

Fortschritte der physiologischen Chemie seit 1929.

IV. Hormone*).

Sexualhormone.

Von Dr.-Ing. FRITZ WADEHN, Danzig.

(Eingeg. 16. Mai 1934.)

(Physiologisch-chemisches Laboratorium des Städtischen Krankenhauses Danzig.)

Inhalt: Der weibliche Sexualzyklus. — Keimdrüsenhormone. a) Follikelhormone, b) Corpus-luteum-Hormon, c) Männliches Sexualhormon. — Gonadotrope Hormone.

Der weibliche Sexualzyklus.

Die Forschungen der letzten Jahre haben auf das Zustandekommen der rhythmischen Wellenbewegung im weiblichen Sexualzyklus einiges Licht werfen können. Dieser Zyklus ist nichts anderes als die periodische Vorbereitung des Uterus auf die Schwangerschaft. Erfolgt die Schwangerschaft nicht, so wird das im Uterus für das Ei vorbereitete Bett in der Menstruation abgestoßen. Die Bereitung dieses Bettes erfolgt in zwei vom Ovar aus geleiteten Phasen. In der ersten, der Proliferationsphase, wächst, „proliferiert“, aus der an den cyclischen Veränderungen unbeteiligten Basalschicht des Uterus die Funktionalschicht zu einem dicken Polster heraus, in der zweiten, der sekretorischen Phase, erfolgt die Auflockerung dieser Funktionalschicht durch das sich stark entwickelnde Drüsensystem. Diese beiden Entwicklungsphasen der Uterusschleimhaut sind mit Veränderungen im Ovar derart verbunden, daß die Follikelreifung im Ovar mit der proliferativen Phase und die Corpus-luteum-Bildung aus den Thecazellen des geplatzten Follikels mit der sekretorischen Phase kausal und rein hormonal miteinander verknüpfte Vorgänge sind und zwar derart, daß die erste Phase durch die Produktion des Follikelhormons, die zweite Phase durch die Produktion des Corpus-luteum-Hormons gekennzeichnet ist. Der Beweis für die Richtigkeit dieser ursprünglich aus dem Tierexperiment hergeleiteten Vorstellungen für den Menschen wurde von C. Kaufmann¹⁾ erbracht, der bei operativ kastrierten Frauen durch passend gewählte nacheinander verabfolgte Gaben von Follikel- und Corpus-luteum-Hormon eine typische Menstruation zu erzeugen vermochte. Zur Erzielung der proliferativen Umwandlung wurden innerhalb von zwei Wochen etwa 250 000 M.E. Follikelhormon und danach zur Umwandlung der Schleimhaut in das sekretorische Stadium innerhalb von 8 Tagen etwa 90 Kanincheneinheiten Corpus-luteum-Hormon benötigt. Nach dem Absetzen der Injektionen und damit des Hormonzustroms brach die aufgebaute Schleimhaut in der Menstruation zusammen. Diese von Kaufmann gesammelten Erfahrungen sind weiter insofern interessant, als sie einen Rückschluß auf die physiologischerweise innerhalb eines Monats von der geschlechtsreifen Frau produzierte Hormonquantität zulassen. Die künstliche Zuführung ähnlich hoher Dosen wird daher auch bei Krankheitsfällen mit völlig darniederliegender Ovarfunktion, z. B. primärer Amenorrhoe, als notwendig betrachtet werden müssen.

Wie kommt es zu den cyclischen Veränderungen im Ovar selbst und zu der periodischen Reifung der Follikel

und zur Ausbildung der Gelbkörper? Beim Tier, dem die Hypophyse entfernt worden ist, erlischt die Tätigkeit des Ovars. Es gelingt aber durch Einpflanzung von Hypophysenvorderlappen bei den hypophysektomierten Tieren die ovarielle Funktion wieder in Gang zu setzen und bei infantilen Tieren die sexuelle Entwicklung zu beschleunigen^{2,3)}. Auch dieser Vorgang ist rein hormonal, da es gelingt, mit Vorderlappenextrakten denselben Effekt auszulösen wie mit dem Drüsenimplantat. Zondek und Aschheim unterscheiden zwei Hypophysenvorderlappensexualhormone, Prolan A und Prolan B, von denen jedes einen Teil der Umwandlung des Ovars beherrschen soll, Prolan A die Follikelreifung, Prolan B die Gelbkörperbildung. Ein Teil dieser im Hypophysenvorderlappen und in der Schwangerschaft wohl hauptsächlich von der Plazenta produzierten gonadotropen Hormone wird in etwas veränderter Form im Harn ausgeschieden. Beim Menschen mit erlöschender Keimdrüsenfunktion ist der Gehalt der Hypophyse an gonadotropem Hormon und die Ausscheidung dieses Hormons im Harn vermehrt. Es war aus dieser bei geschwächter Keimdrüsenfunktion erhöhten Tätigkeit der Hypophyse zu schließen, daß in irgendeiner Weise eine Rückwirkung der Keimdrüsen auf den Vorderlappen der Hypophyse stattfinden muß. Hohlweg und Junkmann⁴⁾ klärten diesen Zusammenhang, indem sie ein im Zwischenhirn gelegenes Sexualzentrum nachwiesen, das einerseits den Hypophysenvorderlappen mit nervösen Impulsen speist, andererseits selbst auf Schwankungen des Keimdrüsenhormonspiegels im Blute reagiert. Eine konstante Höhe des Keimdrüsenhormonspiegels im Blut ist damit gewährleistet. Die Regulation über dieses Sexualzentrum erfolgt derart, daß bei einem durch irgendwelche Umstände bedingten Absinken des Keimdrüsenhormonspiegels im Blut verstärkte nervöse Impulse dem Vorderlappen der Hypophyse zugesandt werden und ihn zu vermehrter Produktion des gonadotropen Hormons veranlassen. Das gonadotrope Hormon treibt seinerseits die Keimdrüsen zu verstärkter Sekretion ihrer Sexualhormone an, wodurch der Ring Sexualzentrum → Vorderlappen der Hypophyse → Keimdrüsen → Sexualzentrum geschlossen ist. Beim übermäßigen Ansteigen des Keimdrüsenhormonspiegels im Blut verringert sich der vom Sexualzentrum auf den Vorderlappen ausgeübte nervöse Reiz, so daß die Produktion des gonadotropen Hormons absinkt.

