

n. Reif

18

# Beiträge zur physiologischen Spezifität der Keimdrüsenhormone.

---

---

161

Von der  
Technischen Hochschule der Freien Stadt Danzig  
zur  
Erlangung der Würde eines Doktor-Ingenieurs  
genehmigte

## Dissertation

Vorgelegt von  
Dipl.-Ing. Kornelius Goergens  
aus Kapellen-Erft (Rhld.)

Referent: Prof. Dr. H. Albers  
Korreferent: Prof. Dr. E. Glimm

Tag der Promotion: 10. Sept. 1937.

1938

---

Herm. Prinz, Bückeburg



Beiträge zur physiologischen Spezifität  
der Keimdrüsenhormone.

Von der  
Technischen Hochschule der Freien Stadt Danzig  
zur  
Erlangung der Würde eines Doktor-Ingenieurs  
genehmigte Dissertation

Vorgelegt von  
Dipl.-Ing. Kornelius Goergens  
aus Kapellen-Erft (Rhld.)

Referent: Prof.Dr. H. Albers  
Korreferent: Prof.Dr. E. Glimm

Tag der Promotion: 10. Sept. 1937.

1938

---

Herm. Prinz, Bückeburg.



„Meiner lieben Mutter“



Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Professor Dr. A. Butenandt im Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule zu Danzig und im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem in der Zeit von Februar 1936 bis Juni 1937 ausgeführt. Herrn Professor Dr. Butenandt bin ich für stete Förderung und Unterstützung meiner Arbeit durch Anregungen und Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

Für die Durchführung der physiologischen Prüfungen, die in der biochemischen Abteilung der Technischen Hochschule Danzig und des Kaiser-Wilhelm-Institutes für Biochemie in Berlin-Dahlem vorgenommen wurden, danke ich Fräulein Ursula Meinerts.

Der Schering-Kahlbaum A.-G. Berlin, insbesondere Herrn Professor Dr. Schoeller danke ich für die Überlassung des Ausgangsmaterials.



In den letzten 10 Jahren haben sich unsere Kenntnisse auf dem Gebiete der Keimdrüsenhormone in rascher Folge erweitert.(1)

Die in den Keimdrüsen gebildeten Prägestoffe haben die funktionelle Aufgabe, die männlichen bzw. weiblichen Genitalorgane zu entwickeln, deren Funktion zu überwachen und die sekundären Geschlechtsmerkmale zur Ausbildung zu bringen; deshalb bezeichnet man sie auch als Sexualhormone.

Wir wissen heute, daß beim Säugetier und Menschen drei verschiedene Arten von Keimdrüsenhormonen produziert werden: ein im Testikel erzeugtes männliches Keimdrüsenhormon „Testikelhormon“ und zwei im Ovarium erzeugte weibliche Keimdrüsenhormone: „Follikelhormon“ und „Corpus luteum-Hormon“.

Bei ihrer Isolierung und chemischen Charakterisierung hat sich ergeben, daß nicht ein Stoff für die ihm zukommende physiologische Funktion als Sexualhormon verantwortlich ist: Die Natur läßt die entsprechende Funktion offenbar durch verschiedene, chemisch sich nahestehende Stoffe erfüllen. Man faßt daher Stoffe mit qualitativ gleichartigen physiologischen Wirkungen in spezifische Gruppen zusammen:

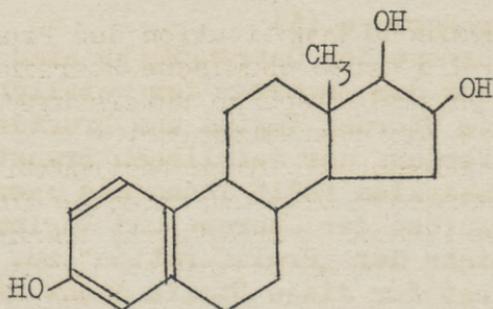
- 1) „Androsterongruppe“ für die Stoffe mit Testikelhormon-Wirkung.
- 2) „Östrongruppe“ für Stoffe mit Follikelhormon-Wirkung.

Das Corpus luteum-Hormon „Progesteron“ läßt sich keiner dieser spezifischen Gruppen zuerteilen.

Kurze Gruppencharakteristik.

- 1) Androsterongruppe.(2)

Die in der männlichen Keimdrüse gebildeten männlichen Sexualhormone haben die Aufgabe, die normale Ausbildung des männlichen Genitaltrakts



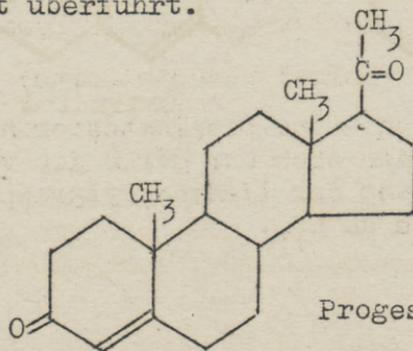
Östriol

Östradiol ist der im Allen-Doisy-Test wirksamste Vertreter der Östrongruppe.

#### Progesteron. (4)

Es gibt nur einen natürlich vorkommenden Stoff mit der physiologischen Wirkung des Corpus-luteum-Hormons, das Progesteron; die spezifischen Aufgaben dieses Hormons sind die Schwangerschafts-vorbereitung und -erhaltung. Während Östron den Aufbau der Uterus- und Vaginal-schleimhaut im Sinne der Proliferationsphase zu erfüllen hat, verläuft die anschließende Umbildung der proliferierten Uterusschleimhaut in eine Sekretionsschleimhaut unter dem Einfluß des im Corpus luteum gebildeten Hormons.

Diese charakteristische Wirkung dient als Unterlage für die Testreaktion am Kaninchen: Man bezeichnet als eine Kanincheneinheit (1 K E) die Substanzmenge, die die proliferierte Schleimhaut eines Kaninchenuterus in eine Sekretionsschleimhaut überführt.



Progesteron

Die chemische Konstitution des Progesterons zeigt auch die große chemische Übereinstimmung der drei, physiologisch so unterschiedlich wirkenden Typen der Sexualhormone.

Auf Grund der einzelnen Testreaktionen gelang es, die physiologisch erfaßten Keimdrüsenhormone aus natürlichem Material anzureichern und in kristallisierter Form zu isolieren. In mühevoller Kleinarbeit wurde die chemische Konstitution in allen Einzelheiten festgelegt und teilweise durch ihre künstliche Darstellung aus ähnlichen Sterinderivaten weitgehend gesichert.

Seitdem die chemische Konstitution der Keimdrüsenhormone feststeht, gehen ihre physiologisch-chemischen Beziehungen zueinander in steigendem Maße einer Klärung entgegen.

Wir wissen heute, daß die Wirksamkeit eines männlichen oder weiblichen Prägnanzstoffes durch geringe strukturelle Änderung des Moleküls verschiedenartig abgewandelt werden kann. Einige typische Fälle sollen hierfür Beispiel sein.

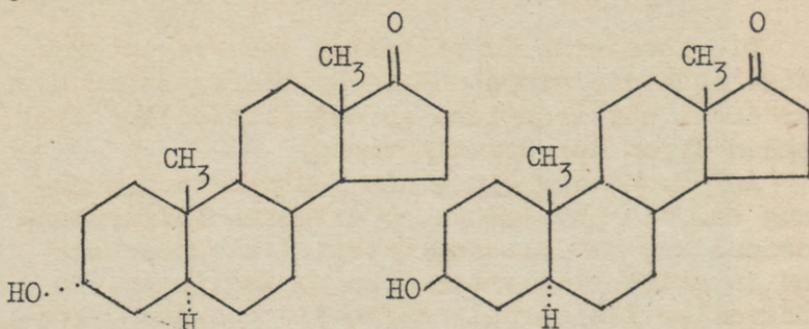
Änderung der physiologischen Aktivität bedingt:

1) durch sterische Umlagerungen

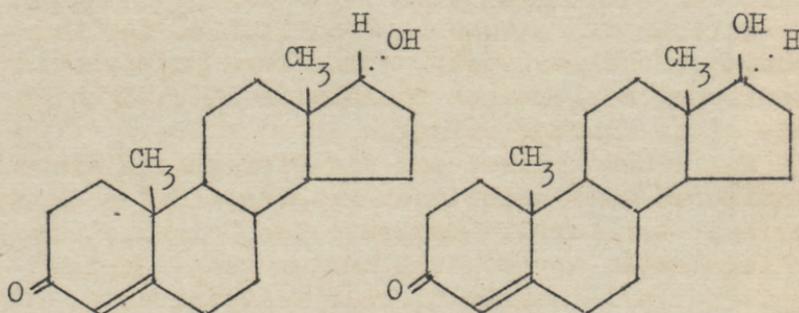
a) Androsteron ist ein gesättigtes Oxyketon der Zusammensetzung  $C_{19}H_{30}O_2$ . Die Hydroxylgruppe an  $C_3$  liegt in trans Stellung zur Methylgruppe an  $C_{10}$ . Legt man die  $C_3$  Hydroxylgruppe in die entsprechende cis Stellung, so erhält man Iso-androsteron (5). Androsteron ist im Hahnenkammtest 7 mal wirksamer als Isoandrosteron.

(Formel nächste Seite)

b) 17-trans- und cis-Testosteron (6) unterscheiden sich nur durch die verschiedene Stellung der 17-Hydroxylgruppe zur Methylgruppe an  $C_{13}$ .



Androsteron (natürlich) Isoandrosteron (künstlich)

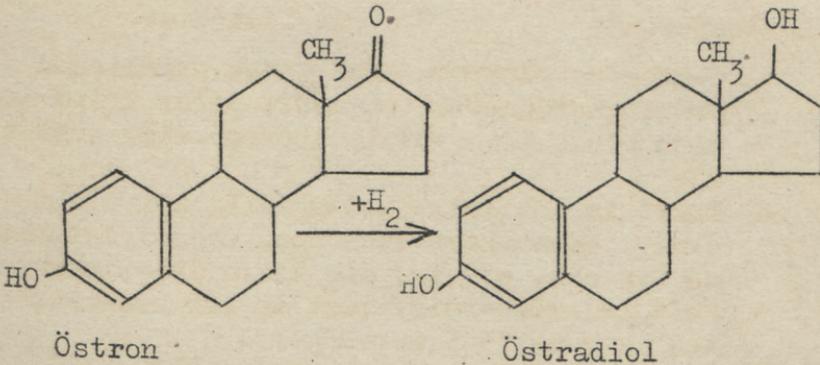
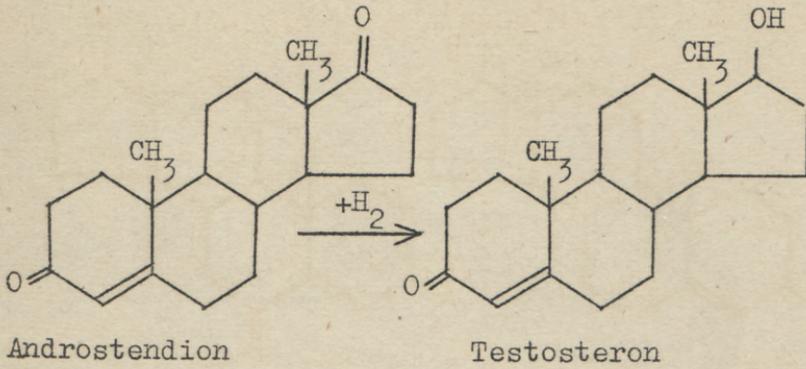


17-trans-Testosteron (natürlich) 17-cis-Testosteron (künstlich)

Nach Ruzicka entsprechen 13  $\gamma$  trans-Testosteron und 400  $\gamma$  cis-Testosteron einer internationalen Hahnenkamm-einheit.

