

nach 15 Min. noch viel unverändertes Xylylen, daran erkennbar, daß auf Zusatz von Dichlorid die Farbe des Monochlorids auftritt.

Bei der Einwirkung von O_2 auf die Lösung von Xylylen in NaBr-haltigem SO_2 (ebenfalls im H-Rohr) erreichte die schnell auftretende braunrote Merichinon-Färbung nach etwa 20 Sek. ihr Maximum; nach weiteren 10 Sek. war die Oxydation (von 10 ccm gesättigter Xylylen-Lösung) beendet und die Farbe hellgelb.

Zeitlicher Verlauf der Reduktion von Tetraphenyl-*p*-xylylen-dichlorid in $ZnCl_2$ -haltiger Chloroform-Lösung mit Zink.

3.00 g Dichlorid wurden in 250 ccm absol. Chloroform, das mit wasserfreiem $ZnCl_2$ heiß gesättigt war, gelöst und nach Zusatz von 6 g Zinkwolle in N_2 -Atmosphäre im Sieden erhalten. Zu bestimmten Zeiten wurden je 25 ccm (entsprechend 0.30 g angewandten Dichlorids) mit einer Pipette entnommen und — in N_2 -Atmosphäre — mit einer Lösung von Chlor in reinem trockenem CCl_4 (enth. 0.0027 g Cl_2 in 1 ccm) titriert. Die vollständige Rückumwandlung in Dichlorid läßt sich ungefähr am Farbumschlag der blutroten Lösung nach Gelborange erkennen, genauer, wenn man mit einem Glasrohr einige Tropfen Lösung aus dem Titriergefäß entnimmt und auf ein mit absol. Alkohol getränktes Filtrierpapier bringt; wenn die Oxydation quantitativ ist, wird die Probe entfärbt.

Auf 0.30 g Dichlorid würden bei vollständiger Reduktion zum Xylylen 16.4 ccm (= 2 Äquiv.), bei Reduktion zum Monochlorid 8.2 ccm (= 1 Äquiv.) Chlor-Lösung verbraucht werden. Der gefundene Verbrauch betrug:

nach 15 Min.	8.5 ccm Cl_2 -Lösung = 1.04 Äquiv. Cl
nach 60 Min.	9.8 ccm Cl_2 -Lösung = 1.19 Äquiv. Cl
nach 150 Min.	9.7 ccm Cl_2 -Lösung = 1.18 Äquiv. Cl
nach 330 Min.	11.9 ccm Cl_2 -Lösung = 1.45 Äquiv. Cl
nach 420 Min.	12.5 ccm Cl_2 -Lösung = 1.52 Äquiv. Cl

Die Werte sind in der Kurve (Abbild. 1) zusammengefaßt.

263. Adolf Butenandt, Walter Friedrich und Lieselotte Poschmann: Über Lumi-oestron, II. Mitteil.*): Die Bestrahlung von Oestron mit monochromatischem Ultraviolett-Licht.

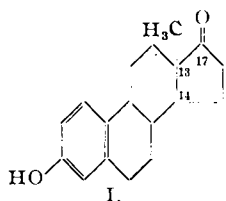
[Aus d. Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem, u. d. Institut für Strahlenforsch. d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 23. November 1942.)

Wie vor einiger Zeit berichtet wurde*), geht das Follikelhormon Oestron (I) unter der Einwirkung ultravioletten Lichtes in das gut krystallisierte Lumi-oestron über. Aus chemischen Umwandlungen des Lumi-oestrone wurde geschlossen, daß diesem Betrachtungsprodukt sehr wahrscheinlich die Konstitution eines 13-*epi*-Oestrone zukommt*). Somit ist durch die Ultraviolett-Bestrahlung im Oestron eine sterische Umlagerung an einem Kohlenstoffatom erfolgt, daß sich neben der — als chromophore Gruppe wirkenden — Carbonylgruppe befindet. Die früher durchgeführten Bestrahlungen des Oestrone erfolgten mit dem ungefilterten Licht einer Hanauer Quarzlampe und gestatteten somit

*) I. Mitteil.: A. Butenandt, A. Wolff u. P. Karlson, B. 74, 1308 [1941].

keine Aussage über die Wirksamkeit der einzelnen Wellenlängen und über die für die Umlagerung benötigte Energie.



