

Die Hormone des Hypophysen-Vorderlappens*)

Von Dr. W. LUDWIG, I. G. Farbenindustrie A.-G., Frankfurt a. M.-Höchst

Eingeg. 26. Mai 1938

Die zuerst bekanntgewordenen Hormone sind zum großen Teil einfach zusammengesetzte chemische Körper von einer außerordentlichen Wirksamkeit, während die später bekanntgewordenen HVL-Hormone mehr oder minder hochmolekulare Eiweißkörper darstellen. Alle Hormone, das Adrenalin der Nebenniere, das Thyroxin der Schilddrüse ebenso wie die vielen im Laufe der letzten Jahre gefundenen Wirkstoffe der Keimdrüsen, der Hypophyse u. a. stehen derart in Wechselbeziehungen zueinander, daß nur ihr normales Zusammenspiel unsere körperliche und geistige volle Leistungsfähigkeit garantiert. Die Forschung der letzten Jahre bestätigt immer mehr die überragende Rolle der Hypophyse und besonders des HVL in diesem Zusammenspiel als zentrales, hormonales Regulationsorgan. Während die Wirkstoffe des Hypophysen-Hinterlappens in ihrer Gesamtheit schon seit Jahrzehnten in der Therapie verwendet werden und vor wenigen Jahren die Trennung der uteruswirksamen Komponente von der darntonisierenden Komponente sowohl in Amerika als auch in Deutschland unabhängig voneinander gelang, haben die Untersuchungen der Hormone des HVL erst in den letzten Jahren zu Erfolgen geführt.

Die Ursache hierfür lag wohl einerseits in der Mannigfaltigkeit der Funktionen des HVL, verbunden mit den Wechselbeziehungen zu den anderen endokrinen Organen, andererseits in der geringen Möglichkeit, mit den üblichen chemischen Methoden Trennungen der einzelnen äußerst labilen HVL-Wirkstoffe zu erreichen. Bereits 1931 wurden von dem Amerikaner Bugbee 11 verschiedene Wirkungen von HVL-Extrakten angegeben. Trotz außerordentlich zahlreicher gründlicher Untersuchungen in den letzten Jahren sind wir aber auch heute noch weit entfernt, angeben zu können, wieviel selbständige Wirkstoffe in der Hypophyse vorhanden sind und welches ihre primären und sekundären Wirkungen sind. Auf Grund der bis heute vorliegenden Untersuchungen ist die Selbständigkeit für die folgenden HVL-Wirkstoffe wahrscheinlich gemacht:

1. das gonadotrope Hormon, das weitgehend die männlichen und weiblichen Genitaldrüsen im jugendlichen wie im erwachsenen Körper reguliert;
2. das thyreotrope Hormon, das die Schilddrüse beeinflusst;
3. das kontrainsuläre Hormon, das die Pankreasdrüse steuert;
4. die adrenotrope Substanz, die die Nebennierenrinde beeinflusst;
5. das Wachstumshormon, welches das allgemeine Wachstum reguliert;
6. das Lactationshormon, das die Milchsekretion steigert.

Neben diesen als gesichert geltenden Wirkstoffen ist in der Literatur eine Reihe weiterer Substanzen beschrieben, deren Selbständigkeit jedoch noch nicht genügend gefestigt ist und über deren chemische Eigenschaften sehr wenig bekannt ist.

*) Vorgetragen in der Fachgruppe für Medizin. u. Pharmazeut. Chemie auf der 51. Hauptversammlung des VDCh in Bayreuth am 10. Juni 1938.

Hier ist zuerst das Fettstoffwechselhormon zu erwähnen. Weiter wurde eine Substanz angegeben, die eine Volumenzunahme der Epithelkörperchen verursacht und den Blutkalkspiegel kurzfristig erhöht. Vor kurzem wurde ein blutbildendes Hormon beschrieben, das in der Hypophyse vorkommt und direkt auf das Rückenmark wirken soll. Eine Reihe weiterer angeblicher HVL-Substanzen wird wohl nur als Wirkung oder Folge einer der schon genannten HVL-Wirkstoffe zu erklären sein.

Unter den Hormonen des HVL faßt man nach *Lautenschläger*¹⁾ diejenigen zu der Gruppe der adenotropen HVL-Hormone zusammen, deren unmittelbare Erfolgsorgane wieder Drüsen mit eigener innersekretorischer Leistung sind. Nach den chemischen Untersuchungen können die Wirkstoffe des HVL ebenfalls in gewisse Gruppen eingeteilt werden. Die erste Gruppe umfaßt diejenigen Stoffe, die wahrscheinlich fertig gebildet in der Hypophyse vorliegen, d. h. ohne tieferen chemischen Eingriff aus der Drüse zu extrahieren sind. Hierzu gehört das gonadotrope und das thyreotrope Hormon. Zur zweiten Gruppe zählen diejenigen Wirkstoffe, die erst durch einen gewissen Abbau des hochmolekularen Eiweißes, durch saure oder alkalische Hydrolyse oder Autolyse freigelegt werden müssen, um der Extraktion zugänglich zu sein, d. i. das Wachstumshormon und das Lactationshormon.

