

203. Untersuchungen über Organextrakte.

(4. Mitteilung¹)).

Zur Kenntnis der unverseifbaren Lipide aus Schweinemilz

von V. Prelog, L. Ruzicka und P. Stein.

(29. X. 43.)

Die Vervollkommnung der Isolierungstechnik organischer Verbindungen aus komplizierten Gemischen bildete einen Anreiz zur Untersuchung verschiedener Organextrakte auf die in kleinen Mengen vorkommenden Inhaltstoffe und Wirkstoffe der Lipoidreihe. Es schien uns dabei wichtig, neben den Extrakten aus Hormondrüsen wie Testes²) auch Extrakte aus solchen Organen zu untersuchen, in denen typische, lipoidlösliche Hormone nicht nachgewiesen sind. Ein solches Organ ist die Milz, welche auch deswegen eine Sonderstellung einnimmt, weil sie nicht unbedingt lebensnotwendig ist.

In der vorliegenden Mitteilung wird über eine Untersuchung der bisher nicht eingehender erforschten unverseifbaren Lipide aus Schweinemilz berichtet, die im Zusammenhang mit einer Reihe ähnlicher Arbeiten¹)²)³) in unserem Laboratorium durchgeführt wurde. Das Ausgangsmaterial bildete ein Acetonextrakt aus Schweinemilz, welcher von den *Wilson Laboratories*, Chicago, aus 1500 kg des frischen Organs hergestellt worden war. Der Acetonextrakt wurde von uns zuerst mit heissem Methanol ausgezogen. Das Unverseifbare geht dabei, wie Vorversuche in kleinem Masstab zeigten, grösstenteils in die Lösung, während Fettsäureglyceride ungelöst bleiben. Aus dem Methanolextrakt trennten wir einen grossen Teil des Cholesterins durch Krystallisation aus Aceton ab. Der Rest wurde dann mit methanolischer Natronlauge verseift. Die Schwierigkeiten, welche bei der Isolierung der unverseiften Anteile aus dem Verseifungsprodukt entstehen, versuchten wir dadurch zu umgehen, dass wir den Hauptanteil der Fettsäuren als unlösliche Bariumseifen fällten, wonach sich der cholesterinarme, unverseifte Anteil, das sog. Restunverseifbare⁴), auf übliche Weise gewinnen liess. Ein grosser Teil des R.U. blieb jedoch in den Nebenprodukten der Aufarbeitung, dem abgetrennten Cholesterin und den schwer löslichen Bariumseifen eingeschlossen. Die teilweise recht mühsame Isolierung des R.U. aus diesen Pro-

¹) 3. Mitt. E. Hardegger, L. Ruzicka und E. Tagmann, Helv. **26**, 2205 (1943).

²) Vgl. L. Ruzicka und V. Prelog, Helv. **26**, 975 (1943).

³) L. Ruzicka, M. W. Goldberg und H. Meister, Helv. **23**, 559 (1940).

⁴) Nach U. Graff, Biochem. Z. **298**, 179 (1938) nennen wir den von Cholesterin befreiten Anteil des Unverseifbaren das „Restunverseifbare“ und bezeichnen es durch die Abkürzung R.U.; vgl. auch Helv. **26**, 2205 (1943).

dukten beschreiben wir im experimentellen Teil. Das R.U. behandelte man mehrere Male mit *Girard*-Reagens T, worauf sowohl die nicht umgesetzten als auch die umgesetzten Anteile einer sorgfältigen chromatographischen Analyse an Aluminiumoxyd unterworfen wurden. Die systematische Anwendung der Methode des Durchlauf-Chromatogramms führte schliesslich zu einer Reihe von Fraktionen, aus welchen bisher neben dem schon erwähnten Cholesterin die in der Tabelle 1 aufgeführten Verbindungen abgetrennt werden konnten.

Tabelle 1.

Steroide:

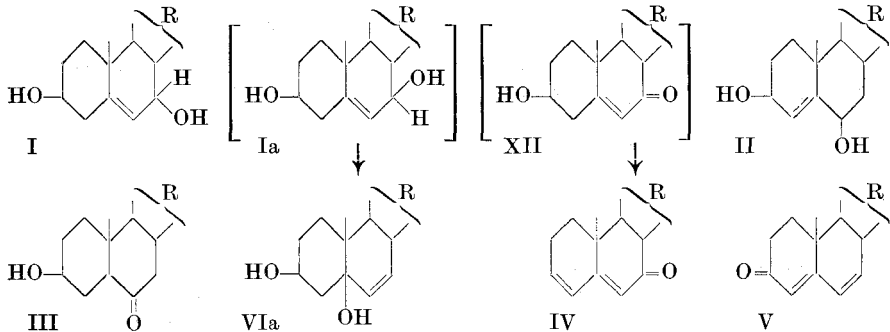
- I. Δ^5 -Cholesten-diol-(3β , 7α)¹⁾ (7α -Oxy-cholesterin)
- II. Δ^4 -Cholesten-diol-(3β , 6)
- III. Cholestanol-(3β)-on-(6)
- IV. $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7)
- V. $\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3)
- VI. Verbindung $C_{27}H_{46}O_2$, Smp. 155–156°, $[\alpha]_D = -132^\circ$

Verschiedene Verbindungen:

- VII. Batylalkohol (*d*-Octadecyl- α -glyceryl-äther)
- VIII. Palmityl-sphingosin (?)
- IX. Verbindung A $C_{27}H_{46-48}O$, Smp. 210–216°
- X. Verbindung B $C_{27}H_{48}O_3$, Smp. 200–201°
- XI. Verbindung C, Smp. 86–87°

Verunreinigungen:

- Kohlenwasserstoff C_nH_{2n+2} , Smp. 54°
- Friedelin



Die Konstitution der Verbindung VI konnte noch nicht vollständig festgelegt werden. Sie zeigte die für „Oxy-cholesterin“ typischen Farbenreaktionen, gab ein Monoacetat und ein Monobenzoat, war mit Digtonin nicht fällbar und liess sich durch Oxydation mit Aluminium-phenolat und Aceton in das $\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3) (V) überführen. In alkoholischer Lösung zeigte die Verbindung keine Ab-

¹⁾ Die Bezeichnungen α und β am Kohlenstoffatom 7 des Cholesterin-Gerüsts sind im Gegensatz zu jenen am Kohlenstoffatom 3 willkürlich und sagen nichts über die sterische Lage der Substituenten aus, da diese bisher nicht bestimmt wurde.

sorption im U.V. Sie hat demnach, mit Ausnahme des höheren Schmelzpunktes, die gleichen Eigenschaften, wie das von *S. Bergström* und *O. Wintersteiner*¹⁾ beschriebene Δ^6 -Cholesten-diol-(3,5) (VIa), Smp. 139—140°, $[\alpha]_D = -134^\circ$. Ein nach diesen Autoren durch Umlagerung aus Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 β) (Ia zum Unterschied von I für das 7 α -Derivat) hergestelltes Präparat schmolz bei 139—140° und gab mit der Verbindung VI eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Die naheliegende Vermutung, dass die Verbindung VI ein Stereoisomeres des Δ^6 -Cholesten-diols-(3,5) (VIa) ist, muss durch weitere Versuche geprüft werden. Wenn sich diese Annahme bestätigen sollte, so könnte es sich um ein zweites Umlagerungsprodukt, welches aus Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 β) (7 β -Oxy-cholesterin) (Ia) während der Behandlung mit *Girard-Reagens T* entstanden ist, handeln.

Die aus dem Milzextrakt isolierten und als Steroide erkannten Verbindungen können ihrer Konstitution nach schematisch als Oxydationsprodukte des Cholesterins bzw. Umwandlungsprodukte²⁾ solcher aufgefasst werden. Ihre Entstehung könnten diese Verbindungen tatsächlich einer Oxydation des Cholesterins verdanken oder sie wären als Steroid-Stoffwechselprodukte unbekanntem Ursprungs zu betrachten. Im ersten Falle wäre zu überlegen, ob die oxydativen Umwandlungen des Cholesterins in der Milz selbst oder aber bei der Herstellung und langwierigen Verarbeitung der Extrakte stattgefunden haben. Es ist bekannt, dass Cholesterin in Gegenwart anderer Bestandteile von Organextrakten durch Luft ausserordentlich leicht oxydiert wird. Dabei entsteht ein kompliziertes Gemisch von Verbindungen, welches in der älteren Literatur als „Oxy-cholesterin“ bezeichnet und durch gewisse Farbenreaktionen charakterisiert wurde³⁾.

Erst in neuester Zeit gelang es, die Frage des „Oxy-cholesterins“ teilweise zu klären. Durch Autoxydation von Cholesterin in wässriger Suspension erhielten *S. Bergström* und *O. Wintersteiner*⁴⁾ ein Gemisch, aus welchem das Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α) (I) und das Δ^5 -Cholesten-ol-(3 β)-on-(7) (7-Keto-cholesterin) (XII) als primäre Oxydationsprodukte abgeschieden werden konnten. Daneben wurden $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7) (IV) und Δ^6 -Cholesten-diol-(3,5) (VIa) isoliert. Es liess sich zeigen, dass die Verbindung IV durch Wasserabspaltung aus Δ^5 -Cholesten-ol-(3 β)-on-(7) (XII) und die Verbindung VIa durch

¹⁾ J. Biol. Chem. **143**, 503 (1942).

