

15. Produkte der Dehydrierung von Strophanthidin und Δ^5 -Pregnen-3,20-diol mit Selen¹⁾

Steroide, 16. Mitteilung²⁾

von M. S. Bharucha, Ek. Weiss und T. Reichstein

(24. XI. 61)

Durch Dehydrierung von Cholesterin (I) mit Selen erhielten DIELS *et al.*³⁾ den nach ihm benannten Kohlenwasserstoff II, dessen Struktur durch Synthese⁴⁾ 5) bewiesen wurde. Derselbe Kohlenwasserstoff wurde in gleicher Weise auch aus anderen Steroiden^{6–11)} erhalten. Seine Bildung wird im allgemeinen als Beweis für das Vorliegen des Steroidgerüsts angesehen¹²⁾. Die Entstehung von II wird so gedeutet, dass die Seitenkette an C-17 (vermutlich vorwiegend heterolytisch) abgespalten wird¹³⁾, wobei das verbleibende Bruchstück (z. B. das Carbonium-Ion IV) unter Wanderung der Methylgruppe in VI übergeht. Der DIELS'sche Kohlenwasserstoff II entsteht auch aus Δ^5 -Androsten-3,17-diol (VII)¹⁴⁾; in diesem Fall muss die Methylgruppe in II das ursprüngliche C-Atom Nr. 18 enthalten. Das Verhalten von Cholesterin und analogen Steroiden im Massenspektrograph steht damit in Einklang. Es bildet sich dabei in relativ hoher Ausbeute eine Partikel mit $m/e = 255$ ¹⁵⁾, die sehr wohl das Ion VIII oder IX darstellen könnte, wobei wir IX für wahrscheinlicher halten.

Die Ausbeute an II betrug in den meisten Fällen weniger als 1%. Von den daneben entstehenden Stoffen wurden bisher nur wenige identifiziert, so Chrysen (III)³⁾ 16) (dessen Bildung durch höhere Temperatur begünstigt wird¹⁶⁾), Picen (X)¹⁶⁾ 17) und

¹⁾ Auszug aus Diss. Fr. M. S. BHARUCHA, Basel 1960.

²⁾ 15. Mitteilung: W. SCHÜTT & CH. TAMM, *Helv.* **41**, 1751 (1958).

³⁾ O. DIELS, W. GÄDKE & P. KÖRDING, *Liebigs Ann. Chem.* **459**, 1 (1927).

⁴⁾ E. BERGMANN & H. HILLEMANN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **66**, 1302 (1933); H. HILLEMANN, *ibid.* **68**, 102 (1935).

⁵⁾ S. H. HARPER, G. A. R. KON & F. C. J. RUZICKA, *J. chem. Soc.* **1934**, 124; D. J. C. GAMBLE, G. A. R. KON & B. SAUNDERS, *ibid.* **1935**, 644.

⁶⁾ Aus Ergosterin: O. DIELS & A. KARSTENS, *Liebigs Ann. Chem.* **478**, 129 (1930).

⁷⁾ Aus Cholsäure: L. RUZICKA & G. THOMANN, *Helv.* **16**, 216 (1933); L. RUZICKA, M. W. GOLDBERG & G. THOMANN, *Helv.* **16**, 812 (1933).

⁸⁾ Aus Uzarigenin: R. TSCHESCHE & H. KNICK, *Z. physiol. Chem.* **222**, 58 (1933).

⁹⁾ Aus Sarsasapogenin: W. A. JACOBS & J. C. E. SIMPSON, *J. biol. Chemistry* **105**, 501 (1934).

¹⁰⁾ Aus Gitogenin: W. A. JACOBS & J. C. E. SIMPSON, *J. Amer. chem. Soc.* **56**, 1424 (1934).

¹¹⁾ Aus Strophanthidin: R. C. ELDERFIELD & W. A. JACOBS, *Science* **79**, 279 (1934); *J. biol. Chemistry* **107**, 143 (1934).

¹²⁾ L. F. FIESER & M. FIESER, «Steroids», Reinhold Publishing Corp., New York 1959, p. 86.

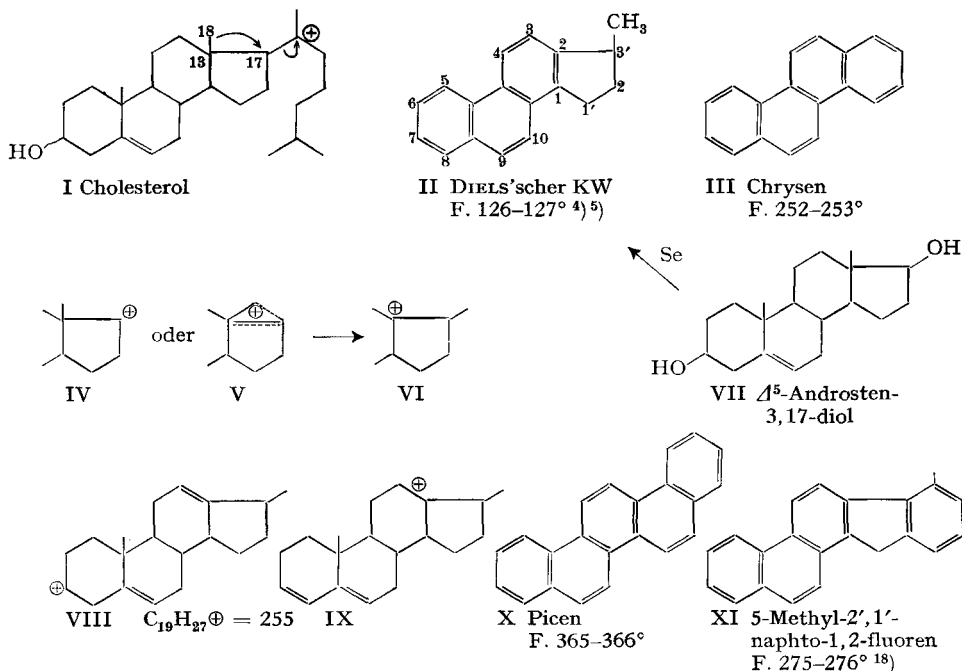
¹³⁾ E. BERGMANN & F. BERGMANN, *J. chem. Soc.* **1939**, 1019.

¹⁴⁾ A. BUTENANDT & L. A. SURANYI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **75**, 597 (1942).

¹⁵⁾ S. BERGSTRÖM, R. RYHAGE & E. STENHAGEN, *Acta chem. scand.* **12**, 1349 (1958), sowie Privatmitteilung von E. STENHAGEN (Brief vom 4. 7. 1958); S. S. FRIEDLAND, G. H. LANE, R. T. LONGMAN, K. E. TRAIN & M. J. O'NEAL, *Analytic. Chemistry* **31**, 169 (1959).

¹⁶⁾ L. RUZICKA, G. THOMANN, E. BRANDENBERGER, M. FURTER & M. W. GOLDBERG, *Helv.* **17**, 200 (1934).

¹⁷⁾ L. RUZICKA, M. W. GOLDBERG & G. THOMANN, *Helv.* **16**, 812 (1933).



5-Methyl-2',1'-naphto-1,2-fluoren (XI)¹⁶⁾¹⁸⁾. HAWORTH und Mitarb.¹⁹⁾ erhielten bei der Dehydrierung eines Pregnatriens (aus Conessin) das 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XIII). Bei der Dehydrierung von Ucharidin²⁰⁾, nach vorherigem Abbau mit Ozon, wurde ein Gemisch erhalten, in dem u. a. verschiedene alkylierte Cyclopentenophenanthrene enthalten waren. Die Trennung ist schwierig, und die präparative Reinigung gelang mit den kleinen Mengen nicht ausreichend. Um die erhaltenen Stoffe nachträglich zu identifizieren und den Reaktionsverlauf abzuklären, haben wir die Dehydrierung von Strophanthidin und von Δ^5 -Pregnen-3,20-diol durchgeführt.

Analytische Methoden. – Wie in vorstehender Mitteilung²⁰⁾ erwähnt, waren zum Nachweis der Kohlenwasserstoffe in Gemischen die Gas-Chromatographie sowie die Papierchromatographie geeignet (Ausführung wie beschrieben²⁰⁾). Diese Methoden erlaubten aber bisher meistens nur die Unterscheidung der Kohlenwasserstoffe, die mindestens um eine CH_2 -Gruppe voneinander abweichen. Die Isomeren, XIV und XV z. B., liessen sich mit diesen Methoden bisher nicht eindeutig differenzieren. Zu ihrer Unterscheidung waren die Smp., Mischproben und teilweise die IR.-Spektren brauchbar, wofür aber zuerst die präparative Isolierung in reiner Form nötig ist.

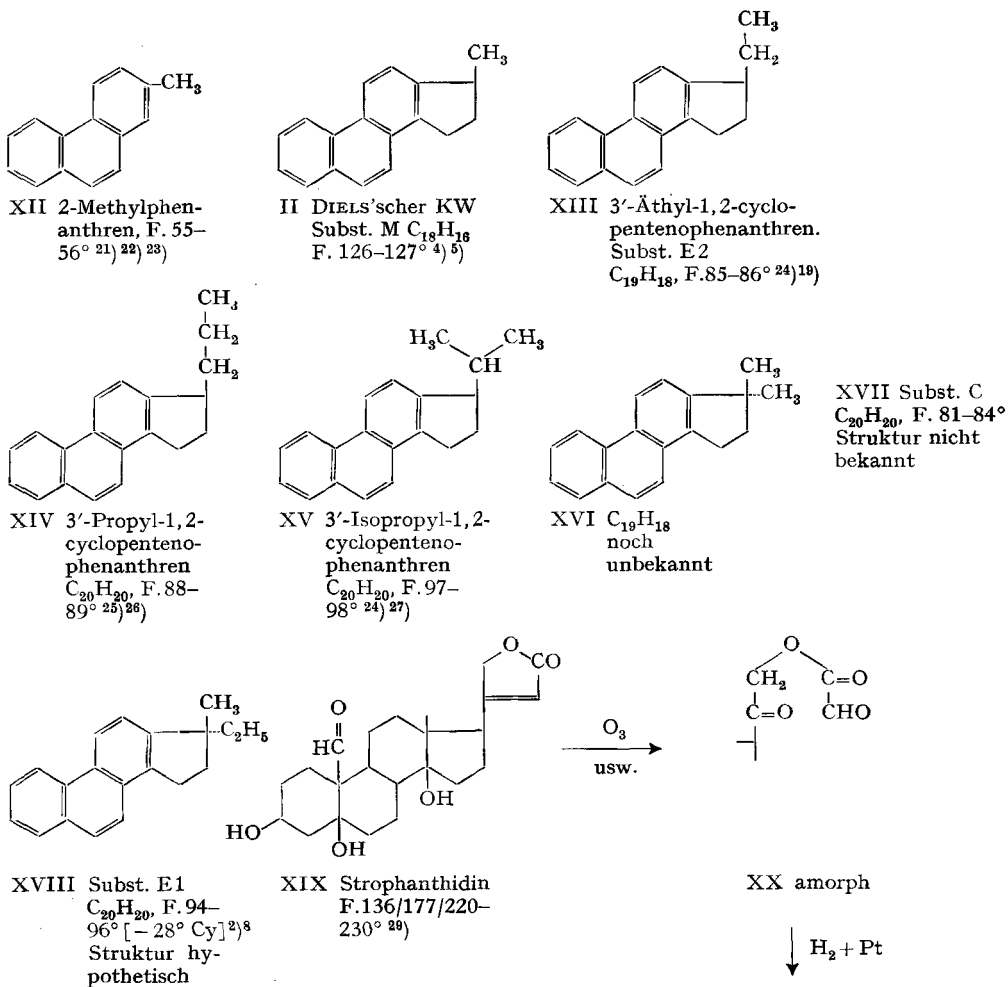
Für die präparative Trennung der Homologen war ebenfalls die Gas-Chromatographie brauchbar. Eher besser war dafür auch die Verteilungschromatographie mit umgekehrten Phasen geeignet. Wie früher erwähnt²⁰⁾, gab Siliconöl auf Cellulose als

¹⁸⁾ W. E. BACHMANN, J. W. COOK, C. L. HEWETT & J. IBALL, J. chem. Soc. 1936, 54.

¹⁹⁾ R. D. HAWORTH, J. McKENNA & N. SINGH, J. chem. Soc. 1949, 831.

²⁰⁾ M. S. BHARUCHA, G. HESSE, HERB. JÄGER, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 45, 93. (1962).

stationäre Phase eine sehr gute Trennung. Es hatte aber den Nachteil, dass es nur mit relativ grossen Verlusten gelang, die Kohlenwasserstoffe aus dem Siliconöl wieder in reiner Form zu isolieren. Besser war Olivenöl. Dieses konnte durch alkalische Ver-



²¹⁾ R. D. HAWORTH, J. chem. Soc. 1932, 1125.

²²⁾ A. COHEN, J. W. COOK & C. L. HEWETT, J. chem. Soc. 1935, 1633.

²³⁾ Wir danken Herrn Prof. R. D. HAWORTH, Sheffield, auch hier bestens für eine Probe des synthetischen Originalpräparates.

²⁴⁾ B. RIEGEL, M. H. GOLD & M. A. KUBICO, J. Amer. chem. Soc. 65, 1772 (1943).

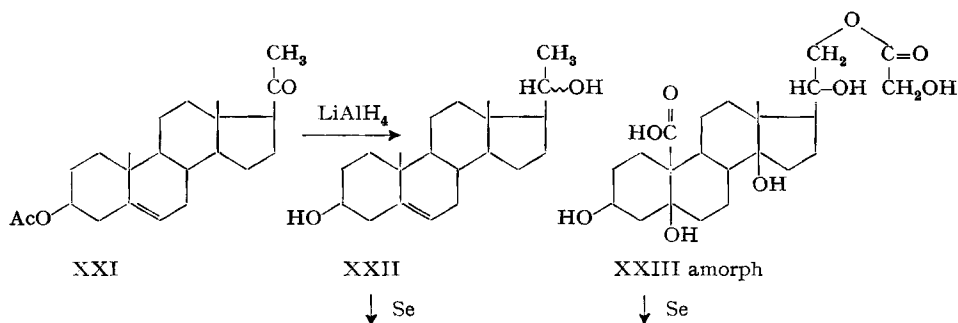
²⁵⁾ H. DANNENBERG, U. SCHIEDT & W. STEIDLE, Z. Naturforsch. 8b, 269 (1953).