Wie die Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt haben, gehören die wichtigsten HVL-Substanzen ausschließlich zu den Eiweißkörpern oder sind höhermolekulare Abbauprodukte derselben. Durch die schon erwähnte außerordentliche Empfindlichkeit dieser Substanzen sind die anzuwendenden Arbeitsmethoden sehr begrenzt. So muß man allgemein zur Erhaltung der vollen Wirkung verschiedener Komponenten in einem p_H -Bereich zwischen 3 und 11 arbeiten, wobei daran erinnert sei, daß eine $\frac{1}{10}$ Salzsäure ein p_H von 1,04, eine $\frac{1}{10}$ Natronlauge ein p_H von 13,06 hat. Säuren und Basen über diese Grenzen hinaus zerstören Teile der wirksamen Substanzen. Die Temperatur muß möglichst niedrig, stets unter etwa 60° gehalten werden, längere Behandlung mit organischen Lösungsmitteln setzt oft die Löslichkeit der Wirkstoffe herab.

Das Hormon des HVL, dem wohl zurzeit die größte Bedeutung zukommt, ist das **gonadotrope Hormon**. Injiziert man infantilen, weiblichen Mäusen gonadotropes Hormon, so tritt sexuelle Fröhereife ein. In wenigen Tagen vergrößern sich die Ovarien, in den Ovarien bilden sich zahlreiche große Follikel, durch Blutung in den Follikeln Blutpunkte und corpora lutea. Die Schleimhaut der Scheide zeigt den Bau wie bei geschlechtsreifen brünstigen Tieren, wobei auf der Höhe der Brunst das sog. Schollenstadium auftritt. Infantile männliche Tiere werden ebenfalls vorzeitig geschlechtsreif, es zeigt sich vorzeitig Hodenwachstum, Spermiogenese und bei jungen Hähnchen vorzeitiges Kammwachstum.

Der gonadotrope Wirkstoff des HVL ist wohl von allen HVL-Wirkstoffen chemisch am intensivsten bearbeitet worden. Die Bearbeitung dieser Substanz geschah aber meist an der gonadotropen Substanz, die im Harn von Schwangeren und in Plazenten vorkommt. Erst jetzt hat

¹⁾ Medizin u. Chemie II, S. 19.

sich endgültig die Meinung in der Fachwelt durchgesetzt, daß gonadotrope Substanz aus Schwangerenharn und aus der Hypophyse nicht identisch sind. Während infantile Mäuse etwa 5–6mal mehr Hormon aus Harn zur Auslösung der sexuellen Fröhreife brauchen als die schwereren infantilen Ratten, trifft dies nicht für das Hormon aus der Hypophyse zu. Hier braucht die 5mal schwerere Ratte auch die 5mal größere Dosis zur Auslösung der sexuellen Fröhreife. An hypophysenlosen Tieren ist der gonadotrope Faktor aus Harn wenig wirksam, bei manchen Tierarten wirkungslos. An jungen Hähnen sind die Harnpräparate ebenfalls wirkungslos, während die Drüsenpräparate, wie oben erwähnt, Hodenwachstum und Spermiogenese zeigen. Die Existenz eines in der Hypophyse gefundenen sog. synergistischen Faktors, der an sich unwirksam sein, jedoch die Harnpräparate in ihrer Wirkung verstärken soll, wird heute wohl allgemein abgelehnt. Man nimmt jetzt an, daß dieser synergistische Faktor identisch ist mit dem aus der Drüse stammenden Follikelreifungsfaktor, daß also die gonadotrope wirksame Substanz aus Harn eine volle Wirkung erst durch Zusatz von HVL-Wirkstoffen erhält. In der chemischen Bearbeitung steht zur Anreicherung und Isolierung, ebenso wie bei allen übrigen HVL-Wirkstoffen, nur die biologische Prüfungsmethode zur Verfügung.

Als Einheiten der gonadotropen Wirkung dienen die Mäuseeinheit, die Ratteneinheit und die Reifungseinheit.

Eine Mäuseeinheit ist diejenige Menge Hormon, die an infantilen 8–10 g schweren Mäusen nach 6maliger Injektion innerhalb von 3 Tagen, 100 h nach Beginn der Injektion, Follikelreifung im Ovar und Oestrus im Vaginalabstrich erzeugt.

Eine Ratteneinheit ist $\frac{1}{10}$ derjenigen Menge, welche 3 Tage lang, täglich in 3 Teildosen verabreicht, bei einer Gruppe von wenigstens zehn 21 Tage alten Ratten von 30–40 g 72 h nach der ersten Injektion Ovarien im Gesamtgewicht von 40–50 mg hervorruft.

Eine Reifungseinheit ist diejenige Dosis, die bei täglicher Injektion — während 6 Tagen — am 4–6 Wochen alten nicht kastrierten Hähnen am 8. Tag eine Gewichtsvermehrung des Hodens gegenüber unbehandelten Kontrolltieren um 50 % hervorruft.

Eine große Zahl von Arbeiten ist durchgeführt worden, um festzustellen, ob in der gonadotropen Substanz des HVL eine einheitliche Substanz vorliegt. Eine endgültige Entscheidung ist auch heute noch nicht zu fällen; allerdings hat durch die Untersuchungen der letzten Jahre die Wahrscheinlichkeit zugenommen, daß mehrere wirksame Faktoren in dem gonadotropen Wirkstoff vorliegen, mindestens zwei: ein follikelstimulierender und ein luteinisierender Faktor.

