

Dehydrierung des Cholesterins im aktiviert adsorbierten Zustand unter Normalbedingungen, ein Beitrag zur Frage der Endogenese carcinogener, polycyclischer Kohlenwasserstoffe

MANFRED WILK und WERNER TAUPP

Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt am Main

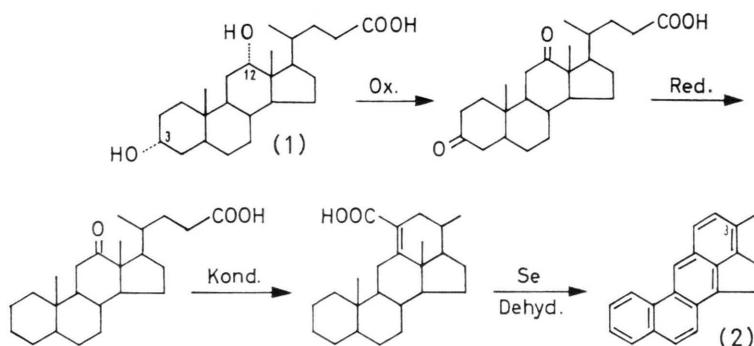
(Z. Naturforschg. **24 b**, 16–23 [1969]; eingegangen am 25. Juli 1968)

Die Ergebnisse einer Selendehydrierung des Cholesterins bei 350 °C werden mit Produkten verglichen, die sich aus dem Steroid im aktiviert adsorbierten Zustand auf Kieselgel durch Oxydation mit Joddampf bei Raumtemperatur bilden. Alkylsubstituierte Cyclopentenphenanthrene konnten hierbei mit Sicherheit gefaßt werden. Da die äußeren Versuchsbedingungen, im Gegensatz zu allen bisherigen Dehydrierungsversuchen an Steroiden, am ehesten mit physiologischen verglichen werden können (20 °C, ein dem freien Sauerstoff entsprechendes Oxydationspotential von ca. +0,4 V und eine aktivierende Grenzfläche), werfen die Ergebnisse ein neues Licht auf die alte Hypothese der endogenen Bildung carcinogener Kohlenwasserstoffe im Organismus.

Der erleichterte Reaktionsverlauf im Adsorpt wird durch Erhöhung der Adsorptionswärme im Zuge der Aromatisierung erklärt.

Der zur Strukturaufklärung verschiedener Gallensäuren [z. B. Desoxycholsäure (**1**)] eingeschlagene

Weg ihrer Überführung in 3-Methylcholanthren (**2**) nach WIELAND und DANE¹ führte COOK und DODDS²



sowie BERGMANN³ zu der Hypothese, wonach sich das Auftreten von Spontantumoren erklären ließe, wenn man eine endogene Umwandlung von Steroiden [z. B. (**1**), Cholesterin (**3**), Dehydrocorticosteron oder Östron⁴] in carcinogene Kohlenwasserstoffe durch fehlgeleiteten Stoffwechsel des Organismus ins Auge fasse. Diese Vorstellungen wurden erhärtet durch Untersuchungen von LACASSAGNE⁵, dem es ge-

lang, Brusttumoren mit Hilfe von Östrogen zu erzeugen, von HIEGER^{6a-d}, der durch **3** an Mäusen mit wechselndem Erfolg Carcinome hervorrufen konnte, von INHOFFEN⁷, der die Beziehungen natürlicher Steroide zu polycyclischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen mit ihrer Leichtigkeit zur Aromatisierung unterstrich, und von ALEXANDER⁸, der nach subkutanen Injektionen von **3** eine Wirkung fand, die der

¹ H. WIELAND u. E. DANE, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **219**, 240, 242 [1933].

² J. W. COOK u. E. C. DODDS, Nature [London] **131**, 205 [1933].

³ W. BERGMANN, Z. Krebsforsch. **48**, 546 [1939].

⁴ L. F. FIESER, „Production of Cancer by Polynuclear Hydrocarbons“, University of Pennsylvania, Bicentennial Conference, Philadelphia 1941.

⁵ A. LACASSAGNE, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **195**, 630 [1932].

⁶ I. HIEGER, a) Nature [London] **160**, 270 [1947]; Brit. J. Cancer **3**, 123 [1949]; b) Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **147**, 84 [1957]; c) Brit. J. Cancer **13**, 439 [1959]; d) Carcinogenesis, Academic Press, New York 1961, S. 76.

⁷ H. H. INHOFFEN, Progr. org. Chem. **2**, 131 [1953].

⁸ P. ALEXANDER, in: Carcinogenesis. Mechanisms of Action, Ciba Foundation Sympos., Little, Brown and Co., Boston 1959.