- 2) durch Veränderung der funktionellen Gruppen:
- a) Androstendion (7) ist ein einfach ungesättigtes Diketon mit männlichen Prägungseigenschaften. Durch Reduktion der 17-Carbonylgruppe entsteht der im Hahnenkammtest physiologisch aktivste Vertreter der Androsterongruppe: Testosteron (8)  
(Formel nächste Seite)

- b) Dieselben Beobachtungen wurden beim Östron gemacht: Durch Reduktion der 17-Carbonylgruppe entsteht Östradiol (11)

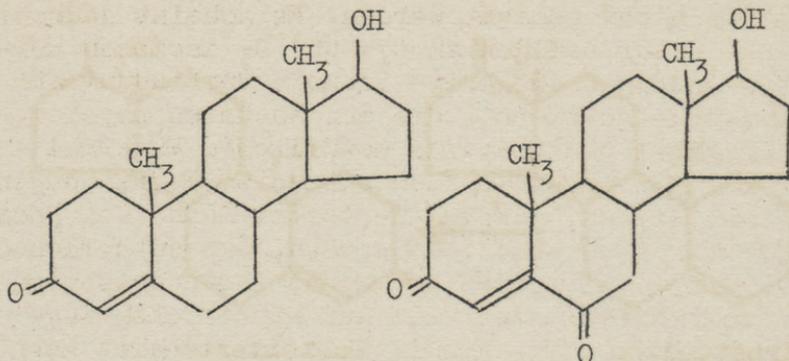


Im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus ist Östradiol 2 1/2 mal wirksamer als Östron.

Allgemein besteht die Erfahrung: 17-reduzierte Ketone zeigen bedeutend höhere Wirksamkeit, als die entsprechenden Ketone.

3) durch Einführung neuer funktioneller Gruppen.

a) Wird in das Testosteron-molekül eine weitere Ketogruppe in Konjugation zur Doppelbindung eingeführt, so resultiert 6-Oxo-Testosteron (9).

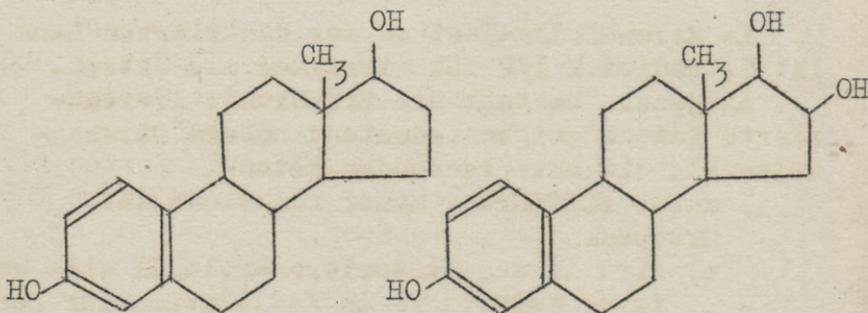


Testosteron

6-Oxo-Testosteron

6-Oxo-Testosteron zeigt keine männlichen Prägungseigenschaften mehr, dafür tritt eine eindeutige Follikelhormon-Wirksamkeit auf!

- b) Tritt in das Östradiol-Molekül dem 17-Hydroxyl benachbart eine neue Hydroxylgruppe an C<sub>16</sub> ein, so wird die Östradiol-Wirksamkeit im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus um 75 % verringert.



Östradiol

Östriol

Die gegebenen Beispiele zeigen, wie weitgehend die einzelnen Keimdrüsenhormone durch kleinere chemische Umwandlungen in ihrer physiologischen Wirksamkeit geändert werden.

In welchem Grade die Natur sich solcher Umwandlungen bedient, darüber können bestimmte

Aussagen nicht gemacht werden. Es scheint jedoch, daß die Natur bei den am  $C_{17}$  und  $C_3$  isomeren Hormonverbindungen diejenige isomere Verbindung für ihre Zwecke gebraucht, die den höchsten physiologischen Wert besitzt. Aus natürlichem Material sind nur die physiologisch aktivsten Verbindungen, wie Androsteron, „trans“-Testosteron und das „normale“ Östradiol isoliert worden. Die entsprechenden, weniger wirksamen Isomeren, Iso-androsteron und „cis“-Testosteron sind auf künstlichem Wege dargestellt worden. Ein Iso-östradiol harrt noch einer genauen Charakterisierung.

Im Rahmen der allgemeinen Untersuchungen über die Abhängigkeit der physiologischen Wirksamkeit von Stoffen der Östron- und Androsterongruppe von der chemischen Veränderung des Moleküls war es von Interesse,  $C_{16}$  substituierte, insbesondere Östriol ähnliche Wirkstoffe darzustellen und physiologisch auszuwerten.

Das Ziel dieser Arbeit war:

- I. Trennung eines durch Hydrierung von Östron dargestellten Gemisches isomerer Östradiole und ihre Charakterisierung und physiologische Auswertung im Allen-Doisy-Test.
- II. Versuche zur Darstellung des Östriols über  $C_{16}$  substituierte Derivate des Östrons und deren physiologische Prüfung.
- III. Darstellung von am  $C_{16}$ -substituierten Derivaten der Androsterongruppe und deren physiologische Auswertung.

#### I. Über isomere Östradiole: $\alpha$ - und $\beta$ -Östradiol.

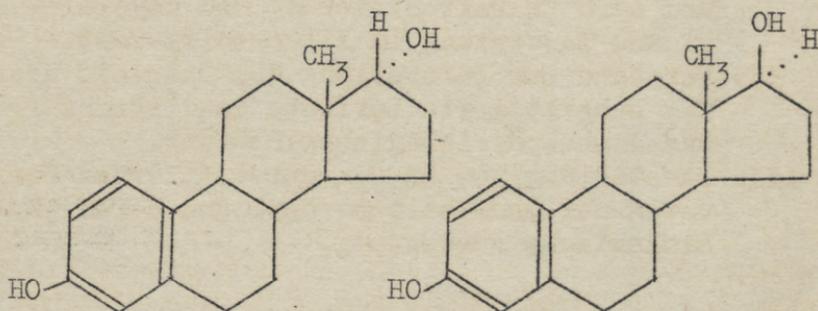
Im Jahre 1933 wurde von Schwenk und Hildebrandt gefunden, daß bei der katalytischen Hydrierung des Östrons ein „Dihydrofollikelhormon“ gebildet wird, für das sie einen Schmelzpunkt von  $170^\circ$  angaben (11). Es erwies sich, daß dies Reduktionsprodukt bedeutend wirksamer als Östron war. Die genannten Autoren gaben weiter an, daß sie aus

demselben Hydrierungsprodukt in geringer Menge ein isomeres „Dihydro-follikelhormon“ vom Schmelzpunkt  $198 - 204^{\circ}$  mit geringer physiologischer Wirksamkeit isolieren konnten. Von anderer Seite (12) wurden die Angaben von Schwenk und Hildebrandt über die Darstellung und physiologische Wirksamkeit des Stoffes  $170^{\circ}$  bestätigt, jedoch nicht die Existenz des isomeren Stoffes vom Schmelzpunkt  $204^{\circ}$ .

In der vorliegenden Arbeit werden die Angaben von Schwenk und Hildebrandt qualitativ bestätigt. Es wird die Existenz zweier isomerer „Dihydro-follikelhormone“ nachgewiesen und als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Östradiol genauer charakterisiert.

Interessanterweise konnte das hochwirksame Östradiol mit einem Schmelzpunkt  $175^{\circ}$  zwei Jahre nach seiner künstlichen Darstellung aus Follikelflüssigkeit (13) und Stutenharn (14) isoliert und somit in die Gruppe der natürlichen Vertreter der Östrongruppe eingereiht werden.

Charakterisierung der  $C_{17}$ -epimeren Östradiole.



$\alpha$ -Östradiol (natürlich)     $\beta$ -Östradiol (künstlich)

Zur Isolierung und Charakterisierung der beiden Östradiole stand ein kristallisiertes Hydrierungsprodukt, das durch katalytische Hydrierung des Östrons hergestellt worden war, zur Verfügung. Zur Trennung der in diesem Rohprodukt vorhandenen isomeren Östradiole wurde ausschließ-

lich die fraktionierte Kristallisation verwendet. Zunächst wurde versucht, das Gemisch durch Überführung in den 3-Mono-methyläther und anschließende Fraktionierung zu trennen, was aber nicht gelang. Auch die fraktionierte Sublimation im Hochvakuum führte nicht zum Ziel. Die Feststellung, daß das in dem Gemisch im Übergewicht vorhandene  $\alpha$ -Östradiol sich vom  $\beta$ -Östradiol durch viel geringere Löslichkeit in Äthanol unterschied, ermöglichte schließlich eine fraktionierte Trennung durch Kristallisation. Es wurden so die beiden isomeren Östradiole in reiner Form erhalten.

Das  $\alpha$ -Östradiol kristallisiert aus 96 % Äthanol in prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt  $175 - 76^\circ$  und hat einen optischen Drehwert  $[\alpha]_D^{18} = + 78^\circ$  (in Äthanol). Dies steht in Übereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren (12). An Derivaten wurde der 3-Mono-methyläther (Schmelzpunkt  $97 - 98^\circ$ ), das 3-Mono-benzoat (Schmelzpunkt  $192 - 193^\circ$ ), das 3,17-Di-benzoat (Schmelzpunkt  $168 - 169^\circ$ ) und das 3,17-Diazetat (Schmelzpunkt)  $125 - 126^\circ$  dargestellt.

Das  $\beta$ -Östradiol kristallisiert aus verdünntem Äthanol in derben büschelförmig zusammenwachsenden Nadeln. Der Schmelzpunkt wurde zu  $216 - 218^\circ$  und der optische Drehwert zu  $[\alpha]_D^{18} = + 56,7^\circ$  (in Äthanol) ermittelt. Schwenk und Hildebrandt geben für das  $\beta$ -Östradiol einen Schmelzpunkt von  $198 - 204^\circ$  an. Ihr Stoff scheint jedoch nicht einheitlich gewesen zu sein (siehe unter „Über die physiologische Wirksamkeit von ...“). Weitere Angaben liegen bisher in der Literatur nicht vor. - Um das  $\beta$ -Östradiol näher zu kennzeichnen und mit dem  $\alpha$ -Isomeren zu vergleichen, wurde von ihm der 3-Mono-methyläther (Schmelzpunkt  $109 - 110^\circ$ ), das 3-Mono-benzoat (Schmelzpunkt  $150 - 151^\circ$ ) und das 3,17-Diazetat (Schmelzpunkt  $139 - 140^\circ$ ) dargestellt.

#### Beweis der C<sub>17</sub>-Epimerie von $\alpha$ - und $\beta$ -Östradiol.

Zur völligen Sicherung der Konstitution des bisher noch nicht beschriebenen  $\beta$ -Östradiols wurde

sein 3-Mono-benzoat (Schmelzpunkt 150 - 151°) in der Kälte vorsichtig mit Chromsäure oxydiert. Aus dem Reaktionsprodukt wurde das bekannte Östron-benzoat (15) vom Schmelzpunkt 216 - 217,5° erhalten, das zum freien Östron vom Schmelzpunkt 254° verseift wurde. Das Benzoat und sein Verseifungsprodukt wurden mit reinem Östronbenzoat, bzw. Östron im Mischschmelzpunkt und in der optischen Drehung verglichen und kein Unterschied festgestellt. Zu weiteren Vergleichszwecken wurde noch das Östronoxim vom Schmelzpunkt 231° bereitet. Das  $\alpha$ -Östradiol verhält sich bei der Oxydation entsprechend.

Durch diese Reaktionsfolge kann es als völlig gesichert gelten, daß sich  $\alpha$ - und  $\beta$ -Östradiol nur durch die Konfiguration an C<sub>17</sub> von einander unterscheiden.

Über die physiologische Wirksamkeit (x)  
von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Östradiol.

Die beiden Östradiole wurden an der kastrierten weiblichen Maus im Allen-Doisy-Test nach völlig gleichartiger Methodik unter Verwendung einer einmaligen Injektion in öliger Lösung geprüft (16).

(x) Über die physiologische Wirksamkeit eines Kristallisates im Allen-Doisy-Test, ausgewertet in verschiedenen Laboratorien, darf man nur mit Vorbehalt Vergleiche anstellen. Die Testreaktion ist von einer Reihe von Faktoren, wie Art des Lösungsmittels, Tierrasse, Injektionstechnik u.s.w., in starkem Maße abhängig. Die Testwerte werden durch die verschiedenen Bedingungen weitgehend beeinflusst.

Unter Berücksichtigung dessen ist es verständlich, daß die Angaben verschiedener Autoren über die physiologische Wirksamkeit eines östrogenen Stoffes bisweilen so stark von einander abweichen.

