

und der A-Ring von Steroiden<sup>15, 106</sup> durch Mikroorganismen anders abgebaut werden als wir es für die Säugetierenzyme besprochen haben. — Dies steht im Gegensatz zu den Enzymen der Glykolyse<sup>47</sup>, was sich daraus erklären dürfte, daß die Steroidhormone im Gegensatz zu den Kohlenhydraten keine physiologischen Bestandteile der Mikroorganismen sind, und es daher dem Zufall überlassen bleibt, wie sie durch adaptive Enzyymbildung von den einzelnen Bakterien verändert werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der größte Teil der angeschnittenen Fragen bisher noch nicht befriedigend beantwortet ist. — Die wesentlichste Aufgabe dieser Umwandlungen scheint jedoch die Inaktivierung der Steroidhormone zu sein.

Ungeklärt ist bisher, wie das Steroidskelet selbst im Säugetierorganismus abgebaut wird, warum C<sub>21</sub> und C<sub>19</sub>-Steroide nicht auch an den typischen Stellen der Gallensäuren (C<sub>7</sub> und C<sub>12</sub>) von der Leber oxydiert werden und schließlich, ob bei einem enterohepatischen Kreislauf der Steroide<sup>94</sup> Mikroorganismen an einigen Umwandlungen beteiligt sind. — Es erscheint uns wichtig, die besprochenen Fermentsysteme weiter aufzuklären und zu prüfen, ob diese Umwandlungen tatsächlich vom Wirkungsmechanismus der Steroidhormone unabhängig sind.

Ich danke Herrn Dr. L. ROKA für zahlreiche Anregungen und Literaturhinweise.

#### Literatur.

- <sup>1</sup> AMELUNG, D., H. J. HÜBENER u. L. ROKA: Hoppe-Seylers Z. **294**, 36 (1953).
- <sup>2</sup> AMELUNG, D., H. J. HÜBENER, L. ROKA u. G. MEYERHEIM: Klin. Wschr. **1953**, 386.
- <sup>3</sup> AMELUNG, D., H. J. HÜBENER, L. ROKA u. G. MEYERHEIM: J. Clin. Endocrin. **13**, 1125 (1953).
- <sup>4</sup> AXELROD, L. R.: J. Amer. Chem. Soc. (Im Druck, persönliche Mitteilung von Dr. M. HAYANO.)
- <sup>5</sup> BARRY, M. C., M. L. EIDINOFF, K. DOBRINER and T. F. GALLAGHER: Endocrinology (Springfield, Ill.) **50**, 587 (1952).
- <sup>6</sup> BARTON, D. H. R.: Experientia (Basel) **6**, 316 (1950).
- <sup>7</sup> BRÜCKEL, K., H. J. HÜBENER, G. MEYERHEIM u. G. LIERSCH: Klin. Wschr. **1954**, 21.
- <sup>8</sup> BRUZZONE, S., H. BAREL and J. SCHWARTZ: Endocrinology (Springfield, Ill.) **39**, 194 (1946).
- <sup>9</sup> BURSTEIN, S., K. SAVARD and R. I. DORFMAN: Endocrinology (Springfield, Ill.) **53**, 88 (1953).