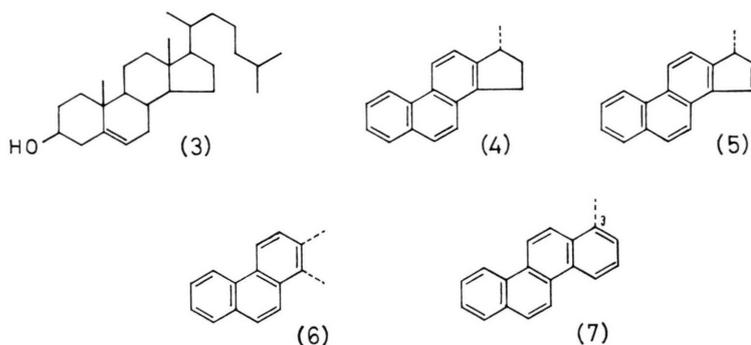
von Polymeren oder implantierten Fremdkörpern gleichkommt. Eine kritische Betrachtung über die carcinogene Wirksamkeit von **3** findet sich bei ARFFMANN⁹.

Obwohl zahlreiche Anstrengungen gemacht wurden, um onkogene Kohlenwasserstoffe aus Tumorgewebe zu isolieren¹⁰⁻¹⁵, und zumindest die Wahrscheinlichkeit besteht, daß die Zelle in der Lage sein könnte, solche Umwandlungen von Steroiden in hochkondensierte Aromaten zu vollziehen, fehlt bisher jeder Beweis für die Hypothese endogener Car-

cinogene. Auch lehrt die Erfahrung, daß die biochemischen Schritte im Organismus eher zum Abbau der Seitenketten, zu Hydroxylierungen der Ringe und Verknüpfungen mit Glutathion etc. neigen, was eine biologische Bildung carcinogener Kohlenwasserstoffe sogar ausschließen könnte.

Formale Dehydrierungsprodukte des Cholesterins

Rein schematisch lassen sich aus der Strukturformel des Cholesterins (**3**) folgende polycyclische, aromatische Systeme ableiten:



Durch Abbau der Seitenkette am C-Atom 17, Abspaltung der Hydroxylfunktion als Wasser sowie Eliminierung von Wasserstoff und der angularen Methylgruppen als Methan, können im Verlauf der Dehydrierung erwartet werden: 1,2-Cyclopentenophenanthren (**4**) bzw. 1,2-Cyclopentadienophenanthren (**5**), bei Aufspaltung des Fünfrings 1,2-disubstituiertes Phenanthren (**6**) und bei nachfolgender Verknüpfung der Seitenkette 3-substituierte Chrysen-Derivate (**7**). Beim Angriff der intakten Seitenkette am C-Atom 12 oder 16 des Sterangerüsts käme es zur Bildung der Benzanthracentypen (**8**) oder von Naphthofluoren-Derivaten (**9**):



Aus **8** könnte durch weiteren Ringschluß (Angriff der Isobutylgruppe an das 1,2-Benzanthracen-System) ein Derivat des aus sechs kondensierten Ringen bestehenden, aromatischen Grundkörpers Steranthren entstehen, nämlich das 3,6-Dimethylsteranthren (**10**)³. Eine analoge Variante könnte noch zum F-nor-Steranthren (**11**) führen.



DANNENBERG^{16a} hat das angulare Steranthren **12** synthetisiert und seine beachtliche carcinogene Wirksamkeit festgestellt (vergleichbar mit **2**).

⁹ E. ARFFMANN, J. nat. Cancer Inst. **25**, 893 [1960].

¹⁰ L. M. SCHABAD, C. R. Soc. Biol. **124**, 213 [1937]; Acta Univ. Intern. Cancrum **3**, 189 [1938].

¹¹ M. J. A. DES LIGNERIS, Amer. J. Cancer **39**, 489 [1940].

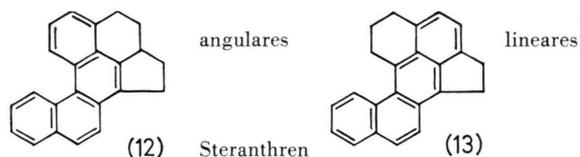
¹² C. SANNIÉ, R. TRUHAUT u. P. GUÉRIN, Bull. Assoc. franç. Cancer **29**, 106 [1941].

¹³ I. HIEGER, Amer. J. Cancer **39**, 496 [1940]; Cancer Res. **6**, 657 [1946]; Brit. Med. Bull. **4**, 360 [1947].

¹⁴ P. E. STEINER, Cancer Res. **3**, 385 [1943].

¹⁵ R. TRUHAUT, „Les facteurs chimiques de cacérisation. Le problème des substances cancérogènes endogènes“. Soc. Edition Enseignement Supérieur, Paris 1947, S. 95; Thérapie **5**, 199 [1950].

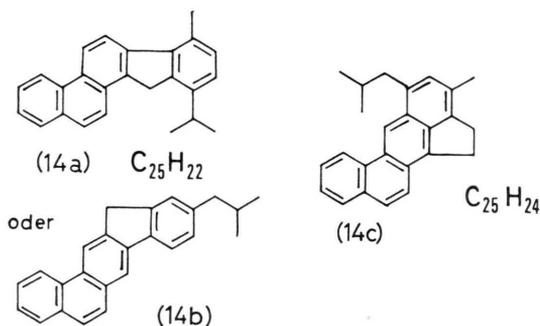
¹⁶ a) H. DANNENBERG u. D. DANNENBERG-VON DRESLER, Liebigs Ann. Chem. **593**, 232 [1955]; b) H. DANNENBERG, H. G. NEUMANN u. D. DANNENBERG-VON DRESLER, Liebigs Ann. Chem. **674**, 152 [1964]; **675**, 109 [1964]; H. DANNENBERG, Z. Krebsforsch. **63**, 527 u. 529 [1959].



