

ERICH VINCKE

Darstellung
von
Hormonpräparaten



S. HIRZEL VERLAG LEIPZIG

DARSTELLUNG VON HORMONPRÄPARATEN

(außer den Sexualhormonpräparaten)

VON

Dr. phil. ERICH VINCKE

apl. Professor für physiologische Chemie an der Universität Hamburg

Mit 2 Abbildungen

3. Auflage
völlig neu bearbeitet



S. HIRZEL VERLAG LEIPZIG

1955

Vorwort zur dritten Auflage

Seit dem Erscheinen der zweiten Auflage sind zehn Jahre vergangen. Seither ist auf dem Hormongebiet eine solche Flut von Arbeiten erschienen, daß praktisch jedes Kapitel völlig neu bearbeitet werden mußte. In besonderem Maße gilt dies beispielsweise wieder für die Nebennierenrindenhormone. Das außerordentliche Anschwellen der Zahl der Veröffentlichungen und das Thema des vorliegenden Buches machten eine Auswahl der zu zitierenden Arbeiten unumgänglich. Eine Wertung der nicht erwähnten Befunde ist damit natürlich nicht verknüpft. Der Verfasser bekennt vielmehr, daß er oft nur schweren Herzens verzichtet hat, zahlreiche weitere wichtige Arbeiten zu zitieren, daß ihm aber aus Raumgründen keine andere Wahl blieb.

Aus diesen Gründen wurde auch das Kapitel über Phytohormone in die vorliegende Auflage nicht mehr aufgenommen. Die Auxine sind zudem ein solches Spezialgebiet der Botanik geworden, daß sie auch deshalb hier nicht mehr erörtert wurden.

Im Gegensatz zu der heute oft anzutreffenden Gepflogenheit, die Literatur am Schlusse jedes Kapitels zusammenzustellen, wurde jede Seite mit den zugehörigen Zitaten versehen. Wir möchten glauben, daß dadurch die Übersichtlichkeit in erheblichem Maße erhöht und die Lektüre des Buches sehr wesentlich erleichtert wird. Die Zeitschriften wurden nach den genormten Titelabkürzungen zitiert, wie sie von M. Pflücke und A. Hawelek (*Periodica Chimica*, 2. Aufl., Akademie-Verlag GmbH., Berlin, und Verlag Chemie GmbH., Weinheim, 1952) vorgeschlagen wurden.

Auch diesmal haben die Herren Fachkollegen wieder in außerordentlichem Maße den Verfasser durch die Übersendung von Sonderdrucken in großer Zahl unterstützt. Ihnen allen ist er ebenso zu größtem Dank verpflichtet wie den zahlreichen Firmen des In- und Auslandes, die alle mit größter Bereitwilligkeit Auskunft über ihre Präparate gaben.

Beim Lesen der Korrekturen hat mich wiederum Herr Dr. rer. nat. R. Pantke, Hamburg, unterstützt. Für seine sehr wertvolle Hilfe und zahlreiche Anregungen sei ihm auch an dieser Stelle verbindlichst gedankt.

Hamburg, im Juli 1955

Erich Vincke

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Aminosäurederivate	2
A. Hormone des Nebennierenmarks	2
A ₁ . Adrenalin	2
1. Chemie	2
2. Nachweis	4
a) Chemische Methoden	4
b) Biologische Methoden	7
3. Darstellung	7
a) Aus Nebennieren	7
b) Synthese	12
A ₂ . Arterenol	17
1. Chemie	17
2. Vorkommen und Nachweis	18
a) Chemische Methoden	20
b) Biologische Methoden	20
3. Darstellung	22
Handelspräparate	25
B. Thyroxin	26
1. Chemie	26
2. Wertbestimmung	34
3. Darstellung	37
a) Schilddrüsenpräparate	37
b) Thyroxin	37
α) Darstellung aus Schilddrüse	37
β) Darstellung aus Jodeiweißpräparaten	39
γ) Darstellung aus Dijodtyrosin	42
δ) Synthese	45
Handelspräparate	54
II. Proteohormone	56
A. Insulin	56
1. Chemie	57
2. Nachweis und Wertbestimmung	62
3. Darstellung	64
a) Rohinsulin	64
b) Gereinigtes Insulin	68
c) Kristallinisches Insulin	72
4. Depotinsuline	76

	Seite
Anhang. Glucagon	88
Handelspräparate	91
B. Parathormon	95
1. Chemie	95
2. Nachweis	96
3. Darstellung	96
Handelspräparate	99
C. Hypophysenhormone	99
C ₁ . Hormone des Hypophysenvorderlappens	103
1. Wachstumshormon	103
a) Physiologie	103
b) Chemie	106
c) Darstellung	106
2. Gonadotropine	108
a) Gonadotropine des Hypophysenvorderlappens	108
α) Physiologie und Chemie	108
β) Nachweisverfahren	111
γ) Darstellung	112
b) Choriongonadotropin	115
α) Vorkommen	115
β) Nachweis	118
γ) Darstellung	118
c) Gonadotropin aus dem Serum trächtiger Stuten	123
α) Vorkommen und Chemie	123
β) Darstellung	124
3. Thyreotropes Hormon	126
a) Physiologie und Chemie	126
b) Nachweis	127
c) Darstellung	128
4. Prolactin	130
a) Physiologie und Chemie	130
b) Nachweis	131
c) Darstellung	132
5. Adrenocorticotropin	134
a) Chemie	134
b) Nachweis und Auswertung	140
c) Darstellung	141
6. Andere Hormone des Hypophysenvorderlappens	148
C ₂ . Hormon des Hypophysenzwischenlappens, Melanophorenhormon	148
C ₃ . Hormone des Hypophysenhinterlappens	149
1. Physiologie und Chemie	149
2. Nachweis und Auswertung	157
3. Darstellung	158
a) Darstellung von Gesamtextrakten des Hypophysenhinterlappens	158
b) Trennung der oxytocischen von der vasopressorischen Komponente	160
c) Synthese des Oxytocins	163

