

## Über die chemische Untersuchung der Sexualhormone.

Von Priv.-Doz. Dr. A. BUTENANDT,

Allgemeines Chemisches Universitäts-Laboratorium in Göttingen.

Vortrag auf der Tagung der Nordwestdeutschen Chemiedozenten in Hamburg am 23. Oktober 1931<sup>1)</sup>.

(Eingeg. 13. Oktober 1931.)

Die biologische Forschung hat uns in den letzten Jahren im Gebiet der Sexualhormone eine Reihe neuer Ergebnisse kennen gelehrt, die für die Chemie von Interesse sind. Man ist der Überzeugung, daß alle Sexualvorgänge in einem Organismus, wie Wachstum, Entwicklung und die gesamten physiologischen Funktionen der Genitalorgane, sowie die Ausbildung der sekundären Geschlechtscharaktere unter dem Einfluß mehrerer chemischer Stoffe erfolgen, welche als Drüseninkrete im Organismus gebildet werden. In erster Linie sind es Hypophyse und Keimdrüsen, welche diese „Sexualhormone“ (im weiteren Sinne) erzeugen; es hat den Anschein, als ob dem Vorderlappen der Hypophyse die Aufgabe zufällt, ein geschlechtsspezifisches Hormon zu bereiten, ohne dessen Einwirkung die Keimdrüsen (Ovarium oder Testikel) ihre Funktion nicht zu leisten vermögen; in den Keimdrüsen werden sodann geschlechtsspezifische Hormone („Sexualhormone“ im engeren Sinne) produziert, welche nunmehr die für das Geschlecht charakteristischen Kennzeichen in ihrer Entwicklung fördern, diejenigen des anderen Geschlechts hingegen hemmen. So wird in den Follikeln der weiblichen Keimdrüse ein weibliches Sexualhormon, das „Follikelhormon“, gebildet, dem die Aufgabe zufällt, das Wachstum des weiblichen Genitaltrakts und die Ausbildung der sekundären weiblichen Geschlechtscharaktere einzuleiten und zu erhalten, während das in der männlichen Keimdrüse erzeugte antagonistisch wirkende männliche Sexualhormon, das „Testikelhormon“, für die Ausbildung und das Wachstum der männlichen Geschlechtscharaktere verantwortlich ist. — Es entspricht der Kompliziertheit der Genitalvorgänge im weiblichen Organismus (Geschlechtszyklen, Schwangerschaft), daß hier weitere Hormone, wie das sogenannte „Luteinisierungshormon“ des Hypophysenvorderlappens und das „Corpus-luteum-Hormon“ des Ovariums, gebildet werden, die mit den besprochenen Inkretstoffen in einem zeitlich gebundenen Rhythmus zusammenwirken, durch den die als Vorbereitung einer Schwangerschaft notwendigen zyklischen Vorgänge (Follikelreifung und -luteinisierung, Brunst- und Menstruationserscheinungen) bedingt sind<sup>2)</sup>.

Der chemischen Forschung fällt die Aufgabe zu, diese von der Biologie geforderten Stoffe zu isolieren und rein darzustellen, um ihr Vorhandensein und ihre physiologischen Aufgaben im einzelnen zu sichern und um ihre chemische Konstitution zu er-

forschen. Zur Lösung einer solchen Aufgabe ist es Voraussetzung, ein zugängliches Ausgangsmaterial für die Darstellung und eine quantitativ zu gestaltende Erkennungsreaktion (einen „Test“) zum Nachweis des gesuchten Stoffes zu besitzen. Diese Voraussetzungen sind erst für einige der besprochenen Hormone als völlig gegeben zu betrachten, so für die beiden Keimdrüsenhormone, für den weiblichen Prägnanzstoff, das Follikelhormon und den männlichen Prägnanzstoff, das Testikelhormon. Die vergleichend chemische Bearbeitung dieser beiden physiologisch so entgegengesetzt wirkenden Stoffe hat meine Mitarbeiter und mich seit einigen Jahren beschäftigt; von den erzielten Ergebnissen sind im folgenden die wichtigsten zusammengefaßt.

