

# Untersuchungen über den Extrakt von Harn trächtiger Stuten

DER

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

EINGEREICHTE

PROMOTIONSARBEIT

ZUR ERLANGUNG

DER WÜRDE EINES DOKTORS DER  
TECHNISCHEN WISSENSCHAFTEN

VORGELEGT VON

**Jakob Führer**  
dipl. Ingenieur-Chemiker  
von Sennwald (St. Gallen)

Referent: Herr Prof. Dr. L. Ruzicka

Korreferent: Herr Prof. Dr. V. Prelog



ZÜRICH 1948

Dissertationsdruckerei AG. Gebr. Leemann & Co.

Leer - Vide - Empty

MEINEN LIEBEN ELTERN

Leer - Vide - Empty

Meinem hochverehrten Lehrer

Herrn Prof. Dr. L. RUZICKA

möchte ich meinen herzlichsten Dank aussprechen für das Wohlwollen und die Unterstützung, die er mir während dieser Arbeit stets zuteil werden liess.

Herrn Prof. Dr. V. PRELOG

danke ich herzlich für seine vielen Ratschläge und seine unermüdliche Hilfe.

Leer - Vide - Empty

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung . . . . .	9
Übersicht sämtlicher aus Harn isolierter Steroide . . .	10
Eigene Arbeiten . . . . .	23
A. Ausgangsmaterial und Bearbeitung des Extraktes . .	23
B. Einzelne Verbindungen . . . . .	23
3-Desoxy-equilenin . . . . .	23
Kohlenwasserstoff $C_nH_{2n+2}$ . . . . .	25
Gesättigte Alkohole . . . . .	27
Verbindungen mit 13 Kohlenstoff-Atomen . . . .	30
Experimenteller Teil . . . . .	36
Zusammenfassung . . . . .	55

Leer - Vide - Empty



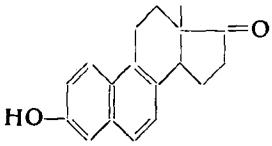
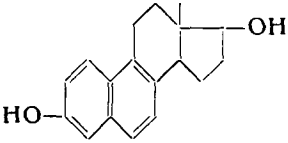
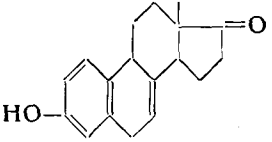
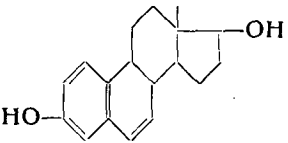
## Einleitung

Aus dem Harn trächtiger Stuten ist bereits eine grosse Zahl von Verbindungen isoliert worden, deren Mannigfaltigkeit einen interessanten Einblick in die komplizierten und wenig erforschten Vorgänge des Stoffwechsels gewährt. Die stark komplexe Zusammensetzung solcher Harne lässt vermuten, dass darin noch weitere, bisher nicht beschriebene Verbindungen enthalten sind. Im Zusammenhange mit den Arbeiten über die Lipoide und besonders über die Steroide des Säugetierkörpers, welche in unsern Laboratorien durchgeführt werden, ist eine Untersuchung der Inhaltsstoffe des Harnes trächtiger Stuten begonnen worden in der Hoffnung, dass man weitere interessante Verbindungen daraus würde isolieren können. Die Harnextrakte sind ein technisch leicht zugängliches Material, da sie in grosstechnischem Massstabe zur Fabrikation von Oestron Verwendung finden.

Die folgende tabellarische Übersicht gibt Auskunft über die vielen aus Harn isolierten lipoiden Verbindungen. Die Literatur ist, soweit es die Zeitumstände gestatteten, bis zum 1. Januar 1946 berücksichtigt.

# Übersicht sämtlicher aus Harn isolierter Steroide

## C<sub>18</sub>-Steroide

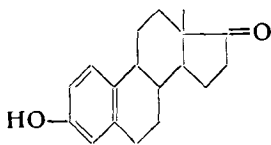
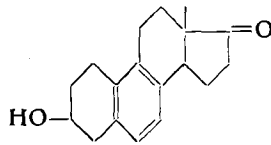
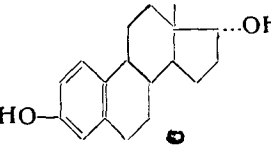
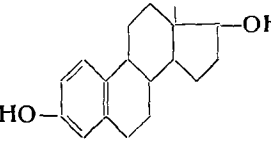
Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
1	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	 <p>Equilenin</p>	trächtige Stuten <sup>1)</sup>
2	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	 <p>17-Dihydro-equilenin</p>	trächtige Stuten <sup>2)</sup>
3	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	 <p>Equilin</p>	trächtige Stuten <sup>3)</sup>
4	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	 <p>Δ<sup>6</sup>-17-Dihydro-equilin</p>	trächtige Stuten <sup>2)4)</sup>

<sup>1)</sup> A. Girard, G. Sandulesco, C. r. 195, 981 (1932).

<sup>2)</sup> H. Hirschmann, O. Wintersteiner, J. Biol. Chem. 122, 303 (1937).

<sup>3)</sup> A. Girard, G. Sandulesco, C. r. 194, 909, 1020 (1932).

<sup>4)</sup> H. Hirschmann, O. Wintersteiner, J. Biol. Chem. 126, 737 (1938).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
5	$C_{18}H_{22}O_2$	 <p align="center">Oestron</p>	trächtige Stuten <sup>5)6)7)</sup> trächtige Kühe <sup>8)</sup> Stieren <sup>9)</sup> Hengsten <sup>10)</sup> Frau mit kranken Nieren <sup>11)</sup>
6	$C_{18}H_{22}O_2$	 <p align="center"><math>\Delta^{5,7,9}</math>-Oestratrien-ol-3-on-17</p>	trächtige Stuten <sup>12)</sup>
7	$C_{18}H_{24}O_2$	 <p align="center"><math>\alpha</math>-Oestradiol</p>	trächtige Stuten <sup>5)</sup> schwängere Frauen <sup>13)</sup>
8	$C_{18}H_{24}O_2$	 <p align="center"><math>\beta</math>-Oestradiol</p>	trächtige Stuten <sup>2)</sup>

<sup>5)</sup> D. van Stolck, R. L. de Lenchere, C. r. 205, 395 (1939).

<sup>6)</sup> A. Butenandt, H. Hoffstetter, Z. physiol. Ch. 259, 222 (1938).

<sup>7)</sup> B. Schachter, G. F. Marrian, J. Biol. Chem. 126, 663 (1938).

<sup>8)</sup> R. E. Marker, Am. Soc. 61, 944 (1939).

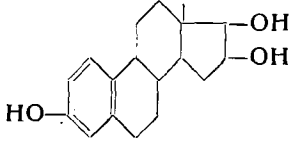
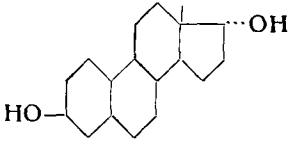
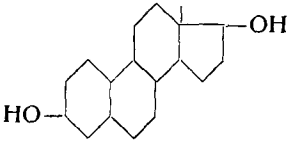
<sup>9)</sup> R. E. Marker, Am. Soc. 61, 1287 (1939).

<sup>10)</sup> E. P. Häussler, Helv. 17, 531 (1934).

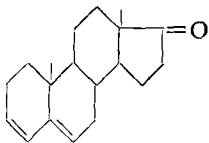
<sup>11)</sup> H. L. Mason, E. J. Kepler, J. Biol. Chem. 161, 235 (1945).

<sup>12)</sup> R. D. H. Heard, M. M. Hoffmann, J. Biol. Chem. 135, 801 (1940);  
138, 651 (1941).

<sup>13)</sup> M. Huffman, McCorquodale, J. Biol. Chem. 134, 591 (1940).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
9	$C_{18}H_{24}O_3$	 <p align="center">Oestriol</p>	schwängere Frauen <sup>13)</sup> <sup>14)</sup> <sup>15)</sup> normaler Mann nach Injektion von Oestron <sup>16)</sup>
10	$C_{18}H_{30}O_2$	 <p align="center">Oestradiol A</p>	normale Frauen <sup>17)</sup>
11	$C_{18}H_{30}O_2$	 <p align="center">Oestradiol B</p>	normale Frauen <sup>17)</sup>

### C<sub>19</sub>-Steroide

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
12	$C_{19}H_{26}O$	 <p align="center"><math>\Delta^{3,5}</math>-Androstadienon-17</p>	Frau mit Adrenal-Tumor <sup>18)</sup> Frau mit Adrenal- Hyperplasie <sup>19)</sup>

<sup>14)</sup> A. Butenandt, F. Hildebrandt, Z. physiol. Ch. 199, 243 (1931).

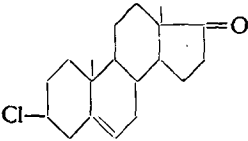
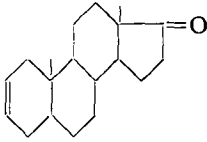
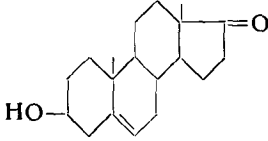
<sup>15)</sup> S. L. Cohen, G. F. Marrian, Biochem J. 29, 1577 (1935); 30, 57, 2250 (1936).

<sup>16)</sup> W. H. Pearlman, G. Pincus, J. Biol. Chem. 147, 379 (1943).

<sup>17)</sup> R. E. Marker, E. Rohrmann, Am. Soc. 60, 1901 (1938).

<sup>18)</sup> J. K. Wolfe, L. F. Fieser, H. B. Friedgood, Am. Soc. 63, 582 (1941).

<sup>19)</sup> S. Lieberman, L. F. Fieser, Science 95, 534 (1942).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
13	$C_{19}H_{27}OCl$	 <p>3-Chlor-<math>\Delta^5</math>-androstenon-17</p>	Aufarbeitungsprodukt <sup>(18)20)</sup>
14	$C_{19}H_{28}O$	 <p><math>\Delta^2</math>-Androstenon-17</p>	normaler Mann <sup>22)</sup> normale Frau und Frau mit Adrenal-Hyperplasie <sup>19)</sup> kastrierte Frau <sup>21)</sup>
15	$C_{19}H_{28}O_2$	 <p>Transdehydro-androsteron</p>	trächtige Stuten <sup>23)</sup> trächtige Kühe <sup>8)</sup> Stieren <sup>9)</sup> normale Frau <sup>24)</sup> normaler Mann <sup>25)</sup> kastrierte Frau <sup>21)26)</sup> Frau mit kranker Niere <sup>11)18)</sup> Eunuchen <sup>27)</sup>

<sup>20)</sup> A. Butenandt, H. Dannenbaum, Z. physiol. Ch. 229, 192 (1934).

<sup>21)</sup> H. Hirschmann, J. Biol. Chem. 136, 483 (1940).

<sup>22)</sup> L. L. Engel, R. A. Lewis, G. W. Thorn, Am. J. Physiol. 129, 352 (1940).

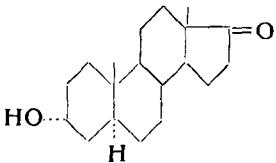
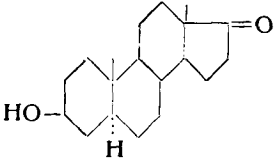
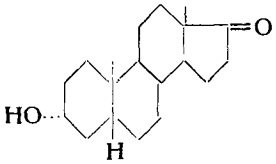
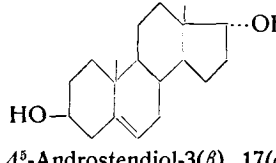
<sup>23)</sup> R. Oppenauer, Z. physiol. Ch. 270, 97 (1941).

<sup>24)</sup> N. H. Callow, R. K. Callow, Biochem. J. 32, 1759 (1938); 33, 931 (1939).

<sup>25)</sup> P. L. Munson, T. F. Gallagher, F. C. Koch, J. Biol. Chem. 152, 67 (1944).

<sup>26)</sup> H. Hirschmann, J. Biol. Chem. 130, 421 (1939).