	Seite
Handelspräparate	165
III. Steroidhormone	169
A. Nebennierenrindenhormone	169
1. Physiologie und Chemie	169
2. Nachweis und Auswertung	190
a) Chemische Nachweismethoden	190
b) Biologische Nachweismethoden	193
3. Darstellung	198
a) Darstellung von Nebennierenextrakten und einzelnen Steroid- hormonen aus Nebennieren	198
b) Synthese von Nebennierenrindenhormonen	205
α) Teilsynthese des Corticosterons	205
β) Teilsynthese des Dehydro-corticosterons	206
γ) Teilsynthese des Desoxy-corticosterons	209
$\alpha\alpha$) aus Δ^5 -3-Oxy-ätiolensäure	209
$\beta\beta$) aus Δ^4 -3-Keto-ätiolensäure	212
$\gamma\gamma$) aus Progesteron	213
Anhang. Süßholzextrakt	216
δ) Teilsynthese des Cortisons	218
Handelspräparate	223
IV. Hormone im weiteren Sinne	226
A. Thymushormon	226
B. Herz- und Kreislaufwirkstoffe	228
1. Herzwirksame Stoffe	228
2. Kallikrein	231
3. Weitere kreislaufwirksame Stoffe	233
C. Secretin	235
Handelspräparat	239
V. Anhang	240
VI. Autorenverzeichnis	243
VII. Sachverzeichnis	251

Einleitung

In der vorliegenden Auflage ist die Reihenfolge der behandelten Hormone im Gegensatz zu früher nach ihrer chemischen Konstitution vorgenommen worden. Zuerst wurden die Hormone besprochen, die als Aminosäurederivate angesehen werden können; dann folgen die Proteohormone und die Steroidhormone der Nebennierenrinde. Zum Schluß werden die „Hormone im weiteren Sinne“, wie kreislaufaktive Wirkstoffe und Secretin, erörtert.

Im Interesse einer klaren Darstellung konnte auf eine Schilderung der wichtigsten chemischen, physiologischen und pharmakologischen Eigenschaften der einzelnen Hormone nicht verzichtet werden. Naturgemäß mußte diese aber mit Rücksicht auf den zur Verfügung stehenden Raum so kurz wie möglich gehalten werden. Ein solches Vorgehen ist ohne weiteres durchführbar, da wir heute für wohl jedes Hormon wieder über ausführliche zusammenfassende Darstellungen verfügen, in denen weitere Einzelheiten mühelos nachgelesen werden können. Angaben über derartige Monographien finden sich jeweils bei den einzelnen Hormonen.

Bei jedem Wirkstoff wurden nach Möglichkeit zuerst Physiologie, Chemie und Nachweis besprochen; dann folgen die Darstellungsverfahren. Bei diesen wurde die wissenschaftliche Literatur in noch stärkerem Maße als in früheren Auflagen herangezogen, um manche in der Patentliteratur erst spät erscheinende Verfahren erwähnen zu können. Am Schluß jedes Abschnittes findet sich eine kurze Liste von Handelspräparaten des betreffenden Hormons.

I. Aminosäurenderivate

A. Hormone des Nebennierenmarks

Das Nebennierenmark ist die Bildungsstätte zweier Hormone, des *Adrenalins* und des *Arterenols*.

A₁. Adrenalin

(Syn.: Epinephrin, Epirenan, Paranephrin, Sphygmogenin, Suprarenin)

Das Adrenalin ist das am längsten bekannte Hormon des Nebennierenmarks. Die Nebenniere ist neben den Keimdrüsen dasjenige Organ, bei dem der Begriff der endocrinen Drüsen zuerst Bedeutung gewann. Addison¹⁾ beschrieb im Jahre 1849 ein später nach ihm bekanntes Krankheitsbild, dessen Ursache er im Ausfall der Nebennierenfunktion sah. Die daraufhin einsetzende Erforschung der Physiologie dieses Organs ergab, daß bei ihm *die beiden Gewebe Mark und Rinde scharf voneinander unterschieden werden müssen*, da jedes von ihnen die *Bildungsstätte völlig voneinander verschiedener Wirkstoffe* ist. Bezüglich der Physiologie der Nebennieren sei auf die zusammenfassenden Darstellungen³⁻⁶⁾ verwiesen.

1. Chemie

Durch Oliver und Schäfer⁷⁾ wurden 1895 Nebennierenextrakte dargestellt, die intravenös injiziert u. a. eine starke Blutdrucksteigerung hervorriefen. Die genannten Autoren führten diese Wirkung auf einen im Nebennierenmark enthaltenen Wirkstoff zurück.

In den folgenden Jahren wurde von verschiedenen Seiten (Abel, v. Fürth u. a.) die Reindarstellung dieses Hormons versucht, bis sie unabhängig voneinander Takamine⁸⁾ und Aldrich⁹⁾ gelang. Es wurde von Takamine

1) Addison, T., Lond. Med. Gaz. 43, 517 (1849).

2) Addison, T., On the Constitutional and Local Effects of Disease of the Suprarenal Capsules, London (1855).

3) Bayer, G., i. Handb. inn. Sekretion, Bd. II. Teil 1, S. 467. C. Kabitzsch, Leipzig 1929.

4) Trendelenburg, P., Die Hormone. I. Bd. S. 185. J. Springer, Berlin 1929.

5) Tainter, M. L., und F. P. Luduena, Recent Progr. Hormone Res. 5, 3 (1950). Academic Press, New York.

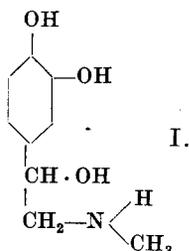
6) Blaschko, H., in G. Pincus und K. V. Thimann, The Hormones, Bd. II, S. 601 (1950). Academic Press, New York.

7) Oliver, G., und E. A. Schäfer, J. Physiology 18, 230 (1895).

8) Takamine, J., J. Physiology 27 XXIX (1901/02).

9) Aldrich, T. B., Amer. J. Physiol. 5, 457 (1901).

Adrenalin genannt. Durch Aldrich, Pauly¹⁾ sowie Bertrand²⁾ wurde die Bruttoformel des Adrenalins zu $C_{19}H_{13}NO_3$ bestimmt. Die Konstitution, mit deren Aufklärung sich besonders v. Fürth, Abel und Pauly beschäftigten, wurde endgültig durch Friedmann³⁾ als die eines 3,4-Dioxyphenyl-äthanol-methylamins (I) festgestellt.