Um die chemische Struktur des Lumi-oestrone und die Art seiner Entstehung aus dem Oestron unter dem Einfluß ultravioletter Strahlung weiter zu erhärten, schien es uns wichtig, diese photochemische Reaktion bei streng monochromatischer Strahlung zu untersuchen und unter Heranziehung quantitativer Energiemessung nach Möglichkeit die Quantenausbeute zu ermitteln.

Wir bestrahlten daher Oestron in Dioxan-Lösung unter quantitativer Bestimmung der eingestrahnten Energie mit ultravioletter Strahlung der Wellenlänge 313 m μ . In diesem Gebiet absorbiert mit größter Wahrscheinlichkeit nur die Ketogruppe des Oestrone, da das Absorptionsgebiet des phenolischen Kerns kurzwelliger liegt. Als Maß für die erfolgte Umwandlung des Oestrone konnte keine Lichtabsorptionsmessung dienen, da Oestron und Lumi-oestron das gleiche Absorptionsspektrum besitzen, das sich aus der Absorption des Phenolkerns und der 17-ständigen Ketogruppe zusammensetzt. Beide Stoffe unterscheiden sich jedoch stark in ihrer optischen Drehung, die bei Oestron $[\alpha]_D: +160^\circ$, bei Lumi-oestron $[\alpha]_D: -45.5^\circ$ beträgt. Da durch präparative Aufarbeitung der monochromatisch bestrahlten Lösungen bewiesen werden konnte, daß bei der Bestrahlung außer dem Lumi-oestron keine anderen Reaktionsprodukte entstehen, haben wir die Änderung der optischen Drehung während der Bestrahlung als Maß für die erfolgte Umwandlung von Oestron in Lumi-oestron gewählt.

Unter der Annahme, daß für die Überführung des Oestrone in das Lumi-oestron ein einziges Lichtquant benötigt wird, läßt sich die Strahlungsenergie für die Umwandlung von 1 Mol Oestron berechnen aus der Gleichung

$$E = h \cdot \nu \cdot N \text{ erg} \quad (1)$$

(E = Energie; ν = Frequenz in sek^{-1} ; h = Plancksche Konstante = 6.55×10^{-27} erg. sek.; N = Loschmidtsche Zahl = 6.06×10^{23}).

Die molekulare Umwandlungsenergie für die Wellenlänge $\lambda = 313 \text{ m}\mu$ ($\nu = 957.8 \times 10^{12} \text{ sek}^{-1}$) ergibt sich nach (1) zu: $E_{313} = 6.55 \times 10^{-27} \times 957.8 \times 10^{12} \times 6.06 \times 10^{23} = 3.802 \times 10^{12}$ erg.

Bei gegebener eingestrahelter Energie E ist die theoretisch zu erwartende Menge an Lumi-oestron Q :

$$Q = \frac{E}{E_{313}} \text{ in Mol bzw. } = \frac{E}{E_{313}} \cdot M \text{ in g (M = Mol.-Gew.)} \quad (2)$$

Die Konzentration C der zu bestrahlenden Oestron-Lösung wurde so gewählt, daß 99% des einfallenden Lichts von der Lösung absorbiert wurden. Aus der allgemeinen Absorptionsformel

$$\text{Extinktionskoeffizient } \epsilon = \frac{M}{C \cdot d} \log \frac{I_0}{I} \text{ cm}^{-1} \quad (3)$$

(M = Mol.-Gew., C = Konzentration in g/l, d = Schichtdicke in cm, I_0 = Intensität der einfallenden, I = Intensität der durchgehenden Strahlung).

ergibt sich die zu wählende Konzentration C durch Einsetzen des Extinktionskoeffizienten der Absorption des Oestrone für die Wellenlänge 313 m μ (ϵ = etwa 26), der bekannten Schichtdicke und des Wertes 2 für den Ausdruck $\log \frac{I_0}{I}$.

