

### 357. L. Mamoli und A. Vercellone: Biochemische Umwandlung von $\Delta^5$ -Androstendion in Isoandrostandiol und $\Delta^4$ -Testosteron. Weiterer Beitrag zur Genese der Keimdrüsenhormone.

[Aus d. Istituto Sieroterapico Milanese u. d. Istituto di Perfezionamento in Chimica Industriale „Giuliana Ronzoni“, Mailand.]

(Eingegangen am 4. September 1937.)

Durch die biochemische Umwandlung von  $\Delta^4$ -Androstendion (III) in  $\Delta^4$ -Testosteron (IV)<sup>1)</sup> mittels gärender Hefe haben wir einen Beitrag zur Genese der Keimdrüsenhormone geliefert und gleichzeitig eine neue günstige und vereinfachte Methode für die künstliche Herstellung des Testikelhormons gefunden; die Ausbeute dieser Reduktion beträgt über 80%.

Interessant ist, daß bei dieser biochemischen Hydrierung nur der an  $C_{17}$  befindliche Carbonylsauerstoff reduziert wird, trotzdem im Molekül des  $\Delta^4$ -Androstendions(III) an  $C_3$  noch ein anderer Carbonylsauerstoff vorhanden ist.

Zu dieser Annahme wurden wir veranlaßt durch den sich aus der Reduktion des Dehydro-androsterons (I) zu Androstendiol (II)<sup>2)</sup> mittels gärender Hefe ergebenden Beweis, daß die im Molekül der Keimdrüsenhormone befindlichen Carbonylsauerstoffe auf biochemischem Wege reduzierbar sind, und die Tatsache, daß es uns während der Vorversuche nicht gelungen war, den an  $C_3$  befindlichen Carbonylsauerstoff des Cholestanons zu reduzieren.

Um das Verhalten der an  $C_3$  dieser Stoffgruppen befindlichen Carbonylsauerstoffe bei biochemischer Reduktion zu beobachten und um unsere Versuche über die Keimdrüsenhormone weiterzuführen, haben wir das Androstendion (VII) mit gärender Hefe behandelt und dabei Isoandrostandiol (VIII)<sup>3)</sup> erhalten. Im Gegensatz zu dem bei der Reduktion des Cholestanons erzielten Resultat hat sich in diesem Falle die Reduktion des an  $C_3$  befindlichen Carbonylsauerstoffs ergeben.

Wir gelangten daher zu der Annahme, daß der Grund des Nichteintrittes der Reduktion des Carbonylsauerstoffs des  $\Delta^4$ -Androstendions (III) in dem Vorhandensein einer konjugierten Doppelbindung ( $\alpha,\beta$ -Stellung) im Molekül liege. Wir hielten es daher für wichtig, das Verhalten des  $\Delta^5$ -Androstendions (IX) (Doppelbindung in  $\beta,\gamma$ -Stellung) unter dem Einfluß von gärender Hefe zu beobachten, auch um unsere Versuche über die Genese der Keimdrüsenhormone weiterentwickeln zu können.

Falls sich bei der Reduktion des  $\Delta^5$ -Androstendions (IX) die alleinige Reduktion des Carbonylsauerstoffs in  $C_{17}$  ergeben hätte, hätten wir das  $\Delta^5$ -Androsten-ol-(17)-on-(3) (isomer mit  $\Delta^4$ -Testosteron) erhalten, welches bisher von Butenandt und Hanisch<sup>4)</sup> nur in Gestalt seines Acetates erhalten worden ist.

Wir ließen zu einer mit Hefe in Gärung versetzten Zuckerlösung das in Alkohol gelöste  $\Delta^5$ -Androstendion (IX) zutropfen. Aus dem Rückstand des ätherischen Extraktes ist es uns gelungen, als Hauptprodukt eine Substanz vom Schmp. 163—164° (unkorr.) mit der optischen Drehung  $[\alpha]_D^{25} + 4.3^\circ$  zu isolieren, welche wir als Isoandrostandiol (VIII) durch den Mischschmelz-

<sup>1)</sup> L. Mamoli u. A. Vercellone, B. **70**, 470 [1937], vorläufige Mitteil.