²⁶⁾ Herrn Prof. H. DANNENBERG, München, sei auch hier für die Überlassung einer Probe dieses Kohlenwasserstoffs bestens gedankt.

²⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. B. RIEGEL, Chicago, auch hier bestens für die Überlassung einer Probe dieses Stoffes, sowie einer solchen von unsubstituiertem Cyclopentenophenanthren.

²⁸⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

²⁹⁾ N. K. SEN, J. K. CHAKRABARTI, W. KREIS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 588 (1957), u. frühere Lit. daselbst.



seifung leicht entfernt werden. Die kleinen Mengen unverseifbarer Anteile aus dem Öl waren durch Chromatographie an Al_2O_3 gut abtrennbar. Die Trennung durch Verteilungschromatographie liess sich auch mit grösseren Mengen auf einer Säule ausführen.

Wie unten gezeigt wird, entstand bei der Dehydrierung auch ein Stoff E1, der mit XIV und XV isomer ist und der vermutlich die Formel XVIII besitzt. Im Papierchromatogramm (und soweit feststellbar im Gas-Chromatogramm) läuft er genau wie E2 (XIII) und wird bei der Verteilungschromatographie als Gemisch mit diesem erhalten. Die Trennung von E1 und E2 gelingt überraschenderweise aber relativ leicht durch Chromatographie an Al_2O_3 .

Nicht gelungen ist bisher die Trennung der zwei isomeren Kohlenwasserstoffe XIV und XV. Für das Vorliegen dieser Stoffe im Dehydrierungsgemisch liegen aber bisher keine Anhaltspunkte vor. Dieses enthält hingegen einen anderen isomeren Kohlenwasserstoff der Formel $\text{C}_{20}\text{H}_{20}$ (Subst. C, siehe unten), der sich im Papierchromatogramm ebenfalls nicht von XIV und XV differenzieren liess. Für die Unterscheidung der drei Kohlenwasserstoffe ist bisher die präparative Isolierung unerlässlich.

Für die Reinigung der isolierten Kohlenwasserstoffe bewährten sich besonders die folgenden zwei Methoden:

a) *Kristallisation aus n-Pentan bei -80° .* Eine einfache Ausführungsform, bei der 2–3 mg noch recht gut umkristallisiert werden können, ist im Exper. Teil beschrieben. Die so gereinigten Kohlenwasserstoffe können dann normal aus Aceton-Methanol kristallisiert werden.

b) *Zonenschmelzen*³⁰⁾³¹⁾. Diese Methode ist besonders zur letzten Reinigung der bereits krist. Kohlenwasserstoffe geeignet. Der in Fig. 1 skizzierte Apparat ist in Anlehnung an die von SCHILDKNECHT & VETTER³¹⁾ sowie HESSE & SCHILDKNECHT³²⁾ beschriebenen Geräte gebaut worden³³⁾, um auch kleine Substanzmengen verarbeiten zu können. Die Reinigung von 10 mg krist. Kohlenwasserstoff gelingt dabei recht leicht nach ca. 12–14 Passagen. Bei genügender Übung ist dies noch mit ca. 2 mg möglich.

³⁰⁾ W. G. PFANN, J. Metals 4, 747 (1952); Chem. Eng. News 34, 1440 (1956); W. G. PFANN, Zone Melting, J. Wiley & Sons Inc., New York 1958; E. F. G. HERINGTON, Analyst 84, 680 (1959); Endeavour (deutsche Ausgabe) 19, 191 (1960), und frühere Lit. daselbst.

³¹⁾ H. SCHILDKNECHT & H. VETTER, Angew. Chem. 71, 723 (1959), und frühere Lit. daselbst.

³²⁾ G. HESSE & H. SCHILDKNECHT, Angew. Chem. 68, 641 (1956).

³³⁾ Wir danken den Mechanikern unseres Instituts, den Herren W. ARNOLD und E. LÜSCHER, auch hier bestens für die Konstruktion des Apparates.

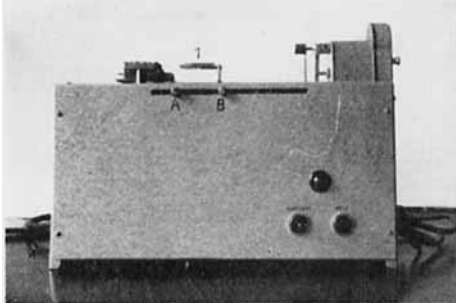


Fig. 1. *Apparat zum Zonenschmelzen kleiner Mengen (Gesamtansicht)*

A und B verstellbare Schaltanschlüge,
1 = Klammer des Schlittens.

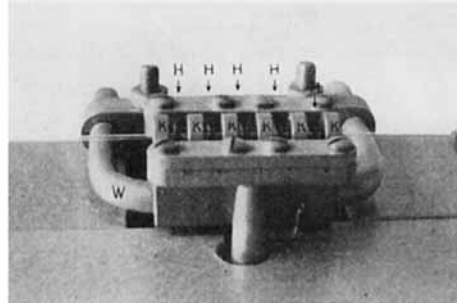


Fig. 2. *Apparat zum Zonenschmelzen kleiner Mengen (Teilansicht)*

Kapillare mit K = Kühl- und H = Heiz-Zonen, W = Wasserkühlung.

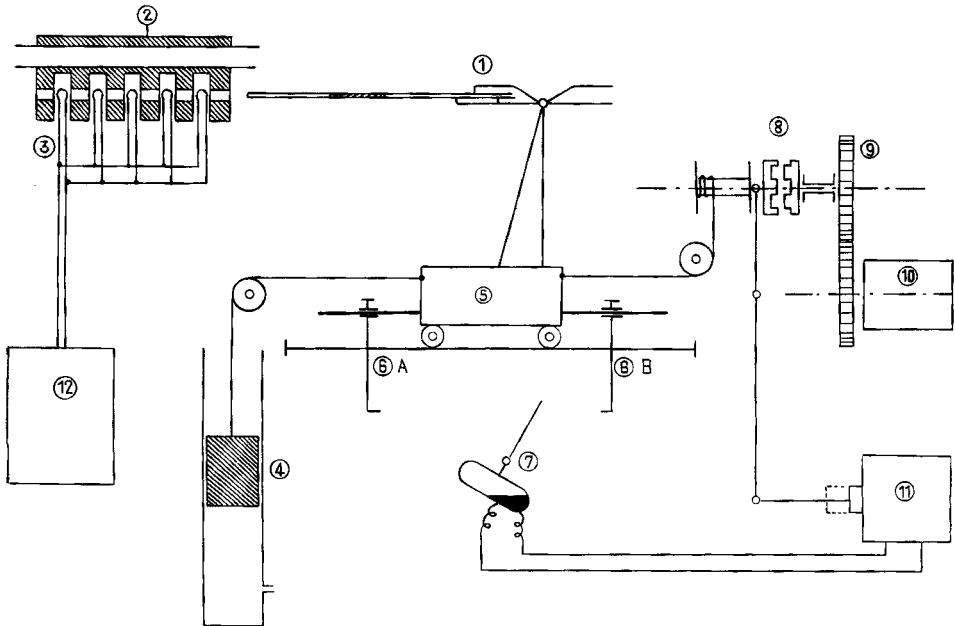


Fig. 3. *Apparat zum Zonenschmelzen, Schaltschema*

- | | |
|---|--|
| 1 = Klammer für Kapillare | 7 = Rückstellschalter für Kupplungsmagnet 11 |
| 2 = Kupferblock für Kühlzonen mit Wasserkühlung | 8 = Kupplung |
| 3 = Heizspiralen | 9 = Wechsellräder |
| 4 = Rückstellmechanismus | 10 = Antriebsmotor |
| 5 = Schlitten | 11 = Kupplungsmagnet |
| 6A und 6B = Verstellbare Schaltanschlüge | 12 = Widerstand |

Ausführung: Füllung der Kapillare vgl. Exper. Teil. Die Heizung wird mit einem Drehwiderstand so einreguliert, dass die Masse in der Kapillare bei der Passage gerade gut durchschmilzt. Der Transport (1,5 cm pro Std.) der Kapillare geschieht mit Hilfe des Schlittens (5), der durch einen Motor (10) bewegt wird. Hat das Ende der Kapillare die letzte Kühlzone passiert,

so wird durch den einstellbaren Kontakt B der Motor ausgekuppelt und der Mitnehmer samt Kapillare durch ein Gewicht in seine Ausgangsstellung zurückgezogen. Dort wird durch den zweiten einstellbaren Kontakt A der Motor wieder eingekuppelt.

Dehydrierung von Strophanthidin. – Die direkte Dehydrierung von Strophanthidin ist bereits von ELDERFIELD & JACOBS¹¹⁾ beschrieben worden. Diese Autoren erhielten aus 150 g Strophanthidin u. a. 0,5 g reinen DIELS'schen Kohlenwasserstoff II. Um gleichartige Verhältnisse wie beim Uscharidin²⁰⁾ zu schaffen, haben wir 2 g Strophanthidin (XIX) zunächst bei -80° mit überschüssigem Ozon behandelt³⁴⁾ und das rohe Ozonid mit Pt in Eisessig erschöpfend hydriert³⁵⁾. Unter diesen Bedingungen dürfte vorwiegend die Estersäure XXIII entstanden sein. Dieses Material wurde mit Selen im evakuierten Einschlussrohr 24 Std. auf 310° erhitzt, wobei 0,988 g neutrales Rohprodukt resultierte. Zur Trennung wurde zuerst an Al_2O_3 und Fe_2O_3 chromatographiert, wobei sich 153 mg äusserst leicht eluierbares Öl sowie 367 mg schwer eluierbares Material abtrennen liessen, die nicht weiter untersucht wurden. Die mittleren Fraktionen (314 mg) enthielten die gesuchten Kohlenwasserstoffe. Im Gas-Chromatogramm waren 5 Maxima und im Papierchromatogramm 8 Flecke sichtbar, die wir nach abnehmendem Rf-Wert geordnet mit den Buchstaben H, A, K, M, E, C, D und F bezeichnen. Durch präparative Gas-Chromatographie und anschliessende

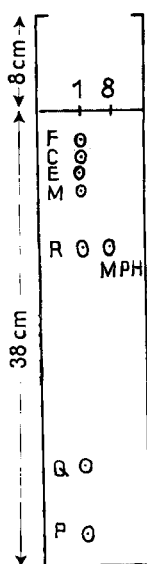


Fig. 4
Me-W-(9:1)/
Olivenöl
24 Std.

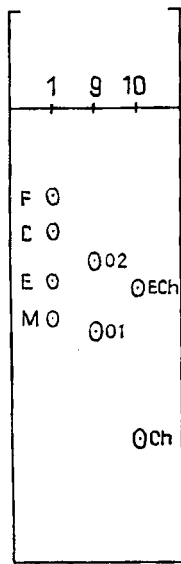


Fig. 5
Me-W-(9:1)/
Olivenöl
45 Std.

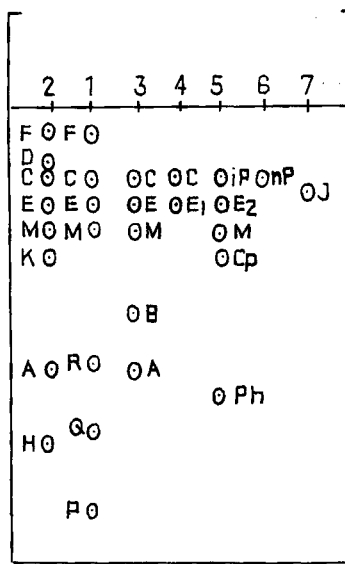


Fig. 6
Me-W-(5:1)/
Siliconöl²⁰⁾
20 Std.

³⁴⁾ K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 30, 1508 (1947).

³⁵⁾ Es ist bekannt, dass Aldehydgruppen unter diesen Bedingungen von Ozon zu Carboxylgruppen oxydiert werden. Am Anfang der Hydrierung dürften Ketolester (XX und der entspr. Glycol-säure-ester) vorgelegen haben, denn mit Blautetrazolium wurde starke Reduktionswirkung festgestellt. Am Ende der Hydrierung war diese Reaktion völlig negativ. Auch KEDDE-Reagens gab keine Färbung.

*Fig. 4-6 sind schematisierte, aber massgetreue Beispiele von Papierchromatogrammen*³⁶⁾

Ausführung absteigend³⁷⁾, Front abgetropft. Für den Nachweis der Flecke diente die Fluoreszenz im gefilterten UV.-Licht³⁸⁾.

- 1) = 0,1 mg Kohlenwasserstoffgemisch aus Dehydrierung von Pregnendiol
- 2) = 0,1 mg Kohlenwasserstoffgemisch aus Dehydrierung von Strophanthidin
- 3) = 0,1 mg Kohlenwasserstoffgemisch aus Dehydrierung von Uscharidin
- 4) = je 0,01 mg krist. Subst. E1 und krist. Subst. C
- 5) = je 0,01 mg synthetische Kohlenwasserstoffe:
iP = 3'-Isopropyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XV)²⁷⁾
E2 = 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XIII)
M = 3'-Methyl-1,2-cyclopentenophenanthren (II)
Cp = 1,2-Cyclopentenophenanthren²⁷⁾; Ph = Phenanthren.
- 6) = 0,01 mg synthet. nP = 3'-Propyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XIV)²⁶⁾
- 7) = 0,01 mg synthet. J = JACOBS'scher Kohlenwasserstoff (7-Äthyl-8-methyl-1,2-benzofluoren)³⁹⁾
- 8) = 0,01 mg synthet. MPh = 2-Methylphenanthren (XII)²⁸⁾
- 9) = je 0,01 mg der Chrysenkohlenwasserstoffe O1 und O2
- 10) = je 0,01 mg der Kohlenwasserstoffe Ch = Chrysen und ECh = synthet. 2-Äthylchrysen (XXX)⁴⁰⁾

präparative Papierchromatographie (Siliconöl als ruhende Phase) liessen sich 8 Präparate gewinnen, die im Papierchromatogramm jeweils nur *einen* Fleck gaben. Aus M liessen sich auch Kristalle erhalten, die mit II identisch waren. Auch C gab Kristalle, die vermutlich nahezu einheitlich waren. Schliesslich konnten auch aus E Kristalle gewonnen werden, die aber nur unscharf schmolzen und vermutlich ein Gemisch von E1 und E2 waren. Die Präparate von H, A, K, D und F wurden nur amorph erhalten. Die Schwierigkeiten der Kristallisation sind teilweise der Verwendung des Siliconöls für die Chromatographie zuzuschreiben.

