

129. Karl Dimroth und Günter Trautmann: Über das Ergostatrien und das 7-Dehydro-cholesten.

[Aus d. Allgem. Chem. Universitäts-Laborat. Göttingen.]

(Eingegangen am 20. Februar 1936.)

Die Ergebnisse der Messungen von Absorptionsspektren im sichtbaren und ultravioletten Gebiet sind in den letzten Jahren wiederholt mit Erfolg für Konstitutions-Bestimmungen herangezogen worden. So konnten zum Beispiel von Kuhn und Winterstein durch systematische Untersuchungen an Polyenen Beziehungen zwischen Farbe und Konstitution gefunden werden, die bei der Aufklärung der Carotine eine wesentliche Rolle gespielt haben¹⁾.

Das Ergosterin, dessen Konstitution durch Arbeiten von Windaus und Mitarbeitern²⁾ völlig geklärt ist, besitzt ein sehr charakteristisches und eigenartiges Absorptionsspektrum im Ultraviolett. Die Deutung dieses Spektrums hat bei der Struktur-Aufklärung Anlaß zu manchen Irrtümern gegeben. So haben Castille und Ruppel³⁾ auf Grund des Absorptionsspektrums des Ergosterins durch Vergleich mit bekannten Spektren einfacher aliphatischer oder aromatischer Stoffe Folgerungen über den chemischen Bau abgeleitet, die in keiner Weise auf chemischem Wege bestätigt werden konnten: Die beiden Autoren glaubten, daß die starken Banden zwischen 260 und 300 μ durch einen Benzolring, in dessen unmittelbarer Nachbarschaft die Hydroxylgruppe stehe, verursacht würden. Ferner hat Lowry⁴⁾ behauptet, daß die langwellige Ultraviolett-Absorption des Ergosterins nur durch das Zusammenwirken von mindestens drei chromophoren Gruppen erklärt werden könne. Da von den drei Doppelbindungen eine isoliert in der Seitenkette liegt und deshalb keine farbvertiefende Wirkung besitzen kann, glaubte der Autor, daß die Hydroxylgruppe einen entscheidenden Einfluß auf die optischen Eigenschaften ausübe, und daß sie sich deshalb „so nahe wie möglich“ bei dem konjugierten System befinden müsse. Außerdem stellte er überraschende Ähnlichkeit zwischen dem Absorptionsspektrum des Ergosterins und des Phenols fest; daraus zog er den Schluß, daß das Ergosterin ähnlich wie das Phenol gebaut sei. Die Hydroxylgruppe müßte demnach enolischen Charakter besitzen.

Bekanntlich haben sich alle Schlußfolgerungen, die die Autoren ausgesprochen haben, durch die Resultate der chemischen Untersuchungen als unrichtig erwiesen. Um auf Grund von Absorptionsmessungen Aussagen über die Konstitution machen zu können, darf man nur Stoffe ähnlicher Struktur vergleichen, und es ist nicht zulässig, Analogie-Schlüsse zwischen einfachen aliphatischen Verbindungen und den kompliziert gebauten Sterinen zu ziehen. Auf diese Tatsachen haben schon früher verschiedene Forscher aufmerksam gemacht⁵⁾.

Falsche Deutungen des Ultraviolett-Absorptionsspektrums haben O. Rosenheim und H. King⁶⁾ dazu veranlaßt, unter Berücksichtigung des von anderer Seite veröffentlichten Versuchsmaterials für Ergosterin

¹⁾ Kuhn u. Winterstein, *Helv. chim. Acta* **12**, 899 [1929].

²⁾ A. Windaus, Inhoffen u. v. Reichel, *A.* **510**, 248 [1934].

³⁾ Castille u. Ruppel, *Bull. Acad. Royal Medicine Belgique* **1929**, 799.