- <sup>10</sup> Zitiert nach: BURSTEIN, S., K. SAVARD and R. J. DORFMAN: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **52**, 448 (1953).
- <sup>11</sup> BURTON, R. B., E. H. KEUTMANN and C. WATERHOUSE: *J. Clin. Endocrin.* **13**, 48 (1953).
- <sup>12</sup> BUTENANDT, A.: *Ber. Chem. Ges.* **63**, 659 (1930); **64**, 2529 (1931).
- <sup>13</sup> BUTLER, G. C., and G. F. MARRIAN: *J. of Biol. Chem.* **119**, 565 (1937).
- <sup>14</sup> BUTLER, G. C., u. G. F. MARRIAN: *J. of Biol. Chem.* **124**, 237 (1938).
- <sup>15</sup> CAMERINO, B., C. G. ALBERTI u. A. VERCELLONE: *Helvet. chim. Acta* **36**, 1945 (1953).
- <sup>16</sup> CASPI, E., H. LEVY and O. HECHTER: *Arch. of Biochem. a. Biophysics* **45**, 169 (1953).
- <sup>17</sup> CLARK, L. C., and C. D. KOCHAKIAN: *J. of Biol. Chem.* **170**, 23 (1947).
- <sup>18</sup> CORCORAN, A. C., and J. H. PAGE: *J. Labor. a. Clin. Med.* **33**, 1326 (1948).
- <sup>19</sup> COX, R. J., and G. F. MARRIAN: *Biochemic. J.* **54**, 353 (1953).
- <sup>20</sup> COX, R. J.: *Biochemic.* **52**, 339 (1952).
- <sup>21</sup> CUYLER, W. K., C. ASHLEY and E. C. HAMBLEN: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **27**, 177 (1940).
- <sup>22</sup> DAUGHADAY, W. H., H. JAFFÉ and R. H. WILLIAMS: *J. Clin. Endocrin.* **8**, 166 (1948).
- <sup>23</sup> DEL GRECO, F., G. M. C. MASSON and A. C. CORCORAN: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **52**, 474 (1953).
- <sup>24</sup> DIRSCHERL, W., u. W. KNÜCHEL: *Biochem. Z.* **320**, 253 (1950).
- <sup>25</sup> DIRSCHERL, W., u. H. TRAUT: *Klin. Wschr.* **1952**, 159.
- <sup>26</sup> DOBRINER, K., and S. LIEBERMAN: *Ciba Found. Coll. Endocrin.* **2**, 381 (1952); zitiert nach<sup>98</sup>.
- <sup>27</sup> DOBRINER, K., S. LIEBERMAN and C. P. RHOADS: *J. of Biol. Chem.* **127**, 241 (1948).
- <sup>28</sup> DORFMAN, R. I., E. ROSS and R. A. SHIPLEY: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **42**, 77 (1948).
- <sup>29</sup> DORFMAN, R. I., K. SAVARD and S. BURSTEIN: XIX. International Physiological Congress, Montreal, Sept. 1953, p. 315; *Z. Clin. Endocrin.* **14**, 318 (1954).
- <sup>30</sup> EIK-NES, K., J. A. SCHELLMAN, R. LUMRY and L. T. SAMUELS: *J. of Biol. Chem.* **206**, 411 (1954).
- <sup>31</sup> v. EULER, H., u. H. HASSELQUIST: *Reduktone*. Stuttgart: Ferdinand Enke 1950.
- <sup>32</sup> FIESER, L. F., and M. FIESER: *Natural Products related to Phenanthren* New York: Reinhold publishing corporation 1949.
- <sup>33</sup> FISH, C. A., M. HAYANO and G. PINCUS: *Arch. of Biochem. a. Biophysics* **42**, 480 (1953).
- <sup>34</sup> FISH, W. R., B. N. HORWITT and R. I. DORFMAN: *Science* (Lancaster, Pa.) **97**, 227 (1943).
- <sup>35</sup> FORCHIELLI, E.: (Worcester Found.) *Endocrinology*. (Im Druck, persönliche Mitteilung von Dr. M. HAYANO.)
- <sup>36</sup> FUKUSHIMA, D. K., K. DOBRINER and T. F. GALLAGHER: *Federat. Proc.* **10**, 185 (1951).
- <sup>37</sup> GRANT, J. K.: *Biochemic. J.* **51**, 358 (1952).