Dehydrierung von Pregnendiol. – 5 g 3 β -Acetoxy- Δ^5 -pregnen-20-on (XXI) wurden zunächst mit LiAlH₄ reduziert und das rohe Reduktionsprodukt (4,23 g XXII) mit Selen wie oben 24 Std. auf 310° erhitzt. Das neutrale Reaktionsprodukt (2,777 g) wurde zunächst an hochaktivem Al₂O₃ chromatographiert, wobei bereits kleine Mengen der Substanzen E1 und E2 in reinen Kristallen erhalten wurden. Ausserdem wurden 0,243 g leicht eluierbares Öl (UV. negativ, nicht untersucht) sowie 1,036 g schwer eluierbare Anteile abgetrennt. Letztere gaben 105 mg rohes Präp. O, das sich als Gemisch zweier Chrysenderivate O1 und O2 erwies (vgl. Fig. 5); sie konnten durch präparative Papierchromatographie getrennt werden; die Mutterlaugen wurden nicht untersucht. Die mittleren Anteile (1,684 g, nach Abzug der Kristalle von E1 und E2) enthielten die gesuchten Kohlenwasserstoffe. Sie gaben im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 4-6) insgesamt 7 fluoreszierende Flecke (P, Q, R, M, E, C und F). Sie wurden in zwei Portionen einer Verteilungschromatographie mit Olivenöl als ruhender Phase unterworfen. Die Eluate, die im Papierchromatogramm gleiche Zusammen-

³⁶⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil. Das vor dem schrägen Strich stehende Gemisch stellt das Fließmittel dar.

³⁷⁾ Einzelheiten vgl. Exper. Teil.

³⁸⁾ Quecksilber-Hochdruckbrenner mit Schwarzfilter, vgl. Exper. Teil. Zweckmässig in Dunkelkammer zu beobachten.

³⁹⁾ L. KELLER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 41, 1633 (1958).

⁴⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. W. CARRUTHERS, University of Exeter, auch hier bestens für die Überlassung von synthetischem 2-Äthylchrysen.

setzung zeigten, wurden in Gruppen zusammengefasst, durch alkalische Verseifung vom Olivenöl befreit und durch Chromatographie an Al_2O_3 (teilweise auch durch Schütteln mit konz. H_2SO_4) gereinigt. Die P-Eluate wurden nicht untersucht. Die Q-Eluate lieferten nur wenig amorphes Material, das nach der alkalischen Verseifung auffallenderweise im Papierchromatogramm eine Laufstrecke wie E zeigte. Auch dieses Material wurde nicht weiter untersucht. Die Eluate, die R, M und E enthielten, gaben bei der Reinigung einheitliche Kristalle, wobei E bei der Chromatographie an Al_2O_3 wieder in E1 und E2 getrennt werden konnte. Auch papierchromatographisch einheitliches F konnte durch Chromatographie an Al_2O_3 in zwei verschiedene Fraktionen, F1 und F2, aufgetrennt werden, die bisher nicht kristallisierten, sich aber im UV.

Tabelle 1. *Smp. der bei der Dehydrierung aus Pregnendiol erhaltenen krist. Kohlenwasserstoffe und einiger ihrer Derivate. Zum Vergleich die Werte von XIV und XV*

Buchstabenbezeichnung	Identifiziert mit	Smp. hier gefunden (Smp. nach Literatur)		
		Kohlenwasserstoff	Pikrat	1,3,5-Trinitrobenzolat
R	2-Methylphenanthren (XII)	54–57° (55–56°) ²¹⁾	113–118° (118–119°) ²¹⁾	150–156° (155–157°) ²²⁾
M	3'-Methyl-cyclopentophenanthren (II)	105–117° (126–127°) ⁴⁾ ⁵⁾	— (130–131°) ⁴²⁾	— (145–146°) ⁵⁾
E1	neu, vermutl. XVIII	94–98° —	131–132° —	158–163° —
E2	3'-Äthyl-cyclopentophenanthren (XIII)	79–82° (84–85°) ¹⁹⁾	— (94,6–98,4°) ²⁴⁾	116–123° (120–121°) ¹⁹⁾
C	vermutl. neu, Struktur unbekannt	81–84° —	— —	107–110° —
O1	vermutl. 2-Methylchrysen (XXIX)	226–227° (229–230°) ⁴³⁾	— (143–146°) ⁴³⁾	176–178° (189–190°) ⁴⁴⁾
O2	Struktur unsicher, möglicherweise Dimethylchrysen oder 1-Methylchrysen	253–255° (254–255°) ⁴⁵⁾	— —	188–190° (174–176°) ⁴⁵⁾
	3'-Propyl-cyclopentophenanthren (XIV)	— (88–89°) ²⁵⁾	— —	— (123–124°) ²⁵⁾
	3'-Isopropyl-cyclopentophenanthren (XV)	— (97,6–98,4°) ²⁴⁾	— (108–113°) ²⁴⁾	— (115°) ⁴⁶⁾

⁴²⁾ H. HILLEMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 69, 2610 (1936).

⁴³⁾ W. E. BACHMANN & W. S. STRUVE, J. org. Chemistry 4, 456 (1939).

⁴⁴⁾ A. L. WILDS & C. H. SHUNK, J. Amer. chem. Soc. 65, 469 (1943).

⁴⁵⁾ 1-Methylchrysen; vgl. L. RUZICKA & R. MARKUS, Helv. 23, 385 (1940); W. E. BACHMANN & W. S. STRUVE, J. org. Chemistry 5, 416 (1940).

⁴⁶⁾ A. J. BIRCH & R. ROBINSON, J. chem. Soc. 1944, 503.

unterscheiden liessen. C wurde auf der Säule nur in Form von Gemischen mit E und F gewonnen. Diese haben wir durch präparative Papierchromatographie im gleichen System getrennt, worauf sich nach analoger Reinigung eine kleine Menge C in einheitlichen Kristallen isolieren liess. In Tab. 1 sind die Smp. der nach Dehydrierung von Pregnendiol krist. Kohlenwasserstoffe zusammengestellt. Soweit möglich, wurden auch noch Derivate bereit⁴¹⁾. Drei der genannten Stoffe (R, M, E2) konnten mit bekannten Kohlenwasserstoffen identifiziert werden. Zwei weitere (E1 und C) waren vermutlich neu. Es ist wahrscheinlich, dass E1 die Formel XVIII besitzt, während die Struktur von C unsicher ist. Zum Vergleich sind in Tab. 1 auch die Werte des Propyl- und Isopropyl-Derivats (XIV und XV) eingesetzt.

Besprechung der isolierten Stoffe. – Die Identifizierung von R, M und E2 geschah nach Mischprobe, Papierchromatogramm und teilweise durch UV.- und IR.-Spektren. Fig. 7 zeigt die UV.-Spektren der Stoffe R, E2, E1, C und O; die Fig. 8–12 zeigen die IR.-Spektren der Stoffe R, E2, E1 und C. Durch das Entgegenkommen von Herrn Prof. BERGSTRÖM konnten von den vermutlich neuen Stoffen E1 und C Massenspektren aufgenommen werden (vgl. Fig. 16–17), die für die Zuordnung von Partialformeln besonders wertvoll waren. Gleichzeitig wurden auch die Massenspektren des Methyl-, des Äthyl- und des Isopropyl-Derivats (II, XIII und XV) zum Vergleich aufgenommen (vgl. Fig. 13–15)⁴⁷⁾.

Die Struktur der Kohlenwasserstoffe E1, C, O1 und O2 ist nicht gesichert. Zur teilweisen Abklärung ihres Baues waren die folgenden Befunde wichtig:

Subst. E1. Nach dem UV.-Absorptionsspektrum (Fig. 7) dürfte ein 1,2-Cyclopentenophenanthren vorliegen⁴⁸⁾. E1 zeigte im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie E2 (XIII) und wurde auch im Gas-Chromatogramm zusammen mit E2 erhalten. Wir vermuteten daher zuerst, es sei mit E2 (XIII) isomer und es könne ihm die Struktur XVI zukommen⁴⁹⁾. Dafür schien auch das IR.-Spektrum (Fig. 10 und 11) zu sprechen, denn es zeigte Banden bei 7,27; 7,33; 8,56 und 8,70 μ , wie sie für eine *gem.*-Dimethylgruppe typisch sind⁵⁰⁾. Von diesen vier Banden zeigte E2 (XIII) erwartungsgemäss nur diejenige bei 7,27 μ (Fig. 9). E1 gab bei der Mischprobe mit XIII, XIV und XV, sowie mit Subst. C deutliche Smp.-Depressionen. Auf Grund des Smp. ist es auch verschieden von 1'-Methyl-⁵¹⁾, 2'-Methyl-⁵¹⁾ und 2',3'-Dimethyl-1,2-cyclopentenophenanthren¹⁹⁾. Eine entscheidende Abklärung erbrachte das Massenspektrum (vgl. Fig. 16)⁴⁷⁾. Danach besitzt E1 die Formel $C_{20}H_{20}$, ist also nicht mit

⁴¹⁾ Dafür mussten teilweise die Mutterlaugen der Kristalle dienen.

⁴⁷⁾ Wir danken Herrn Prof. S. BERGSTRÖM und Dozent Dr. R. RHYHAGE, Stockholm, auch hier bestens für die Aufnahme dieser Spektren.

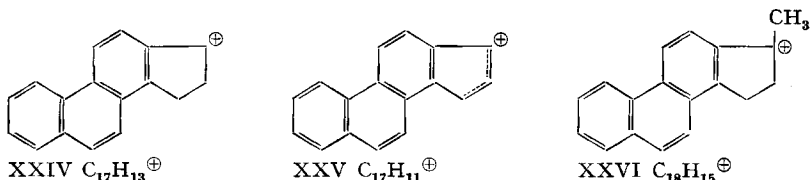
⁴⁸⁾ F. A. ASKEW, J. chem. Soc. 1935, 509; E. HEILBRONNER, H. U. DÄNIKER & PL. A. PLATTNER, Helv. 32, 1723 (1949); H. DANNENBERG & W. STEIDLE, Z. Naturforsch. 9b, 294 (1954). Danach sind zur Unterscheidung von alkylierten Phenanthrenen besonders die Banden im Gebiet von 300–350 $m\mu$ charakteristisch.

⁴⁹⁾ Herr Prof. H. DANNENBERG hat in einem Gespräch zuerst auf die Möglichkeit der Bildung von XVI und XVIII bei der Dehydrierung von Steroiden aufmerksam gemacht. Wir möchten ihm auch hier für diese Anregung bestens danken.

⁵⁰⁾ R. N. JONES & C. SANDORFY, «The Application of Infrared and Raman Spectrometry to the Elucidation of Molecular Structure», in A. WEISSBERGER, «Techniques of Organic Chemistry», Bd. 9, p. 247, Interscience Publ. Ltd., London 1956.

⁵¹⁾ L. RUZICKA, L. EHMANN, M. W. GOLDBERG & H. HÖSLI, Helv. 16, 833 (1933).

XIII isomer, sondern enthält eine CH_2 -Gruppe mehr als dieses. Wir glauben daher, dass E1 die Struktur XVIII besitzt. Diese Formel enthält ein Asymmetriezentrum (an C-3'), das gegen Racemisierung sehr stabil sein sollte⁵²). Tatsächlich erwies sich E1 als optisch aktiv⁵³). Mit Formel XVIII stehen auch weitere Maxima des Massenspektrums in Übereinstimmung⁵⁴). Soweit uns bekannt, sind Cyclopentenophenanthrene bisher im Massenspektrograph noch nicht geprüft worden. Aus den Resultaten der drei Stoffe II, XIII und XV mit bekannter Struktur (vgl. Fig. 13, 14 und 15) ergibt sich, dass durch Abspaltung der Seitenkette u. a. Partikel der Masse 217 und 215 gebildet werden. Es dürfte sich um Ionen der Formeln $\text{C}_{17}\text{H}_{13}^+$ und $\text{C}_{17}\text{H}_{11}^+$ handeln, wobei es aber unsicher ist, ob diese noch das unveränderte C-Gerüst entsprechend XXIV und XXV besitzen⁵⁵). Aus E1 werden diese zwei Partikel auch



gebildet, nur ist die Intensität von 215 viel höher als diejenige von 217, während bei II, XIII und XV die Massenzahl 217 weitaus überwiegt. Dafür gibt E1 ein sehr starkes Maximum bei 231, das der Abspaltung einer Äthylgruppe unter Bildung des Ions $\text{C}_{18}\text{H}_{15}^+$ (möglicherweise XXVI oder eines Isomeren) entspricht. Die Abspaltung nur einer Methylgruppe (unter Bildung von $\text{C}_{16}\text{H}_{17}^+ = 245$) tritt daneben stark zurück.

Mit Formel XVIII steht auch das magnetische Protonenresonanz-Spektrum von E1 in Einklang (vgl. Fig. 20); zum Vergleich dienten die Spektren von II (Fig. 18) und XIII (Fig. 19)⁵⁶).

Subst. C. Dieser Stoff wurde sowohl aus Strophanthidin wie aus Pregnendiol in Kristallen erhalten. Nach dem UV.-Spektrum (Fig. 7) liegt ebenfalls ein Cyclopentenophenanthren-Derivat vor. Subst. C zeigt im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie XIV und XV und benimmt sich auch im Gas-Chromatogramm normal, indem sie später eluiert wird als E2 (XIII)⁵⁷). Bei der Mischprobe wurden mit XIV

⁵²) Auch II, XIII, XIV und XV enthalten Asymmetriezentren, die aber unter den Bedingungen der Selen-Dehydrierung leicht racemisierbar sein sollten (Benzylstellung). Dementsprechend wurden die Kohlenwasserstoffe II und XIII, soweit bekannt, bei der Dehydrierung von Steroiden immer nur in opt. inaktiver Form isoliert.