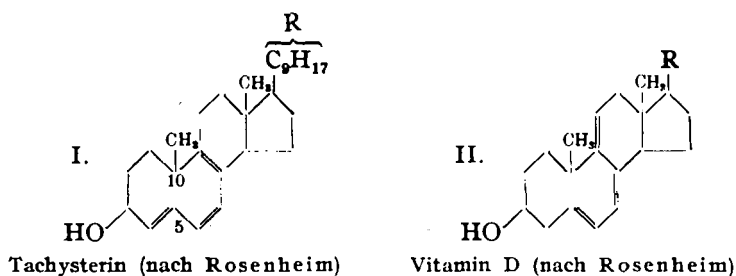
⁴⁾ Lowry, *Journ. Soc. chem. Ind.* **52**, 10 [1933].

⁵⁾ H. Kauffmann, *B.* **50**, 635 [1917]; König, *B.* **58**, 2536 [1925], s. a. 1).

⁶⁾ O. Rosenheim u. H. King, *Journ. Soc. chem. Ind.* **53**, 196 [1934].

und fast alle Bestrahlungsprodukte Formeln aufzustellen, bei denen die Hydroxylgruppe nicht an Kohlenstoffatom 3, wie bei allen bekannten Sterinen, sondern an Kohlenstoffatom 4 steht. Durch Arbeiten von Windaus und dessen Schülern ist der Beweis erbracht worden, daß diese Formeln unrichtig sind.

Vor kurzem wurden nun von O. Rosenheim und H. King⁷⁾ für die Bestrahlungsprodukte des Ergosterins wieder neue hypothetische Formeln vorgeschlagen. Sie gründen sich insbesondere auf die inzwischen durch Untersuchungen von Lettré⁸⁾ am Göttinger Institut bekannt gewordene Tatsache, daß Tachysterin und Vitamin D nicht drei, wie bislang angenommen wurde, sondern vier Doppelbindungen besitzen. Die Autoren nehmen an, daß beim Übergang von Ergosterin bzw. Lumisterin in Tachysterin und Vitamin D durch Sprengung der Bindung zwischen C₅ und C₁₀ ein Zehn-Ring-System entstanden ist. Bei der für das Tachysterin aufgestellten Formel liegt die neu entstandene Lückenbindung in α -Stellung zur Hydroxylgruppe und in Konjugation mit den anderen beiden Doppelbindungen. O. Rosenheim und H. King sehen eine besondere Stütze für dieses Strukturbild im optischen Verhalten des Tachysterins, das eine starke Absorptionsbande bei 280 m μ besitzt. Sie nehmen also wieder in gleicher Weise, wie früher beim Ergosterin, eine Beteiligung der Hydroxylgruppe am chromophoren System an. Inzwischen ist durch Windaus und Thiele⁹⁾ die Struktur des Vitamins D aufgeklärt worden. Durch diese Arbeiten ist die Unhaltbarkeit der von Rosenheim und King für Tachysterin und Vitamin D angegebenen Formeln I und II bewiesen worden.



Alle diese zum Teil sehr weitgehenden Folgerungen struktureller Art, wie sie von den genannten Autoren durch Benutzung physikalischer Meßergebnisse abgeleitet wurden, sind aber nach unserer Ansicht ohne experimentelle Prüfung auf chemischem Wege unberechtigt und wertlos; sie können, wie aus den angeführten Fällen ersichtlich, zu groben Fehlschlüssen führen. Andererseits aber ist es auch unzulässig, daß eine so wichtige physikalische Eigenschaft, wie die Absorption im Ultraviolett, bei der Aufstellung eines Struktur-Bildes unberücksichtigt bleibt. So wird von Heilbron¹⁰⁾ und Mit-

⁷⁾ O. Rosenheim u. H. King, Journ. Soc. chem. Ind. **54**, 699 [1935].