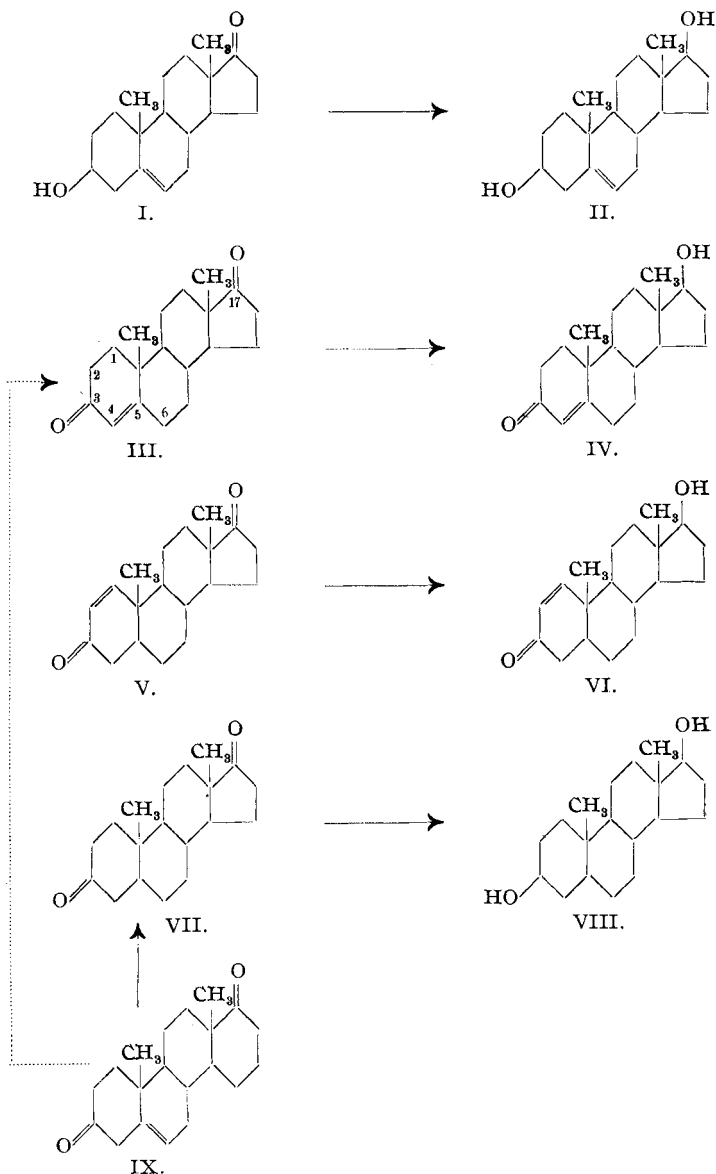
<sup>2)</sup> L. Mamoli u. A. Vercellone, Ztschr. physiol. Chem. **245**, 93 [1937].

<sup>3)</sup> A. Vercellone u. L. Mamoli, Ztschr. physiol. Chem. **248**, 277 [1937].

<sup>4)</sup> B. **69**, 2773 [1936].

punkt identifiziert haben. Auch die bezüglichlichen Diacetate ergaben keine Depression<sup>5)</sup>.

Ferner haben wir eine kleine Menge  $\Delta^4$ -Testosteron (IV) isoliert und ebenfalls durch den Mischschmelzpunkt sowohl des freien Oxyketons als auch des Acetylderivats identifiziert.



<sup>5)</sup> Wir danken Hrn. Prof. A. Butenandt für die Freundlichkeit, in seinem Institut (K.-W.-I., Berlin-Dahlem) die Mischschmelzpunkte von Isoandrosteriol und Isoandrosteriol-diacetat zu kontrollieren.