Die ersten gonadotrop wirksamen Extrakte aus HVL wurden von verschiedenen amerikanischen Bearbeitern durch alkalische Extraktion gewonnen¹⁾, die man dadurch anreichern kann, daß sie mit organischen Lösungsmitteln, wie Alkohol oder Aceton, fraktioniert gefällt werden. Eiweißfällungen am isoelektrischen Punkt und anschließende Extraktion mit Pufferlösungen ergeben gewisse Reinigungseffekte. Wachstumshormon und gonadotropes Hormon werden durch die üblichen Fällungsmittel wie Phosphorwolframsäure, Flaviansäure stets gemeinsam gefällt. Eine Ausnahme bildet die Trichloressigsäure, die das gonadotrope Hormon nur unvollständig fällt, so daß aus dem Filtrat dieser Fällung reines gonadotropes Hormon frei von Wachstumshormon erhalten werden kann.

Andere Bearbeiter benutzen als Extraktionsmittel 50%ige wäßrige Pyridinlösung. Wenn sie diese 50%ige Pyridinlösung bei etwa 35° zur Trockne bringen, den Rückstand mit Wasser emulgieren, so soll das Follikelreifungshormon in der wäßrigen Lösung sein, im alkalischen Extrakt des Rückstandes dagegen das Luteinisierungshormon. Diese Methode zur Trennung der beiden Faktoren konnte von verschiedenen Seiten nicht bestätigt werden.

Es gelang jedoch, das follikelstimulierende von dem luteinisierenden Hormon des HVL durch fraktionierte Fällung

zu trennen²⁾, indem man HVL-Trockenpulver mit verd. Ammoniak extrahiert und die gereinigten Extrakte mit Alkohol bei einer Konzentration von 70 % fällt. Der Niederschlag enthält beide gonadotropen Hormone. Dieser Niederschlag wird alkalisch gelöst und nach Einstellung auf pH 5,0 auf 40 % Alkoholgehalt gebracht. Die entstandene Fällung ist das luteinisierende Hormon, während aus dem 40%igen alkoholischen Filtrat durch weiteren Zusatz auf 55 % Alkohol das follikelreifende Hormon ausfällt. Das so erhaltene Follikelreifungshormon zeigt an der Ratte Ovarien, die im Gewicht gesteigert sind, reife Follikel enthalten und blaß bleiben. Die Bildung von corpora lutea fehlt vollständig, selbst nach Injektion der 50–100fachen Minimaldosis. Die luteinisierende Substanz dagegen erzeugt normale luteinisierte Follikel.

Eine weitere Möglichkeit zur Trennung der follikelreifenden und luteinisierenden Substanz soll durch Fällung des luteinisierenden Hormons mit Pikrinsäure zu erreichen sein.

Die Anwendung von Aussalzmethode unter Veränderung des pH hat es ermöglicht, HVL-Extrakte in drei verschiedene Faktoren zu zerlegen³⁾. Man erhält eine das interstitielle Zellgewebe stimulierende Substanz, eine luteinisierende Substanz und eine follikelstimulierende Substanz. Die das interstitielle Zellgewebe stimulierende Substanz fällt bei 0,4 Sättigung mit Ammonsulfat bei pH 7,0 aus. Die luteinisierende Komponente steht in ihrer Löslichkeit zwischen den beiden anderen Komponenten und fällt bei 0,4–0,6 Sättigung bei pH 7,0 aus. Die follikelstimulierende Fraktion fällt bei 0,6–0,8 Sättigung nach Einstellen des pH auf etwa 5,0 aus.

Während die bisherigen Verfahren zu Beginn der Extraktion Säure oder Alkali benutzen, vermeiden wir bei unseren eigenen Untersuchungen in der ersten Phase saure oder alkalische Hydrolyse, um möglichst wenig Abbauprodukte in Lösung zu bringen. Wir entwässern frische Hypophysen mit steigenden Konzentrationen an organischen Lösungsmitteln, wodurch ein Stoff entfernt wird, der die gonadotrope Wirkung hemmt. Dies zeigt sich bei der biologischen Auswertung dadurch, daß kleine Dosen eine recht gute Wirkung zeigen, dagegen höhere Dosen keinen reinen Oestrus geben.

Dieser hemmende Stoff wurde auch kürzlich von amerikanischen Seite nachgewiesen⁴⁾. Diese Autoren bezeichnen diejenige Hemmung als 1 Einheit, die die Wirkung einer das Ovargewicht virgineller Tiere auf 40–50 mg steigenden Dosis von gonadotroper Substanz völlig hemmt. Eine solche Einheit wurde in etwa 6 mg frischem HVL gefunden. Die Ausbeute an gonadotroper Substanz nach Entfernung des Hemmstoffes kann dadurch auf das Vierfache gesteigert werden. Über die chemische Natur dieser Substanz ist bis jetzt nichts bekannt.

Die von diesem Hemmstoff befreiten Drüsen extrahieren wir mit physiologischer Kochsalzlösung bei niedriger Temperatur. Die gesamten gonadotropen wirksamen Stoffe gehen in Lösung, und man erhält einen Extrakt, der trotz seines hohen Gehalts an gonadotropem Hormon gewichtsmäßig weniger Festsubstanz enthält als die mit Alkali behandelten frischen Hypophysen. Außerdem haben wir den Vorteil, aus dem Rückstand der physiologischen Kochsalzextraktion durch Alkalibehandlung andere Wirkstoffe, die später besprochen werden, sofort frei von gonadotroper Substanz zu erhalten. Die gonadotrope Substanz wird dann weiter gereinigt durch Fällung mit Alkohol und ammoniakalische Extraktion des Niederschlages. Es ist wichtig, zu beachten, daß durch längeres Stehen des Niederschlages über Alkohol die Wasserlöslichkeit durch Denaturierung erheblich herabgesetzt wird. Nach Entfernung der niedermolekularen unwirksamen Bestandteile durch Dialyse ergibt sich eine Substanz, die in 1 mg etwa 5 Mäuseeinheiten enthält.