⁵³) Wir danken den Herren Dr. F. BURKHARDT & Dr. M. KOFLER, Laboratorien der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. A.G., Basel, auch hier bestens für die Aufnahme der Rotationsdispersion (vgl. Exper. Teil).

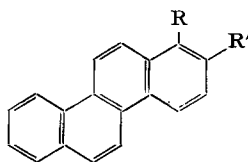
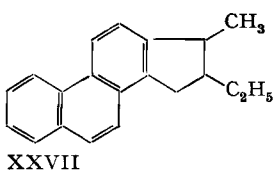
⁵⁴) Über die Auswertung von Massenspektren vgl. J. H. BEYNON, «Mass Spectrometry and its Applications to Organic Chemistry», Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1960.

⁵⁵) Nach P. N. RYLANDER, S. MEYERSON & H. M. GRUBB (J. Amer. chem. Soc. 79, 842 (1957)), S. MEYERSON, P. N. RYLANDER, E. L. ELIEL & J. D. MCCOLLAM (*ibid.* 81, 2606 (1959), und weiterer Lit. daselbst) werden aus Toluol, Äthylbenzol, *t*-Butylbenzol und ihren Derivaten je nach den Bedingungen Benzylum⁺- oder Tropylium⁺-Ionen gebildet. Hier dürfte die Bildung von Tropylium-Ionen wegen des kondensierten Cyclopentanringes erschwert sein.

⁵⁶) Wir danken Herrn Dr. R. ZÜRCHER, Physiklaboratorium der CIBA AKTIENGESellschaft, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme und Interpretation dieser Spektren.

⁵⁷) Ein Vergleich mit XIV und XV konnte wegen Substanzmangel nicht erfolgen, es ist aber zu vermuten, dass C dabei etwa gleich läuft wie XIV und XV.

und XV deutliche Smp.-Depressionen erhalten. Nach dem Massenspektrum (Fig. 17) kommt ihr Formel $C_{20}H_{20}$ zu. Sie ist demnach isomer mit XIV, XV und E1. Auch im Massenspektrum von Subst. C sind die zwei charakteristischen Maxima bei 215 und 217 deutlich, wobei genau wie bei E1 dasjenige bei 215 stärker ist. Sehr stark ist die Massenzahl 245 vertreten, die der Abspaltung einer Methylgruppe (unter Bildung des Ions $C_{19}H_{17}^{\oplus}$) entspricht. Das Maximum bei 231 ist auch hier sehr deutlich, aber viel schwächer als bei Subst. E1. Subst. C war optisch inaktiv⁵⁸⁾, wir glauben, dass sie als Racemat vorliegt. Im IR.-Spektrum (Fig. 13) zeigte sie im 7,20–7,35 μ -Gebiet nur eine deutliche Bande bei 7,27 μ sowie eine schwache Schulter bei 7,23 μ . Ganz ähnliche IR.-Spektren geben II und XIII (Fig. 9); eine *gem.*-Dimethyl- oder Methyl-äthyl-Gruppe wird damit unwahrscheinlich. Es besteht die Möglichkeit, dass Subst. C eine Formel vom Typus XXVII besitzt, was durch Synthese abgeklärt werden soll.



- XXVIII R = CH₃, R' = H
1-Methylchrysen, F. 254°⁴⁵⁾
XXIX R = H, R' = CH₃
2-Methylchrysen, F. 229°⁴⁸⁾
XXX R = H, R' = C₂H₅
2-Äthylchrysen, F. 237°⁵⁹⁾

Subst. F1 und F2. Diese beiden nur amorph erhaltenen Stoffe zeigten im Papierchromatogramm praktisch dieselbe Laufstrecke, unterschieden sich aber etwas im UV.-Spektrum und dürften vermutlich Naphtalinderivate darstellen. Ihre Reinheit ist nicht sicher; sie wurden nicht weiter untersucht.

Präparat O. Das bei der Dehydrierung von Pregnendiol erhaltene Präp. O war nach Papierchromatogramm (vgl. Fig. 5) ein Gemisch von zwei Stoffen, die beide etwas langsamer liefen als Chrysen. Nach dem UV.-Absorptionsspektrum (Fig. 7) lag ein Gemisch von zwei mono- oder disubstituierten Chrysenderivaten⁶⁰⁾ vor. Durch präparative Papierchromatographie konnten die beiden Komponenten getrennt werden. Die schneller laufende Verbindung O1 zeigte einen Smp. von 226–227°, der auf 2-Methylchrysen (XXIX) passen würde. Ein direkter Vergleich war bisher nicht möglich. Das ähnlich schmelzende 2-Äthylchrysen (XXX)⁵⁹⁾ konnte durch Vergleich im Papierchromatogramm (Fig. 5) ausgeschlossen werden⁴⁰⁾. Die langsamer laufende Substanz O2 schmolz bei 253–255°. Da sie im Papierchromatogramm (Fig. 5) noch

⁵⁸⁾ Zur Messung war nur 1 mg verfügbar. Die Bestimmung konnte aber in einem photoelektrischen Polarimeter ausgeführt werden, das auch im UV. brauchbar ist und eine Ablesegenauigkeit von ca. 0,001° besitzt. Eine 0,04-proz. Lösung in Cyclohexan zeigte dabei im Gebiet von 360–600 m μ keine sichtbare Drehung. Daraus folgt, dass $[\alpha]_D^{25}$ sicher kleiner ist als 3°⁵³⁾.

⁵⁹⁾ W. CARRUTHERS, J. chem. Soc. 1953, 3486.

⁶⁰⁾ W. R. BRODE & J. W. PATTERSON, J. Amer. chem. Soc. 63, 3252 (1941). Von diesen Autoren wird XXVIII (R = CH₃, R' = H) als 1-Methylchrysen bezeichnet, von ELSEVIER als 3-Methylchrysen.

Tabelle 2. Lage und Höhe der Maxima im UV. (in Cyclohexan)

Subst. (Nummer) ber. auf Mol.-Gew.	Lage der Maxima in $m\mu$, S = Schulter Höhe der Maxima in $\log \epsilon$														
R (XII) (3244) $C_{15}H_{12}$ 199,25			213 4,42		222 4,28	245 4,62	253 4,77	276 4,13	282 4,02	293 4,04	304 S 2,27	315 2,26	322 2,24	338 2,23	337 2,15
M (II) ⁶²⁾ (2915) $C_{18}H_{16}$ 232,31		209 S 4,42			225 4,43	252 S 4,68	259 4,76	280 4,14	288 4,03	299 4,10	318 2,85	326 2,54	334 2,89	342 2,42	349 2,91
E2 (XIII) ⁶³⁾ (3396) $C_{19}H_{18}$ 246,33			216 4,50	220 S 4,46	224 S 4,41	253 S 4,69	260 4,77	280 4,15	287 4,05	300 4,14	319 2,73	326 2,53	334 2,96	340 2,47	350 3,00
E1 (XVIII) (3298) $C_{20}H_{20}$ 260,36			215 4,43	220 S 4,38	224 4,31	252 S 4,60	260 4,72	280 4,08	287 3,97	299 4,07	318 2,65	325 2,44	333 2,88	340 S 2,37	349 2,91
C (3341) $C_{20}H_{20}$ 260,36			216 4,44	220 S 4,41	225 4,36	252 S 4,60	260 4,70	280 4,12	288 3,99	300 4,09	319 2,98	325 2,72	333 2,95	342 S 2,55	349 2,95
O (3516) $C_{19}H_{14}$ 242,30		224 4,47		243 4,26		262 4,86	272 5,10		297 4,09	309 4,10	323 4,06	344 2,77	351 2,56	361 2,51	
O1 (3598) $C_{19}H_{14}$ 242,30		224 4,58		244 4,39		261 4,97	271 5,20	284 4,30	296 4,29	308 4,30	320 4,28	343 2,70	350 2,45	362 2,55	
O2 (3599) $C_{19}H_{14}$ 242,30		226 4,50		244 4,30		263 4,90	273 5,16	286 S 4,16	298 4,14	310 4,15	323 4,12	345 2,84	351 2,65	363 2,60	
Chrysen (III) ⁶⁴⁾ (2902) $C_{18}H_{12}$ 228,28		222 4,49	234 S 4,18	242 4,27	250 S 4,51	258 4,87	267 5,17	282 4,09	293 4,09	305 4,12	318 4,12	342 2,70	351 S 2,45	360 2,70	
F1 (3462) $C_{20}H_{22}$ 262,38	215 3,95	221 3,92	230 S 4,07	236 4,17			271 2,94	282 2,95		314 2,33	322 2,22	329 2,45			
F2 (3461) $C_{20}H_{22}$ 262,22			230 4,39		254 3,24		274 3,28	280 S 3,27		312 S 2,56	322 2,45	329 2,50			

etwas langsamer lief als 2-Äthylchrysen, glauben wir, dass nicht 1-Methylchrysen (XXVIII), sondern evtl. ein 1,2-Dimethylchrysen vorlag. Dieser Stoff ist bisher noch unbekannt.

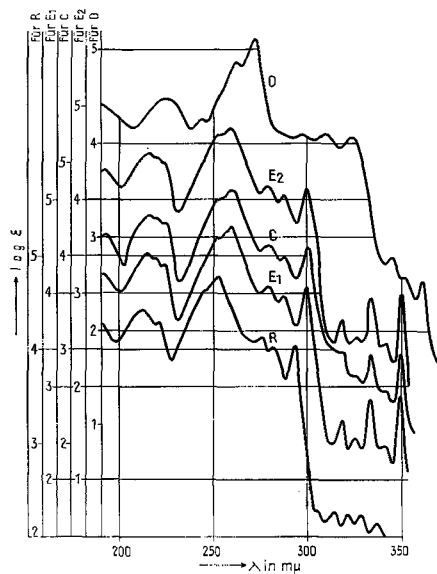


Fig. 7. UV.-Absorptionsspektren der Kohlenwasserstoffe in Cyclohexan⁶¹⁾.

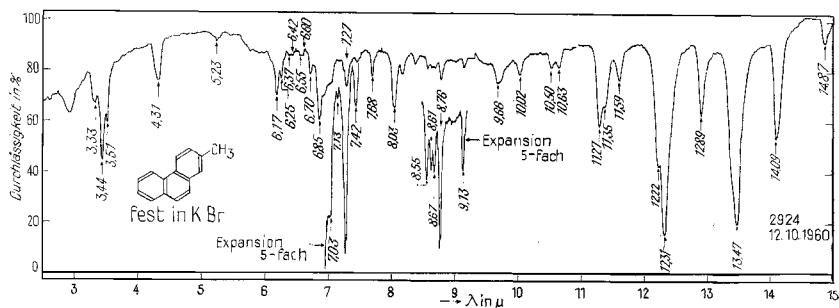


Fig. 8. IR.-Absorptionsspektrum von 2-Methylphenanthren (XII)
(Subst. R) aus Pregnenolon, Smp. 54–57°.

Fest (1 mg) in KBr (ca. 650 mg)⁶⁵⁾. Untere Kurve mit 5facher Expansion der Ordinaten

⁶¹⁾ Aufgenommen von den Herren R. BÜHRER & R. GÖSCHKE auf einem selbstregistrierenden BECKMAN-UV.-Spektrophotometer Modell DK2; im kurzwelligen Gebiet in N₂-Atmosphäre mit der von K. STICH, G. ROTZLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1480 (1959), beschriebenen Technik. Genaue Lage und Höhe der Maxima vgl. Tab. 2.

⁶²⁾ Authentisches Präparat aus Dehydrierung von Cholesterin.

⁶³⁾ Synthetisches Vergleichspräparat.

⁶⁴⁾ Authentisches Präparat aus Steinkohlenteer.

⁶⁵⁾ Aufgenommen von Herrn R. BÜHRER und Fr. I. HÄTTENSCHWILLER in einem PERKIN-ELMER double beam Infrared Spektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prisma.

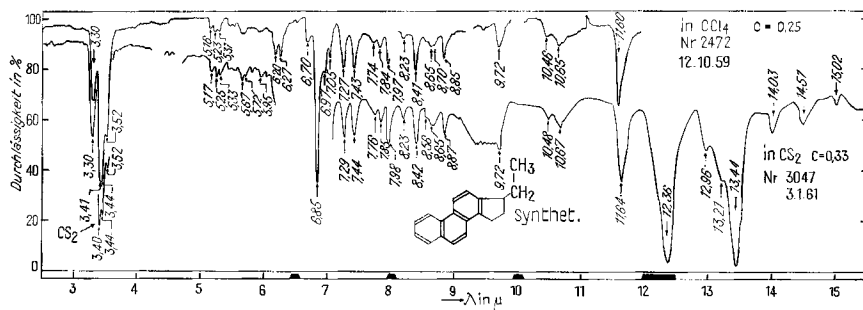


Fig. 9. IR.-Absorptionsspektrum von 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XIII), synthetisch. Obere Kurve in CCl_4 , $c = 0,25$ Mol/l, $d = 0,2$ mm; untere Kurve in CS_2 , $c = 0,33$ Mol/l, $d = 0,2$ mm⁶⁵⁾

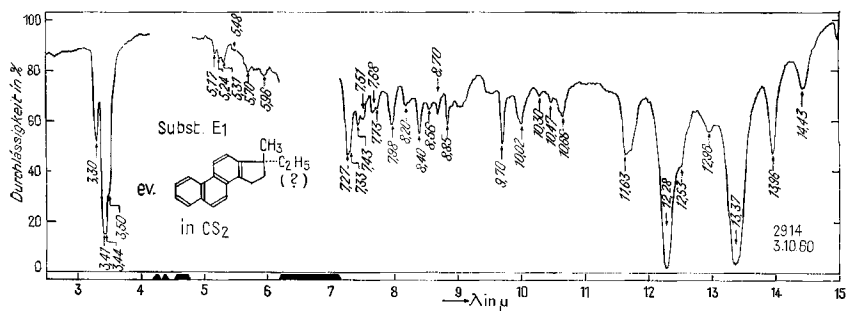


Fig. 10. IR.-Absorptionsspektrum von Subst. E1 (vermutl. XVIII), Smp. 94-96°, aus Pregnenolon, in CS_2 . $c = 0,1$ Mol/l, $d = 0,57$ (Mikrozelle)⁶⁵⁾

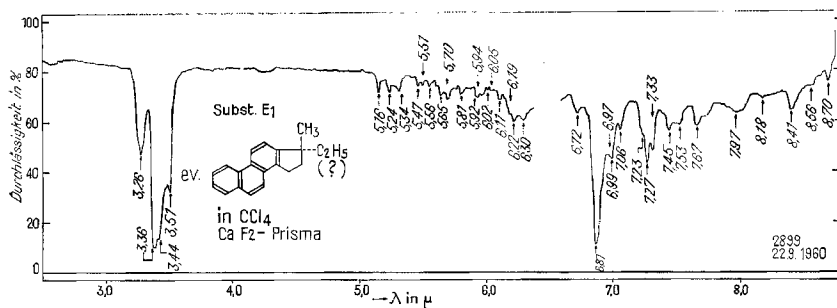


Fig. 11. IR.-Absorptionsspektrum von Subst. E1 (vermutl. XVIII), Smp. 94-96°, aus Pregnenolon, in CCl_4 . $c = 0,25$ Mol/l, $d = 0,2$ mm⁶⁶⁾

⁶⁶⁾ Wie bei ⁶⁵⁾, aber mit CaF_2 -Prisma.