Wenn man vor allem das Verhalten des in  $C_3$  befindlichen Carbonylsauerstoffs bei der biochemischen Reduktion berücksichtigt, beweist die Tatsache, daß aus dem  $\Delta^5$ -Androstendion (IX) Isoandrostandiol (VIII) als Hauptprodukt und  $\Delta^4$ -Testosteron (IV) als Nebenprodukt erhalten wurde, die Richtigkeit unserer Annahme, daß der Nichteintritt der Reduktion des in  $C_3$  befindlichen Carbonylsauerstoffs in  $\Delta^4$ -Androstendion (III) dem Vorhandensein einer konjugierten Doppelbindung zuzuschreiben ist. Eine Bestätigung dafür, daß ungesättigte ( $\alpha,\beta$ -Stellung) Ketone in dieser Stoffgruppe nicht mittels gärender Hefe reduzierbar sind, lieferte uns entgegenkommenderweise eine Privatmitteilung von Hrn. Prof. A. Butenandt, in welcher er uns bekannt gab, daß er durch Reduktion von  $\Delta^1$ -Androstendion (V) mittels gärender Hefe das  $\Delta^1$ -Androsten-ol-(17)-on-(3) (VI) (ebenfalls isomer mit  $\Delta^4$ -Testosteron) erhalten hat. Das  $\Delta^1$ -Androsten-ol-(17)-on-(3) zeigt einen Schmp. von  $156^\circ$ , eine opt. Drehung von  $[\alpha]_D^{20}:-42.3^\circ$  (in Alkohol). Erwartungsgemäß zeigt das  $\Delta^1$ -Androsten-ol-(17)-on-(3) ein Absorptionsmaximum bei 230  $\mu$ .

Die neue und überraschende Tatsache bei der biochemischen Reduktion des  $\Delta^5$ -Androstendions (IX) ist jedoch die Absättigung der Doppelbindung. Wir nehmen an, daß die Hydrierung dieser Doppelbindung im  $\Delta^5$ -Androstendion der größeren Reaktionsfähigkeit der Doppelbindung, wegen ihrer durch die  $\beta,\gamma$ -Stellung der Doppelbindung zu dem Keton sich ergebenden besonderen Beweglichkeit (Verschiebbarkeit), zuzuschreiben ist. Es ist bekannt, daß die Doppelbindungen dieser letzten Verbindungen sich leicht in  $\alpha,\beta$ -Stellungen verschieben.

Es ist daher klar, daß bei der Reduktion des  $\Delta^5$ -Androstendions (IX) zuerst die Doppelbindung zu Androstandion (VII) hydriert wurde, und daß in der Folge der Carbonylsauerstoff reduziert wurde. Wenn zuerst die Reduktion des Carbonylsauerstoffs erfolgt wäre, wäre die Doppelbindung in der  $\beta,\gamma$ -stabilen Stellung geblieben, und wir wären zum Dehydroandrosteron (I) gelangt, welches, wie wir gezeigt haben, Androstendiol (II)<sup>2)</sup> liefert.

Die Hydrierung von Doppelbindungen auf biochemischem Wege ist schon von F. G. Fischer und Mitarbeitern<sup>6)</sup> durchgeführt worden; diese haben gezeigt, daß in Verbindungen, die sie biochemisch hydriert hatten, nur die in  $\alpha,\beta$ -Stellung zu Carbonylsauerstoff oder primären Alkoholgruppen befindlichen Doppelbindungen abgesättigt worden waren. Es ist interessant, daß in Substanzen der Keimdrüsenhormongruppen eine Doppelbindung in  $\alpha,\beta$ -Stellung nicht nur nicht hydriert wird, sondern daß diese sogar die Hydrierung des Carbonylsauerstoffs hemmt.

Neben dem Isoandrostandiol (VIII) haben wir bei der Reduktion des  $\Delta^5$ -Androstendions (IX) mittels gärender Hefe  $\Delta^4$ -Testosteron (IV) isoliert. Wir nehmen an, daß sich die Doppelbindung zum Teil zuerst in die  $\alpha,\beta$ -Stellung verschoben hat und das entstandene  $\Delta^4$ -Androstendion (III) zu  $\Delta^4$ -Testosteron reduziert wurde. Angesichts der Methodik, die wir absichtlich angewendet haben, glauben wir kaum an die Möglichkeit, daß das  $\Delta^4$ -Testosteron (IV) durch die Verschiebung der Doppelbindung in die  $\alpha,\beta$ -Stellung eines durch die Reduktion gebildeten  $\Delta^5$ -Androsten-ol-(17)-on-(3) entstanden ist.