<sup>27)</sup> N. H. Callow, R. K. Callow, Biochem. J. 34, 276 (1940).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
16	$C_{19}H_{30}O_2$	 <p>Androsteron</p>	normale Frau <sup>19)</sup> <sup>24)</sup> schwangere Frau <sup>28)</sup> kastrierte Frau <sup>21)</sup> <sup>26)</sup> Frau mit Brustkrebs <sup>29)</sup> Frau mit kranker Niere <sup>11)</sup> <sup>18)</sup> <sup>19)</sup> normaler Mann <sup>30)</sup> <sup>31)</sup> Mann mit Hodentumor <sup>32)</sup> trächtige Kühe <sup>8)</sup> Stieren <sup>9)</sup> Eunuchen <sup>27)</sup>
17	$C_{19}H_{30}O_2$	 <p>Andostranol-3(<math>\beta</math>)-on-17 (Iso-androsteron)</p>	Frau mit Adrenaltumor <sup>33)</sup> normale Frau, krebserkrankte Frauen und Männer <sup>34)</sup>
18	$C_{19}H_{30}O_2$	 <p>Ätiocholanol-3(<math>\alpha</math>)-on-17</p>	normaler Mann <sup>30)</sup> normale Frau <sup>19)</sup> <sup>24)</sup> kastrierte Frau <sup>21)</sup> <sup>26)</sup> Frau mit Brustkrebs <sup>29)</sup> Frau m. kranker Niere <sup>11)</sup> <sup>18)</sup> <sup>19)</sup> <sup>33)</sup> Eunuchen <sup>27)</sup>
19	$C_{19}H_{30}O_2$	 <p><math>\Delta^5</math>-Androstendiol-3(<math>\beta</math>), 17(<math>\alpha</math>)</p>	Frau mit kranker Niere <sup>11)</sup> Knabe mit Nierentumor <sup>35)</sup>

<sup>28)</sup> R. E. Marker, E. J. Lawson, Am. Soc. 60, 2928 (1938).

<sup>29)</sup> B. R. Hill, B. B. Longwell, Endocrinol. 32, 319 (1943).

<sup>30)</sup> L. L. Engel, R. A. Lewis, G. W. Thorn, J. Biol. Chem. 137, 205 (1941).

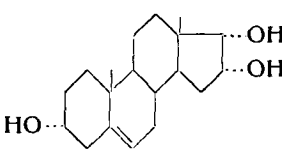
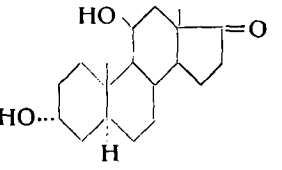
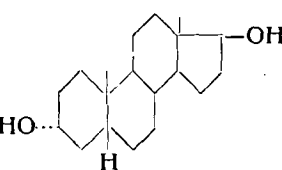
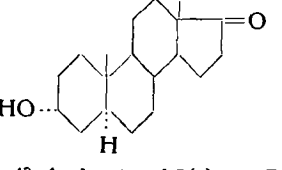
<sup>31)</sup> A. Butenandt, K. Tscherning, Z. physiol. Ch. 229, 167 (1934).

<sup>32)</sup> E. H. Venning, M. M. Hoffmann, J. S. L. Browne, J. Biol. Chem. 146, 369 (1942).

<sup>33)</sup> G. C. Butler, G. F. Marrian, J. Biol. Chem. 124, 237 (1938).

<sup>34)</sup> W. H. Pearlman, J. Biol. Chem. 136, 807 (1940).

<sup>35)</sup> H. Hirschmann, F. B. Hirschmann, J. Biol. Chem. 157, 601 (1945).

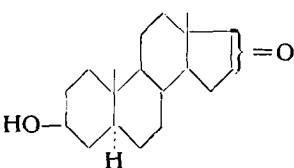
Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
20	$C_{19}H_{30}O_3$	 <p><math>\Delta^5</math>-Androstentriol- 3(<math>\alpha</math>), 16(<math>\alpha</math>), 17(<math>\alpha</math>)</p>	Frau mit kranker Niere <sup>11)</sup> Frauen und Männer mit tumorkranken Nieren <sup>86)</sup> , <sup>87)</sup>
21	$C_{19}H_{30}O_3$	 <p>Androstandiol- 3(<math>\alpha</math>), 11(<math>\beta</math>)-on-17</p>	Frau mit kranker Niere <sup>11)</sup> , <sup>88)</sup>
22	$C_{19}H_{32}O_2$	 <p>Ätiocholandiol-3(<math>\alpha</math>), 17</p>	normaler Mann <sup>89)</sup>
23	$C_{19}H_{28}O_2$	 <p><math>\Delta^2</math>-Androstenol-3(<math>\alpha</math>)-on-17</p>	Frau mit Adrenaltumor <sup>18)</sup>

<sup>86)</sup> H. Hirschmann, J. Biol. Chem. 150, 363 (1944).

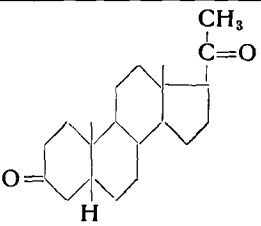
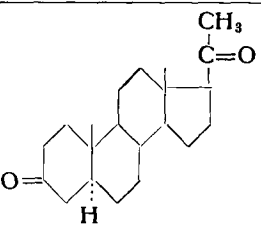
<sup>87)</sup> G. F. Marrian, G. C. Butler, Nature 154, 19 (1944); Biochem J. 38, 322 (1944).

<sup>88)</sup> H. L. Mason, J. Biol. Chem. 158, 719 (1945).

<sup>89)</sup> A. Butenandt, K. Tscherning, H. Dannenbaum, Z. physiol. Ch. 248, 205 (1937).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
24	$C_{19}H_{30}O_2$	 <p>Androstanol-3(<math>\beta</math>)- on-(15 oder 16)</p>	trächtige Stuten <sup>28)</sup> 40)

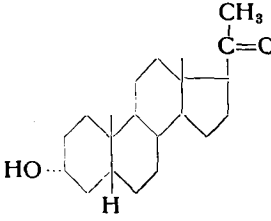
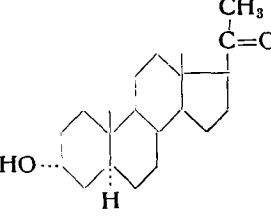
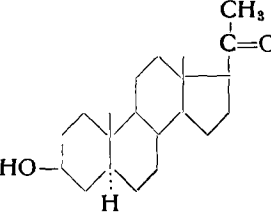
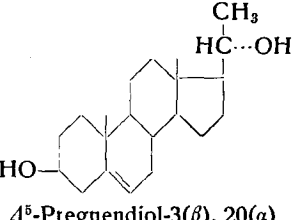
### C<sub>21</sub>-Steroide

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
25	$C_{21}H_{32}O_2$	 <p>Pregnandion-3,20</p>	trächtige Stuten <sup>41)</sup>
26	$C_{21}H_{32}O_2$	 <p>Allo-pregnandion-3,20</p>	trächtige Stuten <sup>41)</sup>

<sup>40)</sup> R. D. H. Heard, A. F. McKay, J. Biol. Chem. **131**, 371 (1939); **140**, Lvi (1941).

<sup>41)</sup> R. E. Marker, E. J. Lawson, Am. Soc. **60**, 1559 (1938).



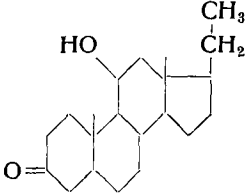
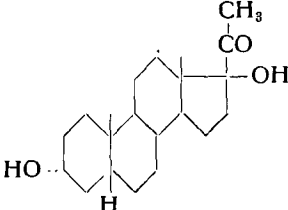
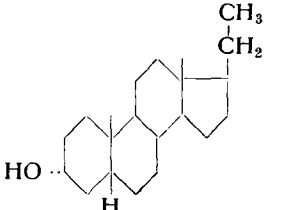
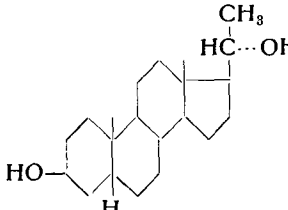
Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
27	$C_{21}H_{34}O_2$	 <p align="center">Pregnanol-3(α)-on-20</p>	trächtige Schweine <sup>42)</sup>
28	$C_{21}H_{34}O_2$	 <p align="center">Allo-pregnanol-3(α)-on-20</p>	schwängere Frauen <sup>43)</sup>
29	$C_{21}H_{34}O_2$	 <p align="center">Allo-pregnanol-3(β)-on-20</p>	trächtige Stuten <sup>29)</sup> <sup>40)</sup> <sup>41)</sup> trächtige Schweine <sup>42)</sup> schwängere Frauen <sup>44)</sup>
30	$C_{21}H_{34}O_2$	 <p align="center"><math>\Delta^5</math>-Pregnendiol-3(β), 20(α)</p>	trächtige Stuten <sup>35)</sup> <sup>45)</sup>

<sup>42)</sup> R. E. Marker, E. Rohrmann, Am. Soc. 61, 3476 (1939).

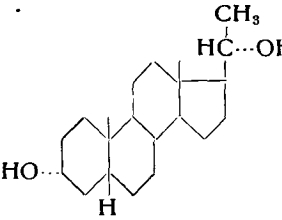
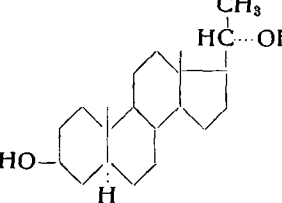
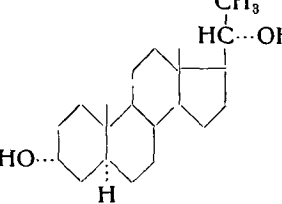
<sup>43)</sup> R. E. Marker, O. Kamm, R. V. McGrew, Am. Soc. 59, 616 (1937).

<sup>44)</sup> W. H. Pearlman, G. Pincus, J. Biol. Chem. 142, 649 (1942).

<sup>45)</sup> R. E. Marker, E. Rohrmann, Am. Soc. 60, 1565 (1938).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
31	$C_{21}H_{34}O_2$	 <p align="center">Uranol-11(β)-on-3</p>	trächtige Stuten <sup>41)</sup>
32	$C_{21}H_{34}O_3$	 <p align="center">Pregnandiol-3(α), 17-on-20</p>	Frau mit kranker Nebenniere <sup>46)</sup>
33	$C_{21}H_{36}O$	 <p align="center">Pregnanol-3(α)</p>	schwängere Frauen <sup>28)</sup>
34	$C_{21}H_{36}O_2$	 <p align="center">Pregnandiol-3(β), 20(α)</p>	Frau mit kranker Nebenniere <sup>11)</sup>

<sup>46)</sup> S. Liebermann, K. Dobriner, J. Biol. Chem. 161, 269 (1945).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
35	$C_{21}H_{36}O_2$	 <p>Pregnan-3(α), 20(α)</p>	trächtige Stuten <sup>47)</sup> <sup>48)</sup> trächtige Kühe <sup>49)</sup> Stieren <sup>50)</sup> schwangere Frauen <sup>51)</sup> <sup>52)</sup> kastrierte Frauen <sup>21)</sup> normaler Mann <sup>30)</sup> normale Frau <sup>53)</sup> <sup>54)</sup> Frau mit Brustkrebs <sup>29)</sup> Frau mit kranker N'niere <sup>11)</sup> Frau und Mann mit Addisonkrankheit <sup>55)</sup>
36	$C_{21}H_{36}O_2$	 <p>Allo-pregnan-3(β), 20(α)</p>	trächtige Stuten <sup>45)</sup> schwangere Frauen <sup>17)</sup> trächtige Kühe <sup>49)</sup> Stieren <sup>50)</sup>
37	$C_{21}H_{36}O_2$	 <p>Allo-pregnan-3(α), 20(α)</p>	trächtige Stuten <sup>47)</sup> schwangere Frauen <sup>52)</sup> trächtige Kühe <sup>49)</sup> Stieren <sup>50)</sup>

47) R. E. Marker, E. Rohrmann, Am. Soc. 61, 2537 (1939).

48) R. E. Marker, O. Kamm, M. Crooks, Am. Soc. 59, 2297 (1937).

49) R. E. Marker, Am. Soc. 60, 2442 (1938).

50) R. E. Marker, E. L. Wittle, E. J. Lawson, Am. Soc. 60, 2931 (1938).

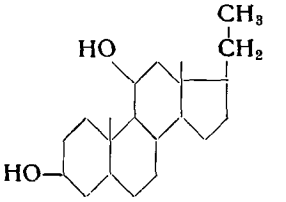
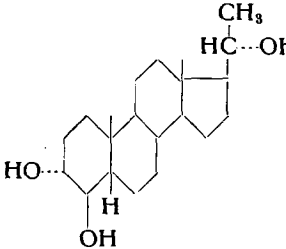
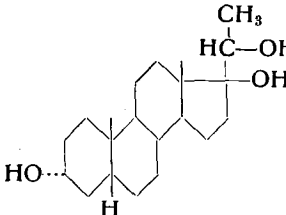
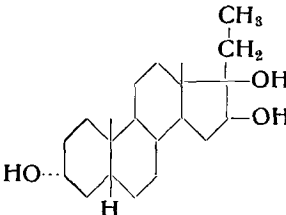
51) A. Butenandt, B. 63, 659 (1930).

52) D. Beall, Biochem. J. 31, 35 (1937).

53) E. H. Venning, J. Biol. Chem. 119, 473 (1937); 126, 595 (1938).

54) A. D. Odell, G. F. Marrian, Biochem. J. 30, 1533 (1936).