Danach ist also das Adrenalin ein Brenzcatechinderivat; da das dem Brenzcatechinrest in p-Stellung anhängende Kohlenstoffatom der Seitenkette ein asymmetrisches ist, ist es optisch aktiv.

Die *Konstitution* (I) wurde auch durch die von Stolz⁴⁾ und Dakin⁵⁾ ausgeführte Synthese, mit der zum erstenmal ein Hormon künstlich dargestellt wurde, bewiesen. Die Synthese ergab zunächst das optisch inaktive Racemat; die Trennung der beiden optisch wirksamen Isomeren wurde durch Flächer⁶⁾ ausgeführt.

Das hierbei erhaltene L-Adrenalin erwies sich auch hinsichtlich seiner *chemischen und physikalischen Eigenschaften* sowie der physiologischen Wirksamkeit als vollkommen identisch mit dem aus Nebennieren gewonnenen Hormon.

Das L-Adrenalin ist eine schwache, reduzierend wirkende Base vom F. 212° (Zers.) und dem spezifischen Drehvermögen $[\alpha]_D^{20} - 51,4^\circ$ (in salzsaurer Lösung). Es ist in kaltem Wasser nur sehr schwer löslich und unlöslich in absolutem Alkohol, Äther, Benzol, Aceton und Chloroform. In Säuren ist es leicht unter Bildung von Salzen löslich. Das Hydrochlorid ist ein leicht wasserlösliches Salz (F. 206°); im Gegensatz zu ihm sind das Borat und das Bitartrat nicht hyroskopisch. In Deutschland ist das Adrenalin wie in vielen anderen Ländern hauptsächlich in Form des Hydrochlorids als 1⁰/₁₀₀ige Lösung (= 1,2⁰/₁₀₀ Hydrochlorid) officinell.

Das Adrenalin ist nur in vollkommen trockenem Zustand haltbar. In wäßriger, neutraler und besonders alkalischer Lösung wird durch Sauer-

1) Pauly, H., Ber. Dtsch. Chem. Ges. **36**, 2944 (1903); **37**, 1388 (1904).

2) Bertrand, G., Bull. Soc. Chim. France (III) **31**, 1188 (1904).

3) Friedmann, E., Beitr. chem. Physiol. Pathol. **8**, 95 (1906).

4) Stolz, F., Ber. Dtsch. Chem. Ges. **37**, 4149 (1904).

5) Dakin, H. D., J. Physiology **32**, XXXIV (1905).

6) Flächer, F., Zschr. physiol. Chem. **58**, 189 (1908/09).

stoff eine schnelle Oxydation bewirkt, wobei zuerst Rosa- und später Braunfärbung eintritt. In genügend saurer Lösung kommt es nicht zu dieser Zerstörung des Adrenalins; liegt der p_H -Wert einer Adrenalin-Lösung unter 5, so kann sie bei Körpertemperatur stundenlang mit Luft durchspült werden, ohne daß Zersetzung eintritt [Maiweg¹⁾]. Die offiziellen Adrenalin-Lösungen werden deshalb zur Konservierung entweder angesäuert oder mit einem Konservierungsmittel (z. B. Acetonchloroform) versetzt.

Das D-Adrenalin hat dieselben chemischen Eigenschaften wie das L-Adrenalin, jedoch ist seine physiologische Wirksamkeit sehr viel geringer als die des letzten. $[\alpha]_D^{20} + 51,88^\circ$ (in salzsaurer Lösung).

Das L-Adrenalin ist ein das sympathische Nervensystem erregendes Pharmakon. Bezüglich der pharmakologischen Wirkungen muß auf die zusammenfassenden Darstellungen [Trendelenburg²⁾, Meyer und Gottlieb³⁾] verwiesen werden. Eine Zusammenstellung der pharmakologischen Eigenschaften des Adrenalins und seiner zahlreichen Ersatzstoffe ist durch Eichholtz⁴⁾ gegeben worden.

2. Nachweis

a) Chemische Methoden

Bei den chemischen Bestimmungsmethoden handelt es sich meist um *Farbreaktionen*. Als älteste ist hier die schon von Vulpian⁵⁾ im Jahre 1856 beobachtete Grünfärbung des Nebennierenmarks mit *Ferrichlorid* zu erwähnen, die auf dem Charakter des Adrenalins als Brenzatechinderivat beruht. Außer dieser Reaktion hat die von Henle⁶⁾ gemachte Beobachtung der Braunfärbung des Nebennierenmarks mit *Kaliumbichromat*, die zur Bildung des Begriffes „chromaffines System“ Anlaß gab, für die Erforschung dieses Organs Bedeutung erlangt.

Durch *Oxydation* läßt sich, wie erwähnt, Adrenalin in rotgefärbte Verbindungen überführen. So werden, wie ebenfalls Vulpian fand, Adrenalinlösungen durch *Jodzusat* rosarot gefärbt. Dieser Befund wurde später von v. Euler⁷⁾ zur quantitativen Bestimmung ausgebaut. Wie Krauss⁸⁾ und Fränkel und Allers⁹⁾ beobachteten, tritt diese Färbung auch nach Zusatz von Jodsäure bzw. Zusatz von Kaliumbijdodid und Phosphorsäure und Erwärmen bis zum beginnenden Sieden auf. Durch Sulfanilsäure wird die Empfindlichkeit der Reaktion gesteigert. Eine hierauf beruhende Methode wurde von Johannessohn¹⁰⁾ angegeben. Oxydation des Adrenalins tritt ferner

¹⁾ Maiweg, H., Biochem. Zschr. **134**, 292 (1923).

²⁾ Trendelenburg, P., Die Hormone, I. Bd., S. 185. J. Springer. Berlin 1929.

³⁾ Meyer, H. H., Exper. Pharmacologie, 9. Aufl., S. 403. Urban u. Schwarzenberg. Berlin 1936.

⁴⁾ Eichholtz, F., Angew. Chemie **53**, 517 (1940).

⁵⁾ Vulpian, A., C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. **43**, 663 (1856).

⁶⁾ Henle, J., Zschr. rat. Med. **24**, 143 (1865).

⁷⁾ v. Euler, U.S., Biochem. Zschr. **260**, 18 (1933).

⁸⁾ Krauss, L., Biochem. Zschr. **22**, 131 (1909).