²⁾ Nach *Helv.* **26**, 2205 (1943) bezeichnen wir als „Cholesterinumwandlungsprodukte“ Verbindungen mit unverändertem Kohlenstoffgerüst, die durch Oxydation, Reduktion, Wasserabspaltung oder -anlagerung entstanden sind.

³⁾ Vgl. die zusammenfassende Darstellung über „Oxy-cholesterin“ bei *S. Bergström*, *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.* **16A**, Heft 10 (1942).

⁴⁾ J. Biol. Chem. **141**, 597 (1941); **143**, 503 (1942); vgl. auch ³⁾.

eine Umlagerung aus dem bei der Autoxydation primär gebildeten (aber nicht isolierten) Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 β) (7 β -Oxy-cholesterin) (Ia) entstanden war. Nach den Untersuchungen von *S. Bergström*¹⁾ wird die Autoxydation des Cholesterins durch gewisse Katalysatoren, z. B. Kupferionen, spezifisch beschleunigt. Durch Photooxydation des Cholesterins wurden von *A. Windaus*, *K. Bursian* und *U. Riemann*²⁾ ebenfalls einheitliche Verbindungen erhalten. Diese Autoren isolierten dabei das Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α) (I), das Δ^4 -Cholesten-diol-(3, 6) (II) und ein nicht aufgeklärtes Diol vom Smp. 177°.

Auch aus Organextrakten konnten in letzter Zeit neben dem früher oft gefundenen, uneinheitlichen „Oxy-cholesterin“ einheitliche Steroide der „Oxy-cholesterin“-Gruppe isoliert werden: Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α) (I)³⁾, Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 β)⁵⁾, Δ^5 -Cholestadien-on-(7)⁷⁾, Δ^4 ,⁶-Cholestadien-on-(3)⁷⁾ (V) und Cholestan-triol-(3 β , 5, 6 trans)⁷⁾,⁸⁾,⁹⁾. In unserem Laboratorium wurden auch das Δ^5 -Cholesten-ol-(3 β)-on-(7) (7-Keto-cholesterin) (XII) aus Stiertestes erhalten¹⁰⁾ und Δ^4 -Cholestenon-(3) aus Schweinetestes¹¹⁾. Es konnten demnach aus Organextrakten alle Cholesterinabkömmlinge isoliert werden, die bisher bei der Autoxydation oder Photooxydation des Cholesterins nachgewiesen wurden¹²⁾. Dagegen sind folgende Cholesterinumwandlungsprodukte mit unverändertem Kohlenstoffgerüst bisher nur aus Organextrakten erhalten worden: Cholestan-triol-(3 β , 5, 6 trans), Δ^4 -Cholestenon-(3)¹¹⁾, Δ^4 ,⁶-Cholestadien-on-(3) (V), Cholestanol-(3 β)-on-(6) (III) und schliesslich die oben erwähnte Verbindung VI.

Zur besseren Übersicht stellten wir in der Tabelle 2 die 11 bisher durch Umwandlung des Cholesterins bzw. aus Organextrakten isolierten C₂₇-Steroide zusammen (s. S. 2226).

Man könnte nun die Autoxydation und Photooxydation des Cholesterins erneut untersuchen, in der Absicht, diese und vielleicht noch andere Umwandlungsprodukte zu isolieren. Dabei ist allerdings zu bedenken, dass reines Cholesterin gegen Autoxyda-

1) *Naturw.* **30**, 684 (1942); vgl. auch ³⁾, S. 2224.

2) *Z. physiol. Ch.* **271**, 177 (1941).

3) Aus Serum trächtiger Stuten von *O. Wintersteiner* und *J. R. Ritzmann*, vgl. *J. Biol. Chem.* **141**, 597 (1941).

4) Aus Rinderleber von *G. A. D. Haslewood*, *Biochem. J.* **33**, 709 (1939); **35**, 708 (1941); **36**, 389 (1942).

5) Aus Serum trächtiger Stuten von *O. Wintersteiner* und *J. R. Ritzmann*, *J. Biol. Chem.* **136**, 697 (1940).

6) Aus Schweineleber von *H. B. McPhillamy*, *Am. Soc.* **62**, 3518 (1940).

7) Aus arteriosklerotischen Aorten von *E. Hardegger*, *L. Ruzicka* und *E. Tagmann*, *Helv.* **26**, 2205 (1943).

8) Aus Schweinetestes von *L. Ruzicka* und *V. Prelog*, *Helv.* **26**, 975 (1943).

9) Aus Rinderleber von *G. A. D. Haslewood*, *Biochem. J.* **35**, 708 (1941).

10) Nach unveröffentlichten Versuchen von *F. Steinmann* in unserem Laboratorium.

11) Nach unveröffentlichten Versuchen von *R. Schett* in unserem Laboratorium.

12) Ausgenommen ist dabei das Diol, Smp. 177° von *A. Windaus* und Mitarb.

tion ziemlich beständig ist und dass der Verlauf der Oxydation stark von den in den Organextrakten enthaltenen Begleitstoffen abhängig ist.

Tabelle 2.

Nr.		Formel	Aus Cholesterin		Serum	Leber	Testes	Aorta	Milz
			Autox.	Photooxyd.					
1	Δ^4 -Cholesten-diol-(3 β , 6) . .	II		+					+
2	Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α) . .	I	+	+	+	+			+
3	Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 β) . .	Ia	1)		+	+		+	1)
4	Δ^6 -Cholesten-diol-(3,5) . . .	VI	+						+
5	Diol C ₂₇ H ₄₆ O ₂ , Smp. 177 ^o . .			+					
6	Cholestan-triol-(3 β , 5, 6 trans)					+	+	+	
7	Δ^4 -Cholesten-on-(3)						+		+
8	$\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3) . . .	V						+	+
9	$\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7) . . .	IV	+				+	+	+
10	Cholestan-ol-(3 β)-on-(6) . . .	III							+
11	Δ^5 -Cholesten-ol-(3 β)-on-(7) .	XII	+				+	2)	2)

Es lässt sich demnach keine eindeutige Entscheidung treffen, ob die aus den Organextrakten isolierten Cholesterinumwandlungsprodukte wirklich schon im Organismus selbst vorhanden waren, oder ob sie erst während der Verarbeitung gebildet wurden. Da die isolierten Mengen etwa 10⁻⁷ bis 10⁻⁸ des frischen Organs betragen, ist eine experimentelle Beantwortung dieser Frage überhaupt mit grossen Schwierigkeiten verbunden und erfordert längere Vorarbeiten. Demzufolge ist die Bedeutung der Isolierung der erwähnten Steroide aus den Organextrakten vom Standpunkt der Biochemie dieser Organe aus schwer zu beurteilen. Dennoch ist das Gesamtergebnis von einem anderen biochemischen Gesichtspunkt aus wertvoll. Da Steroide mit 18, 19 und 21 Kohlenstoffatomen bisher nur im Sexualtrakt, den Nebennieren³⁾ und aus Harn³⁾ isoliert werden konnten, so scheint vorläufig deren Vorkommen für diese Fundstellen charakteristisch zu sein.

Nach dem Urteil einiger Autoren soll der Milz eine Rolle im Cholesterin-Stoffwechsel zukommen. Es wäre deshalb reizvoll gewesen, die aus dem Milzextrakt isolierten Steroide als Stoffwechselprodukte aufzufassen. Aus den erwähnten Gründen ist die Diskussion einer solchen Annahme noch nicht möglich.

1) Wahrscheinlich in 4 umgewandelt.

2) Wahrscheinlich in 9 umgewandelt.

3) Dass aus dem Harn und den Nebennieren, sowie anderen in Tabelle 2 nicht genannten Organen bisher noch keine Cholesterinumwandlungsprodukte (C₂₇-Reihe) isoliert worden sind, kann darauf beruhen, dass man die Untersuchungen noch nicht systematisch in dieser Richtung ausgedehnt hat. Vgl. dazu E. Hardegger, L. Ruzicka und E. Tagmann, Helv. 26, 2205 (1943).

Die Luft- und Lichtempfindlichkeit des Cholesterins bildet eine grosse Störung bei der Bearbeitung der Organextrakte, da neben den isolierten krystallinen Verbindungen aus Cholesterin auch beträchtliche Mengen nicht krystallisierender Anteile entstehen, welche das Suchen nach den in kleinen Mengen vorkommenden krystallinen Inhaltsstoffen bedeutend erschweren.

Ausser den beschriebenen Verbindungen, für welche die Zugehörigkeit zur Steroidreihe bewiesen wurde, isolierten wir eine Anzahl weiterer Inhaltsstoffe des Milzextraktes, von welchen der Batylalkohol (*d*-Octadecyl- α -glyceryl-äther)¹⁾ von besonderem Interesse ist. Batylalkohol wurde erstmals in Fischölen aufgefunden. Erst unlängst isolierten ihn *H. N. Holmes* und Mitarbeiter²⁾ aus dem gelben Knochenmark der Rinder. In unserem Laboratorium wurde er auch in den arteriosklerotischen Aorten des Menschen nachgewiesen³⁾. Diese Befunde deuten an, dass Batylalkohol eine auch bei Säugetieren weit verbreitete Verbindung ist.

