

### 55. Zur Kenntnis der Triterpene.

(87. Mitteilung<sup>1</sup>).

#### Über verschiedene Umwandlungsprodukte des Lanosterins

von L. Ruzicka, Ed. Rey und A. C. Muhr<sup>2</sup>.

(11. II. 44.)

In früheren Mitteilungen dieser Reihe haben wir<sup>3</sup>) über Umwandlungsprodukte der zweifach ungesättigten tetracyclischen Elemiharzsäuren  $C_{30}H_{48}O_3$  berichtet und dabei verschiedentlich auf experimentelles Material hingewiesen, wonach sich eine auffallende Parallele im chemischen Verhalten dieser Triterpensäuren einerseits, und der gleichfalls doppelt ungesättigten tetracyclischen Triterpenalkohole  $C_{30}H_{50}O$  Lanosterin<sup>4</sup>) und Kryptosterin<sup>5</sup>) anderseits ergibt. Zur genaueren Verfolgung dieser Zusammenhänge hatten wir die Bearbeitung der beiden Alkohole aufgenommen. Ferner haben vor kurzer Zeit *Wieland* und *Benend*<sup>6</sup>), sowie *Wieland* und *Joost*<sup>7</sup>) die Resultate ihrer Arbeiten über Lanosterin und Kryptosterin veröffentlicht, die teilweise von den von uns erhaltenen Ergebnissen abweichen, so dass wir zu einer vergleichenden Erörterung des bearbeiteten Gebietes veranlasst sind.

Die Reindarstellung des Lanosterins aus dem Wollfett der Schafe bietet grosse Hindernisse, obwohl die in der Literatur enthaltenden Arbeitsvorschriften<sup>8</sup>) diese Operation — allerdings in Unkenntnis der wirklich vorliegenden, weiter unten geschilderten Schwierigkeiten — als eine relativ einfache Aufgabe hinstellen. Für unsere Versuche stellten wir uns einen Acetonextrakt aus dem Unverseifbaren des Wollfettes her. Die darin enthaltenen Fettalkohole lassen sich mit Hilfe der chromatographischen Trennungsmethode vollständiger entfernen als durch Auskochen mit Benzin<sup>9</sup>), wonach das auf diese Weise vorgereinigte Alkoholgemisch durch oftmaliges Auskochen mit Methanol leicht von Cholesterin befreit werden kann<sup>10</sup>). Unsere zahlreichen

<sup>1</sup>) 86. Mitt. Helv. **27**, 183 (1944).

<sup>2</sup>) Vgl. A. C. Muhr, Über die triterpenartigen Bestandteile des Wollfettes, Diss. E.T.H. Zürich 1944.

<sup>3</sup>) 65. Mitt. Helv. **25**, 439 (1942); 68. Mitt. Helv. **25**, 1375 (1942); 69. Mitt. Helv. **25**, 1403 (1942); 79. Mitt. Helv. **26**, 1638 (1943); 80. Mitt. Helv. **26**, 1659 (1943).

<sup>4</sup>) Windaus und Tschesche, Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

<sup>5</sup>) Wieland, Pasedach und Ballauf, A. **529**, 68 (1937).

<sup>6</sup>) Z. physiol. Ch. **274**, 215 (1942). <sup>7)</sup> A. **546**, 103 (1941).

<sup>8</sup>) Lipschütz und Vietmeyer, Z. physiol. Ch. **155**, 243 (1926); Windaus und Tschesche, I. c.; Dorée und Garratt, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 141 T, 355 T (1933).

<sup>9</sup>) Lipschütz und Vietmeyer, Z. physiol. Ch. **155**, 241 (1926).

<sup>10</sup>) Eine genaue Arbeitsvorschrift findet man in der Diss. Muhr, E.T.H. Zürich 1944.

Versuche, die chromatographische Methode auch zur Trennung des so als schwerlöslicher Anteil gewonnenen „Isocholesterins“<sup>1)</sup> (Smp. 136—139°) heranzuziehen, schlugen fehl, so dass wieder zu der alten *Windaus'schen* Methode der fraktionierten Krystallisation des acetylierten Gemisches Zuflucht genommen werden musste. Im Gegensatz zu *Windaus* und *Tschesche*<sup>2)</sup>, die ausser Lanosterin (angeblich 92 %) und Agnosterin (angeblich 8 %) keine weiteren Verbindungen im „Isocholesterin“ aufgefunden haben, konnten wir daraus über die Acetate noch zwei weitere Triterpenalkohole isolieren. In den leichtlöslichen Fraktionen sammelt sich das Lanosteryl-acetat an. Der Schmelzpunkt und die spez. Drehung stimmten mit denjenigen der Literatur vollkommen überein. Aus einer Fraktion von mittlerer Löslichkeit erhielt man nach mehrtägigem Stehen sechseckige Prismen, die sich eindeutig mit dem erstmalig durch katalytische Hydrierung von Lanosteryl-acetat gewonnenen Dihydro-lanosteryl-acetat<sup>3)</sup> als identisch erwiesen. Nach fortgesetztem Umkrystallisieren der schwerlöslichen Anteile, verbunden mit chromatographischer Trennung, waren zwei weitere Acetate erhältlich, die sich nach Schmelzpunkt, spez. Drehung und Absorptionsspektrum mit Agnosteryl-acetat und  $\gamma$ -Lanosteryl-acetat<sup>4)</sup> als identisch erwiesen. Die Mutterlaugen der leichtlöslichen Anteile enthielten noch grössere Mengen eines unter 110° schmelzenden Gemisches, auf dessen Verarbeitung vorläufig verzichtet wurde. Es steht daher nicht fest, ob neben den vier bis jetzt isolierten Verbindungen noch weitere triterpen- oder vielleicht steroidartige Bestandteile im Wollfett der Schafe enthalten sind.

Über den mengenmässigen Anteil der einzelnen Komponenten lassen sich keine genaueren Angaben machen, da die Fraktionen von mittlerer Löslichkeit von uns nur teilweise zerlegt wurden. Lanosterin und Dihydro-lanosterin machen zusammen ungefähr 50 % des „Isocholesterins“ aus. Annähernd 20 % entfallen auf das  $\gamma$ -Lanosterin, während Agnosterin mengenmässig zurücktritt. Der Anteil an Dihydro-lanosterin ist sehr schwer abzuschätzen, was aus folgendem hervorgehen mag. Bei weiterer Aufteilung der mittleren Fraktionen der Acetate gelangten wir zu Krystallisaten, deren Schmelzpunkt, spez. Drehung und Habitus dem Lanosteryl-acetat vollständig glichen. Erst mit Hilfe der Mikroanalysen liess sich erkennen, dass einzelne dieser Fraktionen wasserstoffreicher und kohlenstoffärmer sind. Die gleichen Erscheinungen traten übrigens auch beim Versuch auf, Agnosterin von  $\gamma$ -Lanosterin bzw. ihre Acetate

<sup>1)</sup> Schulze, B. 5, 1775 (1872); 6, 252 (1873).

<sup>2)</sup> Z. physiol. Ch. 191, 55 (1930).

<sup>3)</sup> Windaus und Tschesche, Z. physiol. Ch. 191, 55 (1930).

<sup>4)</sup> Das  $\gamma$ -Lanosterin war bisher noch nicht als Naturprodukt bekannt, sondern wurde von Lionel, Bellamy und Dorée, Soc. 1941, 178, durch Oxydation von Dihydro-lanosteryl-acetat mit Selendioxyd gewonnen.

voneinander zu trennen. Ausserdem wird die Arbeit dadurch erschwert, dass bei Verbindungen der Lanosterin- und Agnosterin-Reihe von ähnlichem Schmelzpunkt<sup>1)</sup> Schmelzpunktserniedrigungen nicht auftreten<sup>2)</sup>. Über die sich in den Bruttoformeln um zwei H-Atome unterscheidenden, aber in den physikalischen Daten weitgehend übereinstimmenden Derivate gibt Tabelle 1 Auskunft. Zur Beurteilung des ungefähren Reinheitsgrades der Präparate von Lanosterin und Dihydro-lanosterin, Agnosterin und  $\gamma$ -Lanosterin sowie von deren Acetaten wurde im Laufe dieser Arbeit<sup>3)</sup> die Mikroanalyse herangezogen<sup>4)</sup>.

Tabelle 1.