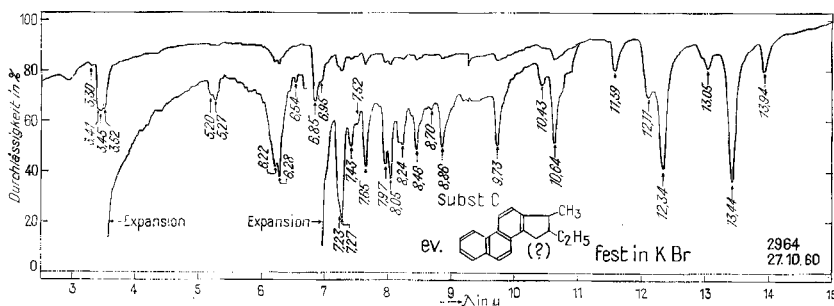


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum von Subst. C, Smp. 81–84°, aus Pregnenolon. Fest (0,7 mg) in KBr (ca. 650 mg)⁶⁵. Untere Kurve mit 5facher Expansion der Ordinaten

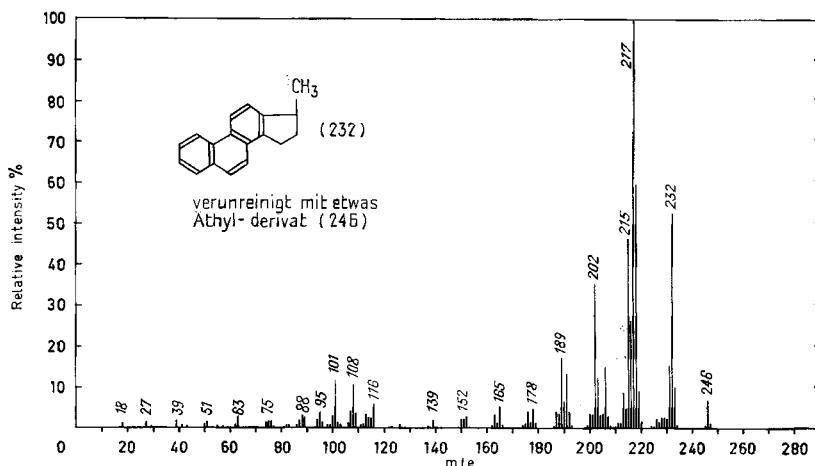


Fig. 13. Massenspektrum des DIELS'schen Kohlenwasserstoffs (II)⁴⁷ Präparat Smp. 122–126°, aus Cholesterin, das trotz wiederholtem Umkristallisieren nach Papierchromatogramm noch eine merkliche Menge 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XIII) enthält. Das Maximum bei 246 entspricht diesem.

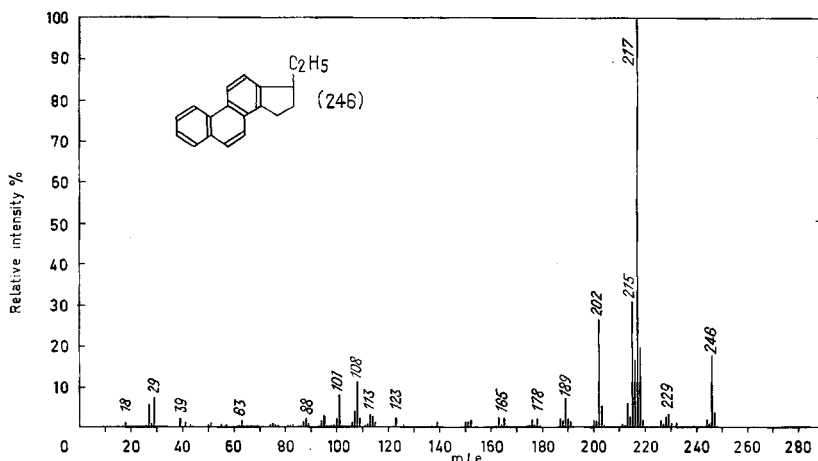


Fig. 14. Massenspektrum des 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthrens (XIII)⁴⁷, synth., Smp. 85–86°

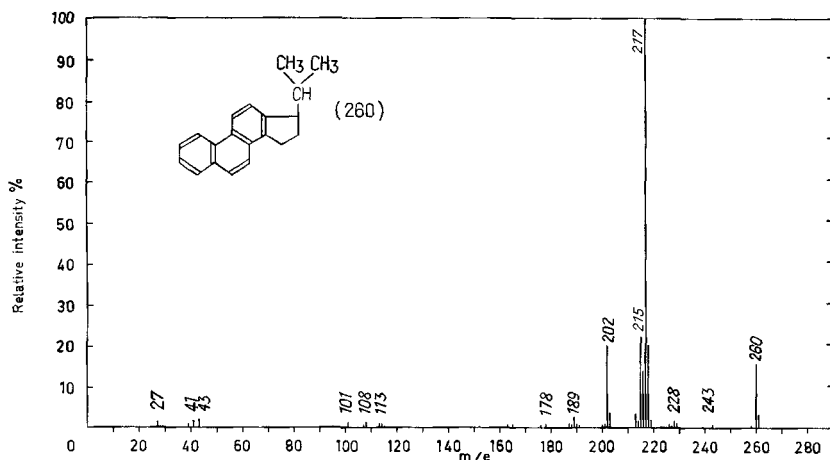


Fig. 15. Massenspektrum des 3'-Isopropyl-1,2-cyclopentenophenanthrens (XV)⁴⁷⁾, Smp. 97–98°

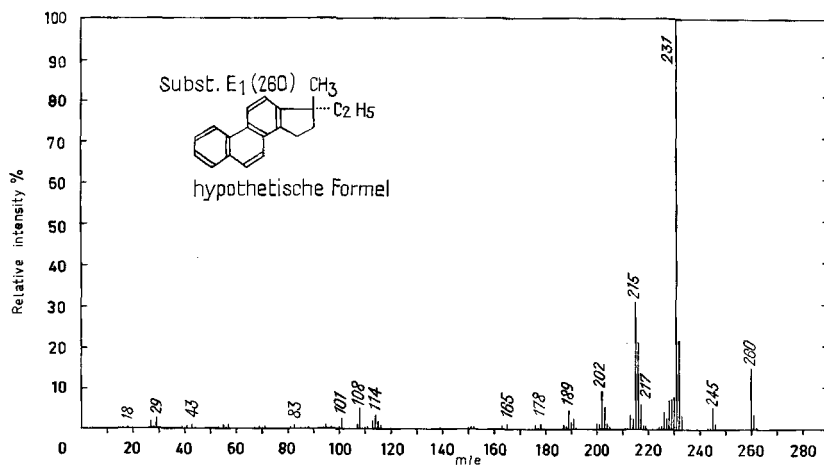


Fig. 16. Massenspektrum der Subst. E1⁴⁷⁾. Präparat vom Smp. 94–96°, aus Pregnenolon (vermutl. Formel XVIII)

Diskussion der Resultate. – Es ist leicht ersichtlich, dass die Aufklärung der Dehydrierungsprodukte von Steroiden in erster Linie ein analytisches Problem ist. Die hier beschriebenen Methoden sind mühsam und nur ein Notbehelf. Mit verbesserten Methoden oder mehr Zeitaufwand würden sich sicher noch viel mehr Dehydrierungsprodukte nachweisen und isolieren lassen. Wir haben uns besonders auf die Trennung der Cyclopentenophenanthrene konzentriert und glauben, dass hier einige der Kohlenwasserstoffe, die besonderes Interesse beanspruchen, erfasst sind. Insbesondere die Stoffe E2 (XIII), E1 (XVIII?) und C, sowie analoge, dürften auch bei der Dehydrierung anderer Steroide auftreten.

Auf Grund der Flecke im Papierchromatogramm (Fig. 4–6), teilweise auch auf Grund der UV.-Spektren von Rohkristallen, dürften die Stoffe M, E2 und C bei der

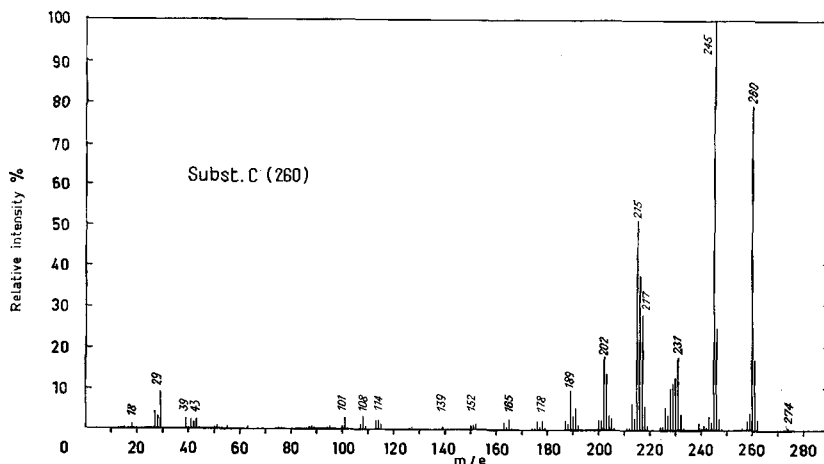


Fig. 17. Massenspektrum der Subst. C⁶⁷⁾. Präparat vom Smp. 81–84°, aus Pregnenolon.

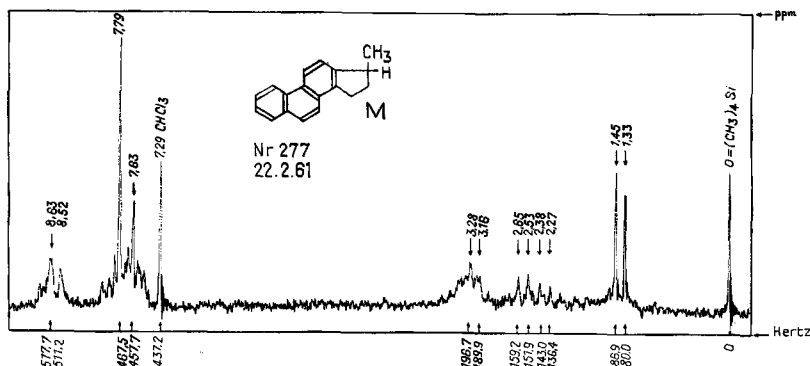


Fig. 18. Protonen-Resonanzspektrum des 3'-Methyl-1,2-cyclopentenophenanthrens (II), Präparat vom Smp. 122–126° (wie bei Fig. 13).

9,2 mg in 0,4 ml CDCl_3 . Zwischen 520 und 440 Hz liegen die Signale der aromatischen Protonen. Bei höherem Felde, d. h. im Bereich von 200–40 Hz, liegen die 5-Ring- und Alkyl-Protonen. Bei 86,9 und 80 Hz ist das Dublett der Methylprotonen zu sehen. Die Koppelungskonstante von 7 Hz ist von der richtigen Grössenordnung und rührt von der Wechselwirkung des 17-H mit den Methylprotonen her^{66) 67)}

Dehydrierung aus allen drei Stoffen (Ucharidin²⁰⁾, Strophanthidin und Pregnendiol) entstanden sein. Wir vermuten, dass dies auch für E1 zutrifft, obgleich dieser Stoff bisher nur aus den Dehydrierungsprodukten des Pregnendiols in reiner Form isoliert werden konnte. Von den teilweise nur in kleineren Mengen erhaltenen Nebenprodukten (H, A, K, D, F, P, Q, R und B) wurde nur R (aus Pregnendiol) in reiner Form isoliert und mit XII identifiziert. Auf Grund der Laufstrecken im Papierchromatogramm

⁶⁷⁾ Aufgenommen mit einem modifizierten VARIAN-Spektrographen, Modell V-4302, bei 60 MHz und bei 21°. Die Frequenzen wurden nach der Seitenband-Methode gemessen und durch lineare Interpolation bestimmt. Sie sind auf $\pm 0,01$ ppm. genau. Als interne Bezugssubstanz diente Tetramethylsilan, das zugleich Nullpunkt der ppm.-Skala ist. Signale bei kleinerer Feldstärke werden positiv gezählt.

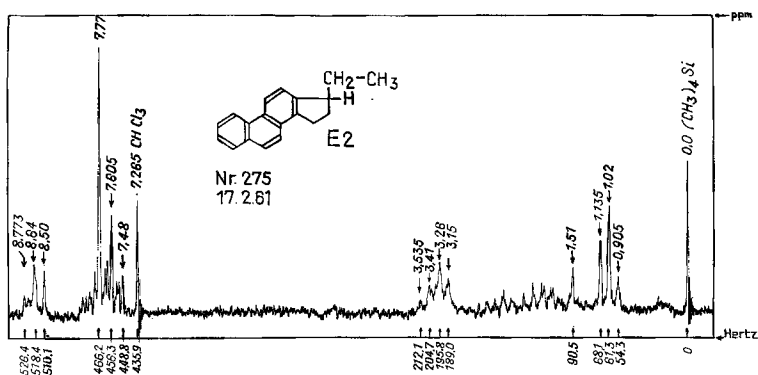


Fig. 19. Protonen-Resonanzspektrum des 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthrens (XIII), Präparat synthetisch, Smp. 85–86°.