Mehrfach wurde von uns in verschiedenen Fraktionen des R.U. aus Schweinemilzextrakt das Vorkommen kleiner Mengen stickstoffhaltiger Verbindungen beobachtet, deren Analyse auf Sphingosin-Derivate hinwies. Trotzdem die Reinigung kleiner Mengen der Acyl-sphingosine nicht leicht gelingt, erhielten wir ein Präparat, dessen Elementaranalyse und Eigenschaften mit der Konstitution eines Palmityl-sphingosins gut übereinstimmen. Das Palmityl-sphingosin ist höchstwahrscheinlich bei der von uns durchgeführten alkalischen Hydrolyse aus dem in der Milz schon früher nachgewiesenen Palmityl-sphingomyelin entstanden, das trotz der geringen Löslichkeit in Aceton in dem untersuchten Extrakte in kleinen Mengen anwesend war. Palmityl-sphingosin wurde bisher nur künstlich hergestellt⁴⁾.

Es wurden weiter aus dem R.U. drei Verbindungen, A, B und C isoliert (vgl. Tabelle 1), deren eingehendere Untersuchung aus Mangel an Material noch nicht möglich war. Verbindung A gab bei der Verbrennung Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte, welche mit der Formel $C_{27}H_{46-48}O$ im Einklang waren. Es könnte sich demnach um ein Steroid-Derivat handeln, ebenso wie bei der Verbindung B, deren Analyse mit der Formel eines Cholestantriols $C_{27}H_{48}O_3$ übereinstimmte. Die Verbindung B war verschieden von den beiden bekannten Cholestantriolen-(3 β , 5, 6). Die Analysenwerte der Verbindung C erlauben keine bestimmte Aussage über die empirische Formel.

Bei der allgemeinen Anwendung von Mineralölprodukten als Schmiermittel ist die Gefahr ausserordentlich gross, dass die im technischen Masstab hergestellten Extrakte Kohlenwasserstoffe als Verunreinigungen enthalten. Sowohl die in der Literatur oftmals beschriebenen, aus Organextrakten isolierten wie auch die von uns aus dem Schweinemilzextrakt erhaltenen Paraffinkohlenwasserstoffe sind vielleicht nur als Verunreinigungen zu betrachten. Wir fanden neben den öligen, teilweise ungesättigten Kohlenwasserstoffen auch einen krystallinen gesättigten Kohlenwasserstoff C_nH_{2n+2} vom Smp. 53,5—54^o 5).

¹⁾ Die Synthese des optisch aktiven Batylalkohols und der Beweis seiner Konfiguration ist von *E. Baer* und *H. O. L. Fischer*, *J. Biol. Chem.* **140**, 397 (1941) durchgeführt worden.

²⁾ *Am. Soc.* **63**, 2607 (1941).

³⁾ *Helv.* **26**, 2205 (1943).

⁴⁾ *M. Reichel* und *S. J. Tammhauser*, *J. Biol. Chem.* **135**, 15 (1940).

⁵⁾ Ähnliche Produkte wurden nicht nur aus Pflanzen, sondern auch aus gewissen tierischen Produkten isoliert, so z. B. aus Schwangerenharn [*Am. Soc.* **57**, 2726 (1935)], aus Spermaflüssigkeit [*Z. physiol. Ch.* **269**, 56 (1941)], aus Harn von Ochsen [*Am. soc.* **61**, 1287 (1939)], von trächtigen Säuen [*Am. Soc.* **61**, 3476 (1939)], von trächtigen Stuten [*Am. Soc.* **61**, 2537 (1937)], sowie aus Hypophysenvorderlappen-Extrakt [*Am. Soc.* **63**,

Zuletzt soll noch erwähnt werden, dass wir in kleinen Mengen auch das leicht isolierbare Triterpen Friedelin erhalten haben, welches in unserem Laboratorium bei der Bearbeitung der Organextrakte regelmässig gefunden wurde und eine aus Korkstopfen stammende Verunreinigung ist¹⁾.

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

Experimenteller Teil²⁾.

Herstellung des cholesterinarmen Unverseifbaren (R.U.)³⁾.

Der Acetonextrakt, welcher als Ausgangsmaterial für die Untersuchung diente, wurde von den *Wilson Laboratories*, Chicago, U.S.A., durch Extraktion von 1500 kg frischer Schweinemilz mit immer neuen Mengen trockenem Aceton hergestellt. Der so erhaltene Extrakt, welcher viel Wasser enthielt, wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und mit trockenem Aceton wiederholt heiss ausgezogen, wobei die in Aceton schwer löslichen Stoffe ungelöst zurückblieben. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels aus den Acetonauszügen verblieben etwa 16 kg einer hellgrauen, nach Schweineschmalz riechenden Masse von butterartiger Konsistenz, welche von uns weiter verarbeitet wurde.

Der Arbeitsgang zur Herstellung des cholesterinarmen „Restunverseifbaren“ ist in der Tabelle 3 schematisch dargestellt. Zu den einzelnen Operationen fügen wir noch folgende Erläuterungen bei.

a) Anreicherung des Unverseifbaren durch Extraktion mit Methanol. 15,7 kg Acetonextrakt wurden in mehreren Portionen in einem Rührextraktor, der in einem 50° heissen Wasserbad stand, mit Methanol etwa 100 Stunden extrahiert. Es blieben 12 kg ungelöstes Fett zurück, während der Rest in Lösung ging. Aus dem methanolischen Extrakt wurde das Lösungsmittel möglichst weitgehend abdestilliert. Den Rückstand krystallisierte man zweimal aus heissem Aceton um, wodurch 1,45 kg rohes Cholesterin vom Smp. 130–143° abgetrennt wurden. Aus den Mutterlaugen von Cholesterin destillierte man Aceton ab. Um die hartnäckig zurückgehaltenen Acetonreste quantitativ zu entfernen, wurde der Destillationsrückstand mit etwa 6-facher Menge an Methanol versetzt und nachher $\frac{2}{3}$ der Lösungsmittel abdestilliert. Ein Versuch, die Acetonreste durch Destillation mit Wasserdampf zu entfernen, führte zu einer Dunkel-färbung des Destillationsgutes.

b) Verseifung des Methanolextraktes. Nach der Entfernung des Acetons wurde der Lösung so viel Methanol und 50-proz. Natronlauge zugefügt, dass sie auf je 100 g Extrakt 300 cm³ Methanol und 40 g 50-proz. Natronlauge enthielt. Nachdem man das Gemisch fünf Stunden am Rückfluss gekocht hatte, tropfte man zum siedenden Verseifungsgemisch so viel 33-proz. Bariumchloridlösung zu, dass auf je 100 g Extrakt 25 g Bariumchlorid kamen. Nach weiterem halbstündigem Kochen wurde mit Essigsäure

1031 (1941)]. Andererseits konnten *J. A. Gardner* und *H. Gainsborough* [*Biochem. J.* **28**, 1630 (1934)] bei ihrer Untersuchung über das Unverseifbare des menschlichen Plasma zeigen, dass bei peinlichem Ausschalten der Schmierfette solche Kohlenwasserstoffe nicht zu finden sind, während man aus der als Schmierfett verwendeten Vaseline Präparate von denselben Eigenschaften mühelos erhalten kann.

¹⁾ *Helv.* **26**, 975, 2205 (1943).

²⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

³⁾ Vorversuche wurden von *Dr. H. Meldahl*, der die Arbeit aus äusseren Gründen unterbrechen musste, ausgeführt.

Tabelle 3.

15,7 kg Acetonextrakt: mit Methanol heiss extrahiert.

12 kg ungelöste Fette

Methanolischer Auszug:
eingedampft, Rückstand aus Aceton umkryst.

1,45 kg „rohes Cholesterin“,
davon 1,35 kg mit Petroläther behandelt.

Mutterlaugen:

Rückstand mit methanol. Natronlauge verseift,
mit Bariumchlorid gefällt, Bariumseifen mit
Methanol und Aceton ausgekocht.

1,01 kg Cholesterin

Mutterlaugen:
Rückstand mit Bariumhydroxyd
in Methanol verseift

schw. lösl. „Bariumseifen“
mit Äther extrahiert

Lösung eingedampft
Rückstand aus Aceton
umkrystallisiert

Methanolische Lösung
Rückstand m. Salzsäure vers.
und in Äther aufgenommen
(a)

Schw. lösl. „Bariumseifen“
mit Salzsäure zersetzt und
in Äther aufgenommen
(c)

Ätherauszug

200 g rohes
Cholesterin

Mutterlaugen
Rückstand mit
Kalilauge verseift

(b)

Neutralkörper
mit Petroläther behandelt

192 g Cholesterin

Mutterlaugen, Rückstand mit Kalilauge verseift,
das Unverseifbare aus Aceton umkrystallisiert

90 g Cholesterin

64,2 g Restunverseifbares

22 g Restunverseifbares

mit *Girard*-Reagens T behandelt

82,2 g nichtreagierende Anteile

1,37 g Ketone

neutralisiert, die heisse Lösung von den Bariumseifen abgenutscht und diese mit Methanol und Aceton einige Male ausgekocht. Das ursprüngliche Filtrat und die Methanol- und Aceton-Auszüge wurden vereinigt und zur Trockene verdampft. Aus den Rückständen erhielten wir durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Aceton 100 g rohes Cholesterin. Die Mutterlaugen wurden eingedampft, in Äther aufgenommen und mit verdünnter Salzsäure, verdünnter Natronlauge und Wasser gewaschen. Der Trockenrückstand des Ätherauszuges wurde aus Aceton umkrystallisiert, wodurch wieder etwa 100 g rohes Cholesterin abgetrennt werden konnten. Die nach dem Abdampfen des Lösungsmittels verbliebenen 34,9 g Rückstand wurden erneut mit 300 cm³ 2-n. methanolischer Kalilauge 48 Stunden am Rückfluss verseift. Die unverseifbaren neutralen Anteile liessen sich nun auf übliche Weise durch Aufnehmen in Äther und Waschen mit verdünnter Natronlauge, Salzsäure und Wasser gewinnen. Das so erhaltene „Restunverseifbare“ wog 22,0 g.

