

Nachweis eines androgenen Wirkstoffes im Hypophysenvorderlappen¹

Schon längere Zeit ist es bekannt, daß die männliche Gonade und die daraus hergestellten Lipoide, sowie gewisse reine androgene Wirkstoffe² die physiologische Tätigkeit des Hypophysenvorderlappens (H. V. L.) regulierend beeinflussen³. Man kann sich nun die Frage stellen, ob im H. V. L. normaler Tiere ein androgener Wirkstoff in nachweisbarer Menge enthalten ist.

Da die bisher aus Testes, Urin und Nebenniere isolierten und auch die künstlich hergestellten androgenen Wirkstoffe ausnahmslos der Steroid-Reihe angehören, nahmen wir arbeitshypothetisch an, daß auch ein im H. V. L. vielleicht vorhandener androgener Wirkstoff sich im Lipoid-Anteil befinden sollte. Zur Beantwortung der gestellten Frage mußten verhältnismäßig große Mengen der Lipoide aus H. V. L. verarbeitet werden, da die androgenen Wirkstoffe sogar in der männlichen Gonade, also im Gewebe, in dem sie bisher in höchster Konzentration gefunden worden sind, nur in sehr geringer Menge vorkommen. Als Ausgangsmaterial diente ein von den WILSON LABORATORIES, Chicago, U. S. A., hergestellter Acetonextrakt aus 267 kg H. V. L., welche von Rindern beider Geschlechter stammten.

Die Lipoide und besonders die Steroide aus H. V. L. sind in neuerer Zeit von R. E. MARKER und E. L. WITTECKER⁴ eingehender untersucht worden. Die amerikanischen Autoren haben den Acetonextrakt aus H. V. L. mit Alkalien verseift und im Unverseifbaren keine anderen Steroide als Cholesterin gefunden. Da durch die energische alkalische Verseifung empfindliche Verbindungen, wie zum Beispiel der einzige bisher aus Testes isolierte androgener Wirkstoff, das Testosteron, zerstört werden, wandten wir zur Anreicherung ein schonenderes Verfahren an, bei welchem die alkalische Verseifung vermieden wurde. Der Acetonextrakt (0,82 kg aus 267 kg H. V. L.) wurde zuerst von sauren Anteilen (Fettsäuren, Phenolen, Phosphatiden usw.) durch Waschen mit verdünnter Kalilauge befreit⁵. Aus den neutralen Anteilen (410 g) trennten wir durch Behandlung mit Petroläther und Umlösen aus Aceton den größten Teil (140 g) des Cholesterins ab. Der cholesterinarme Rückstand wurde in der von SCHOTT und Gen., Jena, hergestellten Apparatur für diskontinuierliche Molekular-Destillation bei 0,0001 mm destilliert und das bis 150° übergehende Destillat (58,5 g) mehrmals mit GIRARD Reagens *T*⁶ behandelt.

Im Gegensatz zu den nicht umgesetzten, unwirksamen Anteilen zeigten die mit GIRARD Reagens *T* abgetrennten Ketone (1,4 g, Anreicherung 1:200 000) eine bemerkenswerte androgene Wirksamkeit. In 5 mg des Konzentrates, welche etwa 1 kg H. V. L. entsprachen, waren 0,5 H. K. E.^{7,8} enthalten. Zum Vergleich sei erwähnt, daß die Stiertestes-Extrakte eine androgene Wirksamkeit von etwa 7–20 H. K. E. pro kg Drüse besitzen und daß der Stierharn weniger als 1 H. K. E.

¹ 9. Mitt. Untersuchungen über Organextrakte; 8. Mitt. vgl. Helv. chim. acta 28 im Druck.

² Als androgene Wirkstoffe bezeichnen wir solche Verbindungen, welche im Kapaunenkamm-Test wirksam sind.

³ Vgl. z. B. F. C. KOCH, Physiological Reviews 17, 203 (1937).

⁴ Journ. Am. Chem. Soc. 63, 1031 (1941).

⁵ Die Operation wurde zur Vermeidung der Oxydation der empfindlichen Inhaltsstoffe durch Luftsauerstoff in reinem Stickstoff durchgeführt.

⁶ A. GIRARD und G. SANDULESCO, Helv. chim. acta 19, 1095 (1936).

⁷ 1 internationale H. K. E. (Hahnenkamm-Einheit) = 100γ Androsteron = 15γ Testosteron.

