Ausführung: Die Chloraminlösung wird auf die trockenen Papierchromatogramme gesprüht, bis diese eben durchgefeuchtet sind. Man läßt 10 min an der Luft trocknen, besprüht mit der Aldehydlösung, läßt wiederum 10 min trocknen und erwärmt dann für 3 bis 5 min auf etwa 65° im Trockenschrank,

Fig. 2. Ähnliches Chromatogramm wie Fig. 1, jedoch der linke obere und rechte untere Sektor mit Ninhydrin, die anderen mit Chloramin-T/Aldehyd-Reagenz besprüht. A, B, C, D wie bei Fig. 1. Auch hier S & S 2043 b mg/l; Aceton/1% wäBr. NH_3 (75:25)

notfalls auch über der Sparflamme. Oxyprolin gibt sofort eine blaurote Farbe.

Für finanzielle Unterstützung danken wir der Bergbau-Berufsgenossenschaft, Bochum, und der Montan-Union, Luxemburg.

Medizinische Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft (Silikose-Labor), Göttingen

HERMANN STEGEMANN und HELEN FRANCES GRIFFIN

Eingegangen am 12. März 1958

¹⁾ JEPSON, J. B., u. I. SMITH: Nature [London] 172, 1100 (1953). PASIEKA, A. E., u. J. F. MORGAN: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92, 96 (1956). — ²⁾ KOLOR, M. G., u. H. R. ROBERTS: Arch. Biochem. a. Biophys. 70, 620 (1957). — ³⁾ STEGEMANN, H.: Z. physiol. Chem. 310, 1 (1958).

Papierchromatographische Untersuchung von Thyroxin und anderen Jodthyroninen

Variabilität in der Latenz der Wirkung von Thyroxinpräparaten ließ bereits vor etwa 10 Jahren den Verdacht aufkommen, daß diese Beobachtung in der Anwesenheit von mehr als einer Jodverbindung eine Erklärung finden könnte. Der Nachweis mehrerer biologisch wirksamer Jodthyronine, verbunden mit der Feststellung, daß Trijodthyronin, Trijodthyroessigsäure sowie Thyroxinpräparate den Umsatz und die Körpertemperatur der hypophysectomierten Ratte und weniger regelmäßig auch den O_2 -Verbrauch thyroidektomierter Tiere ohne nennenswerte Latenz steigern^{2), 3)}, verließ dieser Annahme eine erhöhte Wahrscheinlichkeit und ließ eine eingehendere Untersuchung dieser Frage wünschenswert erscheinen.

Je 1 mg der untersuchten Substanzen wurden entweder in 2 ml Butanol oder in 2 Tropfen 0,1 n NaOH gelöst. Im letzteren Falle wurde sofort mit bidest. Wasser auf 2 ml

Tabelle 1. R_f -Werte der einzelnen Komponenten

Thyroxin (Hoffmann-La Roche) B 508 264	0,12; 0,20; 0,32; 0,44; 0,53; 0,66
d,l-Thyroxin BDH, in Butanol gelöst	0,21; 0,48; 0,54
l-Trijodthyronin Glaxo, in NaOH gelöst	0,12; 0,25; 0,45; 0,59; 0,75
l-Tetraiodthyroessigsäure Glaxo, in Butanol gelöst	0,25; 0,43; 0,57
l-Trijodthyroessigsäure Glaxo, in NaOH gelöst	0,17; 0,40; 0,52; 0,71

verdünnt. Thyroxin (Hoffmann-La Roche) wurde Original-Ampullen entnommen und mit bidest. Wasser entsprechend verdünnt. Papierchromatographie: aufsteigend; aufgetragene Menge 5 bis 15 μg ; Papier: Mackery-Nagel No. 214; Butanol: Dioxan : 2 n Ammoniak 4:1:5; Laufzeit 24 Std. bei Zimmer-

temperatur. Jodnachweis am Papier: Cerisulfat-Arsenig-säurereaktion nach BOWDEN, MACLAGAN und WILKINSON¹⁾; photographische Registrierung auf Dokufilm Forte (gelbunempfindlich) etwa 10 min später (mit bloßem Auge kaum wahrnehmbare Flecken treten auf diesem Film deutlich hervor). Aus den so gewonnenen Chromatogrammen ist klar ersichtlich, daß alle untersuchten Präparate mehrere jodenthaltende Komponenten aufweisen (Tabelle 1).

Eluate der einzelnen Komponenten ergeben bei Wiederholung der Chromatographie einen einzigen Fleck mit demselben R_f . Diese Beobachtungen zeigen, daß biologische Wirkungen, selbst bei Anwendung erstklassiger Präparate, nicht ohne weiteres einer einzigen Substanz zugeschrieben werden können.