Die Angaben der Literatur, daß  $\alpha$ -Östradiol der im Allen-Doisy-Test höchst wirksame Stoff ist, wurden bestätigt:  $\alpha$ -Östradiol besitzt eine Wirksamkeit von 20 000 000 M E pro Gramm, wogegen Östron bei gleicher Auswertungstechnik einen Wert von 8 000 000 M E pro Gramm erreicht.

Das 3-Mono-benzoat des  $\alpha$ -Östradiols hat seine besondere Bedeutung dadurch erhalten, daß es infolge seiner protrahierten Wirkung als „Progynon Oleosum B“ therapeutische Verwendung gefunden hat. Aus diesem Grunde würde seine physiologische Wirksamkeit unter denselben Bedingungen geprüft.

Mehrere Versuchsreihen zeigten, daß die Wirksamkeit des  $\alpha$ -Östradiol-3-mono-benzoates an der Maus starken Schwankungen unterworfen ist. Im Mittel enthielt es etwa 13 - 15 000 000 M E pro Gramm.

Bemerkenswerterweise zeigte sich, daß das  $\beta$ -Östradiol eine bedeutend geringere Wirksamkeit besitzt. Für dieses Isomere wurde ein Wirkungswert von 600 - 800 000 M E /g ermittelt; es ist also 10 mal geringer wirksam als Östron und etwa 25 mal geringer wirksam als das 17-epimere  $\alpha$ -Östradiol! Schwenk und Hildebrandt (11) geben einen Wert von 20 000 000 M E /g für das  $\beta$ -Isomere an; zweifelfrei enthielt ihre Substanz noch von dem hochwirksamen  $\alpha$ -Östradiol.

Der sehr große Unterschied in der physiologischen Wirksamkeit von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Östradiol ist ein weiteres interessantes Beispiel für die Abhängigkeit der hohen physiologischen Wirksamkeit natürlich vorkommender Stoffe von der Konfiguration.

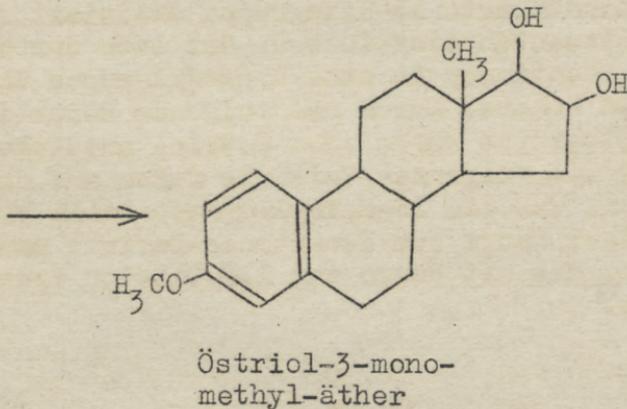
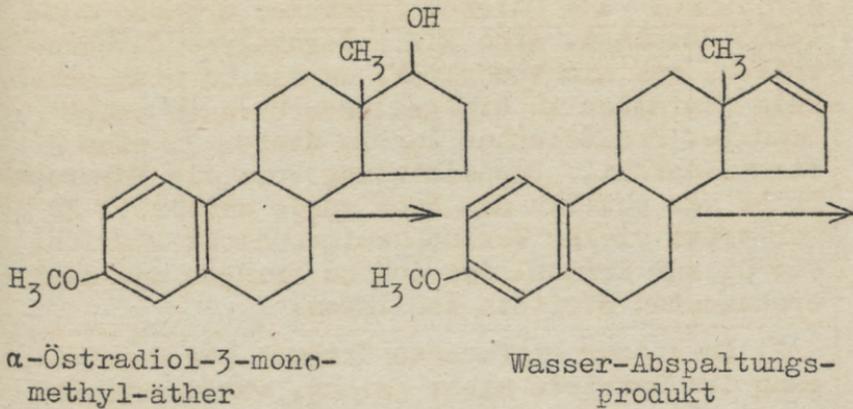
Die sehr ähnlichen, schon angedeuteten Verhältnisse bei den  $C_{17}$ -isomeren Testosteronen (6) werden in der folgenden Tabelle den  $C_{17}$ -isomeren Östradiolen in ihren physikalischen und physiologischen Verhältnissen gegenübergestellt:

C <sub>17</sub> -Isomere	isoliert aus:	Schmelzpunkt	$[\alpha]_D$	Physiologische Wirksamkeit
$\alpha$ -Östradiol	natürlichem Material	175-176°	+ 78°	1 ME=0,05 $\gamma$
$\beta$ -Östradiol	künstlichem Material	216-218°	+ 57°	1 ME=1,25 $\gamma$
trans-Testosteron	natürlichem Material	154,5-155,5°	+109°	1 HE=13 $\gamma$
cis-Testosteron	künstlichem Material	220-221°	+ 71,5°	1 HE=400 $\gamma$

Der Vergleich läßt es gerechtfertigt erscheinen, dem Östradiol dieselbe Konfiguration zuzusprechen, wie dem natürlich vorkommenden Testosteron, dem von Ruzicka eine trans-Stellung der Hydroxylgruppe am C<sub>17</sub> im Vergleich zur Methylgruppe am C<sub>13</sub> zuerteilt worden ist.

II. Versuche zur Darstellung des Östriols über C<sub>16</sub> substituierte Derivate des Östrons und deren physiologische Prüfung.

1) Der einfachste Weg zu Östriol aus Östradiol zu gelangen, schien der folgende zu sein:

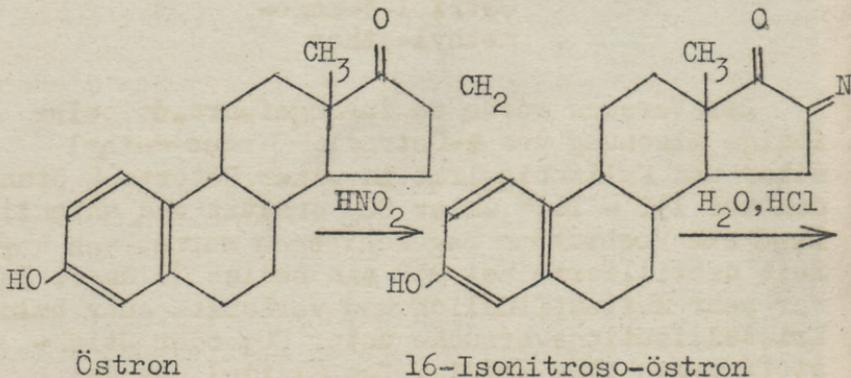


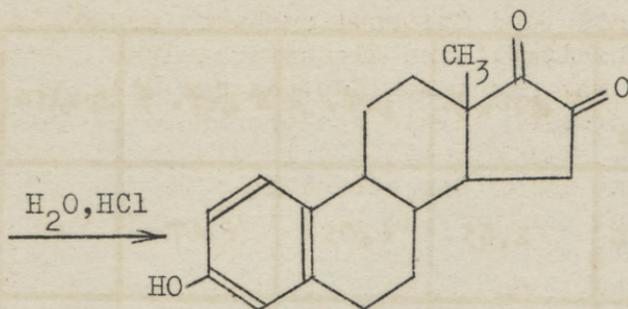
Der Versuch wurde so durchgeführt, daß eine innige Mischung von  $\alpha$ -Östradiol-3-mono-methyl-äther und Kaliumbisulfat in einer Retorte 2 Stunden auf  $150 - 160^\circ$  unter  $\text{CO}_2$  erhitzt und anschließend ans Hochvakuum angeschlossen wurde. Nach kurzer Zeit destillierte bei  $95^\circ$  ein helles Öl über. Es war sehr luftempfindlich und verharzte sehr bald. Kristallisationsversuche unter  $\text{CO}_2$  oder Stickstoff waren ohne Erfolg. Das Öl fiel aus den einzelnen Lösungsmitteln in der Kälte wieder aus. Unter anderen Bedingungen, wie Änderung der Reaktions-temperatur und -zeit wurde dasselbe empfindliche Öl erhalten. Umsetzungen mit anderen wasserentziehenden Mitteln (Phosphor-

oxychlorid und Chlorsulfonsäure) ergaben dasselbe Resultat. Eine Elementaranalyse durchzuführen, war nicht möglich, da das Öl sich schon beim Einfüllen in ein Analysenröhrchen stark bräunte. Zweifelsohne lag in diesem Öl eine reaktionsfähige Doppelbindung vor: die Bayerische Probe war positiv und Brom wurde entfärbt. Es war trotz vieler Versuchsreihen nicht möglich, das Öl zur Kristallisation zu bringen und denn erwünschten Stoff zu isolieren.

2) Da dieser einfachste Versuch zur Darstellung des Östriols nicht gelang, wurde versucht an der 16-Methylengruppe des Östrons, die durch die benachbarte 17-Ketogruppe aktiviert ist, eine Substituenten einzuführen, der sich durch weitere Reaktionen in eine Hydroxylgruppe überführen lassen konnte. Durch nachfolgende Reduktion der 17-Ketogruppe würde dann Östriol entstehen.

a) Die folgenden Versuche fußen auf dem Gedanken, daß die 16-Methylengruppe sich mit salpetriger Säure zum Isonitroso-Derivat umsetzen würde, die mit Säure zum 1,2-Diketon hydrolysiert würde.





16-Oxo-östron

Um den skizzierten Reaktionsweg experimentell durchzuführen, wurde zunächst Östron in absolutem Äther mit Iso-amylnitrit und Natriumäthylat zur Umsetzung gebracht. Die ätherische Lösung wurde aufgearbeitet, und der gelblich rote Rückstand in wenig Äthanol umgelöst. Aus der alkoholischen Lösung kristallisierte ein Stoff in gelben Nadeln, der nach mehrmaligem Umkristallisieren einen scharfen Schmelzpunkt von 177 - 178° zeigte.

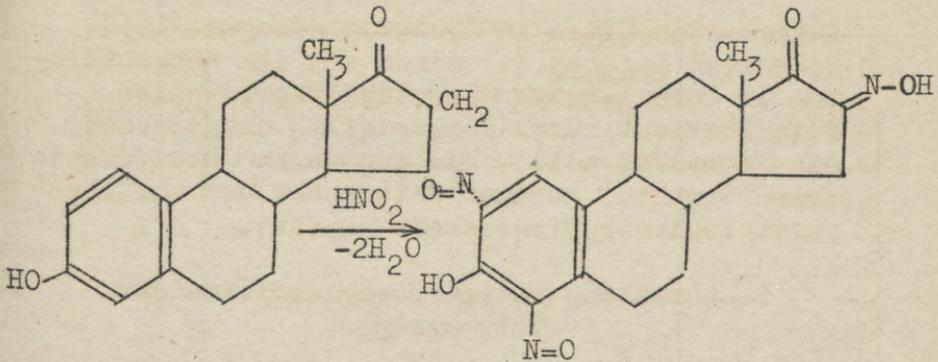
In einem weiteren Versuch wurde Östron in essigsaurer Lösung mit Natriumnitrit in der Kälte umgesetzt. Die Essigsäure wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand unter denselben Bedingungen wie oben gereinigt. Aus Äthanol wurde dasselbe Kristallinat vom Schmelzpunkt 177 - 178° in hellgelben Nadeln gewonnen.

Läßt man auf Östron in ätherischer Lösung N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in der Kälte einwirken, so erhält man in bester Ausbeute denselben Stoff vom scharfen Schmelzpunkt 177 - 178°.