55) B. N. Horwitt und Mitarbeiter, J. Biol. Chem. 155, 213 (1944).

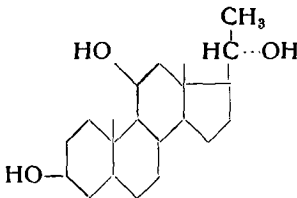
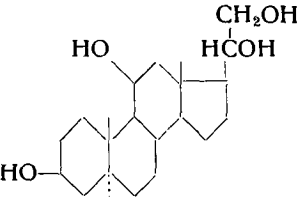
Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
38	$C_{21}H_{36}O_2$	 <p data-bbox="395 425 596 455">Urandiol-3(β), 11(β)</p>	trächtige Stuten <sup>56)</sup>
39	$C_{21}H_{36}O_3$	 <p data-bbox="351 725 645 756">Pregnatriol-3(α), 4(β), 20(α)</p>	trächtige Stuten <sup>57)58)59)</sup>
40	$C_{21}H_{36}O_3$	 <p data-bbox="378 986 622 1016">Pregnatriol-3(α), 17,20</p>	Frau mit kranker Niere <sup>58)11)</sup>
41	$C_{21}H_{36}O_3$	 <p data-bbox="372 1246 617 1276">Pregnatriol-3(α), 16, 17</p>	Frau mit kranken Nebennieren <sup>11)</sup>

<sup>56)</sup> R. E. Marker, E. Rohrmann, E. L. Wittle, Am. Soc. **60**, 1561 (1938).

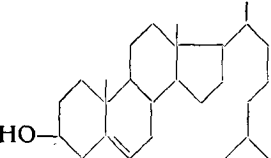
<sup>57)</sup> R. E. Marker, O. Kamm, M. Crooks, Am. Soc. **60**, 210 (1938).

<sup>58)</sup> G. A. D. Haslewood, G. F. Marrian, E. R. Smith, Biochem. J. **28**, 1316 (1934).

<sup>59)</sup> R. E. Marker und Mitarbeiter, Am. Soc. **60**, 1067 (1938).

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
42	$C_{21}H_{36}O_3$	 <p>Urantriol-3(β), 11(β), 20(α)</p>	trächtige Stuten <sup>57)</sup> Hengsten <sup>60)</sup>
43	$C_{21}H_{36}O_4$	 <p>Allo-pregnantetrol- 3(β), 11, 20, 21</p>	Hengsten <sup>60)</sup>

### C<sub>27</sub>-Steroide

Nr.	Formel	Struktur	isoliert aus Harn von
44	$C_{27}H_{46}O$	 <p>Cholesterin</p>	normale Männer <sup>30)</sup> <sup>65)</sup> schwängere Frauen <sup>17)</sup> kastrierte Frauen <sup>21)</sup> Frau mit Brustkrebs <sup>29)</sup> trächtige Schweine <sup>42)</sup>

<sup>60)</sup> R. E. Marker, E. Rohrmann, E. J. Lawson, E. L. Wittle, Am. Soc. 60, 1555 (1938).

<sup>65)</sup> A. Butenandt, H. Dannenbaum, Z. physiol. Ch. 248, 151 (1937).

### Verschiedene und nicht aufgeklärte Verbindungen

Nr.	Formel	Name	isoliert aus Harn von
45	$C_{16}H_{14}O_3$	Equol	trächtigen Stuten <sup>63)</sup>
46	$C_{18}H_{16}O_2$	unbekannte Verbindung	trächtigen Stuten <sup>47)</sup>
47	$C_{18}H_{20}O_2$	Hippulin	trächtigen Stuten <sup>3)</sup>
48	$C_{18}H_{24}O_3?$	unbekannter Stoff D	trächtigen Stuten <sup>23)</sup>
49	$C_{19}H_{30}O_2$	Androsteron-Isomeres	trächtigen Stuten <sup>23)</sup>
50	$C_{19}H_{32}O_2$	unbekanntes Diol	Frau mit kranken Nebennieren <sup>11)</sup>
51	$C_{19}H_{32}O_2$	unbekanntes Diol	Frau mit kranken Nebennieren <sup>11)</sup>
52	$C_{21}H_{26}O_3$	unbekanntes Ketolacton	trächtigen Stuten <sup>61)62)</sup>
53	$C_{21}H_{34}O_2$	unbekannter Stoff A	trächtigen Stuten <sup>23)</sup>
54	$C_{21}H_{34}O_2$	unbekannter Stoff B	trächtigen Stuten <sup>23)</sup>
55	$C_{21}H_{34}O_3$	unbekanntes Triol	Knabe mit Adrenaltumor <sup>35)</sup>
56	$C_{30}H_{54}O$	$\beta$ -Equistanol	Hengsten <sup>60)</sup>
57	$C_{25}H_{52}$	Pentacosan	schwangeren Frauen <sup>64)</sup>
58	$C_{27}H_{56}$	Heptacosan	schwangeren Frauen <sup>64)</sup>
59	$C_{28}H_{58}$	Oktacosan (?)	trächtigen Stuten <sup>47)</sup> Stieren <sup>9)</sup> trächtigen Kühen <sup>49)</sup>

Obschon so viele lipide Verbindungen, besonders aus dem Harn von trächtigen Stuten isoliert werden konnten, ist doch der grösste Teil der Inhaltsstoffe der Extrakte noch unaufgeklärt.

<sup>61)</sup> R. D. H. Heard, Am. Soc. 60, 493 (1933).

<sup>62)</sup> J. D. Jacobs, E. Laqueur, Rec. 58, 77 (1939).

<sup>63)</sup> G. F. Marrian, G. A. D. Haslewood, Biochem. J. 26, 1227 (1932).

<sup>64)</sup> W. F. Hart, M. H. Northup, Am. Soc. 57, 2726 (1935).

## Eigene Arbeit

### A. Ausgangsmaterial und Bearbeitung des Extraktes

Als Ausgangsmaterial standen die neutralen Anteile zur Verfügung, welche bei der technischen Herstellung der östrogenen Hormone aus 200000 Liter Harn als Nebenprodukt erhalten worden sind<sup>1)</sup>. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Untersuchung wurde mit einem kleinern Anteil des Extraktes, der aus ca. 14000 Litern stammte, ausgeführt.

Nach der alkalischen Hydrolyse des Ausgangsmaterials wurden die neutralen Anteile einer Molekular-Destillation unterworfen und die leichter flüchtigen Anteile, welche bei Drucken unterhalb 0,001 mm bis 140° übergangen, mit Girard-Reagens T<sup>2)</sup> behandelt. Nach sorgfältiger chromatographischer Analyse konnten mehrere neue kristallisierte Verbindungen erhalten werden.

### B. Einzelne Verbindungen

#### 1. 3-Desoxy-equilenin

Aus den mit Girard-Reagens T abgetrennten Carbonyl-Verbindungen der Fraktion A konnte bei der chromatographischen Analyse aus den ersten Benzoleluaten eine schön kristallisierte Verbindung, welche demnach ein neutrales Keton darstellt, isoliert werden. Die Verbindung schmilzt bei 156—157°, besitzt die Bruttoformel  $C_{18}H_{18}O$  und zeigt in Chloroform ein  $[\alpha]_D$  von +117° ( $\pm 3^0$ ). Das charakteristische Absorptionsspektrum im U.V. ist dem von *F. A. Askew*<sup>3)</sup> aufgenommenen Absorptionsspektrum des

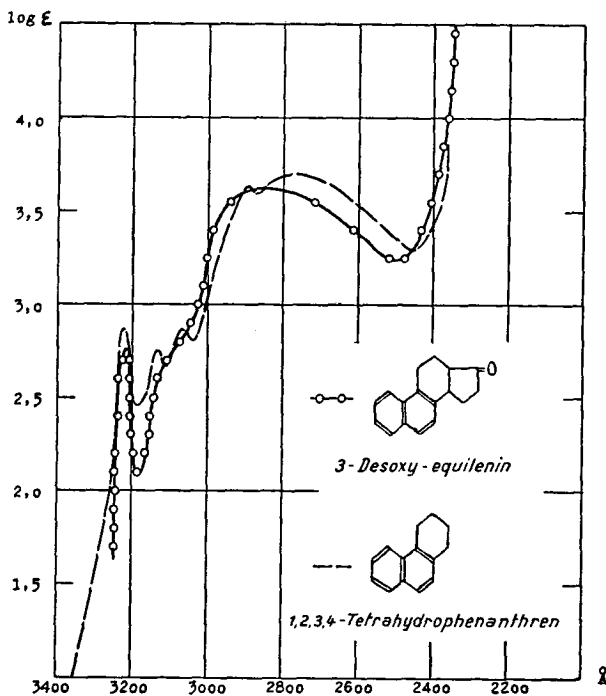
<sup>1)</sup> Für die Überlassung des Ausgangsmaterials danke ich der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel.

<sup>2)</sup> *A. Girard* und *G. Sandulesco*, *Helv.* **19**, 1095 (1936).

<sup>3)</sup> *Soc.* **1935**, 512.

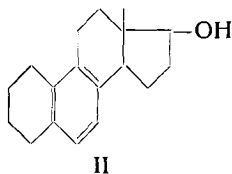
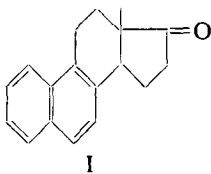
1, 2, 3, 4 -Tetrahydro-phenanthrens sehr ähnlich. (Vgl. Fig. 1, Kurve 1.)

Unter der naheliegenden Annahme, dass die bisher nicht beschriebene Verbindung der Steroid-Reihe angehöre und dass die Keto-Gruppe sich in 17-Stellung des Perhydro-cyclopenteno-phen-



Figur 1

anthren-Gerüsts befinde, kommt auf Grund des Absorptionsspektrums für sie besonders die Konstitution des 3-Desoxy-equilenins I in Betracht.





Durch das Ergebnis der katalytischen Hydrierung mit Platinoxid-Katalysator in Eisessig unter Zusatz von Salzsäure wurde diese arbeitshypothetisch angenommene Konstitution bestätigt. Die Verbindung nahm unter den erwähnten Reaktionsbedingungen drei Mol Wasserstoff auf und ging dabei in den Alkohol II, das 3-Desoxy-hexahydro-equilenin über, welches durch katalytische Hydrierung von Equilenin in saurer Lösung früher erhalten worden ist. Das Equilenin gibt nach *L. Ruzicka, P. Müller* und *E. Mörgeli*<sup>4)</sup> und *R. E. Marker* und *E. Rohrmann*<sup>5)</sup> durch katalytische Reduktion in saurer Lösung hauptsächlich zwei Produkte: das Hexahydro-equilenin und unter Abspaltung der Hydroxylgruppe das 3-Desoxy-hexahydro-equilenin, welches mit der Verbindung, die durch Hydrierung des 3-Desoxy-equilenins erhalten wurde, keine Schmelzpunktserniedrigung gab.

Erwähnenswert ist die geringe, aber deutliche östrogene Wirksamkeit des 3-Desoxy-equilenins. Mit 100—150  $\gamma$  wurde an kastrierten weiblichen Ratten ein positiver Allen-Doisy-Test erhalten<sup>6)</sup>.

Schon *R. E. Marker* und *E. Rohrmann*<sup>7)</sup> haben die Anwesenheit von 3-Desoxy-equilenin-Derivaten im Harn trächtiger Stuten vermutet. Sie erhielten aus einer nichtkristallisierten Carbinolfraktion durch Oxydation mit Chromsäure eine kristallisierte Verbindung  $C_{18}H_{16}O_2$ , für welche sie die Konstitution eines 11-Keto-3-desoxy-equilenins angenommen haben. Bisher war es jedoch nicht gelungen, ein 3-Desoxy-equilenin-Derivat aus Harn direkt in kristallisierter Form zu isolieren.

## 2. Kohlenwasserstoff $C_n H_{2n+2}$

Bei der chromatographischen Analyse der mit Girard-Reagens T nicht reagierenden Anteilen der Fraktion A konnte aus dem ersten Benzoleluat eine in farblosen Plättchen kristallisierende

<sup>4)</sup> Helv. **21**, 1394 (1938).

<sup>5)</sup> Am. Soc. **61**, 3314 (1939).

<sup>6)</sup> Für die Durchführung des Allen-Doisy-Testes danke ich der biologischen Abteilung der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel.

<sup>7)</sup> Am. Soc. **61**, 2538 (1939).

Substanz vom Schmelzpunkt 63—64<sup>0</sup> isoliert werden. Eine genaue Bruttoformel für die Verbindung kann auf Grund der Analyse nicht aufgestellt werden, da die Elementaranalyse mit den Formeln  $C_nH_{2n+2}$  für  $n = 26—30$  übereinstimmt. Es besteht auch die Möglichkeit, dass es sich um ein Gemisch mehrerer Paraffin-Kohlenwasserstoffe handeln könnte.

