

Zur Kenntnis der Lipoide aus Hypophysenvorderlappen

VON DER
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

ZUR ERLANGUNG
DER WÜRDE EINES DOKTORS DER
TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN

GENEHMIGTE
PROMOTIONSARBEIT

VORGELEGT VON
HUGO C. BEYERMAN

dipl. Ingenieur-Chemiker
aus Den Haag (Holland)

Referent: Herr Prof. Dr. L. Ruzicka
Korreferent: Herr Prof. Dr. V. Prelog

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A. G.
1945

Hierauf wurden die Fraktionen A'''4–A'''19 vereinigt, sie zeigten ein

$$[\alpha]_D^{16} = +0^{\circ} (\pm 2^{\circ}) \quad (c = +1,44 \text{ in Chloroform})$$

$$13,0 \text{ mg in } 0,901 \text{ cm}^3, \quad \alpha = +0^{\circ} (\pm 0,03^{\circ}), \quad l = 1 \text{ dm.}$$

Das Verhalten der androgenen Wirkstoffe aus dem Hypophysenvorderlappen-Extrakt beim Kochen mit Alkali¹⁾

15,5 mg der vereinigten Fraktionen A'''4–A'''19 wurden mit 1,5 cm³ 3,5% äthanolischer Kalilauge während 4 Stunden unter Rückfluss im Ölbad gekocht. Nach dem Abdestillieren des Alkohols im Vakuum wurde mit 2-n. Salzsäure angesäuert, in Äther aufgenommen und mit verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Abdestillieren des Äthers verblieben 15,1 mg eines dunkelbraunen Öls, das auf androgene Wirksamkeit geprüft wurde. Zur Kontrolle wurden 15,5 mg von A'''4–A'''19 mit 1,5 cm³ Äthylalkohol ebenfalls 4 Stunden gekocht und wie oben aufgearbeitet.

Die Ergebnisse der Prüfung auf Androgene sind in der Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

	mg	entspricht kg H.V.L.	mg/ 0,1 cm ³ Sesam- öl	Zahl der ver- wende- ten Ka- paune	Tages- dosis in cm ³ Lösung	Tages- dosis in mg Präpa- rat	Kamm- wachs- tum in %	Testo- steron in γ /kg H.V.L.
Behandlung mit 3,5%iger äthanolischer Kalilauge	15,1	41	0,5	3	0,1	0,5	14	1–2
Kontrollversuch, Behandlung mit Äthylalkohol	15,5	42	0,5	3	0,1	0,5	37	2–3

b) Oestrogene Wirkstoffe.

Die Fraktionen E1 und E2 (siehe S. 32) wurden im *Allen-Doisy-Test*²⁾ auf oestrogene Wirksamkeit geprüft. Die Prüfung ergab, dass 2 mg von beiden Fraktionen weniger als 0,3 γ Oestradiol enthielten.

8. Zusammenfassung.

Durch Extraktion mit Aceton war von den *Wilson Laboratories Inc.*, Chicago, U.S.A., aus 267,85 kg Rinder-Hypophysenvorderlappen ein Extrakt im Gewichte von 0,82 kg hergestellt worden.

¹⁾ Vgl. *T. F. Gallagher und F. C. Koch*, *J. Biol. Chem.* **104**, 611 (1934).

²⁾ *E. Allen und E. A. Doisy*, *J. Am. med. Assoc.* **81**, 819 (1923).

Die ätherische Lösung des Acetonextraktes wurde auf schonende Weise im Stickstoffstrom mit verdünnter Lauge in saure und neutrale Anteile getrennt. Aus den neutralen Anteilen erhielt ich durch Anwendung der Molekulardestillation ein Destillat, welches bei 100 bis 155° und 10⁻⁴ mm übergang. Dieses Destillat wurde mit *Girard*-Reagens T in Ketone und nichtreagierende Anteile zerlegt. Der Rückstand der Molekulardestillation gab nach alkalischer Verseifung und Trennung mit *Girard*-Reagens T ebenfalls zwei Fraktionen. Sowohl die ketonischen Fraktionen, als auch die nicht reagierenden Anteile, wurden chromatographisch weiter getrennt. Die vereinigten sauren Anteile von der ganzen Bearbeitung wurden verestert und die nicht veresterten Anteile durch Chromatographie in „phenolische“ und saure Fraktionen aufgeteilt.