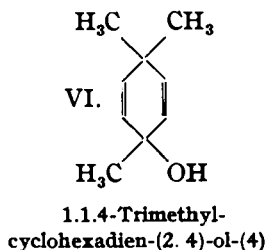
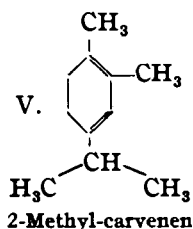
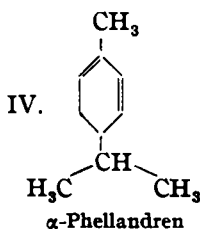
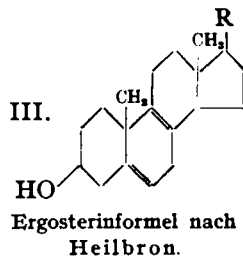
⁸⁾ H. Lettré, A. **511**, 210 [1934].

⁹⁾ A. Windaus u. W. Thiele, A. **521**, 160 [1935].

¹⁰⁾ Dunn, Heilbron u. Mitarbeiter, Journ. chem. Soc. London **1934**, 1576; Heilbron u. Spring, Journ. Soc. chem. Ind. **54**, 795 [1935].

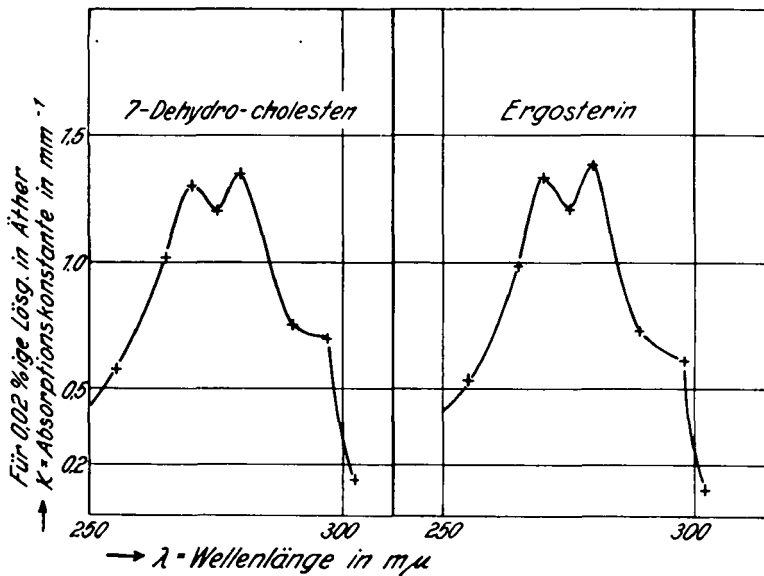
arbeitern für das Ergosterin eine Formel III angenommen, die diesen Erfordernissen in keiner Weise gerecht wird: Die beiden Doppelbindungen im Ring B sollen sich nicht in Konjugation befinden, sondern isoliert stehen. Abgesehen von Einwänden rein chemischer Art, die erhoben werden können (Addition von Wasserstoff bei Behandlung mit Natrium und Alkohol, Addition von Maleinsäure-anhydrid), würde ein so gebauter Stoff sicher keine Absorption zwischen 260 und 300 $m\mu$ besitzen.

Diese Tatsache ist von H. Pallutz¹¹⁾ durch Untersuchungen der optischen Eigenschaften einer Reihe von Modell-Substanzen von ungesättigten Sterinen und Terpenen eindeutig bewiesen worden. So besitzen zum Beispiel das α -Phellandren (IV) und das 2-Methyl-carvenen (V) ausgeprägte Absorptionsmaxima zwischen 265 und 270 $m\mu$, während ein entsprechendes Derivat des 1.4-Dihydro-benzols, das 1.1.4-Trimethyl-cyclohexadien-(2.5)-ol-(4) (VI) für ultraviolettes Licht über 220 $m\mu$ vollkommen durchlässig ist. Daher kann die Formel von Heilbron nicht richtig sein, wenn man nicht, wie Lowry und Rosenheim, die Hydroxylgruppe in das chromophore System mit einbeziehen will.