Beim männlichen Tier gibt es einen periodischen Sexualzyklus nicht. Es besteht aber auch bei ihm derselbe Zusammenhang zwischen Hypophysenvorderlappen, Keimdrüse und Erfolgsorganen des Keimdrüsenhormons

*) Bereits erschienen sind die Abschnitte I. Naturstoffe, vgl. diese Ztschr. 47, 247, 271, 286, 290, 294, 315, 318, 351 [1934]; II. Enzyme, ebenda 47, 447, 451, 475, 491, 515 [1934], und III. Vitamine, ebenda 47, 523, 547, 550, 552 [1934].

¹⁾ Kaufmann, Ztrbl. Gynäk. 1933, 42; Klin. Wchschr. 12, 217 [1933].

²⁾ Smith, Proceed. exp. Biol. 24, 337 [1927].

³⁾ B. Zondek u. Aschheim, Dtsch. med. Wchschr. 52, 343 [1926]; Klin. Wchschr. 6, 1322 [1927]; diese Ztschr. 43, 245, 393 [1930].

⁴⁾ Hohlweg u. Junkmann, Klin. Wchschr. 11, 321 [1932].

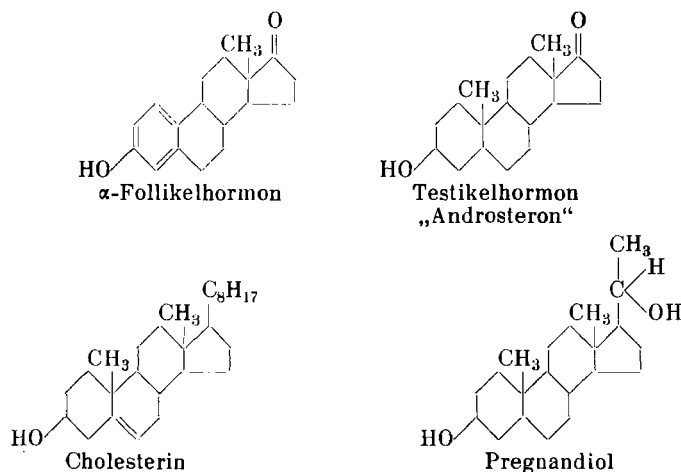
(sekundäre Geschlechtsmerkmale) wie beim Weibchen. Die gonadotropen Hormone sind nicht geschlechtsspezifisch. Das in der Hypophyse des Weibchens produzierte gonadotrope Hormon treibt die Entwicklung der Keimdrüse des Männchens vorwärts und umgekehrt. Angriffspunkt des gonadotropen Hormons ist stets die Keimdrüse. Kastrierte Tiere erfahren durch die Zuführung von gonadotropem Hormon keine Beeinflussung.

Keimdrüsenhormone.

Sämtliche von den Keimdrüsen abgegebenen Hormone, in deren Konstitution ein näherer Einblick zu gewinnen war, stehen in engem chemischem Verwandtschaftsverhältnis zueinander. Sie sind Abkömmlinge eines gemeinsamen Grundkörpers und haben enge Beziehung zu den Sterinen⁵⁾. Diese engen Beziehungen lassen eine Entstehung dieser Hormone aus den Sterinen und Gallensäuren im Organismus als denkbar erscheinen (s. die untenstehenden Formelbilder). Für diese Anschauung spricht das Vorkommen eines von *Marrian*⁶⁾ aus Schwangerenharn isolierten und von *Butenandt*⁷⁾ in seiner Konstitution aufgeklärten Kohlenwasserstoffs Pregnandiol, der in chemischer Hinsicht zwischen den Sterinen und dem Follikelhormon steht. Vielleicht weist auch die Beobachtung von *Reiß* und *Mori*⁸⁾, daß nach Injektion des Follikelhormons das Blutholesterin stark ansteigt, in diese Richtung. Über die Entwicklung unserer Kenntnisse nach der chemischen Seite der Keimdrüsenhormonforschung sind die Leser dieser Zeitschrift bereits mehrfach eingehend unterrichtet worden⁹⁾, so daß hier nur eine kurze Zusammenfassung der bisher erreichten Ergebnisse erfolgen soll.

a) Follikelhormone.

Die bisher isolierten sieben nahe miteinander verwandten Hormone der Follikelhormongruppe sind biologisch durch ihre gemeinsame Wirksamkeit im Brunsttest an der kastrierten Maus und chemisch durch das ihnen allen gemeinsame C₁₆-Kohlenstoffskelett, das in einem tetracyclischen Gerüst aus drei Sechsringen und einem Fünfring mit einer Methylgruppe angeordnet ist, gekennzeichnet. Sechs von den sieben bisher isolierten Hormonen enthalten als funktionelle Gruppen je eine CO- und eine phenolische Hydroxylgruppe, sind also Oxyketone. Das Follikelhormonhydrat enthält an Stelle der CO-Gruppe zwei Hydroxyle.



⁵⁾ *Butenandt*, Naturwiss. 17, 879 [1929].

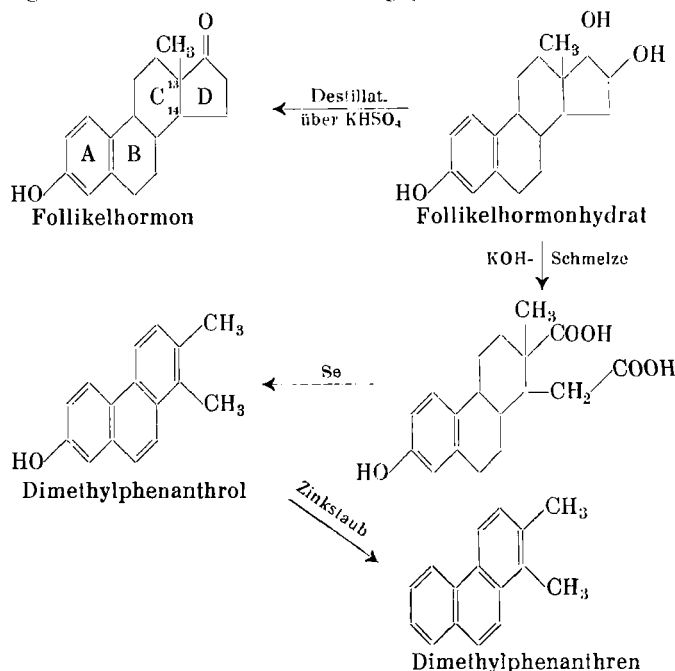
⁶⁾ *Marrian*, Biochemical Journ. 23, 1090 [1929].