Der grösste Teil des Restunverseifbaren blieb jedoch in den schwer löslichen Bariumseifen und im rohen Cholesterin zurück und musste daraus durch langwierige Reinigungsoperationen gewonnen werden.

c) Reinigung des rohen Cholesterins. 1,35 kg des rohen Cholesterins wurden 2 Stunden mit 3 Liter Petroläther (Sdp. 30–50°) geschüttelt. Der nicht gelöste Anteil wurde auf einem Druckfilter gesammelt, um die Verluste an Lösungsmittel zu beschränken und noch siebenmal auf gleiche Weise mit je 1 Liter Petroläther behandelt. Das nicht gelöste Cholesterin zeigte nun den Smp. 145–146° ($[\alpha]_D = -36,4^\circ$) und wurde nicht weiter gereinigt. Die ersten Petrolätherauszüge gaben nach dem Verdampfen des Lösungsmittels ölige, die späteren kristalline Rückstände. Die letzteren wurden ebenso wie das rohe Cholesterin ein zweites Mal mit Petroläther behandelt, wodurch eine weitere Menge Cholesterin vom Smp. 144–146° abgeschieden werden konnte. Insgesamt erhielt man 1,01 kg Cholesterin vom Smp. 145–146° und 324 g ölige Anteile. Diese enthielten noch beträchtliche Mengen Fettsäure-ester und wurden mit 200 g Bariumhydroxyd-hydrat in 2 Liter Methanol über Nacht am Rückfluss verseift¹⁾. Aus dem Verseifungsprodukt schieden sich körnige Bariumseifen aus, welche heiss abgesaugt und zusammen mit anderen Bariumseifen verarbeitet wurden. Aus der methanolischen Lösung trennten wir auf übliche Weise 33 g nicht verseifte und neutrale Anteile (a) ab, welche zusammen mit den neutralen Anteilen aus den schwer löslichen Bariumseifen bearbeitet wurden.

d) Abtrennung der neutralen unverseifbaren Anteile aus den schwer löslichen Bariumseifen. Aus den Bariumseifen liessen sich die mitgerissenen Neutralkörper nur schwer entfernen. Da eine längere Bearbeitung der in den Bariumseifen fein verteilten empfindlichen Inhaltstoffe auch Gelegenheit zu deren Oxydation durch Luft-sauerstoff bietet, vermeiden wir in letzter Zeit die Fällung der Fettsäuren in Form ihrer Bariumsalze. Wegen der Unvollkommenheit des Verfahrens soll der von uns noch verwendete ältere Arbeitsgang nur in gekürzter Form wiedergegeben werden. Die methanolhaltigen Bariumseifen wurden zuerst im Extraktionsapparat erschöpfend mit Äther ausgezogen. Nach der üblichen Behandlung des Ätherextraktes mit verdünnter Salzsäure, verdünnter Natronlauge und Wasser und dem Verdampfen des Äthers verblieben 476 g neutrale Stoffe (b). Die ätherunlöslichen Bariumseifen zersetzte man mit 2-n. Salzsäure und nahm die in Freiheit gesetzten rohen Säuren in Äther auf. Da sie noch grössere Mengen an neutralen Stoffen enthielten, wurden die Säuren entweder aus der ätherischen Lösung mit wasserfreiem Natriumcarbonat, Natriumhydroxyd-Natriumsulfat-Gemisch und Calciumhydroxyd ausgezogen, oder aus ihrer methanolischen Lösung als Bariumsalze ausgefällt. Die nach Entfernung des grössten Teils der Fettsäuren in Lösung gebliebenen neutralen Stoffe (c) wurden auf übliche Weise gewonnen und wogen 76 g.

Die aus den Bariumseifen gewonnenen neutralen Anteile (b und c) wurden mit denjenigen aus dem rohen Cholesterin (a) vereinigt und wie früher beschrieben mit Petroläther behandelt. Es blieben 192 g Cholesterin vom Smp. 144–146° ungelöst. Die Mutterlaugen wurden zur Trockne eingedampft und hinterliessen einen öligen Rückstand. Dieser wurde über Nacht mit 2 Liter methanolischer n. Kalilauge nochmals am Rück-

¹⁾ Vgl. E. Hardegger, L. Ruzicka und E. Tagmann, *Helv.* **26**, 2205 (1943)

fluss verseift. Die Aufarbeitung des Verseifungsproduktes gab unverseifte neutrale Anteile, aus welchen durch Behandlung mit Petroläther 53 g Cholesterin abgetrennt wurden. Durch Umkrystallisieren aus Aceton wurden aus den Petrolätherauszügen weitere 37 g Cholesterin gewonnen. Zuletzt blieben 64,2 g öliges Restunverseifbares zurück.

e) Die Behandlung des Restunverseifbaren mit *Girard*-Reagens T. Die 86,2 g R.U. wurden nach der früher beschriebenen allgemeinen Vorschrift¹⁾ insgesamt fünfmal mit *Girard*-Reagens T behandelt. Es wurden dabei 1,37 g Ketone und 82,2 nicht-reagierende Anteile erhalten. Beide Anteile wurden für sich einer sorgfältigen chromatographischen Analyse unterworfen.

Chromatographische Auftrennung des Restunverseifbaren (R.U.).

a) Die 82,2 g R.U., die mit *Girard*-Reagens T nicht reagiert hatten, wurden an 2 kg Aluminiumoxyd (Aktivität II)²⁾ nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Dabei wurden Fraktionen von je 800 cm³ genommen, die mit A 1—A 106 bezeichnet werden.

Chromatogramm A.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	Weitere Bearbeitung
1-2	Petroläther	Spuren	
3	„	8,44	Kohlenwasserstoffe
4	„	3,14	
5-16	„	0,70	
17-19	Benzol	6,77	
20	„	2,55	<i>A</i> ^{3,5} -Cholestadien-on-(7)
21-29	„	2,56	
30-40	„	1,83	
41-51	Äther	3,73	
52-55	„	2,34	Chromatogramm B
56-66	Äther-Methanol 99:1 . .	22,95	
67-71	„ „ 99:1 . .	3,30	
72-76	„ „ 9:1 . .	2,51	<i>A</i> ⁵ -Cholesten-diol-(3 β , 7 α)
77-89	„ „ 9:1 . .	12,20	Chromatogramm D
90-95	Methanol	3,02	
96-104	„	2,40	
105 ³⁾	Methanol-Eisessig	4,01	
106 ³⁾	„ „	1,40	

¹⁾ *L. Ruzicka und V. Prelog, Helv. 26, 986 (1943).*

²⁾ *H. Brockmann und H. Schodder, B. 74, 73 (1941).*

³⁾ Das Aluminiumoxyd wurde mit Methanol, das 10% Eisessig enthielt, mehrere Male in der Kälte digeriert. Die Methanol-Eisessig-Lösungen wurden stark konzentriert, mit Wasser verdünnt und in Äther aufgenommen. Hierauf wurde mit Natronlauge gewaschen. Die Fraktion 105 stellt den Trockenrückstand aus dem Ätherauszug dar, die Fraktion 106 wurde aus dem Alkaliauszug durch Ansäuern und Ausäthern gewonnen.

Fraktionen A 52—A 71.

Die vereinigten Fraktionen A 52—A 66, eine helle, krystalline Masse im Gewicht von 25,29 g, wurden in 100 cm³ heissem Aceton gelöst und fraktioniert umkrystallisiert. Dadurch wurden 9,43 g Cholesterin vom Smp. 146° abgetrennt. Die Mutterlaugen wurden mit den Fraktionen A 67—A 71 vereinigt und an 500 g Aluminiumoxyd (Aktivität III) chromatographiert. Dabei wurden Fraktionen von je 300 cm³ genommen, die mit B 1—B 39 bezeichnet werden.

Chromatogramm B.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	weitere Bearbeitung
1-4	Benzol	7,17	Chromatogramm C
5-8	Benzol	3,6	
9-15	Benzol	5,4	Δ ⁶ -Cholesten-diol-(3,5) ?
16-19	Benzol	0,64	
20-29	Benzol-Äther 8 : 2	0,69	
30-39	Äther	1,18	

Die 7,17 g dunkel gefärbten öligen Benzoleluate B 1—B 4 wurden für sich nochmals an 150 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert. Dabei wurden Fraktionen von je 100 cm³ genommen, die mit C 1—C 19 bezeichnet werden.

Chromatogramm C.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	weitere Bearbeitung
1-2	Benzol	0,79	
3	Benzol	2,28	Verbindung C
4	Benzol	0,55	Verbindung A
5	„	1,20	
6-19	Benzol-Äther	2,37	

Fraktionen A 77—A 89.