Kohlenwasserstoffe  $C_nH_{2n+2}$  sind aus Harn normaler und schwangerer Menschen und normaler und trächtiger Tiere schon mehrmals isoliert worden. So erhielten *W. F. Hart* und *M. A. Northup*<sup>8)</sup> aus Schwangerenharn zwei Paraffine, welchen sie die Formeln  $C_{25}H_{52}$  bzw.  $C_{27}H_{56}$  zuschrieben. Später berichteten *R. E. Marker* und *E. Rohrmann* über die Isolierung eines Kohlenwasserstoffes der Zusammensetzung  $C_{28}H_{58}$  aus Harn trächtiger Kühe<sup>9)</sup>, bemerken aber hiezu, dass es sich wohl um ein Gemisch mehrerer Kohlenwasserstoffe handelt. Dieselbe Verbindung isolierten sie auch aus Stierharn<sup>10)</sup> und aus Harn trächtiger Stuten<sup>11)</sup>. Man weiss aus den sehr eingehenden Untersuchungen von *S. H. Piper*, *A. Ch. Chibnall*, *S. H. Hopkins*, *A. Pollard*, *J. A. B. Smith* und *C. F. Williams*<sup>12)</sup>, dass ähnliche Kohlenwasserstoffe oder Kohlenwasserstoffgemische in Wachsen vorkommen. Die englischen Autoren haben die Paraffin-Kohlenwasserstoffe aus Pflanzen und Insekten durch thermische und röntgenspektrographische Analyse genau untersucht und mit synthetischen reinen Verbindungen und Verbindungsgemischen verglichen. Sie kamen dabei zum Schluss, dass es meistens nicht möglich ist, aus natürlichem Material individuelle Paraffin-Kohlenwasserstoffe zu isolieren, und dass die vielen in der Literatur als einheitlich beschriebenen Verbindungen dieser Reihe Gemische darstellen. Es konnte weiter gezeigt werden, dass in Wachsen nur Paraffin-Kohlenwasserstoffe von ungerader Kohlenstoffzahl vorkommen.

Durch die erwähnten Untersuchungen konnte weiter bewiesen

---

<sup>8)</sup> Am. Soc. 57, 2726 (1935).

<sup>9)</sup> Am. Soc. 60, 2442 (1938).

<sup>10)</sup> Am. Soc. 61, 1287 (1939).

<sup>11)</sup> Am. Soc. 61, 2537 (1939).

<sup>12)</sup> Biochem. J. 25, 2072, 2095, 2111 (1931); 28, 2175, 2189, 2209 (1934).

werden, dass Schmelzpunkt und Schmelzpunktniedrigung allein nicht als Kriterium für Reinheit und Molekülgröße eines Paraffin-Kohlenwasserstoffes dienen können. Es war deshalb interessant, den Kohlenwasserstoff aus Stutenharn, dem *Marker* und Mitarbeiter die Formel  $C_{28}H_{58}$  zugeteilt haben, etwas genauer zu untersuchen.

Die röntgenographische Untersuchung, die ich Herrn Dr. *W. Nowacki*, Bern, bestens verdanke, ergab für die sog. lange Periode des Paraffin-Kohlenwasserstoffes aus Stutenharn eine Länge

$$d = 39,4 \pm 0,2 \text{ \AA}$$

Der Wert wurde errechnet als Mittel aus Aufnahmen an zwei verschiedenen Präparaten. Substanz auf Deckglas aufgeschmolzen, Schwenkaufnahmen, Fe-Strahlung, Abstand Präparat-Film = 55,6 bzw. 137 mm, 12 mA, 30 kV, 1 + 1 bzw. 2 + 2 h Belichtungszeit.

Obschon scharfe Linien vorhanden sind, kann doch ein Mischkristall vorliegen (vgl. *Piper* und Mitarbeiter, *Biochem. J.* **25**, 2081 (1931), plate VIII und Satz (2) Seite 2090). Wenn die Verbindung homogen sein sollte, so würde  $d = 39,4 \text{ \AA}$  auf  $C_{29}$  und nicht  $C_{28}$  hinweisen; es wurde gefunden:  $C_{29}$ - $d = 38,68 \text{ \AA}$ ,  $C_{30}$ - $d = 40,5 \text{ \AA}$  (*Piper* und Mitarbeiter l. c.) bzw.  $C_{29}$ - $d = 39,42 \text{ \AA}$  (*Clark*, *Nature* **120**, 124 (1927), Strukturbericht I, S. 687).

Der Schmelzpunkt von  $63-64^0$  für die Verbindung passt auch besser auf  $C_{29}$  ( $= 63,4-63,6^0$ ) als auf  $C_{28}$  ( $61,4-61,5^0$ ) ( $C_{30} = 65,6-65,8^0$ ).

Es ist dazu noch zu bemerken, dass es nicht gelungen ist, am untersuchten Präparat die sog. Umwandlungspunkte zu beobachten, was nach *Piper* und Mitarbeitern auf ein Gemisch hinweist, in welchem der Kohlenwasserstoff  $C_{29}H_{62}$  überwiegt.

Da solche Gemische z. B. aus Futtergras isoliert wurden, scheint es naheliegend zu sein, dass der Kohlenwasserstoff aus Stutenharn aus der pflanzlichen Nahrung stammt.

### 3. Gesättigte Alkohole

Aus den mit Girard-Reagens T nicht reagierenden Anteilen der Fraktion A konnten zwei gesättigte Alkohole vom Schmelz-

punkt 78—79,5<sup>0</sup> bzw. 73—75<sup>0</sup> isoliert werden. Über die Isolierung von Verbindungen dieser Reihe aus dem Harn trächtiger Stuten ist bis heute noch nicht berichtet worden.

Eine genaue Untersuchung von natürlich vorkommenden Alkoholen mit grösserer Kohlenstoffzahl ( $C_{20}$ — $C_{36}$ ) verdanken wir den gleichen Autoren, die die umfassenden Analysen der natürlichen Paraffin-Kohlenwasserstoffe durchführten. Sie fanden solche Alkohole in Blatt- und Fruchthautwachsen der Pflanzen. Ebenso wie bei den Paraffin-Kohlenwasserstoffen handelt es sich meistens um schwer trennbare Gemische. Durch Vergleich mit synthetisch hergestellten Produkten liess sich beweisen, dass die in den Wachsen vorkommenden Alkohole eine gerade Zahl von Kohlenstoffatomen besitzen. Die Bestimmung der Molekülgrösse ist nur durch eine umfassende Untersuchung möglich, bei welcher Schmelzpunkte und röntgenographische Daten vom Alkohol selbst, seinem Acetat und der entsprechenden Carbonsäure berücksichtigt werden müssen.

a) Alkohol vom Smp. 78—79,5<sup>0</sup>

Alkohol: Der Elementaranalyse des aus Harn isolierten Alkohols entspricht die Bruttoformel  $C_{26}H_{54}O$ . Die Abweichungen der für Kohlenstoff und Wasserstoff gefundenen Werte gegenüber den für diese Formel errechneten Zahlen sind nicht grösser als 0,06 % und liegen also weit innerhalb der Fehlergrenzen der Analyse. Der Schmelzpunkt der Verbindung 78—79,5<sup>0</sup> stimmt mit den Werten, die für diesen Alkohol angegeben werden <sup>13)</sup> gut überein.

Die röntgenographische Untersuchung ergab für den Alkohol ein  $d = 71,1 \pm 0,3 \text{ \AA}$ .

Nach Untersuchungen von *Th. Malkin* <sup>14)</sup> kristallisieren die langkettigen aliphatischen Alkohole in zwei Modifikationen  $\alpha$  und  $\beta$  mit verschiedenem  $d$ . In der Tabelle I sind die Werte für die beiden Modifikationen angegeben. Man sieht daraus, dass der gemessene Wert mit dem für die  $\beta$ -Modifikation eines  $C_{26}$ -Alkoholes gut übereinstimmt. Im Falle, dass der untersuchte Alkohol in  $\alpha$ -Modifikation kristallisieren würde, handelte es sich um einen  $C_{32}$ -

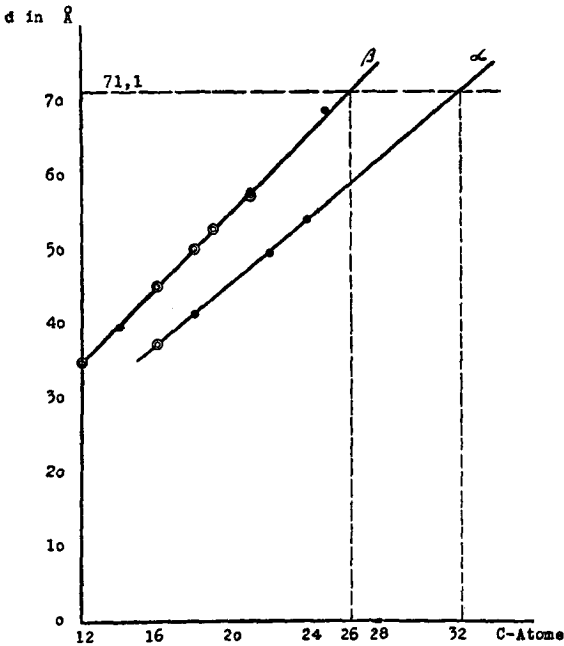
---

<sup>13)</sup> *S. H. Piper* und Mitarbeiter, *Biochem J.* **25**, 2119 (1931), Tabelle VI.

<sup>14)</sup> *Am. Soc.* **52**, 3739 (1930) und *Soc.* **1935**, 726.

Alkohol, was auf Grund der Elementaranalyse aber ausgeschlossen ist.

Acetat: Das Acetat wurde nach der üblichen Methode mit Acetanhydrid in Pyridin hergestellt und schmolz bei 60—61°. Die Resultate der Elementaranalyse stimmen mit den für  $C_{28}H_{56}O_2$  errechneten Zahlen überein. Für den Schmelzpunkt des n-Hexacosanol-acetates werden in der Literatur<sup>13)</sup> Werte von 59—62° angegeben.



Figur 2 Tabelle I

● gepresst      ⊙ geschmolzen

Säure: Die Säure wurde aus dem Alkohol nach einer von *A. Pollard*, *A. Ch. Chibnall* und *S. H. Piper*<sup>15)</sup> angegebenen Methode hergestellt. Die Elementaranalyse ergab die Werte für die dem Alkohol entsprechende Säure  $C_{26}H_{52}O_2$ . Der Schmelzpunkt

<sup>15)</sup> Biochem. J. 25, 2072 (1931).

der Säure, 81,5—83<sup>0</sup>, stimmt mit den von andern Autoren<sup>13)</sup> gefundenen Werten, welche zwischen 81—87<sup>0</sup> variieren, überein.

Bei der röntgenographischen Ausmessung wurde ein  $d = 62,8 \pm 0,4$  Å gefunden. A. Pollard und Mitarbeiter<sup>16)</sup> geben für die synthetische n-Hexacosansäure ein  $d = 63,3$  Å an. Die Röntgenuntersuchung ist demnach mit der angenommenen Formel  $C_{26}H_{52}O_2$  im Einklang. Nachdem in verschiedenen Pflanzen, so auch im Futtergras neben andern besonders der Alkohol  $C_{26}H_{54}O$  gefunden wurde, kann angenommen werden, dass auch diese Verbindung aus der Nahrung stammt und unverändert im Harn ausgeschieden wird.

b) Alkohol vom Smp. 73—75<sup>0</sup>

Dieser Alkohol konnte erst bei der weitem chromatographischen Analyse der mit Girard-Reagens T nicht reagierenden Anteile der Fraktion A gefunden werden. Auf Grund der Elementaranalyse kommt ihm die Bruttoformel  $C_{22}H_{46}O$  zu. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um ein niedereres Homologes oder um ein Gemisch der niederen Homologen des n-Hexacosanols.

Der Schmelzpunkt von 73—75<sup>0</sup> stimmt ungefähr mit den in der Literatur angegebenen<sup>17)</sup> überein.

#### 4. Verbindungen mit 13 Kohlenstoff-Atomen

Während meiner Untersuchung konnte ich eine Reihe von bisher nicht aufgeklärten Verbindungen isolieren. Diese, im folgenden als Verbindung A, B, C, D, E und G bezeichneten Substanzen, sind dadurch charakterisiert, dass sie 13 Kohlenstoff-Atome besitzen. Es handelt sich wahrscheinlich um eine neue Verbindungsgruppe, deren Konstitutionsaufklärung erst dann möglich sein wird, wenn grössere Mengen für eine eingehendere Untersuchung zur Verfügung stehen werden. Obwohl es bisher nicht bewiesen werden konnte, ist anzunehmen, dass es sich um nahe verwandte Körper handelt, welche das gleiche Kohlenstoff-Gerüst besitzen und sich nur durch den verschiedenen Grad der Unge-

<sup>16)</sup> A. Pollard und Mitarbeiter, Biochem. J. 25, 2117 (1931).