## Über die chemische Untersuchung des Follikelhormons.

Das Follikelhormon (weibliches Sexualhormon) konnte als erstes Sexualhormon vor zwei Jahren in kristallisiertem Zustande gewonnen werden<sup>3)</sup>. Seine Darstellung erfolgte aus Schwangerenharn, als Test<sup>4)</sup> wurde die Brunstreaktion an der kastrierten Maus benutzt und methodisch<sup>5)</sup> wurden Entmischungsverfahren mit Lösungsmitteln, Hydrolyse mit verdünnten Säuren und Alkalien und eine fraktionierte Destillation im Hochvakuum herangezogen.

Man kann heute auf Grund von physiologischen und chemischen Beweisen<sup>6)</sup> mit voller Sicherheit sagen, daß in dem 1929 zuerst isolierten Kristallinat (Fp. 256°), welches durch eine Reihe von physikalischen Konstanten<sup>6)</sup> charakterisiert ist, das reine Follikelhormon vorliegt. Folgende physiologischen Merkmale sind an die einheitliche Substanz gebunden: 1. 0,025  $\gamma$  vermögen an einer kastrierten Maus einen einmaligen Brunstzyklus auszulösen<sup>4)</sup>, 2. Hormongaben gleicher Größenordnung über mehrere Tage verteilt entfalten eine typische Wachstumswirkung an Uterus, Vagina und Brustdrüse, 3. das Hormon wirkt hemmend auf die Entwicklung männlicher Geschlechtsmerkmale<sup>7)</sup>, es vermag 4. das Wachstum von Pflanzen anzuregen und zu beschleunigen<sup>8)</sup>.

Die gemeinsam mit Frl. J. Störmer durchgeführte nähere chemische Untersuchung des Follikelhormons war erschwert durch die geringen zugänglichen Substanzmengen und durch eine sehr schwere Verbrennbarkeit des Hormons und vieler seiner Derivate. Die Zusammensetzung des Hormons ist durch die nunmehr weitgehend gesicherte Molekular-

<sup>1)</sup> Der vorliegende Aufsatz stellt zugleich eine von der Schriftleitung erbetene Ergänzung zu der zusammenfassenden Darstellung „Neue Forschungen auf dem Gebiet der Hormone“ von F. Wadern (diese Ztschr. 44, 317 [1931]) dar.

<sup>2)</sup> Ausführliche Zusammenfassung und Literatur: B. Zondek, „Die Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens“, Berlin 1931, und A. Butenandt, „Untersuchungen über das weibliche Sexualhormon“, Weidmannsche Buchhandlung, Berlin 1931.

<sup>3)</sup> E. A. Doisy u. Mitarb., Journ. biol. Chemistry 86, 499; 87, 357 [1930]. A. Butenandt, Naturwiss. 17, 879 [1929]. H. S. 191, 127 [1930].

<sup>4)</sup> A. Butenandt u. E. von Ziegner, H. S. 188, 1 [1930].

<sup>5)</sup> A. Butenandt u. F. Hildebrandt, H. S. 199, 243 [1931]. <sup>6)</sup> H. S. 191, 140 [1930].

<sup>7)</sup> E. Laqueur u. Mitarb., Dtsch. med. Wchschr. 1930, 301.

<sup>8)</sup> W. Schoeller u. H. Goebel, Biochem. Ztschr. 240, 1 [1931].

formel  $C_{18}H_{22}O_2$  wiederzugeben. Die Funktion der beiden Sauerstoffatome ist seit längerer Zeit erwiesen<sup>9)</sup>: eines liegt in Form einer Carbonylgruppe vor, wie durch die Darstellung eines Oxims (Fp. 233°) und eines Semicarbazons (Fp. 258°) gezeigt wurde, das zweite ist durch die Bereitung eines Acetates (Fp. 126°), eines Benzoates (Fp. 214°) und eines Methyläthers (Fp. 168°) als Hydroxylgruppe nachweisbar.