- <sup>38</sup> GRANT, J. K.: *Biochemic. J.* **52**, 24 (1952).
- <sup>39</sup> HAINES, W. J.: *Recent. Progr. in Hormone Res.* **7**, 225 (1952).
- <sup>40</sup> HEARD, R. D., and H. SOBEL: *J. of Biol. Chem.* **165**, 687 (1946).
- <sup>41</sup> HECHTER, O., R. P. JACOBSEN, R. JEANLOZ, H. LEVY, C. W. MARSHALL, G. PINCUS and V. SCHENKER: *J. Amer. Chem. Soc.* **71**, 3261 (1949).
- <sup>42</sup> HECHTER, O., M. M. SOLOMON and E. CASPI: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **53**, 202 (1953).
- <sup>43</sup> HEUSNER, A.: *Angew. Chem.* **63**, 59 (1951).
- <sup>44</sup> HIRSCHMANN, H., and F. B. HIRSCHMANN: *J. of Biol. Chem.* **184**, 259 (1950).
- <sup>45</sup> HIRSCHMANN, H., F. B. HIRSCHMANN and M. A. DAUS: *J. of Biol. Chem.* **178**, 751 (1949).
- <sup>46</sup> HOFFMANN, M. M., V. E. KASMIN and J. S. L. BROWNE: *J. of Biol. Chem.* **147**, 259 (1943).
- <sup>47</sup> HOLZER, H.: *Angew. Chem.* **66**, 65 (1954).
- <sup>48</sup> HORWITT, B. N., R. I. DORFMAN, R. A. SHIPLEY and W. R. FISH: *J. of Biol. Chem.* **155**, 213 (1944).
- <sup>50</sup> HÜBENER, H. J., u. D. AMELUNG: *Hoppe-Seylers Z.* **293**, 138 (1953).
- <sup>51</sup> HÜBENER, H. J.: *Hoppe-Seylers Z.* (Im Druck.)
- <sup>52</sup> KAHNT, F. W., u. A. WETTSTEIN: *Helvet. chim. Acta* **34**, 1790 (1951).
- <sup>53</sup> KLYNE, W.: *Nature* (Lond.) **166**, 559 (1950).
- <sup>54</sup> KOCHAKIAN, C. D., and D. M. NALL: *J. of Biol. Chem.* **204**, 91 (1953).
- <sup>55</sup> KOCHAKIAN, C. D., J. GONGORA and N. PARENTE: *J. of Biol. Chem.* **196**, 243 (1952).
- <sup>56</sup> KUIZENGA, M. H., and G. F. CATLAND: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **24**, 526 (1939).
- <sup>57</sup> LANGECKER, H.: *Biochem. Z.* **325**, 16 (1953).
- <sup>58</sup> LASZT, L.: *Schweiz. med. Wschr.* **1951**, 107.
- <sup>59</sup> LASZT, L.: *Erstes Freiburger Symposium über Probleme des Hypophysen-NNR-Systems*, S. 40. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer-Verlag 1953.
- <sup>60</sup> LIEBERMAN, S., C. B. HARITON and K. DOBRINER: *Federat. Proc.* **9**, 196 (1950).
- <sup>61</sup> LIEBERMAN, S., L. B. HARITON, M. B. STOCKEM, P. E. STUDER and K. DOBRINER: *Federat. Proc.* **10**, 216 (1951).
- <sup>62</sup> LIEBERMAN, S., and K. DOBRINER: *Recent Progr. in Hormone Res.* **3**, 71 (1948).
- <sup>63</sup> LOUCHART, J., and J. W. JAILER: *J. Clin. Endocrin.* **11**, 771 (1951).
- <sup>64</sup> LOUCHERT, J., and J. W. JAILER: *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **79**, 393 (1952).
- <sup>65</sup> LÖWENSTEIN, B. E., A. C. CORCORAN and I. H. PAGE: *Endocrinology* (Springfield, Ill.) **39**, 82 (1946).
- <sup>67</sup> MACEK, T. J., W. H. BAADÉ, A. BORNN and F. A. BACHER: *Science* (Lancaster, Pa.) **116**, 399 (1952).
- <sup>68</sup> MARKER, R. E., O. KAMM, H. M. IR. CROOKS, T. S. OAKWOOD, E. L. WITTLE and E. J. LAWSON: *J. Amer. Chem. Soc.* **60**, 210 (1938); **60**, 1061 (1938).
- <sup>69</sup> MARKER, R. E., E. ROHRMANN and E. L. WITTLE: *J. Amer. Chem. Soc.* **60**, 1561 (1938).