⁷⁾ *Butenandt*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 64, 2529 [1931].

⁸⁾ *Reiß* u. *Mori*, Endokrinologie 1, 418 [1928].

⁹⁾ *Butenandt*, diese Ztschr. 45, 655 [1932]; 46, 639 [1933]. *Aschheim*, ebenda 44, 189 [1931]; 45, 134 [1932]. *Wadehn*, ebenda 44, 317 [1931].

Die Konstitution des bereits im Jahre 1929 fast gleichzeitig von *Doisy* und von *Butenandt* aus Schwangerenharn isolierten α-Follikelhormons ist (s. Formelbilder) dank den Arbeiten *Butenandts*¹⁰⁾, *Marrians*¹¹⁾, *Doisy*¹²⁾ und Mitarbeiter soweit geklärt worden, daß nur noch die Stellung der CH₃-Gruppe und die der CO-Gruppe innerhalb des Fünfringes unsicher ist. Der von *Butenandt*, *Weidlich* und *Thompson*¹³⁾ eingeschlagene Abbauweg vom Follikelhormon zum Dimethylphenanthren, der die Beziehung des Hormons zum Phenanthren sichert, ist in folgenden Formelbildern wiedergegeben:



Das α-Follikelhormon übertrifft im gewichtsmäßigen Vorkommen im Harn und in seiner biologischen Aktivität die anderen sechs Kristallisate bei weitem. Die biologische Aktivität der Follikelhormone ist sehr unterschiedlich und bewegt sich in den Grenzen von 8 Millionen Einheiten im Gramm (α-Follikelhormon) und 4–700 000 Einheiten im Gramm (Equilenin); das δ-Follikelhormon hat 4–5 Millionen, das β-Follikelhormon, das Equilin und Hippulin haben 1–2 Millionen Einheiten im Gramm.

Durch die im obenstehenden Formelschema an erster Stelle wiedergegebene Reaktion der Wasserabspaltung aus Follikelhormonhydrat durch Destillation über Kaliumbisulfat verknüpfte *Butenandt* dieses zuerst von *Marrian* aus Schwangerenharn isolierte Hormon mit dem α-Follikelhormon. Die nahe Verwandtschaft dieser beiden Hormone war damit erwiesen. Neben dem α-Follikelhormon entsteht bei der Wasserabspaltung aus dem Hormonhydrat ein von *Butenandt* als β-Follikelhormon bezeichnetes Kristallisat, das auch natürlicherweise im Stutenharn vorkommt und aus diesem von *Butenandt* und

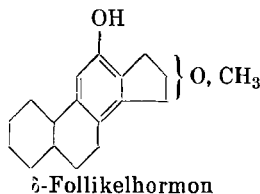
¹⁰⁾ *Butenandt*, Nature 130, 238 [1932]; Naturwiss. 21, 49 [1933]. *Butenandt* u. *Hildebrandt*, Hoppe Seylers Ztschr. physiol. Chem. 199, 243 [1931]. *Butenandt* u. *Inge Störmer*, ebenda 208, 129 [1932]. *Butenandt*, *Inge Störmer* u. *Westphal*, ebenda 208, 149 [1932]. *Butenandt* u. *Westphal*, ebenda 223, 147 [1934].

¹¹⁾ *Marrian* u. *Haslewood*, Biochemical Journ. 26, 25, 1227 [1932]; Lancet, 6. Aug. 1932.

¹²⁾ *Doisy* u. *Curtis*, Journ. biol. Chemistry 91, 647 [1930]. *Doisy*, *Curtis*, *Levin*, *Katzman* u. *Thayer*, Proceed. Soc. exp. Biol. a. Med. 28, 216 [1930]. *Doisy*, *Mac Corquodale* u. *Thayer*, Journ. biol. Chemistry 99, 327 [1933].

¹³⁾ *Butenandt*, *Weidlich* u. *Thomson*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 66, 601 [1932].

Marrian isoliert wurde. Schwenk und Hildebrandt¹⁴⁾ gewannen aus Stutenharn ein weiteres von ihnen als δ -Follikelhormon bezeichnetes Kristallisat. Auf Grund des Ausfalls einer Reihe von charakteristischen Farbreaktionen glauben diese Autoren, dem Hormon die nachstehende Konstitution zuschreiben zu können:



Die letzten drei Hormone der Follikulinreihe, Equilin, Hippulin und Equilenin sind von Girard¹⁵⁾ und Mitarbeitern aus Stutenharn gewonnen worden, in welchem sie in sehr kleiner Menge vorhanden sind. Die Aufarbeitung von 52 Tonnen Harn ergab 1,5 g Equilenin. Diese drei Hormone bilden insofern eine engere Gruppe in der Klasse der Follikelhormone, als sie wasserstoffärmer als die vorgenannten vier typischen Follikelhormone sind (Equilin, Hippulin $C_{18}H_{20}O_2$, Equilenin $C_{18}H_{18}O_2$). Im Equilenin ist ein Naphthalinkern anzunehmen.

Die Intaktheit der Keto- und der Phenolgruppe ist Bedingung für die hohe physiologische Wirksamkeit des Follikelhormons. Derivate des α -Follikelhormons, aus denen der Organismus das Hormon nicht mehr regenerieren kann, sind physiologisch praktisch unwirksam, z. B. Methyläther und Semicarbazon. Anders verhält es sich mit der Wirksamkeit jener Verbindungen, die nach ihrer Einverleibung im Körper aufgespalten werden, und zwar besonders dann, wenn diese Aufspaltung in einem Tempo erfolgt, das ein gleichmäßiges physiologisch genügend hohes Hormonniveau im Organismus aufrechterhält. Es wird bei Verabfolgung solcher Substanzen, z. B. dem Benzoat¹⁶⁾, eine erheblich länger anhaltende Wirkung auf den Genitaltrakt ausgelöst als bei Verabfolgung des Hormons selbst.

Durch Reduktion des Follikelhormons erhielten Schoeller, Schwenk und Hildebrandt¹⁷⁾ das Dihydrofollikelhormon. Die CO-Gruppe des Follikelhormons ist also im Dihydrofollikelhormon durch eine sekundäre Hydroxylgruppe ersetzt. Es ist 5–7mal wirksamer an der kastrierten Maus als das Follikelhormon selbst. Die genannten Autoren halten es für nicht unwahrscheinlich, daß das Dihydrofollikelhormon oder seine Ester, die sich ebenfalls durch verlängerte Wirksamkeit auszeichnen, die ursprünglich im Ovar gebildeten Keimdrüsenhormone sind, und daß die aus dem Harn zu gewinnenden Follikelhormone erst im Laufe einer Umwandlung im Organismus aus dem Dihydrofollikelhormon entstehen.