Sehr charakteristisch ist der schwach saure Charakter des Follikelhormons; es ist in alkalische Lösung überzuführen, aus der es aber allmählich mit Äther extrahierbar ist. Die Untersuchung hat gezeigt, daß dieser saure Charakter des Hormons an die Hydroxylgruppe (nicht an die Carbonylgruppe) gebunden ist, denn er findet sich noch unverändert in den Ketonderivaten, während die Derivate der Hydroxylgruppe, welche die durch Semicarbazonebildung<sup>10)</sup> leicht nachweisbare Carbonylgruppe noch enthalten, ihre Alkalilöslichkeit eingebüßt haben. Da es leicht gelingt, das Hormon durch Reduktion in ein neutrales Dihydro-desoxy-derivat (Fp. 129°) der Formel  $C_{18}H_{24}O$  überzuführen, hat es den Anschein, als ob die Hydroxylgruppe an einer Doppelbindung steht, also enolischen Charakter besitzt.

Die physiologische Prüfung der funktionellen Derivate des Hormons hat zu einem interessanten Ergebnis geführt: sowohl die CO-Gruppe als auch die —OH-Gruppe sind für die physiologische Wirksamkeit des Hormons notwendig, denn es hat sich gezeigt, daß die vom Organismus nicht spaltbaren Derivate dieser funktionellen Gruppen (z. B. Semicarbazone, Methyläther) ohne Wirksamkeit sind, während die vom Organismus allmählich spaltbaren Derivate (z. B. Oxim, Benzoat) durch eine protrahierte Wirkung ausgezeichnet sind. Diese Beobachtungen sind für therapeutische Maßnahmen von Interesse, sie haben aber auch Anwendung für die Aufklärung einiger chemischer Fragestellungen gefunden<sup>11)</sup>.

#### Über die chemische Untersuchung des Testikelhormons.

An die Existenz des Testikelhormons (männlichen Sexualhormons) hat man seit langem geglaubt; Kastrations- und Transplantationsversuche der männlichen Keimdrüse haben die Lehre von der inneren Sekretion eingeleitet (Berthold 1849; Brown Séquard 1889). Der bindende Nachweis für das Vorhandensein dieses Hormons durch die Prüfung der physiologischen Wirksamkeit von zellfreien Hodenextrakten erfolgte erst in neuerer Zeit durch den Chicagoer Arbeitskreis um F. C. Koch, Moore, Gallagher<sup>12)</sup> und durch

<sup>9)</sup> A. Butenandt, H. S. 191, 140 [1930]; 199, 243 [1931]. E. A. Doisy u. Mitarb., Journ. biol. Chemistry 91, 791 [1931].

<sup>10)</sup> Es wurden bereitet: Semicarbazone des Acetates (Fp. 265°), Semicarbazone des Benzoates (Fp. 278°), Semicarbazone des Methyläthers (Fp. 267°).

<sup>11)</sup> Interessanterweise sind auch die völlig rein dargestellten Zubereitungen des Hormonhydrates  $C_{18}H_{24}O_3$ , welches sich neben dem Follikelhormon im Schwangerenharn findet, durch eine protrahierte Wirksamkeit im Testversuch ausgezeichnet. Wir schließen daraus, daß die geringe Eigenwirksamkeit des Hydrates (etwa 50–75 000 M. E. pro Gramm bei einmaliger Injektionstechnik) auf einer im Organismus stattfindenden Wasserabspaltung zum Oxyketon beruht. Alle höher wirksamen Hydrat-Kristallisate (100 000 bis 1,5 Millionen M. E. pro Gramm) konnten durch den Umsatz mit Semicarbazid als Mischkristallisate von reinem Hydrat mit dem Follikelhormon  $C_{18}H_{22}O_2$  erkannt werden. (Vgl. H. S. 199, 243 [1931].)

<sup>12)</sup> Literaturhinweise siehe bei S. Loewe u. H. E. Voß, „Der Stand der Erfassung des männlichen Sexualhormons (Androkinins)“, Klin. Wochschr. 9, 481 [1930].

S. Loewe<sup>13)</sup>. Das Ergebnis dieser Arbeiten ist von vielen Seiten bestätigt worden<sup>14)</sup>.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen ist das Testikelhormon durch folgende physiologischen Merkmale charakterisiert: 1. es bewirkt Wachstum und Entwicklung der noch nicht entwickelten oder nach Kastration atrophierten männlichen Genitalorgane, 2. es hat Einfluß auf die Produktion, Beweglichkeit und Lebensdauer von Spermien, 3. ihm unterliegt die Ausbildung sekundärer männlicher Geschlechtscharaktere.