Substanz	Smp.	$[\alpha]_D$
Lanosterin $C_{30}H_{50}O$ . . . . .	140,5—141,5°	+ 58,2°
Dihydro-lanosterin $C_{30}H_{52}O$ . . . . .	144,5—145,5°	+ 60,9°
Lanosteryl-acetat . . . . .	113,5—114,5°	+ 55,2°
Dihydro-lanosteryl-acetat . . . . .	119,5—121°	+ 60,3°
Lanostenon . . . . .	115,5—116,5° <sup>5)</sup>	+ 71,9°
Dihydro-lanostenon . . . . .	117 — 118°	+ 70,2°
Agnosterin $C_{30}H_{48}O$ . . . . .	163,5—164,5°	+ 76,9°
$\gamma$ -Lanosterin $C_{30}H_{50}O$ . . . . .	156 — 157°	+ 70,6°
Agnosteryl-acetat . . . . .	174 — 176°	+ 88,3°
$\gamma$ -Lanosteryl-acetat. . . . .	167,5—168,5°	+ 88,4°

Das unseren Untersuchungen zugrunde liegende Ausgangsmaterial war zwar „analysenrein“. Da sich aber die C- und H-Werte der beiden Bruttoformeln<sup>6)</sup> nur um annähernd 0,4 % voneinander unterscheiden,

<sup>1)</sup> Vgl. die in Tabelle 1 getrennt angeführten 5 Paare.

<sup>2)</sup> Das Ausbleiben von Schmelzpunktserniedrigungen scheint bei den Wollfett-Sterinen“ auf die Derivate der Lanosterin- und Agnosterin-Reihe beschränkt zu sein. Im Gemisch mit Cholesterin-acetat (Smp. 113—114°) geben sowohl Lanosteryl-acetat wie auch Dihydro-lanosteryl-acetat deutliche Schmelzpunktserniedrigungen.

<sup>3)</sup> Man wird wohl bei künftigen Aufarbeitungen die Sauerstoffzahl (mit Persäure) und die Wasserstoffzahl (Mikrohydrierung) benützen.

<sup>4)</sup> Dorée und Garratt (l. c.) verwendeten für ihre Untersuchungen ein Lanosterin, das sie durch Umkristallisieren aus Aceton und Methanol der schwerlöslichen Fraktion aus dem Unverseifbaren des Wollfettes gewonnen hatten. Schmelzpunkt und spez. Drehung stimmten mit den Literaturangaben überein. Eine einzige angegebene Analyse zeigte einen um 0,53% zu tiefen C-Wert. Windaus und Tschesche (l. c.) geben einen um 0,6% zu tiefen C-Wert an, während ihr Acetat gut stimmt. Es ist daher möglich, dass diese Lanosterin-Präparate Alkoholgemische darstellten. Dorée und Garratt erwähnten auch bei ihren Untersuchungen wiederholt „Isomere“ des Lanosterins gefunden zu haben.

<sup>5)</sup> Dorée, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 355 T (1933).

<sup>6)</sup> Lanosteryl-acetat  $C_{32}H_{52}O_2$  Ber. C 81,99 H 11,18%  
Dihydro-lanosteryl-acetat  $C_{32}H_{54}O_2$  „ „ 81,64 „ 11,56%  
Unterschied C — 0,35 H + 0,38%  
Lanosterin  $C_{30}H_{50}O$  Ber. C 84,44 H 11,81%  
Dihydro-lanosterin  $C_{32}H_{52}O$  „ „ 84,04 „ 12,23%  
Unterschied C — 0,40 H + 0,42%

bleibt der wirkliche Reinheitsgrad der einzelnen Präparate ungewiss. Bei unseren vorläufigen Untersuchungen konnte dieser Umstand zu keinen Missverständnissen führen, da wir grösstenteils mit Dihydro-*lanosterin* arbeiteten, das in reinem Zustande leicht zugänglich ist durch Hydrierung und nachheriges Umkristallisieren von „*Isocholesterin-acetat*“<sup>1)</sup>.

*Lanosterin* wurde übrigens als Ausgangsmaterial nur verwendet für den Nachweis der Lage der leicht hydrierbaren Doppelbindung, wobei die Anwesenheit des Dihydro-Derivates nicht stört.

Vorerst wiederholten wir die Dehydrierung einer grösseren Menge „*Isocholesterin*“<sup>2)</sup> mit Selen bei 350°. Als Hauptprodukt entstand das dabei schon von *Schulze*<sup>3)</sup> isolierte 1,7,8-Trimethyl-phenanthren. In den Mutterlaugen scheint ausserdem ein Homologes vorzukommen, dessen Reindarstellung aber noch nicht gelang. Ein weiteres Dehydrierungsprodukt liess sich bis zum konstanten Schmelzpunkt von 237,5—238,5° reinigen. Die Analysenwerte stimmen am besten auf die Bruttoformel  $C_{22}H_{20}$ . Mit dem aus Chinovasäure gewonnenen Kohlenwasserstoff  $C_nH_n$ <sup>4)</sup> vom Smp. 239° trat eine Schmelzpunktserniedrigung auf. Das Absorptionsspektrum im U.V. (vgl. Fig. A, Kurve 1) deutet auf das Vorliegen eines Chrysen-Homologen hin. Zum Vergleich bringen wir in der Fig. A, Kurve 2, die Absorptionskurve vom synthetischen 1,2,7,8-Tetramethyl-chrysen  $C_{22}H_{20}$ <sup>4)</sup>.

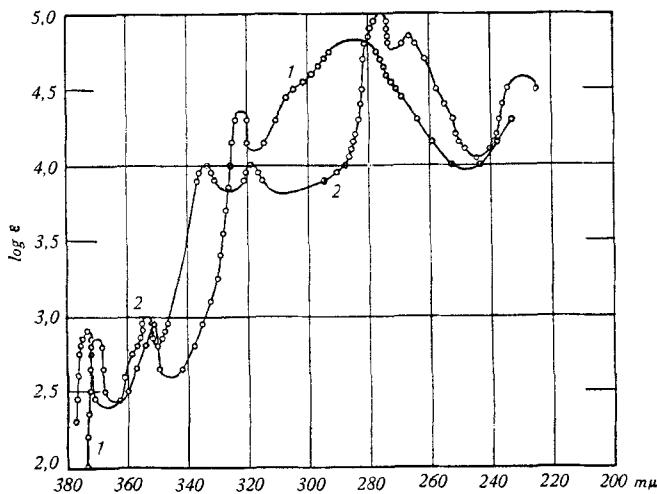


Fig. A.

Kurve 1: Kohlenwasserstoff  $C_{22}H_{20}$  (?) (Smp. 237,5—238,5°)  
Kurve 2: 1,2,7,8-Tetramethyl-chrysen

<sup>1)</sup> Nach einer Beobachtung von *Marker* und *Coll.*, Am. Soc. **59**, 1368 (1937).

<sup>2)</sup> Wir verwendeten eine Fraktion vom Smp. 117—120°.

<sup>3)</sup> *Schulze*, Z. physiol. Ch. **238**, 35 (1936).

<sup>4)</sup> *Ruzicka*, *Grob* und *Anner*, Helv. **26**, 254 (1943).

In der Folge untersuchten wir die Einwirkung von 1 Mol Ozon auf die leicht hydrierbare Doppelbindung des Lanosterins<sup>1)</sup>. Bei der Spaltung des Rohozonides aus Lanosteryl-acetat wurde in 35-proz. Ausbeute Aceton gebildet, das als p-Nitrophenylhydrazone identifiziert wurde. Aus den schwerflüchtigen Spaltprodukten liess sich nach Veresterung mit Diazomethan ein einfacher ungesättigter Methylester  $C_{30}H_{48}O_4$  vom Smp. 168—170° gewinnen, der unter Verlust der als Aceton abgespaltenen drei Kohlenstoffatome entstanden ist und als Acetyl-tris-nor-lanosterinsäure-methylester bezeichnet werden soll. Bei der Verseifung entstand die Tris-nor-lanosterinsäure  $C_{27}H_{44}O_3$  vom Smp. 257,5—259,5°, welche durch Einwirkung von Diazomethan in den Methylester vom Smp. 152,5—154,5° übergeführt wurde. Das Absorptionsspektrum der Säure (vgl. Fig. B, Kurve 5) weist eine wenig typische Endabsorption bei  $220\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,5$ ) auf, wonach das Vorliegen einer  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Carboxyl-Gruppierung ausgeschlossen ist.

Zur Zeit, da diese Ozonisationsversuche eben zum Abschluss gekommen waren, gelangte die eingangs erwähnte Publikation von *Wieland* und *Benend* zu unserer Kenntnis, worin die Bildung von Aceton bei der Ozonisierung von Lanosterin und dem mit diesem verwandten Kryptosterin beschrieben ist. Die schwerflüchtigen Spaltungsprodukte wurden von diesen Forschern allerdings nicht untersucht. Dagegen hatten *Wieland* und *Joost*<sup>2)</sup> schon früher durch Umsetzung von Lanosterin mit Osmiumsäure-Wasserstoffperoxyd eine Säure des Smp. 255—256° hergestellt, für welche sie die Bruttoformel  $C_{25}H_{40}O_3$  angenommen hatten, obwohl die Analysenresultate weit besser auf die Formel  $C_{27}H_{44}O_3$  stimmen (Gef. C 77,82 H 10,70 %.  $C_{27}H_{44}O_3$  Ber. C 77,83 H 10,61 %.  $C_{25}H_{40}O_3$  Ber. C 77,24 H 10,41 %). Der nicht analysierte Methylester dieses Präparates schmolz bei 154—155°. Da die Ozonisation einer Doppelbindung zum gleichen Spaltprodukte führt wie die Behandlung mit Osmiumsäure-Wasserstoffperoxyd, so dürften die von *Wieland* und *Joost* beschriebene Säure und ihr Methylester, auch auf Grund der übereinstimmenden Schmelzpunkte, mit grosser Bestimmtheit mit der von uns bereiteten Tris-nor-lanosterinsäure und ihrem Methylester identisch sein<sup>3)</sup>.