Die Hauptfundstellen der Follikelhormone sind der Schwangerenharn mit 20 000 bis 40 000 und der Harn tragender Stuten¹⁸⁾ mit 100 000 bis 200 000 M.E. im Liter. Die Auffindung dieser reichen Hormonquelle ist für die Beschaffung der für die Konstitutionsaufklärung notwendigen Hormonquantitäten von größter Bedeutung ge-

wesen. In der Schwangerschaft übernimmt bei verschiedenen Säugetieren die Plazenta die Produktion des Follikelhormons und stößt das Vieltausendfache des vom Ovar gebildeten Hormons in den Kreislauf. Der nicht vom Körper verbrauchte Teil dieser Produktion gelangt in den Harn und kann aus diesem in verhältnismäßig einfacher Weise gewonnen werden. Bei der Reindarstellung des Hormons spielen die bereits früher beschriebenen Umlösungen aus organischen Lösungsmitteln und Entmischungsmethoden eine wichtige Rolle. Aus dem erhaltenen Rohöl erhielt Butenandt bei fraktionierter Destillation im Hochvakuum ein Kristallisat, das sich durch Umkristallisieren von anhaftenden Verunreinigungen befreien ließ. Die technische Gewinnung des Follikelhormons wird heute in verschiedenen Fabriken mit Erfolg durchgeführt, so daß von diesem wichtigen Heilmittel ausreichende Mengen zu vergleichsweise mäßigen Preisen verfügbar sind. Die Möglichkeiten, die sich einerseits aus der künstlichen Erzeugung neuer Einheiten durch Reduktion des α -Follikelhormons zum Dihydrofollikelhormon und aus der Wirksamkeitssteigerung durch die Veresterung der phenolischen Hydroxylgruppe mit Benzoesäure andererseits ergeben, sind durch die Schaffung des „Progynons oleosum“ verwirklicht worden.

Die den Allen-Doisy-Test gebenden Stoffe sind in der Natur weit verbreitet, also keineswegs auf den Organismus des weiblichen Säugers beschränkt. Sie finden sich auch in den Keimdrüsen und in den Ausscheidungen männlicher Tiere. Die Hoden des Hengstes sind, wie die kürzliche Entdeckung Zondeks¹⁹⁾ überraschenderweise ergab, das follikelhormonreichste Organ, das wir kennen. Der Hengst scheidet im Liter Harn etwa 40 000 M.E. aus und produziert daher pro Tag etwa 50 mg Hormon. Der Harn des Wallachs enthält nicht mehr Hormon als der Harn nichttragender Stuten. Beim Pferde ist also der paradoxe Fall gegeben, daß aus dem hohen Gehalt eines Harns an Follikelhormon auf Hengst oder hochtragende Stute geschlossen werden kann. Eine Erklärungsmöglichkeit für das massenhafte Vorkommen von weiblichem Sexualhormon beim Hengst ist bisher ebensowenig aufzufinden wie für das Vorkommen von männlichem Sexualhormon bei der Frau. Die östrogenen Stoffe sind weiter nachgewiesen bei niederen Tieren, z. B. Bienen, Schmetterlingen, Würmern und Protozoen, weiter im Pflanzenreich, so in der Hefe und in den Blüten, z. B. in den Weidenkätzchen, weiter in bituminösen Substanzen²⁰⁾ wie Torf, Braunkohle, Erdöl. Butenandt und Jacobi²¹⁾ konnten aus Palmkernextrakten ein Kristallisat gewinnen, das mit dem α -Follikelhormon identisch war. Skarzynski²²⁾ isolierte aus Weidenkätzchen ein kristallines Präparat, dessen chemische und physikalische Eigenschaften mit denen des Follikelhormonhydrats übereinstimmen. Biologisch war das neugewonnene Kristallisat eigenartigerweise schwächer wirksam als das Follikelhormonhydrat. Das Vorkommen der Follikelhormone im Pflanzenreich hat durch die Beobachtungen von Schoeller und Goebel²³⁾ eine gute Ausdeutung erfahren. Nach Versuchen dieser Autoren beschleunigt die Zugabe von kristallisiertem Follikelhormon bei den untersuchten Pflanzen (Hyazinthen, Calla, Maiglöckchen, Mais, Tomaten usw.) die Ausbildung der Blüte. Die verwendeten Präparate waren zum Teil frei von dem Wuchsstoff Auxin. Die

¹⁴⁾ Schwenk u. Hildebrandt, Naturwiss. 20, 658 [1932]; Biochem. Ztschr. 259, 240 [1933].

¹⁵⁾ Girard, Sandulesco u. Fridenson, Compt. rend. Soc. Biologie 112, 964 [1933]. Girard, Sandulesco, Fridenson u. Rutgers, Compt. rend. Acad. Sciences 194, 909; 195, 981 [1932]. Girard, Sandulesco, Fridenson, Gaudefroy u. Rutgers, ebenda 194, 1020 [1932].

¹⁶⁾ Butenandt u. Inge Störmer, a. a. O.

¹⁷⁾ Schoeller, Schwenk u. Hildebrandt, Naturwiss. 21, 286 [1933].

¹⁸⁾ B. Zondek, Klin. Wehschr. 9, 2285 [1930].

¹⁹⁾ B. Zondek, Ark. Kemi, Mineral. Geol. (B) 11, 24 [1934].

²⁰⁾ Aschheim u. Hohlweg, Dtsch. med. Wehschr. 59, 12 [1933].

²¹⁾ Butenandt u. Jacobi, Hoppe Seylers Ztschr. physiol. Chem. 218, 104 [1933].

²²⁾ Skarzynski, Nature 131, 76 [1933].

²³⁾ Schoeller u. Goebel, Biochem. Ztschr. 240, 1 [1931]; 251, 223 [1932].

Überlegenheit des natürlichen Düngers über den künstlichen hormonfreien Dünger dürfte z. T. dem Hormongehalt des natürlichen Düngers zuzuschreiben sein.

