbung der Haut*, die auf einer *Störung der biologischen Adrenalin synthese* beruht. Offenbar entsteht bei Addison-Kranken an Stelle des Adrenalins ein Chromogen, das in der Haut abgelagert und dort in Pigment umgewandelt wird.

Da es bisher noch nie gelungen ist, ein Aufbauprodukt des Adrenalins aus der Nebenniere zu isolieren, können wir auch über die Vorstufe des Addison-Pigmentes nur Vermutungen hegen. Gewöhnlich wird in diesem Zusammenhange das *Dioxyphenylalanin* („Dopa“) genannt, eine Verbindung, die in der Natur vorkommt und im Experiment durch Hautfermente in Melanin verwandelt wird¹. Auch aus Insektenlymphe und aus pflanzlichem Material gewonnene Oxydasen führen Dopa in Pigment über. Dabei treten verschiedene Zwi-

schenprodukte auf, von denen H. St. Raper² mehrere abfangen und identifizieren konnte*.

Unterbricht man die Oxydation beim Erscheinen des roten Chinons, so lassen sich in der Lösung Spuren einer blutdruckerhöhenden Substanz nachweisen, deren Wirkung durch katalytische Reduktion noch gesteigert werden kann³. Etwas besser wird die Ausbeute an vasopressorischen Stoffen, wenn man nicht vom Dopa, sondern vom *N-Methyldopa* ausgeht. Zur Deutung dieses Befundes entwickelten R. D. H. Heard und H. St. Raper⁴ das umseitige** Reaktionsschema, wonach u. U. bei der Tyrosinase-Tyrosin-Reaktion Adrenalin und Adrenalon entstehen könnten.

Die Anwendung dieser Überlegung auf die normale und pathologische Adrenalinbildung im Organismus stößt jedoch insofern auf Schwierigkeiten, als weder Dopa noch Methyldopa bei der Behandlung mit Nebennierenextrakten in vitro blutdrucksteigernde Stoffe liefern. Wohl aber entstehen solche „adrenalinähnlichen“ Substanzen, wie W. Schuler und A. Wie-

¹ G. Bloch, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **98**, 226, [1917].

² Biochemical J. **21**, 89 [1927].

* Siehe hierzu den oberen Teil der umseitigen Formelbilder.

³ W. L. Dulière u. H. St. Raper, Biochemical J. **24**, 239 [1930].

⁴ Biochemical J. **27**, 36 [1933].

** Unterer Teil der Formeln.