Auf Grund der vergleichenden Absorptionsmessungen, die Pallutz durchgeführt hat, ist es sehr wahrscheinlich, daß die optischen Eigenschaften des Ergosterins nur durch die Lage der konjugierten Doppelbindungen im Ring B des Sterin-Skelettes verursacht werden, und daß die Hydroxylgruppe darauf keinen Einfluß ausübt. Wir haben zur experimentellen Prüfung dieser Frage zwei Stoffe dargestellt, die dieselbe Anordnung der konjugierten Doppelbindungen im Ring B, wie das Ergosterin besitzen, bei denen aber die Hydroxylgruppe nicht mehr vorhanden ist: Das Ergostatien, den ungesättigten Grundkohlenwasserstoff des Ergosterins, und das 7-Dehydro-cholesten, das sich von dem ersten dadurch unterscheidet, daß es eine gesättigte und um ein Kohlenstoffatom kürzere Seitenkette enthält. Die beiden Verbindungen, die auf ganz verschiedenem Wege dargestellt wurden, besitzen genau dasselbe charakteristische Absorptionsspektrum wie das Ergosterin. Damit ist der Beweis erbracht, daß die Hydroxylgruppe ohne jegliche Bedeutung für die starken Absorptionsbanden zwischen 260 und 290 $m\mu$ ist, und daß allein die konjugierten Doppelbindungen im Ring B des Cyclopentano-hydrophenanthren-Skelettes dafür verantwortlich sind.

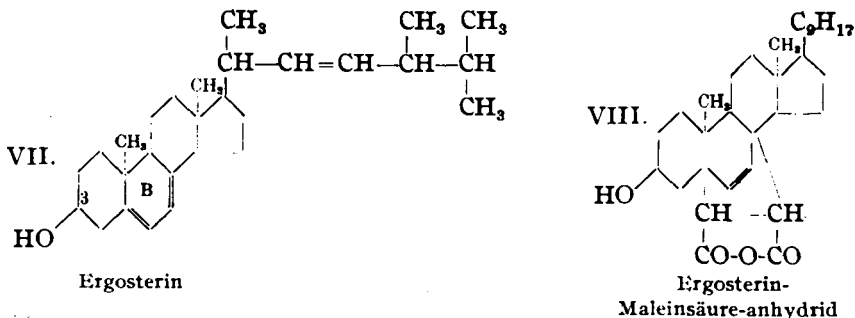
¹¹⁾ Pallutz, Dissertat., Göttingen 1935.



1) Zur Darstellung des Ergostatriens.

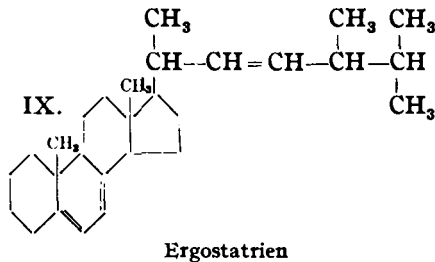
Durch Arbeiten von Windaus und Mitarbeitern¹²⁾ sind die Additionsprodukte von Maleinsäure-anhydrid an Ergosterin bzw. an Ergosterin-acetat bekannt und eingehend untersucht worden. Unter diesen isomeren Addukten spaltet das von Inhoffen beschriebene Ergosterin-acetat-Maleinsäure-anhydrid ganz besonders glatt wieder Maleinsäure-anhydrid bei der thermischen Zersetzung ab und liefert sehr reines Ergosterin zurück. Wir sind bei unseren Versuchen von diesem Addukt ausgegangen. Mit alkohol. Schwefelsäure wird die Acetylgruppe am Kohlenstoffatom 3 abgespalten, man gewinnt so das Ergosterin-Maleinsäure-anhydrid vom Schmp. 202° (VIII).