<sup>17)</sup> Biochem. J. 25, 2093 (1931), Tabelle VII.

sättigkeit und Verschiedenheit der Sauerstoff-Funktionen unterscheiden. Am eingehendsten von dieser Gruppe wurde die folgende Verbindung G untersucht.

### Verbindung G

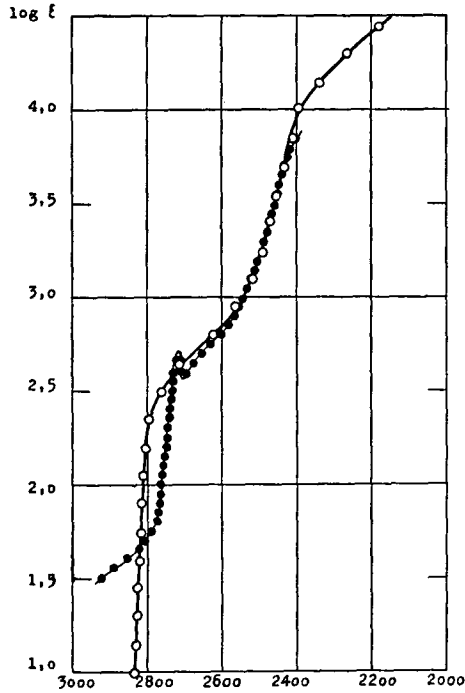
Die Verbindung G, ein Alkohol, konnte aus den mit Girard-Reagens T nicht reagierenden Anteilen der Fraktionen A und B isoliert werden. Aus der Fraktion B wurde diese Verbindung in Form ihres Allophanates erhalten, während sie aus der Fraktion A bei der chromatographischen Analyse direkt in farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 88,5—90,5° kristallisierte. Die Elementaranalyse ergab die Bruttoformel  $C_{13}H_{20}O$ . Mit Tetranitro-methan gab die Verbindung eine starke Gelbfärbung, nahm jedoch bei einem Hydrierungsversuch mit Platinoxid-Katalysator in Eisessig keinen Wasserstoff auf. Das Absorptionsspektrum sowohl des Alkohols als auch des Allophanates mit einem Maximum bei 265 m $\mu$ ,  $\log \epsilon$  2,6 bildete einen Hinweis auf das Vorhandensein eines Benzol-Kernes, was durch den negativ verlaufenen Hydrierungsversuch bestätigt zu sein scheint.

Die Verbindung G war schwach linksdrehend,  $[\alpha]_D = -5^\circ$  ( $\pm 2^\circ$ ). Durch Oxydation des Alkohols mit Chromsäure in Eisessig konnte daraus ein nicht kristallines, optisch inaktives Keton erhalten werden, welches durch sein Semicarbazon vom Schmelzpunkt 178—180° charakterisiert wurde. Die optische Aktivität ist offenbar an das Vorhandensein der sekundären Hydroxyl-Gruppe im Alkohol gebunden. Das Keton gab eine positive Jodoformprobe nach R. C. Fuson und Ch. W. Tullock<sup>18)</sup>, was auf die Gruppierung  $CH_3CO-$  im Keton und demnach auf die Gruppierung  $CH_3CHOH-$  im Alkohol schliessen lässt.

Über die Lage der Keto-Gruppe im Keton gibt das Absorptionsspektrum des Semicarbazons einen weitem Anhaltspunkt. Weil es gegenüber demjenigen des Alkohols nicht verschoben ist, kann mit Sicherheit angenommen werden, dass die Ketogruppe nicht direkt am Benzol-Kern liegt. Es ist weiter bekannt, dass sich solche aromatische Ketone, welche die Keto-Gruppe nur durch ein Kohlen-

<sup>18)</sup> Am. Soc. 56, 1638 (1934).

stoff-Atom vom Kern getrennt haben, spektroskopisch anders verhalten als solche, bei welchen sie mehrere Kohlenstoff-Atome vom Kern entfernt liegt<sup>19)</sup>. Ein Vergleich des Absorptionsspektrums des Semicarbazon mit denjenigen zweier Modellverbindungen<sup>20)</sup>



Figur 3

- 1 —○—○— Semicarbazon der Verbindung G (Keton aus G)  
2 —●—●— Semicarbazon von Cumyl-aceton

zeigt, dass das Keton zu der letztgenannten Gruppe von Verbindungen gehört, da das Absorptionsspektrum dieses Semicarbazon mit jenem des Semicarbazon des Cumylacetons weitgehend übereinstimmt. (Vgl. Fig. 3, Kurve 2).

<sup>19)</sup> Vgl. *Ramart-Lucas* und *L. Labaune*, *Ann. Chim.* (10) 16, 276 (1931).

<sup>20)</sup> Für die Bereitstellung der Modellverbindungen danke ich Herrn Dr. *R. Hagenbach*.

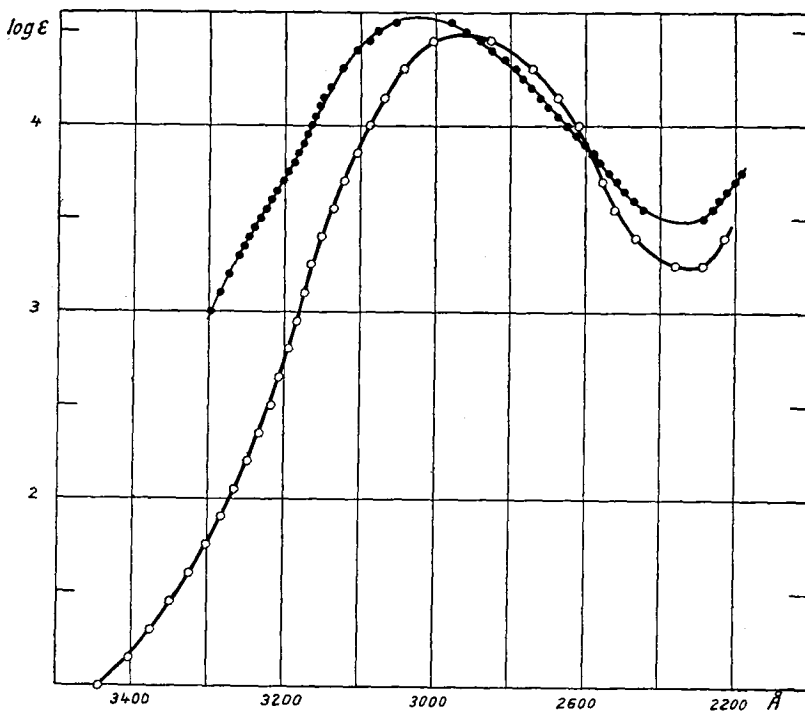


Die bisherigen Ergebnisse der Konstitutionsaufklärung lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

- a) Die Verbindung ist ein Benzol-Derivat mit einer oder mehreren Seitenketten.
- b) In einer der Seitenketten liegt die Gruppierung  $C-C-CHOHCH_3$  vor.

### Verbindung A

Die Verbindung A mit dem Schmelzpunkt  $93,5-94,5^{\circ}$  und der Bruttoformel  $C_{13}H_{18}O$  konnte aus den Benzoleluaten der ersten chromatographischen Auftrennung der Carbonylverbindungen der



Figur 4

- 1 —○—○— Verbindung A
- 2 —●—●— Semicarbazon der Verbindung A

Fraktion A isoliert werden. Sie besitzt ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei  $295\text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,5$  (vgl. Fig. 4, Kurve 1). Das Absorptionsmaximum ihres Semicarbazons ist nach grösseren Wellenlängen verschoben, es liegt bei  $305\text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,6$  (vgl. Fig. 4, Kurve 2). Ähnliche Verhältnisse findet man bei gewissen ungesättigten Ketonen mit dem Chromophor  $\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}=\text{O}$ , z. B. bei Pseudojonon, wie aus einem Vergleich mit den von *A. Burawoy*<sup>21)</sup> gemessenen Absorptionsspektren des Pseudojonons und seines Semicarbazons hervorgeht. Es ist wahrscheinlich, dass das Keton, welches sich in der Bruttoformel nur um zwei Wasserstoffatome von den Jononen unterscheidet, ein ähnliches Chromophor enthält.

Von einer eingehenderen Untersuchung dieser Verbindung musste infolge Materialmangel Abstand genommen werden.

Nachdem aus den Eluaten der Chromatogramme aus den Carbonyl-Verbindungen der Fraktion A keine weiteren kristallisierten Verbindungen mehr isoliert werden konnten, versuchte man die Carbonyl-Verbindungen mit Phenylsemicarbazid als Phenylsemicarbazone abzutrennen.

#### *Verbindung B*

Bei der Behandlung gewisser Fraktionen (vgl. experimenteller Teil) der Carbonyl-Verbindung aus der Fraktion A mit Phenylsemicarbazid konnte ein Phenylsemicarbazon vom Schmelzpunkt  $216-218^{\circ}$  isoliert werden. Auf Grund der Elementaranalyse, die eine Bruttoformel von ungefähr  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_2\text{N}_6$  ergibt, kann man annehmen, dass es sich bei der ursprünglichen Verbindung um eine Dicarbonyl-Verbindung der Formel  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_2$  handelt, was auch mit dem Siedepunkt der Ausgangsfraktion übereinstimmt. Das Phenylsemicarbazon der Verbindung B, von welchem etwa 350 mg erhalten wurden, ist optisch inaktiv.

#### *Verbindung C*

Aus andern Fraktionen, welche aus den Carbonyl-Verbindungen der Fraktion A gewonnen wurden, konnte ein optisch inaktives

<sup>21)</sup> Soc. 1941, 22.

Phenylsemicarbazon vom Schmelzpunkt 184–186<sup>0</sup> und der Zusammensetzung  $C_{20}H_{29}O_2N_3$  isoliert werden.

Es handelt sich wahrscheinlich um das Phenylsemicarbazon einer Oxy-carbonyl-Verbindung von der Formel  $C_{13}H_{22}O_2$ . Sie wäre demnach mit der Verbindung B isomer.

#### *Verbindungen D und E*

Aus den Carbonyl-Verbindungen der Fraktion A liessen sich mit Phenylsemicarbazid noch zwei weitere isomere, optisch inaktive Phenylsemicarbazone von der Formel  $C_{20}H_{31}O_2N_3$  isolieren. Das Phenylsemicarbazon der Verbindung D besass den Schmelzpunkt 183–185<sup>0</sup>, dasjenige der Verbindung E schmolz unscharf bei 168–178<sup>0</sup>. Beide Verbindungen gaben miteinander eine Schmelzpunktsdepression. Die ursprünglichen Carbonyl-Verbindungen D und E würden die Formeln  $C_{13}H_{24}O_2$  besitzen, demnach zwei Wasserstoff-Atome mehr enthalten als die Verbindungen B und C.

## Experimenteller Teil<sup>1)</sup>

### 1. Verseifung des Extraktes

1 kg der neutralen Anteile, welche aus 20 000 Liter Stutenharn als Nebenprodukt bei der Oestronfabrikation erhalten worden sind, wurden mit einer Lösung von 400 g Kaliumhydroxyd in 4 Liter Methanol während 26 Stunden in Stickstoffatmosphäre am Rückfluss gekocht. Der grösste Teil des Methanols wurde darauf im Stickstoffstrom abdestilliert, der Rückstand mit Äther überschichtet und mit 10-proz. Salzsäure bis zur congosauren Reaktion versetzt. Nach der Auflösung der festen Anteile wurde die ätherische Lösung abgetrennt und die wässrige Schicht gründlich mit Äther extrahiert.

Aus den vereinten ätherischen Auszügen konnten die sauren Anteile durch langsames Durchtropfen verdünnter Lauge ohne Bildung lästiger Emulsionen entfernt werden. Die Konzentration der verwendeten Lauge wurde langsam gesteigert; nach dem Durchtropfen von 30 Liter 0,5-proz., 6 Liter 1-proz., 3 Liter 2-proz. Natronlauge und 9 Liter Wasser enthielt die ätherische Lösung keine Säuren mehr. Zur Entfernung der eventuell mitgerissenen neutralen Anteile liess man die alkalischen Waschwässer durch drei hintereinandergeschaltete Flaschen mit frisch destilliertem peroxydfreiem Äther durchtropfen. Die ganze Operation führte man in einer Apparatur durch, welche mit reinem Stickstoff gespült wurde. Nach dem Abdampfen des Äthers blieben 633,5 g neutrale Anteile zurück.

Die alkalischen Waschwässer wurden nicht weiter verarbeitet.