Die unter den verschiedenen Bedingungen dargestellten Kristallinate gaben untereinander bei der Mischprobe keine Depression; die Analysen lieferten die gleichen Resultate: Die beschriebenen Stoffe sind unter sich gleich. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die erhaltenen Analysenwerte:

Präparat, darge- stellt aus	C gef. %	H gef. %	N gef. %	Spalte
Östron + $\text{NaNO}_2$ in Eisessig	62,63	6,01	6,67	a
Östron + $\text{N}_2\text{O}_3$ in Äther	62,61	5,97	6,91	b
	C ber. %	H ber. %	N ber. %	
berechnete Werte für 16-Iso- nitroso- östron	72,20	7,07	4,68	<u>c</u>
berechnete Werte für 4-Nitro- 16-nitroso- östron	65,82	6,10	8,48	<u>d</u>

In der Tabelle sind in Spalte a und b die für die beiden Kristallisate gefundenen Werte wiedergegeben; sie zeigen eine gute Übereinstimmung untereinander. Die Werte von a und b stimmen jedoch nicht mit den für das gesuchte Isonitroso-östron berechneten Werten überein. Der gefundene höhere Stickstoffgehalt der dargestellten Präparate läßt vermuten, daß in das Östron-molekül ein zweites Stickstoffatom aufgenommen worden ist. Man könnte dies durch folgende Formulierung deuten:



Östron

2 oder 4-Nitroso-  
isonitroso-östron

Für dies 2- oder 4-Nitroso-16-isonitroso-östron sind die berechneten Werte in Spalte d eingetragen. Der Vergleich der Werte d mit denen von a und b zeigt, daß ein solcher Stoff ebenfalls nicht vorliegen kann. Interessanterweise reagiert Östron-methyläther mit salpetriger Säure nicht; es wird Ausgangsmaterial zurückgewonnen. Dieser Befund deutet darauf hin, daß die 16-Methylengruppe vielleicht garnicht reagiert hat. Es scheint demnach, daß bei der Nitrosierung nur der aromatische Ring angegriffen wird, da die Reaktion mit salpetriger Säure nur bei freier Phenolgruppe eintritt. Um zu entscheiden, ob etwa die phenolische Hydroxylgruppe bei der Reaktion verestert oder nur der aromatische Ring substituiert wird, wurde der Stoff 177 - 178° mit Essigsäureanhydrid behandelt. Aus dem Reaktionsprodukt ließ sich ein Acetat nicht isolieren; es wurde Ausgangsmaterial wiedergefunden. - Dieser Befund deutet darauf hin, daß sich bei der Nitrosierung Ester der salpetrigen Säure gebildet haben. Der Stoff wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht weiter untersucht.

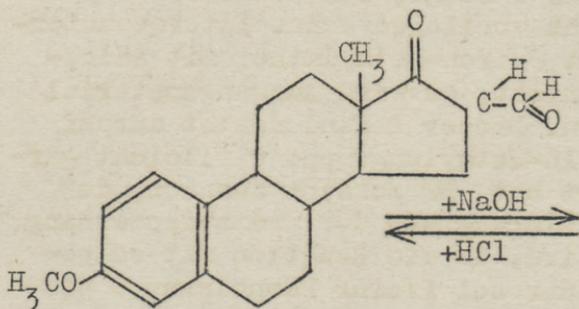
b) Nachdem die beiden vorher beschriebenen Wege nicht zum Ziel geführt hatten, wurde eine

Esterkondensation in Erwägung gezogen. 1936 beschrieb Bardhan (x) einen von ihm dargestellten 16-Formyl-östron-3-methyläther. - Dies Formylderivat wurde dargestellt, desgleichen ein Formylöstradiol. Sie wurden in ihrer chemischen Struktur genauer untersucht und auf ihre physiologische Wirksamkeit geprüft.

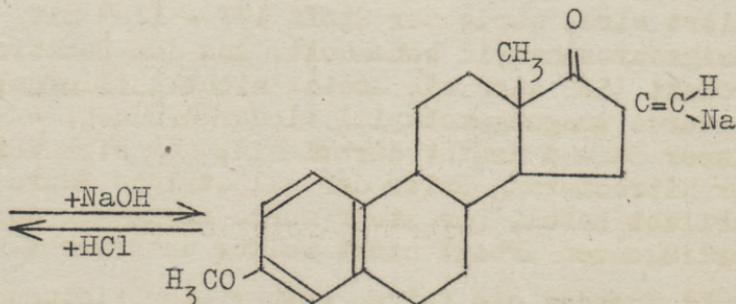
Beschreibung zweier Formylderivate der Östrongruppe.

α) 16-Formyl-östron-3-methyläther.

Man läßt Östron-methyläther in absolutem Benzol mit Ameisensäureester und metallischem Natrium bei Zimmertemperatur längere Zeit reagieren und zieht das Formylderivat mit verdünntem Alkali als Oxymethylen-salz aus der benzolischen Lösung aus.



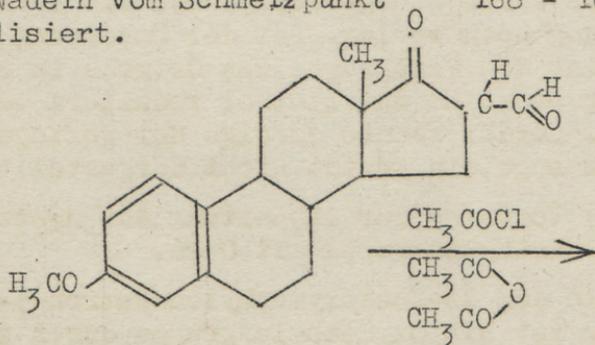
16-Formyl-östron-3-methyläther



Natrium-Verbindung des 16-oxymethylen-östron-3-methyläther

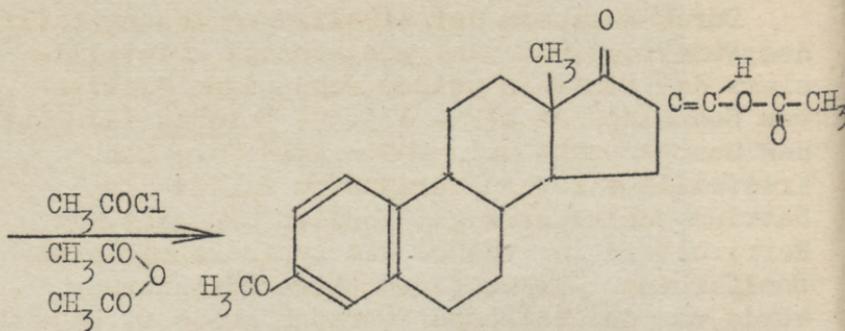
Durch Ansäuern der alkalischen Lösung fällt das Formylderivat aus. Aus Äthanol kristallisiert der Stoff in weißen schuppigen Platten vom Schmelzpunkt 172 - 173,5°. Bardhan (x) gibt den Schmelzpunkt mit 170 - 171° an. Das Kristallinat ist in verdünntem Alkali als Natrium-enolat sehr gut löslich und gibt mit Ferrichlorid in Äthanol die typische violette Enolfärbung. Zur weiteren Charakterisierung wurde von der Tatsache Gebrauch gemacht, daß Enole kristallisierte Kupfersalze bilden. Zu diesem Zwecke wurde das Formylderivat in der Hitze in Methanol eben gelöst und mit wässrigem Kupferacetat versetzt. Das dabei ausfallende Kupfersalz wurde abfiltriert und in Chloroform gelöst und mit Wasser gewaschen. Nach dem Abdampfen des Chloroforms wurde der grünliche Rückstand in Essigester gelöst und durch Hinzufügen von Äthanol zur Kristallisation gebracht. Das Kupfersalz bildet blau grünliche Nadeln, die von 200° an unscharf schmelzen.

Die Umsetzung des Formylderivates mit Acetylchlorid und Essigsäure-anhydrid führt zu einem Enolacetat, das aus verdünntem Aceton in dünnen Nadeln vom Schmelzpunkt 168 - 169° kristallisiert.



16-Formyl-östron-3-methyläther





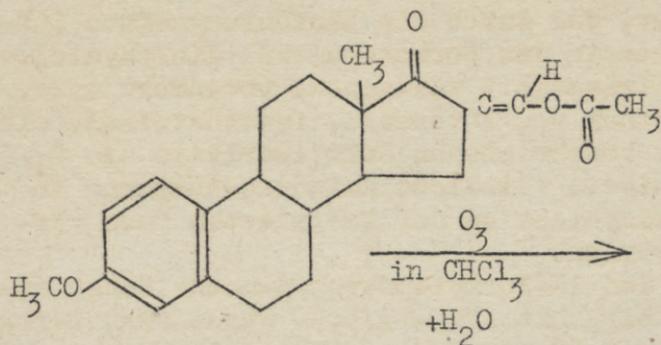
16-Acetoxymethylen-östron-3-methyläther

β) 16-Formyl-östradiol.

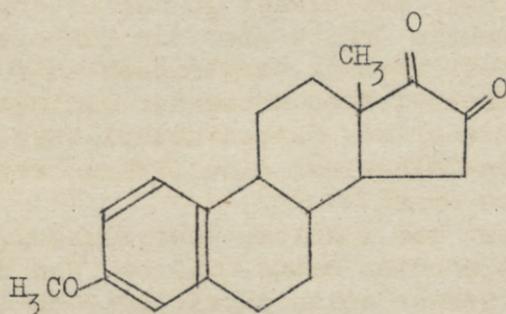
Östron wurde in absolutem Dioxan mit Ameisensäureester und metallischem Natrium umgesetzt. Aus der Lösung wurde ein Formylderivat (in schlechter Ausbeute 10 %) als Natriumsalz isoliert. Das Salz wurde in Wasser gelöst und das Formylderivat mit Säure gefällt. Aus verdünntem Äthanol kristallisierten filzige Nadeln vom Schmelzpunkt 218 - 219°. Die Analyse wies darauf hin, daß in diesem Stoff ein „Dihydro“-formylderivat des Östrons vorliegen mußte. Durch Isolierung eines schön kristallisierten Kupfersalzes wurde nachgewiesen, daß die Formylgruppierung noch vorlag. Bei der Umsetzung in Dioxan scheint die Ketogruppe des Östrons in sekundärer Reaktion zum Alkohol reduziert worden zu sein. Leider konnte infolge der geringen Substanzmenge ein Acetat nicht dargestellt werden.

γ) Versuche zur Abspaltung der Acetoxymethylengruppe mit Ozon.

In dem 16-Acetoxymethylen-östron-3-methyläther ist die Oxymethylengruppe durch eine Doppelbindung an C<sub>16</sub> gebunden. Es wurde versucht, diese Doppelbindung durch vorsichtige Ozonisierung aufzuspalten und durch Zersetzung des gebildeten Ozonides zu einer 16-Oxo-Verbindung des Östrons zu kommen.



16-Acetoxy-methylen-östron-3-methyläther



16-Oxo-östron-3-methyläther

Das Enolacetat wurde in Chloroform in mehreren Versuchsreihen ozonisiert. Aus der Reaktionslösung wurde jedesmal ein braunes Öl isoliert, das nicht zur Kristallisation zu bringen war; Versuche, das Öl über das Oxim zu reinigen, scheiterten. Auch das Kupfersalz lieferte nach der Ozonisierung keinen kristallisierbaren Stoff. Bei der Ozonisierung wird sicherlich neben der Aufspaltung der Doppelbindung an C<sub>16</sub> der aromatische Ring angegriffen und daher kein charakterisiertes Produkt erhalten.

3. Physiologische Prüfung der Formylderivate des Östronmethyläthers und Östradiols an der weiblichen kastrierten Maus im Allen-Doisy-Test.

In der Einleitung dieser Arbeit wurde darüber

berichtet, daß durch die Einführung eines Substituenten in das Hormon-molekül die physiologische Wirksamkeit weitgehend verändert wird. Es war daher von Interesse, festzustellen, wie sich die beschriebenen Formylderivate als C<sub>16</sub> substituierte weibliche Keimdrüsenhormone im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus verhalten würden.

Für den 16-Formyl-östron-3-methyläther (x) vom Schmelzpunkt 172 - 173,5° wurde eine Wirksamkeit von 20 000 ME/g festgestellt.

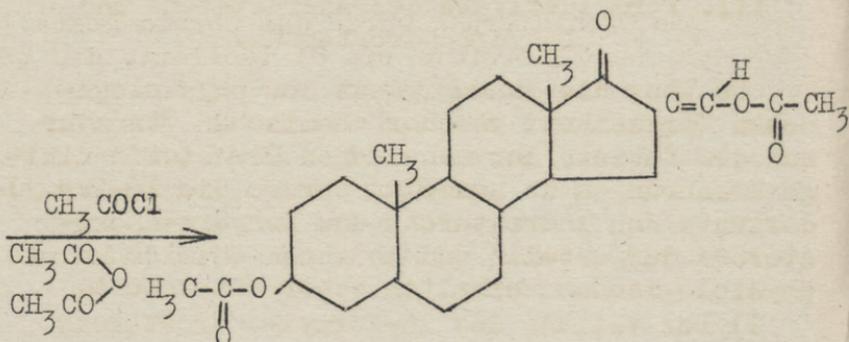
Um diesen Wert mit dem für reinen Östron-methyläther, über den bisher in der Literatur keine zahlenmäßige Angabe über die Einheit im Allen-Doisy-Test vorlag, vergleichen zu können, wurde Östron-methyläther unter den gleichen Bedingungen ausgewertet. Östron-methyläther besitzt im Allen-Doisy-Test eine Wirksamkeit von 200 000 ME pro Gramm.