⁹⁾ Fränkel, S., und R. Allers, Biochem. Zschr. **18**, 40 (1909).

¹⁰⁾ Johannessohn, F., Biochem. Zschr. **76**, 377 (1916).

beim Erwärmen mit *Quecksilberchlorid* ein; diese Reaktion ist zur Bestimmung des Adrenalins im Blut verwendet worden¹⁾²⁾. Eine Kombination der Jodsäure- und Quecksilberchlorid-Methode liegt bei den von Stuber u. M.³⁾ und Viale u. M.⁴⁾ angegebenen Verfahren vor. Als weitere Methode sei noch die von Ewins⁵⁾ beschriebene erwähnt, bei der Oxydation und Überführung des Adrenalins in rotgefärbte Verbindungen mittels Kaliumpersulfat vorgenommen werden. Sie wird von Barker u. M.⁶⁾ in der von ihnen angegebenen Modifikation bei der Bestimmung des Adrenalin-Gehaltes von Nebennierenextrakten als den anderen kolorimetrischen Methoden überlegen angesehen; nach ihnen erhält man damit Werte, die den mit biologischen Methoden gewonnenen vergleichbar sind.

Die heute sehr oft verwendete kolorimetrische Methode zur Adrenalin-Bestimmung ist von Folin u. M.⁷⁾ beschrieben worden; sie beruht darauf, daß *Phosphorwolframsäure* durch Adrenalin zu einer niedrigeren Oxydationsstufe reduziert wird.

Über die kolorimetrische Bestimmung von Adrenalin (und Arterenol) mit *Arsenmolybdat* vgl. S. 20.

Eine kolorimetrische Mikromethode, die auf der Kuppelung mit diazotiertem Nitranilin beruht, wurde kürzlich von Sinodinos und Vuillaume⁸⁾ angegeben. Die Bestimmung von Adrenalin (im Gemisch mit Arterenol) mittels *Papierchromatographie* beschrieben James und Kilbey⁹⁻¹¹⁾ [vgl. auch v. Euler und Hamberg¹²⁾].

Methoden zur Bestimmung von Adrenalin in Blut, die auf einer *Fluoreszenzreaktion* dieses Stoffes beruhen, wurden von Bloch¹³⁾, Pekkarinen¹⁴⁾ und Annersten u. M.¹⁵⁾ angegeben.

Die Fluoreszenzmethoden beruhen auf der Tatsache, daß Adrenalin bei Oxydation in alkalischer Lösung eine gelbgrüne Fluoreszenz gibt [Loew¹⁶⁾]. Der Mechanismus der Reaktion besteht nach Ehrlén¹⁷⁾ darin, daß zuerst Adrenalin zu Adrenochinon oxydiert wird, einem in saurer Lösung stabilen

¹⁾ Okamoto, K., *Kitasato Arch. exper. Med.* **5**, 79 (1922).

²⁾ Vinet, A., *Bull. Soc. Chim. biol.* **21**, 678 (1939). — In neuester Zeit berichtete Salgó (*Zschr. analyt. Chem.* **138**, 101 (1953)), daß Adrenalin mit Dikaliummercuritetrarhodanid, $K_2Hg(SCN)_4$, eine sehr beständige, intensiv rubinrote Färbung gibt, mit der man noch 0,01 mg Adrenalin/cm Lösung deutlich nachweisen kann. Diese Reaktion ist nach dem genannten Autor für Adrenalin spezifisch.

³⁾ Stuber, B., A. Russmann und E. A. Proebsting, *Zschr. ges. exper. Med.* **32**, 448 (1923).

⁴⁾ Viale, G., und A. Crocetta, *Boll. Soc. ital. Biol. sperim.* **8**, 443 (1933).

⁵⁾ Ewins, A. J., *J. Physiology* **40**, 317 (1910).

⁶⁾ Barker, J. H., C. J. Eastland und N. Evers, *Biochem. J.* **26**, 2129 (1932).

⁷⁾ Folin, O., W. B. C. Cannon und W. Denis, *J. biol. Chemistry* **13**, 477 (1912/13).

⁸⁾ Sinodinos, E., und R. Vuillaume, *Bull. Soc. Chim. biol.* **32**, 409 (1950).

⁹⁾ James, W. O., *Nature [London]* **161**, 851 (1948).

¹⁰⁾ James, W. O., und N. Kilbey, *Nature [London]* **166**, 67 (1950).

¹¹⁾ James, W. O., und N. Kilbey, *J. Pharmacy Pharmacol.* **3**, 22 (1951).

¹²⁾ Euler, U. S. v., und U. Hamberg, *Nature [London]* **163**, 363 (1949).

¹³⁾ Bloch, W., *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **6**, 122 (1948).

¹⁴⁾ Pekkarinen, A., *Acta physiol. scand.* **16**, Suppl. **54**, 1 (1948).

¹⁵⁾ Annersten, S., A. Grönwall und E. Kölw, *Nature [London]* **163**, 136 (1949).

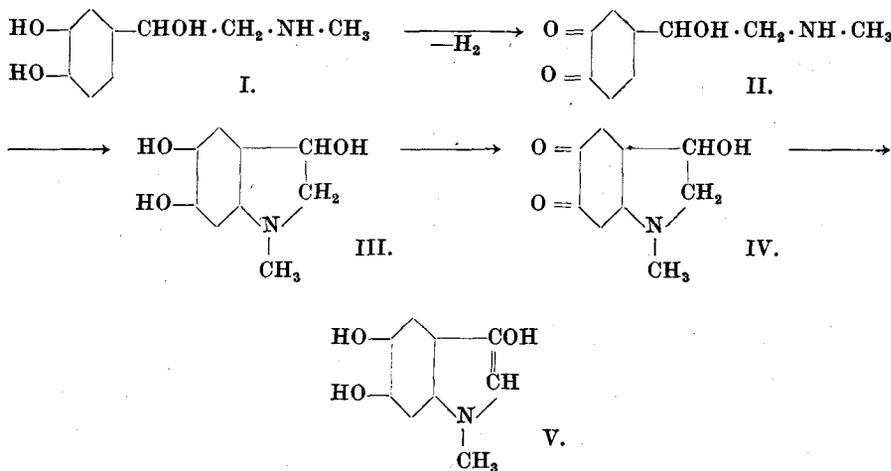
¹⁶⁾ Loew, O., *Biochem. Zschr.* **85**, 295 (1918).