Alle drei Eigenschaften sind zur quantitativen Auswertung des Testikelhormons herangezogen<sup>15)</sup>, die beiden ersten werden vorwiegend an Nagetieren verfolgt; für die chemische Bearbeitung des Testikelhormons ist aber in erster Linie ein Test verwendet worden, der die Ausbildung sekundärer männlicher Geschlechtscharaktere an Hähnen zur Grundlage hat. Seit Pézard<sup>16)</sup> kennt man die hormonale Abhängigkeit des Hahnenkammwachstums vom Testis; F. C. Koch und Mitarbeitern<sup>17)</sup> verdanken wir den Ausbau dieser Beobachtungen zu einem quantitativen „Hahnenkamm-Test“ auf Grund der Erkenntnis, daß die an jung kastrierten Hähnen ausbleibende Entwicklung des Kammes durch subkutane Darreichung von Hormon behoben werden kann. In einem gewissen Größenbereich wächst der Kamm proportional der verabreichten Dosis. Die experimentellen Grundlagen des Hahnenkamm-Testes sind durch eine Reihe neuerer Arbeiten gesichert und verfeinert worden, so durch die Untersuchungen von E. Laqueur<sup>18)</sup> und Mitarbeitern und von W. Schoeller und M. Gehrke<sup>19)</sup>.

Die Technik des Hahnenkamm-Testes wird von allen Autoren sehr unterschiedlich gehandhabt, so daß nach eigenen Erfahrungen die „Hahnen-Einheiten“ der verschiedenen Arbeitskreise um Zehnerpotenzen voneinander abweichen und keineswegs miteinander vergleichbar sind. Als Grundlage eigener Arbeiten wurde ein praktisches Maß gewählt, das bei leichter Handhabung den Anforderungen der chemischen Arbeit Rechnung zu tragen vermag: Wir definierten als Hahnen-Einheit (H.E.) diejenige Substanzmenge, welche an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je einmal an drei Kapaune verabreicht, im Verlauf des 3. und 4. Versuchstages an den drei Versuchstieren ein durchschnittliches Flächenwachstum des Kammes um etwa 20% (berechnet aus den jeweils größten Wachstumswerten) hervorruft. Die Größenbestimmung der Kammfläche wurde durch Ausplanimetrieren der photographischen Kammschattenbilder vorgenommen<sup>20)</sup>.

Als Ausgangsmaterial dienten den älteren Autoren naturgemäß Keimdrüsenextrakte, vornehmlich von Stieren; eigene, im Jahre 1930 gemeinsam mit F. Hildebrandt durchgeführte Untersuchungen bedienten sich zunächst des gleichen Ausgangsmaterials. Den Beobachtungen von S. Loewe<sup>21)</sup> und C. Funk<sup>22)</sup>,

<sup>13)</sup> S. Loewe u. H. E. Voß, Akad. d. Wiss., Wien, 24. 10. 1929.

<sup>14)</sup> Funk u. Mitarb., E. Laqueur u. Mitarb., E. C. Dodds u. Mitarb. u. a.

<sup>15)</sup> Literatur, vgl. Anm. 13.

<sup>16)</sup> Compt. rend. Soc. Biologie 97, 1463 [1927].

<sup>17)</sup> Chem. Ztrbl. 1931, I, 1776, u. früher.

<sup>18)</sup> P. de Fremery, J. Freud, E. Laqueur, PLOGERS Arch. Physiol. 226 [1930].

<sup>19)</sup> Wiener Arch. f. innere Med. 21, 329 [1931].

<sup>20)</sup> Die physiologischen Versuchsreihen wurden durchgeführt von Fr. Erika Butenandt und Fr. Dorothee von Dresler.

<sup>21)</sup> S. Loewe, H. E. Voß, F. Lange u. A. Wähner, Klin. Wochschr. 1928, 1376.