---

<sup>1)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

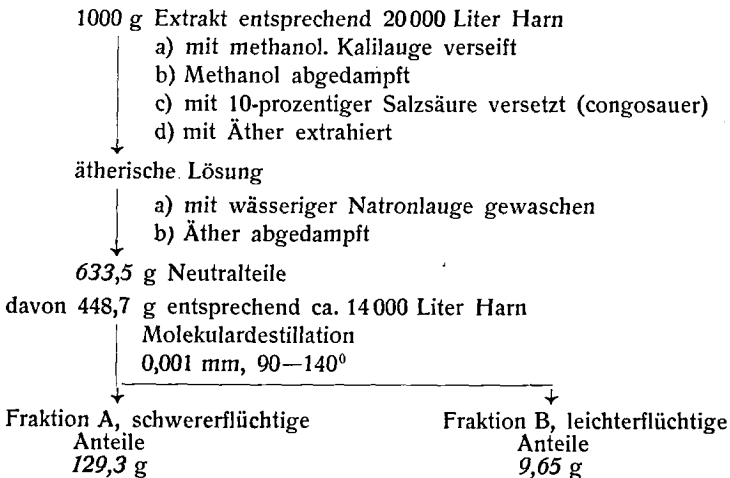
## 2. Molekulardestillation

Von den unverseiften neutralen Anteilen wurden 448,7 g (entsprechend etwa 14000 Liter Harn) im Hochvakuum destilliert. Die Destillation führte man in der von Schott & Gen., Jena, hergestellten Apparatur für diskontinuierliche sog. Molekulardestillation aus. Trotz langandauernder Vorentgasung bei 0,05 mm und 60° konnte eine geringe Verunreinigung des Destillates durch Spritzen des Destillationsgutes bei der ersten Destillation nicht vermieden werden. Das Destillat, welches bei Drucken von unter 0,001 mm bis 140° übergang, wurde deshalb einer nochmaligen Destillation unter denselben Bedingungen unterworfen. Nach dieser zweiten Destillation erhielt man 129,3 g eines klaren, orangebraunen, dickflüssigen Öls, welches zwischen 90—140° destillierte. Diese schwerer flüchtigen Anteile werden im folgenden als Fraktion A bezeichnet.

Daneben wurden in der mit Aceton-Kohlendioxydschnee gekühlten Ausfrieretasche 9,65 g einer leichter flüchtigen, stark riechenden, beweglichen Flüssigkeit aufgefangen, welche Fraktion B genannt wurde.

Beide Fraktionen wurden getrennt verarbeitet. In der Übersicht I sind die bisher erwähnten Operationen schematisch zusammengestellt.

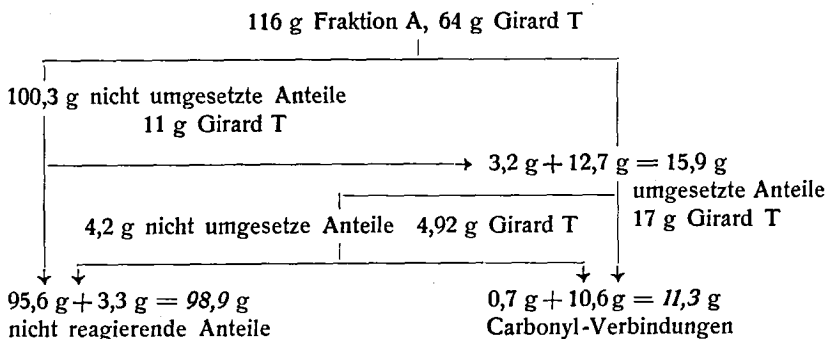
### Übersicht I.



### 3. Abtrennung der Carbonyl-Verbindungen

Aus der Fraktion A wurden die Carbonyl-Verbindungen durch mehrmalige Behandlung mit Girard-Reagens T abgetrennt. Die Reaktion führte man nach einer von *L. Ruzicka* und *V. Prelog*<sup>2)</sup> angegebenen Vorschrift durch; sinngemäss wurden die jeweilig verwendeten Mengen des Girard-Reagens T geändert. Der Verlauf der Trennung (die Gewichtsmengen der erhaltenen Fraktionen und der angewandten Mengen von Girard-Reagens T) ist in der Übersicht II dargestellt.

Übersicht II.



Aus der bei der Molekulardestillation in der Ausfrierflasche aufgefangenen leichter flüchtigen Fraktion B wurden durch einmalige Behandlung mit Girard-Reagens T 2,5 g Carbonyl-Verbindungen abgetrennt. Die Menge der nicht umgesetzten Anteile betrug 5,5 g.

### 4. Chromatographische Auftrennung und Isolierung einzelner Verbindungen

#### a) Carbonyl-Verbindungen

In der Übersicht III ist der Verlauf der chromatographischen Auftrennung der Carbonyl-Verbindungen aus der Fraktion A dar-

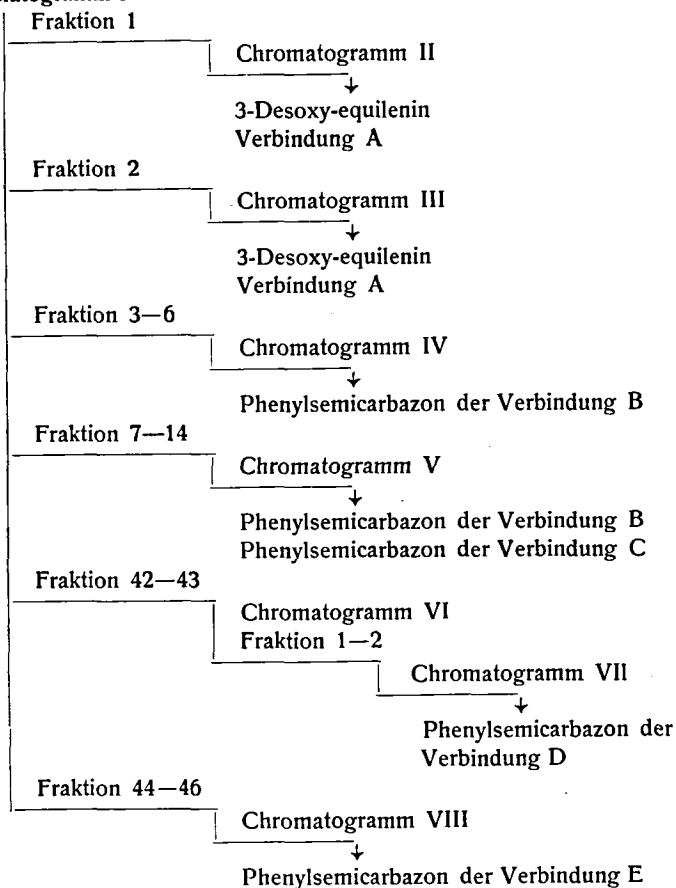
<sup>2)</sup> Helv. 26, 986 (1943).

gestellt mit der Angabe der aus den verschiedenen Chromatogrammen isolierten Verbindungen.

### Übersicht III.

10,8 g Carbonyl-Verbindungen aus der Fraktion A

#### Chromatogramm I



10,8 g der erhaltenen Carbonyl-Verbindungen wurden in 100 ccm Benzol gelöst und an 324 g Aluminiumoxyd (Akt. 2-3) chromatographiert (Chromatogramm I). Die Menge des Eluierungsmittels betrug 100 ccm pro Fraktion.

*Chromatogramm I*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1	Benzol	1,18	3-Desoxy-equilenin Verbindung A
2	Benzol	1,28	3-Desoxy-equilenin Verbindung A
3—6	Benzol	1,29	Verbindung A
7—14	Benzol	1,06	
15—41	Benzol	2,14	
42—43	Äther	1,89	
44—46	Äther	1,05	
47—52	Äther	0,10	
53—55	Methanol	0,39	

Alle Fraktionen waren gelbe oder gelbbraune Öle. Nur aus der Fraktion 1 kristallisierte nach Bespritzen mit Petroläther etwa 15 mg des rohen 3-Desoxy-equilenins. Das nach dem Abtrennen der kristallisierten Anteile zurückgebliebene Öl der Fraktion 1, sowie die Fraktionen 2, 3—6 und 7—14 wurden deshalb einer zweiten chromatographischen Analyse an der 30-fachen Menge Aluminiumoxyd unterworfen. Chromatogramme II, III, IV und V.

Aus den Fraktionen 1—3 des Chromatogramms II (siehe unten) konnte nach Zugabe von Petroläther das 3-Desoxy-equilenin erhalten werden, während aus den Fraktionen 10—12 die Verbindung A kristallisierte. In diesem Chromatogramm II wurden 0,88 g (Fraktion I 1) an 26 g Aluminiumoxyd (Akt. 1—2) chromatographiert. Pro Fraktion wurde mit 30 ccm Lösungsmittel eluiert.

*Chromatogramm II*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—3	Benzol	0,41	3-Desoxy-equilenin
4—8	Benzol	0,19	
9	Äther	0,06	
10—12	Äther	0,08	Verbindung A
13—15	Äther	0,03	
16—18	Methanol	0,10	



Im Chromatogramm III wurde die Fraktion 2 des Chromatogramms I aus 30 ccm Benzol an 39 g Aluminiumoxyd der Aktivität 1—2 chromatographiert; pro Fraktion verwendete man 30 ccm Eluierungsmittel.

*Chromatogramm III*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—2	Benzol	0,29	3-Desoxy-equilenin
3—13	Benzol	0,395	
14—19	Äther	0,275	Verbindung A
20—21	Äther	0,02	
22—24	Methanol	0,30	

Die ersten Benzoleluate gaben nach Bespritzen mit Petroläther und längerem Stehen bei  $-10^{\circ}$  das rohe 3-Desoxy-equilenin. Aus den ersten Äthereluaten kristallisierte nach Zugabe von Petroläther bei  $-10^{\circ}$  die Verbindung A.

Aus den übrigen Fraktionen dieser Chromatogramme konnten keine kristallisierten Verbindungen erhalten werden.

*3-Desoxy-equilenin*

Die aus den Chromatogrammen I, II und III stammenden Kristallisate (etwa 50 mg) wurden mehrmals aus Methanol umkristallisiert und nachher bei 0,005 mm und  $115^{\circ}$  sublimiert. Die so erhaltenen farblosen Nadeln schmolzen bei  $155-157^{\circ}$ .

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +117^{\circ} (\pm 3^{\circ}) \quad (c = 0,854 \text{ in Chloroform})$$

3,612 mg Substanz gaben 11,407 mg  $\text{CO}_2$  und 2,429 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}$	Ber.	C 86,36 %	H 7,25 %
	Gef.	C 86,18 %	H 7,53 %

Das Absorptionsspektrum im U.V. wurde in alkoholischer Lösung aufgenommen (vgl. Fig. 1, Seite 24).

Mikrohydrierung. 3,227 mg Substanz wurden in 2 ccm Eisessig und 1 Tropfen konzentrierter Salzsäure mit einem Katalysator aus 15 mg vorhydriertem Platinoxid hydriert. Es wurden

0,928 ccm H<sub>2</sub> (20°, 734 mm), entsprechend 2,9 Mol, verbraucht. Das Hydrierungsprodukt wurde in Äther aufgenommen, mit Wasser und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und die ätherische Lösung eingedampft. Nach Bespritzen des Rückstandes mit wenig Petroläther kristallisierte in farblosen Nadeln eine Substanz, welche durch Schmelzpunkt und Mischprobe als 3-Desoxyhexahydro-equilenin identifiziert werden konnte. Das 3-Desoxyhexahydro-equilenin war durch Hydrierung von natürlichem Equilenin in saurer Lösung, wie sie von *L. Ruzicka*, *P. Müller* und *E. Mörgeli*<sup>3)</sup>, sowie von *E. Marker* und *E. Rohrmann*<sup>4)</sup> ausgeführt wurde, hergestellt worden.

### Verbindung A

Nach zweimaligem Umkristallisieren des aus den Chromatogramm-Fractionen I 1—6, II 10—12 und III 14—19 erhaltenen Rohproduktes (insgesamt etwa 35 mg) aus Petroläther und wässrigem Methanol, wurde dieses mehrmals bei 0,01 mm und 50° fraktioniert sublimiert. Die in farblosen Nadeln kristallisierende Verbindung, welche mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung gab, schmolz bei 93,5—94,5°.

$$[\alpha]_D = 0^\circ (\pm 2^\circ)$$

3,684 mg Substanz gaben 11,061 mg CO<sub>2</sub> und 3,143 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O	Ber.	C 82,06 %	H 9,55 %
	Gef.	C 81,94 %	H 9,54 %

Semicarbazon. 3,6 mg Semicarbazid-chlorhydrat wurden mit 7,2 mg Natriumacetat zu einem Brei zerrieben und hierauf mit 0,5 ccm Methanol versetzt. Das ausfallende Natriumchlorid wurde abzentrifugiert und die methanolische Lösung des Semicarbazids zu 3,6 mg der Verbindung A gegeben. Beim Erwärmen auf dem Wasserbade trat klare Lösung ein, und nach einiger Zeit schied in der Kälte das Semicarbazon der Verbindung A aus. Nach dem Umkristallisieren aus wässrigem Alkohol schmolz es bei 105—107°.