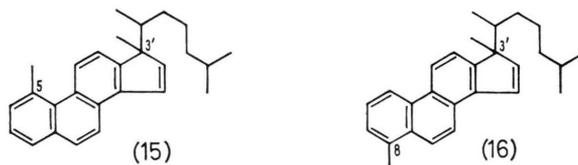
11 wurde von BUCHTA und KIESLING¹⁷ hergestellt; die Substanz erwies sich ebenfalls als carcinogen¹⁸.

Dehydrierungen des Cholesterins unter drastischen Bedingungen

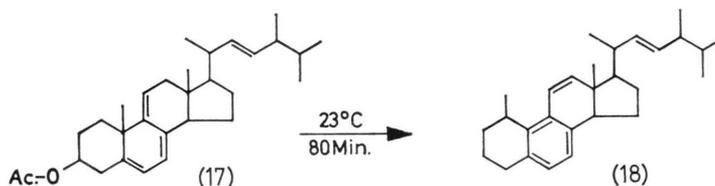
Alle bisherigen Versuche, **3** in homogener Lösung zu polycyclischen Aromaten zu dehydrieren (DIELS¹⁹,



NES und FORD²⁰, DANNENBERG^{16b}), benötigten zur Aromatisierung des Sterangerüsts kräftige Dehydrierungsmittel (Selen¹⁹, Palladium-Kohle²⁰, Chloranil^{16a}) und beträchtliche Temperaturen (350° – 140° C). Während die Selen-Dehydrierung bei 350° C zu den sog. Dielschen Kohlenwasserstoffen¹ führte, wurden mit Chloranil in siedendem Xylol¹⁶ als höchste Aromatisierungsstufen Derivate des 1.2-Cyclopentadieno-phenanthrens gefunden:



Bei Raumtemperatur konnten NES und MOSETTIG²¹ lediglich die Umwandlung des voraromatisierten Dehydroergosterylacetats (**17**) in Anthraergostapentaen (**18**) vollziehen, und GOUGH und SHOPPEE²² gelang eine Überführung des 17- α -Hydroxy-20-keto-steroids in Derivate des 17- α -Methyl-D-homoandrostans an feuchtem, neutralem Aluminiumoxid.



Eigene Versuche

Dehydrierung des Cholesterins unter Normalbedingungen

Ausgehend von der Grundvorstellung, daß nicht unbedingt *homogene enzymatische Reaktionen* die geschilderte Umwandlung im Zellbereich bewerkstelligen (vgl. die oben genannten Bedenken), sondern auch *heterogene Dehydrierungen* der Steroide im aktiviert adsorbierten Zustand an zellulären Grenzflächen erfolgen können, wäre zu erwarten, daß die hierbei im Zuge der Aromatisierung gewonnene Ad-

sorptionswärme den Ablauf der einebnenden Dehydrierung begünstigt.

Als Modellreaktion haben wir daher an aktivierten Kieselschichten (DC-Platten) adsorbiertes Cholesterin einem dampfförmigen, univalenten Oxydationsmittel niedrigen Oxydationspotentials (Jod mit +0,4 V ist etwa dem freien Sauerstoff vergleichbar) ausgesetzt und die Reaktionsmischung nach Abblasen des überschüssigen Jods auf der selben Dünnschichtplatte getrennt.

Aus unserer bisherigen Erfahrung über diese „Jodreaktion“, wie wir sie kurz bezeichnen wollen,

¹⁷ E. BUCHTA u. D. KIESLING, *Naturwissenschaften* **49**, 280 [1962].

¹⁸ A. LACASSAGNE, E. BUCHTA, D. KIESLING, F. ZAJDELA u. N. P. BUU-HOI, *Nature* [London] **200**, 183 [1963].

¹⁹ O. DIELS, W. GÄDKE u. P. KÖRDING, *Liebigs Ann. Chem.* **459**, 9 [1927].

²⁰ W. R. NES u. D. L. FORD, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 4811 [1961]; *Tetrahedron Letters* [London] **No. 1**, 209 [1962].

²¹ W. R. NES u. E. MOSETTIG, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 3182 [1954].

²² N. GOUGH u. C. W. SHOPPEE, *Biochem. J.* **54**, 630 [1953].

wissen wir, daß bei anderen Körperklassen (aromatische Kohlenwasserstoffe²³, Farbstoffe, aromatische Amine und Heterocyclus²⁴ sowie Alkaloide²⁵) im Gegensatz zu den Angaben von SZENT-GYÖRGYI²⁶ nicht nur reversible Jodkomplexe gebildet werden, sondern daß im adsorbierten Zustand zahlreiche irreversible Reaktionen ablaufen, deren Ergebnisse sich am besten erklären lassen, wenn man die primäre Bildung eines Radikalkations voraussetzt. Der komplexe Charakter dieser Oxydation ist in Abb. 1 dargestellt.