Durch vorsichtige Oxydation der sekundären Alkoholgruppe mit Chromsäure in der Kälte erhält man in verhältnismäßig guter Ausbeute das entsprechende 3-Keto-Derivat. Beim Ergosterin (VII) gelingt diese Reaktion wegen des Vorhandenseins der konjugierten Doppelbindungen nicht. Die Keto-Gruppe wird nun durch Reduktion mit Zink-amalgam in Eisessig-Salzsäure nach Clemmensen durch die CH_2 -Gruppe ersetzt:



¹²⁾ A. Windaus u. Lüttringhaus, B. **64**, 850 [1931]; Inhoffen, A. **508**, 81 [1933].

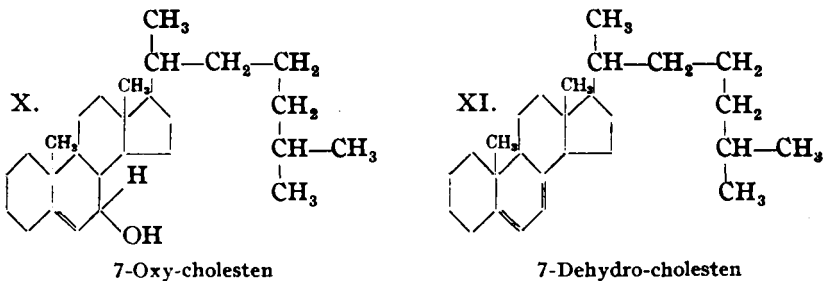
Dieses Desoxy-ergosterin-Maleinsäure-anhydrid spaltet sehr glatt, genau wie das Ergosterin-acetat-Maleinsäure-anhydrid selbst, wieder Maleinsäure ab und liefert den dem Ergosterin zu grunde liegenden



ungesättigten Kohlenwasserstoff, das Ergostatrien (IX). Wie schon oben erwähnt wurde, gleicht das Absorptionsspektrum vollkommen dem des Ergosterins.

2) Zur Darstellung des 7-Dehydro-cholestens.

7-Oxo-cholesten¹³⁾ wird mit Aluminium-isopropylat behandelt¹⁴⁾; dabei geht die in Stellung 7 befindliche Keto-Gruppe in die sekundäre Alkohol-Gruppe über (X). Diese wird benzooyliert und aus dem Benzoat durch thermische Abspaltung der Benzoesäure im Hochvakuum das 7-Dehydro-cholesten (XI) erhalten¹⁵⁾. Es schmilzt bei 88—89°, dreht stark links und besitzt dasselbe Spektrum wie Ergosterin.



Beschreibung der Versuche.

Ergosteron-(3)-Maleinsäure-anhydrid.

Das Ergosterin-Maleinsäure-anhydrid wird nach der Vorschrift von Inhoffen durch Verseifung des Ergosterin-acetat-Maleinsäure-anhydrides mit alkohol. Schwefelsäure erhalten. Zur Oxydation werden 2.5 g in 300 ccm Eisessig gelöst und allmählich mit einer Lösung von 700 mg Chromsäure in 3 ccm Wasser und 50 ccm Eisessig versetzt. Nach 4-stdg. Stehen bei 15—20° wird die überschüssige Chromsäure mit einigen Tropfen schwefliger Säure reduziert; dann verdünnt man die Lösung mit viel Wasser und schüttelt

¹³⁾ A. Windaus, B. **53**, 495 [1920].

¹⁴⁾ Meerwein u. Schmidt, A. **444**, 221 [1925].

¹⁵⁾ A. Windaus, Lettré u. Schenck, A. **520**, 98 [1935].

mit Äther aus. Zur Entfernung geringer Mengen saurer Produkte wird mehrmals mit verd. Natriumbicarbonat-Lösung gewaschen. Nach dem Verdampfen des Äthers hinterbleibt ein krystalliner Rückstand, der durch wiederholtes Umlösen aus Methanol oder Eisessig gereinigt werden kann. Das Keton krystallisiert in prächtigen, langen Nadeln, die bei 178—179° (unkorr.) schmelzen. Ausbeute 65%.

5.175 mg Sbst.: 14.720 mg CO₂, 4.120 mg H₂O.