Auf Grund dieser Reaktionsfolge kann für Lanosterin die Anwesenheit einer ungesättigten Seitenkette von mindestens 4 C-Atomen gefolgert werden, welche in einer Isopropyliden-

<sup>1)</sup> *Dorée* und *Garratt*, J. Soc. Chem. Ind. **52**, 355 T (1933) hatten Ozon auf Lanosterin einwirken lassen und dabei die Bildung eines Monoozonides beobachtet. Spaltstücke konnten nicht isoliert werden.

<sup>2)</sup> A. **546**, 103 (1941).

<sup>3)</sup> Die Identität der aus Kryptosterin von *Wieland* und *Joost* (l. c.) auf analogem Wege gewonnenen Verbindungen (Säure Smp. 260—261°; Methylester Smp. 154—155°) mit den oben erwähnten Lanosterin-Derivaten ist in Betracht zu ziehen.

Gruppe endigt. Dieser Isopropyliden-Gruppe entspricht die leicht hydrierbare Doppelbindung des Lanosterins<sup>1)</sup>.

Um nun auch in das Wesen der bisher nicht hydrierbaren Doppelbindung des Lanosterins einigen Einblick zu erhalten, untersuchten wir die Einwirkung von Chromsäure und Ozon auf Dihydro-lanosteryl-acetat. Die Oxydation mit Chromsäure in Eisessig-Lösung bei 40° führte zu einer bei 151,5—152,5° schmelzenden Verbindung  $C_{32}H_{52}O_3$ , welche durch das Absorptionsspektrum im U.V. ( $\lambda_{\text{max}} = 255 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,08$ ; vgl. Fig. B, Kurve 1) eindeutig als  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Keton gekennzeichnet wurde. Es ist danach mit Chromsäure eine der reaktionsträgen Doppelbindung benachbarte Methylengruppe zur Ketogruppe oxydiert worden. Hierbei bleibt allerdings die Frage offen, ob diese Doppelbindung im Oxydationsprodukt dieselbe Lage einnimmt, die sie im Ausgangsmaterial inne hatte, oder ob sie unter dem Einfluss des sauren Oxydationsmittels gewandert ist<sup>2)</sup>. Die Absorptionsbande des Keto-acetates  $C_{32}H_{52}O_3$  ist stark nach den langen Wellen verschoben, so dass man auf Grund der Regel von Woodward<sup>3)</sup> annehmen kann, dass die Doppelbindung wahrscheinlich zwischen zwei Kohlenstoffatomen liegt, die keinen Wasserstoff mehr tragen.

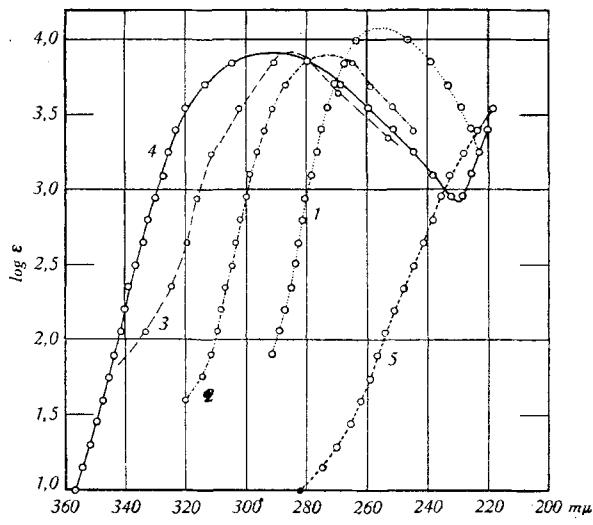


Fig. B.

- Kurve 1: Keto-dihydro-lanosteryl-acetat  $C_{32}H_{52}O_3$   
Kurve 2: Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat  $C_{32}H_{50}O_4$   
Kurve 3: Triketo-dihydro-lanosteryl-acetat  $C_{32}H_{48}O_5$   
Kurve 4: Oxymethylen-Verbindung von Dihydro-lanostenon  
Kurve 5: Tris-nor-lanosterinsäure  $C_{27}H_{44}O_3$

<sup>1)</sup> Damit übereinstimmend haben Bellamy und Dorée (I.c.) gefunden, dass bei der Hydrolyse des Lanosterinoxyds eine sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe entstehen.

<sup>2)</sup> Vgl. die von Ruzicka, Rey, Spillmann und Baumgartner, Helv. **26**, 1638 (1943), erwähnte Wanderung der inaktiven Doppelbindung in den Elemolsäuren bei Oxydations-Operationen.

<sup>3)</sup> Am. Soc. **63**, 1123 (1941).

Als zweites Oxydationsprodukt bei der Einwirkung von Chromsäure auf Lanosteryl-acetat erhielten wir eine in gelben Blättchen krystallisierende Verbindung der Zusammensetzung  $C_{32}H_{50}O_4$ . Aus der Bruttoformel und dem Absorptionsspektrum im U.V. ( $\lambda_{\max}$  = ungefähr 275 m $\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,94$ ; vgl. Fig. B, Kurve 2) lässt sich folgern, dass ein 1,4-Diketon mit einer Doppelbindung zwischen den Ketogruppen vorliegt<sup>1</sup>). Man sieht nun aus der Bildung dieses Diketo-dihydro-lanosteryl-acetates, dass die reaktionsträge Doppelbindung von mindestens 2 Methylengruppen umgeben ist, oder dass sie während der Oxydation in eine solche Lage wandert. Bei der Verseifung entstand das Diketo-dihydro-lanosterin, woraus durch Oxydation der sekundären Hydroxylgruppe mit Chromsäure ein Triketon  $C_{30}H_{46}O_3$  gebildet wurde. Dem U.V.-Absorptionsspektrum nach ( $\lambda_{\max}$  = ungefähr 275 m $\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,02$ ) muss sich die zuletzt entstandene Ketogruppe, und somit auch das Hydroxyl des Lanosterins, in isolierter Stellung befinden.

Bei einem unter etwas energischeren Bedingungen vorgenommenem Oxydationsversuch liess sich neben grösseren Mengen Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat in geringer Ausbeute eine dunkelgelbe Verbindung der Bruttoformel  $C_{32}H_{48}O_5$  isolieren. Analysenresultate und Spektrum ( $\lambda_{\max} = 285$  m $\mu$ ;  $\log \epsilon = 3,95$ ; vgl. Fig. B, Kurve 3) deuten darauf hin, dass unter Austritt von zwei Wasserstoffatomen wahrscheinlich eine dritte Ketogruppe in Konjugation zu dem vorhandenen Chromophor  $CO-C=C-CO$  in die Molekel eingetreten ist.

Es ist bemerkenswert, dass die reaktionsträge Doppelbindung auch von überschüssigem Ozon nicht angegriffen wird, sondern dass dabei die der Doppelbindung benachbarten Methylengruppen<sup>2</sup>) oxydiert werden, genau gleich wie mit Chromsäure. Die bei der Ozoneinwirkung entstandenen Verbindungen waren mit denjenigen der Oxydation durch Chromsäure identisch.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war der Abbau des die sekundäre Alkoholgruppe aufweisenden Ringes des Lanosterins. Aus dem Dihydro-lanostenon stellten wir die Oxymethylenverbindung her (Absorptionsspektrum im U.V.,  $\lambda_{\max} = 295$  m $\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,9$ ; vgl. Fig. B, Kurve 4) und spalteten sie mit Hilfe von Perhydrol in alkalisch-alkoholischer Lösung glatt zu der Dicarbonsäure  $C_{30}H_{50}O_4$ . Der mit Diazomethan bereitete, flüssige, aber doch analysenreine Methylester war im Gegensatz zur Säure selbst gegenüber Tetranitromethan stark ungesättigt. Darnach folgt, dass keine der beiden Carboxylgruppen der reaktionsträgen Doppelbindung benachbart ist. Beim Kochen des Methylesters mit 0,5-n. alkoholischer Kalilauge während 24 Stunden konnte keine der beiden Estergruppen verseift werden. Durch Er-

<sup>1)</sup> Die beiden Ketogruppen reagieren auch unter energischen Bedingungen nicht mit Ketonreagenzien.