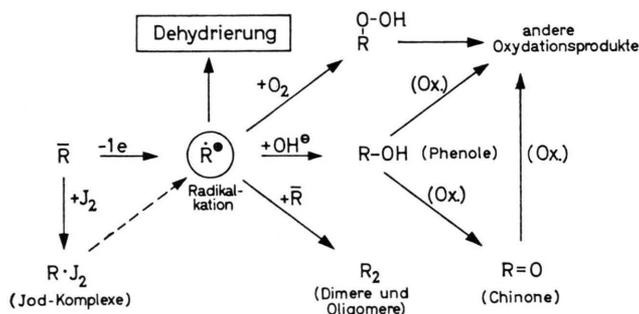


Abb. 1. Schema zum komplexen Verlauf der univalenten Oxydation eines Elektronendonators \bar{R} durch Joddampf im aktiviert adsorbierten Zustand.

Der Reaktand \bar{R} gibt als Donator ein Elektron an den Akzeptor Jod ab (etwa über einen EDA-Komplex). Das so gebildete Radikalkation wird dann leicht von einem nukleophilen Teilchen (OH^\ominus , \bar{R}) oder von Luftsauerstoff angegriffen. Unter dem weiteren Oxydationsdruck des Jods entstehen dann höhere Oxydationsprodukte. Das Radikalkation kann jedoch auch unter Wasserstoffverlust (Disproportionierung?) zu einem Dehydrierungsprodukt oxidiert werden.

Das Resultat dieser vielseitigen Grenzflächenoxydation des Cholesterins nach chromatographischer Auftrennung zeigt die Abb. 2.

Die unter B zusammengefaßten Fraktionen stellen höhere Oxydationsprodukte (Phenole, Chinone etc.) dar, die nicht näher untersucht wurden. Aus der lipophilsten Bande A lassen sich nach weiterer Trennung (Laufmittel: Benzol und n-Hexan) einige blau

fluoreszierende Komponenten in mikropräparativem Maßstab isolieren (19–23):

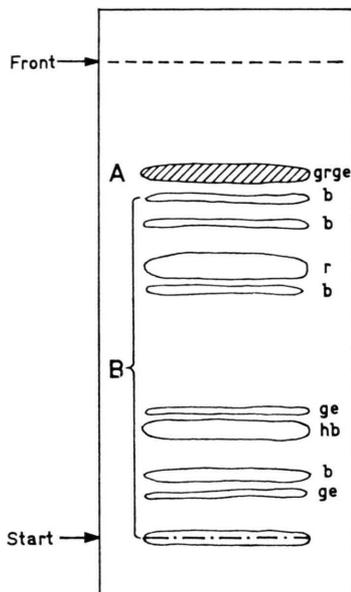


Abb. 2. Dünnschichtchromatogramm der „Jodreaktion“ des Cholesterins (Kieselgel G [Merck]; Laufmittel: Benzol/Methanol/Aceton/Eisessig = 70:20:5:5. Fluoreszenzfarben: grge = grüngelb, b = blau, r = rot, ge = gelb, hb = hellblau).

19 erwies sich nach Analyse und Mol.-Gew.-Bestimmung als ein Kohlenwasserstoff $\text{C}_{43}\text{H}_{68}$, der sich demnach von einem Dimerisierungsprodukt des Cholesterins ableitet. Das Fehlen der C–O-Schwingungsbande (3280 cm^{-1}) im IR-Spektrum bestätigt ebenfalls den Abbau der Hydroxylfunktion. Ferner wird das Auftreten der Absorptionen für isolierte H-Atome (870 cm^{-1}), dreifach substituierte, olefinische Doppelbindung ($878, 872$ und 797 cm^{-1}) und für die *trans*-Doppelbindung (960 und 1250 cm^{-1}) sowie das Fehlen einer *cis*-Doppelbindung und des Δ^5 -Steroids beobachtet. Weitere Banden weisen auf die Strukturelemente des aliphatischen Methyls und Methylens, Isopropyls, Cyclopentans und Cyclohexans hin. Einen Aufschluß über das Konjugationssystem liefert das UV-Spektrum (Abb. 3), das dem des *All-trans*-Oktatetraens entspricht²⁷. Die analyti-

²³ M. WILK, W. BEZ u. J. ROCHLITZ, Tetrahedron [London] **22**, 2599 [1966].

²⁴ M. WILK, U. HOPPE, W. TAUPP u. J. ROCHLITZ, J. Chromatogr. **27**, 311 [1967].

²⁵ M. WILK u. U. BRILL, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **301**, 282 [1968].

²⁶ A. SZENT-GYÖRGYI, I. ISENBERG u. S. L. BAIRD, Proc. nat. Acad. Sci. USA **46**, 1444 [1960]; vgl. auch S. EPSTEIN, I. BULAR, J. KAPLAN, M. SMALL u. N. MANTEL, Nature [London] **204**, 750 [1964].