Für das Trijodthyronin und die Essigsäurederivate sind wir Glaxo Laboratories zu Dank verpflichtet.

Pathophysiologisches Institut der Universität, Pécs

SZ. DONHOFFER, I. JÁRAI, GY. MESTYÁN,
GY. SZEGVÁRI und I. VÁRNAI

Eingegangen am 20. März 1958

¹⁾ BOWDEN, C. A., N. F. MACLAGAN u. J. H. WILKINSON: Biochemic. J. 59, 93 (1955). — ²⁾ DONHOFFER, Sz.: Acta physiol. [Budapest] 10, 131 (1956). — ³⁾ DONHOFFER, Sz., I. VÁRNAI u. E. SZIEBERTH-HORVÁTH: Nature [London] 181, 345 (1958). — Acta physiol. [Budapest] (im Druck). — Pflügers Arch. (im Druck). ⁴⁾ THIBAUT, O.: Arch. Sci. Physiol. 10, 423 (1956).

Mikrobielle Hydroxylierung von Progesteron in 7 α -Stellung

Bei der Inkubation sowohl von Progesteron (I) als auch von 14 α -Hydroxyprogesteron (II) mit Curvularia-Arten entsteht ein Dihydroxyprogesteron (III) mit $\text{Fp.} = 252$ bis 255° . $[\alpha]_D = +175^\circ$ CHCl_3 . Analyse von III: $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$. C: ber. 72,80, gef. 72,60%; H: ber. 8,73%, gef. 8,86%.

Die beiden Hydroxylgruppen in III werden durch Chromsäure in Eisessig nicht verändert. Im Papierchromatogramm (System Savard) läuft die Substanz langsamer als die monohydroxylierten Progesteronverbindungen, aber wesentlich schneller als die bis jetzt bekannten Dihydroxyprogesteronverbindungen.

Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß III trotz der Beständigkeit gegen CrO_3 sehr leicht ein gut kristallisierendes Acetat IV vom $\text{Fp.} = 222$ bis 225° , $[\alpha]_D = +63 \pm 3^\circ$, (CHCl_3) bildet. Analyse von IV: $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$; ber. C 71,11%, H 8,30%; gef. C 71,19%, H 8,38%.

Das Ultrarotspektrum der Verbindung (III) in CHCl_3 zeigt keine Besonderheiten. Die Valenzschwingung der 20-Keto- bzw. 3-Keto-Gruppe liegen mit 1706 cm^{-1} bzw. 1685 cm^{-1} innerhalb des Erwartungsbereiches. Im Spektrum der Verbindung IV treten Banden auf bei 1756 cm^{-1} (Estercarbonyl), 1706 cm^{-1} (20-Keto), 1683 cm^{-1} (3-Keto α, β ungesättigt) und 1216 cm^{-1} (C—O-Valenzschwingung der Estergruppe). Das Vorhandensein einer diskreten 20-Keto-Bande bei III und die Lage der 20-Keto- und der C—O-Bande bei IV schließen eine Hydroxyl- bzw. Acetoxy-Gruppe an C 17 aus¹⁾.

Die C—O-Bande der Acetoxygruppe in IV ist gegenüber dem normalen Erwartungsbereich um 15 cm^{-1} bis 20 cm^{-1} nach niedrigeren Frequenzen verschoben, während die Carbonylbande der Acetoxygruppe eine Verschiebung um 15 cm^{-1} bis 20 cm^{-1} nach höheren Frequenzen zeigt. Diese Verschiebungen weisen auf eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen der C—O-Gruppe des Acetatrestes und einer Hydroxylgruppe hin, so wie sie bei dem 3 α -Acetoxy-5 α -hydroxycholestan von HENBEST und LOVELL²⁾ festgestellt wurde.

In Auswertung dieser experimentellen Tatsachen wird gefolgert, daß III ein 1,3-biaxiales cis-Diol darstellt, in dem eine Hydroxylgruppe in 14 α -Stellung steht, die zweite Hydroxylgruppe muß in 7 α -Stellung eingeführt sein, weil die 17 α -Stellung auf Grund der Diskussion der IR-Spektren ausgeschlossen ist.

Für die Verbindung III kommt demzufolge die Struktur eines Δ^4 -7 α , 14 α -Dihydroxypregnendions (3.20) in Frage.

Jena, Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm

A. SCHUBERT, K. HELLER, R. SIEBERT, K. ZETSCHKE
und G. LANGBEIN

Eingegangen am 25. März 1958

¹⁾ JONES, R. H., P. HUMPHRIES, F. HERLING u. K. DOBRINER: J. Amer. Chem. Soc. 74, 2820 (1952). — ²⁾ HENBEST, H. B., u. B. J. LOVELL: Chem. a. Ind. 1956 I, 278.