- <sup>70</sup> MARKER, R. E., E. J. LAWSON, E. L. WITTLE and H. M. IR. CROOKS: *J. Amer. Chem. Soc.* **60**, 1559 (1938).
- <sup>71</sup> MARRIAN, G. F.: *Biochemic. J.* **23**, 1090 (1929).
- <sup>72</sup> MASON, H. L.: *J. of Biol. Chem.* **172**, 783 (1952).
- <sup>73</sup> MASON, H. L., and E. J. KEPLER: *J. of Biol. Chem.* **161**, 235 (1945).
- <sup>74</sup> MEYER, A. S.: *J. of Biol. Chem.* **203**, 469 (1953).
- <sup>75</sup> MILLER, A. M., R. I. DORFMAN and M. MILLER: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **46**, 105 (1950).
- <sup>76</sup> MILLER, A. M., R. I. DORFMAN: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **46**, 514 (1950).
- <sup>77</sup> NISSIM, J. A.: *J. of Endocrin.* **8**, 257 (1952).
- <sup>78</sup> PEARLMAN, W. H.: *The Hormones*, von G. PINCUS u. K. V. THIMAN, Vol. I, S. 381, 1948.
- <sup>79</sup> PICHA, G. M., F. J. SAUNDERS and D. M. GREEN: *Science (Lancaster, Pa.)* **115**, 704 (1952).
- <sup>80</sup> POLLEY, H. F., and H. L. MASON: *J. Amer. Med. Assoc.* **113**, 1474 (1950).
- <sup>81</sup> PORTER, C. C., and R. H. SILBER: *J. of Biol. Chem.* **185**, 201 (1950).
- <sup>82</sup> RYAN, K. J., and L. L. ENGEL: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **52**, 277 (1953); **52**, 287 (1953).
- <sup>83</sup> SAMUELS, L. T., M. L. HELMREICH, M. B. LASATER and H. REICH: *Science (Lancaster, Pa.)* **113**, 490 (1951).
- <sup>84</sup> SAMUELS, L. T., and H. REICH: *Annual Review of Biochemistry* **21**, 129 (1952).
- <sup>85</sup> SCHNEIDER, J. J.: *J. of Biol. Chem.* **199**, 235 (1952).
- <sup>86</sup> SCHNEIDER, J. J., and P. M. HORSTMAN: *J. of Biol. Chem.* **191**, 327 (1951).
- <sup>87</sup> SCHNEIDER, J. J., and H. L. MASON: *J. of Biol. Chem.* **172**, 771 (1948).
- <sup>88</sup> SCHNEIDER, J. J.: *J. of Biol. Chem.* **199**, 235 (1952).
- <sup>89</sup> SEGALOFF, A., and W. O. NELSON: *Endocrinology (Springfield, Ill.)* **31**, 592 (1942).
- <sup>90</sup> SELYE, H.: *Encyclopedia of Endocrinology*. Montreal: Franks 1943.
- <sup>91</sup> SENECCA, H., E. ELLENBOGEN, E. HENDERSON, A. COLLINS and J. ROCKENBACH: *Science (Lancaster, Pa.)* **112**, 524 (1950).
- <sup>92</sup> SIMPSON, A. S., J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW u. T. REICHSTEIN: *Experientia (Basel)* **9**, 333 (1953).
- <sup>93</sup> SIMPSON, S. A., J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER u. T. REICHSTEIN: *Experientia (Basel)* **10**, 132 (1954).
- <sup>94</sup> SIPERSTEIN, M. D., H. H. HERNANDEZ and J. L. CHAIKOFF: *J. of Physiol.* **171**, 297 (1952).
- <sup>95</sup> SPRAGUE, R. G., M. H. POWER, H. L. MASON and H. E. CLUXTON: *J. Clin. Invest.* **28**, 812 (1949).
- <sup>96</sup> STADTMAN, T. C., A. CHERKES and C. B. ANFINSEN: *J. of Biol. Chem.* **206**, 511 (1954).
- <sup>97</sup> STAUDINGER, H. J., u. M. SCHMEISSER: *Biochem. Z.* **321**, 83 (1950).
- <sup>98</sup> STAUDINGER, H. J.: im HAMMERSTEN, S. 892. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer-Verlag 1954.
- <sup>99</sup> SWEAT, M. L., L. T. SAMUELS and R. LUMRY: *J. of Biol. Chem.* **185**, 75 (1950).