<sup>2)</sup> Vgl. Durland und Adkins, Am. Soc. 61, 429 (1939).

hitzen der Dicarbonsäure  $C_{30}H_{50}O_4$  auf  $300^\circ$  entstand unter Abspaltung von Wasser und Kohlendioxyd das Nor-dihydro-lanostenon  $C_{29}H_{48}O$ . Gestützt auf die *Wieland-Blanc'sche* Regel könnte danach für die Hydroxylgruppe Bindung in einem sechsgliedrigen, endständigen Ringe gefolgert werden.

Weitere Umsetzungen wurden in der Absicht unternommen, Beiträge zur Klärung der Beziehungen zwischen Lanosterin und anderen tetracyclischen Triterpenverbindungen zu erhalten. Wir stellten zu diesem Zwecke die dem Dihydro-lanosterin,  $\gamma$ -Lanosterin und Iso-dihydro-lanosterin<sup>1)</sup> zugrunde liegenden Kohlenwasserstoffe her<sup>2)</sup>. Die drei erhaltenen Kohlenwasserstoffe waren jedoch verschieden von den bis heute bekannten Isomeren der Bruttoformel  $C_{30}H_{52}$ . Das Dihydro-lanosten und das Iso-dihydro-lanosten haben wir vor kurzem<sup>3)</sup> zusammen mit Dihydro-kryptosten<sup>4)</sup>, Elemen und Iso-elemen in einer Tabelle zusammengestellt unter Anführung von Schmelzpunkten und  $[\alpha]_D$ . Diese Daten für das dort nicht erwähnte Lanosten lauten: Smp.  $93-94,5^\circ$ ,  $[\alpha]_D = +75,5^\circ$ .

Zusammenfassend sei hervorgehoben, dass im Bau der ungesättigten Seitenkette, sowie im Verhalten des die reaktionsträge Doppelbindung aufweisenden Teils der Molekel, das Lanosterin mit den Elemadienolsäuren übereinstimmt. Die Entscheidung darüber, wie weit die beiden Verbindungsgruppen auch im übrigen Teil der Molekel übereinstimmen, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Wir danken der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil<sup>5)</sup>

Isolierung von Lanosterin, Dihydro-lanosterin,  $\gamma$ -Lanosterin und Agno-sterin aus dem Wollfett der Schafe.

Beim fraktionierten Umkristallisieren des durch Behandeln von „Isocholesterin“ (Smp.  $135-137^\circ$ )<sup>6)</sup> mit Acetanhydrid erhaltenen Acetatgemisches aus Essigester nach dem Dreieckschema liessen sich aus den leichtlöslichen Fraktionen bei ungefähr  $110^\circ$  schmelzende Anteile gewinnen, woraus bei weiterer Krystallisation Lanosteryl-acetat<sup>7)</sup> in verfilzten Nadeln vom Smp.  $113,5-114,5^\circ$  erhalten wurde. Im Gemisch mit

<sup>1)</sup> *Wieland und Benend*, Z. physiol. Ch. **274**, 215 (1942).

<sup>2)</sup> Über die Herstellung vgl. den exp. Teil dieser Arbeit.

<sup>3)</sup> *Ruzicka, Rey, Spillmann und Baumgartner*, Helv. **26**, 1659 (1943).

<sup>4)</sup> *Wieland, Pasedach und Ballauf*, A. **529**, 68 (1937).

<sup>5)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und wurden im offenen Schmelzpunktstropfchen bestimmt. Alle optischen Drehungen wurden in Chloroform-lösungen und mit einem Polarisationsrohr von 1 dm Länge bestimmt. Wo nichts anderes vermerkt wird, betrug die Trocknungszeit der Analysenpräparate 15 Stunden im Hochvakuum.

<sup>6)</sup> B. **6**, 252 (1873); Z. physiol. Ch. **155**, 241 (1926).

<sup>7)</sup> Schmelzpunkt und  $[\alpha]_D$  stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein. Vgl. Z. physiol. Ch. **191**, 55 (1930).

Cholesterin-acetat (Smp. 113—114°) trat eine Erniedrigung des Schmelzpunktes um 10° ein. Zur Analyse wurde bei 130° im Hochvakuum sublimiert.

3,930 mg Subst. gaben 11,780 mg CO<sub>2</sub> und 4,000 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 81,99 H 11,18%

Gef. „ 81,80 „ 11,39%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>14</sup> = +55,2° (c = 1,179)

Verseifung. Durch Verseifung mit methanolischer Kalilauge wurde das nur aus methanolhaltigen Lösungsmitteln gut krystallisierende Lanosterin<sup>1)</sup> vom Smp. 140 bis 141° gewonnen. Bromlösung wurde momentan entfärbt. Zur Analyse wurde bei 150° im Hochvakuum sublimiert.

3,613; 3,807; 1,830 mg Subst. gaben 11,153; 11,80; 5,662 mg CO<sub>2</sub> und 3,849; 4,07; 1,95 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O Ber. C 84,44 H 11,81%

Gef. „ 84,24; 84,59; 84,43 „ 11,92; 11,96; 11,92%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>15</sup> = +58,2° (c = 0,978)

Lanosteryl-benzoat (Smp. 191°<sup>2)</sup>).

3,606 mg Subst. gaben 11,07 mg CO<sub>2</sub> und 3,36 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>37</sub>H<sub>54</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 83,72 H 10,26%

Gef. „ 83,78 „ 10,42%

Lanosteryl-3,5-dinitro-benzoat (Smp. 201°<sup>2)</sup>).

3,750 mg Subst. gaben 9,834 mg CO<sub>2</sub> und 2,859 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub> Ber. C 71,58 H 8,44%

Gef. „ 71,57 „ 8,53%

Beim Stehenlassen einer Fraktion von mittlerer Löslichkeit schieden sich nach einigen Tagen grosse, sechseckige Prismen aus, die nach weiterem Krystallisieren aus Essigester bei 122—123° schmolzen. Die Substanz entfärbte Bromlösung nicht und war gegen Tetranitromethan ungesättigt. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,714; 3,698; 3,574 mg Subst. gaben 11,103; 11,063; 10,670 mg CO<sub>2</sub> und 3,858; 3,826; 3,655 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>54</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 81,64 H 11,56%

Gef. „ 81,58; 81,64; 81,47 „ 11,62; 11,58; 11,44%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +60,3° (c = 0,864)

Es liegt Dihydro-lanosteryl-acetat<sup>3)</sup> vor.

Verseifung. Der Alkohol schmolz bei 142,5—143,5°. Verfilzte Nadeln aus Aceton-Methanol. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 145° sublimiert.

3,648; 3,792; 3,034 mg Subst. gaben 11,224; 11,666; 9,345 mg CO<sub>2</sub> und 4,032; 4,158; 3,327 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O Ber. C 84,04 H 12,23%

Gef. „ 83,96; 83,96; 84,06 „ 12,37; 12,27; 12,27%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +60,9° (c = 0,64)

Es liegt Dihydro-lanosterin<sup>3)</sup> vor.

<sup>1)</sup> Schmelzpunkt und [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein. Vgl. Z. physiol. Ch. 191, 55 (1930).

<sup>2)</sup> In der üblichen Weise dargestellt durch Einwirkung der Säurechloride in Gegenwart von Pyridin und aus Benzol-Methanol umkrystallisiert.

<sup>3)</sup> Schmelzpunkt und [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> stimmen mit den in der Literatur angegebenen Daten überein. Vgl. Z. physiol. Ch. 191, 61 (1930).

Durch fortgesetztes Umkristallisieren der schwerlöslichen Fraktionen stieg deren Schmelzpunkt allmählich auf 172,5—174°. 1 g dieses höchstschmelzenden Anteils wurde in Hexanlösung auf eine in Hexan bereitete Säule aus 30 g Aluminiumoxyd aufgezogen und chromatographiert<sup>1)</sup>:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. Eluat: mit 100 cm <sup>3</sup> Hexan-Benzol (1:4) . . . . . | 300 mg kryst. |
| 2. Eluat: mit 100 cm <sup>3</sup> Hexan-Benzol (1:4) . . . . . | 120 mg kryst. |
| 3. Eluat: mit 100 cm <sup>3</sup> Hexan-Benzol (1:4) . . . . . | 280 mg kryst. |
| 4. Eluat: mit 100 cm <sup>3</sup> Hexan-Benzol (1:4) . . . . . | 220 mg kryst. |

Aus Eluat 1 wurden beim Umkristallisieren aus Essigester lange Nadeln vom Smp. 168,5—169,5° erhalten. Mit Tetranitromethan entstand eine Braunfärbung. Bromlösung wurde sofort entfärbt. Mit  $\gamma$ -Lanosteryl-acetat<sup>2)</sup> zeigte das Präparat keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde ein Probe bei 160° im Hochvakuum sublimiert.