<sup>22)</sup> C. Funk, B. Harrow u. A. Lejwa, Proc. Soc. Exp. Biol. u. Med. 26, 569 [1929].

daß ein wesentlicher Teil des vom Manne produzierten Hormons im Harn zur Ausscheidung kommt, verdankt man ein in größerer Menge zugängliches, leichter zu bearbeitendes Ausgangsmaterial, mit dem wesentlichere Fortschritte in bezug auf die Chemie des Testikelhormons zu erzielen waren. Im folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse einer gemeinsam mit K. Tscherning durchgeführten Untersuchung wiedergegeben, welcher als Ausgangsmaterial ein Rohöl aus Männerharn zugrunde lag, das uns von der Schering-Kahlbaum-A.-G., Berlin, zur Verfügung gestellt und technisch nach Arbeitsmethoden von W. Schoeller und M. Gehrke<sup>23)</sup> bereitet wurde.

Das erste Ziel, welches wir anstrebten, war naturgemäß die Isolierung des Testikelhormons; die nach dieser Richtung hin notwendigen Versuche haben wir von vornherein der Frage untergeordnet, ob aus dem chemischen Verhalten des Testikelhormons in den Rohextrakten auf seine nähere chemische Beziehung zum Follikelhormon geschlossen werden konnte. Diese Fragestellung nahm den systematischen Versuchen zur Reinigung der Rohextrakte ihren rein empirischen Charakter und gab uns die Möglichkeit, alle Erfahrungen aus der Bearbeitung des Follikelhormons in reichem Maße zu verwerten. So begannen wir damit, die für die Reindarstellung des Follikelhormons bewährten Methoden auf ihre Brauchbarkeit für die Reinigung der Testikelhormon-Rohöle zu prüfen. Aus vielen Parallelversuchen haben wir folgende Schlüsse gezogen: 1. Bei den Entmischungsmethoden mit Lösungsmitteln verhält sich das Testikelhormon (in vergleichbaren Reinheitsgraden) dem Follikelhormon ähnlich, 2. gegen saure und alkalische Hydrolyse ist es auch bei hoher Konzentration des hydrolytischen Agens und bei der Temperatur des Wasserbades gleich stabil, 3. das Testikelhormon ist im Hochvakuum destillierbar, je nach dem Reinheitsgrade bei verschiedener Temperatur (80 bis 150°) und mit wechselndem Verlust; es teilt auch diese Eigenschaft mit dem Follikelhormon, was darauf hindeuten konnte, daß die Molgewichte beider Stoffe nicht sehr voneinander verschieden sind, 4. dem ähnlichen Verhalten beider Stoffe steht ein charakteristischer Unterschied gegenüber: während das Follikelhormon durch einen sauren Charakter ausgezeichnet ist, verhält sich das Testikelhormon stets wie ein neutraler Stoff, es ist weder in konzentrierter noch in verdünnter Alkalilauge zu lösen. — Diese Ergebnisse sind größtenteils inzwischen von anderen Seiten publiziert, so daß sie heute nur als Bestätigungen aufgefaßt werden können<sup>24)</sup>.

Was den Wert der dargelegten Methoden für die Reinigung des Testikelhormons angeht, so machten wir die Erfahrung, daß zwar die für die Darstellung des Follikelhormons ausgearbeitete Methodik als solche für die Isolierung des Testikelhormons nicht brauchbar ist, daß aber geeignete Variationen der dort verwendeten Prinzipien für die erste Reinigung der Männerharn-Rohöle ausgezeichnete Dienste leisten: Im Harn befindet sich 1 HE. in etwa 150 cm<sup>3</sup>; behandelt man ihn nach Funk<sup>25)</sup>, so hinterbleibt ein neutrales Rohöl, welches 1 HE. in etwa 20 bis 30 mg enthält; dieses Rohöl liefert nach wiederholter Hydrolyse eine gereinigte Neutralfraktion, aus der sich durch Entmischen mit organischen Lösungsmitteln und wäßrigem Alkohol eine alkohollösliche Charge abtrennen läßt, welche 1 HE. in etwa 0,3 mg enthält.