10 mg in 0,4 ml CDCl_3 . Bei 68,1; 61,3 und 54,3 Hz tritt das Triplet der Methylgruppe der Äthylseitenkette auf. Die Methylprotonen sind in ein Triplet aufgespalten wegen der Wechselwirkung mit den zwei Protonen der benachbarten Methylengruppe. Die Kopplungskonstante der sich über drei Bindungen erstreckenden Wechselwirkung beträgt wiederum 7 Hz^{(56) (67)}.

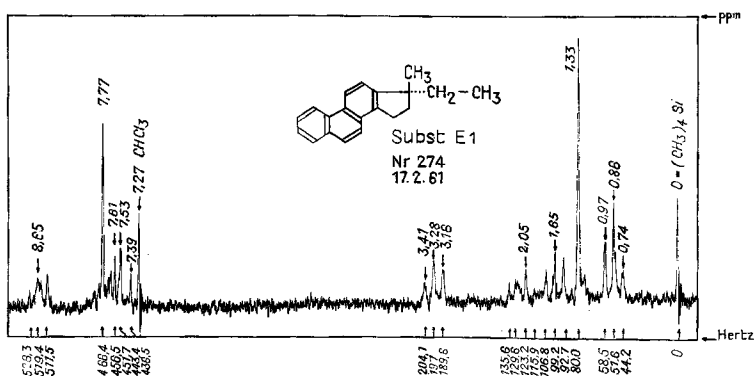


Fig. 20. Protonen-Resonanzspektrum von Subst. E1, vermutlich 3'-Methyl-3'-äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XVIII), Smp. 94–96°, aus Pregnenolon.

6 mg in 0,23 ml CDCl_3 . Bei 80 Hz tritt ein Signal auf, das der 17 β -Methylgruppe zugeschrieben werden kann. Es ist, wie erwartet, nicht aufgespalten, weil das nächste Proton um vier Bindungen entfernt ist und damit die Wechselwirkung zu klein wird. Die geringfügige Änderung der chemischen Verschiebung, verglichen mit derjenigen von II, könnte vom Einfluss der Äthylgruppe in 17 α -Stellung herrühren. Bei 58,5, 51,6 und 44,2 Hz tritt ein Triplet auf, das der Methylgruppe der Äthylseitenkette zugeschrieben werden könnte. Gegenüber XIII ist es um 10 Hz nach höherem Magnetfeld verschoben. Auf Grund der bei II und XIII gewonnenen Erfahrungen verträgt sich dieses Spektrum gut mit der für E1 vorgeschlagenen Formel XVIII. Dass die zwei Substituenten sich an C-3' befinden und nicht an anderer Stelle des Cyclopentanringes, vermag es aber nicht zu beweisen^{(56) (67)}.

könnte es sich bei B um ein Dimethyl- oder Äthyl-phenanthren handeln, bei K um unsubstituiertes 1,2-Cyclopentenophenanthren.

Bei der am genauesten untersuchten Dehydrierung des Pregnendiols ergab sich eindeutig, dass vier verschiedene Alkyl-1,2-cyclopentenophenanthrene (II, XIII, E1

und C) und *mindestens zwei* Alkylchrysene gebildet werden. Ausserdem entstehen noch reichliche Mengen von Kohlenwasserstoffen, die vermutlich höher kondensierte Systeme enthalten, die aber nicht weiter untersucht wurden. Andere Steroide dürften sich ähnlich verhalten. So konnte z. B. die Bildung des Äthylderivates XIII bei der Dehydrierung von Cholesterol eindeutig nachgewiesen werden.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit. Die eine von uns (M. S. B.) dankt ferner dem NIZAM'S TRUST FUND, Hyderabad, für ein Stipendium, das ihr die Ausführung ihrer Dissertation in Basel ermöglicht hat.

Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben und Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. vorstehende Mitteilung²⁰⁾.

Papierchromatogramme. Imprägnierung mit Siliconöl nach vorstehender Mitteilung²⁰⁾. Imprägnierung mit Olivenöl wie folgt: Das Papier (SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 b mgI) wurde durch eine 10-proz. Lösung von Olivenöl⁶⁸⁾ in Aceton gezogen und an der Luft getrocknet. Es enthielt dann ca. 10% Öl. Weitere Ausführung wie bei Siliconöl²⁰⁾.

Präparative Papierchromatographie mit Olivenöl als ruhende Phase. WHATMAN-Nr. 3MM-Papierblätter von 19×46 cm Grösse wurden wie oben, aber mit 5-proz. Olivenöl in Aceton, imprägniert. Sie enthielten dann nach Trocknung an der Luft ca. 7% Öl. Auf jedes Blatt wurden auf der Startlinie 5–5,5 mg Kohlenwasserstoffgemisch (in ca. 0,05 ml Ae gelöst) aufgetragen. Als Fließmittel diente Me-W-(5:1). Laufzeit 45 Std. absteigend. Dann wurden die Papiere an der Luft getrocknet und die Kohlenwasserstoffe durch ihre Fluoreszenz im UV.-Licht (mit Schwarzfilter) lokalisiert. Die ausgeschnittenen Zonen wurden mit Pn erschöpfend extrahiert.

Das Schwarzfilter wurde von der Firma ALBERT BALZER, Basel, bezogen unter der Bezeichnung UV-CH 165/165/5,5 und besass nach Angabe des Lieferanten die in Tabelle 3 angegebene Durchlässigkeit. Es war 6 mm dick und beidseitig plangeschliffen.

Tabelle 3. Durchlässigkeitszahlen (ohne Reflexionsverlust) des Filters

λ in m μ	bei 1 mm Dicke	λ in m μ	bei 1 mm Dicke	λ in m μ	bei 1 mm Dicke
203	—	480	0,02	1150	0,45
229	0,27	509	—	1306	0,29
254	0,73	546	—	1450	0,24
281	0,94	578	—	1600	0,26
302	0,98	644	0,02	1800	0,31
312	0,99	700	0,71	2000	0,35
334	0,98	775	0,58	2200	0,38
366	0,90	850	0,51	2400	0,38
405	0,38	950	0,52	2600	0,35
436	0,10	1050	0,53	2800	0,21

Mittlere Brechung: $n_d = 1,543$; Reflexionsfaktor: $R_d = 0,913$. Das Filter war auch zur Kontrolle der Säulenchromatographie geeignet. Zur Lokalisierung der Flecke war auch ein «Rotpurpur»-Filter Nr. 9863 der CORNING GLASS WORKS, New York, brauchbar, vgl. R. BERNASCONI, H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, *Helv.* 38, 1767 (1955).

Verseifung der Rohextrakte. 5 g Rohextrakt (vorwiegend Olivenöl enthaltend) wurden mit 12 g KOH in 200 ml 95-proz. Methanol 2½ Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 200 ml W versetzt und 3mal mit je 400 ml Pn ausgeschüttelt. Die mit 50-proz. Me gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden eingedampft. Der Rückstand wurde an 30facher Menge Al₂O₃ (WOELM, basisch, Aktivität 1) chromatographiert.

Adsorptionschromatographie. Wo nichts anderes erwähnt, diente zur Chromatographie Al₂O₃ alkalisch, WOELM, Aktivität 1. Das benötigte Fe₂O₃ wurde nach GLEMSER & RIECK⁶⁹⁾ bereitet.

⁶⁸⁾ *Oleum olivae*, Pharmacopoea Helvetica V (1933).

⁶⁹⁾ O. GLEMSER & G. RIECK, *Angew. Chem.* 69, 91 (1957).

Kristallisation aus Pentan bei -80° . Für die erste Reinigung der Kohlenwasserstoffe erwies sich folgende Methode am wirksamsten: 10 mg roher Kohlenwasserstoff wurden in einem kleinen Reagensglas von ca. 7 mm Durchmesser und 70 mm Länge in ca. 0,2–0,5 ml Pn gelöst. Nach Verschluss mit CaCl_2 -Rohr wurde langsam abgekühlt, bis eine kleine Menge Kristalle erschien, oder es wurde angeimpft. Dann wurde zur Isolation mit wenig Watte umwickelt in ein weiteres leeres Reagensglas gestellt, so dass überall ein Luftraum von ca. 3–4 mm verblieb und in Aceton-Trockeneis gestellt. Die Abkühlung soll möglichst langsam fortschreiten, um gut ausgebildete Kristalle zu erzielen. Dies ist nach ca. 1–3 Std. meist der Fall, sonst wird aufgewärmt und noch einmal langsam abgekühlt. Dann wird im Kältebad (bei -80°) das Lösungsmittel mit kapillar ausgezogener Pipette (mit kleinem Gummiballon) abgesaugt und die Kristalle mit Pn, das auf -80° vorgekühlt war, gewaschen. Nach kurzem Trocknen im Exsiccator wird gleich, dann normal aus An-Me (zuletzt bei 0°) umkristallisiert. Mit etwas Übung ist es leicht möglich, 2–3 mg Kohlenwasserstoff auf diese Weise zu kristallisieren.

Zonenschmelzen kleiner Mengen: Einfüllen der Kapillare. Aus einem Glasrohr wird eine Kapillare (innerer Durchmesser je nach Substanzmenge 0,5–1 mm)⁷⁰⁾ ausgezogen, wobei das eine Ende zur Erleichterung des Einfüllens etwas erweitert war. Dann wird etwas links der Mitte zu-

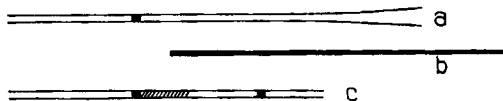


Fig. 21. Herstellung der Kapillare zum Zonenschmelzen

geschmolzen (Fig. 21 a). Hierauf wird die Substanz in kleinen Anteilen eingefüllt und mit einem Glasfaden (dessen leicht verdicktes Ende dort abgeschnitten wurde, wo sein Durchmesser die Kapillare gerade genau ausfüllte; Fig. 21 b) gut zusammengepresst. Anschliessend wird der leere Teil der Kapillare gut gereinigt, dann wird mit N_2 gefüllt, etwa 3 cm über der Substanz zugegeschmolzen und der dickere Teil abgeschnitten. Die so vorbereitete Kapillare (Fig. 21 c) wird in den Apparat (Fig. 1–3) eingespannt.

Bei den ersten Durchgängen ist darauf zu achten, dass event. Luftblasen aus der Schmelze ausgetrieben werden. Dies wird bei dünnen Kapillaren zunehmend schwerer. Andererseits sollte die Länge der Schmelze mindestens 1 cm betragen, um eine gute Trennung zu ermöglichen. Hat man nur 2 mg Substanz, so ist eine Kapillare von nur ca. 0,5 mm Durchmesser nötig. Dies ist die Grenze, bei der wir noch brauchbare Resultate erzielen konnten. Diese Ausführung ist aber recht mühsam. Leichter ist das Arbeiten mit Kapillaren von 1 mm Durchmesser (oder mehr), dies benötigt mindestens 8 mg Material. Die Reinigung war nach 12–14 Durchgängen (je 5 Schmelzonen) in der Regel beendet, was insgesamt ca. 50 Std. benötigte. Das vordere Ende (meist leicht gefärbt, sonst ca. 10% der Substanz enthaltend) wurde abgeschnitten. Der Rest wurde in der Regel auch in einige Stücke unterteilt abgeschnitten und durch Smp. kontrolliert.

Abbau und Dehydrierung von Strophanthidin. – 2 g Strophanthidin (XVIII) (das noch etwas Strophanthidol enthält) wurden in 150 ml Äthylacetat gelöst. Dann wurde unter H_2O -Ausschluss bei -80° 75 Min. ozonisierter Sauerstoff (150 ml/Min., ca. 4% O_3) eingeleitet. Eine Probe der blauen Lösung gab auf Papier mit KEDDE-Reagens⁷¹⁾ keine Färbung mehr. Hierauf wurde bei 12 Torr und 40° Badtemperatur auf 40 ml eingengt, mit 50 ml reinstem AcOH und 200 mg $\text{PtO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ versetzt und 5 Std. in H_2 -Atmosphäre geschüttelt. Gasaufnahme total 306 ml. Die Tüpfelprobe mit Blautetrazolium⁷²⁾ war hierauf negativ. Es wurde filtriert, mit Me nachgewaschen und das klare Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (2,173 g) wurde mit 4 g Selen innig vermisch, in ein Bombenrohr (Inhalt 64 ml) im Vakuum eingeschmolzen und 24 Std. auf

⁷⁰⁾ Für 2 mg Substanz darf die Kapillare nur 0,5 mm Lumen haben, damit die Schicht 1 cm lang wird. Das Einfüllen ohne Luftblasen ist dann schwierig. Bei 1 mm Durchmesser sind mindestens 8 mg Substanz erforderlich.

⁷¹⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leiden 1946; Ausführung nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).

⁷²⁾ S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 1163 (1954).

307° erhitzt. Nach Erkalten wurde geöffnet und die flüchtigen Teile unter Schütteln bei 12 Torr und 45° Badtemperatur entfernt. Der Rückstand wurde gut zerrieben und erschöpfend mit Ae extrahiert (4mal unter Rückfluss je 30 Min. gekocht). Erhalten wurden 1,096 g braunes, grün fluoreszierendes Öl. Es wurde erneut in Ae aufgenommen und mit 2N HCl, 2N NaOH und W gewaschen. Trocknen und Eindampfen gab 988 mg dunkelbraunes Öl. Dieses wurde an 30 g Al_2O_3 (standardisiert nach BROCKMAN, Aktivität ca. 2) chromatographiert (vgl. Tab. 4).