C₃₂H₄₄O₄. Ber. C 77.99, H 9.01. Gef. C 78.00, H 8.96.

3-Desoxy-ergosterin-Maleinsäure-anhydrid.

1 g 3-Keto-ergosterin-Maleinsäure-anhydrid wird in 300 ccm Eisessig gelöst; zu dieser Lösung werden 15 g amalgamierte Zink-Granalien und 10 ccm konz. Salzsäure hinzugefügt. Man erhitzt zum Sieden und gibt nach je 30 Min. etwa 5 ccm konz. Salzsäure dazu. Nach 6—7 Stdn. ist die Reduktion beendet. Das 3-Desoxy-ergosterin-Maleinsäure-anhydrid krystallisiert nach dem Erkalten bei vorsichtigem Wasser-Zusatz in feinen verfilzten Nadeln aus. Nach dem Umlösen aus Alkohol liegt der Schmp. bei 176—177° (unkorr.). Der Stoff gibt mit dem Ausgangsmaterial eine Schmelzpunkts-Depression von etwa 30°. Ausbeute 30—40%.

5.198 mg Sbst.: 15.270 mg CO₂, 4.520 mg H₂O.

C₃₃H₄₆O₃. Ber. C 80.25, H 9.72. Gef. C 80.15, H 9.72.

Ergostatrien.

270 mg 3-Desoxy-ergosterin-Maleinsäure-anhydrid werden zur Abspaltung des Maleinsäure-anhydrids in einer Retorte 1 Stde. bei 12 mm Druck auf 220° erhitzt. Nach Entfernung des übergegangenen Maleinsäure-anhydrids wird der Rückstand im Hochvakuum bei 0.0005 mm Druck und 200—210° destilliert. Das übergetriebene, fast farblose Öl erstarrt größtenteils zu ganz feinen Nadelchen, die mit Äther herausgelöst und aus Äther-Methanol umkrystallisiert werden. Der Kohlenwasserstoff ist in Methylalkohol sehr schwer löslich; er schmilzt nach vorhergehendem Sintern bei 99—100° (unkorr.). Das Absorptionsspektrum im Ultraviolett ist mit dem des Ergosterins und des 7-Dehydro-cholesterins identisch (s. Fig.).

4.953 mg Sbst.: 16.005 mg CO₂, 5.090 mg H₂O, 0.008 mg Rückstand.

C₃₂H₄₄. Ber. C 88.33, H 11.67. Gef. C 88.34, H 11.52.

7-Oxy-cholesten.

4.7 g 7-Oxo-cholesten in 60 ccm trockenem Isopropylalkohol werden mit 3 g Aluminiumisopropylat etwa 5 Stdn. am Rückflußkühler auf dem Wasserbade erhitzt; danach wird das bei der Reaktion entstandene Aceton langsam in etwa 4 Stdn. abdestilliert. Die Destillation ist beendet, sobald im übergehenden Anteil mit der Legalschen Probe nur noch Spuren von Aceton nachweisbar sind. Die zurückbleibende Lösung gießt man langsam in 150 ccm 3-proz. Kalilauge und nimmt den hierbei ausfallenden Niederschlag in Äther auf. Die ätherische Lösung wird gewaschen, getrocknet, eingengt und mit wenig Aceton versetzt. Nach einigen Stunden scheiden sich dicke, tafelförmige Krystalle aus, die mehrmals aus Aceton umgelöst werden. Sie beginnen bei 83° zu sintern und schmelzen völlig bei 93—94° (unkorr.). Ausbeute 3.9 g 7-Oxy-cholesten. Die Analyse ergibt für Kohlenstoff etwas

zu niedrige Werte, da die Substanz Krystallwasser enthält, das nur schwer vollständig zu entfernen ist.

Erhitzt man 7-Oxy-cholesten mit Essigsäure-anhydrid, so entsteht als Reaktionsprodukt eine in feinen weißen Nadeln krystallisierende Verbindung vom Schmp. 91°. Die Analysen-Werte zeigen, daß aus dem 7-Oxy-cholesten 1 Mol. Wasser ausgetreten ist.