Dieser Wert war insofern überraschend, da man bisher angenommen hatte, daß bei der Methylierung des Östrons seine physiologische Wirksamkeit an der Maus aufgehoben würde! 16-Formyl-östron-3-methyläther ist 10 mal schwächer wirksam als Östron-methyläther.

Formyl-östradiol ergab einen Wirkungswert von 200 000 ME pro Gram. Der Vergleich der physiologischen Wirksamkeit des Östradiols und Formyl-östradiols zeigte, daß das Formylderivat bedeutend weniger wirksam ist als Östradiol. - Aus dem Vergleich der physiologischen Wirksamkeit der Formylderivate und ihrer Grundsubstanzen ergibt sich, daß durch Einführung einer Formylgruppe an das C<sub>16</sub> des Östrons und Östradiols die physiologische Wirksamkeit weitgehend vermindert wird.

- 
- (x) Die Teste wurden nach völlig gleichartiger Methodik unter Verwendung einer viermaligen Unterteilung in öliger Lösung durchgeführt.





### 16-Acetoxy-methylen-androsteron-3-acetat

Das Diacetat kristallisiert aus verdünntem Äthanol in Nadeln vom Schmelzpunkt 135 - 136°.

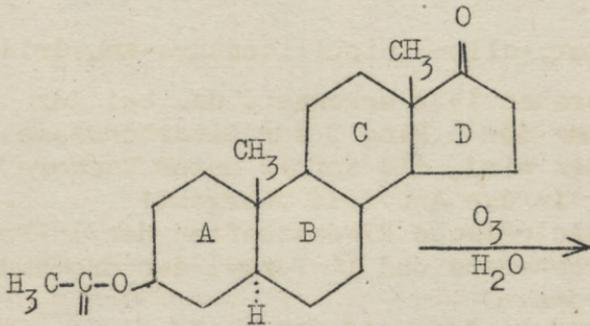
#### b) 16-Formyl-dehydro-androsteron.

16-Formyl-dehydro-androsteron wurde aus Dehydro-androsteron nach derselben Vorschrift, wie oben angegeben, dargestellt. Aus verdünntem Äthanol kristallisiert es in dünnen Plättchen vom Schmelzpunkt 238 - 239°. Die Ferrichlorid-Reaktion ist positiv. Mit Kupferacetat fällt aus der methylalkoholischen Lösung ein Kupfersalz, das keine so ausgeprägten Kristalle bildete, wie die beschriebenen Kupfersalze der übrigen Formylderivate. Durch längeres Erhitzen mit Acetylchlorid und Essigsäureanhydrid und Umkristallisieren des gewonnenen Rückstandes in 96 % Alkohol wurde das 16-Acetoxy-methylen-dehydro-androsteron-3-acetat in langen Nadeln vom Schmelzpunkt 188 - 189° gewonnen.

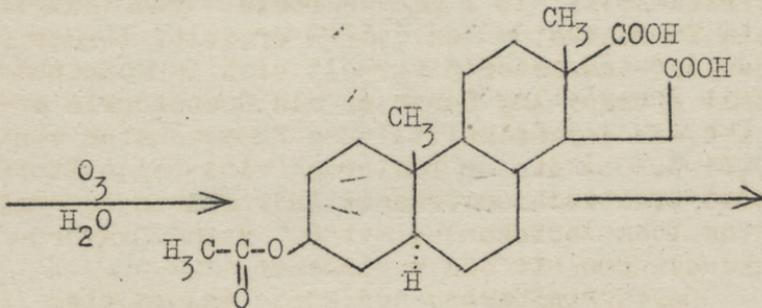
#### 2) Ozonisierung des 16-Acetoxy-methylen-androsteron-3-acetat in Chloroform.

Bei der Ozonisierung des 16-Acetoxy-methylen-oestron-3-methyläthers wird, wie wir oben sahen, wahrscheinlich der aromatische Ring angegriffen. Es wurde daher die analoge Reaktion auf die entsprechende Androsteronverbindung übertragen, die keinen aromatischen Ring besitzt und daher zu Nebenreaktionen keinen Anlaß geben kann.

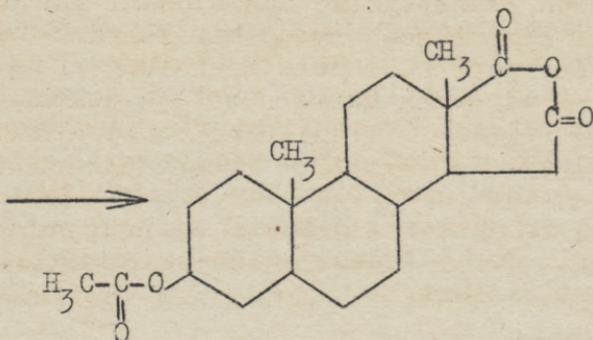
Nach der Ozonisierung wurde das Ozonid gespalten und aus Chloroform ein Öl isoliert, das bei der Hochvakuumdestillation nach einem geringen öligen Vorlauf kristallisierte. Aus verdünntem Aceton wurden derbe Nadeln vom Schmelzpunkt 179 - 180° erhalten. Das Kristallisat löste sich in heißer 1 n-Kalilauge und wurde als Anhydrid der 3-Acetoxy- $\alpha$ -allo- $\theta$ -thiobiliansäure identifiziert.



16-Acetoxy-methylen-androsteron-3-acetat



3-Acetoxy- $\alpha$ -allo- $\theta$ -thiobiliansäure



### 3-Acetoxy-allo-äthiobianthensäure-anhydrid

Der Versuch läßt erkennen, daß bei der Ozonspaltung der 5 Ring D zur Dicarbonsäure aufgespalten wird, die sofort unter Wasserabspaltung in das Anhydrid übergeht!

### 3) Physiologische Eigenschaften des 16-Formyl-androsterons und 16-Formyl-dehydro-androsterons.

Die Prüfung der beiden Formyl-derivate auf ihre physiologische Wirksamkeit im Hahnenkammtest ergab folgenden interessanten Befund:

16-Formyl-androsteron zeigt nur eine geringe Wirksamkeit; mit 1 mg als Dosis wurde lediglich ein Kammwachstum von 6,67 % erzielt. 16-Formyl-dehydro-androsteron verhält sich im Hahnenkammtest ebenso: 1 mg Substanz als Gesamtdosis ergibt ein durchschnittliches Kammwachstum von 3,13 %. Bei dieser Dosierung sind beide Stoffe also praktisch unwirksam; Androsteron ist unter denselben Bedingungen mit 200  $\gamma$  und Dehydro-androsteron mit 600  $\gamma$  wirksam!

Durch Einführung der Formylgruppe wird die physiologische Wirksamkeit des Androsterons und Dehydro-androsterons wesentlich verringert!

Besonderes Interesse beanspruchte das Verhalten des Formyl-dehydro-androsterons im Allen-Doisy-Test: Dehydro-androsteron steht in seinem Sättigungsgrad zwischen Androsteron und Oestron; es vermag bei der weiblichen kastrier-

ten Maus den Brunstzyklus auszulösen. Für die Genese der Keimdrüsenhormone hat Dehydro-androsteron daher eine besondere Bedeutung: Dehydro-androsteron wird als Muttersubstanz sowohl für die „Oestrongruppe“ (Follikelhormone) als auch für die „Androsterongruppe“ (Testikelhormone) betrachtet. (18)

Es war daher von Interesse zu prüfen, welche physiologische Wirksamkeit dem Formyl-dehydro-androsteron im Allen-Doisy-Test zukommen würde.

Formyl-dehydro-androsteron vermag erst mit 4 mg einen Brunstzyklus bei der kastrierten Maus hervorzurufen, wogegen Dehydro-androsteron dieselbe Wirkung mit 3,4 mg erreichte.

---

Zusammenfassend kann man auf Grund der physiologischen Ergebnisse dieser Arbeit sagen, daß durch Einführung einer Formylgruppe an C<sub>16</sub> die physiologische Wirksamkeit sowohl in der Oestrongruppe wie auch in der Androsterongruppe stark vermindert wird.

Der große Unterschied in der Wirksamkeit der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Oestradiole zeigt eindringlich die starke Abhängigkeit der physiologischen Aktivität von der sterischen Konfiguration.

Beschreibung der Versuche.(x)

1) Darstellung der isomeren Oestradiole aus dem Hydrierungsprodukt.

10 g eines aus Oestron durch katalytische Hydrierung mit Nickel-katalysator dargestellten Hydrierungsproduktes wurden in 400 cm<sup>3</sup> Äthanol gelöst und von Verunreinigungen abfiltriert. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade vorsichtig auf 150 cm<sup>3</sup> eingeengt. Die Lösung wurde 12 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit war ein bräunlich gefärbtes Kristallinat in kleinen Nadeln auskristallisiert. (Kristallinat 1) Das Filtrat wurde bis auf ~110 cm<sup>3</sup> weiter eingeengt. Nach längerem Stehen kristallisierte ein weiterer Stoff aus, der abfiltriert wurde (Kristallinat 2). Aus dem Filtrat wurde nach nochmaligem Einengen auf ~80 cm<sup>3</sup> Kristallinat 3 gewonnen. Diese 3 Kristallinate ähnelten sich in ihrer Kristallform und ihre Schmelzpunkte lagen auch in denselben Grenzen. (siehe Übersichtstabelle)

Das Filtrat von Kristallinat 3 wurde nun stufenweise eingeengt; aus 30 cm<sup>3</sup> des Filtrates schied sich nach längerem Stehen im Eisschrank ein kristallisierter Stoff aus (Kristallinat 4), der sich in der Löslichkeit, Kristallform und Schmelzpunkt vom Kristallinat 1 - 3 unterschied. Aus Kristallinat 1 - 3 wurde nach öfterem Umkristallisieren  $\alpha$ -Oestradiol, aus Kristallinat 4  $\beta$ -Oestradiol in reinem Zustande gewonnen.

Die Trennung im einzelnen ergibt das Trennungsschema (Einlage)

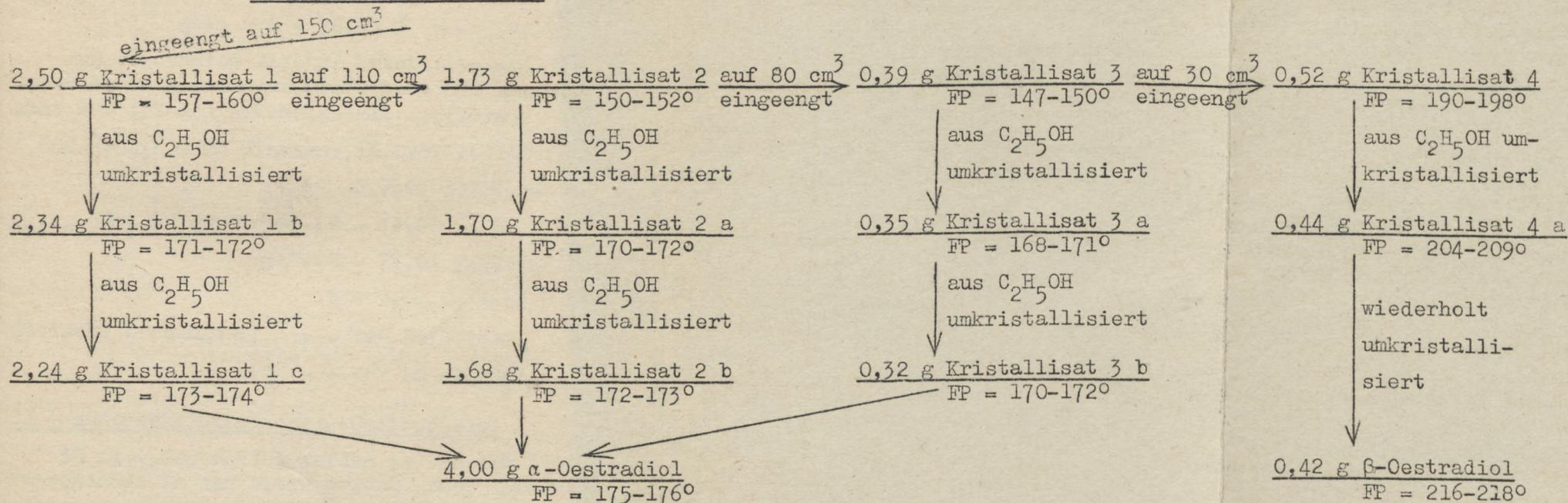
---

(x) Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Einlage.