Die Aufklärung der Konstitution des Follikelhormons hat diesen Wirkstoff, wie bereits dargelegt, in enge chemische Beziehungen zu den Sterinen gesetzt. Es ist eine reizvolle Erkenntnis, daß die Natur in so verschiedener Richtung wirkende Stoffe — weibliches und männliches Sexualhormon, Gallensäuren, Cholesterin, Ergosterin — aus demselben Grundskelett aufzubauen vermag. Zu bemerken ist dabei, daß Ergosterin und Vitamin D den Östrus an der kastrierten Maus auszulösen vermögen. Allerdings sind zur Erzielung dieses für diese Stoffe fremdartigen Zweckes Dosen erforderlich, die die Brunsteinheit des Follikelhormons um das Mehrtausendfache übertreffen. — Bei der Prüfung einer Reihe synthetisch hergestellter Stoffe auf brunsterregende Wirkung konnten Cook und Dodds²⁴⁾ mit dem 1-Keto-1,2,3,4-tetrahydro-phenanthren in 100-mg-Dosen den Vollöstrus an der kastrierten Maus auslösen. Dieselbe positive Wirkung im Allen-Doisy-Test erhielten sie bei der Injektion typisch krebserregender Stoffe wie 1,2,5,6-Dibenzanthracen, wenn ähnlich hohe Dosen angewandt wurden. Letztlich berichten die genannten Autoren^{24a)} über die Synthese von Abkömmlingen dieser Dibenzanthracene, deren östrogene Aktivität der des Follikelhormonhydrats nicht nachsteht. Das 9,10-Dioxy-9,10-di-n-propyl-9,10-dihydro-1,2,5,6-dibenzanthracen löst in Dosen von 3 γ den Vollöstrus aus; es ist auch bei peroraler Verabreichung wirksam. In diesem Zusammenhange ist zu erwähnen, daß der Laqueursche Arbeitskreis²⁵⁾ im Blut carcinomkranker Männer und Frauen große Mengen östrogener Stoffe aufgefunden, und zwar 5000 bis 10 000 M.E. im Liter gegenüber 500 M.E. normal.

In der Therapie hat das Follikelhormon bei einer Reihe von Frauenkrankheiten ein gesichertes Anwendungsgebiet gefunden, wie bereits früher berichtet wurde. Weiter ist das Follikelhormon in einigen Fällen da angewandt worden, in denen es galt, Krankheiten, die nur beim Manne oder hauptsächlich beim Manne auftreten, zu bekämpfen. So sind bei einer Augenkrankheit (Retinitis pigmentosa)²⁶⁾ und bei der Bluterkrankheit Präparate des Follikelhormons mit Erfolg benutzt worden. Bei der Aufzucht von Frühgeburten²⁷⁾, bei Kindern also, die des Zustroms des mütterlichen Hormonvorrats vorzeitig entbehren, hat sich die künstliche Zuführung von Follikelhormon gut bewährt. Als weiterer wichtiger Anwendungskreis ist die Behebung der Sterilität von weiblichem Nutzvieh zu nennen. E. Steinach und Mitarbeiter²⁸⁾ berichten, daß sterile weibliche Kühe nach einmaliger Injektion von 50 000 M.E. Follikelhormonbenzoat den Deckakt zuließen und tragend wurden.

b) Corpus-luteum-Hormon.

Die vom Corpus luteum zu erfüllende Aufgabe ist bereits eingangs näher gekennzeichnet worden. Auf der Fähigkeit des Hormons, die vom Follikelhormon vorbereitete Uterusschleimhaut dezidual umzuwandeln, beruht auch der von Allen und Corner ausgearbeitete und von

Clauberg²⁹⁾ verbesserte biologische Test zur Erkennung des Hormons. Junge Kaninchen werden mit Follikelhormon vorbehandelt und erhalten dann den zu prüfenden Extrakt injiziert. Die deziduale Umwandlung der Uterusschleimhaut läßt sich im mikroskopischen Schnitt durch die starke Auflockerung der Schleimhaut und die beträchtliche Vergrößerung der Drüsenschläuche erkennen. Enthält der zu prüfende Extrakt größere Mengen Follikelhormon, so bleibt die deziduale Umwandlung der Schleimhaut aus. Das Follikelhormon kann also das gleichzeitig mit ihm verabfolgte Corpus-luteum-Hormon in der Entfaltung seiner Wirksamkeit unterdrücken. Mehrere Autoren³⁰⁾ berichteten vor etwa zwei Jahren darüber, das Corpus-luteum-Hormon in kristallisierter Form erhalten zu haben; nähere Angaben über die Natur dieser Kristallisate liegen aber bislang nicht vor. Sie sollen in Wasser unlöslich und leicht löslich in organischen Lösungsmitteln sein. Der hormonale Wirkstoff dieser Kristallisate ist beständig gegenüber verdünnten Säuren auch bei Kochtemperatur, wird aber durch alkalische Lösungen mit $pH > 9$ rasch zerstört. Das von Allen erhaltene Kristallinat war bei 0,002 mm Druck und 150° destillierbar. Das Hormon wird von lipasehaltigem Pankreassaft rasch zerstört; es ist daher peroral nicht wirksam. Engelhart³¹⁾ hält das Hormon für einen Ester.

Das Ausgangsmaterial für die Herstellung des Corpus-luteum-Hormons ist bisher allein der Gelbkörper im Ovar. Die eifrigen Bemühungen, andere leichter beschaffbare Ausgangsmaterialien für die Gewinnung dieses Hormons aufzufinden, sind fast erfolglos geblieben. Adler, de Fremery und Tausk³²⁾ haben Corpus-luteum-Hormon in der Plazenta nachgewiesen. Die von ihnen bisher erzielten Ausbeuten sind noch gering. Sie erhielten 1 Kanincheneinheit aus 500 g Plazentagewebe. Die Kostbarkeit des Hormons — aus 1 kg frischer Gelbkörper lassen sich nur etwa 30 Kanincheneinheiten gewinnen — beschränkt die praktische Anwendbarkeit dieses wichtigen Wirkstoffes leider sehr erheblich.

Die Herstellung des Corpus-luteum-Hormons erfolgt nach ähnlichen Methoden, wie sie bei der Gewinnung des Follikelhormons angewandt werden. Die Trennung dieser Hormone, die beide im Corpus luteum vorkommen, und die daher beide im Rohextrakt enthalten sind, erfolgt durch Ausschüttelung der 33%igen alkoholischen Lösung mit Petroläther. Das Corpus-luteum-Hormon geht in den Petroläther, während das Follikelhormon in der alkoholischen Lösung zurückbleibt.