3,810; 3,788; 3,732 mg Subst. gaben 11,425; 11,361; 11,200 mg CO<sub>2</sub> und 3,758; 3,755; 3,688 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 81,99 H 11,18%  
Gef. , 81,83; 81,85; 81,90 , 11,04; 11,09; 11,06%

$$[\alpha]_D^{16} = +85,9^\circ (c = 0,531)$$

Absorptionsspektrum im U.V.<sup>3)</sup>:  $\lambda_{\max}$  240—245 m $\mu$ ,  $\log \varepsilon = 4,15$ . Es liegt  $\gamma$ -Lanosteryl-acetat vor.

Verseifung. Der durch Verseifung entstandene Alkohol wurde aus Aceton-Methanol umkristallisiert. Er schmolz bei 156—157,5°. Mit  $\gamma$ -Lanosterin<sup>4)</sup> konnte keine Schmelzpunktserniedrigung beobachtet werden. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 150° sublimiert.

3,099; 3,844; 3,536 mg Subst. gaben 9,575; 11,874; 10,934 mg CO<sub>2</sub> und 3,298; 4,119; 3,749 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O Ber. C 84,44 H 11,81%  
Gef. , 84,32; 84,30; 84,39 , 11,91; 11,99; 11,86%

$$[\alpha]_D^{16} = +66,2^\circ (c = 0,748)$$

Es liegt  $\gamma$ -Lanosterin vor.

Die Eluate 3 und 4 erwiesen sich als identisch. Aus Essigester erhielt man grosse Nadeln vom Smp. 174—176°. Mit Tetranitromethan entstand eine starke gelbbraune Färbung. Bromlösung wurde momentan entfärbt. Zur Analyse wurde bei 170° im Hochvakuum sublimiert.

3,700; 3,697; 3,623 mg Subst. gaben 11,153; 11,166; 10,914 mg CO<sub>2</sub> und 3,575; 3,612; 3,528 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 82,34 H 10,80%  
Gef. , 82,25; 82,42; 82,21 , 10,81; 10,93; 10,90%

$$[\alpha]_D^{15} = +88,3^\circ (c = 0,877)$$

Es liegt Agnosteryl-acetat<sup>5)</sup> vor.

<sup>1)</sup> Die aus dem Chromatogramm gewonnenen Acetate zeigten in der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigungen.

<sup>2)</sup> Hergestellt nach Soc. 1941, 176. Die von uns gefundenen Daten stimmen mit den dort angegebenen überein.

<sup>3)</sup> Die U.V.-Absorptionsspektren wurden in alkoholischer Lösung aufgenommen.

<sup>4)</sup> Soc. 1941, 176.

<sup>5)</sup> Z. physiol. Ch. 191, 55 (1930).

Verseifung. Der Alkohol, der auf übliche Weise durch Verseifung dargestellt wurde, krystallisierte aus Essigester-Methanol in verfilzten Nadeln vom Smp. 163,5 bis 164,5°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 160° sublimiert.

3,656; 3,760 mg Subst. gaben 11,321; 11,691 mg CO<sub>2</sub> und 3,815; 3,824 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O	Ber. C 84,84	H 11,39%
	Gef. „ 84,50; 84,85	„ 11,68; 11,38%
[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> = +76,9° (c = 0,676)		

Es liegt Agnosterin<sup>1)</sup> vor.

#### Dehydrierung von „Isocholesterin“ mit Selen.

57 g „Isocholesterin“ wurden mit 120 g Selen während 46 Stunden bei 340—355° dehydriert. Das Reaktionsgemisch extrahierte man mit tiefstiedendem Petroläther und erhielt 16,8 g braunes Harz (A). Der noch ungelöste Rückstand wurde nun mit Benzol extrahiert, bis die Extrakte nur noch schwachgelb waren. Der Benzolauszug wog 4,5 g und bildete ein fast schwarzes Pech (B).

Verarbeitung von Produkt A. Beim Stehenlassen der Petrolätherlösung schieden sich 1,8 g braune Flocken ab (A<sub>1</sub>). Sie wurden mit 10-proz. methanolischer Lauge 24 Stunden geschüttelt. Der Laugenauszug enthielt keine phenolischen Anteile. Der so behandelte Anteil A<sub>1</sub> krystallisierte aus Benzol-Alkohol als gelbes, mikrokristallines Pulver. Nach Sublimieren im Hochvakuum bei 180—190° Blocktemperatur gewann man daraus 340 mg eines Gemisches vom Smp. 240—270°. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz in einer Lösung von Benzol-Hexan (1:4) an einer Säule aus 14 g Aluminiumoxyd adsorbiert und mit Benzol-Hexan (1:4) bzw. (1:1) in zwei Fraktionen A<sub>2</sub> und A<sub>3</sub> aufgeteilt (A<sub>2</sub> = 190 mg; A<sub>3</sub> = 150 mg). Mehrfaches Umkristallisieren und Sublimieren von A<sub>2</sub> lieferte weisse Blättchen vom Smp. 232—236° (vgl. darüber weiter unten). A<sub>3</sub> konnte durch analoge Reinigung bis zum Smp. 297—301° gebracht werden. Wegen Materialmangel musste auf eine weitere Reinigung verzichtet werden. Es liegt wohl das weiter unten beschriebene Produkt vom Smp. 327—328° in weniger reiner Form vor.

Die Petroläther-Mutterlauge von A<sub>1</sub> wurde durch eine Säule aus 10 g Aluminiumoxyd filtriert, wobei sie sich klärte und eine intensive Fluoreszenz zeigte. Den nach Verdampfen des Petroläthers verbleibenden Rückstand löste man in Benzol und schüttelte die Lösung zur Reinigung mehrmals mit konz. Schwefelsäure aus. Beim weiteren Umkristallisieren aus Benzol-Alkohol fielen gelbe, mikrokristalline Fraktionen vom ungefähren Smp. 188—192° aus. 900 mg dieses Gemisches zog man in Hexanlösung an einer Säule aus 30 g Aluminiumoxyd auf. Hexan eluierte 180 mg ölige Substanz. Mit Benzol-Hexan (1:4) und (1:1) lösten sich insgesamt 320 mg fluoreszierendes Öl ab, das aus Alkohol-Benzol feine glänzende Blättchen ergab, die nach häufigem Umkristallisieren und Sublimieren im Hochvakuum konstant bei 237,5—238,5° schmolzen. Zur Analyse gelangte ein Sublimat. Der Anteil A<sub>2</sub> von oben erwies sich mit dem vorliegenden Präparat als identisch.

3,528 mg Subst. gaben 11,967 mg CO<sub>2</sub> und 2,250 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>n</sub> H <sub>n</sub>	Ber. C 92,26	H 7,74%
C <sub>22</sub> H <sub>20</sub>	Ber. „ 92,91	„ 7,09%
	Gef. „ 92,57	„ 7,15%

Absorptionsspektrum im U.V.: vgl. Fig. A, Kurve 1.

Es liegt wahrscheinlich ein homologes Chrysen vor.

Bei weiterem Einengen der Mutterlauge von A<sub>1</sub> fielen keine festen Fraktionen mehr aus. Der Rückstand wurde deshalb im Hochvakuum bei 0,1 mm Hg destilliert.

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. 191, 55 (1930).

Tabelle 2.

Frakt.	Bad-temperatur	Sdp.	Destillat
1	170°	170°	0,42 g gelbes Öl
2	220°	170°	0,86 g gelbe Krystalle
3	255°	190°	1,25 g gelbe Krystalle
4	265°	190—210°	1,18 g amorph erstarrt
5	265°	210—220°	1,59 g amorph erstarrt
6	bis 340°	230—260°	1,60 g amorph erstarrt

Fraktion 1 wurde ins Pikrat übergeführt. Die roten Nadelchen schmolzen unscharf bei 120—130°. Das Trinitro-benzolat zeigte ebenfalls einen unscharfen Schmelzpunkt von 164—170°. Trotz erheblicher Bemühungen konnten daraus keine einheitlichen Verbindungen gewonnen werden.

Aus den Fraktionen 2 und 3 liess sich das 1, 7, 8-Trimethyl-phenanthren vom Smp. 145,5—146,5° isolieren. Eine Mischprobe mit einem synthetisch hergestellten Vergleichspräparat<sup>1)</sup> ergab keine Erniedrigung des Schmelzpunktes. Das Trinitro-benzolat schmolz nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol bei 192,5—193,5°. Im Gemisch mit dem Trinitro-benzolat des obigen Vergleichspräparates<sup>1)</sup> trat keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Zur Analyse wurde das Trinitro-benzolat 3 Tage lang im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd getrocknet.