- <sup>100</sup> TALBOT, N. B., A. H. SALTZMANN, R. L. WIXOM and J. K. WOLFE: *J. of Biol. Chem.* **160**, 535 (1945).
- <sup>101</sup> UNGAR, F., J. W. DAVIS, H. ROSENKRANTZ and R. I. DORFMAN: *J. of Biol. Chem.* **207**, 375 (1954).
- <sup>102</sup> UNGAR, F., and R. I. DORFMAN: *J. of Biol. Chem.* **205**, 125 (1953).
- <sup>103</sup> UNGAR, F., A. M. MILLER and R. I. DORFMAN: *J. of Biol. Chem.* **206**, 597 (1954).
- <sup>104</sup> UNGAR, F., J. W. DAVIS and R. I. DORFMAN: XIX. International Physiological Congress Montreal, Sept. 1953, p. 843.
- <sup>105</sup> VENNING, E. H.: *Symposium Steroid-Hormones*. Madison: Univ. Wisconsin Press, 1950.
- <sup>106</sup> VISCHER, E., u. A. WETTSTEIN: *Experientia* (Basel) **9**, 371 (1953).
- <sup>107</sup> VOIGT, K. D., u. W. SCHRÖDER: *Naturwiss.* **40**, 485 (1953).
- <sup>108</sup> WESTPHAL, U.: *Hoppe-Seylers Z.* **273**, 13 (1942).
- <sup>109</sup> WISWELL, J. G., and L. T. SAMUELS: *J. of Biol. Chem.* **201**, 155 (1953).
- <sup>110</sup> ZANDER, J., u. J. SCHMIDT-THOMÉ: *Klin. Wschr.* **1954**, 24.
- <sup>111</sup> ZIMMERMANN, W.: *Hoppe-Seylers Z.* **233**, 257 (1935); **245**, 47 (1936).

### Diskussion.

STAUDINGER (Mannheim): Nicht in allen Fällen entstehen beim Abbau der C-19-Steroide vorwiegend Androstan-Derivate. Wenn z. B. Testosteron gespritzt wird, können Androstan und Ätiocholerivate in gleicher Menge ausgeschieden werden. Dagegen halte ich die  $\Delta$ -9-Derivate, die nach Verabreichung von 11-Oxy-Steroiden im Harn gefunden wurden, für Kunstprodukte, da sie bei Aufarbeitung mit Glucuronidase nicht auftreten. Und das Dritte: In Ihren Versuchen hemmt Ascorbinsäure die Atmung der Lebermikrosomen. Dagegen fanden wir, daß Ascorbinsäure die Atmung der Nebennieren — Mitochondrien erhöht.

HÜBENER: Es trifft zu, daß nach Gaben von 11-Desoxysteroiden etwa 50 % Androstan- und 50 % Ätiocholan-Derivate ausgeschieden werden. Aber aus 11-Oxy-C<sub>19</sub>-Steroiden werden praktisch nur Androstane gebildet. — Ich halte die  $\Delta$ -9-Steroide auch für Kunstprodukte. — Unsere Versuche mit Ascorbinsäure haben wir nicht bei pH 6,6, sondern bei pH 7,3 angesetzt. Deswegen sind die Ergebnisse nicht ohne weiteres vergleichbar.

DIRSCHERL (Bonn): Was geschieht mit der Hauptmenge der Steroidhormone? Soweit ich mich entsinne, werden nur etwa 1 % im Harn ausgeschieden.