Fraktionierte Kristallisation des  $\alpha$ - und  $\beta$ -Oestradiol-Gemisches.

10 g Oestradiol-Gemisch in  $400 \text{ cm}^3$  Äthanol aufgenommen und stufenweise eingeengt.





2)  $\alpha$ -Oestradiol. Schmelzpunkt 175 - 176°.

Aus Äthanol kristallisiert die Substanz in farblosen Nadeln.

5,422 mg Einwage: 15,685 mg CO<sub>2</sub>, 4,270 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>(OH)<sub>2</sub>: ber. : C = 79,36 % H = 8,89 %  
 gef. : C = 78,99 % H = 9,01 %

Aus verdünntem Alkohol kristallisiert die Substanz in glänzenden Plättchen. Die Analyse läßt auf 1/2 Mol Alkoholgehalt schließen.

4,600 u. 4,629 mg Einwage: 13,095, 13,150 mg CO<sub>2</sub>  
 3,730, 3,720 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>(OH)<sub>2</sub>  $\frac{1}{2}$  C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH: ber.: C = 77,23 % H = 9,22 %  
 gef.: C = 77,64 %; 77,47 %  
 H = 9,07 %; 8,93 %

Optische Drehung:  $[\alpha]_D^{18^\circ} = +74^\circ$  in Dioxan  
 $[\alpha]_D^{18^\circ} = +78^\circ$  in Äthanol.

3) 3-Monomethyläther des  $\alpha$ -Oestradiols.

30 mg  $\alpha$ -Oestradiol wurden in 150 cm<sup>3</sup> 10 % Natronlauge in der Hitze gelöst. Nach dem Abkühlen wurden 5 cm<sup>3</sup> Dimethylsulfat tropfenweise zugesetzt und kräftig geschüttelt; nachdem alles Dimethylsulfat zugesetzt, wurde noch 2 Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Zur Zerstörung überschüssigen Dimethylsulfates wurde auf dem Wasserbade 35 Minuten erhitzt, danach wurde die Lösung auf das doppelte Volumen mit H<sub>2</sub>O verdünnt und von dem ausgefallenen Niederschlag abfiltriert. Der gut mit H<sub>2</sub>O gewaschene Rückstand wurde bis zum konstanten Schmelzpunkt 97 - 98° aus verdünntem Methanol umkristallisiert. Ausbeute 28 mg in farblosen Nadeln.

3,721 mg Einwage: 10,810 mg CO<sub>2</sub>; 3,040 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>OH.(OCH<sub>3</sub>) ber.: C = 79,65 H = 9,15 %

gef.: C = 79,23 H = 9,14 %

#### 4) 3,17-Diazetat des αOestradiols.

20 mg αOestradiol wurden in 2 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid 25 Minuten gekocht und überschüssiges Anhydrid im Vakuum entfernt. Der ölige Rückstand wurde noch 2 mal auf dem Wasserbad mit Methanol abgedampft. Das Diazetat wurde aus Äthanol bis zum Schmelzpunkt 125 - 126° umkristallisiert. Ausbeute 22 mg in glänzenden Plättchen vom Schmelzpunkt 125 - 126°.

5,350 mg Substanz: 14,535 mg CO<sub>2</sub> 3,710 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>(O.COCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ber.: C = 74,12 % H = 7,92 %

gef.: C = 74,11 % H = 7,76 %

#### 5) 3-Monobenzoat des αOestradiols.

20 mg αOestradiol wurden in 7 % Natronlauge in der Hitze gelöst und bei Zimmertemperatur unter kräftigem Schütteln tropfenweise 2 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid zugesetzt. Das Benzoat schied sich schnell aus der alkalischen Lösung aus und wurde sofort abfiltriert und mit Wasser gut nachgewaschen. Aus Äthanol (verdünntem) kristallisierte das Benzoat in farblosen Nadeln und gab einen konstanten Schmelzpunkt von 192 - 193°. Ausbeute 23 mg.

4,202 mg Einwage: 12,260 mg CO<sub>2</sub>, 2,840 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>(OH).O.COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub> ber.: C = 79,74 % H = 7,50 %

gef.: C = 79,57 % H = 7,56 %

#### 6) 3,17 Dibenzoat des αOestradiols.

27 mg Oestradiol wurden in wenig Pyridin gelöst, tropfenweise mit 1 cm<sup>3</sup> Benzoylchlorid

versetzt und kräftig geschüttelt. Die Pyridinlösung wurde in Äther aufgenommen und mit verdünnter Schwefelsäure, Soda und Wasser durchgeschüttelt. Der Äther wurde getrocknet und abgedampft. Der weiße Rückstand wurde aus 96 % Äthanol mehrfach umkristallisiert. Ausbeute 29 mg in glänzenden Plättchen vom Schmelzpunkt 168 - 169°.

7)  $\beta$ Oestradiol. Schmelzpunkt 216 - 218°.

Die Substanz kristallisiert aus verdünntem Äthanol in schönen zu Rosetten vereinigten Prismen.

4,443 mg Einwage: 12,920 mg CO<sub>2</sub>, 3,580 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>(OH)<sub>2</sub> ber.: C = 79,36 % H = 8,89 %

gef.: C = 79,32 % H = 9,01 %

optische Drehung  $[\alpha]_D^{18} = + 56,7^\circ$  in Äthanol.

Nach den beim Oestradiol angegebenen Methoden wurden folgende Derivate des Oestradiols dargestellt:

3-Monomethyläther.

35 mg  $\beta$ -Oestradiol ergaben 31 mg Monomethyläther. Aus verdünntem Methanol kristallisiert die Substanz in dünnen, bunt schillernden Blättchen. Schmelzpunkt 109 - 110°.

4,399 mg Einwage: 12,825 mg CO<sub>2</sub>, 3,580 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>(OH).OCH<sub>3</sub> ber.: C = 79,65 % H = 9,15 %

gef.: C = 79,51 % H = 9,11 %

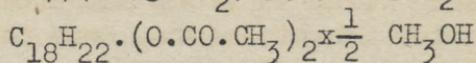
3,17-Diazetat des  $\beta$ -Oestradiols.

37 mg  $\beta$ Oestradiol ergaben 42 mg Diazetat, das aus verdünntem Methanol umkristallisiert wurde.

Farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 139 - 140°.

Aus verdünntem Methanol kristallisiert die Substanz mit  $\frac{1}{2}$  Mol CH<sub>3</sub>OH.

4,415 mg Einwage: 11,740 mg CO<sub>2</sub>, 3,090 mg H<sub>2</sub>O



ber.: C = 72,90 % H = 8,10 %

gef.: C = 72,52 % H = 7,84 %

Wird die Substanz im Hochvakuum sublimiert, verliert sie ihren Kristallalkohol.

5,215 mg Einwage: 14,200 mg CO<sub>2</sub>, 3,710 mg H<sub>2</sub>O

$C_{18}H_{22}(OCOCH_3)_2$  ber.: C = 74,12 %; H = 7,92 %

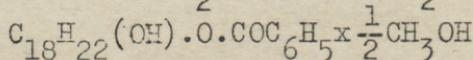
gef.: C = 74,26 %; H = 7,96 %

### 3-Monobenzoat des β-Oestradiols.

21 mg β-Oestradiol ergaben 25 mg 3-Monobenzoat; aus verdünntem Methanol kristallisierten dünne rechtwinkelige Plättchen aus. Schmelzpunkt 150 - 151°.

Das Monobenzoat kristallisiert, analog dem Diazetat, aus verdünntem Methanol mit  $\frac{1}{2}$  Mol Kristallalkohol.

2,584 mg Einwage: 7,435 mg CO<sub>2</sub>, 1,780 mg H<sub>2</sub>O



ber.: C = 78,21 % H = 7,47 %

gef.: C = 78,47 % H = 7,71 %

Aus dem Hochvakuum sublimierte Substanz ergab folgende Analyse:

3,587 mg Einwage: 10,49 mg CO<sub>2</sub>, 2,410 mg H<sub>2</sub>O

$C_{18}H_{22}(OH).OCOC_6H_5$  ber.: C = 79,74 % H = 7,50 %

gef.: C = 79,76 % H = 7,51 %

### Oxydation des β-Oestradiols zum Oestron.

70 mg β-Oestradiol-monobenzoat-3 wurden in 35 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und in der Kälte mit  $\frac{4}{3}$  der berechneten Menge Chromtrioxyd in Eisessig<sup>3</sup> versetzt. Die Lösung blieb über Nacht bei Zimmer-

temperatur stehen; sie wurde dann in Wasser gegossen und bis zur alkalischen Reaktion mit  $\frac{n}{1}$  NaOH, verd. HCl und H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Äthanol umkristallisiert; es resultierten farblose Nadeln vom Schmelzpunkt 216-217,5°, die mit reinem Oestronbenzoat (FP = 216-217,5°) keine Depression des Schmelzpunktes zeigten. Die optischen Drehungen beider Benzoate zeigten denselben Drehwert. 1) Optische Drehung des Follikelhormonbenzoates aus Oestron 0,015 g in 2 cm<sup>3</sup> Dioxan gelöst. l = 1 dm,  $\alpha = 0,91^\circ$ , t = 22°  $[\alpha]_D^{22} = 121^\circ$

2) Optische Drehung des Follikelhormonbenzoates aus  $\beta$ -Oestradiol 0,012 g in 2 cm<sup>3</sup> Dioxan gelöst. l = 1 dm,  $\alpha = 0,72^\circ$  t = 22°  $[\alpha]_D^{22} = 120^\circ$ .

Verseifung des aus  $\beta$ -Oestradiol dargestellten Oestronbenzoates.

15 mg Substanz wurden in 5 cm<sup>3</sup> 2 n-methylalkoholischer Kalilauge 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Nach dem Erkalten wurde die Lösung angesäuert und ausgeäthert. Die ätherische Lösung wurde mit H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet und der Äther eingedampft. Der Rückstand wurde aus verdünntem Äthanol umkristallisiert: farblose Blättchen vom Schmelzpunkt 255°. Der Mischschmelzpunkt mit Oestron ergab keine Depression; der Vergleich der optischen Drehungen ergab ebenso die Identität der Präparate.

1) Optische Drehung des reinen Oestrone.  
0,0051 g in 2 cm<sup>3</sup> Dioxan gelöst, l = 1 dm,  
 $\alpha = 0,41^\circ$ , t = 23°  $[\alpha]_D^{23} = 161^\circ$

2) Optische Drehung des Oestrone aus  $\beta$ -Oestradiol  
0,003 g in 2 cm<sup>3</sup> Dioxan gelöst, l = 1 dm,  
 $\alpha = 0,24^\circ$ , t = 23°  $[\alpha]_D^{23} = 160^\circ$

Oxim des Oestrone aus  $\beta$ -Oestradiol.

7 mg Substanz wurden mit überschüssigem Hydro-

xylaminacetat 2 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Die alkoholische Lösung wurde eingedunstet und in der Hitze mit  $H_2O$  angespritzt. Aus Äthanol kristallisierte das Oxim in feinen dünnen Nadeln vom Schmelzpunkt  $230 - 231^\circ$ . Mit reinem Oestronoxim gab die Substanz keine Depression.

#### Oxydation des $\alpha$ -Oestradiols zu Oestron.

150 mg  $\alpha$ -Oestradiolmonobenzoat vom Schmelzpunkt  $192,5^\circ$  und  $[\alpha]_D^{20} = 60^\circ$  (in Alkohol) wurde nach der oben gegebenen Methode oxydiert. Es wurden aus Alkohol Kristalle in weißen prismatischen Nadeln erhalten. Schmelzpunkt  $216 - 217,5^\circ$ . Die Substanz ergab mit dem Oxydationsprodukt vom  $\beta$ -Oestradiolmonobenzoat keine Depression.