<sup>3)</sup> Helv. 21, 1394 (1938).

<sup>4)</sup> Am. Soc. 61, 3314 (1939).

Die Absorptionsspektren des Ketons und seines Semicarbazon wurden in alkoholischer Lösung aufgenommen. (Vgl. Fig. 4, Kurven 1, 2, Seite 33.)

Im Chromatogramm IV wurden die Fraktionen 3—6 des Chromatogramms I aus 30 ccm Benzol an 38 g Aluminiumoxyd der Aktivität 1—2 adsorbiert; die Menge des Lösungsmittels betrug pro Fraktion 30 ccm.

*Chromatogramm IV*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—7	Benzol	0,29	Verbindung B
8—10	Äther	0,18	Verbindung A
11—14	Äther	0,12	
15—17	Methanol	0,70	

Die kleine Menge der Verbindung A aus den Äthereluaten wurde mit der früher erhaltenen vereinigt.

Nach einem Versuche der Herstellung eines Phenylsemicarbazons der Fraktion 2, aus welcher ein kristallisiertes Produkt erhalten werden konnte, wurden die Fraktionen 1—7 vereinigt und mit Phenylsemicarbazid umgesetzt.

*Verbindung B*

Phenylsemicarbazon. 290 mg Fraktion IV 1—7, 290 mg Phenylsemicarbazid und 8 ccm Methanol wurden nach Zugabe einiger Tropfen Eisessig wenige Minuten auf dem Wasserbade gekocht. Nachdem vorerst eine klare Lösung entstand, bildete sich nach kurzer Zeit ein gelblicher, schwerlöslicher Niederschlag. Er schmolz ungenau bei 208—215°. Nach 4-maligem Umkristallisieren aus Chloroform-Methanol blieb der Schmelzpunkt konstant 216—218°.

$$[\alpha]_D = 0^\circ (\pm 2^\circ)$$

3,718 mg Substanz gaben 9,210 mg CO<sub>2</sub> und 2,544 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>N<sub>6</sub> Ber. C 68,04 % H 7,61 % N 17,63 %  
 Gef. C 67,60 % H 7,66 % N 17,11 %

Die Gesamtmenge Phenylsemicarbazon der Verbindung B betrug ca. 350 mg.

Im Chromatogramm V wurden die Fraktionen 7—14 des Chromatogramms I (1,09 g) aus 30 ccm Äther an 32 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1—2) chromatographiert. Pro Fraktion verwendete man 30 ccm Eluierungsmittel.

*Chromatogramm V*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—12	Äther	0,23	Verbindung B
13—15	Methanol	0,80	Verbindung C

Nach einem Vorversuch wurden die Fraktionen 1—12 vereinigt und mit Phenylsemicarbazid behandelt. Aus diesen Fraktionen konnte wiederum das Phenylsemicarbazon der Verbindung B erhalten werden.

Aus den Methanoleluaten kristallisierte nach kurzer Zeit das Phenylsemicarbazon der Verbindung C.

*Verbindung C*

Phenylsemicarbazon. Das Rohprodukt (ca. 150 mg), welches bei 180—183° schmolz, wurde bis zum konstanten Schmelzpunkt von 184—186° 4-mal aus Methanol umkristallisiert. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$$[\alpha]_D = 0^\circ (\pm 2^\circ)$$

3,669 mg Substanz gaben 9,457 mg CO<sub>2</sub> und 2,817 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub> Ber. C 69,94 % H 8,51 % N 12,24 %  
 Gef. C 70,34 % H 8,59 % N 12,26 %

Während aus dem Chromatogramm VI die Verbindung F erhalten wurde, konnte aus den Chromatogrammen VII und VIII direkt keine kristallisierte Verbindung isoliert werden.

*Chromatogramm VI*

Die Fraktionen I 42 und I 43 vom Chromatogramm I (1,8 g) wurden aus 30 ccm Benzol an 54 g Aluminiumoxyd (Aktivität 3—4) adsorbiert und mit je 30 ccm Lösungsmittel pro Fraktion eluiert.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—2	Benzol	1,08	Verbindung F
3—10	Benzol	0,21	
11—17	Äther	0,08	
18—20	Methanol	1,75	

*Chromatogramm VII*

Die Fraktionen VI 1 und VI 2 (1,08 g) wurden aus 30 ccm Benzol an 30 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2—3) chromatographiert. Die Menge Eluierungsmittel pro Fraktion betrug 30 ccm.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—8	Benzol	0,36	Verbindung D
9—13	Äther	0,43	
14—17	Methanol	0,15	

*Chromatogramm VIII*

Die Fraktionen I 44—46 (0,95 g) wurden aus 30 ccm Benzol an 28 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1—2) adsorbiert und mit 30 ccm Lösungsmittel pro Fraktion eluiert.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1—11	Benzol	0,47	Verbindung E
12—18	Äther	0,05	
19—22	Methanol	0,38	

*Verbindung D*

Phenylsemicarbazon. Die Fraktionen VII 9—13 wurden zusammengewaschen und mit Phenylsemicarbazid behandelt. Nach dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur fielen gelbliche Blättchen vom Schmelzpunkt 175—180° aus. Nach 6-maligem Umkristallisieren aus Methanol schmolzen die farblosen Kristalle konstant bei 183—185°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$$[\alpha]_D = 0^\circ (\pm 2^\circ) \text{ (in Chloroform)}$$

3,702 mg Substanz gaben 9,472 mg CO<sub>2</sub> und 3,031 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	Ber.	C 69,53 %	H 9,05 %	N 12,16 %
	Gef.	C 69,82 %	H 9,16 %	N 12,19 %

*Verbindung E*

Phenylsemicarbazon. Die Fraktionen VIII 1—11 wurden zusammen mit 0,5 g Phenylsemicarbazid, 5 ccm Methanol und einigen Tropfen Eisessig kurze Zeit auf dem Wasserbade gekocht. Beim Stehen in der Kälte schied sich aus der klaren Lösung ein in Alkohol gut löslicher Niederschlag vom Schmelzpunkt 165—173° aus. Trotz mehrmaligem Umkristallisieren aus wässrigem Methanol gelang es nicht, eine Substanz mit scharfem Schmelzpunkt zu erhalten. Die Verbindung schmolz unscharf bei 168—178°.

$$[\alpha]_D = 0^\circ (\pm 2^\circ) \text{ (in Chloroform)}$$

3,818 mg Substanz gaben 9,695 mg CO<sub>2</sub> und 3,126 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> O <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	Ber.	C 69,53 %	H 9,05 %	N 12,16 %
	Gef.	C 69,30 %	H 9,16 %	N 11,80 %

*Verbindung F*

Die Fraktionen VI 18—20 wurden im „molecular-still“ bei 110—140° sublimiert. Aus den bis 140° übergegangenen Ölen schied sich aus der ätherischen Lösung in der Kälte farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 183—187° aus. Nach der Sublimation bei 0,01 mm und 140° kristallisierte man sie aus Essigester um

und sublimierte nochmals unter den gleichen Bedingungen. Der Schmelzpunkt blieb nach der Umkristallisation konstant 189,5—190,5°.

3,806 mg Substanz gaben 10,461 mg CO<sub>2</sub> und 1,900 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub> Ber. C 74,52 % H 5,63 %  
 Gef. C 75,01 % H 5,59 %

b) Mit Girard-Reagens T nicht reagierende  
 Anteile der Fraktionen A und B

*Verbindung G*

Die bei der Behandlung der leichter flüchtigen Öle (Fraktion B Übersicht I) mit Girard-Reagens T nicht umgesetzten Anteile (5,5 g) wurden an 160 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2—3) aus einer Lösung in 50 ccm Benzol adsorbiert und dann mit 50 ccm Lösungsmittel pro Fraktion eluiert.

*Chromatogramm IX*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	
1—6	Benzol	2,9	
7	Benzol	0,16	öliges Allophanat
8—16	Benzol	0,75	kristallines Allophanat
17—18	Benzol	0,05	öliges Allophanat
19—21	Benzol	0,06	
22—33	Äther	1,15	
34—36	Methanol	0,24	

Alle Fraktionen waren ölig. Die Fraktion 8 (0,109 g) wurde mit 2 ccm gesättigter ätherischer Cyansäure-Lösung zwei Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach dem Verdampfen des Äthers blieb ein gelblich-weisser Rückstand zurück, welcher sechsmal mit Benzol ausgekocht wurde. Aus dem öligen Rückstand der Benzol-Auszüge konnte durch Umlösen aus wässrigem Methanol ein kristallisiertes Allophanat vom Schmelzpunkt 156—160° er-

halten werden. Nach sechsmaligem Umfällen aus Methanol-Wasser schmolz die Verbindung konstant bei 173—175°. Auf analoge Weise konnte dasselbe Allophanat auch aus den Fraktionen 9—16 erhalten werden, während die Fraktionen 7 und 17—18 nur ölige Produkte ergaben.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{25} = +7^\circ (\pm 4^\circ) \quad (c = 0,488 \text{ in Chloroform})$$

3,862; 3,560 mg Substanz gaben 9,167; 8,449 mg CO<sub>2</sub> und 2,759; 2,541 mg H<sub>2</sub>O

$C_{15}H_{22}O_3N_2$	Ber. C 64,72%	H 7,97%
	Gef. C 64,78; 64,76%	H 7,99; 7,99%

Die Verbindung zeigte mit Tetranitro-methan eine starke Gelbfärbung, nahm jedoch bei einem Hydrierungsversuch (2,865 mg Substanz in 2 ccm Eisessig, Katalysator aus 10 mg Platinoxid) keinen Wasserstoff auf.

Spaltung des Allophanates. 25 mg des Allophanates wurden eine Stunde auf dem Wasserbade mit 1 ccm 10-proz. methanolischer Kalilauge gekocht. Die mit 5 ccm Wasser verdünnte Lösung extrahierte man mehrere Male mit Äther. Nach dem Abdampfen des Äthers verblieben 18 mg eines öligen Rückstandes, welcher nach Zugabe von Petroläther kristallisierte. Nach zweimaligem Umlösen aus Petroläther wurde bei 0,02 mm und 60° sublimiert. Die feinen farblosen Nadeln schmolzen bei 88,5—90,5°.

3,704 mg. Substanz gaben 10,959 mg CO<sub>2</sub> und 3,431 mg H<sub>2</sub>O

$C_{13}H_{20}O$	Ber. C 81,20%	H 10,48%
	Gef. C 80,74%	H 10,37%

Im Verlaufe der Untersuchung der mit Girard-Reagens T nicht umgesetzten Anteile der Fraktion A konnte derselbe Alkohol in erheblicher Menge (ca. 350 mg) direkt isoliert werden (siehe Chromatogramm XIII). Die Mischprobe mit dem aus dem Allophanat Gewonnenen ergab keine Depression.

$$[\alpha]_D^{24} = -5^\circ (\pm 2^\circ) \quad (c = 1,276 \text{ in Chloroform})$$



3,614 mg Substanz gaben 10,743 mg CO<sub>2</sub> und 3,354 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O Ber. C 81,20% H 10,48%  
 Gef. C 81,12% H 10,38%

Die Verbindung gab eine starke Gelbfärbung mit Tetranitromethan.

Oxydation zum Keton. 57,8 mg des Alkohols wurden in 1 ccm Eisessig gelöst. Zu dieser Lösung liess man bei 10<sup>0</sup> langsam 1,28 ccm Chromsäure-Lösung (titrierter Gehalt 20 mg Chromtrioxyd) zutropfen. Nach dreistündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde in 7 ccm Wasser gegossen und hierauf fünfmal mit 5 ccm Äther ausgeschüttelt. Die mit 2-n. Natriumhydroxyd-Lösung und Wasser neutral gewaschene ätherische Lösung dampfte man ein. Der Rückstand (35 mg) wurde aus 5 ccm Petroläther an 1 g Aluminiumoxyd (Aktivität 1—2) adsorbiert. Während sich in den Petroläthereluatn das Keton (ca. 25 mg) vorfand, erschienen in den Benzoleluatn ca. 10 mg des unveränderten Alkohols.

Semicarbazon. 25 mg Semicarbazid-chlorhydrat wurden mit 50 mg Natriumacetat zu einem Brei zerrieben und hierauf mit 1 ccm Methanol versetzt. Das ausfallende Natriumchlorid wurde abzentrifugiert und die methanolische Lösung des Semicarbazids zu den 25 mg Keton gegeben. Nach kurzer Zeit schied sich das Semicarbazon des Ketons aus. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Methanol blieb der Schmelzpunkt konstant 178—180<sup>0</sup>.