<sup>23)</sup> A. a. O. und diese Ztschr. 44, 279 [1931].

<sup>24)</sup> Vgl. die Arbeiten von F. C. Koch, C. Funk, E. Laqueur, E. C. Dodds u. Mitarb. u. a.

Um über diese Reinheitsstufe hinauszukommen, wurden Adsorptions- und Fällungsversuche durchgeführt, doch wurden mit ihnen keine wesentlichen Fortschritte erzielt; interessanterweise war aber auch hier bei allen durchgeführten Versuchen eine Parallelität im Verhalten des Testikelhormons zu dem des Follikelhormons feststellbar, so wurde es z. B. von Kohle, Ferrihydroxyd oder Schwermetallsalzfällungen teilweise adsorbiert, während mit Aluminiumamalgam nur Begleitstoffe zu entfernen waren<sup>25)</sup>.

Da es in diesem Stadium der Arbeit nicht leicht war, Methoden zu finden, welche eine weitere wesentliche Anreicherung des Hormons ohne größere Verluste erlaubten, haben wir uns auf Grund der oben geschilderten Erfahrungen über das charakteristische physiologische Verhalten der Keton- und Hydroxylderivate des Follikelhormons die Frage vorgelegt, ob der bei vielen Versuchsreihen in Erscheinung getretenen Ähnlichkeit der beiden Hormone vielleicht das Vorhandensein gleichartiger funktioneller Gruppen entspräche; im zutreffenden Falle war zu hoffen, daß man diese Gruppen auch beim Testikelhormon an den gereinigten Ölen durch die Veränderung der physiologischen Wirksamkeit nach dem Umsatz mit geeigneten Reagenzien würde erkennen können, und daß die zutage tretende chemische Eigenschaft des Hormons zur weiteren Reinigung nutzbar gemacht werden konnte. Auf Grund dieser Arbeitshypothese wurde von Herrn Tscherning der Umsatz der höchst gereinigten Öle mit Hydroxylreagenzien (Benzoylchlorid, Phenylcyanat u. a.) und Ketonreagenzien (Hydroxylamin, Semicarbazid, Thiosemicarbazid, Phenyl-, Diphenylhydrazin u. a.) sorgfältig untersucht. Von den vielen interessanten Ergebnissen dieser Versuchsreihen, die in anderem Zusammenhang mitgeteilt werden sollen<sup>26)</sup>, kann hier nur eine Reaktion in ihren Folgerungen näher besprochen werden: die Kondensation der hoch gereinigten Öle mit Hydroxylamin.

Wir fanden im Hydroxylamin einen Stoff, der es uns ermöglichte, nach der Kondensation aus den höchst gereinigten Ölen ein Kristallisat abzuscheiden, welches etwa dem hundertsten Teil der umgesetzten Substanzmenge entspricht. — Nach sehr sorgfältiger Abtrennung des Kristallisates wiederholt vorgenommene Auswertungen zeigten das bemerkenswerte Resultat, daß die Wirkung der von Kristallen weitgehend befreiten Restlösung sehr beträchtlich vermindert war, während das kristallisierte Kondensationsprodukt auch nach mehrfachem Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol eine ausgesprochene Wachstumswirkung auf den Hahnenkamm entfaltete. Die sorgfältige Reinigung des Produktes führte zu einem gut kristallisierenden, farblosen Stoff vom Fp. 215°, der mit 100  $\gamma$  als Injektionsdosis (je einmal an zwei Tagen verabreicht) einen durchschnittlichen Wachstumseffekt von 15–20% hervorrief, dessen Höchstwerte (bis zu 27%) erst nach etwa zwei bis drei Wochen erreicht wurden! — Wir erblickten in diesen Ergebnissen den ersten Hinweis darauf, daß das Testikelhormon Ketoncharakter trägt und sich in unserem Kondensationskristallisat als protrahiert wirkendes Oxim vorfand.

Die Spaltung des Oxims mit verdünnten Säuren führte zunächst zu sehr widersprechenden Ergebnissen,

<sup>25)</sup> Über entsprechende Versuche mit Schwangerenharn-Rohölen vgl. die Monographie des Verfassers, Anmerkung 3.