Während in dem Rohextrakt 5 Mäuseeinheiten etwa 1 Reifungseinheit entsprechen, verschiebt sich dieses Verhältnis in dem reinen Präparat auf 2 Mäuseeinheiten zu

¹⁾ Z. Wallen-Lawrence, J. Pharmacol. exp. Therapeutics 51, 263 [1934].

²⁾ Evans u. Mitarb., Univ. Calif. Publ. Anat. 1, 255.

³⁾ Evans u. Mitarb., Ber. ges. Physiol. exp. Pharmacol. 101, 444 [1937].

⁴⁾ Memoirs Univ. California 11 [1933].

einer Reifungseinheit, woraus zu folgern ist, daß auch hier 2 verschiedene Substanzen vorliegen. Diese Annahme wurde auch weiter sehr wahrscheinlich gemacht durch Versuche zur Fraktionierung der vorliegenden Substanz in der Elektrophoreseapparatur nach *Theorell*, über die Einzelheiten noch nicht angegeben werden können.

Da die Haltbarkeit der gonadotropen Substanz in wäßriger Lösung sehr begrenzt ist und außerdem die Benetzung und das Auflösen in Wasser der mit Alkohol-Äther getrockneten Präparate längere Zeit in Anspruch nimmt, was für die klinische Verwendung recht unangenehm ist, haben wir das in den Handel gebrachte Preloban z. I. nach einem besonderen Verfahren getrocknet. Danach erhält man eine Substanz von sehr großer Porosität, die man noch variieren kann. Die Substanz benetzt sich und löst sich in Wasser rasch auf.

Das **thyreotrope Hormon**, das die Atrophie der Schilddrüse an dem hypophysenlosen Tier aufhält, die Regeneration der Schilddrüse veranlaßt und die übrigen Ausfallserscheinungen, z. B. Sinken des Grundumsatzes, wieder aufhebt, wird an Meerschweinchen ausgewertet. Bei täglicher Injektion bestimmter Dosen an 200 g schweren Tieren vergrößert sich die Schilddrüse, und im mikroskopischen Schnitt dieser veränderten Schilddrüse sieht man charakteristische histologische Veränderungen, wie Vergrößerung der Epithelzellen, starke Hyperämie und Kolloidschwund. Als Definition der Einheit liegen verschiedene Vorschläge vor, ohne daß man sich bis jetzt auf eine Größe endgültig geeinigt hat.

Verschiedene Extraktions- und Reinigungsverfahren sind im Laufe der letzten Jahre bekanntgeworden, ohne daß man eines als bestes Verfahren bezeichnen kann. Eine Reihe von Widersprüchen muß noch geklärt werden. Saure, alkalische und neutrale Extraktionen wurden zur Gewinnung des wasserlöslichen Hormons von amerikanischen und deutschen Forschern durchgeführt. Nach Untersuchungen verschiedener deutscher Forscher⁶⁾ ist die Substanz hitzeempfindlich, an kolloidales Eisen leicht adsorbierbar. Die wirksame Substanz fällt beim Erhitzen mit Essigsäure nicht aus, dialysiert nicht durch Cellophan und Pergament. Man erhält aus 1 kg HVL vom Rind etwa 250 000 Einheiten in einem Reinheitsgrad bis zu 120 MsE per mg. Die Trennung von anderen Wirkstoffen des HVL, besonders dem gonadotropen Hormon, erreicht man durch Fällung mit Pikrinsäure.

Behandelt man Aceton-trockenpulver mit verd. Natronlauge und wäßrigem Pyridin, so erhält man wirksame Extrakte, die zur weiteren Reinigung mit Alkohol und Äther gefällt werden. Diese Substanz ist in getrocknetem Zustand verhältnismäßig stabil gegen Hitze, in wäßrigen Lösungen dagegen recht labil.

Eine andere Methode⁷⁾ behandelt Hypophysentrockenmaterial mit verd. Essigsäure. Die geklärten Extrakte werden kalt mit Sulfosalicylsäure enteiweißt, wobei 10% der thyreotropen Substanz in dem Niederschlag verlorengehen. Der Eiweißniederschlag wird verworfen und damit die Trennung von der Mehrzahl der anderen HVL-Wirkstoffe erreicht. Die saure Lösung wird mit Natriumwolframat geschüttelt, wobei die wirksame Substanz in den Niederschlag geht. Die Wolframsäure wird durch Fällung mit Bariumsalzen entfernt und die wirksame Substanz aus der Lösung mit Alkohol ausgefällt. Die wirksame Substanz ist ein weißes Pulver, das auf die Schilddrüse, in Dosen von 0,1 mg auf 2 Tage verteilt, wirkt und frei von gonadotroper Substanz ist. Die reine Substanz gibt trotz Enteiweißung im Endzustand in konzentrierter Lösung mit Sulfosalicylsäure eine Fällung.

Zur weiteren Aufklärung des Charakters der thyreotropen Substanz haben die Untersuchungen bis jetzt nicht geführt; sie lassen sich dahin zusammenfassen, daß wir es

nicht mit einem hochmolekularen Eiweiß zu tun haben, sondern wahrscheinlich mit einem Körper aus der Klasse der Albumosen. Auf Grund der chemischen Eigenschaften sind wir in der Lage, die wirksame Substanz verhältnismäßig leicht frei von hochmolekularen Stoffen zu erhalten.