3,847 mg Subst. gaben 8,995 mg CO<sub>2</sub> und 1,508 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 63,73 H 4,42%  
Gef. „ 63,81 „ 4,39%

Aus den Fraktionen 4—6 konnten keine kristallinen Verbindungen erhalten werden.

Verarbeitung von Produkt B. Die benzolische Lösung derselben wurde durch Aluminiumoxyd filtriert. Das Filtrat schüttelte man längere Zeit mit konz. Schwefelsäure. Es konnten aber bei der weiteren Verarbeitung keine festen Produkte gefasst werden.

Aus einem zweiten Dehydrierungsansatz, bei dem der Rückstand mit Benzol extrahiert und anschliessend im Hochvakuum destilliert wurde, konnten neben beträchtlichen Mengen 1, 7, 8-Trimethyl-phenanthren eine höher siedende Fraktion erhalten werden, die sich durch oftmaliges Umkristallisieren aus Pyridin, Butylacetat und durch Sublimieren im Hochvakuum bis zum Smp. 327—328° reinigen liess. Der hohe Schmelzpunkt deutet auf das Vorliegen eines Picenhomologen hin<sup>2)</sup>. Die geringe Menge ermöglichte jedoch die Ausführung einer Analyse nicht. Eine leichterflüchtige Zwischenfraktion lieferte nach etlichen Reinigungsoperationen ein in gelben Blättchen anfallendes Produkt, das bei 212—214° schmolz. Dieses bildete ein bei 185—189° schmelzendes Trinitro-benzolat, welches beim Umkristallisieren sofort wieder in seine Komponenten zerfiel. Der daraus regenerierte Kohlenwasserstoff war gelblich und schied bei weiterem Sublimieren stets Selen ab. Er konnte deshalb nicht analysiert werden.

#### Ozonisation von Lanosteryl-acetat.

3 g Lanosteryl-acetat (Smp. 113—114°) wurden in 50 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff bei 0° so lange ozonisiert, bis eine herausgenommene Probe Bromlösung nicht mehr entfärbte. Nach dem Absaugen des Lösungsmittels blieb das Ozonid als farblose, amorphe

<sup>1)</sup> Helv. **23**, 130 (1940).

<sup>2)</sup> Es könnte sich um das in unreiner Form vorliegende Picen-Homologe vom Smp. 345—346° handeln, welches bei der Dehydrierung von Elemadienolsäure mit Selen erhalten worden war, *Ruzicka, Rey und Spillmann*, Helv. **25**, 1375 (1942).

Masse zurück. Zur Spaltung wurde mit 150 cm<sup>3</sup> Wasser am Rückfluss 30 Minuten erhitzt und anschliessend 50 cm<sup>3</sup> davon abdestilliert. Aus dem Destillat erhielt man beim Versetzen mit einer wässerigen Lösung von p-Nitro-phenylhydrazin unter Zusatz einiger Tropfen Salzsäure gelbe Nadelchen, die nach Umkristallisieren aus wässrigem Alkohol bei 147,5—149° schmolzen (Ausbeute 35%). Mit Aceton-p-nitro-phenylhydrazon trat keine Schmelzpunktserniedrigung ein. Der schwerflüchtige Anteil wurde in Äther aufgenommen und mit Lauge in saure und neutrale Bestandteile zerlegt. Der Laugenauszug ergab beim Ansäuern 270 mg Säure, die mit Diazomethan verestert wurden. Bei der chromatographischen Adsorption des Esters in Hexan-Lösung an Aluminiumoxyd liessen sich mit Benzol-Hexan (1 : 2) 120 mg einer aus Alkohol krystallisierenden Substanz eluieren. Zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol und Sublimieren im Hochvakuum brachten den Smp. auf 168—170°. Mit Tetranitromethan entstand eine Gelbfärbung. Zur Analyse gelangte ein Sublimat.

3,840 mg Subst. gaben 10,742 mg CO<sub>2</sub> und 3,581 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 76,22 H 10,24%  
Gef. „, 76,34 „, 10,44%

Es liegt der Acetyl-tris-nor-lanosterinsäure-methylester vor.

Verseifung. Die Mutterlaugen wurden mit methanolischer Kalilauge verseift und das Verseifungsprodukt durch Umkristallisieren aus Essigester-Methanol und Sublimation im Hochvakuum bis zum Smp. 257,5—259,5° (im evak. Röhrchen) gereinigt. Mit Tetranitromethan entstand eine schwache Gelbfärbung.

3,768 mg Subst. gaben 10,761 mg CO<sub>2</sub> und 3,572 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 77,83 H 10,64%  
Gef. „, 77,94 „, 10,61%

Es liegt die Tris-nor-lanosterinsäure vor.

Methylester: 50 mg dieser Oxysäure wurden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol schmolz der Ester bei 152,5—154,5°. Mit Tetranitromethan gab er eine deutliche Gelbfärbung. Zur Analyse wurden im Hochvakuum bei 150° sublimiert.

3,811 mg Subst. gaben 10,900 mg CO<sub>2</sub> und 3,697 mg CO<sub>2</sub>  
C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 78,09 H 10,77%  
Gef. „, 78,05 „, 10,86%

Es liegt der Tris-nor-lanosterinsäure-methylester vor.

Die neutralen Anteile der Ozonisierung wurden nicht näher untersucht.

#### Oxydation von Dihydro-lanosteryl-acetat mit Chromsäure.

Zu einer Lösung von 3,0 g Dihydro-lanosteryl-acetat in 130 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden bei 40° 1,5 g Chromtrioxyd in 15 cm<sup>3</sup> 90-proz. Essigsäure innerhalb 15 Minuten zufliessen gelassen und anschliessend bei der gleichen Temperatur mehrere Stunden gerührt. Darauf zerstörte man die unverbrauchte Chromsäure mit 10 cm<sup>3</sup> Methanol und goss die Lösung in Wasser. Der Ätherauszug lieferte nach dem Waschen mit verdünnter Lauge und Wasser 2,9 g neutrale Produkte. Saure Anteile wurden nur in Spuren erhalten. Die Neutralfraktion löste man in Hexan und adsorbierte an einer Säule aus 90 g Aluminiumoxyd. Hexan löste 260 mg Substanz ab, die nach mehrfachem Umkristallisieren aus Alkohol konstant bei 151,5—152,5° schmolz<sup>1)</sup>. Mit Tetranitromethan entstand keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

<sup>1)</sup> Wenn die Substanz analysenrein und trocken bei 146° in den Schmelzpunktsapparat gegeben wurde, schmolz sie sofort zu einer trüben Schmelze, die sich erst bei ca. 157° klärte. Beim Einführen in den auf 140° erhitzten Apparat und langsamer Temperatursteigerung zeigte sich der oben erwähnte Schmelzpunkt.

3,816 mg Subst. gaben 11,117 mg CO<sub>2</sub> und 3,660 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 79,28 H 10,81%  
Gef. „ 79,50 „ 10,73%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = +18,2° (c = 1,026)

Es liegt das  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Keto-dihydro-lanosteryl-acetat vor, welches auch bei der Ozonisation von Dihydro-lanosteryl-acetat entsteht.

Mit Benzol liessen sich 1,0 g gelbgefärbte Krystalle eluieren, welche nach mehrmaligem Krystallisieren aus Alkohol bei 156,5—158,8° schmolzen. Bei weiterem Erhitzen verfestigte sich der Schmelzfluss wieder, um bei 160,5° erneut scharf durchzuschmelzen. Mit dem Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat aus  $\gamma$ -Lanosteryl-acetat trat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein<sup>1</sup>). Tetranitromethan ergab keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,840 mg Subst. gaben 10,83 mg CO<sub>2</sub> und 3,44 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 77,06 H 10,11%  
Gef. „ 76,97 „ 10,02%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = +90,5° (c = 0,999)

Es liegt das Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat vor, das auch aus  $\lambda$ -Lanosteryl-acetat durch Oxydation mit Chromsäure erhalten wurde<sup>2</sup>).

Beim Erhitzen mit Hydrazinhydrat in Alkohol bei 180° im Bombenrohr trat keine Veränderung ein; auch beim Kochen mit Acetanhydrid blieb das Diketo-acetat unverändert.

Verseifung. 240 mg Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat wurden mit methanolischer Kalilauge verseift. Aus Methanol erhielt man feine gelbe Nadelchen vom Smp. 113—115°. Mit Tetranitromethan gab sie keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 120° im Hochvakuum sublimiert.

3,842 mg Subst. gaben 11,132 mg CO<sub>2</sub> und 3,671 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 78,89 H 10,60%  
Gef. „ 79,07 „ 10,69%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = +78,3° (c = 1,373)

Es liegt Diketo-dihydro-lanosterin vor.