¹⁷⁾ Ehrlén, I., *Farmac. Revy* **1948**, 242.

Stoff, der aber schon von $p_H = 2$ ab durch intramolekulare Umlagerung in Leuko-adrenochrom und weiter in Adrenochrom übergeht (Tab. 1). Durch Auto-reduktion soll dieser Stoff in eine fluoreszierende Verbindung, das 1-Methyl-3,5,6-trioxyindol, umgewandelt werden können. Nach Utewski¹⁾ und West²⁾ wird die Fluoreszenz durch Leuko-adrenochrom in ionisiertem Zustand verursacht. Ausführliche Diskussion, Arbeitsvorschrift und Zahlenangaben über die mit dieser Methode erhaltenen Werte finden sich bei Pekkarinen a. a. O. S. 17).

Tabelle I

Oxydation von Adrenalin zu einer fluoreszierenden Verbindung nach Alkalizusatz
Nach A. Pekkarinen (a. a. O.)



I. Adrenalin, II. Adrenochinon, III Leuco-Adrenochrom, IV Adrenochrom, V „Fluoreszierende Verbindung“, 1-Methyl-3,5,6-trioxyindol.

Wenn auch die *kolorimetrischen Methoden zur Adrenalinbestimmung* bequem auszuführen sind, hatten ihnen doch *verschiedene Mängel* an, die ihre Brauchbarkeit — besonders bei biologischem Material — oft als sehr zweifelhaft erscheinen lassen. So geben z. B. auch oxydativ zersetzte Adrenalinlösungen die Folinische Reaktion; die Farbreaktionen sind keineswegs für L-Adrenalin spezifisch: auch das biologisch sehr viel unwirksamere D-Adrenalin gibt die kolorimetrischen Reaktionen in gleicher Stärke wie das L-Adrenalin, so daß z. B. Verfälschungen von Handelspräparaten auf diesem Wege nicht erkannt werden können. Ferner zeigen viele dem Adrenalin verwandte, jedoch physiologisch nicht in gleicher Weise wirksame Stoffe (z. B. Dioxyphenylalanin) die-

¹⁾ Utewski, A. M., *Advances in modern Biol. UdSSR* 1944, 145. (Chem. Abstracts 1945, 1676.)

²⁾ West, G. B., *Brit. J. Pharmacol.* 2, 121 (1947).

selben Reaktionen. Hierauf ist auch zurückzuführen, daß mit kolorimetrischen Methoden bei der Analyse von Nebennierenextrakten oft viel zu hohe Werte gefunden werden, die in keiner Weise dem wirklichen, durch den biologischen Versuch nachweisbaren Adrenalinegehalt entsprechen [Frowein¹]; besonders störend wirkt hierbei die in Nebennieren enthaltene Ascorbinsäure²). Ein weiterer großer Nachteil ist, daß die chemischen Methoden weit unempfindlicher als die biologischen sind. Die zuverlässigsten Werte werden durch die biologischen Nachweisverfahren erhalten.

b) Biologische Methoden

Die Methode, welche als internationaler Standard zur Auswertung von Adrenalinpräparaten vorgeschlagen worden ist, ist die *Messung der blutdrucksteigernden Wirkung* (dekapierte Katze). Vgl. [Knaffl-Lenz³]. Die gefäßverengernde Wirkung hat außerdem u. a. zu Auswertungsmethoden am überlebenden Kaninchenohr oder an durchströmten Froschbeinen (Läwen-Trendelenburg) oder Krötenbeinen geführt. Die durch Adrenalin verursachte Verminderung der Kontraktionen und Tonussenkung benützt man bei der Prüfung am isolierten Kaninchen- oder Meerschweinchendarm. Eine Methode, welche dieselbe Genauigkeit aufweist wie die Auswertung am Blutdruck der dekapierten Katze, benützt das isolierte perfundierte Froschherz, dessen Kontraktionen durch minimale Mengen Adrenalin sehr verstärkt werden⁴).

Die *empfindlichste Methode* zur biologischen Bestimmung benützt die *Hemmung der Wirkung des Acetylcholins auf den Rattenuterus (Kontraktion) durch Adrenalin*⁵).

Ausführliche Wiedergaben der einzelnen Methoden finden sich in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden⁶) und bei Burn⁷). Bezüglich der Bestimmung von Adrenalin neben Arterrenol vgl. S. 21.

3. Darstellung

a) Aus Nebennieren

Für die Darstellung des Adrenalins aus Organen hat bisher *nur das Vorkommen in Nebennieren* Bedeutung erlangt⁸). Es darf als gesichert angesehen werden,

¹) Frowein, B., Biochem. Zschr. **134**, 559 (1923).

²) Euler, U. S. v., Biochem. Zschr. **260**, 18 (1933).

³) Knaffl-Lenz, E., i. Handb. biol. Arbeitsmethoden. Abt. IV, T. 7 B, S. 1538 (1935).

⁴) West, G. B., J. Physiology **102**, 367 (1943).

⁵) Burn, J. H., Biological Standardization, 2nd Edit., S. 223. Oxford Univ. Press. London 1950.

⁶) Abt. IV, T. 7 B, 2. Hälfte (1935).

⁷) Burn, J. H., a. a. O. S. 218.

⁸) Über den Adrenalinegehalt anderer Organe vgl. Trendelenburg (Handb. d. exper. Pharmakologie II, T. 2, S. 1130. Jul. Springer, Berlin 1924). Es sei hier noch erwähnt, daß Abel und Macht (J. Pharmacol. exp. Therapeut. **3**, 319 [1911/12]) aus 5,42 g Sekret der Parotisdrüsen von *Bufo agua* 0,243 g Adrenalin isolieren konnten. Deulofeu

daß die Bildung des Adrenalins im Nebennierenmark erfolgt. Zahlreiche Untersuchungen sind darüber angestellt worden, welche Verbindungen dabei als Vorstufe in Frage kommen.