<sup>26)</sup> Der Umsatz von Testikelhormon-Rohölen mit veresterten Reagenzien wurde schon von F. C. Koch u. Mitarb. vorgenommen (2. Intern. Congr. Sex. Res., London 1930). Der von ihnen beobachtete Verlust an physiologischer Wirkung wird als Hinweis auf das Vorliegen einer —OH-Gruppe gedeutet.

bis endlich alle experimentellen Befunde ihre Deutung in der Feststellung fanden, daß es sich sowohl bei dem beschriebenen Oximkristallinat als auch bei seinem Spaltprodukt, einem aus verdünntem Alkohol gut kristallisierenden Stoff, der bei 165° schmilzt, um Mischkristallinate von einander sehr nahestehenden Stoffen handelt, von denen einer, nur zu etwa 5% vorhandener, das gesuchte Testikelhormon darstellt. Die Suche nach verwendbaren Trennungsmethoden dieser Stoffe hat uns bisher eine besonders brauchbare Methode kennen gelehrt: die fraktionierte Sublimation des Spaltproduktes im Hochvakuum; bei 80 bis 85° ( $1/10\,000$  mm Hg) ist die Sublimationsgeschwindigkeit des in geringer Menge vorhandenen, höher schmelzenden Hormons größer als die des Begleitstoffes; eine vorsichtig ausgeführte fraktionierte Sublimation liefert in kurzer Zeit ein Sublimat, welches durch seinen höheren Schmelzpunkt (oberhalb 170 bis 172°) bereits die stattgefundene Trennung verrät; durch wiederholtes Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol und Resublimieren im Hochvakuum steigt der Schmelzpunkt bis auf 178°.

Während der noch nicht charakterisierte Destillationsrückstand (Fp. 161°) keine nennenswerte Wirkung im Tierversuch zeigt, stellt das hochschmelzende Sublimat nach seiner Reinigung den weitaus am höchsten wirksamen Stoff dar, der bisher zugänglich wurde. Die bisherigen Auswertungsergebnisse im Hahnenkamm-Test, die an verschiedenen Kristallisaten ermittelt wurden, sind in folgender Tabelle zusammengestellt, aus der hervorgeht, daß je nach der gewählten Injektionstechnik<sup>27)</sup>  $\gamma$ -Werte des Kristallisates genügen, um ein Kammwachstum zu erzeugen, das außerhalb der Fehlergrenze liegt:

Injizierte Dosis $\gamma$	Wie oft?	Wie lange?	Gesamtdosis $\gamma$	Wachstumswirkung $\gamma$	Fp. der injizierten Substanz i. Grad
1	1 $\times$ tägl.	2 Tage	2	10,3, 8,8, 0	173—175
0,5	2 $\times$ tägl.	3 Tage	3	26,0, 24,5, 17,0	177
0,25	2 $\times$ tägl.	3½ Tage	1,75	27,8, 13,2, 0	173—175
0,10	2 $\times$ tägl.	5 Tage	1	27,2, 13,1, 8,9	173—175

Bei aller Vorsicht, die bei der Reindarstellung eines physiologisch hochaktiven Stoffes geboten erscheint,

<sup>27)</sup> Die in der Tabelle angeführten Auswertungen, welche im Gegensatz zur oben gegebenen Definition der HE mit protrahierter Injektionstechnik vorgenommen wurden, entsprechen der von anderen Autoren (E. Laqueur, C. Funk, F. C. Koch) stets geübten Art der Dosierung.

<sup>28)</sup> Der höchste Wachstumswert ist zumeist 2 bis 3 Tage nach der letzten Injektion erreicht; bemerkenswerterweise erstreckte sich — im Gegensatz zu den Beobachtungen an Rohölen — das Abklingen des Wachstumseffektes über längere Zeit. Z. B. war bei der Auswertung des Kristallisates 177° noch nach 19 Tagen ein Wachstumseffekt von 13,7, 13,3, 2,7% vorhanden, was wohl auf einer Überdosierung beruht.