$[\alpha]_D^{24} = 0^0 (\pm 2^0)$  (c = 0,852 in Chloroform)

3,749 mg Substanz gaben 9,317 mg CO<sub>2</sub> und 2,854 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>ON<sub>3</sub> Ber. C 67,93% H 8,56%  
 Gef. C 67,82% H 8,52%

Jodoformprobe<sup>5)</sup>. 20 mg Keton wurden in 2 ccm Dioxan gelöst. Dazu gab man 0,3 ccm 10-proz. Natriumhydroxyd-Lösung und unter Umschütteln Jod-Jodkalium-Lösung (2 g Kaliumjodid, 1 g Jod, 8 ccm Wasser) bis zur bleibenden Jodfärbung. Hierauf

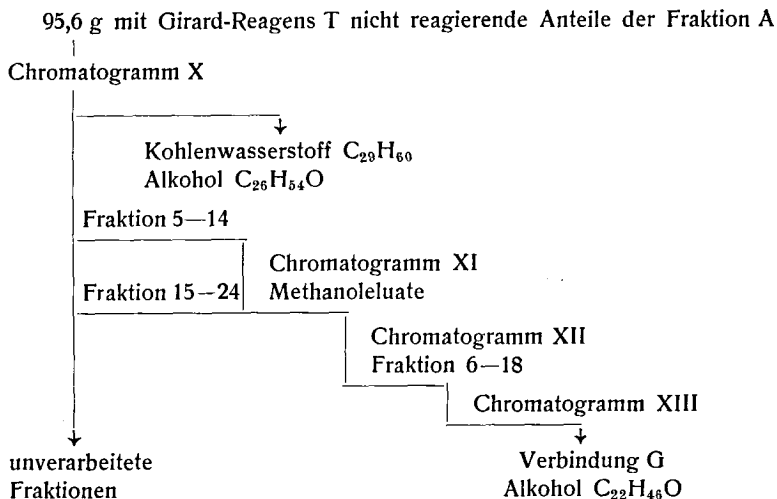
<sup>5)</sup> R. C. Fuson und Ch. W. Tullock, Am. Soc. 56, 1638 (1934).

erwärmte man auf dem Wasserbad auf  $60^{\circ}$ , wobei die Jodfarbe wieder verschwand; nach Zugabe einiger Tropfen Jod-Jodkalium-Lösung blieb sie bestehen. Das überschüssige Jod wurde mit wenigen Tropfen 10-proz. Natriumhydroxyd-Lösung entfärbt. Nachdem mit Wasser verdünnt worden war, schied sich nach kurzer Zeit das Jodoform in gelben Plättchen vom Schmelzpunkt  $119-120^{\circ}$  aus.

Dieser Befund liess auf das Vorhandensein einer  $\text{CH}_3\text{CO}$ -Gruppierung schliessen.

Die nachstehende Übersicht IV orientiert über die chromatographische Auftrennung der mit Girard-Reagens T nicht reagierenden Anteile der Fraktion A.

#### Übersicht IV.



Die Hauptmenge der bei der Behandlung mit Girard-Reagens T nicht umgesetzten Anteile (95,6 g) wurden in 400 ccm Benzol gelöst und an 2500 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2,5—3) chromatographiert (Chromatogramm X). Die Menge des Eluierungsmittels betrug pro Fraktion 500 ccm.

*Kohlenwasserstoff C<sub>29</sub>H<sub>60</sub>*

Aus der Fraktion 1 des Chromatogramms X kristallisierte nach Zugabe von Petroläther bei  $-10^{\circ}$  der Kohlenwasserstoff in Form glänzender farbloser Plättchen aus. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Essigester schmolzen sie bei  $61-62^{\circ}$ .

3,668 mg Substanz gaben 11,452 mg CO<sub>2</sub> und 4,841 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	Ber.	C 85,14 %	H 14,86 %
C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	Ber.	C 85,21 %	H 14,79 %
	Gef.	C 85,20 %	H 14,77 %

Über die Ergebnisse der röntgenographischen Untersuchung ist im theoretischen Teil dieser Arbeit berichtet worden.

*Chromatogramm X*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1	Benzol	7,58	KW C <sub>n</sub> H <sub>2n+2</sub>
2-4	Benzol	6,49	
5-11	Benzol	11,23	Alkohol C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> O
12-14	Benzol	3,35	
15-24	Benzol	3,58	
25-64	Benzol	5,05	
65-103	Äther	27,31	
104-115	Methanol	25,42	

*Alkohol C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>O*

Nach Zugabe von Methanol zu den Fraktionen 5-11 konnte der in Methanol, Aceton und Essigester schwer lösliche Alkohol in Form farbloser Blättchen vom Schmelzpunkt  $78-79^{\circ}$  isoliert werden.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = 0^{\circ} (\pm 2^{\circ}) \quad (c = 1,045 \text{ in Chloroform})$$

3,636 mg Substanz gaben 10,869 mg CO<sub>2</sub> und 4,596 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> O	Ber.	C 81,62 %	H 14,20 %
	Gef.	C 81,58 %	H 14,14 %

Acetat: 50 mg des Alkohols wurden in 1 ccm Pyridin mit 0,5 ccm Essigsäure-Anhydrid erwärmt, bis eine klare Lösung entstand. Nach dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur dampfte man das Pyridin im Vakuum ab und nahm den Rückstand in Äther auf. Die ätherische Lösung wurde mit 2 n-Salzsäure, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen. Der Rückstand der ätherischen Lösung kristallisierte aus Aceton in Form farbloser Blättchen vom Schmelzpunkt 61,5—62° aus. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

3,790 mg Subst. gaben 10,940 mg CO<sub>2</sub> und 4,552 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>28</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub>	Ber.	C 78,80 %	H 13,70 %
	Gef.	C 78,77 %	H 13,44 %

Oxydation zur Säure<sup>6)</sup>: 50 mg Substanz wurden in 2 ccm Eisessig in der Wärme gelöst. Dazu tropfte man langsam eine Lösung von 55 mg Chromtrioxyd in 1 ccm Eisessig und 1 Tropfen Wasser. Nach einer halben Stunde wurde in 15 ccm Wasser gegossen und diese wässrige Lösung dreimal mit warmem Benzol extrahiert. Nach dem Abdampfen des Benzol nahm man den Rückstand in 5 ccm Äther auf. Das Natriumsalz der Säure wurde aus der ätherischen Lösung durch Schütteln mit Natriumäthylat-Lösung ausgefällt. Das Natriumsalz wurde abzentrifugiert, mit Äther gewaschen und mit Salzsäure zersetzt. Die freie Säure wurde mit Äther aus der sauren Lösung extrahiert. Nach fünfmaligem Umkristallisieren aus Aceton schmolzen die farblosen Blättchen bei 81,5—83°.

3,780 mg Substanz gaben 10,909 mg CO<sub>2</sub> und 4,474 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	Ber.	C 78,70 %	H 13,22 %
	Gef.	C 78,77 %	H 13,24 %

Die Zusammensetzung des Alkohols, die auf Grund der Analysen des Alkohols, seines Acetates und der entsprechenden Säure als C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>O gefunden wurde, konnte mit Hilfe der röntgenographischen Untersuchung (siehe theoretischer Teil) bestätigt werden.

<sup>6)</sup> A. Pollard, A. C. Chibnall, S. H. Piper, *Biochem. J.* **25**, 2111 (1931).

Bei der weitem Untersuchung des Chromatogramms X wurden die Fraktionen 5—14 zusammengenommen und erneut an Aluminiumoxyd der Aktivität 2 chromatographiert. Die Trennung in diesem Chromatogramm XI befriedigte nicht, da die Hauptmenge der Substanz erst mit Methanol eluiert wurde. Zusammen mit den Fraktionen 15—24 des Chromatogramms X chromatographierte man diese Methanoleluate an 480 g Aluminiumoxyd der Aktivität 2. 16,0 g Substanz wurden aus 100 ccm Benzol adsorbiert und mit 100 ccm Lösungsmittel pro Fraktion eluiert.

*Chromatogramm XII*

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g
1—5	Benzol	2,76
6—18	Benzol	5,80
19—43	Benzol	3,35
44—56	Äther	1,72
57—60	Methanol	1,70

Der Trennungsgrad reichte jedoch noch nicht aus, um kristallisierte Produkte zu erhalten. Im Chromatogramm XIII wurden deshalb die Fraktionen 6—18 weiter aufgetrennt.

*Chromatogramm XIII*

5,8 g Substanz wurden aus 50 ccm Benzol an 170 g Aluminiumoxyd (Aktivität 2) adsorbiert und mit 75 ccm Lösungsmittel pro Fraktion eluiert.

Nr.	Eluierungsmittel	Eluat g	isolierte Verbindung
1	Benzol	0,01	Verbindung G Alkohol C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O
2—13	Benzol	3,68	
14—17	Benzol	0,69	
18—25	Äther	0,96	
26—29	Methanol	0,40	

Die Fraktionen 2—13 wurden vereinigt und im „molecular-still“ bei 0,01 mm sublimiert. Aus den ersten Anteilen, welche bei 55—80° übergangen, konnte nach Bespritzen mit Petroläther die Verbindung G in Form mit Öl vermengter Nadeln isoliert werden. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Petroläther und erneuter Sublimation bei 0,01 mm und 55° schmolz die farblose Verbindung bei 88,5—90,5°. Sie erwies sich als identisch mit dem über das Allophanat aus der leichter flüchtigen Nichtketonfraktion erhaltenen Alkohol. Die Gesamtmenge an Alkohol betrug ca. 350 mg.

*Alkohol C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>O*

Nachdem im „molecular-still“ zwischen 80—110° nichts sublimierte, ging bei 110—125° eine gelblich-weiße halbkristalline Masse über. Beim Stehen derselben in Essigester in der Kälte fielen langsam kleine, farblose Plättchen aus, welche nach viermaligem Umkristallisieren aus demselben Lösungsmittel bei 74—75° schmolzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{21} = 0^\circ (\pm 2^\circ) \quad (c = 1,382 \text{ in Chloroform})$$

3,650 mg Substanz gaben 10,798 mg CO<sub>2</sub> und 4,603 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O	Ber.	C 80,90 %	H 14,20 %
	Gef.	C 80,74 %	H 14,11 %

---

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

## Zusammenfassung

Die neutralen Lipoide aus dem Harn trächtiger Stuten wurden zuerst einer Hydrolyse mit methanolischer Kalilauge unterworfen und darauf die unverseifbaren Anteile in einer Kurzweg-Destillations-Apparatur im Hochvakuum destilliert. Aus der bis 140° übergehenden Fraktion liessen sich mit Girard-Reagens T die carbo-nylhaltigen Verbindungen abtrennen. Durch chromatographische Analyse der erhaltenen Fraktionen konnten folgende Verbindungen isoliert werden:

Nr.	Name	Formel	Smp.	$[\alpha]_D$
1	3-Desoxy-equilenin	$C_{18}H_{18}O$	155—157°	+117° ( $\pm 3^\circ$ )
2	Kohlenwasserstoff	$C_nH_{2n+2}$	63—64°	
3	Gesättigte Alkohole			
	a)	$C_{26}H_{54}O$	78—79°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
	b)	$C_{22}H_{46}O$	74—75°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
4	Verbindung A	$C_{13}H_{18}O$	93—94°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
5	Verbindung B	$C_{13}H_{22}O_2$		
	Bis-Phenylsemicarbazon		216—218°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
6	Verbindung C	$C_{13}H_{22}O_2$		
	Phenylsemicarbazon		184—186°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
7	Verbindung D	$C_{13}H_{24}O_2$		
	Phenylsemicarbazon		183—185°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
8	Verbindung E	$C_{13}H_{24}O_2$		
	Phenylsemicarbazon		168—178°	0° ( $\pm 2^\circ$ )
9	Verbindung F	$C_{20}H_{18}O_4$	189—190°	
10	Verbindung G	$C_{13}H_{20}O$	89—90°	-5° ( $\pm 2^\circ$ )

## Curriculum vitae

Als Sohn des Johann Jakob Führer und der Laura geb. Emch wurde ich am 15. Mai 1918 in Uzwil geboren. Nach dem Besuch von Primar- und Sekundarschule in Wattwil trat ich im Frühjahr 1933 in die Kantonsschule St. Gallen ein, welche ich mit der Maturität (Typus C) im Herbst 1937 abschloss. Von da an studierte ich an der chemischen Abteilung der Eidgenössischen Technischen Hochschule und erwarb anfangs 1943 das Diplom als Ingenieur-Chemiker. Seit März 1943 arbeitete ich, häufig unterbrochen durch den Aktivdienst, im Laboratorium von Herrn Prof. Dr. *L. Ruzicka* an der vorliegenden Promotionsarbeit.