Die optische Drehung ergibt für Oestronbenzoat aus  $\alpha$ -Oestradiolbenzoat und für dargestelltes Oestronbenzoat den gleichen Wert:

1) für Oestronbenzoat aus Oestradiolbenzoat  
 0,0101 g Einwage in  $2 \text{ cm}^3$  Dioxan,  $l = 1 \text{ dm}$ ,  
 $\alpha = 0,61^\circ$ ,  $t = 21^\circ$   $[\alpha]_D^{21} = + 120,8^\circ$

2) für Oestronbenzoat aus Oestron dargestellt:  
 0,015 g Substanz in  $2 \text{ cm}^3$  Dioxan gelöst,  
 $l = 1 \text{ dm}$ ,  $\alpha = 0,91$ ,  $t = 22^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{22} = + 121^\circ$ .

Das verseifte Oestronbenzoat aus  $\alpha$ -Oestradiolbenzoat zeigte dieselben Eigenschaften, wie weiter oben beschrieben.

#### Versuch zur Wasserabspaltung aus $\alpha$ -Oestradiol-3-monomethyläther.

150 mg  $\alpha$ -Oestradiol-mono-methyläther wurden im Achtmörser mit 1,8 g Kaliumbisulfat sehr innig vermischt. Nach Überschichtung mit trockener Kohlensäure wurde das Gemenge im Parrafinbad zwei Stunden auf  $150 - 160^\circ$  erhitzt. Im Hochvakuum destillierte bei  $95^\circ$  ein hellgelbes Öl, das mit Äthanol herausgelöst wurde. Die

alkoholische Lösung wurde sehr bald braun, und es fiel ein harziges Öl aus. Kristallisierversuche in anderen Lösungsmitteln unter  $\text{CO}_2$  lieferten alle ein harziges Produkt.

### Versuche zur Darstellung von Iso-nitroso-oestron.

a) Durch Umsetzung von Oestron mit Isoamylnitrit und Natriumäthylat in ätherischer Lösung.

500 mg Oestron wurden in  $600 \text{ cm}^3$  abs. Äther in der Hitze gelöst, nach dem Abkühlen wurde der ätherischen Lösung 234 mg Isoamylnitrit in  $50 \text{ cm}^3$  abs. Äther zugegeben. Die Lösung wurde in Eis-Kochsalz einige Zeit gekühlt und dann in eine Eis-Kochsalz gekühlte Lösung von 300 mg fein gepulvertem trockenem Natriumäthylat in  $100 \text{ cm}^3$  abs. Äther gegossen. Die vereinigten, ätherischen Lösungen wurden 35 Minuten bei guter Kühlung kräftig geschüttelt und über Nacht bei  $-10^\circ$  sich selbst überlassen. Nach dieser Zeit war die Reaktion beendet; die Lösung wurde angesäuert und mit Wasser des öfteren gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther in schwachem Vakuum abdestilliert. Der gelbliche ölige Rückstand löste sich in heißem Äthanol. Nach einiger Zeit kristallisierte aus der alkoholischen Lösung in kurzen hellgelben Nadeln ein Stoff vom Schmelzpunkt  $165 - 168^\circ$ . Nach mehrmaligem Umlösen aus Äthanol wurde ein Kristallinat vom Schmelzpunkt  $177 - 178^\circ$  erhalten.

b) Umsetzung von Oestron mit Natriumnitrit in essigsaurer Lösung.

Zu einer Lösung von 340 mg Oestron in  $125 \text{ cm}^3$  Eisessig wurden in der Kälte 125 mg Natriumnitrit, in wenig Wasser gelöst, hinzugefügt und 35 Minuten in einer Eis-Kochsalz-Mischung bei öfterem Umschütteln gekühlt. Über Nacht blieb die Lösung bei Zimmertemperatur stehen. Die Essigsäure wurde im Vakuum bis auf einige  $\text{cm}^3$  entfernt, der Rest in Äther aufgenommen und

mit  $H_2O$  gut ausgewaschen. Der ölige Rückstand der ätherischen Lösung wurde aus Äthanol umkristallisiert: Gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt  $177 - 178^\circ$ .

Das Kristallinat vom Versuch a gab mit diesem Kristallinat in der Mischprobe keine Depression.

Analyse:  $G_{30}$ : 4,668 mg Substanz, 10,720 mg  $CO_2$ ,  
 2,510 mg  $H_2O$   
 3,234 mg Substanz, 0,186  $cm^3$   
 N bei  $21^\circ$  und 760 mm.

gef. C = 62,63 % H = 6,01 %  
 N = 6,67 %  
 ber. für  $C_{18}H_{21}O_3N$ : C = 72,20 % H = 7,07 %  
 N = 4,68 %  
 ber. für  $C_{18}H_{20}O_4N_2$ : C = 65,82 % H = 6,14 %  
 N = 8,53 %

c) Umsetzung des Oestrone mit  $N_2O_3$  in abs. Äther.

370 mg Oestron wurden in  $350 cm^3$  abs. Äther gelöst und unter Kühlung 35 Minuten  $N_2O_3$  eingeleitet. Die ätherische Lösung wurde noch 5 Stunden bei  $-10^\circ C$  sich selbst überlassen, 8 mal mit je  $50 cm^3$  Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und in schwachem Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand kristallisiert aus Äthanol in gelben Nadeln vom Schmelzpunkt  $177 - 178^\circ$ .

Die aus den Versuchen a und b erhaltenen Stoffe geben in der Mischprobe mit diesem Kristallinat keine Depression.

Analyse:  $G_{33}$ : 4,308 mg Substanz; 9,890 mg  $CO_2$ ,  
 2,300 mg  $H_2O$

2,649 mg Substanz; 0,160 cm<sup>3</sup>

N bei 26,5° und 763 mm.

gef. C = 62,61 % H = 5,97 %,  
N = 6,91 %.

ber. für C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub>N: C = 72,20 % H = 7,07 %,  
N = 4,68 %

ber. für C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>: C = 65,82 % H = 6,14 %,  
N = 8,53 %.

Umsetzung des Oestron-methyläthers mit salpe-  
triger Säure.

Je 300 mg Oestron-methyläther wurde nach den beschriebenen Methoden mit HNO<sub>2</sub> bzw. N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> zur Reaktion gebracht. Es wurde nach jeder Umsetzung Ausgangsmaterial zurückgewonnen.

16-Formyl-oestron-3-methyläther.

1,3 g Oestron-methyläther vom Schmelzpunkt 168 - 169,5°, in 30 cm<sup>3</sup> abs. Benzol gelöst, wurden mit 1 g Natrium (in möglichst dünnen Scheiben) und 3 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem Ameisensäureäthylester zur Reaktion gebracht. Nach 10 Stunden wurde mit 200 cm<sup>3</sup> Wasser vorsichtig verdünnt und die wässrige Schicht abgetrennt. Nach dem Ansäuern fällt aus der alkalischen Lösung das Formylderivat in weißen Flocken aus, die abfiltriert und in Aceton gelöst wurden. Aus verdünntem Aceton kristallisiert das Formylderivat in dünnen schuppigen Plättchen vom Schmelzpunkt 172 - 173,5° Ausbeute 75 %.

Analyse: 4,343 mg Substanz; 12,225 mg CO<sub>2</sub>,

3,060 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub> ber.: C = 76,88 % H = 7,75 %

gef.: C = 76,77 % H = 7,88 %.

Kupfersalz des 16-Formyl-oestron-methyläther.

200 mg 16-Formyl-oestron-methyläther wurden in der Hitze in Methanol zur Lösung gebracht und sofort mit 5 cm<sup>3</sup> einer gesättigten wässrigen Kupferacetatlösung versetzt. Das ausgefallene Kupfersalz wurde abfiltriert und in Chloroform gelöst. Die grüne Chloroform-lösung wäscht man zur Entfernung des Kupferacetates einige Mal mit H<sub>2</sub>O, trocknet sie und destilliert Chloroform im Vakuum ab. Der Rückstand wird in der Hitze mit Essigester gelöst und durch Zufügen des doppelten Volumens Alkohol zur Kristallisation gebracht: Die auskristallisierten grünlich blauen Nadeln schmelzen oberhalb 200° sehr unscharf.

16-Acetoxy-methylen-oestron-3-methyläther.

50 mg Formyl-oestron-methyläther wurden mit 1,5 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid und 2 cm<sup>3</sup> Acetylchlorid eine Stunde auf 95° und anschließend 50 Minuten auf 150° erhitzt. Die Reaktionslösung wurde in Wasser gegossen und 3 mal mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherextrakt wurde mit Wasser und Sodalösung gewaschen und nach dem Trocknen über Natriumsulfat eingedampft. Der Rückstand der ätherischen Lösung kristallisiert aus verdünntem Aceton in dünnen Nadeln vom Schmelzpunkt 168 - 169°. Ausbeute: 40 mg.

Analyse: 4,323 mg Substanz; 11,820 mg CO<sub>2</sub>,

2,910 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>O<sub>4</sub> ber.: C = 74,53 % H = 7,40 %

gef.: C = 74,55 % H = 7,55 %

16-Formyl-oestradiol.

1 g Oestron wurde mit 2 cm<sup>3</sup> Ameisensäure-äthylester 1 g dünnen Natriumscheiben in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Dioxan zur Reaktion gebracht. Nach

15 Stunden wurde die braune Lösung filtriert und der Rückstand mit warmem Dioxan nachgewaschen. Das Filtrat wurde eingeengt und mit einigen Tropfen heißem Wasser versetzt; in der Kälte kristallisierte Oestron aus.

Der abfiltrierte Teil war in Wasser löslich und wurde mit verdünnter Schwefelsäure als Formylderivat gefällt. Das Formylderivat kristallisiert in filzigen Nadeln, die nach mehrmaligem Umkristallisieren einen konstanten Schmelzpunkt von 218 - 219° zeigten.

Analyse: 3,621 mg Substanz, 10,045 mg CO<sub>2</sub>,  
2,640 mg H<sub>2</sub>O

berechnet für Formyloestron C = 76,47 % H = 7,43 %

berechnet für Formyl-ostradiol C = 75,95 % H = 8,06 %

gefunden C = 75,66 % H = 8,16 %

Die Analyse ergibt, daß bei der beschriebenen Reaktion 2 H-Atome aufgenommen wurden. Da das Formylderivat in seiner Enolform reagierte, wurde angenommen, daß die C<sub>17</sub>-Ketogruppe reduziert wurde.

#### Kupfersalz des Formyl-oestradiols.

25 mg Formyl-oestradiol wurden in der Hitze gelöst und mit wässrigem Kupferacetat versetzt. Das ausfallende Kupfersalz wurde, wie oben beschrieben, gereinigt. Aus Äthanol kristallisierte der Stoff in dunkelgrünen großen Nadeln.

#### Ozonisierung des acetylierten Formyl-oestronmethyläthers.

150 mg 16-Acetoxy-methylen-oestron-3-methyläther wurden in 10 cm<sup>3</sup> Chloroform gelöst. Durch die Chloroform-Lösung wurde bei - 10° in verschiedenen Versuchen: 5, 3 und 2 Minuten lang Sauerstoff (10 Liter pro Stunde) mit 6 % Ozon-gehalt durchgeleitet. Darauf wurde die Lösung

mit 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O 35 Minuten auf dem Wasserbad erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde mit Soda, verd. Salzsäure und Wasser ausgeschüttelt und das Chloroform mit Natriumsulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Chloroforms blieb ein braunes Öl zurück, das aus den verschiedensten Lösungsmitteln nicht kristallisiert zu erhalten war.

### III. 16-Formyl-androsteron.

16-Formyl-androsteron wurde nach der beim 16-Formyl-oestron-methyläther beschriebenen Methode dargestellt. Aus 1 g Androsteron resultierten 735 mg Formyl-androsteron vom Schmelzpunkt 234 - 235°.

Analyse: 4,564 mg Substanz; 12,625 mg CO<sub>2</sub>,  
3,930 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> ber.: C = 75,41 % H = 9,50 %  
gef.: C = 75,28 % H = 9,64 %

### 16-Acetoxymethylen-androsteron-3-acetat.

700 mg Formyl-androsteron ergaben nach der beschriebenen Acetylierungsvorschrift 635 mg Diacetat, das aus verdünntem Äthanol umgelöst in dünnen Nadelchen vom Schmelzpunkt 135-136° erhalten wurde.