Durch die Ergebnisse neuester Arbeiten von Butenandt und Westphal³³⁾ ist die Forschung über die Chemie des Corpus-luteum-Hormons in ein neues Stadium getreten. Aus hoch gereinigten Corpus-luteum-Extrakten konnten die genannten Autoren die Gesamtheit der biologisch aktiven Stoffe mit Semicarbazid als Carbazon ausfällen. Die Rohsemicarbazone wurden mit verdünnten Säuren gespalten und die Spaltprodukte im hohen Vakuum sublimiert. Das Sublimat ist eine ausgezeichnet kristallisierende Substanz, die nur aus C, H, O besteht, und die 40% der Corpus-luteum-Wirksamkeit des Ausgangs-

²⁴⁾ Cook u. Dodds, Nature 131, 205 [1932].

^{24a)} Cook, Dodds, Hewett u. Lawson, Proceed. Roy. Soc. London (B) 114, 272 [1934].

²⁵⁾ Dingemanse, Freud, de Jongh u. E. Laqueur, Arch. Gynäkol. 141, 225 [1931].

²⁶⁾ Wibaut, Nederl. Tijdschr. Geneeskunde 75, 4226 [1931].

²⁷⁾ Winkler, Umschau 35, 572 [1931].

²⁸⁾ E. Steinach, Stäheli u. Grüter, Wien. klin. Wchschr. 47, 129 [1934].

²⁹⁾ Clauberg, Ztrbl. Gynäkol. 1930, Nr. 1; Klin. Wchschr. 9, 2004 [1930]. Clauberg, Thiel u. Ziecker, Arch. Gynäkol. 152, 61 [1932].

³⁰⁾ Fels u. Slotta, Ztrbl. Gynäkol. 1931, S. 2765. Fevold, Hisaw u. Leonard, Journ. Amer. chem. Soc. 54, 254 [1932]. W. M. Allen, Journ. biol. Chemistry 93, 591 [1932].

³¹⁾ Engelhart, Arch. Gynäkol. 143, 76 [1932].

³²⁾ Adler, de Fremery u. Tausk, Nature 133, 293 [1934].

³³⁾ Butenandt, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 11. 4. 1934, Wiesbaden.

materials in hitze-, säure- und hervorzuhebenderweise auch in alkalistabiler Form enthält. Dieses Kristallinat ist noch nicht einheitlich, sondern stellt ein Gemisch von wenigstens drei verschiedenen Stoffen dar. Zwei dieser Substanzen konnten als chemisch einheitliche Individuen isoliert werden. Die eine Substanz ist in 3-mg-Dosen im Corpus-luteum-Test unwirksam. Sie ist aber beachtenswerterweise ein Oxyketon und steht in dieser Eigenschaft und in dem bisher erforschten chemischen Verhalten den Keimdrüsenhormonen nahe. Die Summenformel, die mit Sicherheit festgelegt werden konnte, $C_{21}H_{34}O_2$, stellt diesen inaktiven Stoff in Beziehung zu Stoffen vom Typus des Pregnandiols ($C_{21}H_{36}O_2$). Der zweite einheitlich erhaltene Stoff, von dem bis jetzt 20 mg hergestellt werden konnten, besitzt im Corpus-luteum-Test die höchste bisher erreichte biologische Wirksamkeit, 0,75 mg dieses Kristallinats enthalten 1 Kaninchen-einheit. *Butenandt* und *Westphal* erhielten damit das erste chemisch einheitliche Kristallinat mit Corpus-luteum-Wirkung. Seine Zusammensetzung dürfte durch die Summenformel $C_{21}H_{30}O_2$ oder $C_{20}H_{28}O_2$ wiederzugeben sein. Beide Sauerstoffatome sind in diesem Hormon als Ketogruppe vorhanden, so daß es sich beim Corpus-luteum-Hormon im Unterschied zu den anderen Keimdrüsenhormonen um ein Diketon handelt.

e) Männliches Sexualhormon.

Vor drei Jahren berichtete *Butenandt*³⁴⁾ an dieser Stelle ausführlich über die Darstellung, die physikalischen und chemischen Eigenschaften des von ihm erstmals in kristallisierter Form erhaltenen männlichen Sexualhormons. Es standen *Butenandt* damals 15 mg dieses Präparates zur Verfügung, die aus 15 000 Liter Harn erhalten worden waren. Die schwere Zugänglichkeit dieses Hormons macht es erklärlich, daß neue chemische Daten erst vor ganz kurzem bekanntgegeben werden konnten. Auch diese neuen Ergebnisse sind Erfolge des *Butenandt*-schen Arbeitskreises. *Butenandt*, *Tscherning* und *Dannenbaum*³⁵⁾ isolierten aus Männerharn drei eng miteinander verwandte Hormonkristallinate. Eines davon ist das von *Butenandt* mit dem Namen „Androsteron“ bezeichnete männliche Sexualhormon, dessen hypothetisches Formelbild weiter oben wiedergegeben ist. Dieses Androsteron ist ein gesättigtes Oxyketon $C_{19}H_{28}O_2$ mit 4 Ringen. Die Reduktion der Ketogruppe des Androsterons führt zum Dihydroandrosteron, das in Analogie zur Wirksamkeitssteigerung bei der Umwandlung von Follikelhormon in Dihydrofollikelhormon wesentlich höher biologisch wirksam ist als das Androsteron selbst. Das zweite Kristallinat ist ein Dehydroandrosteron $C_{19}H_{26}O_2$, das durch Hydrierung in Androsteron umzuwandeln ist. Das Dehydroandrosteron ist nur ein Drittel so wirksam wie der gesättigte Stoff. Es hat chemisch seinen Platz zwischen dem Androsteron und dem Follikelhormon. Das dritte von den genannten Autoren aus Männerharn isolierte Kristallinat ist ein im Gang der Aufarbeitung durch Einwirkung von Salzsäure auf eine noch unbekannte Hormonvorstufe entstandenes physiologisch unwirksames Kunstprodukt. Es ist ein Chlorketon $C_{19}H_{27}OCl$. Das Chlorketon gibt die Farbreaktionen nach *Salkowski* und *Liebermann-Burchard*, aus deren Auftreten mit Sicherheit auf die Anwesenheit eines Sterinskelettes geschlossen werden kann. Durch Hydrierung der Doppelbindung und durch Ersatz des Chloratoms

durch die Hydroxylgruppe geht das inaktive Chlorketon in das den Hahnenkamm-Test gebende Androsteron über. Diese Verknüpfung erweist einmal, daß die biologische Aktivität dem direkt aus Männerharn dargestellten Androsteron nicht etwa als „Verunreinigung“ anhaftet und setzt andererseits mit hoher Wahrscheinlichkeit auch das Androsteron in nahe Beziehung zu den Sterinen.