Die optische Drehung α der bestrahlten Lösung setzt sich additiv zusammen aus den Anteilen des noch vorhandenen Oestrone (Ö) und des gebildeten Lumi-oestrone (Lö):

$$\alpha = [\alpha]_D \text{ Ö} \cdot (C - C_{\text{Lö}}) + [\alpha]_D \text{ Lö} \cdot C_{\text{Lö}} \quad (4)$$

Aus dem gemessenen Wert für α erhält man $C_{\text{Lö exp.}}$, während die theoretisch zu erwartende Konzentration an Lumi-oestron durch

$$Q = \frac{C_{\text{Lö theoretisch}}}{v}$$

gegeben ist. Der Quotient $\frac{C_{\text{Lö exp.}}}{C_{\text{Lö theor.}}}$ ist ein Maß für die Quantenausbeute.

Bei allen mit monochromatischem Licht der Wellenlänge 313 m μ durchgeführten Bestrahlungen ergab sich die nach vorstehendem Ansatz ermittelte Quantenausbeute ≥ 0.7 , d. h. die Ausbeute an Lumi-oestron war größer als 70% der für einen Einquantenprozeß zu erwartenden.

Aus diesem Ergebnis können folgende Schlüsse gezogen werden:

- 1) Der photochemische Übergang des Oestrone in das Lumi-oestron ist ein Einquantenprozeß,
- 2) für die photochemische Umwandlung ist ausschließlich die 17-ständige Ketogruppe verantwortlich zu machen, da nur diese bei der in den Versuchen verwendeten Wellenlänge von 313 m μ absorbiert,
- 3) da eine photochemische Reaktion in einem Molekül stets an oder neben dem angeregten chromophoren System stattfindet, ist zu erwarten, daß die beim Übergang in Lumi-oestron eintretende Umlagerung an dem der 17-Ketogruppe benachbarten asymmetrischen Kohlenstoffatom 13 erfolgt.

Somit stellen die bei der Bestrahlung mit monochromatischem Licht erhobenen Befunde eine weitere Stütze für die von Butenandt, Wolff und Karlson*) auf chemischem Wege ermittelte Konstitution des Lumi-oestrone als 13-*epi*-Oestron dar.

Beschreibung der Versuche.

Wir verwendeten einen Quarzmonochromator des Instituts für Strahlenforschung mit drei großen Quarzprismen von 15 cm Kantenlänge. Die beiden Objektive des Monochromators bestanden aus Quarzsteinsalzachromaten von 12 cm Durchmesser und einem Öffnungsverhältnis 1:1.9. Als Lichtquelle diente ein Quecksilberhochdruckbrenner von 2000 Watt, dessen Lichtbogen vermittelt eines geeigneten Quarzkondensors auf dem Eintrittsspalt des Monochromators abgebildet war. Als Weite des Ein- und Austrittsspalts wurden 1.5 mm gewählt. Zur weiteren Reinigung der Strahlung war ein UG-II-Filter von 2 mm Dicke in den Strahlengang geschaltet. Die aus dem Austrittsspalt austretende divergente Strahlung wurde durch eine kreisförmige Blende von 1 qcm Größe, die in 5 cm Abstand vom Spalt aufgestellt war, begrenzt. Die Beleuchtungsstärke wurde mit einer großen Mollschen Thermosäule und

einem Multiflexgalvanometer gemessen. Zur Kontrolle der Konstanz der Strahlung diente nebenbei ein für Ultraviolett-Messung geeignetes geeichtes Selenphotoelement nebst Zeigergalvanometer.