²⁷ G. FORREST WOODS u. L. H. SCHWARZTMAN, J. Amer. chem. Soc. **71**, 1396 [1949].

schen Daten lassen sich somit zu folgendem Strukturvorschlag zusammenfassen:

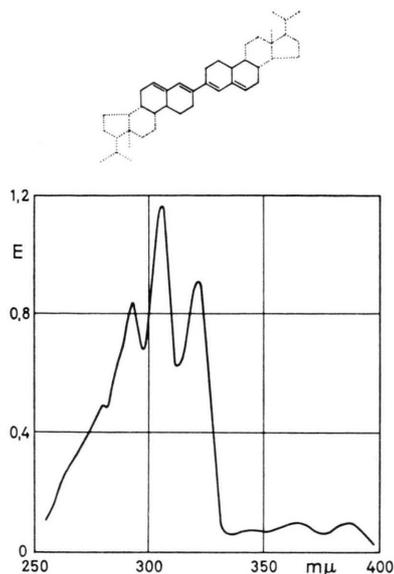
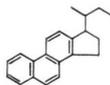


Abb. 3. Absorptionsspektrum von **19** in Hexan (*All-trans*-Oktatetraen-Typ).

20 ($C_{69}H_{110}$) leitet sich von einem trimeren Cholesterin ab und zeigt wie auch **21** lediglich die UV-Absorption eines einzigen aromatisierten Ringes (Neoergostatrin-Typ). Beide Derivate wurden (wie auch **19**) als nur teilweise dehydrierte Zwischenstufen nicht näher untersucht.

22 erwies sich als ein Isopentyl-cyclopenteno-phenanthren ($C_{22}H_{24}$). Die gleiche Verbindung konnte von uns auch aus einem Selen-Dehydrierungsansatz ($350^\circ C$) erstmalig isoliert werden. Die



Identität beider Produkte wurde durch gleiches chromatographisches Verhalten in verschiedenen Laufmitteln und durch Vergleich ihrer UV-Absorptionsspektren (Abb. 4) nachgewiesen. Das IR-Spektrum zeigt „out-of-plane-Schwingungen“ von 1.2- und 1.2.3.4-substituierten aromatischen Ringen.

Das NMR-Spektrum ist gleichzeitig strukturbeweisend (Abb. 5), besonders in bezug auf die Lage der aromatisierten Ringe.

Im Bereich der acht aromatischen Protonen sind die beiden nichtperipheren H-Atome (C-4 und C-5) deutlich abgesetzt. Die Resonanzabsorption der ali-

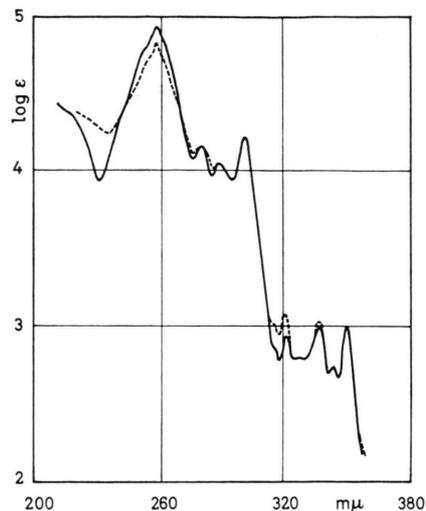


Abb. 4. Vergleich der Absorptionsspektren von **22** aus der Selen-Dehydrierung (ausgezogene Kurve) und aus der „Jodreaktion“ des Cholesterins (gestrichelte Kurve). (Die geringen Abweichungen beruhen auf den üblichen Verunreinigungen, wie sie bei mikropräparativen DC-Techniken auftreten.)

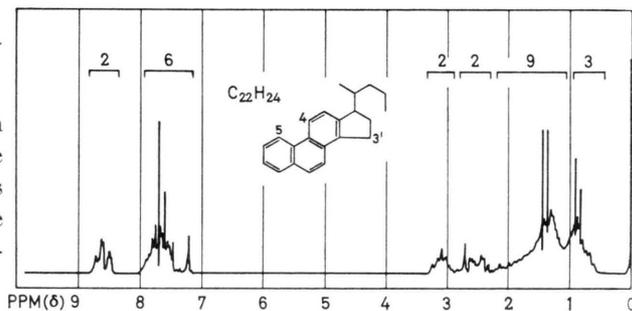


Abb. 5. NMR-Spektrum von **22** (Isopentylcyclopenteno-phenanthren).