Die öligen Fraktionen A 77—A 89, 12,2 g wurden an 300 g Aluminiumoxyd (Aktivität III) nochmals chromatographiert. Die Fraktionen werden mit D 1—D 38 bezeichnet.

Chromatogramm D.

Nr.	Eluierungsmittel	cm ³	Eluat g	weitere Bearbeitung
1-17	Benzol	2550	5,01	
18-23	Benzol-Äther 9 : 1	280	1,80	
24-26	„ „ 9 : 1	150	1,26	Batylalkohol
27	Äther	150	0,76	{ Batylalkohol und Palmityl- sphingosin
28-29	„	300	0,86	{ Verbindung B und Δ^4 -Cho- lesten-diol-(3 β ,6)
30-32	„	450	0,38	Δ^4 -Cholesten-diol-(3 β ,6)
33-38	Methanol	1300	2,36	

b) Die 1,37 g Ketone, die man bei der Umsetzung mit *Girard*-Reagens erhielt, wurden in 60 cm³ Petroläther-Benzol (2 : 1) gelöst und an einer Säule von 55 g Aluminiumoxyd („*Merck*“ standardisiert nach *Brockmann*, Aktivität II) chromatographiert. Es wurden Fraktionen von je 50 cm³ genommen, die mit E 1—E 65 bezeichnet werden.

Chromatogramm E.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat mg	weitere Bearbeitung
1-3	Petroläther-Benzol 2 : 1 .	70	
4-6	„ „ 2 : 1 .	100	Friedelin und $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7)
7	„ „ 2 : 1 .	20	$\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7)
8-9	„ „ 2 : 1 .	55	
10-12	Benzol	180	$\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3)
13-17	„	60	
18-27	Benzol-Äther	145	
28-34	Äther	110	
35-41	Äther-Methanol 99 : 1 . .	20	
42-44	„ „ 98 : 2 . .	95	Cholestanol-(3 β)-on-(6)
56-60	Methanol	125	
61-65	Methanol-Eisessig	90	

Isolierung einzelner Verbindungen.

Steroide.

Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α) (7 α -Oxy-cholesterin) (I).

Die öligen, bei der chromatographischen Auftrennung erhaltenen Fraktionen A 72—A 76 wogen zusammen 2,51 g. Sie gaben mit

Antimontrichlorid in Chloroform¹⁾ eine intensive Blaufärbung. Da sie sich nicht umkrystallisieren liessen, wurden sie an 60 g Aluminiumoxyd (Aktivität III) nochmals chromatographiert. Aus den Äthereluatenerhielt man 510 mg einer Fraktion, die mit Antimontrichlorid eine intensive Blaufärbung gab.

Beim Versuch, sie aus verschiedenen Lösungsmitteln umzukrystallisieren, bildeten sich immer gallertige Massen, deren Schmelzpunkt nach dem Trocknen unscharf bei 170° lag. Die spez. Drehung der so erhaltenen Präparate betrug $[\alpha]_D^{20} = -12^\circ$. Sie liessen sich im Hochvakuum bei 145° und 0,005 mm leicht sublimieren. Das Sublimat schmolz wieder bei 168—170°; seine spez. Drehung blieb unverändert.

$$[\alpha]_D^{21} = -12,3^\circ (\pm 3^\circ) \quad (c = 1,035 \text{ in Chloroform})$$

$$10,6 \text{ mg zu } 1,025 \text{ cm}^3, \quad l = 1 \text{ dm}, \quad \alpha_D^{21} = -0,13^\circ (\pm 0,03^\circ)$$

$$3,630 \text{ mg Subst. gaben } 10,710 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 3,733 \text{ mg H}_2\text{O}$$

$$\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_2 \quad \text{Ber. C } 80,54 \quad \text{H } 11,52\%$$

$$\text{Gef. ,, } 80,52 \quad \text{,, } 11,51\%$$

Die Substanz gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Mit Antimontrichlorid, Trichloressigsäure in Chloroform²⁾ und *Lifschütz*-Reagens³⁾ traten die für „Oxy-cholesterin“ typischen Blaufärbungen ein. 1 mg Substanz in 0,2 cm³ Alkohol gab mit 5 mg Digitonin in 0,2 cm³ Alkohol und 0,1 cm³ Wasser sofort eine starke Digitonidfällung.

Durch Benzoylieren der Substanz erhielt man ein Dibenzoat, das mit dem von *A. Windaus*, *H. Lettré* und *F. Schenk*⁴⁾ erstmals synthetisch hergestellten Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α)-dibenzoat identisch war.

Dibenzoat. 10 mg Substanz wurden in 0,5 cm³ Pyridin gelöst und mit 0,1 cm³ Benzoylchlorid drei Stunden auf 80° erwärmt. Dann wurde in Äther aufgenommen, mit Salzsäure, Natriumhydrogencarbonat und Wasser gewaschen. Der nach dem Abdampfen des Äthers verbleibende Rückstand wurde mit Alkohol versetzt, worauf das Dibenzoat in langen Nadeln krystallisierte. Sie wurden aus Alkohol zweimal umgelöst und schmolzen dann konstant bei 170,5°.

Mit einem synthetisch hergestellten Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 α)-dibenzoat vom Smp. 171—172°, $[\alpha]_D = +95^\circ$ gab die Substanz keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{21} = +97^\circ (\pm 5^\circ) \quad (c = 0,176 \text{ in Chloroform})$$

$$1,8 \text{ mg zu } 1,025 \text{ cm}^3, \quad l = 1 \text{ dm}, \quad \alpha_D^{21} = +0,17^\circ (\pm 0,01^\circ)$$

$$3,256 \text{ mg Subst. gaben } 9,579 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 2,651 \text{ mg H}_2\text{O}$$

$$\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{O}_4 \quad \text{Ber. C } 80,61 \quad \text{H } 8,91\%$$

$$\text{Gef. ,, } 80,29 \quad \text{,, } 9,11\%$$

Δ^4 -Cholesten-diol-(3 β , 6) (II).

Die Fraktionen D 28—D 32 schieden beim Versetzen mit Essigester eine schwer lösliche Verbindung aus. Es wurden 200 mg feine

¹⁾ *F. H. Carr* und *E. A. Price*, *Biochem. J.* **20**, 497 (1926).

²⁾ *O. Rosenheim*, *Biochem. J.* **21**, 386 (1927).

³⁾ *J. Lifschütz*, *Bioch. Z.* **48**, 373 (1913).

⁴⁾ *A.* **520**, 98 (1935); Smp. 171,5—172,5°, $\alpha_D = +94,2^\circ$. Die spez. Drehung des 7 α -Oxy-cholesterins selbst ist in der Literatur nirgends angegeben.

Nadeln vom Smp. 230° isoliert. Durch viermaliges Umkrystallisieren aus siedendem Dioxan erhielt man 120 mg reines Δ^4 -Cholesten-diol-(3 β , 6) vom Smp. 254° (im Vakuumröhrchen). Die Substanz gab mit Tetranitromethan, Antimontrichlorid in Chloroform, Trichloressigsäure in Chloroform keine, mit *Lifschütz*-Reagens nur eine schwache Farbenreaktion. Die nach *A. Butenandt* und *E. Hausmann*¹⁾ und nach *V. A. Petrow*, *O. Rosenheim* und *W. W. Starling*²⁾ hergestellten Vergleichspräparate schmolzen bei 254—256°, $[\alpha]_D^{20} = +9,2^0 (\pm 3^0)$ ($c = 0,38$ in Pyridin) und gaben mit der aus Milzextrakt isolierten Verbindung keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 180° sublimiert.

$$[\alpha]_D^{20} = +8,4^0 (\pm 4^0); (c = 0,474 \text{ in Pyridin})$$

4,85 mg zu 1,025 cm³, $l = 1$ dm, $\alpha_D^{20} = +0,04^0 (\pm 0,02^0)$

2,222 mg Subst. gaben 6,558 mg CO₂ und 2,301 mg H₂O

C₂₇H₄₆O₂ Ber. C 80,54 H 11,52%

Gef. ,, 80,54 ,, 11,59%

Di-acetat. 15 mg Substanz wurden in 3 cm³ Pyridin gelöst und mit 1 cm³ Acetanhydrid bei Zimmertemperatur über Nacht stehen gelassen. Dann wurden das Pyridin und das Acetanhydrid im Vakuum unter gelindem Erwärmen abgedunstet und der Rest des Pyridins durch zweimaliges Abdampfen mit 2 cm³ Benzol entfernt. Beim Versetzen mit Methanol krystallisierte das rohe Diacetat vom Smp. 128—131° aus. Nach zweimaligem Umlösen aus Methanol schmolz es konstant bei 132—133° und gab mit einem synthetisch hergestellten Diacetat vom Smp. 131—133°, $[\alpha]_D^{20} = -13^0$ keine Schmelzpunktserniedrigung³⁾.