Die 3. in der Tabelle angegebene Substanz des HVL ist die **diabetogene bzw. kontrainsuläre Substanz**. Amerikanische Untersuchungen zeigen an bestimmten Tieren, daß der nach der Entfernung der Bauchspeicheldrüse auftretende Diabetes durch anschließende Entfernung der Hypophyse gemildert oder sogar zum Verschwinden gebracht werden kann. Implantation der Hypophyse oder Injektion bestimmter HVL-Extrakte ruft bei solchen Tieren wieder Glykosurie hervor. Auch bei normalen Tieren ist es möglich, die Wirkung bestimmter HVL-Extrakte beliebig gegen Insulin auszuspielen, d. h. die Insulinwirkung durch diese HVL-Extrakte abzuschwächen oder zu verstärken. Aus diesen Beobachtungen wurde geschlossen, daß im HVL eine Substanz gebildet wird, die spezifisch auf den Kohlenhydratstoffwechsel eingestellt ist, der Insulinwirkung entgegen wirkt und die diabetogene Substanz genannt wurde. Auch bei der Aufarbeitung des Lactationshormons kommt man zu Extrakten, die ebenfalls die diabetogene Substanz enthalten.

Ähnliche Untersuchungen von deutscher Seite führten zu einer wirksamen Substanz, die als kontrainsuläres HVL-Hormon bezeichnet wurde. Auf Grund der Versuchsergebnisse ist es heute sehr wahrscheinlich, daß die diabetogene Substanz und die kontrainsuläre Substanz identisch sind.

Die chemischen Eigenschaften sind infolge der geringen Haltbarkeit der Substanz selbst bei Zimmertemperatur noch sehr wenig erforscht. Die Substanz ist ein Eiweißkörper, der wie üblich durch Salze ausfällbar ist, nicht ultrafiltrabel oder dialysabel ist und bei einer Temperatur über 60° die spezifische Wirkung rasch verliert. Selbst Einengen im Vakuum bei niedriger Temperatur zerstört die Wirkung. Die Substanz ist leicht in Wasser löslich und wird durch proteolytische Enzyme rasch zerstört. Das Verhalten der Substanz zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit dem noch zu besprechenden Wachstumshormon. Auf Grund verschiedener klinischer Tatsachen über den Kohlenhydratstoffwechsel bei Hypophysenerkrankungen ist es möglich, daß enge innere Beziehungen zwischen der kontrainsulären Substanz und dem Wachstumsfaktor bestehen.

Auch die Funktionen der Nebennieren werden, wie die Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt haben, durch Wirkstoffe des HVL beeinflusst. Hypophysenentfernung bewirkt bei Tieren außer der Atrophie der Keimdrüsen und der Schilddrüse auch eine starke Atrophie der Nebennierenrinde. Der **corticotrope Faktor**, auch adrenotroper oder interrenotroper Faktor genannt, hemmt die Atrophie der Nebenniere hypophysenloser Tiere und vergrößert am normalen Tier einzelne Rindenbezirke. Die Stärke dieses Wirkstoffes kann an der Gewichtszunahme der Nebenniere normaler Tiere ausgewertet werden.

Die adrenotrope Substanz scheint von allen HVL-Stoffen das kleinste Molekül zu besitzen. Die Substanz dialysiert durch Kollodiummembran und kann dadurch von allen bisher bekannten Wirkstoffen getrennt werden. Bei der Enteiweißung mit Sulfosalicylsäure bleibt die Substanz im Filtrat und kann hieraus mit Aceton gefällt werden. Die Substanz ist gegen Hitze ziemlich stabil. Wirksam ist die Substanz nur nach Injektion, oral gegeben zeigt sie keine Wirkung. Im Laufe des Reinigungsverfahrens zur Gewinnung des Wachstumshormons wird die Substanz im Filtrat einer Calciumphosphatfällung erhalten.

Auch ist die adrenotrope Substanz nach einem Verfahren zur Gewinnung des Lactationshormons zu gewinnen.

⁶⁾ Junkmann u. Schöller, Klin. Wschr. 11, 1176 [1932].

⁷⁾ Lambie u. Trikojus, Biochemical J. 31, 843 [1937].

Der saure, wäßrig-acetonische Extrakt von getrocknetem HVL wird durch Zusatz größerer Mengen Aceton gefällt. Wird der Niederschlag in schwachem Alkali gelöst und auf pH 6,5 eingestellt, so flockt die adrenotrope Substanz aus, während das Lactationshormon erst bei pH 5,0 ausfällt. Weitere zuverlässige chemische Eigenschaften sind von der adrenotropen Substanz bis jetzt nicht bekanntgeworden.

Das **Wachstumshormon** ist der in ausgedehnten Versuchen am frühesten untersuchte Wirkstoff des HVL und wurde zum erstenmal im Jahre 1921 hergestellt und jungen Ratten injiziert. Die damit behandelten Tiere zeigten im Verhältnis zu unbehandelten Kontrolltieren ein erhöhtes Wachstum. Diese Wachstumssteigerung ist nicht eine reine Gewichtszunahme, sondern es ist gleichzeitig ein vermehrtes Längenwachstum, besonders des Skelettes festzustellen, wobei auch die inneren Organe gleichmäßig vergrößert sind.