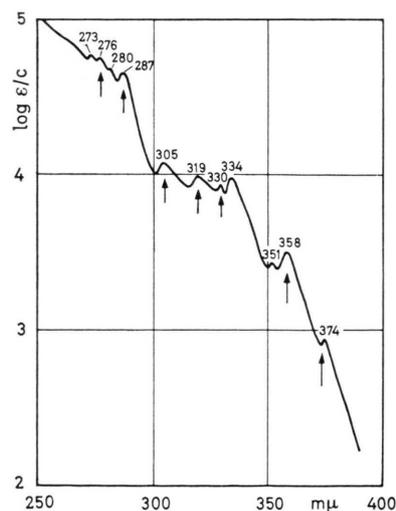
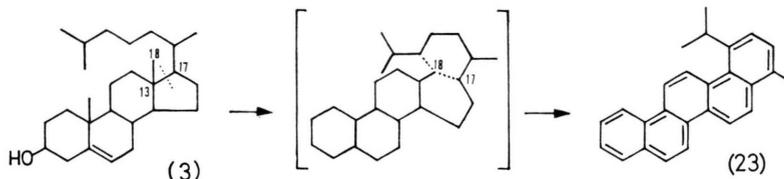


Abb. 6. Absorptionsspektrum der Verbindung **23**. (Die Pfeile kennzeichnen die Maxima des Picens.)

phatischen Protonen ist erwartungsgemäß komplex. Deutlich zu erkennen sind zwei Methyltripletts (0,9 und 1,4 ppm) sowie die Absorption der beiden Protonen an den benachbarten, tertiären C-Atomen der Seitenkette und des Fünfrings (3–3,3 ppm). Die im Bereich 2,4–2,7 ppm liegenden Banden müssen

Seine Bildung aus **3** ließe sich wie folgt erklären:



Durch Aufbruch der Bindung zwischen den C-Atomen 13 und 17 und erneute Cyclisierung unter Einbeziehung des C-Atoms 18 der angularen Methylgruppe wäre ein substituiertes Picen formal ableitbar. Der Grundkörper Picen ist wie das Chrysen nicht carcinogen^{28, 29}, dürfte aber durch geeignete Methylsubstitution krebserzeugend werden³⁰.

Vergleich mit der Selen-Dehydrierung

Aus dem zum Vergleich gewählten Selen-Dehydrierungsansatz konnten wir neben den Dielschen Kohlenwasserstoffen (**14a–c**) auch die Verbindung **22** in guter Ausbeute isolieren. Außerdem fanden wir noch einen bei 173 °C schmelzenden, schwach gelb gefärbten Kohlenwasserstoff C₂₁H₁₈ (**24**), der wohl mit dem von HEILBRONN und Mitarbeitern³¹ beschriebenen Chrysen-Derivat identisch ist. Aufschlüsse über Art und Stellung der Substitution liefert das IR-Spektrum. Die im Wellenzahlenbereich 1350–1400 cm⁻¹ liegende, aufgesplante



Bande deutet auf eine Isopropylgruppierung hin. Die Strukturformel von **24** läßt „out-of-plane-Schwingungen“ 1.2-, 1.2.3- und 1.2.3.4-substituierter aromatischer Ringe erwarten, was mit den Banden bei 745, 762, 722 und 817 cm⁻¹ auch bestätigt wurde. Eine osmometrische Mol.-Gew.-Bestimmung ergab 267 (ber.: 270), und das UV-Spektrum zeigt eindeutig den Verlauf eines Chrysens.

²⁸ J. W. COOK, I. HIEGER, E. L. KENWAY u. W. V. MAYNEORD, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B. **111**, 455 [1932].

²⁹ J. W. COOK, E. C. DODDS, C. L. HEWETT u. W. LAWSON, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B. **114**, 272 [1934].

den dem Aromatensystem benachbarten Protonen am C-Atom 3' zugeordnet werden.

23: Wegen der geringen Anfallmenge konnte von dieser Komponente nur ein UV-Absorptionsspektrum vermessen werden. Es weist auf ein substituiertes Picen-Derivat hin (Abb. 6).

Diskussion

Die Möglichkeit Cholesterin-Adsorpte unter milden, physiologisch ähnlichen Bedingungen zu Verbindungen wie **22** und **23** zu dehydrieren, ist in der niedrigen Aktivierungsenthalpie $\Delta n_n'$ (Abb. 7) gegenüber der Lösungsreaktion ΔA_n zu suchen. Die Adsorptionsenergie des Steroids ΔW_0 ist geringer als die des teilaromatisierten Moleküls der 1. Stufe ΔW_1 , und diese ist wiederum kleiner als die der 2. Stufe ΔW_2 , bis sie schließlich in der vollaromatischen Verbindung ein Maximum erreicht. Mit der

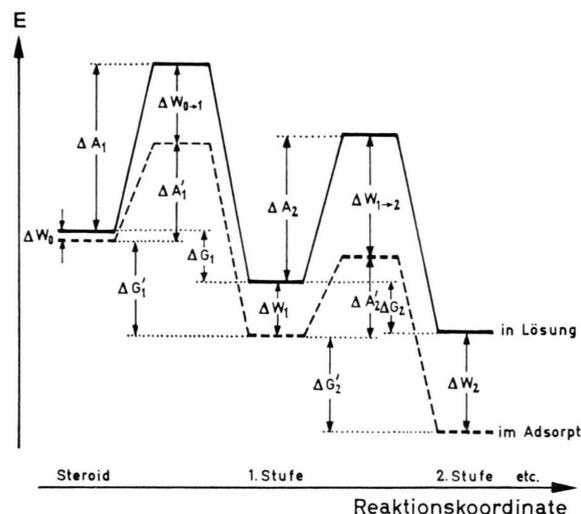


Abb. 7. Schema eines Potentialverlaufs der Dehydrierung eines Steroids in Lösung (ausgezogene Kurve) und im adsorbierten Zustand (gestrichelte Kurve). (A = Aktivierungsenthalpie, W = Adsorptionswärme und G = freie Energie.)