Diketo-dihydro-lanostenon. 200 mg Diketo-dihydro-lanosterin wurden in 25 cm<sup>3</sup> Eisessig bei Zimmertemperatur mit 200 mg Chromtrioxyd in 10 cm<sup>3</sup> 10-proz. Essigsäure oxydiert. Nach üblicher Aufarbeitung wurden aus Methanol gelbe Prismen vom Smp. 105—107° erhalten. Sie gaben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,900 mg Subst. gaben 11,327 mg CO<sub>2</sub> und 3,602 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 79,24 H 10,20%  
Gef. „ 79,26 „ 10,33%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = +172,6° (c = 1,22)

Es liegt das Diketo-dihydro-lanostenon vor<sup>3</sup>). Dieses Triketon entstand auch in guter Ausbeute bei der Oxydation von Dihydro-lanostenon mit Chromsäure.

Bei der weitergehenden Oxydation des Diketo-dihydro-lanostenons mit Chromsäure liessen sich nur ölige Fraktionen erhalten, die gegenüber dem Ausgangsmaterial keine

<sup>1</sup>) Vgl. Note 1, Seite 484.

<sup>2</sup>) Erhalten durch genau analoge Oxydation von  $\gamma$ -Lanosterin-acetat mit Chromsäure (im exp. Teil dieser Arbeit daher nicht beschrieben).

<sup>3</sup>) Auch erhalten durch genau analoge Oxydation von  $\gamma$ -Lanosterin-acetat mit Chromsäure (im exp. Teil dieser Arbeit daher nicht beschrieben).

Farbvertiefung aufwiesen. Die Reduktion des Triketons nach *Wolff-Kishner* lieferte ein gelbes Öl.

**Triketo-dihydro-lanosteryl-acetat.** Aus einem anderen Ansatz der Oxydation mit Chromsäure von Dihydro-lanosteryl-acetat wurde bei der Chromatographie der neutralen Produkte neben grösseren Mengen von Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat (Benzol-Eluate) mit Benzol-Äther-Gemischen eine aus Alkohol bei 183° schmelzende Fraktion eluiert. Mehrfaches Umkristallisieren aus Methylalkohol erhöhte den Schmelzpunkt auf 186,5—188,5°. Die dunkelgelben Blättchen gaben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,652 mg Subst. gaben 9,965 mg CO<sub>2</sub> und 3,063 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 74,96 H 9,44%

Gef. „ 74,46 „ 9,39%

Es liegt sehr wahrscheinlich Triketo-dihydro-lanosteryl-acetat vor.

#### Ozonisation von Dihydro-lanosteryl-acetat.

Durch eine Lösung von 1,5 g Dihydro-lanosteryl-acetat in 20 cm<sup>3</sup> Tetrachlorkohlenstoff wurde bei 0° nur so lange ein Ozonstrom geleitet, bis eine herausgenommene Probe mit Tetranitromethan gerade keine Gelbfärbung mehr ergab. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Ozonid eine Stunde mit Wasser gekocht. Nach Aufnehmen des Reaktionsproduktes in Äther entfernte man mit verdünnter Lauge Spuren von sauren Bestandteilen (70 mg nicht kristallisierendes Öl). Die schwach gelbgefärbten Neutralteile (1,4 g) wurden an einer Säule aus 50 g Aluminiumoxyd adsorbiert. Hexan-Benzol (4 : 1) und (1 : 1) eluierten 300 mg eines bei 148—150° schmelzenden Produktes. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol-Essigester erhöhten den Schmelzpunkt auf 151,5—152,5°. Die in feinen Nadelchen anfallende Verbindung gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung und gemischt mit dem aus Dihydro-lanosteryl-acetat durch Oxydation mit Chromsäure entstehenden Keto-dihydro-lanosteryl-acetat trat keine Erniedrigung des Schmelzpunktes ein. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,777 mg Subst. gaben 10,985 mg CO<sub>2</sub> und 3,656 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub> Ber. C 79,28 H 10,81%

Gef. „ 79,37 „ 10,83%

[α]<sub>D</sub><sup>16</sup> = +21,3° (c = 1,045)

Absorptionsspektrum im U.V.:  $\lambda_{\text{max}}$  255 m $\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,02$  (entspr. Kurve 1, Fig. B).

Mit Benzol liessen sich geringe Mengen eines gelben Produktes ablösen. Die Substanz konnte aus Alkohol nicht ganz rein erhalten werden. Smp. 154—156°. Es liegt wahrscheinlich rohes Diketo-dihydro-lanosteryl-acetat vor.

#### Oxydative Öffnung des hydroxylierten Ringes von Dihydro-lanostenon.

**Oxymethylen-dihydro-lanostenon.** 1,5 g pulverisiertes Natrium wurden mit 50 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol einige Minuten geschüttelt und darnach eine Lösung von 3,7 g Dihydro-lanostenon (Smp. 117—118°) in 5,0 g frisch destilliertem Amylformiat und 50 cm<sup>3</sup> absolutem Äther langsam zugetropft. Nach dem Abklingen der Reaktion wurde 30 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und anschliessend bei Raumtemperatur über Nacht stehen gelassen. Das unverbrauchte Natrium wurde durch Unterschichten mit wenig Methanol in Lösung gebracht und das Gemisch in Eiswasser gegossen. Durch zweimaliges Durchschütteln mit Äther entzog man der wässerigen Lösung das unverbrauchte Dihydro-lanostenon und säuerte dann die alkalische Lösung mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion an. Die abgeschiedene Oxymethylen-Verbindung zog man mit Äther aus und wusch den Extrakt mit Wasser neutral. Als Rückstand erhielt man 3,5 g einer gelbbraunen Schmiere, welche bei Zugabe von Alkohol in flachen Nadeln vom Smp. 124—126° krystallisierte. Bei weiterem Krystallisieren änderte sich der Schmelzpunkt stets ein

wenig. Mit Eisen(III)-chlorid in Aceton-Lösung entstand eine Violettfärbung. Tetranitromethan gab eine deutliche Gelbfärbung.

3,785 mg Subst. gaben 11,327 mg CO<sub>2</sub> und 3,745 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> Ber. C 81,88 H 11,08%  
Gef. „ 81,67 „ 11,07%

Dicarbonsäure C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub>. 1,5 g Oxymethylen-Verbindung wurden in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst und mit 25 cm<sup>3</sup> wässriger 10-proz. Natronlauge versetzt. Die ausgefallene Natrium-Verbindung ging nach Zugabe von 5 cm<sup>3</sup> Perhydrol in Lösung. Man erwärmte auf dem Wasserbad und fügte nach 20 Minuten neuerdings 25 cm<sup>3</sup> 10-proz. Natronlauge und 10 cm<sup>3</sup> Perhydrol zu<sup>1)</sup>. Nach Stehenlassen über Nacht wurde angesäuert und die abgeschiedene Dicarbonsäure in Äther aufgenommen. Mit 2-n. Sodalösung liessen sich 1,1 g saure Anteile ausziehen. Beim Umkristallisieren des erhaltenen Produktes aus Eisessig erhielt man feine, zu Rosetten vereinigte Nadelchen vom Smp. 194,5—196°. Mit Tetranitromethan trat keine Gelbfärbung ein. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,729 mg Subst. gaben 10,383 mg CO<sub>2</sub> und 3,531 mg H<sub>2</sub>O  
6,680 mg Subst. verbrauchten bei der Titration 2,938 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH  
C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 75,90 H 10,62% Äqu.-Gew. 237,20  
Gef. „ 75,98 „ 10,60% „ 227,37  
[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +86,7° (c = 0,727)

Dimethylester. 300 mg Dicarbonsäure wurden in ätherischer Lösung mit Diazomethan verestert. Der Ester liess sich nicht in krystalliner Form erhalten und wurde deshalb in Benzol-Hexan-Lösung durch Aluminiumoxyd filtriert. Im Filtrat war ein farbloses Öl enthalten, das aus allen üblichen Lösungsmitteln stets ölig anfiel. Zur Analyse wurde das Öl im Hochvakuum bei 140° „sublimiert“. Mit Tetranitromethan resultierte eine Gelbfärbung.

3,660 mg Subst. gaben 10,242 mg CO<sub>2</sub> und 3,550 mg H<sub>2</sub>O  
20,184 mg Subst. verbrauchten bei 36-stündigem Kochen mit 0,5-n. KOH keine Lauge.