Die Beleuchtungsstärke der aus der Blende austretenden Strahlung war ganz erheblich und betrug im Durchschnitt 14000—16000 erg/qcm sek. Die Lösung des Oestrone befand sich in einer Quarzcuvette von 5 cm Länge und 2.2 cm Durchmesser mit planparallelen Fenstern, die dicht hinter der Blendöffnung aufgestellt war. Die Messung der in die Cuvette eintretenden Strahlung wurde stündlich durchgeführt und die Gesamtenergie durch Integrieren ermittelt.

Beispiel I: Bestrahlt wurden 20 ccm einer Lösung, die 4.15 mg Oestron je ccm Dioxan enthielt, in einer 5 cm langen Cuvette 6 Stdn. Die in dieser Zeit eingestrahelte Energie betrug: $E = 3040 \times 10^5$ erg.

Berechnung der Konzentration für 99 % Absorption bei einer Schichtdicke $d = 5$ cm aus (3):

$$C = \frac{270 \times 2}{26 \times 5} = 4.15 \text{ mg/ccm.}$$

Die maximal zu erwartende Menge an Lumi-oestron ergibt sich nach (2) zu

$$Q = \frac{3040 \times 10^5}{3802 \times 10^5} \cdot 270 = 21.59 \times 10^{-3} \text{ g} = 21.59 \text{ mg.}$$

Die bestrahlte Lösung müßte demnach theoretisch 61.41 mg Oestron und 21.59 mg Lumi-oestron enthalten, also

$$C_{LÖ \text{ theor.}} = \frac{0.02159}{20} = 1.0795 \times 10^{-3} \text{ g/ccm.}$$

Die Drehung der bestrahlten Lösung war: $\alpha = 0.509^\circ$.

$C_{LÖ \text{ exp.}}$ ergibt sich aus (4):

$$\alpha = 0.509 = 160 (0.00415 - C_{LÖ \text{ exp.}}) - 45.5 \times C_{LÖ \text{ exp.}}$$

$$C_{LÖ \text{ exp.}} = \frac{0.155}{205.5} = 0.7543 \times 10^{-3} \text{ g/ccm} = 0.7543 \text{ mg/ccm.}$$

$$\text{Quantenausbeute: } \frac{0.7543}{1.079} = 0.698 \approx 0.7.$$

Ausbeute an Lumi-oestron: 70 % d. Theorie.

Unter der Voraussetzung, daß 5 % des eingestrahelten Lichtes zur Auslösung der Fluoreszenz und durch Reflexion an der Cuvettenoberfläche und an den Wänden verlorengehen, ist

$$E = 2888 \times 10^5 \text{ erg und } Q = 20.51 \text{ mg.}$$

$$C_{LÖ \text{ theor.}} = \frac{0.02051}{20} = 1.025 \times 10^{-3} \text{ g/ccm.}$$

$$\text{Quantenausbeute: } \frac{0.7543}{1.025} = 0.73.$$

Ausbeute an Lumi-oestron = 73 % d. Theorie.

Beispiel II: 20 ccm derselben Lösung wurden 5 Stdn. bestrahlt.

$$E = 2969 \times 10^5 \text{ erg; } Q = 21.08 \text{ mg.}$$

Die erhaltene Lösung sollte demnach theoretisch enthalten: 61.94 mg Oestron und 21.08 mg Lumi-oestron, also

$$C_{LÖ \text{ theor.}} = \frac{0.02108}{20} = 1.054 \times 10^{-3} \text{ g/ccm.}$$

Die Drehung der bestrahlten Lösung war: $\alpha: 0.512^\circ$.