Offensichtlich wird die Adrenalinmolekel aus Nahrungsbestandteilen aufgebaut. Allgemein werden hierbei Tyrosin oder Phenylalanin als Muttersubstanzen des Hormons angesehen (vgl. Tab. 2), da ihre Konstitution der des Adrenalins am ähnlichsten ist. In der Tat zeigten Gurin und Delluva¹⁾ in Fütterungsversuchen an Ratten, denen Phenylalanin verabfolgt wurde, das in der Seitenkette mit ¹⁴C bzw. (im Kern) mit Tritium markiert war, daß bei der Adrenalinsynthese im Organismus sowohl der aromatische Kern als auch die Seitenkette vom Phenylalanin stammen. Moss und Schoenheimer²⁾ bewiesen, daß diese Aminosäure in Tyrosin umgewandelt wird. Vom Tyrosin seinerseits wurde bereits von Knoop³⁾ angenommen, daß es als Muttersubstanz in Betracht kommen könne.

Zur Umwandlung des Tyrosins in Adrenalin werden als Minimum vier chemische Reaktionen (2 Oxydationen, eine Decarboxylierung und eine N-Methylierung) benötigt. Die hierdurch theoretisch möglichen 24 (= 4!) Reaktionswege schrumpfen nach Diskussion der experimentellen Befunde [Blaschko⁴⁾] auf die in Tabelle 2 wiedergegebenen zusammen.

Auch Holtz u. M.⁵⁾ sehen als physiologisch wichtigste Muttersubstanz, die den Nebennieren für die Adrenalinsynthese zur Verfügung steht, das Oxytyramin an und diskutieren die Adrenalinbildung aus dieser Substanz über Epinin bzw. Arterenol⁷⁾.

Von anderen Autoren werden etwas abweichende Bildungsmöglichkeiten diskutiert. West⁶⁾ z. B. hält es für möglich, daß im Organismus zwei Prozesse nebeneinander ablaufen: einmal die in Tabelle 2 wiedergegebene Reaktionskette nach Blaschko und zum anderen die Bildung des Adrenalins über Tyrosin-Tyramin-p-Oxyphenyläthanolamin (p-Nor-synephrin)-Arterenol (vgl. Tab. 2).

Eine Zusammenstellung von Daten über den Adrenaliningehalt von Nebennieren verschiedener Säugetierarten findet sich bei Sato und M.⁹⁾ (Tab. 3). Neueste Werte (auch für Arterenol) siehe S. 19.

Zur Darstellung des Adrenalins aus Nebennieren bediente man sich — auch schon vor der Reindarstellung dieses Hormons — der wäßrigen oder alkoholischen Extraktion.

Zschr. physiol. Chem. **237**, 171 [1935] erhielt aus 45 g des getrockneten Giftes von *Bufo arenarum* 18 mg Adrenalin und aus 50 g Trockengift von *Bufo marinus* 30 mg Adrenalin (Deulofeu und Mendive, Liebigs Ann. Chem. **534**, 288 [1938]). Der papierchromatographische Nachweis von Adrenalin (neben Oxytyramin) im Gift der Parotisdrüse von *Bufo marinus* wurde in jüngster Zeit von Gregermann (J. gen. Physiol. **35**, 483 [1952]) erbracht. Noradrenalin und Epinin waren anscheinend nicht vorhanden.

1) Gurin, S., und A. M. Delluva, J. biol. Chemistry **170**, 545 (1947).

2) Moss, A. R., und R. Schoenheimer, ebenda **135**, 415 (1940).

3) Knoop, F., Ber. Dtsch. Chem. Ges. **52**, 2266 (1919); **53**, 716 (1920).

4) Blaschko, H., J. Physiology **101**, 337 (1942/43); The Hormones, **2**, 601 (1950).

5) Holtz, P., und G. Kroneberg, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **206**, 150 (1949).

6) Holtz, P., und H. J. Schümann, ebenda S. 484.

7) In Nebennierenmarkextrakten von Schaf und Rind fanden Shepherd und West [J. Physiology **120**, 15 (1953)] beachtliche Mengen Oxytyramin.

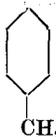
8) West, G. B., J. Pharmacy Pharmacol. **5**, 311 (1953).

9) Kojima, T., M. Nemoto, S. Saito, H. Sato, und T. Suzuki, Tohoku. J. exp. Med. **19**, 205 (1932).

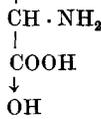
Tabelle 2
Biosynthese des Adrenalins

— nach Blaschko (a. a. O.)

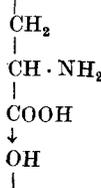
- - - nach West (a. a. O.)



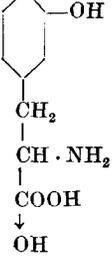
Phenylalanin



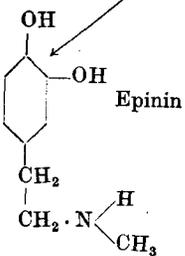
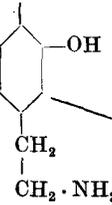
Tyrosin



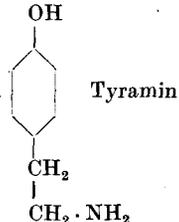
Dioxy-phenylalanin
(Dopa)



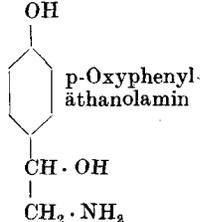
Oxytyramin
(Dioxy-phenyläthylamin)



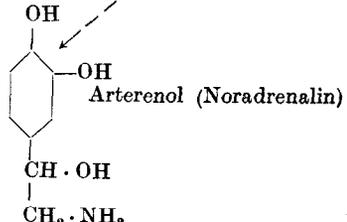
Epinin



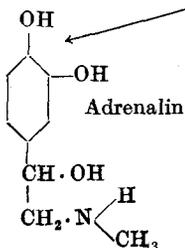
Tyramin



p-Oxyphenyl-
äthanolamin



Arterenol (Noradrenalin)