Es wurde gefunden, daß die wirksamsten Extrakte durch schwach alkalische Extraktion frischer Drüsen zu erhalten sind. Durch Neutralisation mit schwachen Säuren in der Kälte kann der unspezifische Eiweißanteil erheblich verringert werden. Durch fraktionierte Fällung mit Salzen ist das Wachstumshormon in der Euglobulinfraktion anzureichern. Nach einer großen Reihe von Untersuchungen gelang es, nach alkalischer Extraktion Präparate herzustellen, die frei von gonadotroper, thyreotroper und adrenotroper Substanz sind. Diese Extrakte werden mit frischem Calciumphosphat in Anwesenheit von Ammoniak gefällt. Hierbei wird nur das Wachstumshormon an das Phosphat adsorbiert, die anderen wirksamen Komponenten bleiben in Lösung. Aus dem Phosphatniederschlag wird das Wachstumshormon durch schwaches Alkali eluiert.

Holländische Forscher⁸⁾ brachten weitere Fortschritte. Sie gehen von einem mit Aceton entwässerten Trockenmaterial aus, extrahieren ebenfalls alkalisch, adsorbieren die wirksame Substanz an Kohle und eluieren sie mit Phenol. Aus 1500 mg frischen Drüsen erhält man danach 1 mg Wachstumshormon. Als eine Einheit definieren sie die kleinste Hormonmenge, die bei der hypophysenlosen Ratte bei täglich einmaliger und 7 Tage durchgeführter Injektion eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 1 g pro Tag herbeiführt. 25 γ Trockensubstanz entsprechen einer solchen Einheit. Auch diese Trockensubstanz ist so „stabil“, daß, wie die Autoren angeben, bei Aufbewahrung über Phosphorperoxyd die Wirkung mindestens drei Wochen erhalten bleibt. Nach dieser Methode sollen 40–80 Einheiten Wachstumshormon in einem HVL enthalten sein.

Trotz dieser letzten Angaben soll nicht unerwähnt bleiben, daß kompetente amerikanische Forscher die Selbständigkeit des Wachstumshormons vor kurzem noch in Frage stellen und glauben, daß die Wachstumswirkung durch das Zusammenwirken des thyreotropen und lactogenen Wirkstoffes zustande kommt.

Das **Lactationshormon** ist heute wohl der bestuntersuchte Wirkstoff des HVL. Diese Substanz steigert die Milchsekretion und unterhält sie, sofern die Brustdrüse durch die oestrogenen Hormone für die Sekretion vorbereitet ist. Die Auswertung geschieht im biologischen Test am Taubenkropf. Das Lactationshormon bewirkt eine starke Vergrößerung des Taubenkropfes in wenigen Tagen und Sekretion einer weißen käsigten Masse, der sog. Kropfmilch. Man wertet nach Taubeneinheiten aus. Je nach der Taubenart ist die Empfindlichkeit gegen das Lactationshormon verschieden; es treten Schwankungen von 1:10 hierbei auf.

Ursprünglich extrahieren amerikanische Bearbeiter die zerkleinerten HVL wäßrig alkalisch bei etwa pH 12, entfernen hierauf eine bei pH 8,0 unlösliche Eiweißfraktion, um das Lactationshormon am isoelektrischen Punkt des Eiweißes bei pH 5,0 zu fällen. Ein zweites Extraktionsverfahren arbeitet

mit saurem, 66%igem Aceton und entfernt einen großen Teil unwirksamer Ballaststoffe durch Steigerung des Acetongehaltes und Fällung des Extraktes bei pH 6,4. Das angeblich ergiebigste Verfahren zur Gewinnung des Lactationshormons soll die wäßrig-alkoholische Extraktion bei pH 9–10 sein⁹⁾. Nach Steigerung des Alkoholgehalts fällt man die Wirkstoffe bei pH 6 und benutzt die Unlöslichkeit des Lactationshormons bei pH 3–4 bei Anwesenheit von Sulfaten zur Abtrennung. Nach Auflösen des Lactationshormons in alkalisch-wäßrigem Alkohol wird die wirksame Substanz unter Zusatz von Natrium- oder Li-Chlorid bei pH 5,5–6 gefällt. Durch die letzte Umfällung wird eine 2–5mal größere Reinheit erreicht.

Alle Verfahren zur Gewinnung des Lactationshormons stimmen darin überein, daß eine saure oder alkalische Hydrolyse des HVL notwendig ist, um das Hormon aus dem nativen Eiweiß frei zu machen. Nach unseren eigenen Versuchen steht jedoch fest, daß die früher besprochene Entfernung des gonadotropen Hormons vor der Hydrolyse wesentliche Vorteile bietet. Die Hydrolyse selbst ist an Temperaturen zwischen 0 und 40° gebunden, wobei eine zu lange Zeit der Hydrolyse, sowohl im sauren als auch im alkalischen Bereich das Lactationshormon zerstört. Erst nach Entfernung gewisser bei der Hydrolyse entstehender unwirksamer Ballaststoffe zeigt das Lactationshormon eine gewisse Stabilität.

Vor kurzem wurde versucht, Aufschluß über die für die physiologische Wirkung des Lactationshormons verantwortliche chemische Gruppe zu erhalten¹⁰⁾. Nach verschiedenen Verfahren hergestellte wirksame Substanzen führen bei dem chemischen Abbau zu gleichen Ergebnissen. In dem abgebauten Eiweiß sind Tryptophan und Tyrosin vorhanden. In schwach essigsaurer Lösung geht die lactogene Wirkung langsam verloren, ebenso bei der Behandlung mit Benzoylchlorid, Formaldehyd und Nitritlösung. Essigsäureanhydrid hat keinen Einfluß. Der Stickstoffgehalt unreiner Präparate wird mit etwa 15%, reinerer Präparate mit 13,7% angegeben. Der Schwefelgehalt beträgt 1,5%, der Phosphorgehalt etwa 0,3%.