Aus den verschiedenen Fraktionen konnten folgende Verbindungen rein isoliert und identifiziert werden:

Cholesterin
$\Delta^{4,5}$ -Cholesten-on-(3)
Chimylalkohol (<i>d</i> - α -Hexadecyl-glyceryl-äther)
Glycerin-monopalmitat
Glycerin-monostearat

Verschiedene Fraktionen wurden auch auf androgene und oestrogene Wirksamkeit geprüft. Die „phenolischen“ Fraktionen zeigten im *Allen-Doisy*-Test keine oestrogene Wirksamkeit. Dagegen besaßen die aus dem Destillat der Molekulardestillation erhaltenen Ketone im Hahnenkamm-Test nach *Fussgänger*, eine androgene Wirksamkeit, die einer Wirkung von etwa 8 γ Testosteron/kg H.V.L. entsprach; die mit *Girard*-Reagens T nichtreagierenden Anteile zeigten keine Wirksamkeit. Es wurde versucht, das androgene Hormon anzureichern. Obwohl eine gewisse Anreicherung durch Fällung der nicht wirksamen Nebenstoffe mit Digitonin und chromatographische Trennung gelang, konnte bisher kein krystallisiertes Hormon erhalten werden.

Summary.

From 267,85 kg beef-anterior pituitary the *Wilson Laboratories Inc.*, Chicago, U.S.A., produced by extraction with acetone an extract of 0,82 kg.

In an atmosphere of nitrogen the ether-solution of the acetone-extract was carefully separated in acid and neutral components by extraction with dilute alkali. The neutral parts were subjected to molecular-distillation and gave a fraction distilling at 100–155° C./10⁻⁴ mm. This distillate was separated by means of the *Girard*-T

reagent in ketones and non-reacting components. The residue of the molecular-distillation, after alkaline saponification and separation by the *Girard*-method, also gave two fractions. Both, the ketonic and non-reacting fractions, were further separated by chromatographic analysis. The combined acid components of the whole separation were esterified and the non-esterified parts chromatographically separated in „phenolic“ and acid components.

From the various fractions following substances were isolated in a pure state and could be identified:

Cholesterol
$\Delta^4,5$ -Cholestene-one-(3)
Chimyl-alcohol (<i>d</i> - α -Hexadecyl-glycerol-ether)
Glycerol-monopalmitate
Glycerol-monostearate

Several fractions were also tested for androgenic and oestrogenic activity. The „phenolic“ fractions showed no oestrogenic activity in the *Allen-Doisy*-test. The ketones from the distillate of the moleculardistillation however, showed in the *Fussgänger*-test an androgenic activity equivalent to ca. 8 γ testosterone/kg anterior-pituitary; the fractions which did not react with the *Girard*-T reagent showed no androgenic activity. Experiments have been made to concentrate the androgenic hormone. Although a partial concentration of the androgenic principle could be achieved by precipitating the non-active accompanying substances with digitonin and by chromatographic separation, until now no crystalline hormone could be isolated.

Curriculum vitae

Am 22. September 1919 wurde ich in Rijswijk (Holland) geboren. Nach der Beendigung des Mittelschulstudiums am Vrijzinnig Christelijk Lyceum in Den Haag bestand ich dort im Frühjahr 1937 die Maturitätsprüfung. Im Herbst 1937 begann ich das Chemie-studium an der Technischen Hochschule in Delft, das ich 1938 an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich fortsetzte und im Sommer 1942 mit dem Diplom als Ingenieur-Chemiker abschloss. Seither arbeitete ich, mit Ausnahme einer kurzen Unterbrechung, im Organisch-Chemischen Laboratorium der E.T.H. unter der Leitung von Prof. Dr. L. Ruzicka an meiner Doktorarbeit.

Zürich, März 1945.