<sup>6)</sup> F. G. Fischer u. O. Wiedemann, A. **513**, 260 [1934]; **520**, 52, 522, 1 [1936]; F. G. Fischer u. W. Robertson, A. **529**, 84 [1937]; F. G. Fischer u. H. Eigenbach, A. **529**, 87 [1937].

In der Keimdrüsenhormongruppe liegen verschieden physiologisch wirksame und unwirksame Verbindungen vor, welche sich im Aufbau der Moleküle nur durch den Sättigungsgrad unterscheiden. Wir sind der Ansicht, daß der Verlauf der biochemischen Hydrierung des  $\Delta^5$ -Androstendions (IX) mittels gärender Hefe bei der Genese der Keimdrüsenhormone von großer Bedeutung ist; vielleicht gibt es im Organismus ähnliche Vorgänge.

Was die Tatsache betrifft, daß es uns nicht möglich war, auf biochemischem Wege den in  $C_3$  befindlichen Carbonylsauerstoff des Cholestanons zu reduzieren, so nehmen wir in Verbindung mit unseren neuen Ergebnissen an, daß die Cholesterin- oder sonstige Seitenkette einen großen Einfluß auf den Verlauf der Hydrierung des in  $C_3$  befindlichen Carbonylsauerstoffs ausübt.

Über die biochemische Hydrierung in diesem Gebiet und über das Verhalten von verschiebbaren Doppelbindungen ( $\Delta^5$ -Cholestenon usw., Allocholesterin usw.) haben wir Arbeiten im Gange.

### Beschreibung der Versuche.

Zu 40 g Rohrzucker, 300 ccm Leitungswasser und 20 g Oberhefe haben wir, nach Eintritt lebhafter Gärung, unter häufigem Umschütteln 200 mg nach Butenandt und Schmidt-Thomé<sup>7)</sup> bereitetes, in 20 ccm Alkohol gelöstes  $\Delta^5$ -Androstendion hinzugefügt und das Ganze bei Zimmertemperatur gären lassen. Nach drei Tagen wird die Gärung unterbrochen, die Flüssigkeit von der Hefemasse dekantiert und beides mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte werden zuerst mit *n*-Natronlauge, dann mit verd. Salzsäure und Wasser gewaschen. Der Rückstand des ätherischen Extraktes wird aus Aceton und Petroläther krystallisiert. Das Rohkrystallinat liefert durch Umkrystallisieren aus Aceton und verd. Alkohol eine Substanz vom konstanten Schmp. 163—164° (unkorr.) und der opt. Drehung  $[\alpha]_D^{25}$ : +4.3°, welche wir durch den Mischschmelzpunkt mit Isoandrostandiol nach Butenandt, Tscherning und Hanisch<sup>8)</sup> identifiziert haben.

15 mg unserer Substanz werden mit der üblichen Methode acetyliert. Das Acetylderivat schmilzt bei 123—124° (unkorr.) und gibt keine Depression mit Isoandrostandiol-diacetat.

Aus der Mutterlauge des ersten Krystallinats aus Aceton und Petroläther krystallisierte bei mehrtägigem Stehenlassen eine kleine Menge einer Substanz, welche, aus verdünntem Aceton umkrystallisiert, sich als  $\Delta^4$ -Testosteron, Schmp. 151° (unkorr.), erwies. Sowohl die Substanz selbst als auch deren Acetylderivat vom Schmp. 137—138° (unkorr.) ergaben keine Depression mit  $\Delta^4$ -Testosteron (durch biochemische Reduktion von  $\Delta^4$ -Androstendion erhalten) und dessen Acetylderivat.

7) B. 69, 882 [1936].

8) B. 68, 2097 [1935].