Vor wenigen Monaten veröffentlichten *White*¹¹⁾, *Catchpole* u. *Long*, daß sie aus dem Vorderlappen der Hypophyse ein kristallisiertes Eiweiß mit starker Lactationswirkung isoliert haben. Die Methode zur Kristallisation lehnt sich eng an die bekannte Methode an, die zur Kristallisation des Insulins geführt hat. Die Kristalle werden von den Autoren als zylindrische Stäbchen mit abgerundeten Kanten, wie sie für Proteinkristalle charakteristisch sind, beschrieben. Nach zweimaligem Umkristallisieren bleibt der biologische Wert konstant. Nach dem Taubenkropftest enthält 1 mg der Substanz etwa 10 Taubeneinheiten. Die Analysenwerte sind folgende:

51,11% C, 6,76% H, 14,38% N, 1,77% S, —% P.

Sollten sich diese Angaben endgültig bestätigen, so wäre damit das erste Hormon des HVL in kristalliner Form erhalten.

Zum Schluß der Zusammenstellung der heute als gesichert zu betrachtenden HVL-Wirkstoffe sei der Gehalt der verschiedenen wirksamen Substanzen im HVL angegeben, soweit eine Möglichkeit auf Grund der biologischen Testmethoden besteht:

	Gonadotrope Substanz	Thyreotrope Substanz	Lactogene Substanz	Wachstumshormon
1 g frische Rinderhypophyse enthält	{ 50 ME 10 RfE	{ etwa 100 MaE	{ 20 bis 40 TE	{ etwa 40 WaE

Wie sollen wir uns nun die große Zahl der wirksamen Substanzen in der Gehirndrüse vorstellen? Sind es ver-

⁹⁾ *Riddle* u. *Bates*, J. Pharmacol. exp. Therapeutics 55, 365 [1938].

¹⁰⁾ *McShan* u. *French*, J. biol. Chemistry 117, 111 [1937].

¹¹⁾ *Science*, New York, 80, 82 [1937].

⁸⁾ *Dingemans* u. *Freud*, Acta brevia neerland. Physiol., Pharmacol., Mikrobiol. 5, 39 [1935].

schiedene Substanzen, die dort zusammengedrängt fertig vorliegen, oder sind es uns noch unbekannte, u. U. fermentative Kräfte, die aus einer Muttersubstanz je nach den Anforderungen des Organismus gebildet und dem Körper zugeführt werden?

Vielleicht ist eine Erklärung dafür in den neueren biologischen Ansichten der Proteinchemie zu finden. Diese Forschungen haben ergeben, daß die natürlichen Proteine nicht einfach Polypeptidketten jeder beliebigen Länge sind, sondern daß ihre Struktur von einem allgemeinen stöchiometrischen Gesetz bestimmt ist. So wurde eine Reihe von Proteinen, u. a. Rinderhämoglobin, Eialbumin und Seidenfibroin, untersucht. Für Rinderhämoglobin wurde gefunden, daß das Molekül aus 576 Aminosäureresten besteht, von dieser Gesamtzahl sind 12 Argininreste, 32 Histidinreste, 36 Lysinreste usw. So geht aus den Untersuchungen hervor, daß die Struktur der Proteinmoleküle von zwei allgemeinen Grundsätzen bestimmt wird:

1. von der Verknüpfung der einzelnen Aminosäurereste durch die Peptidbildung;
2. von dem Wiederauftreten der einzelnen Aminosäurereste in charakteristischer periodischer Weise durch die ganze Polypeptidkette hindurch.

Die Peptidstruktur ist allen Proteinen gemeinsam, aber die verschiedenen natürlichen Proteine unterscheiden sich

in der Häufigkeit der einzelnen Aminosäurekonstituenten, die andererseits die physikalisch-chemischen und biologischen Eigenschaften bedingen.

Aus diesen Erkenntnissen dürfen wir vielleicht folgern, daß eine geringe Zahl hochmolekularer Grundsubstanzen in dem Hypophysen-Vorderlappen vorliegt. Aus diesen spaltet der Körper durch uns noch unbekannte Maßnahmen den jeweils notwendigen Wirkstoff von größerem oder kleinerem Molekulargewicht ab, und wir versuchen, die Spaltung bei unseren verschiedenen Extraktions- und Isolierungsverfahren mit den begrenzten Möglichkeiten der Autolyse, der Hydrolyse und des fermentativen Abbaus nachzuahmen, um Klarheit in die verwirrende Vielseitigkeit des Hypophysen-Vorderlappens zu bringen.

Die Schwierigkeiten auf dem Arbeitsgebiet der HVL-Wirkstoffe gehen auch schon daraus hervor, daß mitunter direkt Widersprüche in den einzelnen angegebenen Verfahren vorliegen, so daß der eine Bearbeiter im sauren Bereich Zerstörung eines Wirkstoffes feststellt, während andere Bearbeiter den gleichen Wirkstoff im sauren Bereich in guter Ausbeute erhalten. Diese Unterschiede zeigen, wie ausschlaggebend mitunter Vorreinigungen und Zwischenfällungen sind und wie die Entfernung unwirksamer Ballaststoffe das chemische Verhalten dieser hochempfindlichen, chemisch nahe verwandten Stoffe mitunter grundlegend ändert. [A. 46.]