$C_{LO} \text{ exp.}$ ergibt sich aus (4):

$$\alpha = 0.512 = 160 (0.00415 - C_{LO} \text{ exp.}) - 45.5 \times C_{LO} \text{ exp.}$$

$$C_{LO} \text{ exp.} = \frac{0.152}{205.5} = 0.7397 \times 10^{-3} \text{ g/ccm} = 0.7397 \text{ mg/ccm.}$$

$$\text{Quantenausbeute: } \frac{0.7397}{1.054} = 0.7.$$

Ausbeute an Lumi-oestron: 70 % d. Theorie.

Wenn 5 % der eingestrahnten Energie verlorengehen, ist

$$E = 2820.7 \times 10^6 \text{ und } Q = 20.03 \text{ mg.}$$

$$C_{LO} \text{ theor.} = \frac{20.03}{20} = 1.001 \times 10^{-3} \text{ g/ccm.}$$

$$\text{Quantenausbeute: } \frac{0.7397}{1.001} = 0.74.$$

Ausbeute an Lumi-oestron: 74 % d. Theorie.

Isolierung des Lumi-oestrone aus den Bestrahlungsansätzen.

Um eine zur Isolierung ausreichende Menge an Lumi-oestron anzureichern, wurden 6-mal je 20 ccm der Oestron-Lösung 1 Stde. mit UV-Licht, $\lambda = 313 \text{ m}\mu$, bestrahlt. Es wurde eine Lösung erhalten, die 7% Lumi-oestron enthielt.

In 120 ccm Dioxan waren 498 mg Substanz, davon 34.86 mg Lumi-oestron. Diese Lösung und die aus den oben angeführten Versuchen erhaltenen wurden vereinigt. Die Lösung enthielt dann etwa 664 mg Substanz, von denen ungefähr 65 mg Lumi-oestron waren. Die Isolierung des reinen Lumi-oestrone aus diesem Gemisch ist schwierig, da das Oestron in großem Überschuß vorhanden ist und sich die Eigenschaften der beiden Stoffe wenig unterscheiden. Die Ketogruppe des Lumi-oestrone ist jedoch sterisch gehindert. Auf Grund dieser Tatsache bildet es im Gegensatz zum Oestron keine Verbindung mit dem Ketonreagens T von Girard; diese Eigenschaft wurde zur Isolierung ausgenutzt.

Die Lösung wurde im Vak. zur Trockne gebracht, der hintergebliebene Rückstand mit 2 g Girard-Reagens T mit insgesamt 100 ccm absol. Alkohol und 10 ccm Eisessig 2 Stdn. gekocht. Durch Eingießen der Lösung in Eiswasser, das die zur Neutralisation von $\frac{9}{10}$ des Eisessigs erforderliche Menge Soda enthielt, und Ausäthern wurden die „Nichtketone“ isoliert, aus der wäßr. Lösung durch Ansäuern und Ausäthern die Ketone. Die Ketonfraktion wurde aus Alkohol krystallisiert, es wurden 386 mg Oestron $[\alpha]_D^{20}: +158^\circ$ und aus der Mutterlauge 2 weitere Fraktionen 109 mg, $[\alpha]_D^{20}: +156^\circ$ und 63 mg, $[\alpha]_D^{20}: +148^\circ$ erhalten. Die „Nichtketonfraktion“ wurde ebenfalls aus Alkohol krystallisiert. Erhalten wurden I) 26.3 mg Lumi-oestron, $[\alpha]_D^{20}: -27^\circ$ und aus der Mutterlauge II) weitere 7.4 mg. Fraktion I wurde 2-mal aus Alkohol umgelöst: 10.6 mg, $[\alpha]_D^{20}: -43.5^\circ$, nach weiterem 2-maligen Umkrystallisieren aus Alkohol lag der Schmelzpunkt und der Mischschmelzpunkt mit Lumi-oestron bei $262-264^\circ$, der Mischschmelzpunkt mit Oestron (Schmp. $257-258^\circ$) bei $222-226^\circ$.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ein Stipendium und der Schering A.-G., Berlin, für die Unterstützung unserer Arbeit.