Adrenalin

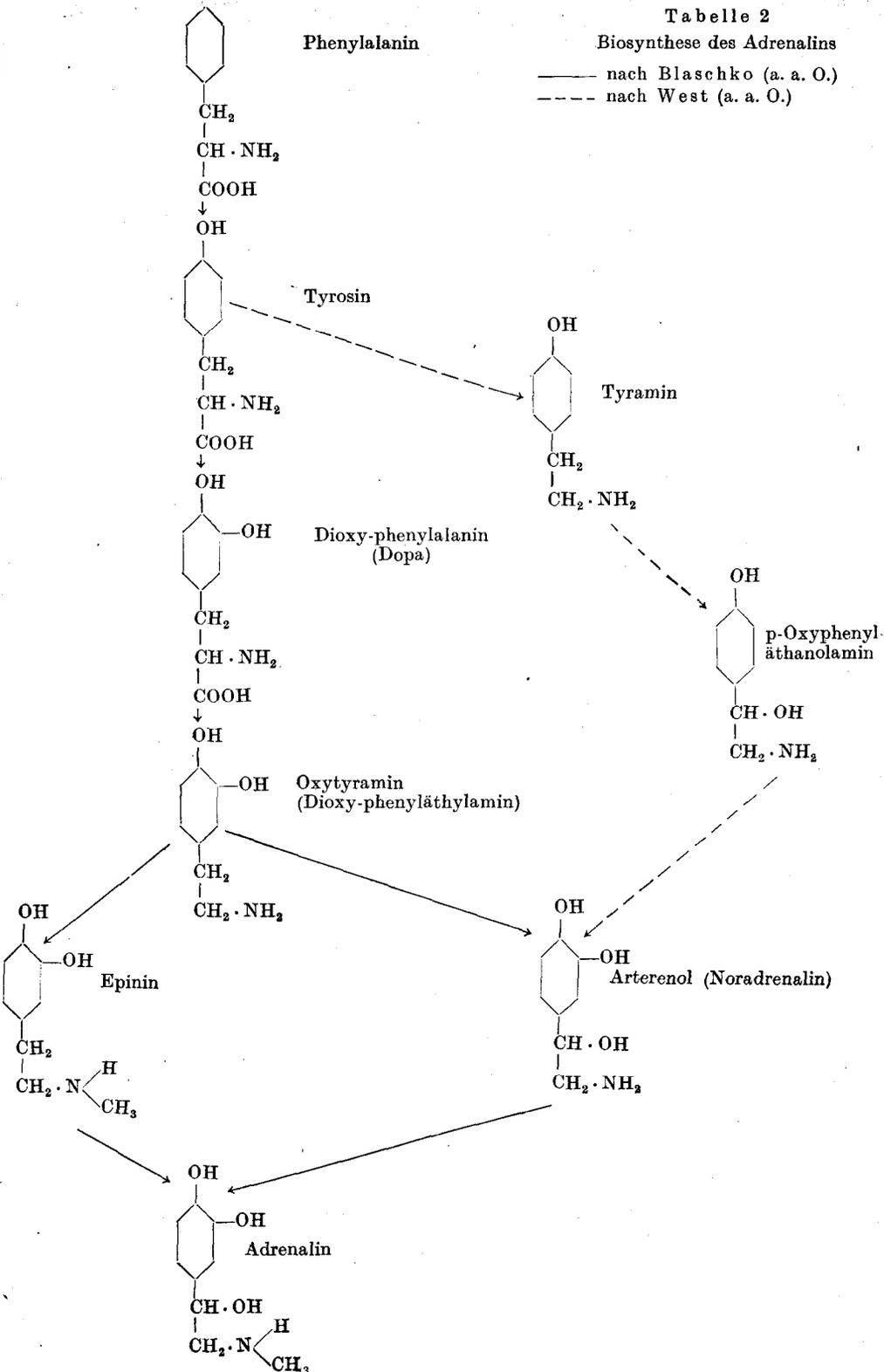


Tabelle 3

Tierart	Untersuchungs- material	Adrenalinhalt der Drüse in ‰ bei der Auswertung am	
		Kaninchen- darm	Blutdruck (dekap. Hund)
Kaninchen	Gesamtdrüse	0,5	—
Schwein	Gesamtdrüse	4,0	3,0
	Marksubstanz	16,0	11,5
Rind	Gesamtdrüse	4,5	3,75
	Marksubstanz	15,0	11,5
Pferd	Gesamtdrüse	2,35	2,35
	Marksubstanz	15,0	13,5

So wird angegeben¹⁾, Nebennieren mit Wasser oder Alkohol zu extrahieren und aus dem eingengten, das „Sphygmogenin“ enthaltenden Extrakt die wertlosen, physiologisch unwirksamen Begleitsubstanzen durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Wasser oder Alkohol und mit Aceton abzuscheiden.

In einem anderen von Hofmeister und v. Fürth²⁾ angegebenen Verfahren werden frische, zerkleinerte tierische Nebennieren mit 50%iger Zinksulfatlösung extrahiert. Die durch Eindampfen eingengte und filtrierte Extraktionsflüssigkeit wird so lange mit Ammoniak versetzt, wie ein Niederschlag entsteht. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen, in 95%igem Alkohol suspendiert und mit Schwefelsäure bis zur sauren Reaktion versetzt. Die saure Lösung wird durch einhalbstündiges Kochen mit Zinkstaub reduziert, mit Zinkoxyd neutralisiert und darauf filtriert. Das Filtrat wird durch Zusatz von Alkohol und Äther und eintägiges Stehen in der Kälte von Zinksulfat befreit. Der Rückstand des Alkohol-Ätherauszuges wird in beliebiger Konzentration in Wasser aufgelöst.

Später³⁾ wird von denselben Autoren die Darstellung der Eisenverbindung des nach dem vorstehenden Verfahren dargestellten Adrenalins beschrieben.

Takamine⁴⁾ extrahiert die zerkleinerten Nebennieren von Schafen und Rindern mit schwach essig- oder salzsaurem Wasser bei 95°. Der Rückstand wird nochmals extrahiert. Die vereinigten Filtrate werden durch Eindampfen eingengt. Dann wird Alkohol zugegeben, bis keine weitere Fällung eintritt. Das Filtrat wird im Vakuum eingedampft und mit Ammoniak oder Ammonchlorid und Natronlauge bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt. Das Adrenalin kristallisiert innerhalb einiger Stunden aus.