Zur Analyse wurde 36 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{20} = -12,0^0 (\pm 3^0) (c = 0,751 \text{ in Chloroform})$$

7,7 mg zu 1,025 cm³, $l = 1$ cm, $\alpha_D^{20} = -0,09 (\pm 0,02^0)$

2,656 mg Subst. gaben 7,397 mg CO₂ und 2,552 mg H₂O

C₃₁H₅₀O₄ Ber. C 76,49 H 10,36%

Gef. ,, 76,00 ,, 10,75%

Di-benzoat. 14 mg Substanz wurden mit 1 cm³ Pyridin und 1 cm³ Benzoylchlorid über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde wie üblich aufgearbeitet. Der ölige Rückstand wurde in Benzol aufgenommen und durch eine Säule von 3 g Aluminiumoxyd filtriert. Beim Versetzen der ersten Filtratfraktionen mit Methanol schied sich das Dibenzoat in Nadeln vom Smp. 175—179° ab. Es wurde dreimal aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert und schmolz dann konstant bei 181°. Seine Eigenschaften stimmten mit den in der Literatur für Δ^4 -Cholesten-diol-(3 β , 6)-dibenzoat angegebenen überein³⁾.

Zur Analyse wurde 16 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{20} = -73,0^0 (\pm 2,5^0) (c = 0,795 \text{ in Chloroform})$$

8,2 mg zu 1,025 cm³, $l = 1$ dm, $\alpha_D^{20} = -0,58^0 (\pm 0,02^0)$

3,710 mg Subst. gaben 10,895 mg CO₂ und 2,885 mg H₂O

C₄₁H₅₄O₄ Ber. C 80,61 H 8,91%

Gef. ,, 80,14 ,, 8,70%

¹⁾ B. **70**, 1154 (1937).

²⁾ Soc. **1938**, I, 677.

³⁾ *V. A. Petrow*, *O. Rosenheim* und *W. W. Starling*, Soc. **1938**, I, 677 geben an: für Diacetat Smp. 131—133°, $[\alpha]_D^{20} = -13,2^0$; für Dibenzoat Smp. 180—181°, $[\alpha]_D^{20} = -73,0^0$.

Cholestanol-(3 β)-on-(6) (III).

Die Fraktionen E 42—E 44, im ganzen 95 mg, enthielten neben viel Öl etwas feste Substanz, die aber wegen ihrer leichten Löslichkeit nicht umkrystallisiert werden konnte. Das gesamte Öl wurde über Nacht kalt mit 1 cm³ Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid acetyliert. Nach dem Abdampfen des Pyridins und des Acetanhydrids im Vakuum wurde das Acetylierungsprodukt an 3 g Aluminiumoxyd (Aktivität IV) chromatographiert. Die Petroläther-Benzol-Eluate gaben 25 mg farbloses Öl, welches beim Stehen mit Petroläther teilweise krystallisierte. Durch dreimaliges Umlösen aus verdünntem Aceton erhielt man 7 mg Krystalle vom konstanten Smp. 128—129°, die mit einem synthetisch hergestellten Cholestanol-(3 β)-on-(6)-acetat¹⁾ vom Smp. 129°, $[\alpha]_D^{17} = -14,8^\circ (\pm 2,6^\circ)$ ($c = 0,74$ in Chloroform) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben und mit Tetranitromethan keine Farbenreaktion zeigten. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 90° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{18} = -13,6^\circ (\pm 3^\circ) \quad (c = 0,66 \text{ in Chloroform})$$

6,8 mg zu 1,025 cm³, $l = 1 \text{ dm}$, $\alpha_D^{18} = -0,09^\circ (\pm 0,02^\circ)$
 3,834 mg Subst. gaben 10,987 mg CO₂ und 3,692 mg H₂O

C ₂₉ H ₄₈ O ₃	Ber. C 78,32	H 10,88%
	Gef. „ 78,20	„ 10,78%

$\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7) (IV).

Die teilweise krystalline Fraktion A 20 wog 2,55 g. Sie wurde in Essigester gelöst und bei -10° stehen gelassen. Nach einiger Zeit schieden sich reichlich Krystalle vom Smp. 80—110° ab. Zur weiteren Reinigung wurde zuerst zweimal aus Aceton umkrystallisiert und dann bei 0,005 mm und 145° in einem „molecular still“²⁾ destilliert. Es wurden so 460 mg eines krystallinen Produktes vom Smp. 110° erhalten. Durch weiteres dreimaliges Umkrystallisieren aus Aceton konnte der Schmelzpunkt auf 114° gebracht werden. Mit einem nach A. Windaus und C. Resau³⁾ hergestellten $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7) vom Smp. 114°, $[\alpha]_D^{15} = -306^\circ (\pm 4^\circ)$ gab die Substanz keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Substanz zeigte im U.V. ein Maximum der Absorption bei 280 m μ (in Alkohol). Zur Analyse wurde im Hochvakuum 48 Stunden bei 90° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{14} = -305^\circ (\pm 4^\circ) \quad (c = 0,735 \text{ in Chloroform})$$

7,692 mg Subst. zu 1,044 cm³, $l = 1 \text{ dm}$, $\alpha_D^{14} = -2,42^\circ (\pm 0,02^\circ)$
 3,812 mg Subst. gaben 11,796 mg CO₂ und 3,709 mg H₂O

C ₂₇ H ₄₂ O	Ber. C 84,75	H 11,07%
	Gef. „ 84,45	„ 10,89%

¹⁾ Vgl. I. M. Heilbron, H. Jackson, E. R. H. Jones und F. S. Spring, Soc. 1936, 104.

²⁾ Vgl. A. A. Morton, Laboratory Technique in Organic Chemistry, New York 1938, S. 119.

³⁾ B. 48, 851 (1915).

Dass $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7) mit *Girard*-Reagens schwer reagiert und deshalb in den mit dem Ketonreagens nicht umgesetzten Anteilen vorkommt, hatten sowohl *S. Bergström* und *O. Wintersteiner*¹⁾, als auch *L. Ruzicka* und *V. Prelog*²⁾ festgestellt. Immerhin gelang es, auch aus den mit *Girard*-Reagens T umgesetzten Anteilen (E 4—E 7 vgl. S. 2233) eine kleine Menge, 8 mg, unreines $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien-on-(7) vom Smp. 109 bis 110° abzutrennen.

$\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3) (V).

Die Fraktionen E 10—E 12, welche zum Teil krystallin waren, wurden an 10 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) ein zweites Mal chromatographiert.

Aus den krystallinen Benzoleluaten (80 mg) erhielt man beim Eindunsten aus Aceton lange Nadeln, doch liessen sich diese infolge ihrer Leichtlöslichkeit schwer umkrystallisieren. Es gelang, nach längerem Stehenlassen aus verdünntem Aceton 23 mg Krystalle vom Smp. 79—80° zu erhalten, $[\alpha]_D^{25} = +65^0 (\pm 1^0)$ ($c = 1,99$ in Chloroform). Im U.V. zeigte die Verbindung (in Alkohol) bei 285 $m\mu$ ein deutliches Maximum der Absorption, $\log \epsilon = 4,2$. Ein zweites Maximum befand sich bei etwa 245 $m\mu$, $\log \epsilon = 4,1$.

Auf Grund dieser Eigenschaften wurde vermutet, dass es sich um unreines $\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3) handeln könnte. Die Substanz gab tatsächlich mit einem synthetisch hergestelltem Produkt³⁾ (U.V. Abs. max. bei 285 $m\mu$, $\log \epsilon = 4,4$) keine Schmelzpunktserniedrigung⁴⁾.

Oxim. 25 mg eines unreinen Produktes wurden mit einer Lösung von Hydroxylaminacetat (aus 50 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 10 cm^3 Methanol) 3 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten verdünnte man mit Wasser und goss vom ausgefallenen Produkt ab. Dieses wurde fünfmal aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert und zeigte einen Schmelzpunkt von 173,5—175°. Mit einem synthetischen Produkt³⁾ vom gleichen Schmelzpunkt zeigte das Oxim keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 48 Stunden bei 110° getrocknet.

1,919 mg Subst. gaben 5,735 mg CO_2 und 1,876 mg H_2O

$C_{27}H_{43}ON$ Ber. C 81,55 H 10,90%

Gef. „ 81,56 „ 10,94%

Δ^6 -Cholesten-diol-(3, 5) (?) (VI).

Aus den Fraktionen B 9—B 15 wurden durch Krystallisation 0,93 g Cholesterin vom Smp. 144° und weitere 1,5 g Krystalle vom Smp. 125—134° abgeschieden. Aus den verbleibenden Mutterlaugen im Gewicht von 2,97 g liessen sich durch sorgfältige fraktionierte

1) *J. Biol. Chem.* **141**, 597 (1941). 2) *Helv.* **26**, 975 (1943).

3) *E. Dane, Yu Wang* und *W. Schulte*, *Z. physiol. Ch.* **245**, 80 (1937).

4) Als Verunreinigung kommt Δ^4 -Cholestenon-(3) in Frage, welches mit $\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3) keine Schmelzpunktserniedrigung gibt und ein Absorptionsmaximum (in Alkohol) bei 245 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,2$) aufweist.