möchten wir glauben, das männliche Sexualhormon in kristallisierter Form bereitet zu haben; ob eine vollständige Reindarstellung erreicht ist, die naturgemäß besonders schwer sein muß, wenn die wenigen Milligramm Substanz, welche zugänglich sind, mit nahe verwandten Begleitstoffen Mischkristalle bilden, muß durch weitere sorgfältige chemische und physiologische Versuchsreihen geprüft werden. Insgesamt wurden bisher 15 mg an kristallisiertem Hormon gewonnen, die nach unserer Schätzung auf Grund physiologischer Wirksamkeiten die Inhaltssubstanz von etwa 25 000 l Männerharn darstellen. Es ist von Interesse, daß ihre erste Abscheidung aus den gereinigten Ölen nur durch Mischkristallbildung mit nahestehenden Begleitstoffen möglich wurde, welche in etwas größerer Menge vorhanden sind.

Über die Chemie des Testikelhormons kann auf Grund der Untersuchung der bisher zugänglichen 15 mg folgendes gesagt werden: Das Kristallinat ist frei von Stickstoff, zwei übereinstimmende Analysen ergaben Werte (76,85, 76,82% C; 10,49, 10,71% H), welche gut auf eine Zusammensetzung der Formel  $C_{16}H_{26}O_2$  (76,8% C; 10,4% H) stimmen. Auf die gleiche Zusammensetzung deutet ein aus 6 mg Hormon bereitetes Oxim, das nach mehrfachem Umkristallisieren einen Schmelzpunkt von 215° und einen Stickstoffgehalt (5,28%) zeigte, der mit dem der Oximformel  $C_{16}H_{27}O_2N$  (5,28%) zusammenfällt. Durch die Bereitung des Oxims ist der schon durch die Darstellung des Hormons erkennbare Ketoncharakter erwiesen, das zweite Sauerstoffatom liegt als Hydroxylgruppe vor, wie zunächst qualitativ durch den Umsatz mit Essigsäureanhydrid erkennbar wurde. — Es hat den Anschein, als ob das Testikelhormon gesättigten Charakter trägt, jedenfalls konnte mit geringen Substanzmengen kein Verbrauch von Brom festgestellt werden.

Wir betrachten die bisherigen chemischen Ergebnisse als vorläufige, die der Sicherung bedürfen; sie gestatten aber bereits einen Vergleich mit der Chemie des Follikelhormons: beide Hormone zeigen in ihrer Zusammensetzung weitgehende Ähnlichkeit, die durch die gleichartige Funktion der beiden Sauerstoffatome besonders betont wird; demgegenüber steht der charakteristische Unterschied im Verhalten der Hydroxylgruppe, welche dem Follikelhormon sauren Charakter verleiht, während das Testikelhormon neutral ist, eine Eigenschaft, welche mit dem weitgehend gesättigten Charakter des männlichen Sexualhormons parallel geht.

Meine Mitarbeiter und ich haben der Schering-Kahlbaum A.-G., Berlin, der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft und der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen für großzügige Unterstützung unserer Arbeiten zu danken.

[A. 185.]

## Die pyrochemische Reihe der Oxyde.

Von H. SALMANG,

Institut für Gesteinshüttenkunde der Technischen Hochschule Aachen.

Nach einem Vortrag im Bezirksverein Aachen des V. d. Ch. vom 17. Dezember 1930.

(Eingeg. 8. Juli 1931.)

Unsere Kenntnis vom Wesen der flüssigen und der glasig erstarrten Silicatschmelzen, welche ja in Natur und Technik eine bedeutende Rolle spielen, steht hinter dem Wissen vom kristallisierten Zustand und von den Lösungen zurück. Das hat seinen Grund darin, daß Untersuchungen an solchen Lösungen zu einem großen Teil bei extrem hohen Temperaturen durchgeführt wer-

den müssen, bei denen die normalen Arbeitsmethoden versagen. Bei den glasig erstarrten Schmelzen, den Gläsern, ist die Forschung zudem dadurch behindert, daß Gläser keine scharfen Röntgen-Interferenzen geben, wie dies die Kristalle tun. Der bisher meist zum Studium der Silicatschmelzen und der Gläser angewandte Weg ist der der Untersuchung von physikalischen Eigenschaften über