An anderer Stelle⁵⁾ gibt Takamine folgendes Verfahren an: die Nebennieren werden wiederholt in angesäuertem Wasser 5 Stunden lang bei 50–80° digeriert, und zwar, da das Adrenalin leicht durch Oxydation unwirksam wird, am besten in einer Kohlensäureatmosphäre; zum Schluß wird die Temperatur für 1 Stunde auf 90–95° erhöht, wodurch die Hauptmenge der Eiweißkörper koaguliert wird. Der wäßrige Extrakt wird im Vakuum eingengt und mit dem zwei- bis dreifachen Volumen Alkohol versetzt und filtriert. Hierauf wird der Alkohol im Vakuum abdestilliert; zum Rückstand fügt man Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion; in einigen Stunden scheidet sich ein undeutlich kristalliner Niederschlag von unreinem Adrenalin

1) DRP. 89 698 v. 26. 3. 96. Chem. Fabrik v. Heyden, Dresden.

2) DRP. 103 865 v. 16. 7. 98. F. Hofmeister und O. v. Fürth, Straßburg.

3) DRP. 113 811 v. 14. 12. 99. F. Hofmeister und O. v. Fürth, Straßburg.

4) Takamine, J., J. Physiology 27, XXIX (1901/02).

5) Takamine, J., Amer. J. Pharmacy Sci. support. publ. Health 73, 523 (1901).

aus. Dieses wird in angesäuertem Alkohol gelöst und die Lösung zur Ausfällung von Verunreinigungen mit viel Äther versetzt; das Filtrat wird im Vakuum abgedampft und mit Ammoniak gefällt. Diese Reinigungsprozedur wird, falls nötig, zwei- bis dreimal wiederholt. — Nach einer Patentschrift dieses Autors¹⁾ wird ein in üblicher Weise unter Vermeidung von Oxydation gewonnener und durch geeignete Mittel von Albuminen, Phosphaten u. dgl. befreiter wäßriger Auszug von Nebennieren im Vakuum eingengt, bis sein spezifisches Gewicht 1,05—1,15 beträgt und dann mit kaustischen Alkalien oder Erdalkalien (Natrium-, Kalium-, Calcium-, Bariumhydroxyd u. dgl.) bis zur stark alkalischen Reaktion versetzt. Darauf wird eine dem halben Molekulargewicht der zugesetzten Lauge entsprechende Menge Ammoniumchlorid zugegeben. Bei 12—24stündigem Stehen scheidet sich das Adrenalin in kristallinischer Form aus. Der Zusatz von Ammonchlorid soll verhindern, daß sich die gefällte Substanz in der überschüssigen Lauge wieder auflöst; in dem freier werdenden Ammoniak ist Adrenalin nicht löslich. Statt mit kaustischen Alkalien oder Erdalkalien kann es auch mit Ammoniak gefällt werden. Es wird durch Umkristallisieren aus Wasser oder durch Auflösen in schwacher Säure oder Lauge und Auskristallisieren oder Ausfällen durch Neutralisation gereinigt.

Nach Aldrich²⁾ werden die feinzerteilten Nebennieren wiederholt mit essigsauerm Wasser extrahiert bei einer Temperatur, die niedrig genug ist, um wesentliche Eiweißfällung zu verhindern. Die vereinigten Extrakte werden zum Sieden erhitzt und nach Abkühlen die koagulierten Proteine durch Filtrieren entfernt. Das Filtrat wird im Vakuum bei 45° eingengt und nach Abkühlen mit neutralem Bleiacetat bis zur völligen Fällung versetzt. Nach Abfiltrieren des Niederschlages wird das überschüssige Blei aus dem Filtrat durch Schwefelwasserstoff entfernt. Das im Vakuum eingengte Filtrat wird mit dem vier- bis fünffachen Volumen 94%igen Alkohols versetzt und filtriert; das alkoholische Filtrat wird sehr weitgehend eingengt — eventuell zur Trockne —, mit Wasser aufgenommen und filtriert. Aus dem Filtrat wird das Adrenalin mit Ammoniak gefällt, mit sehr verdünntem Ammoniak und kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Nach Abel³⁾ gibt man zu 11,13 kg zerkleinerten Ochsendrüsen in kleinen Anteilen unter Umschütteln das gleiche Volumen einer Lösung von 175 g Trichloressigsäure in 5 l absoluten Alkohols. Nach Stehen über Nacht wird die Mischung filtriert und das Filtrat (5—6 l) im Vakuum auf ungefähr 380 ccm eingengt. Nach Filtrieren gibt man zum Filtrat langsam Ammoniak ($d = 0,94$), bis der Ammoniakgeruch nicht mehr verschwindet. Das ausgeschiedene Adrenalin wird abgesaugt und mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen. Es folgen eine zweite und dritte Extraktion mit 30—40 g Trichloressigsäure in 5—6 l 60—70%igen Alkohols. Ausbeute an Rohadrenalin 35,36 g = 0,3%.

Bertrand⁴⁾ bringt präparierte, zerkleinerte Pferdenebennieren in Portionen von je 600 g Brei in 2 l-Flaschen, versetzt jede Portion mit 5 g feingepulverter Oxalsäure und füllt mit 95%igem Alkohol auf. Man verschließt gut, bringt nach zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur, wobei man gelegentlich umschüttelt, das Ganze auf ein Koliertuch und preßt aus. Die filtrierte Lösung wird im Vakuum bei Wasserdampfbadtemperatur eingengt, bis der Alkohol entfernt ist, und zur Entfernung von Lipoiden mit Petroläther ausgeschüttelt. Man läßt in einem Scheidetrichter absitzen, fällt die untere wäßrige Schicht mit neutralem Bleiacetat und zentrifugiert. Ein eventueller Bleiüberschuß wird mit verdünnter Schwefelsäure (durch Überführen in Bleisulfat) entfernt. Man engt im Vakuum auf etwa 100 ccm ein und fällt das Adrenalin mit einem geringen Überschuß von Ammoniak. Es wird durch Waschen mit Wasser, Auflösen

¹⁾ DRP. 131 496 v. 29. I. 01. J. Takamine, New York.

²⁾ Aldrich, T. B., Amer. J. Physiol. 5, 457 (1901).

³⁾ Abel, J. J., Ber. Dtsch. Chem. Ges. 36, 1839 (1903).

⁴⁾ Bertrand, G., Bull. Soc. Chim. France (III) 31, 1188 (1904).