Krystallisation (es wurde über 70 mal aus Essigester, Aceton und Methanol umkrystallisiert) 230 mg Krystalle vom Smp. 150° abscheiden. Die rohe Substanz wurde zuletzt noch mehrere Male aus verdünntem Aceton umkrystallisiert und schmolz dann konstant bei 155°. Sie zeigte mit Antimontrichlorid eine starke, etwas rotstichige Blaufärbung und gab auch mit Trichloressigsäure in Chloroform sowie mit *Lifschütz*-Reagens sehr intensive Farbenreaktionen. Mit Tetranitromethan trat keine Gelbfärbung auf. In Alkohol gelöst zeigte die Verbindung keine Absorption im U.V. Zur Analyse wurde 36 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{19} = -129^{\circ} (\pm 3^{\circ}) \quad (c = 0,775 \text{ in Chloroform})$$

$$8,1 \text{ mg zu } 1,044 \text{ cm}^3, \quad l = 1 \text{ cm}, \quad \alpha_D^{19} = -1,00^{\circ} (\pm 0,02^{\circ})$$

3,515; 3,124 mg Subst. gaben 10,377; 9,208 mg CO₂ und 3,654; 3,206 mg H₂O

C₂₇H₄₆O₂ Ber. C 80,54 H 11,52%

Gef. „ 80,57; 80,44 „ 11,63; 11,48%

Reinigung durch Digitoninfällung. 47 mg rohe Substanz wurden in 9 cm³ 96-proz. Alkohol unter schwachem Erwärmen gelöst und mit einer Lösung von 210 mg Digitonin in 12 cm³ Alkohol und 1,5 cm³ Wasser versetzt. Das ausgefallene Digitonid (20 mg) wurde nach 24 Stunden abfiltriert und mit Alkohol nachgewaschen. Aus dem Filtrat erhielt man auf übliche Weise durch Fällen mit Äther 42 mg mit Digitonin nicht fällbare Anteile. Diese wurden an Aluminiumoxyd (Aktivität III) chromatographisch gereinigt. Aus den Benzol-eluatn wurden Krystalle vom Smp. 155,5—156°, $[\alpha]_D^{19} = -132^{\circ} (\pm 4^{\circ})$ (c = 0,59 in Chloroform) isoliert.

Ein durch Umlagerung mit methanolischer Essigsäure nach *Bergström* und *Wintersteiner*¹⁾ aus Δ^5 -Cholesten-diol-(3 β , 7 β) hergestelltes Δ^6 -Cholesten-diol-(3,5) schmolz bei 139—140° und gab mit unserem Produkt eine Schmelzpunktserniedrigung von 20°.

Monoacetat. 12 mg Substanz wurden in 0,5 cm³ Pyridin gelöst und mit 0,5 cm³ Acetanhydrid über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dem Abdunsten des Pyridins und des Acetanhydrids im Vakuum wurde der Rückstand mit wenig Methanol versetzt. Dabei schied sich das Acetat in Form kleiner Nadeln vom Smp. 109° ab. Es wurde noch zweimal aus Methanol umkrystallisiert und schmolz dann konstant bei 110—111°.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum 48 Stunden bei 80° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{20} = -118^{\circ} (\pm 4^{\circ}) \quad (c = 0,561 \text{ in Chloroform})$$

$$5,75 \text{ mg zu } 1,025 \text{ cm}^3, \quad l = 1 \text{ dm}, \quad \alpha_D^{20} = -0,66^{\circ} (\pm 0,02^{\circ})$$

3,424 mg Subst. gaben 9,790 mg CO₂ und 3,407 mg H₂O

C₂₉H₄₈O₃ Ber. C 78,32 H 10,88%

Gef. „ 78,03 „ 11,13%

Monobenzoat. 10 mg Substanz wurden in 0,5 cm³ Pyridin gelöst und mit 0,1 cm³ Benzoylchlorid 3 Stunden auf 80° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde in Äther aufgenommen, und wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand wurde in Benzol aufgenommen und durch eine Säule von 3 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) filtriert. Beim Versetzen der ersten Eluate mit Methanol bildeten sich Krystalle, die aus Äther-Methanol umgelöst wurden und bei 134—135° schmolzen, $[\alpha]_D^{20} = -79^{\circ} (\pm 3^{\circ})$ (c = 0,682 in Chloroform). *S. Bergström* und *O. Wintersteiner* geben für ihr Δ^6 -Cholesten-diol-(3,5)-monobenzoat den Smp. 116—117° an.

¹⁾ J. Biol. Chem. **143**, 503 (1942).

Oxydation. 50 mg Substanz wurden mit 5 cm³ Benzol, 0,5 g Aluminiumphenolat und 3 cm³ Aceton 40 Stunden am Wasserbad unter Feuchtigkeitsschluss gekocht¹⁾. Das Oxydationsprodukt wurde in Äther aufgenommen und mit Salzsäure, Natronlauge und Wasser gewaschen. Der nach dem Abdampfen des Äthers verbliebene Rückstand wurde an Aluminiumoxyd (Aktivität III) chromatographiert. Die öligen Benzoleluate wurden mit Hydroxylaminacetatlösung in Methanol 3 Stunden am Wasserbad gekocht, mit Wasser verdünnt, in Äther aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Der nach dem Abdampfen des Äthers erhaltene Rückstand wurde aus Chloroform-Methanol viermal umkrystallisiert und schmolz bei 172—174°. Mit $\Delta^{4,6}$ -Cholestadien-on-(3)-oxim²⁾ gab die Verbindung keine Schmelzpunktserniedrigung.

Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

3,708 mg Subst. gaben 11,058 mg CO₂ und 3,552 mg H₂O
 C₂₇H₄₃ON Ber. C 81,55 H 10,90%
 Gef. „ 81,38 „ 10,72%

Verschiedene Verbindungen.

Batylalkohol.

Alle Mutterlaugen von der Isolierung des Palmitylsphingosins (Fraktion D 27, vgl. S. 2240) wurden vereinigt und mit wenig Petroläther versetzt. Dabei schieden sich kugelige Krystalldrusen vom Smp. 58° ab. Sie wurden viermal aus Petroläther umkrystallisiert und schmolzen dann scharf und konstant bei 64,5—65,5°. Zur Analyse wurde 48 Stunden im Hochvakuum bei 40° getrocknet.

$[\alpha]_D^{21} = +5,3^0 (\pm 1,5^0)$ (c = 1,31 in Chloroform)
 13,4 mg zu 1,025 cm³, l = 1 dm, $\alpha_D^{21} = +0,07^0 (\pm 0,02^0)$
 3,687 mg Subst. gaben 9,851 mg CO₂ und 4,214 mg H₂O
 C₂₁H₄₄O₃ Ber. C 73,20 H 12,87%
 Gef. „ 72,91 „ 12,79%

Mit Batylalkohol aus verkalkten Aorten³⁾ gab die Verbindung keine Schmelzpunktserniedrigung. Weitere Mengen Batylalkohol konnten aus den Fraktionen D 24—D 26 erhalten werden. Insgesamt wurden etwa 85 mg isoliert.

Bis-phenylurethan. 15 mg Substanz wurden mit drei Tropfen Phenylisocyanat 45 Minuten auf 80° erhitzt und dann mit 1 cm³ Petroläther versetzt. Beim Abkühlen krystallisierte das rohe Bis-phenylurethan vom Smp. 96—97° aus. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Petroläther stieg der Smp. auf 98,5—99°. Mit Batyl-

¹⁾ Vgl. S. Bergström und O. Wintersteiner, J. Biol. Chem. **143**, 503 (1942); S. Bergström, Arkiv Kemi, Mineral, Geol. **16 A**, N^o 10 (1942); S. Kuwada und T. Toyama, J. pharm. Soc. Japan **57**, 247 (1937); H. Reich und T. Reichstein, Arch. int. Pharmacodynamie **65**, 415 (1941); A. Witkop, A. **554**, 105 (1943).

²⁾ Vgl. Z. physiol. Ch. **245**, 80 (1937).

³⁾ E. Hardegger, L. Ruzicka und E. Tagmann, Helv. **26**, 2205 (1943).

alkohol-bis-phenylurethan aus verkalkten Aorten gab das Produkt keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde 15 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,698 mg Subst. gaben 9,777 mg CO₂ und 3,081 mg H₂O
 5,321 mg Subst. gaben 0,240 cm³ N₂ (19°, 720 mm)
 C₃₅H₅₄O₅N₂ Ber. C 72,13 H 9,34 N 4,81%
 Gef. „ 72,15 „ 9,32 „ 4,99%

Palmityl-sphingosin (?).

Beim Versetzen der Fraktion D 27 mit Aceton schied sich daraus eine krystalline Verbindung vom Smp. 85° ab. Durch wiederholte Krystallisation aus Chloroform-Äthanol und aus Aceton erhielt man 16 mg Substanz vom Smp. 90—91°. Zur Analyse wurde 36 Stunden im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

$[\alpha]_D^{18} = 0^\circ (\pm 3^\circ)$ (c = 0,73 in Chloroform)
 7,5 mg zu 1,025 cm³, l = 1 dm, $\alpha_D^{18} = 0^\circ (\pm 0,02^\circ)$
 3,656 mg Subst. gaben 10,131 mg CO₂ und 4,058 mg H₂O
 6,063 mg Subst. gaben 0,146 cm³ N₂ (16°, 724 mm)
 C₃₄H₆₇O₃N Ber. C 75,90 H 12,56 N 2,61%
 Gef. „ 75,62 „ 12,43 „ 2,71%

Auf Grund der Analysenwerte und der Eigenschaften könnte es sich um Palmityl-sphingosin handeln. *M. Reichel* und *S. J. Thannhauser*¹⁾ geben für synthetisches Palmityl-sphingosin einen Schmelzpunkt von 86—87° an.

Verbindung A.