⁸ Für die Durchführung der biologischen Auswertung, welche nach dem Verfahren von FUSSGÄNGER durchgeführt wurde, danken wir der biologischen Abteilung der CIBA A.G. in Basel.

pro Liter enthält. Da über die Konzentration der androgenen Wirkstoffe im Blut und in anderen Organen nur unzuverlässige Angaben vorliegen¹, kann man nicht entscheiden, ob sie im H. V. L. in größerer Menge als in anderen Körperteilen vorkommen.

Die Versuche zur Isolierung des androgenen Wirkstoffes aus H. V. L. in reinem Zustand führten bisher nicht zum Erfolg; es gelang jedoch eine Anreicherung.

Durch chromatographische Analyse an Aluminiumoxyd (Aktivität II—III²) wurden aus der Ketonfraktion ungefähr 3% an unwirksamem Δ^4 -Cholestenon-(3) abgetrennt: Smp. 80–81°, $[\alpha]_D^{25} = +81^\circ$. Absorptionsmaximum bei 244 m μ , $\log \epsilon = 4,25$ (in Alkohol), o-Tolylsemicarbazone Smp. 230–231°. Wie bei anderen ähnlichen Cholesterin-Umwandlungsprodukten³ kann man auch hier nicht entscheiden, ob es sich um ein genuines oder um ein aus Cholesterin während der Verarbeitung entstandenes Produkt handelt.

Die Anreicherung des androgenen Wirkstoffs gelang durch Behandlung der restlichen ölichen Ketone mit Digitonin und nochmalige chromatographische Analyse der mit Digitonin nicht gefällten Anteile an Aluminiumoxyd (Aktivität II–III). Nach der Abtrennung der mit Benzol eluierbaren Fraktion, befanden sich die Androgene in den mit Äther eluierten Anteilen. In 1,5 mg des auf diese Weise erhaltenen Konzentrates war 1 H. K. E. enthalten. Erfahrungsgemäß werden unter den angewandten Versuchsbedingungen solche Steroide mit Äther eluiert, die wenigstens eine Hydroxyl-Gruppe besitzen.

Der angereicherte androgener Wirkstoff war empfindlich gegenüber Alkalien. Durch 4stündiges Kochen mit 3,5 proz. methanolischer Kalilauge ging die Wirksamkeit des Konzentrates auf die Hälfte zurück⁴.

Zusammenfassend läßt sich der von uns im H. V. L. nachgewiesene androgener Wirkstoff als ein lipoidlösliches, mit Digitonin nicht fällbares Keton oder ein Gemisch von Ketonen charakterisieren. Diese Eigenschaften sowie das Verhalten beim Chromatographieren und die Empfindlichkeit gegenüber Alkalien weisen auf eine Ähnlichkeit oder sogar Identität mit dem androgenen Wirkstoff aus Testes, dem Testosteron, hin.

Die Versuche zur Isolierung des reinen Wirkstoffes werden fortgesetzt.

Aus dem Rückstand der Molekular-Destillation (132,5 g), welcher hauptsächlich aus Fetten und Cholesterin-estern bestand, wurden nach der Verseifung mit methanolischer Kalilauge 42,3 g unverseifbare Anteile erhalten. Daraus ließ sich auf dem früher beschriebenen Wege^{5,6} neben Cholesterin analysenreiner Chimylalkohol ($d\text{-}\alpha$ -Hexadecyl-glyceryl-äther) isolieren: Smp. 63,5–64°, $[\alpha]_D^{16} = +3,7^\circ (\pm 0,5^\circ)$ ($c = 2,0$ in Chloroform), (Diphenylurethan) Smp. 98–98,5°. Der H. V. L. ist das dritte Säugertierorgan, in welchem der Chimyl-alkohol gefunden wurde.

Der ROCKEFELLER FOUNDATION in New York und der CIBA A.G. in Basel danken wir für die Unterstützung.

V. PRELOG und H. C. BEYERMAN

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, den 24. April 1945.

¹ Vgl. darüber F. C. KOCH, Physiological Reviews 17, 165 (1937).

² H. BROCKMANN und H. SCHODDER, Ber. deutsch. chem. Gesell. 74, 73 (1941).

³ Vgl. darüber V. PRELOG, L. RUZICKA und P. STEIN, Helv. chim. acta 26, 2224 (1943).

⁴ Über die Empfindlichkeit der natürlichen androgenen Wirkstoffe gegenüber Alkalien vgl. T. F. GALLAGHER und F. C. KOCH, Journ. Biol. Chem. 104, 611 (1934).

⁵ V. PRELOG, L. RUZICKA und F. STEINMANN, Helv. chim. acta 27, 674 (1944).

⁶ V. PRELOG und H. C. BEYERMAN, Helv. chim. acta 28, 350 (1945).