³⁰ CH. E. DUNLAP u. S. WARREN, Cancer Res. **3**, 606 [1943].

³¹ J. M. HEILBRONN, E. R. H. JONES, K. C. ROBERTS u. P. A. WILKINSON, J. chem. Soc. [London] **1941**, 344.

Einebnung der anfangs gewellten Molekel nimmt die Adsorptionsenergie etwa linear mit der Zahl der π -Elektronen ständig zu. Diese Vorstellung ist für eine Erklärung des leichten Reaktionseinsatzes und Verlaufs von wesentlicher Bedeutung. Ein großer Wert von ΔW_0 (= Adsorptionswärme des Cholesterins) würde gleichzeitig eine hohe Aktivierungsenergie $\Delta A_1'$ zur Folge haben. Dadurch wäre die Reaktion gehemmt, d. h. die Potentialschwelle $\Delta A_1'$ könnte unter den angewandten Bedingungen kaum bezwungen werden. Nach Überwindung des um $\Delta W_{0 \rightarrow 1}$ (Adsorptionswärme im Übergangszustand) erniedrigten Potentialberges fällt jedoch das Molekül in die Mulde des energiearmen Zustandes der teildehydrierten bzw. vollaromatisierten Verbindung. Der hohe Wert der freien Energie $\Delta G_1'$ gegenüber dem kleineren ΔG_1 der Lösungsreaktion wird gerade durch die Ausbildung des mesomeriestabilisierten, aromatischen Zustandes, vermehrt durch ΔW_1 , bedingt.

Produkte der 1. Aromatisierungsstufe (**20** und **21**) konnten gefaßt werden; Verbindungen vom Naphthalin-Typ (2. Stufe), wie etwa Equileninderivate zeigten sich dagegen nicht. Man kann zwar nicht einleuchtend erklären, daß sie keine echten Zwischenprodukte der Vollaromatisierung sind, die Vermutung, daß sie im Adsorpt nur kurze Zeit beständig sind, kann ihr Fehlen im Reaktionsgemisch erklären. Das in den Ringen A und B aromatisierte Sterangerüst wird stärker adsorbiert als der „gewellte“ Neergostatrien-Typ. Das bedeutet eine Vergrößerung der Adsorptionsenergie, die mit einer Erniedrigung der Aktivierungsenthalpie einhergeht. Die Effekte sind für die 2. Stufe größer als für die 1., so daß der Naphthalin-Typ schneller aus dem Reaktionsgleichgewicht verschwindet unter Bildung vollaromatisierter Systeme wie **22** und **23**.

Auf die biologische Situation zurückgeblendet, wäre zusammenfassend zu sagen, daß auch in der lebenden Zelle eine Dehydrierung an aktiven Grenzflächen bei Normaltemperatur und durch geringes Oxydationspotential diesen Ergebnissen nach ablaufen könnte. Der anfangs erwähnte Einwand, daß biochemische Oxydations-Reaktionen zum Abbau der Seitenkette oder zu Hydroxylierungen der Ringe etc. neigen, ließe sich damit ausräumen und ein neuer Aspekt auf die alte Hypothese der endogenen Carcinogenese eröffnen.

³² J. W. COOK, C. L. HEWETT, W. V. MAYNEORD u. E. ROE, J. chem. Soc. [London] II, 1934, 1727.

Beschreibung der Versuche

1. Dehydrierung des Cholesterins mit Selen

20 g trockenes Cholesterin wurden mit 40 g Selen vermischt und in einem regelbaren, elektrischen Ofen zunächst 2 Stdn. auf 280 °C und dann 30 Stdn. lang auf 350 °C erhitzt. Die Selenwasserstoffentwicklung hatte am Ende der Reaktion praktisch aufgehört. Das Dehydrierungsgemisch wurde gepulvert und einige Tage mit Äther erschöpfend extrahiert. Das ausgezogene Öl wurde durch Destillation bei 1 Torr fraktioniert: Fraktion 1: 100–170 °C; 2. 170–220 °C; 3: über 220 °C.

Die Fraktion 2 erstarrte bei Raumtemperatur zu einer gelben Masse. Sie wurde in n-Hexan gelöst und chromatographisch aufgetrennt (Säule 150 cm; Füllung: Kieselgel 0,05–0,2 mm (Merck); Laufmittel: n-Hexan). Die drei blau fluoreszierenden Banden wurden getrennt aufgefangen und je über eine gleichartige Säule nochmals gereinigt.

22 (Bande 1) wurde aus n-Hexan umkristallisiert; Schmp. 115°.

$C_{22}H_{24}$ (288,0)

Ber. C 91,59 H 8,41,

Gef. C 91,20 H 8,80.

Mol.-Gew. gef. 285 (osmometrisch in Benzol).