Die Fraktionen C 4—C 5 schieden beim Versetzen mit Essigester die rohe Verbindung A in Form mikroskopisch kleiner Nadeln vom Smp. 210° ab. Diese waren in den meisten Lösungsmitteln sehr schwer löslich. Durch viermaliges Umlösen aus Chloroform-Methanol wurden 9 mg Substanz vom Smp. 210—216° und aus den Mutterlaugen weitere 7 mg dieser Verbindung abgetrennt. Sie gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Die Prüfung auf die Fällbarkeit mit Digonin konnte wegen der Schwerlöslichkeit in Alkohol nicht durchgeführt werden. Zur Analyse wurde 48 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$[\alpha]_D^{17} = -74,8^\circ (\pm 2^\circ)$ (c = 0,722 in Chloroform)
 7,4 mg zu 1,025 cm³, l = 1 dm, $\alpha_D^{17} = -0,54^\circ (\pm 0,01^\circ)$
 3,668 mg Subst. gaben 11,241 mg CO₂ und 4,003 mg H₂O
 C₂₇H₄₈O Ber. C 83,43 H 12,45%
 C₂₇H₄₆O Ber. „ 83,87 „ 11,99%
 Gef. „ 83,63 „ 12,21%

Verbindung B.

Die Fraktionen D 28—D 29 wurden in heissem Essigester aufgenommen und vom Rückstand, der aus Δ^4 -Cholesten-diol-(3 β ,6) bestand, abfiltriert. Die Filtrate schieden nach dem Konzentrieren die rohe Substanz B vom Smp. 187—189° aus. Durch weiteres dreimaliges Umkrystallisieren aus Essigester erhielt man 8 mg schön ausgebildeter Platten vom Smp. 200—201,5°. Aus den Mutterlaugen wurden durch sorgfältige Krystallisation aus Essigester weitere 210 mg der rohen Verbindung B gewonnen, woraus 150 mg Substanz vom Smp. 200—201° erhalten wurden. Die Substanz gab weder die typischen „Oxy-

¹⁾ J. Biol. Chem. **135**, 15 (1941).

cholesterin⁴-Farbenreaktionen, noch eine Gelbfärbung mit Tetranitromethan. Mit Digi-
tonin wurde unter den üblichen Bedingungen keine Fällung erhalten. Zur Analyse wurde
48 Stunden im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

$[\alpha]_D^{19} = -5,7^{\circ} (\pm 3^{\circ})$ ($c = 0,87$ in Chloroform)
9,0 mg zu 1,025 cm³, $l = 1$ dm, $\alpha_D^{19} = -0,05^{\circ} (\pm 0,02^{\circ})$
 $[\alpha]_D^{18} = -19,8^{\circ} (\pm 2^{\circ})$ ($c = 0,91$ in Pyridin)
9,3 mg zu 1,025 cm³, $l = 1$ cm, $\alpha_D^{18} = -0,18^{\circ} (\pm 0,02^{\circ})$
3,586 mg Subst. gaben 10,158 mg CO₂ und 3,707 mg H₂O
C₂₇H₄₈O₃ Ber. C 77,09 H 11,50%
Gef. „ 77,30 „ 11,57%

Ein Vergleich mit Cholestan-triol-(3 β ,5,6 trans) Smp. 236—241°, $[\alpha]_D^{18} = +3,2^{\circ}$
($\pm 2,1^{\circ}$) ($c = 0,927$ in Feinsprit)¹⁾, und mit Cholestan-triol-(3 β ,5,6 cis) Smp. 233—234°,
 $[\alpha]_D^{18} = +30,4^{\circ} (\pm 2^{\circ})$ ($c = 0,82$ in Pyridin)²⁾ ergab, dass die Verbindung B von den beiden
bekanntesten Cholestantriolen deutlich verschieden ist.

Verbindung C.

Beim Versetzen mit Essigester schied sich aus der Fraktion C 3 die rohe Verbind-
ung C in Form kleiner kugelige Krystalldrusen vom Smp. 79° ab. Durch sorgfältige
Krystallisation konnten 70 mg rohe Substanz gewonnen werden. Nach siebenmaligem
Umkristallisieren aus Methanol schmolz die Verbindung bei 86—87°. Sie enthielt keinen
Stickstoff und gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Zur Analyse wurde 48 Stun-
den im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

$[\alpha]_D = 0^{\circ} (\pm 2^{\circ})$ ($c = 0,93$ in Chloroform)
9,6 mg zu 1,025 cm³, $l = 1$ dm, $\alpha_D = 0^{\circ} (\pm 0,02^{\circ})$
1,638 mg Subst. gaben 4,881 mg CO₂ und 1,708 mg H₂O
Gef. C 81,32 H 11,67%

Verunreinigungen.

Kohlenwasserstoff C_nH_{2n+2} vom Smp. 54°.

Die Fraktion A 3, 8,44 g, gab beim Umlösen aus Essigester Krystalle vom
Smp. 48—50°. Diese wurden aus Essigester mehrmals umkristallisiert und lieferten
dabei 1,3 g glänzende Schuppen vom Smp. 50—52°, die mit Tetranitromethan keine
Gelbfärbung gaben. Aus der Fraktion A 4 wurden durch analoge Behandlung weitere
0,3 g dieser krystallisierten Verbindung erhalten. Durch mehrmaliges weiteres Umlösen
konnte der Smp. auf 53,5—54° gebracht werden, Zur Analyse wurde im Hochvakuum
bei 100° und 0,05 mm destilliert.

3,862; 3,890 mg Subst. gaben 12,055; 12,143 mg CO₂ und 5,053; 5,072 mg H₂O
0,869 mg Subst. in 16,622 mg Campher der molaren Schmelzpunktserniedrigung
49,12; $\Delta = 8,1^{\circ}$

C₂₅H₅₂ Ber. C 85,14 H 14,86 % Mol.-Gew. 352,66
Gef. „ 85,18; 85,18 „ 14,64; 14,59% „ 317

Die Mutterlaugen und die Fraktionen A 5—A 16 enthielten ölige, teilweise unge-
sättigte Kohlenwasserstoffe, die wir aus Gründen, welche im theoretischen Teil erörtert
sind, nicht eingehender untersuchten.

¹⁾ Vgl. *L. Ruzicka und V. Prelog*, *Helv.* **26**, 993 (1943).

²⁾ Ein Vergleichspräparat wurde durch Oxydation von Cholesterin mit Osmium-
tetroxyd nach *R. Criegee*, *A.* **522**, 75 (1936); **550**, 99 (1941) hergestellt.

Friedelin.

Die Fraktionen E 4—E 6 waren teilweise krystallin. Sie wurden aus Essigester zweimal umkrystallisiert. Man erhielt insgesamt 25,4 mg weisse Nadeln vom Smp. 255 bis 259°, die mit Friedelin aus Korkmehl keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

Zur Analyse wurde bei 0,005 mm und 200° sublimiert.

3,772 mg Subst. gaben 11,670 mg CO₂ und 3,990 mg H₂O

C₃₀H₅₀O Ber. C 84,44 H 11,81%

Gef. „ 84,43 „ 11,84%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den Herren *H. Gubser* und *W. Manser* ausgeführt.

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

204. Zur Kenntnis der Triterpene.

(83. Mitteilung¹⁾).

Zum oxydativen Abbau der Ringe A und B des Hederagenins

von *L. Ruzicka*, *J. Norymberski* und *O. Jeger*.

(29. X. 43.)

Für die Kenntnis der Ringe A und B der Triterpene vom Oleanol-säure-Typus sind, neben den Dehydrierungsergebnissen, die Abbaureaktionen, die am Hederagenin von *Jacobs* und *Gustus*²⁾ begonnen und von *Kitasato*³⁾ (z. T. gemeinsam mit *Sone*) fortgesetzt wurden, von grundlegender Bedeutung⁴⁾. *Kitasato* oxydierte das Keto-oxy-disäure-methylester-lacton III b (Hedragenon-disäure-methylester-lacton)⁵⁾ mit Chromsäure in Gegenwart von Schwefelsäure und isolierte dabei — nach vorangehender Veresterung mit Diazomethan — das Oxy-trisäure-dimethylester-lacton IV b (Hedratrisäure-dimethylester-lacton) und das Oxy-tetrasäure-trimethylester-lacton V b. Infolge der Entstehung von Va und b ist die Anwesenheit einer angulären Methylgruppe am Kohlenstoffatom 6 ausgeschlossen. Andererseits ist auf Grund der seither bekannt gewordenen Umwandlungs- und Abbaureaktionen in der Oleanolsäure-Reihe für 29 Kohlenstoffatome des Gerüsts eine direkte Ortsbestimmung möglich⁶⁾. Für die das 30. Glied

¹⁾ 82. Mitt. Helv. **26**, 2143 (1943).

²⁾ J. Biol. Chem. **69**, 641 (1926).

³⁾ Acta phytochim. **6**, 179 (1932) und spätere Mitt. (vgl. unten weitere Anmerkungen).

⁴⁾ Vgl. *L. Ruzicka*, L'architecture des sesqui- et polyterpènes, Bl. [5] **4**, 1321 (1937).

⁵⁾ *Z. Kitasato*, Acta phytochim. **9**, 59 (1936); **10**, 204 (1937).

⁶⁾ Vgl. die kurze Zusammenstellung bei *Ruzicka*, *van der Sluys-Veer* und *Jeger*, Helv. **26**, 282 (1943).