Analyse: 3,918 mg Substanz; 10,290 mg CO<sub>2</sub>,  
3,000 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> ber.: C = 71,59 % H = 8,52 %  
gef.: C = 71,63 % H = 8,57 %

### 16-Formyl-dehydro-androsteron.

1 g Dehydro-androsteron ergaben 804 mg Formylderivat. Es wurde aus verd. Äthanol umkristallisiert: Schmelzpunkt 238 - 239°; dünne

Plättchen.

Analyse: 4,641 mg Substanz; 12,915 mg CO<sub>2</sub>,

3,760 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub> ber.: C = 75,90 % H = 8,92 %

gef.: C = 75,91 % H = 9,06 %

### 16-Acetoxy-methylen-dehydro-androsteron-3-acetat.

250 mg Formyl-dehydro-androsteron ergaben 215 mg Diacetat. Aus Äthanol umkristallisiert: lange Nadeln vom Schmelzpunkt 188 - 189°.

Analyse: 5,261 mg Substanz; 13,860 mg CO<sub>2</sub>,

3,640 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> ber.: C = 71,95 % H = 8,06 %

gef.: C = 71,85 % H = 7,74 %

### Ozonisierung des 16-Formyl-androsteron-diacetats.

In eine Lösung von 150 mg 16-Formyl-androsteron-diacetat in 10 cm<sup>3</sup> Chloroform wurde 3 Minuten lang Sauerstoff mit 6 % Ozongehalt eingeleitet und nach Zugabe von 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O auf dem Wasserbad 35 Minuten erhitzt. Das Chloroform wurde mit Soda, verd. Schwefelsäure und Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum abgedampft. Der ölige Rückstand destillierte im Hochvakuum nach einem geringen öligen Vorlauf in derben Nadeln. Nach öfterem Umlösen aus verd. Aceton wurde ein Kristallinat vom Schmelzpunkt 179 - 180° in derben prismatischen Nadeln erhalten. Die Ferri-chloridprobe war negativ.

Das Kristallinat löste sich in 1 n KOH bei gewöhnlicher Temperatur nicht, beim Erhitzen jedoch gut. Ein Oxim konnte von diesem Stoff nicht dargestellt werden.

Die Analyse ergab, daß das Anhydrid der 3-Acetoxy-allo-äthiobiliansäure vorlag.

44

Analyse: 4,423 mg Substanz; 11,265 mg CO<sub>2</sub>,  
3,300 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> ber.: C = 69,57 % H = 8,34 %

gef.: C = 69,49 % H = 8,34 %.

Tabelle I.

Physiologische Auswertung des  $\alpha$ -Oestradiols im Allen-Doisy-Test  
an der kastrierten Maus. (Technik: 1 malige Injektion in Sesamöllösung.)

Datum	Injizierte Dosis in mg	Gesamtdosis in mg	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro Gramm
19.6. 1935	0,0002	0,0002	6	5	83,4	5 000 000
	0,000125	0,000125	6	5	83,4	8 000 000
	0,0001	0,0001	6	5	83,4	10 000 000
	0,00005	0,00005	6	4	66,6	20 000 000
	0,0000333	0,0000333	6	4	66,6	30 000 000
2.7. 1935	0,0002	0,0002	7	6	85,7	5 000 000
	0,000125	0,000125	7	6	85,7	8 000 000
	0,0001	0,0001	7	5	71,4	10 000 000
	0,00005	0,00005	7	5	71,4	20 000 000
	0,0000333	0,0000333	7	4	57,2	30 000 000
21.10. 1935	0,0000676	0,0000676	8	7	87,5	15 000 000
	0,00005	0,00005	8	6	75,0	20 000 000
	0,00004	0,00004	8	5	62,5	25 000 000

Tabelle II.

Physiologische Auswertung des  $\alpha$ -Oestradiol-monobenzoates-3  
(nach gleicher Technik wie Tabelle I).

Datum	Injizierte Dosis in mg	Gesamtdosis in mg	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro Gramm
29.10. 1935	0,0000676	0,0000676	8	8	100	15 000 000
	0,00005	0,00005	8	8	100	20 000 000
	0,00004	0,00004	8	4	50	25 000 000
3.12. 1935	0,0000676	0,0000676	8	5	62,5	15 000 000
	0,00005	0,00005	8	4	50	20 000 000
	0,00004	0,00004	8	1	12,5	25 000 000
	0,0000333	0,0000333	8	2	25	30 000 000
10.12. 1935	0,0001	0,0001	9	7	77,8	10 000 000
	0,000077	0,000077	9	7	77,8	13 000 000
	0,0000676	0,0000676	9(1 tot)	3	37,5	15 000 000
	0,00005	0,00005	9	2	22,2	20 000 000

Tabelle III. (1. Teil)

Physiologische Auswertung des  $\beta$ -Oestradiols.  
(nach der gleichen Technik wie Tabelle I).

Datum	Injizierte Dosis in mg	Gesamtdosis in mg	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro Gramm
17.9. 1935	0,0002	0,0002	6	0	0	5 000 000
	0,0001	0,0001	6	0	0	10 000 000
23.9. 1935	0,01	0,01	7	7	100	100 000
	0,001	0,001	7	3	42,8	1 000 000
	0,000333	0,000333	7	0	0	3 000 000
30.9. 1935	0,004	0,004	7	7	100	250 000
	0,002	0,002	7	6	85,8	500 000
	0,00133	0,00133	7	4	57,1	750 000
	0,001	0,001	7	3	42,8	1 000 000
	0,000667	0,000667	7	3	42,8	1 500 000

Fortsetzung von Tabelle III.

Datum	Injizierte Dosis in mg	Gesamtdosis in mg	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro Gramm
9.10. 1935	0,002	0,002	6	6	100	500 000
	0,00167	0,00167	6	5	83,4	600 000
	0,00143	0,00143	6	4	66,6	700 000
	0,00125	0,00125	6	4	66,6	800 000
14.10. 1935	0,00167	0,00167	11	8	72,6	600 000
	0,00125	0,00125	11	8	72,6	800 000
	0,001	0,001	12	6	50,0	1 000 000

Tabelle IV.

Physiologische Auswertung des 16-Formyl-oestron-3-methyläthers im Allen-Doisy-Test an der kastrierten Maus. (Technik: 4 malige Injektion in Sesamö-lösung.)

Injizierte Dosis in $\gamma$	Gesamt-dosis in $\gamma$	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Voll-brunst	% Tiere auf Voll-brunst	M E pro Gramm
25	100	7	7	100 %	10 000
20	80	6	6	100 %	12 500
12,5	50	6	5	83,4 %	20 000

Tabelle V.

Physiologische Auswertung des Oestron-methyl-äthers. (nach gleicher Technik wie Tabelle IV.)

Injizierte Dosis in $\gamma$	Gesamt-Dosis in $\gamma$	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Voll-brunst	% Tiere auf Voll-brunst	M E pro Gramm
2,5	10	6	6	100 %	100 000
2	8	8	7	87,5 %	125 000
1,25	5	8	6	75,0 %	200 000

Tabelle VI.

Physiologische Auswertung des Formyloestradiols. (Technik: einmalige Injektion in Sesamöl-Lösung.)

Injizierte Dosis in $\gamma$	Gesamtdosis in $\gamma$	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro
10	10	8	7	87,5 %	100 000
5	5	8	6	75 %	200 000
5	5	8	6	75 %	200 000
4	4	8	5	67,5 %	250 000

Tabelle VII.

Physiologische Auswertung des Formyl-androsterons. (nach gleicher Technik wie Tabelle IV.)

Injizierte Dosis in $\gamma$	Gesamtdosis	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro Gramm
4 · 250	1 mg	8	0	0 %	1 000
4 · 500	2 mg	8	0	0 %	500

Tabelle VIII.

Physiologische Auswertung des Formyl-dehydroandrosterons. (nach gleicher Technik wie Tabelle IV.)

Injizierte Dosis	Gesamtdosis	Anzahl Tiere pro Dosis	Anzahl Tiere mit Vollbrunst	% Tiere auf Vollbrunst	ME pro Gramm
4 . 850 $\gamma$	3,4 mg	6	1	16,6 %	295
4 . 1 mg	4 mg	8	7	87,5 %	250

Tabelle IX.

Physiologische Wirksamkeit des Formyl-dehydroandrosterons im Hahnenkammtest.

400 $\gamma$			1 mg			
Tier	%	%	Tier	%	%	
3.Tag		4.Tag	3.Tag		4.Tag	
299	0	0	240	0	2,78	
492	4,85	2,48	241	0	6,0	
333	6,74	4,8	200	0,6	0,6	

Tabelle X.

Physiologische Wirksamkeit des Formylandrosterons im Hahnenkammtest.

400 $\gamma$			1 mg				
Tier	%	%		Tier	%	%	
	3.Tag	4.Tag		3.Tag	4.Tag		
249	2,78	3,7		349	8,4	6,54	
366	0,8	0,8	3,33	372	2,36	4,72	6,67 %
392	5,55	1,85		301	3,45	0,9	

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s .

- 1) A. Butenandt, Naturw. 24, 529, 545 (1936)
- 2) Zusammenfassende Darstellung mit Literaturangaben: Dannenbaum, Erg.d.Physiol.u.Exp. Pharm. 38, 796 (1936)
- 3) Zusammenfassende Darstellung mit Literaturangaben: Störmer und Westphal, Erg.d.Physiol. u.Exp.Pharm. 35, 318 (1934)
- 4) U. Westphal, Erg.d.Physiol.u.Exp.Pharm. 37, 273 (1935)
- 5) Ruzicka, Goldberg und Brünger, Helv.CH.A. 17, 1387 (1934)  
Butenandt und Cobler, H. S. 234, 218 (1935)
- 6) Ruzicka und Kägi, Helv.Ch. A. 19, 842 (1936)
- 7) Butenandt, H.S. 237, 75 (1935)  
Ruzicka und Wettstein, Helv. Ch. A. 18, 986 (1935)
- 8) Butenandt und Hanisch, B. 68, 1859 (1935);  
H.S. 237, 89 (1935)
- 9) Marrian, Biochem. J. 23, 1090, 1233 (1929);  
24, 435, 1021 (1930)
- 11) Schwenk und Hildebrandt, Naturw. 21, 177 (1933)
- 12) Girard und Mitarb., C.r. Soc. Biol. 964, 311 (1933)  
Marrian und Mitarb., Biochem. J. 27, 311 (1933)  
Laqueur und Mitarb., Arch.internat.Pharmacodynamie 51, 137 (1935)  
Doisy und Mitarb., J. of Biol. Chem. 115, 435 (1936)  
Dirscherl, H. S. 239, 53 (1936)
- 13) Mac Corquodale, Tayer und Doisy, J. Biol. Chem. 115, 435 (1936)

- 14) Wintersteiner, Schwenk und Whitman, Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 32, 1087 (1935)
- 15) Butenandt und Störmer, H. S. 208, 129 (1932)
- 16) Technik: Butenandt und von Ziegner, H.S. 188, 1 (1930)
- 17) Bardhan, J. Chem. Soc. 12, 1848 (1936).
- 18) Butenandt, Dtsch. med. Wchschr. 1935, 781.



## Lebenslauf.

Am 8. Dezember 1906 wurde ich, Cornelius Goergens als Sohn des Kaufmannes Cornelius Goergens und seiner Ehefrau Maria, geb. Brester, in Kapellen-Erft bei Neuß am Rhein geboren. Von meinem sechsten bis elften Lebensjahre besuchte ich die Volksschule in Kapellen-Erft und danach das städtische Gymnasium in Neuß am Rhein. Ostern 1928 bestand ich an der rheinischen Ritterakademie in Bedburg-Erft, die ich 2 Jahre besuchte, die Reifeprüfung. Nach halbjähriger praktischer Tätigkeit studierte ich in Danzig 4 Semester Schiffbau und wandte mich dann dem Studium der Chemie zu. Im Februar 1936 bestand ich das Diplom-Examen an der Technischen Hochschule zu Danzig. Von Februar 1936 bis Juni 1937 arbeitete ich an der vorliegenden Dissertation in Danzig und am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.

Die mündliche Doktorprüfung fand am 23. Juni 1937 statt.





BIBLIOTEKA GŁÓWNA



38713

Politechniki Gdańskiej