24 (Bande 2) wurde mehrmals aus Petroläther umkristallisiert; Schmp. 173°.

$C_{21}H_{18}$ (270,0)

Ber. C 93,26 H 6,73,

Gef. C 93,23 H 6,70.

Mol.-Gew. gef. 267 (osmometrisch in Benzol).

14 a (Bande 3) aus viel siedendem Eisessig umkristallisiert; Schmp. 225°.

$C_{25}H_{22}$ (324,0)

Ber. C 91,15 H 6,75,

Gef. C 90,80 H 6,79.

Mol.-Gew. gef. 312 (osmometrisch in Benzol).

Das UV-Spektrum dieser Substanz stimmt überein mit dem des von COOK und Mitarbb.³² beschriebenen 5-Methyl-2'.1'-naphtho-1.2-fluorens.

2. Dehydrierung des Cholesterins mit Joddampf

200 Dünnschichtplatten (20·20 cm) wurden mit Kieselgel G (nach STAHL) 0,3 mm dick beschichtet und insgesamt 3,5 g Cholesterin in benzolischer Lösung am unteren Ende der Platten aufgetragen. Nach dem Abblasen des Lösungsmittels (Föhn) wurden die Platten in eine lichtdicht abgeschlossene Glaskammer gestellt, die zur Erzeugung einer gesättigten Jodatmosphäre am Boden ein Schälchen mit Jodkristallen enthielt. Die Temperatur betrug 20°; nach 12 Stdn. wurden die Platten herausgenommen und das überschüssige Halogen einige Stdn. lang unter Ausschluß von Licht mit einem Ventilator entfernt. Nach dem Entwickeln der Platten (Laufmittel Benzol) wurde die gelbgrün fluoreszie-

rende Bande A (Abb. 2; mit Benzol als Laufmittel bleiben die Komponenten B am Start liegen!) herausgeschabt und mit Benzol extrahiert.

a) Aufarbeitung des in n-Hexan *unlöslichen* Anteils

Der nach Abzug des Benzols verbleibende Rückstand wurde in n-Hexan aufgenommen, der hierin unlösliche Anteil abgesaugt und auf Ton abgepreßt. Zur Reinigung über eine Säule (Kieselgel 0,05–0,2 mm; Laufmittel Xylol) wurde der Rückstand in Xylol gelöst. Das Umkristallisieren erfolgte aus einem Gemisch Benzol/n-Hexan 90:10 und lieferte schwach gelb gefärbte Blättchen vom Schmp. 224°.

19: C₄₃H₆₈ (584,5)

Ber. C 88,29 H 11,71,

Gef. C 88,25 H 11,75.

Mol.-Gew. gef. 586 (osmometrisch in Benzol).

b) Aufarbeitung des in n-Hexan *löslichen* Anteils

Der nach a) in n-Hexan lösliche Anteil wurde auf einer Säule (neutrales Aluminiumoxid (Woelm) der Aktivitätsstufe I; Laufmittel: Benzol) in drei fluoreszierende Fraktionen getrennt. F 1 (gelbgrün) und F 2 (blau) wurden mit Benzol und F 3 (intensiv blau) wurde mit Methanol eluiert.

Isolierung von **20** aus F 1:

Der Rückstand aus F 1 wurde in wenig Benzol gelöst und auf einer Säule (Kieselgel 0,05–0,2 mm; Laufmittel: Benzol) entwickelt. Die erste, gelbgrün fluoreszierende Bande wurde eluiert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels verblieb ein rotbraunes Öl. Es

wurde in einem Gemisch Essigester/Benzol 1:1 gelöst und in der Hitze so viel Methanol zugegeben, bis die erste Trübung auftrat. Nach Zusatz von 1–2 Tropfen Benzol wurde die jetzt wieder klare Lösung langsam abgekühlt. Nach einigen Std. ist die Kristallisation eingetreten. Diese Operation wurde mehrmals wiederholt; Schmp. 140°.

C₆₉H₁₁₀ (927,0)

Ber. C 88,00 H 11,88,

Gef. C 87,95 H 12,00.

Mol.-Gew. gef. 935 (osmometrisch in Benzol).

Isolierung von **21** und **23** aus F 2

F 2 wurde in wenig Benzol gelöst und über eine Säule (neutrales Aluminiumoxid der Aktivitätsstufe I; Laufmittel: Benzol) in zwei intensiv blau fluoreszierende Banden getrennt. Die Ausbeuten waren zu gering, um reine, kristallisierte Produkte in die Hand zu bekommen. Es wurden daher lediglich die UV-Spektren aufgenommen.

Aufarbeitung von F 3

Reinigung von F 3 über eine Säule (Kieselgel 0,05 bis 0,2 mm; Laufmittel n-Hexan) lieferte eine blau fluoreszierende Verbindung, die sich sowohl im chromatographischen Verhalten (Benzol oder n-Hexan) wie auch in der UV-Absorption von **22** als identisch erwies. Die Ausbeute war so gering, daß auf eine CH-Analyse verzichtet werden mußte.

Dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für finanzielle Hilfe.