Um beim Kapaun die vollständige Herstellung der sekundären Geschlechtsmerkmale, insbesondere die volle Ausbildung des Kammes zu erreichen, sind nach *Laqueur*³⁶⁾ und Mitarbeitern bis zu 60 Hahneneinheiten pro Tier und Tag erforderlich. Diese 60 Hahneneinheiten werden aus 6 kg Stierhoden gewonnen. Dieses Mißverhältnis zwischen der vom Organismus produzierten und der durch chemische Methoden aus dem Organismus extrahierbaren Hormonmenge besteht in analoger Weise auch beim weiblichen Tier. Wie wir sahen, erzeugt die Frau im monatlichen Zyklus etwa eine Viertelmillion Einheiten Follikelhormon. Im Harn und Kot werden in dieser Zeit nur wenige 1000 Einheiten Follikelhormon ausgeschieden. Das Ovar selbst ist ein verhältnismäßig follikelhormonarmes Organ und enthält nur etwa 200 M.E. im Kilogramm.

Gonadotrope Hormone.

Die Auffindung gonadotrop wirksamer Substanzen im Schwangerenarn durch *Zondek*³⁷⁾ und *Aschheim*³⁸⁾ hat diese Hormone leicht zugänglich gemacht. Auf dem Vorkommen dieser Hormone im Harn bereits in den ersten Tagen der Schwangerschaft haben *Aschheim* und *Zondek* eine verlässliche Frühdiagnose der Schwangerschaft, über die auch in dieser Zeitschrift bereits berichtet worden ist³⁹⁾ aufgebaut. Wie bereits erwähnt, unterscheiden die beiden genannten Autoren zwei gonadotrope Hormone, Prolan A und Prolan B. Trotz aller Bemühungen ist die Trennung beider Hormone in einwandfreier Weise noch nicht möglich gewesen. Es mehren sich daher die Stimmen, die den unterschiedlichen Wirkeffekt nach der Einspritzung von Prolanlösungen nur als eine Frage der Dosierung betrachten. Gegen diese unitarische Auffassung sprechen unter anderem Versuche von *Reiß* und Mitarbeitern⁴⁰⁾, nach denen die Behandlung der Drüsenextrakte mit Alkali die follikelreifende Komponente vernichtet, die luteinisierende aber unbeeinflusst läßt. Das im Harn ausgeschiedene Prolan ist mit dem vom Vorderlappen selbst produzierten Sexualhormon nicht identisch. Bei hypophysektomierten Ratten übt das aus Harn gewonnene Hormon nach den sorgfältigen Untersuchungen von *Evans* keinen Einfluß auf die Keimdrüsen aus. Auch bei jungen Hähnen⁴¹⁾ und bei Makaken⁴²⁾ (Affen) sind nur aus der Drüse gewonnene Extrakte wirksam. Das aus der Plazenta zu gewinnende gonadotrope Hormon verhält sich biologisch wie das aus Harn hergestellte Präparat. Nach *Evans*⁴³⁾ macht die Zugabe eines aus Vorderlappensubstanz gewonnenen Auszugs zur Prolanlösung diese auch am hypophysektomierten Tiere voll wirksam. Dieser

³⁶⁾ *Freud, Laqueur u. Pompen*, Endokrinologie 10, 1 [1932].

³⁷⁾ *Zondek*, Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens, Berlin 1931.

³⁸⁾ *Aschheim*, Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn, 2. Aufl., 1933.

³⁹⁾ Siehe dazu *Wadehn*, diese Ztschr., a. a. O.

⁴⁰⁾ *Reiß, Selye u. Balint*, Endokrinologie 10, 241 [1932]; 12, 18 [1933].

⁴¹⁾ *Schockaert*, Amer. Journ. Physiol. 105, 497 [1933].

⁴²⁾ *Engle*, Proceed. Soc. exp. Biol. Med. 30, 530 [1933].

⁴³⁾ *H. M. Evans, Simpson u. Austin*, Journ. exp. Med. 57, 897 [1933]; 58, 545, 561 [1933].

³⁴⁾ *Butenandt*, diese Ztschr. 44, 905 [1931].

³⁵⁾ *Butenandt*, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 11. 4. 1934, Wiesbaden.

synergistische Faktor aus der Hypophyse ist nicht etwa mit dem eigentlichen gonadotropen Hormon des Vorderlappens zu verwechseln, obgleich er auch allein gewisse Reifungserscheinungen im Ovar der infantilen Ratte hervorruft. Nach *Evans* kommt die Wirkung des Prolans beim infantilen Tier nicht durch direkte Beeinflussung des Ovars zustande, sondern dadurch, daß das Prolan den im Vorderlappen vorhandenen synergistischen Faktor zum Hormon komplettiert. Dieser synergistische Faktor wurde bei Isolierungsversuchen stets in der Proteinfraction aufgefunden. Er wird durch Sulfosalicylsäure gefällt und ist nicht ultrafiltrabel. Er ist löslich in Wasser und in 80%igem Alkohol. In gereinigtem Zustande erträgt er in neutraler Lösung Temperaturen von 70° ohne Schädigung. Er wird durch Pepsin, nicht aber durch Trypsin zerstört. — Das aus Harn gewonnene Hormon (Prolan) verhält sich wie eine Albumose, wird also durch Sulfosalicylsäure nicht gefällt. Durch Aussetzung mit Ammoniumsulfat oder durch Adsorption an Chinin oder Benzoesäure und nachfolgende fraktionierte Ausfällung mit Aceton gewannen *Katzman* und *Doisy*⁴⁴⁾ Präparate mit 5000 M.E. in 1 mg. Bei der Durchführung dieser

⁴⁴⁾ *Katzman* u. *Doisy*, Journ. biol. Chemistry 98, 739 [1932].

Reinigungsmaßnahmen beobachteten *Haurowitz*⁴⁵⁾ und Mitarbeiter eine Steigerung der Aktivität um das 100fache der im Ausgangsmaterial vorhandenen Einheiten. Sie schreiben dieses Verhalten der Entfernung eines Hemmungskörpers zu. Im Harn wäre dann das Prolan zum größten Teil in inaktiver Form enthalten.