Tabelle 4. *Chromatographie von 988 mg neutralem Dehydrierungsgemisch aus Strophanthidin an 30 g Al_2O_3*

Frakt.-Nr.	Eluiermittel je 100 ml	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Habitus	Weitere Verarbeitung
1–2	Pn	174	farbl. Öl	Chromatographie an Fe_2O_3
3–10	Pn	246	farbl. teilw. krist.	zur Gas-Chromatographie
11–13	Pn-Be-(9:1)	55	farbl. Öl	zur Gas-Chromatographie
14–15	Pn-Be-(9:1)	17	farbl. krist.	nicht untersucht
16–17	Pn-Be-(4:1)	26	gelbl. krist.	
18–33	Pn-Be, Be, Be-Chf und Chf	326	gelbe und braune Harze	

Tabelle 5. *Ausbeuten bei der präparativen Papierchromatographie der Phenanthrenkohlenwasserstoffe aus Dehydrierung von Strophanthidin*

Zone	Eluat								
	Menge roh in mg					daraus erhalten			
	erhalten aus				Total	Destillat		Kristalle aus Pn bei –80°	
	24,7 mg G1+G2	31,9 mg G3	38,1 mg G4	34,5 mg G5		roh Menge in mg	gewaschen mit H_2SO_4	Menge in mg	Smp.
H	1919	—	—	—	1919	85,4			
A	651	—	248	—	899	13,6			
K	624	993	824	1622	3063	27,4			
M	503	1430	1560	2050	3543	39,7	—	7,3	117–123°
E	1021	598	1476	1545	4630	127,5	5,0	2,5	40–65°
C	—	489	722	1581	2792	36,6	9,7	4,0	47–55°
D	—	—	233	1249	1482	17,1			
F	—	—	—	1086	1086	7,8			

Die Fr. 1–2 wurden nochmals an 18 g hochaktivem Fe_2O_3 ⁸⁹⁾ chromatographiert. Dabei liessen sich mit Pn sowie Pn-Be-(9:1) 153 mg leicht eluierbare Anteile als farbloses Öl abtrennen, das nicht fluoreszierte (nicht untersucht). Die mit Pn-Be-(4:1) und Pn-Be erhaltenen Fraktionen gaben 13 mg stark fluoreszierendes Material, das zur Gas-Chromatographie diente.

Die Fr. 3–13 gaben teilweise Kristalle (Smp. zwischen 70 und 97°), die aber noch Gemische waren. Auch nach Chromatographie an Fe_2O_3 wurden keine einheitlichen Kristalle erhalten. Alle verbliebenen Anteile (Kristalle und ML) wurden daher durch Gas-Chromatographie getrennt.

Gas-Chromatographie. Das oben genannte Material (total 236 mg) wurde in Portionen von je ca. 12 mg (in wenig Be gelöst) im Gas-Chromatograph wie früher beschrieben²⁰⁾ getrennt. Es zeigten sich 5 Maxima, die zur Hauptsache den Flecken A, K, M, E und C entsprachen. Die entsprechenden Fraktionen wurden aufgefangen. Erhalten wurden 11,1 mg G1 (vorwiegend A); 13,6 mg G2 (vorwiegend K); 45,9 mg G3 (vorwiegend M); 38,1 mg G4 (vorwiegend E) und 34,5 mg G5 (vorwiegend C). Über die Zusammensetzung orientiert Tab. 5.

G3 lieferte aus Pn bei –80°, dann aus An-Me, 14 mg reine Subst. M, Smp. 119–121°. Die anderen Fraktionen waren nach Pch nicht ganz einheitlich. Sie wurden durch präparative Pch getrennt.

Tabelle 6. *Chromatographie von 2,777 g Kohlenwasserstoffgemisch aus Pregnendiol an 280 g Al_2O_3*

Fraktions-Nr.	Eluiermittel je 280 ml pro Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Habitus	Pch	Weitere Verarbeitung
1-8	Pn	206	farbl. Öl	UV. neg.	nicht untersucht
9-10	Pn-Be-(99:1)	37	farbl. Öl	UV. neg.	nicht untersucht
11-12	Pn-Be-(98:2)	107	farbl. Öl	R, M	Fr. 11-16 zur ersten Verteilung, Tab. 7
13	Pn-Be-(98:2)	76	farbl. Öl		
14	Pn-Be-(98:2)	65	farbl. Öl		
15	Pn-Be-(95:5)	70	farbl. Öl	M, E u. langsame	
16	Pn-Be-(95:5)	122	farbl. Öl		
17	Pn-Be-(95:5)	148	krist.	E	gab reines E1, ML zur ersten Verteilung, Tab. 7
18-22	Pn-Be-(95:5)	572	krist.	(M), E, C	zur Verteilung, Tab. 7
23	Pn-Be-(95:5)	70	krist.	E, (C)	zur zweiten Verteilung
24	Pn-Be-(95:5)	42	krist.	E	gab reines E2, ML zur zweiten Verteilung
25-29	Pn-Be-(9:1)	255	krist.	E, C u. langsame	zur zweiten Verteilung
30-34	Pn-Be-(3:1)	177	teilw. krist.	E, C u. langsame	
35	Pn-Be-(1:1)	11			
36	Pn-Be-(1:1)	18	teilw. krist.		nicht getrennt
37-41	Be	167	teilw. krist.		aus Pn 105 mg rohe Subst. O. ML nicht getrennt
42	Be-Chf-(85:15)	5	teilw. krist.		
43-48	Chf u. Chf-Me-(95:5)	846	dunkelbraun amorph		nicht untersucht

Präparative Papierchromatographie. Die Trennung wurde noch mit Siliconöl (ca. 5% des Papiergewichtes) wie früher beschrieben²⁰⁾ ausgeführt. Die Eluate der ausgeschnittenen Zonen wurden im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 140–180° Badtemperatur destilliert. Die Destillate wurden teilweise noch durch Schütteln mit konz. H_2SO_4 gereinigt²⁰⁾. Über die Ausbeute orientiert Tab. 5.

Das am Schluss erhaltene Totalgewicht der Destillate war grösser als die eingesetzte Menge, weil die Destillate noch Verunreinigungen aus dem Papier und Siliconöl enthielten. Diese liessen sich weitgehend durch Waschen der in Pn gelösten Destillate mit konz. H_2SO_4 bei 0° entfernen²⁰⁾. Trotzdem machte die anschliessende Kristallisation aus Pn bei –80° etwas Schwierigkeiten.

Auf weitere Reinigung von H, A, K, D und F musste verzichtet werden. Die 5 Präparate waren nach Pch einheitlich. K zeigte dabei dieselbe Laufstrecke wie unsubstituiertes 1,2-Cyclopentenophenanthen.

Die M-Kristalle waren nach Pch und Mischprobe mit dem DIELS'schen Kohlenwasserstoff (II) identisch.

Die E-Kristalle waren vermutlich ein Gemisch. Auch nach wiederholtem Umkristallisieren aus Pn bei –80° wurde ein Smp. von 45–62° erhalten. Die Mischprobe mit reinem E2 = XIII (vom Smp. 84–86°) schmolz bei 45–84°. Wir vermuten, dass ein Gemisch von E1 mit E2 vorlag.

Die C-Kristalle gaben nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Pn bei –80° und dann aus An-Me 1,0 mg farblose Blättchen, Smp. 72–80°. Die Mischprobe mit reiner Subst. C aus Pregnendiol (vom Smp. 81–84°) schmolz bei 72–84°. Die Mischprobe mit dem Propylderivat XIV (vom Smp. 88–90°) schmolz bereits bei 50–75° und diejenige mit dem Isopropylderivat XV (vom Smp. 97–99°) schmolz bei 52–66°, also ebenfalls mit starker Depression.

Dehydrierung des Pregnendiols. – 5 g β -Acetoxy- Δ^5 -pregnen-20-on (XXI) vom Smp. 143–149° wurden in 150 ml abs. Ae mit 0,75 g $LiAlH_4$ reduziert⁷³⁾ und das rohe Reduktionsprodukt (XXII, 4,23 g) wie oben mit 9 g Selen 24 Std. auf 310° erhitzt. Das neutrale Rohprodukt (2,777 g) wurde an 286 g Al_2O_3 (WOELM, neutral, Aktivität 1) chromatographiert (Tab. 6).

Fr. 17 gab aus Pn bei –80° 31,2 mg Kristalle, Smp. 65–75°. Nach Umkristallisieren 9 mg reines E1, Smp. 97–99°. Die ML diente zur Verteilungschromatographie.

Fr. 24 gab aus Pn bei –80° 20 mg Kristalle, Smp. 58–65°, nach Umkristallisieren 4 mg reines E2, Smp. 72–75°.

Aus den Fr. 37–42 wurden aus Pn 75 mg rohe, krist. Subst. O vom Smp. 207–246° und 30 mg vom Smp. 196–223° erhalten.

Erste Verteilungschromatographie. 1,1 kg gereinigtes Cellulosepulver⁷⁴⁾ wurden mit 110 g Olivenöl in 1 l Pn gut vermischt, im Vakuum bei 12 mm, zuletzt bei 70°, getrocknet und gesiebt. Dann wurde in Me-W-(9:1) aufgeschlemmt und in eine Säule Nr. 3⁷⁵⁾ eingefüllt. Tropfgeschwindigkeit 35 ml/Std. Das in Tab. 6 genannte Material (1,129 g) wurde mit 7 g trockenem Cellulosepulver gemischt auf die Säule gebracht. Das Wandern der KW auf der Säule konnte an Hand der Fluoreszenz im UV.-Licht nur teilweise verfolgt werden. Die Kontrolle durch Pch und die Resultate sind aus Tab. 7 ersichtlich. Die Fraktionen, die dieselben Stoffe enthielten, sind darin bereits in Gruppen zusammengefasst.

Die Fr. 10–15 (Tab. 7) wurden bei der Verseifung verändert. Es entstand Subst. S, die im Pch gleiche Laufstrecke zeigte wie E. Das Material (10 mg) blieb amorph und wurde nicht weiter untersucht.

Die 46 mg gereinigtes Material aus Fr. 17–22 gaben aus Pn bei –80° 26 mg rohes R, Smp. 35–45°. Nach 3maligem Umkristallisieren wurden 5 mg reines R in farblosen Blättchen, Smp. 55–57°, erhalten.

Die 42 mg aus Fr. 28–36 wurden in Pn mit kalter konz. H_2SO_4 geschüttelt. Das verbliebene Material (34 mg) wurde bei 0,01 Torr und 50° Badtemperatur destilliert und das Destillat (30 mg) an 4,5 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be eluierten Anteile (4 mg) gaben aus Pn bei –80°, dann aus An-Me, 0,7 mg Subst. M in farblosen Blättchen, Smp. 105–117⁷⁶⁾.

⁷³⁾ H. HIRSCHMANN, M. A. DAUS & F. B. HIRSCHMANN, J. biol. Chemistry 192, 115 (1951).

⁷⁴⁾ WHATMAN, Ashless Powder for Chromatography, standard grade.

⁷⁵⁾ H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953).

⁷⁶⁾ Wir danken Herrn J. v. EUW für die Reinigung dieser Probe.

Tabelle 7. Erste Verteilungschromatographie von 1,129 g Gemisch aus Pregnendiol

Fraktions-Nr.	Volumen des Eluats in ml	Eindampfrückstand					Weitere Verarbeitung			
		roh mit Öl		nach Ver-seif.	nach Chromatogr. an Al ₂ O ₃					
		Menge in mg	Flecke im Pch	Menge in mg	Menge in mg	Flecke im Pch				
1-2 3-7 8-9	390 1000 400	357 544 244	UV. negativ UV. negativ P (usw.)	120	30		nicht weiter untersucht			
10-15	1200	457	Q					78	10	S (wie E)
16	200	80	R							
17-22	1200	453	R	117	46	R	Krist.			
23-24 25-27	154 402	54 116	R R, M	29 32	8 12	R, M R, M	nicht getrennt nicht getrennt			
28-36	1184	305	M	97	42	M	Reinigung			
37-47 48-51	1474 434	431 161	M, E (M), E	157 73	— 58	(M), E	nicht getrennt nicht getrennt			
52-65	1480	617	E	328	287	E	Reinigung			
66-85	2225	877	E, (C)	239	191	E, C	präp. Pch			
86-95 96-105	894 1080	353 342	E, C E, C, F	64 56	— 34		nicht getrennt nicht getrennt			
106-119	1512	552	C, F	88	48	C, F	präp. Pch			
120-129	1115	368	C, F	52	26	(C), F	nicht getrennt			
130-162	6535	1928	F	215	80	F	Al ₂ O ₃ -Chromatogr.			

Die Fr. 52-65 von Tab. 7 (287 mg) wurden zunächst ebenfalls in Pn gelöst und mit kalter konz. H_2SO_4 ausgeschüttelt. Das neutral verbliebene Material (214 mg) wurde an 21 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fr. 1-11 (eluiert mit Pn) gaben 45 mg farbloses Öl, nicht untersucht.

Die Fr. 12-19 (54 mg, eluiert mit Pn-Be-(99:1)) gaben aus Pn-Me 21,3 mg Subst. E1 in farblosen Blättchen, Smp. 90-97°. Umkristallisieren aus An-Me gab 14,5 mg reines Material, Smp. 94-96°.

Die Fr. 20-26 waren Gemische (nicht untersucht). Die Fr. 27-36 (52 mg, eluiert mit Pn-Be-Gemischen von 10-50% Be-Gehalt) gaben aus Pn-Me 27,7 mg E2 in farblosen Blättchen. Umkristallisieren aus An-Me lieferte 14,0 mg reine Subst. E2 vom Smp. 79-82°.

Weitere Eluate (mit Chf) lieferten noch 9 mg Öl (nicht untersucht).

Die Fr. 66-85 von Tab. 7 wurden auf 36 Papierblättern im System Me-W-(5:1)/Olivenöl getrennt. Entwicklung 45 Std. Erhalten wurden 4,773 g Eluat aus E-Zone (nicht gereinigt) und

4,379 g Eluat aus C-Zone. Letzteres gab nach Verseifung (163 mg) und grober Chromatographie an Al_2O_3 102 mg Material. Dieses lieferte nach Ausschütteln mit kalter konz. H_2SO_4 87 mg rohes C, das an 8,7 g hochaktivem Al_2O_3 chromatographiert wurde. Die mit Pe-Be von 1–5% Be-Gehalt eluierten Anteile (7 mg) gaben aus Pe-Me 3,1 mg Subst. C vom Smp. 74–83°. Nach Umkristallisieren aus An-Me 2,2 mg reines C, Smp. 81–84° (sintert ab 76°).

Die Fr. 106–119 von Tab. 7 (48 mg) wurden auf 9 Papierblättern (WHATMAN 3MM), mit Olivenöl imprägniert, wie oben getrennt. Die C-Eluate (1,516 g Öl) gaben nach Verseifung 47 mg Material, daraus nach Al_2O_3 -Chromatographie 12 mg gereinigtes C, das papierchromatographisch einheitlich war, aber nicht kristallisierte. Die F-Eluate (1,216 g Öl) gaben nach Verseifung 51 mg Material. Nach Al_2O_3 -Chromatographie und Ausschütteln mit H_2SO_4 13 mg Präparat F, das papierchromatographisch einheitlich war, aber nicht kristallisierte.

