gesichert. Im Zuge des Glucoseabbaues wurden im Substrat Gluconsäure, 2-Keto- und 5-Ketogluconsäure sowie Brenztraubensäure und α-Ketoglutarsäure papierchromatographisch nachgewiesen.

2. Aus Versuchen in Medien mit Glycerin und Ammoniumsulfat bzw. Ca-lactat und Harnstoff, bei denen in einer Passage bis zu zehnfache Zellvermehrung (unter Einbeziehung der Vorpassagen in demselben Medium Gesamtvermehrung auf das 10^7-fache) erzielt wurde, geht hervor, daß die Glutaminsäuresynthese über einen Mechanismus erfolgt, der die Kondensation von Verbindungen mit weniger als vier C-Atomen umfaßt.

3. Untersuchungen zur Kenntnis der Kondensationspartner sind im Gange; nach den vorliegenden Resultaten kinetischer Versuche in Glycerinmedien mit Zusatz von C_2-Verbindungen wird vermutet, daß es sich um die Kondensation von Brenztraubensäure mit einer „aktiven C_2-Verbindung" [aktivem Acetaldehyd[13]) oder dessen dehydrierter Form] handelt.

Eine ausführliche Darstellung wird an anderer Stelle erscheinen.

Institut für Biochemische Technologie und Mikrobiologie, Technische Hochschule, Wien (Österreich)

M. RÖHR

Eingegangen am 13. April 1961

[1]) LOCKWOOD, L.B., u. F.H. STODOLA: J. Biol. Chem. **164**, 81 (1946). — [2]) KOEPSELL, H.J.: J. Biol. Chem. **186**, 743 (1950). — KOEPSELL, H.J., F.H. STODOLA u. E.S. SHARPE: J. Amer. Chem. Soc. **74**, 5142 (1952). — [3]) STOKES, F.N., u. J.J.R. CAMPBELL: Arch. Biochem. **30**, 121 (1951). — [4]) MASUO, E., u. Y. WAKIZAKA: J. Agr. Chem. Soc. Japan **29**, 476, 550 (1955). — [5]) WEIMBERG, R., u. M. DOUDOROFF: J. Biol. Chem. **217**, 607 (1955). — [6]) ASAI, T., K. AIDA, Z. SUGISAKI u. N. YAKEISHI: J. Gen. Appl. Microbiol. **1**, 308 (1955). — [7]) DATTA, A.G., u. H. KATZNELSON: Nature [London] **179**, 153 (1957). — [8]) MUROOKA, H., Y. KOBAYASHI u. T. ASAI: J. Gen. Appl. Microbiol. **6**, 256 (1960). — [9]) KATAGIRI, H., T. TOCHIKURA u. K. IMAI: Annual Meeting Agr. Chem. Soc. Japan, 1952. — KATAGIRI, H., u. T. TOCHIKURA: Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **22**, 143 (1958). — [10]) KING, T.E., u. V.H. CHELDELIN: J. Biol. Chem. **198**, 127 (1952). — [11]) FEWSTER, J.A.: Biochemic. J. **69**, 582 (1958). [12]) STOUTHAMER, A.H.: Antonie v. Leeuwenhoek **25**, 241 (1959). — [13]) KRAMPITZ, L.O., G. GRUELL, C.S. MILLER, J.B. BICKING, H.R. SKEGGS u. J.M. SPRAGUE: J. Amer. Chem. Soc. **80**, 5893 (1958).

12β-Hydroxy-Steroide

Die Einführung von Hydroxylgruppen in die 12-Stellung von Steroiden wurde bisher von SCHUBERT u. Mitarb.[1],[2]) sowie von FRIED u. Mitarb.[3a]) beschrieben. Während SCHUBERT mit dem Stamm Calonectria decora gleichzeitig eine 12β- und 15α-Hydroxygruppe einführte, gelang FRIED die Substitution (12α) lediglich dann, wenn in 9,11-Stellung eine Doppelbindung anwesend war.

Wir haben gefunden[4]), daß es mit Hilfe des Mikroorganismus Coniothyrium hellebori möglich ist, lediglich eine 12β-Hydroxy-Gruppe in Steroide der Pregnan-Reihe einzuführen. Es ist bereits beschrieben[3b]), daß Kulturen von C. hellebori in der Lage sind, 11β-Hydroxy-Gruppen in Pregnan-Verbindungen einzuführen.

Bei der Fermentation von REICHSTEINs Verbindung S mit C. hellebori (Rasse 078 unserer Sammlung) entstanden nebeneinander

Hydrocortison, 12β-Hydroxy-Reichstein S,
6β-Hydroxy-Reichstein S,

wobei die Ausbeute an der 12β-Hydroxy-Verbindung (II) (vgl. Tabelle) bei geeigneten Bedingungen etwa 25% betrug.