Prolan findet sich im Harn der nicht schwangeren Frau nur vor Beginn der Geschlechtsreife und beim Beginn des Klimakteriums, im Männerharn ist es in der Norm nicht nachweisbar; *Zondek* fand eine gesteigerte Ausscheidung von Prolan bei Krebs, besonders bei Tumoren der Keimdrüsen. Bei diesen Erkrankungen tritt das Hormon auch im Männerharn auf. Vielleicht ist diese erhöhte Prolanproduktion als eine Schutzmaßnahme des erkrankten Organismus zu deuten. *Reiß*⁴⁶⁾ und besonders *H. Zondek*, *B. Zondek* und *Hartoch*⁴⁷⁾ haben in zum Teil sehr großen Versuchsreihen eine hemmende Wirkung der Injektion großer Dosen Prolan auf die Entwicklung implantierter Carcinome und Sarkome bei Mäusen beobachtet. [A. 68.]

⁴⁵⁾ *Haurowitz*, *Reiß* u. *Balint*, Hoppe Seylers Ztschr. physiol. Chem. 222, 44 [1933]. ⁴⁶⁾ *Reiß*, Klin. Wchschr. 12, 190 [1933].

⁴⁷⁾ *H. Zondek*, *B. Zondek* u. *Hartoch*, ebenda 11, 1785 [1932].

Zur Kolloidchemie des Leinöls, des Leinölstandöls und anderer öligler Bindemittel der Praxis.

(Eingeg. 23. Mai 1934.)

Von Dr. K. LINS.

Aus dem Laboratorium der „Sachtleben“ A.-G. für Bergbau und chemische Industrie, Lithopone-Werk Homberg/Ndrh. Vorgetragen in der Fachgruppe für Chemie der Körperfarben und Anstrichstoffe auf der 47. Hauptversammlung des V. d. Ch. zu Köln am 24. Mai 1934.

Reibt man ein basisches Pigment mit einem Bindemittel auf Standöl- bzw. auch Harzbasis ab, so wird man fast immer nach einigen Stunden oder Tagen, je nach Zusammensetzung des Bindemittels mehr oder weniger starke Nachdickungen feststellen können. Meist kann man solchen unliebsamen Störungen durch Verwendung von möglichst inaktiven Pigmenten und Bindemitteln mit niedriger Säurezahl aus dem Wege gehen. Der Anschauung, daß die Eindickungserscheinungen durch die Bildung kolloider solvatisierter Seifen hervorgerufen werden, steht die Tatsache entgegen, daß es z. B. in der Weißlackfabrikation vorkommen kann, daß ein Standöl mit der Säurezahl 5–10 starke Nachdickungen zeigt, während ein Standöl mit der Säurezahl 15–20 oft recht brauchbare Weißlacke gibt. Man nimmt neuerdings neben der Seifenbildung an, daß die kolloide Natur der Bindemittel dafür verantwortlich zu machen ist, und denkt dabei in Anlehnung an die Kolloidchemie der wäßrigen Lösungen an eine Koagulation, d. h. Ausflockung, der Pigmentphase zusammen mit der kolloiden Lackphase.

Zur Nachprüfung der Kolloidität der öliglen Bindemittel beschäftigten wir uns zunächst mit dem gewöhnlichen gebleichten Leinöl bzw. mit den hieraus durch Erhitzen hergestellten Standölen. An exakten Arbeiten über die gleiche Problemstellung lagen die Veröffentlichungen von *Schlick*¹⁾, *Vollmann*²⁾ und *Freundlich*³⁾ vor. *Schlick* und *Vollmann* erblicken in der Tatsache, daß bei Leinölgegenwart ein relativ langsames Absetzen von Farbkörpersuspensionen beobachtet wird, als dies erwartet werden müßte, einen Beweis für die Kolloid- bzw. Schutzkolloidnatur des Leinöls. Im Gegensatz dazu folgert *Freundlich* auf Grund von Depolarisations- bzw. Viskositätsmessungen und Untersuchungen mit dem *Spiere*-schen Dunkelfeldkondensor, daß man es im Leinöl selbst

und auch bei während 30 h bei 250° erhitzten Leinölen — also Standölen — nicht mit Kolloiden zu tun hat. Eine einwandfreie Klärung des Problems war also noch keineswegs vorhanden.

Ultrafiltrationsversuche.

Wir begaben uns bei unseren ersten Versuchen im Gegensatz zu den bisher angewandten Methoden auf das Gebiet der Ultrafiltration. Infolge der großen Viskosität der öliglen Bindemittel und der Notwendigkeit, feinstporige Ultrafilter zu benutzen, kam nur eine Hochdruckultrafiltration in Frage (Abb. 1). Zur Anwendung kamen als Filter die Sorten Ultracellafilter „mittel“ und die feinporigsten, die bis heute hergestellt werden, „fein“ und „eiweiß-kongorot-dicht geprüft“ der Vereinigung Göttinger Werke.

Bei den Ultrafiltrationsversuchen mit dem gewöhnlichen gebleichten Leinöl der Säurezahl 1 (50 g) blieb lediglich ein geringer Belag, wahrscheinlich von noch vorhandenen Schleimstoffen herrührend, auf den Filtern zurück. Es handelte sich also, wenn überhaupt, bei den weiter zu untersuchenden Bindemitteln um feinste Kolloide; deswegen wurden für die Folge nur noch die eiweißdicht geprüften Filter genommen. Bei der Ultrafiltration der hochviscosen Standöle mußte aber beim ersten Versuch festgestellt werden, daß ein Druck von 60 at noch nicht groß genug war, um ein Durchdringen

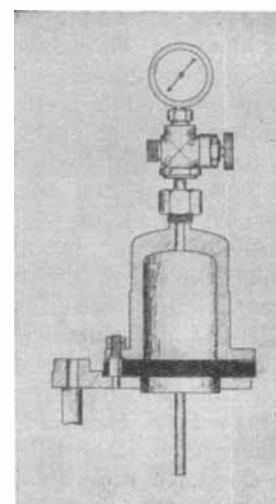


Abb. 1. Querschnitt durch die Hochdruckultrafiltrationsapparatur der Vereinigung Göttinger Werke.

¹⁾ Farben-Ztg. 27, 1511 [1922].

²⁾ Diese Ztschr. 38, 337 [1925]. ³⁾ Ebenda 44, 56 [1931].