STAUDINGER: 1 % bezieht sich auf Steroide mit Ketolgruppierung. Wenn man mit Glucuronidase verseift, entsteht mindestens das 10 fache. Wir haben im Harn z. B. 7—10 mg Substanzen mit der Ketolgruppe gefunden. Ferner entsteht noch die sog. alkoholische Fraktion, das sind weitere 10 mg, ferner 6—7 mg 17-Ketosteroide. Also sind bisher im Harn insgesamt 20—30 mg Derivate der NNR-Hormone nachgewiesen. Sezerniert werden dagegen etwa 60 mg pro Tag.

**HÜBENER:** Dazu möchte ich ergänzen, daß auch von zugeführten Steroidhormonen nur 5—30 % und, wenn es hochkommt, 50 % im Harn wiedergefunden werden. Es ist nichts darüber bekannt, ob das Steroidskelet selbst abgebaut werden kann. Es wäre allerdings möglich, daß es sofort in viele kleine C-2-Bruchstückchen oder andere kleine Bausteine zerlegt wird. — Mikroorganismen wie *Mykobacterium cholesterolicum* können beim  $^{14}\text{C}$ -4-Cholesterin den A-Ring aufspalten und das C-Atom 4 herausspalten. Jedoch können Mikroorganismen keineswegs als Modelle für die Enzymsysteme des Säugetierorganismus gelten.

**ZIMMERMANN (Trier):** Bei der Entstehung der 17-Ketosteroide aus den C-21-Steroiden möchte ich noch auf die Bedeutung der 17-Hydroxylgruppe hinweisen. Nach Belastung mit 17-Desoxy-Steroiden, als Progesteron, Desoxycorticosteron, Corticosteron und Compound A findet man alkoholische Pregnan-Derivate und keine Veränderung der 17-Ketosteroide. Umgekehrt, wenn man mit 17-Oxysteroiden belastet, z. B. Compound F, Compound E und Compound S, dann ist nur die 17-Keto-Steroidausscheidung erhöht und nicht die der alkoholischen Pregnanfraktion. Es handelt sich also um zwei Abbau-Wege, die sich wahrscheinlich ausschließen.

**HÜBENER:** Voraussetzung für die Abspaltung der C<sub>2</sub>-Seitenkette ist eine 17- und eine 20-Oxyfunktion, und ferner, daß der A-Ring gesättigt ist.

**HOLZER (Hamburg):** Nehmen Sie an, daß die reversible Oxydo-Reduktion zwischen 17-Ketosteroiden und DPNH das Verhältnis DPN/DPNH reguliert und dadurch den Intermediärstoffwechsel steuern könnte?

**HÜBENER:** Bei in vitro-Versuchen mit C<sub>19</sub>-Steroiden muß daran gedacht werden, daß Enzymreaktionen, die DPN abhängig sind, durch 17-Ketosteroide kompetitiv gehemmt werden.

**HOLZER:** In vivo kommt es darauf an, ob die Konzentration der 17-Ketosteroide so groß ist, daß sie tatsächlich einen Einfluß auf das Verhältnis DPN/DPNH haben kann. In der Leber habe ich eine DPN-Konzentration von etwa  $10^{-3}$  m gefunden. In welcher Konzentration kommen 17-Ketosteroide in der Leber vor?

**HÜBENER:** Ich glaube höchstens  $10^{-6}$  m.

**HOLZER:** Dann kommt eine derartige Regulation nicht in Frage.

**ZIMMERMANN:** Wie können Mikroorganismen im tierischen Organismus Steroidhormone verändern?

**HÜBENER:** Es ist möglich, daß die C<sub>21</sub>- und C<sub>19</sub>-Steroide wie die Gallensäuren einen enterohepatischen Kreislauf durchmachen. Dabei kommen sie im Darm mit Mikroorganismen in Berührung. Hierbei könnten aus einigen Steroiden die sterischen Antipoden der natürlichen Umwandlungsprodukte entstehen.

**FELIX (Frankfurt a. M.):** Ich danke den Herrn Referenten und allen, die sich an der Diskussion beteiligt haben. Ich glaube, es war doch gut, daß wir dieses Colloquium abgehalten und einmal erfahren haben, was man über Bildung und Wirkung der Hormone weiß.