2.886 mg Sbst.: 9.30 mg CO₂, 3.12 mg H₂O.

C₂₇H₄₄. Ber. C 87.96, H 12.04. Gef. C 87.88, H 12.10.

Das Maximum der Absorptionskurve liegt bei 238 m μ mit einem Absorptionskoeffizienten von 3.1 mm⁻¹ für eine 0.02-proz. Lösung in Äther. Der Kohlenwasserstoff liefert mit Maleinsäure-anhydrid kein Addukt; die Doppelbindungen befinden sich also in zwei verschiedenen Ringen. Mit 7-Dehydro-cholesten gibt der Stoff, der schwach rechts dreht, eine Schmelzpunkts-Erniedrigung von 6°.

Benzoat des 7-Oxy-cholestens: 2 g 7-Oxy-cholesten werden in 25 ccm trockenem Pyridin gelöst und unter Kühlung mit 4 ccm Benzoylchlorid versetzt. Nach 2-tägigem Stehen wird die Lösung vorsichtig in viel Wasser gegossen. Dabei fällt ein weißes, krystallines Produkt aus, das nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank abfiltriert und gewaschen wird. Dem Waschwasser werden einige Tropfen Eisessig zugesetzt. Die gewonnenen feinen Nadeln löst man 3—4-mal aus Aceton-Methanol um; sie schmelzen bei 108—109° (unkorr.). Ausbeute 1.9 g.

2.770 mg Sbst.: 8.43 mg CO₂, 2.54 mg H₂O.

C₃₄H₄₀O₂. Ber. C 83.20, H 10.27. Gef. C 83.00, H 10.26.

17.1 mg Sbst., in 2 ccm Chloroform ($l = 1$ dm): $\alpha = +0.97^\circ$; $[\alpha]_D^{25} = +113.5^\circ$.

Durch Verseifung dieser Verbindung mit 2-proz. methylalkohol. Lauge wird ein in Tafeln krystallisierender Stoff erhalten, der bei 94° schmilzt und mit 7-Oxy-cholesten keine Schmelzpunkts-Erniedrigung gibt.

7-Dehydro-cholesten.

Zur Abspaltung der Benzoesäure wird das Benzoat in Mengen von etwa 150 mg in kleinen Retorten im Hochvakuum auf 120—125° (Temp. des Luftbades) 40 Stdn. erhitzt. Dabei sublimieren, neben Benzoesäure, schöne, weiße Krystalle. Das Destillat wird in Äther gelöst und die ätherische Lösung zur Entfernung der Benzoesäure mit verd. Lauge ausgeschüttelt; darauf gewaschen, getrocknet, stark eingeeengt und mit Methanol versetzt. Nach wenigen Stunden scheiden sich feine, nadelförmige Krystalle aus, die oftmals aus Aceton-Methanol umgelöst werden. Sie schmelzen bei 88—89° (unkorr.).

2.817 mg Sbst.: 9.07 mg CO₂, 3.06 mg H₂O.

C₂₇H₄₄. Ber. C 87.96, H 12.04. Gef. C 87.81, H 12.15.

4.09 mg Sbst., in 2 ccm Chloroform ($l = 1$ dm): $\alpha = -0.26^\circ$; $[\alpha]_D^{25} = -127^\circ$.

Wird die thermische Spaltung des Benzoates bei höherer Temperatur als oben angegeben, oder im Vakuum der Öl- bzw. Wasserstrahl-Pumpe ausgeführt, dann geht in der Hauptsache neben unzersetztem Benzoat jener Kohlenwasserstoff über, der auch beim Kochen von 7-Oxy-cholesten mit Essigsäure-anhydrid entsteht.

Für die Leitung und Unterstützung unserer Versuche sind wir Hrn. Prof. Windaus zu großem Dank verpflichtet.