3,491; 3,869 mg Subst. verbrauchten bei der Methoxylbestimmung nach Vieböck und Brecher 3,748; 4,157 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
C<sub>32</sub>H<sub>54</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 76,44 H 10,83 2 OCH<sub>3</sub> 12,28%  
Gef. „ 76,37 „ 10,85 „ 11,10; 11,11%

Nor-dihydro-lanostenon. 95 mg Dicarbonsäure wurden im Sublimierrohr in Stickstoffatmosphäre auf 280—310° im Wasserstrahlvakuum erhitzt. Nach 15 Minuten war die Gasentwicklung beendet und anschliessend wurde bei 180° Blocktemperatur im Hochvakuum sublimiert. Aus Methanol krystallisierte das Sublimat in schuppigen Blättchen vom Smp. 113,5—115°. Mit Tetranitromethan entstand eine deutliche Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,691 mg Subst. gaben 11,411 mg CO<sub>2</sub> und 3,875 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O Ber. C 84,40 H 11,73%  
Gef. „ 84,37 „ 11,75%  
[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +124,8° (c = 0,425)

Es liegt das nor-Dihydro-lanostenon vor.

Oxim. Das auf üblichem Wege bereitete Oxim krystallisierte aus Methanol in feinen Nadelchen vom Smp. 202° (Zers.). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,842 mg Subst. gaben 11,473 mg CO<sub>2</sub> und 3,977 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>29</sub>H<sub>49</sub>ON Ber. C 81,44 H 11,55%  
Gef. „ 81,49 „ 11,59%

<sup>1)</sup> Bei Versuchen zur Oxydation der Oxymethylen-Verbindung mit Chromsäure in Eisessig wurden stets grüne Chromkomplexe erhalten, die auch bei langem Kochen mit konz. Lauge unverändert blieben.

Herstellung von Dihydro-lanosten.

Dihydro-lanostenon wurde nach den Angaben von *Marker*<sup>1)</sup> hergestellt. Smp. 118—119°;  $[\alpha]_D^{18} = +70,2^\circ$  (c = 0,911).

Oxim. 50 mg Dihydro-lanostenon wurden in 20 cm<sup>3</sup> Methanol mit 100 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 200 mg Kaliumacetat 2 Stunden gekocht. Beim Einengen fiel das Oxim in feinen Nadelchen aus, welche abgesaugt, mit Wasser und Methanol gewaschen und aus Methanol umkristallisiert wurden. Smp. 169—171°

3,670 mg Subst. gaben 10,976 mg CO<sub>2</sub> und 3,852 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>30</sub> H <sub>51</sub> ON	Ber. C 81,57	H 11,64%
	Gef. „ 81,62	„ 11,74%

Semicarbazon. 500 mg Dihydro-lanostenon wurden mit Semicarbazid-acetat (aus 1,0 g Semicarbazid-hydrochlorid und 2,0 g krystallisiertem Natriumacetat) in 80 cm<sup>3</sup> Methanol 2 Stunden am Rückfluss erhitzt. Beim Abkühlen fiel das Semicarbazon aus. Die farblosen Nadelchen schmolzen nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol bei 236—238° unter Zersetzung (evak. Schmelzpunktsrörchen).

C <sub>31</sub> H <sub>53</sub> ON <sub>3</sub>	Ber. C 77,0	H 11,0%
	Gef. „ 77,7	„ 11,2%

Dihydro-lanosten. 520 mg Semicarbazon wurden mit einer Lösung von 1,5 g Natrium in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Äthanol im Einschlussrohr 20 Stunden lang auf 180° erhitzt. Der Ätherauszug des Reaktionsgemisches wurde mit verdünnter Salzsäure, verdünnter Lauge und Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde in Hexan gelöst und durch eine Säule aus 5 g Aluminiumoxyd filtriert. Beim Umkristallisieren des Eluates aus Aceton erhielt man farblose Blättchen vom Smp. 72,5—73,5°. Mit Tetranitromethan entstand eine intensive Gelbfärbung. Zur Analyse wurde im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd 5 Tage lang getrocknet.

3,720 mg Subst. gaben 11,894 mg CO<sub>2</sub> und 4,224 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>30</sub> H <sub>52</sub>	Ber. C 87,30	H 12,70%
	Gef. „ 87,25	„ 12,71%

$$[\alpha]_D^{16} = +104^\circ \text{ (c = 1,142)}$$

Isomerisierung von Dihydro-lanosten mit Chlorwasserstoff.

Durch eine Lösung von 250 mg Dihydro-lanosten (Smp. 72,5—73,5°) in trockenem Chloroform wurde während 3 Stunden ein trockener Strom von Chlorwasserstoff geleitet. Das Lösungsmittel wurde durch Absaugen im Vakuum entfernt und der Rückstand mehrmals aus Aceton umkristallisiert, bis die farblosen, silbrigen Blättchen konstant bei 79,5—80,5° schmolzen. Mit Tetranitromethan entstand eine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde 5 Tage im Vakuumexsikkator über Kaliumhydroxyd getrocknet.

3,840 mg Subst. gaben 12,290 mg CO<sub>2</sub> und 4,332 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>30</sub> H <sub>52</sub>	Ber. C 87,30	H 12,70%
	Gef. „ 87,34	„ 12,62%

$$[\alpha]_D^{15} = +36^\circ \text{ (c = 0,847)}$$

Es liegt Iso-dihydro-lanosten vor.

Herstellung von  $\gamma$ -Lanosten.

$\gamma$ -Lanostenon<sup>2)</sup>. 240 mg  $\gamma$ -Lanosterin wurden mit der vierfachen Menge Kupferpulver auf dem üblichen Wege<sup>3)</sup> dehydriert. Das Reaktionsprodukt wurde in Hexan-

<sup>1)</sup> Am. Soc. 59, 1368 (1937). Die gefundenen Daten stimmen mit den von *Marker* angegebenen überein.

<sup>2)</sup> Von *Bellamy* und *Dorée*, Soc. 1941, 180, hergestellt durch Oxydation von  $\gamma$ -Lanosterin mit Chromsäure.

<sup>3)</sup> Vgl. z. B. *Ruzicka*, *Brenner* und *Rey*, Helv. 24, 515 (1941).

lösung durch Aluminiumoxyd filtriert. Aus Methanol krystallisierte die Substanz in spitzigen Blättchen vom konstanten Smp. 128—129°. Mit Tetranitromethan entstand eine bräunlichgelbe Färbung. Zur Analyse wurde bei 140° im Hochvakuum sublimiert.

3,748 mg Subst. gaben 11,689 mg CO<sub>2</sub> und 3,750 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O Ber. C 84,84 H 11,39%

Gef. „ 85,11 „ 11,20%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = + 45,6° (c = 1,081)

Das auf dem üblichen Wege hergestellte Oxim schmolz bei 188,5—190,5°.

$\gamma$ -Lanosten. 80 mg  $\gamma$ -Lanostenen wurden mit Semicarbazid-acetat (aus 100 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 200 mg Natriumacetat) in 25 cm<sup>3</sup> Methanol 1 Stunde gekocht. Das beim Erkalten ausfallende Semicarbazid schmolz bei 222—225°. Es wurde mit einer Lösung von 0,6 g Natrium in 10 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol unter Zugabe eines Tropfens Hydrazinhydrat im Einschlusserohr 8 Stunden auf 180° erhitzt. Der Ätherauszug des Reaktionsgemisches wurde mit verdünnter Säure, verdünnter Lauge und Wasser gewaschen und lieferte den rohen Kohlenwasserstoff. Filtrieren in Hexanlösung durch Aluminiumoxyd ergab nach Konzentration des Filtrats farblose, silbrige Blättchen vom Smp. 93—94,5°. Mit Tetranitromethan entstand eine intensive gelbbraune Färbung. Zur Analyse wurde im Vakuumexsikkator 5 Tage über Kaliumhydroxyd getrocknet.

3,782 mg Subst. gaben 12,153 mg CO<sub>2</sub> und 4,144 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>50</sub> Ber. C 87,73 H 12,27%

Gef. „ 87,69 „ 12,26%

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>16</sup> = + 75,5° (c = 0,689)

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.  
Technischen Hochschule, Zürich.

## 56. Strukturchemische Untersuchungen X.

Zur Kenntnis des reaktiven Verhaltens von Di-thio-amiden  
aliphatischer Dicarbonsäuren  
von H. Lehr und H. Erlenmeyer.

(12. II. 44.)

Die Herstellung des Di-thio-amids der Adipinsäure durch H. Erlenmeyer und G. Bischoff<sup>1)</sup> ermöglichte das vergleichende Studium von einigen Kondensationsreaktionen mit Di-thio-amiden, über die wir in vorliegender Arbeit berichten wollen.

G. Forssell<sup>2)</sup> erhielt bei der Kondensation von Rubeanicwasserstoff mit Äthylendiamin eine krystallisierte, schwefelfreie, bei 290—300° unter Zersetzung schmelzende Substanz, der er die Konstitution eines Bis-Imidazolins (I) zuschrieb. Als hypothetisches Zwischenprodukt wurde die lineare Verbindung von der Formel II angenommen.

<sup>1)</sup> Helv. 27, 412 (1944). <sup>2)</sup> B. 24, 1846 (1891).