Die Trennung der Fr. 130–162 von Tab. 7 geschah zusammen mit analogem Material der zweiten Verteilungschromatographie.

Zweite Verteilungschromatographie. Die Fr. 23–35 von Tab. 6 (total 555 mg, abzüglich der reinen E2-Kristalle) wurden an 600 g Cellulose-Olivenöl-(9:1 Gewichtsteile) mit Me-W-(9:1) wie oben verteilt. Laufgeschwindigkeit 27 ml/Std. Die folgenden Eluatgruppen zeigten die gleichen Flecke. Fr. 13–14 = Q, R; 15–17 = (R), M; 18–21 = M; 22–32 = M, E; 33–38 = M, E, (C); 39–43 = E, (C); 44–51 = E, C; 52–65 = C, F; 66–75 = F; 76–80 nicht untersucht.

Hier wurden nur die Fr. 66–75 weiter gereinigt. Nach Verseifung, Al_2O_3 -Chromatographie und Reinigung mit konz. H_2SO_4 verblieben 7 mg Material; es zeigte im Pch nur den F-Fleck. Es wurde mit den 80 mg der Fr. 130–162 von Tab. 7 (zeigte auch nur den F-Fleck) vereinigt. Durch Chromatographie an hochaktivem Al_2O_3 (WOELM, neutral, Aktivität 1) wurde eine Auftrennung in zwei Substanzmaxima erreicht, die aber beide nicht kristallisierten: 14,4 mg rohe Subst. F1, eluiert mit Pn, und 25,7 mg rohe Subst. F2, eluiert mit Pn-Be-(99:1)-(98:2).

Beschreibung der isolierten Stoffe. – Die Stoffe H, A, K, D und F aus Strophanthidin wurden nur in Form der papierchromatographisch einheitlichen Destillate erhalten und nicht weiter gereinigt. Auch Subst. P aus Pregnenolon wurde nicht weiter gereinigt. Die Fraktionen, die nach Verteilungschromatographie den Q-Fleck gegeben hatten, zeigten nach Verseifung mit Alkali einen Fleck S mit gleicher Laufstrecke wie E und wurden nicht weiter untersucht.

Subst. R = 2-Methylphenanthren (XII) (Präp. MSB 6). Aus Pn bei –80° farblose Blättchen, Smp. 55–57°, ohne Depression mit authentischem Material²¹). Die UV.- und IR.-Spektren (Fig. 7 und 8) waren ebenfalls gleich wie bei synthetischem 2-Methylphenanthren. – Pikrat. 3 mg Kristall-ML mit 3 mg Pikrinsäure gaben aus Alk 3 mg feine gelbe Nadeln, Smp. 113–118°. – Trinitrobenzolat. Analog bereitet, feine gelbe Nadeln, Smp. 150–156°.

Subst. M = 3'-Methyl-1,2-cyclopentenophenanthren (II). – a) Aus Strophanthidin: 21 mg farblose Blättchen, Smp. 119–121°. Nach Mischprobe, Pch und Gas-Chromatographie identisch mit authentischem Material.

b) Aus Pregnendiol (Präp. MSB 10): Ausbeute nur ca. 0,7 mg Blättchen, Smp. 105–117°. Nicht ganz rein, aber nach Mischprobe identisch mit authentischem Material.

Subst. E1 (Präp. MSB 4), vielleicht 3'-Methyl-3'-äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XVIII). Ausbeute 23,5 mg farblose, zu Büscheln vereinigte, glänzende Blättchen (aus Pe-Me), Smp. 94–96°. Die spez. Drehung in Cyclohexan bei 25° und $c = 0,294$ betrug (Wellenlänge in Klammern, in $m\mu$): – 22° (700); – 28° (600); – 28° (590); – 36° (550); – 48° (500); – 66° (450); – 97° (400); – 121° (380); – 135° (370). Gemessen im Polarimeter mit photoelektrischer Ablesung, Genauigkeit ca. $\pm 0,001^\circ$ ⁵⁸). UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 7, 10 und 11; Massenspektrum Fig. 16, Protonen-Resonanzspektrum vgl. Fig. 20. Laufstrecke im Pch gleich wie E2 (XIII). Die Mischprobe mit dem Äthylderivat XIII (Smp. 84–86°) schmolz bei 62–81°, diejenige mit dem Propylderivat XIV (Smp. 88–90°) bei 72–88° und diejenige mit dem Isopropylderivat XV (Smp. 97–99°) bei 62–81°. Zur Analyse wurde die Substanz bei 0,01 Torr und 70–90° sublimiert.

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}$ (260,36) Ber. C 92,26 H 7,74% Gef. C 92,04 H 7,89%

Pikrat von E1: 4 mg krist. E1 (2. Qualität, Smp. 73–93°) und 4 mg Pikrinsäure gaben aus Alk 5 mg feine, gelbe, zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 131–132°.

Trinitrobenzolat von E1: 4 mg krist. E1 (2. Qualität, Smp. 73–93°) und 4 mg 1,3,5-Trinitrobenzol gaben aus Alk 6,0 mg gelbe Nadeln; nach Umkristallisieren 4,1 mg, Smp. 158–163°.

Subst. E2 = 3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XIII). – a) *aus Strophanthidin:* nur ca. 0,5 mg Kristalle vom Smp. 45–62° erhalten, enthielt vermutlich noch E1. Die Mischprobe mit reinem XIII vom Smp. 84–86° schmolz bei 45–84°.

b) *aus Pregnenolon:* in reiner Form isoliert 8 mg farblose Blättchen, Smp. 79–82° (Präp. MSB 7). Die Mischprobe mit synthetischem Material vom Smp. 84–86° schmolz bei 79–83°. Das IR.-Spektrum von MSB 7 in CCl_4 war identisch mit demjenigen des synthetischen Präparats (Fig. 14).

Trinitrobenzol von E2: 3 mg Kristalle 2. Qualität (vom Smp. 70–75°) und 3 mg 1,3,5-Trinitrobenzol gaben aus Alk 3,8 mg dünne gelbe Blättchen, Smp. 116–123°. Authentisches Material schmolz bei 120–123°, die Mischprobe bei 116–123°.

Subst. C, event. 2'-Äthyl-3'-methyl-1,2-cyclopenteno-phenanthren (?) – a) *Aus Strophanthidin:* Ca. 1 mg farblose Blättchen, Smp. 72–80°. Nach Mischprobe identisch mit C aus Pregnendiol; mit XIII, XIV und XV wurden starke Smp.-Depressionen erhalten. Eine 0,04-proz. Lösung in Cyclohexan zeigte im Bereich von 360–600 $m\mu$ keine erkennbare Drehung (Ablesegenauigkeit 0,001°)⁵³, $[\alpha]_D^{25}$ ist sicher kleiner als 3°.

b) *Aus Pregnendiol:* Ausbeute 2,2 mg farblose Blättchen, Smp. 81–84° (Präp. MSB 9). Die Mischprobe mit dem Äthylderivat XIII (Smp. 84–86°) schmolz bei 67–75°, diejenige mit dem Propylderivat XIV (Smp. 88–90°) bei 64–79° und diejenige mit dem Isopropylderivat XV (Smp. 97–99°) bei 65–75°. UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 7 und 12; Massenspektrum vgl. Fig. 17.

Trinitrobenzol von C: 0,4 mg C aus ML und 0,4 mg 1,3,5-Trinitrobenzol gaben aus Alk 0,6 mg feine gelbe, zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 107–110°.

Subst. O (Chrysenderivate). Die 105 mg rohes Präp. O vom Smp. 207–246° bzw. 196–223° wurden vereinigt. Umkristallisieren aus Be-Pe und An-Me gab 50 mg Kristalle vom Smp. ca. 225–250°. UV.-Spektrum vgl. Fig. 7. Diese wurden auf 45 Papierblättern (WHATMAN Nr. 3 MM) im System von Fig. 5 präparativ getrennt. Aufarbeitung wie bei Subst. C gab 48 mg rohes O1 und 28 mg rohes O2.

Subst. O1. Aus Be-Pe und An-Me 8,4 mg farblose Blättchen, Smp. 226–227° (im evakuierten Röhrchen). UV.-Spektrum vgl. Tab. 2. – *Trinitrobenzol:* 3,1 mg O1 vom Smp. 222–224° und 3,1 mg 1,3,5-Trinitrobenzol gaben aus Be-Pn 4,1 mg gelbe Nadeln, Smp. 176–178° (zugeschmolzenes Röhrchen).

Subst. O2. Aus Be-Pe und An-Me 7,5 mg farblose Blättchen, Smp. 253–255° (im evakuierten Röhrchen). UV.-Spektrum vgl. Tab. 2. – *Trinitrobenzol:* 3,8 mg O2 vom Smp. 246–248° und 3,8 mg 1,3,5-Trinitrobenzol gaben aus Be-Pn 3,4 mg goldgelbe Nadeln, Smp. 188–190° (zugeschmolzenes Röhrchen).

ZUSAMMENFASSUNG

Strophanthidin gab nach Abbau mit Ozon, reduktiver Spaltung (mit H_2 + Pt in AcOH) und Dehydrierung des so erhaltenen Produktes ein Kohlenwasserstoffgemisch, in dem sich papierchromatographisch 8 Stoffe (H, A, K, M, E, C, D und F) nachweisen liessen. Von diesen wurden drei (M, E und C) in Kristallen isoliert. Die E-Kristalle dürften ein Gemisch von zwei Komponenten (E1 und E2) gewesen sein.

Pregnendiol gab bei der Dehydrierung mit Selen u. a. ein Kohlenwasserstoffgemisch, das im Papierchromatogramm 7 Flecke (P, Q, R, M, E, C und F) zeigte. Sie wurden durch Verteilungschromatographie getrennt. E erwies sich wiederum als Gemisch von E1 und E2, deren Trennung durch Adsorptionschromatographie an Al_2O_3 gelang. In reinen Kristallen wurden R, M, E1, E2 und C isoliert. Von diesen konnten R (2-Methylphenanthren), M (3'-Methyl-1,2-cyclopentenophenanthren) und E2 (3'-Äthyl-1,2-cyclopentenophenanthren) mit bekannten Kohlenwasserstoffen identifiziert werden. E1 und C sind vermutlich neue Kohlenwasserstoffe. E1 war optisch aktiv; das Massenspektrum und die weiteren Eigenschaften sprechen dafür, dass die (–)-Form des 3'-Äthyl-3'-methyl-1,2-cyclopentenophenanthrens vorliegt. Subst. C besitzt nach dem Massenspektrum ebenfalls die Formel $\text{C}_{20}\text{H}_{20}$ und ist mit

E1 sowie dem 3'-Propyl- (XIV) und 3'-Isopropyl-1,2-cyclopentenophenanthren (XV) isomer, aber nach Mischprobe sicher verschieden von diesen. Sie ist optisch inaktiv; möglicherweise liegt ein 2'-Äthyl-3'-methyl-1,2-cyclopentenophenanthren vor. Aus der Chrysenfraktion konnten nach präparativer Papierchromatographie zwei einheitliche Chrysenderivate, O1 und O2, isoliert werden, bei denen es sich vermutlich um Mono- oder Dialkylchrysene handelt.

Organisch-chemisches Institut der Universität Basel

16. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

32. Mitteilung¹⁾

Über die Konstitution von Nonactin

von J. Dominguez, J. D. Dunitz, H. Gerlach und V. Prelog

(1. XII. 61)

Die Fortsetzung der Untersuchungen über das neutrale, lipophile Stoffwechselprodukt Nonactin²⁾ führte zur vollständigen Aufklärung seiner Konstitution, über die wir in der vorliegenden Mitteilung berichten wollen.

Auf Grund einer röntgenographischen Untersuchung (s. Anhang) musste die früher für das Nonactin vorgeschlagene Formel $C_{30}H_{48}O_9$ in $C_{40}H_{64}O_{12}$ geändert werden. Die neue Molekularformel konnte durch thermoelektrische Molekulargewichtsbestimmung³⁾ in zwei Lösungsmitteln bestätigt werden: $C_{40}H_{64}O_{12}$ Ber. 737, Gef. in Methylchlorid 719, in Äthylacetat 727. Sie wird auch durch die Ergebnisse der Untersuchung von Homologen des Nonactins gestützt, über die wir in einer späteren Mitteilung berichten werden.

Aus den früher veröffentlichten analytischen Daten und der neuen Molekularformel folgt, dass im Nonactin 8 C-Methyle vorhanden sind. Von den 12 Sauerstoffatomen liegen keine als acylierbare Hydroxyle oder als mit Ketonreagenzien nachweisbare Carbonyle vor. Das IR.-Absorptionsspektrum bestätigt die Abwesenheit der Hydroxyle, eine starke Bande bei 1726 cm^{-1} weist dagegen auf das Vorliegen von nichtreaktiven Carbonylen hin.

Die Konstitutionsaufklärung des Nonactins erwies sich als relativ einfach, als man fand, dass es durch alkalische Verseifung 4 Mol. einer Hydroxycarbonsäure $C_{10}H_{18}O_4$ liefert. Es muss sich demnach um ein Tetralacton handeln. Die chromatographische Untersuchung des Methylesters, $C_{11}H_{20}O_4$, welcher aus der scheinbar einheitlichen Hydroxycarbonsäure mit ätherischer Diazomethan-Lösung bereitet worden war,

¹⁾ 31. Mitt.: *Helv.* 45, 4 (1962).

²⁾ R. CORBAZ, L. ETTLINGER, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, F. KRADOLFER, L. NEIPP, V. PRELOG & H. ZÄHNER, *Helv.* 38, 1445 (1955).

³⁾ Vgl. W. SIMON & C. TOMLINSON, *Chimia* 14, 301 (1960); D. WEGMANN, C. TOMLINSON & W. SIMON, International Symposium on Microchemical Techniques, August 13–18, 1961, The Pennsylvania State University. Wir verdanken die Molekulargewichtsbestimmungen Herrn Dr. W. SIMON.