VERSAMMLUNGSBERICHTE

Chemiedozententagung Mittel- und Ostdeutschland in Danzig, 1.—3. Juli 1938

Freitag, den 1. Juli.

Vorsitzender: Schwarz, Königsberg.

H. Haraldsen, Oslo-Danzig: „*Phasenverhältnisse und magnetische Eigenschaften in den Systemen Chrom/Schwefel, Chrom/Selen und Chrom/Tellur*“ (nach Versuchen von A. Neuber u. F. Mehmed).

Die in den Systemen Chrom/Schwefel, Chrom/Selen und Chrom/Tellur zwischen 50 und 60 Atom-% Chalkogen röntgenographisch nachgewiesenen drei Strukturen werden drei verschiedenen Phasen α , β und γ mit ausgedehnten Homogenitätsgebieten zugeschrieben. Die α - und γ -Phase besitzen hexagonale Struktur, die sich von der NiAs-Struktur ableitet. Die Struktur der β -Phase ist monoklin und als eine schwach deformierte hexagonale Struktur aufzufassen. Die nahe Verwandtschaft der drei Strukturen dürfte dadurch zu erklären sein, daß die Zahl der Chalkogenionen in der Elementarzelle sowohl innerhalb der Homogenitätsgebiete der Phasen wie bei dem Strukturwechsel unverändert bleibt; im Chromgitter dagegen bilden sich immer mehr Leerstellen, je chromärmer die Mischkristalle werden (Mischkristalle vom Subtraktionstyp). Die drei Phasen sind durch sehr schmale Zweiphasengebiete voneinander getrennt.

In magnetischer Hinsicht sind die drei Systeme sehr verschieden. Die Systeme Chrom/Schwefel und Chrom/Tellur zeichnen sich vor allem dadurch aus, daß der Ionenmagnetismus durch das Auftreten von Antiferromagnetismus und Ferromagnetismus weitgehend gestört wird. Man muß deshalb annehmen, daß keine reine Ionenbindung bei den Chromsulfiden und Chromtelluriden vorliegt, sondern daß auch noch Atombindungen zwischen den Chromionen zu berücksichtigen sind. Im System Chrom/Selen dagegen ist Ferromagnetismus überhaupt nicht vorhanden, und auch Antiferromagnetismus macht sich nur wenig bemerkbar. Vielmehr findet man eine weitgehende Annäherung an den Ionenmagnetismus. Vor allem muß erwähnt werden, daß das einfache Curiesche Gesetz in einem engen Konzentrationsgebiet (etwa 58—59 Atom-% Selen) genau erfüllt ist. Hierdurch

ist zum erstenmal Ionenmagnetismus und somit reine Ionenbindung bei den Chalkogeniden der Übergangselemente bei niedrigen Temperaturen nachgewiesen worden. Bezüglich des Ladungszustandes der Chromionen ergibt sich, daß sie im Gebiet der α -Phase zweiwertig, im Gebiet der γ -Phase dreiwertig sind. Die β -Mischkristalle dagegen enthalten sowohl zweiwertige als auch dreiwertige Chromionen; jedoch nimmt die Zahl der dreiwertigen Ionen mit abnehmender Chromkonzentration im Verhältnis zu der Zahl der zweiwertigen zu.

Für die Struktur und Stabilität der drei verschiedenen Phasen im Gebiet der Chromchalkogenide sind hauptsächlich Zahl und Ladung der Chrom- und Chalkogenionen maßgebend. Die magnetischen Eigenschaften dagegen sind nicht nur durch die Ionenladungen, sondern auch durch die Wechselwirkungen zwischen den Kationen (Antiferromagnetismus bzw. Ferromagnetismus) bestimmt. Sie bewirken, daß das magnetische Verhalten der drei Systeme trotz der Ähnlichkeit der Gitterstruktur- und Phasenverhältnisse so verschieden ist.

Aussprache: Klemm, Danzig: Die Tatsache, daß weder im System Cr/S noch im System Cr/Te Ionenmagnetismus vorhanden ist, wohl aber im System Cr/Se, ist außerordentlich merkwürdig. Man könnte daran denken, daß sowohl parallele als auch antiparallele Atombindungen vorhanden sind, deren Einflüsse sich gerade aufheben. — Kohlhaas, Berlin, fragt, welche Voraussetzungen Vortr. der Indizierung der monoklinen Struktur gewisser Phasen aus Debye-Scherrer-Interferenzen zugrunde gelegt hat. — Vortr.: Wenn die monokline Zelle so aufgestellt wird, daß ihre a-Achse mit der orthohexagonalen Achse, die b-Achse mit der a-Achse und die c-Achse mit der c-Achse der ursprünglichen hexagonalen Zelle zusammenfallen, ergibt sich eine gute Übereinstimmung zwischen dem gefundenen und berechneten $\sin^2\theta$ -Werten. Der Winkel β wird dadurch nur wenig von 90° verschieden. Ganz sicher ist selbstverständlich eine solche Indizierung wegen der vielen zugrunde liegenden Voraussetzungen nicht, sie erscheint jedoch als sehr wahrscheinlich. — Hückel, Breslau: Die Untersuchungen von Stoffsystemen, wie sie Vortr. beobachtet hat, sind auch vom geschichtlichen Standpunkt aus interessant. Sie zeigen, daß seinerzeit Berthollet nicht ganz unrecht hatte, als er — insbes. von der Beobachtung der Legierungen ausgehend — die Gültigkeit des Gesetzes der konstanten Proportionen in Abrede stellte.