Tabelle

		Fp.	ε*)	Summenformel	Analyse**) C	H	O
II	4-Pregnen-12β, 17α, 21-triol-3,20-dion	177/179 −181°	240 = 16500	$C_{21}H_{30}O_5$	69,7 *69,3*	8,3 *8,7*	22,0 *22,3*
IIa	4-Pregnen-12, β, 17α, 21-triol-3,20-dion-12, 21-diacetat	157−160°	240 = 17400	$C_{25}H_{34}O_7$	67,3 *66,8*	7,7 *7,8*	25,1 *25,2*
III	1,4-Pregnandien-12β, 17α,21-triol-3,20-dion	228/232 −234°	242 = 15760	$C_{21}H_{28}O_5$	70,0 *69,9*	7,8 *8,1*	22,2 *22,1*
IV	1,4-Pregnandien-12β, 17α, 20,21-tetraol-3-on	240/245 −247°	244 = 15780	$C_{21}H_{30}O_5$	69,7 *69,6*	8,3 *8,2*	22,0 *21,8*
V	4-Androsten-12β, ol-3,20-dion	163/164 −165°	240 = 16550	$C_{19}H_{26}O_3$	75,5 *75,8*	8,7 *9,2*	15,9 *16,1*
VI	1,4-Androstadien-12β, ol-3,20-dion	164−166°	243 = 14600	$C_{19}H_{24}O_3$	76,0 *75,8*	8,1 *8,7*	15,9 *15,9*
VII	4-Androsten-12β, 17β-diol-3-on	115/117 −119°	240 = 15700	$C_{19}H_{28}O_3$ $(1H_2O)$	70,7 *70,3*	9,4 *9,5*	19,9 *19,4*
VIII	4-Androsten-3β, 12β, 17β-triol	171,5/173 175,5°	–	$C_{19}H_{30}O_3$	74,3 *72,1*	10,1 *10,2*	15,6 *15,3*

*) In Methanol. — **) Obere Reihe: berechnet, untere Reihe (*kursiv*): gefunden.

Mit Hilfe von Kulturen des Corynebact. simplex überführten wir das 12β-Hydroxy-Reichstein S in die entsprechende 1-Dehydro-Verbindung (III), wobei als Nebenreaktion die Hydrierung der 20-Carbonyl-Gruppe zu beobachten war (IV).

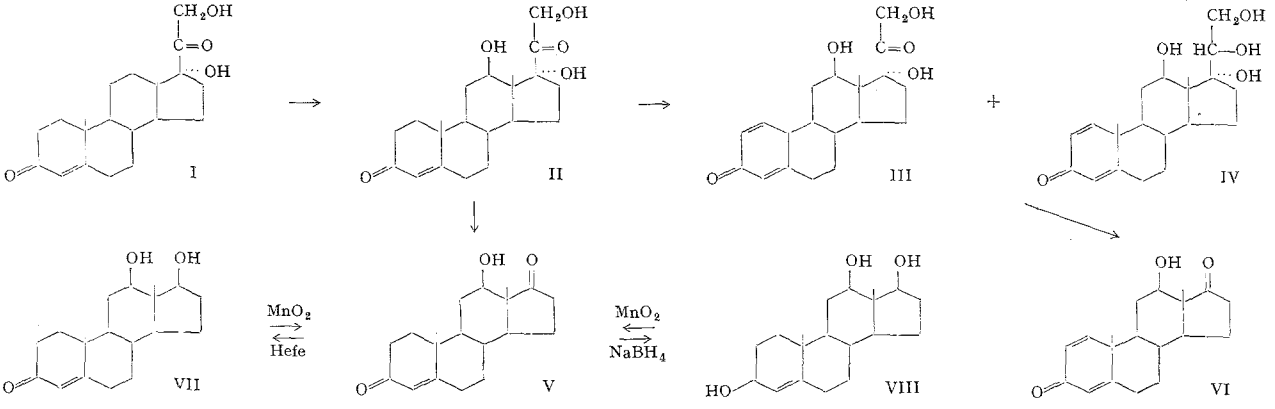
Durch Seitenkettenabbau mit Natriumbismutat gelangten wir zum 12β-Hydroxy-androsten-dion (V) und zum 1-Dehydro-12β-hydroxy-androsten-dion (VI). Die Reduktion des 12β-Hydroxy-androsten-dions mit Natrium-borhydrid führte zum 3β, 12β, 17β-androsten-triol (VIII). Die Behandlung des Triols mit Mangandioxyd ergab überraschenderweise nicht 12β-Hydroxy-testosteron, sondern die Ausgangsverbindung (V). Die Inkubation von 12β-Hydroxy-androsten-dion (V) mit Saccharomyces cerevisiae lieferte dagegen in glatter Reaktion das 12β-Hydroxy-testosteron (VII). Auch diese Verbindung war mit Mangandioxyd leicht in die 17-Keto-Verbindung überzuführen.

(Die leichte Oxydierbarkeit der 17β-Hydroxy-Gruppe in Anwesenheit der 12β-Hydroxy-Gruppe hat ihre Parallele in der von uns beobachteten leichten Oxydierbarkeit von 14α-Hydroxy-testosteron und 11β-Hydroxy-testosteron. Der Grund für diese Reaktionserleichterung scheint in einer verstärkten Adsorption der Steroidmolekel an die Mangandioxyd-Oberfläche zu liegen, wobei die Ursache für die verstärkte Adsorption eine Hydroxylgruppe im Ring C des Steroidskeletts sein kann. Die geometrische Anordnung scheint dabei ohne Bedeutung zu sein.)

Verwendet man als Ausgangsmaterial bei der Fermentation mit C. hellebori Progesteron, so treten als Reaktionsprodukte 11β-Hydroxyprogesteron und 12β-Hydroxy-progesteron auf. Daneben entstehen noch zwei Diole, deren Struktur vorerst noch nicht vollständig geklärt werden konnte.

Hauptlaboratorium der Schering A.G., Berlin (West)

GERHARD RASPÉ und KLAUS KIESLICH

Eingegangen am 9. März 1961

[1]) SCHUBERT, A. u. Mitarb.: Chem. Ber. a) **90**, 2576 (1957); b) **91**, 1856 (1958); c) Angew. Chem. **70**, 742 (1958). — [2]) *Jenapharm.:* D. A. S. 1067020. — [3]) *Olin Mathieson Chem. Co.:* a) U.S.P. 2914543; b) U. S. P. 2793163. — [4]) *Schering A.G.:* D. B. P. 1049859.