

Zusammenfassung.

Es wurde die Abhängigkeit der polarographischen Formaldehyd-Welle von der Konzentration ungepuffelter, neutraler Grundlösungen geprüft und dabei besonders in hochkonzentrierten Lösungen von CaCl_2 und $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ eine Vergrößerung der Formaldehydwelle festgestellt.

Es wurde der Einfluss organischer Lösungsmittel auf die Formaldehydwelle untersucht und bei Verwendung von Methanol eine Wellenverminderung, bei Verwendung von Dioxan eine Wellenvergrößerung beobachtet.

Es wurde der Einfluss von polarographischen Vorwellen auf die Formaldehydwelle studiert und daraus auf die Bedeutung von Ionenformen des Formaldehyds beim Reduktionsmechanismus geschlossen.

Zürich, Physikalisch-chemisches
Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule.

192. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

45. Mitteilung¹⁾.

3 α , 12 α -Dioxy-chole-(7)-säure²⁾

von E. Berner, A. Lardon und T. Reichstein.

(30. VI. 47.)

Der durch partielle Acetylierung von Cholsäure-methylester relativ leicht³⁾ erhältliche 3 α -Acetoxy-7 α , 12 α -dioxy-cholansäure-methylester (I)^{a)}^{b)}⁴⁾ liefert beim Erwärmen mit Tosylchlorid und Pyridin auf 50° einen Acetoxy-oxy-cholensäure-methylester, von dem *Grand* und *Reichstein*^{b)} vermuteten, daß ihm Formel (VII) zukäme. Derselbe Stoff lässt sich in etwas besserer Ausbeute durch Behandlung von (I) mit POCl_3 und Pyridin bei Zimmertemperatur bereiten⁵⁾. Die im folgenden beschriebenen Umsetzungen bestätigen die angenommene Konstitution, wenn auch nicht mit Sicherheit entschieden werden konnte, ob (VII) wirklich ganz einheitlich war oder ob das Präparat noch geringe Mengen von schwer abtrennbaren Begleitstoffen, beispielsweise von Isomeren, enthielt. Die aus (VII) durch Verseifung erhaltene Säure (IV) schmolz bei 210° und zeigte

¹⁾ 44. Mitteilung *A. Katz*, *Helv.* **30**, 883 (1947).

²⁾ Formulierung der räumlichen Lage der Substituenten an den Ringen C und D nach *M. Sorkin*, *T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 1918 (1946).

³⁾ Bezüglich der Ausbeute vgl. experimentellen Teil.

⁴⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe auf der Formelseite.

⁵⁾ Dieselbe Reaktion wurde kürzlich zur Herstellung von γ -Cholesteryl-acetat aus 7" β "-Cholestanyl-acetat benutzt. Vgl. eine demnächst erscheinende Arbeit von *W. Buser*.

eine spez. Drehung $[\alpha]_D = +92,6^\circ$ (in Dioxan). Auch der aus (IV) bereitete Methylester (V) und das aus diesem oder direkt aus (VII) hergestellte Methylester-diacetat (VI) konnten krystallisiert erhalten werden¹⁾.

Durch Wasserabspaltung aus Cholsäure sind schon verschiedene Säuren derselben Bruttoformel wie (IV) gewonnen worden. Am bekanntesten ist die Apocholsäure (3 α ,12 α -Dioxy-cholen-(8,14)-säure) (XIII) (α -Apocholsäure nach *Callow*²⁾), deren Konstitution weitgehend gesichert ist. Dasselbe gilt für die 3 α ,12 α -Dioxy-cholen-(14)-säure. Von der von ihm hergestellten β -Apocholsäure nimmt *Callow*²⁾ an, dass sie die Doppelbindung in 8,14-Stellung enthält, sich aber von α -Apocholsäure durch Isomerie am C-Atom 9 unterscheidet, während *Barton*³⁾ glaubt, dass sich in dieser Säure die Doppelbindung in 7,8-Stellung befindet, ohne Isomerie an C-9. Für die „Isodioxy-cholensäure“ von *Yamasaki*⁴⁾ schlägt *Callow*²⁾ die Formulierung mit einer Doppelbindung in 8,9-Stellung vor, doch soll es sich nach *Barton*³⁾ bei dieser Säure um ein Umlagerungsprodukt handeln, das nicht mehr das Cholanskelett enthält. Endlich ist von *Kendall* u. Mitarb.⁵⁾ eine 3 α ,12 β -Dioxy-cholen-(9,11)-Säure bereitete worden, deren Konstitution gut gesichert ist⁶⁾. In der folgenden Tabelle sind die Schmelzpunkte und spez. Drehungen $[\alpha]_D$ der genannten Säuren und ihrer Derivate zusammengestellt, S. 1544.

Aus der Tabelle ergibt sich, dass die von uns hergestellte Dioxy-cholensäure (IV) von den 5 anderen deutlich verschieden ist.

Durch Oxydation mit 1 Mol CrO₃ lieferte (VII) den 3 α -Acetoxy-12-keto-cholen-(7)-säure-methylester (II)^{b)}, der mit Tetranitromethan noch Gelbfärbung zeigte. Bei weiterer Einwirkung von CrO₃ auf (II) wurde in sehr schlechter Ausbeute ein Stoff erhalten, dessen Analyse auf die Formel C₂₇H₃₈O₆ stimmte. Er gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr, und seine alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett selektive Absorption mit einem Maximum bei 241 m μ und log $\epsilon = 4,34$. Möglicherweise handelt es sich bei diesem Stoff um das α , β -ungesättigte Keton (III). Aus dem Dioxy-ester (V) entstand bei vorsichtiger Dehydrierung mit CrO₃ ein Diketon der vermutlichen Formel (XII), das sich durch Verseifung in die zugehörige Säure (XI) überführen liess. Bei der Oxydation von (VII) mit Benzopersäure

¹⁾ Das Methylester-diacetat (VI) dürfte wahrscheinlich weitgehend einheitlich gewesen sein, da es bei der Mischprobe mit (XVI) sowie mit 3 α ,12 α -Diacetoxy-cholansäure-methylester eine Schmelzpunktserniedrigung gibt und sich von diesen Stoffen daher durch Krystallisation leicht trennen lässt.

²⁾ R. K. Callow, Soc. **1936**, 462.

³⁾ D. H. R. Barton, Soc. **1946**, 1116.

⁴⁾ K. Yamasaki, Z. physiol. Ch. **220**, 42 (1933).

⁵⁾ R. B. Turner, V. R. Mattox, L. L. Engel, B. F. McKenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **162**, 571 (1946).

⁶⁾ Vgl. V. R. Mattox, R. B. Turner, L. L. Engel, B. F. McKenzie, W. F. McGuckin, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **164**, 569 (1946).

	Freie Säure	Methylester	Methylester-diacetat
3 α ,12 α -Dioxy-cho- len-(7)-säure (IV)	F. 210° [+ 93 D] ^e	F. 64–67° [+ 78 Chf] ^e	F. 101° [+ 145 An] ^e [+ 127 Chf] ^e
Apocholsäure = 3 α ,12 α -Dioxy- cholen-(8,14)-säure (XIII)	F. 176° [+ 50 Al] ^d	F. 84° [+ 47 Chf] ^d	F. 137° [+ 86 Chf] ^d
3 α ,12 α -Dioxy- cholen-(14)-säure	F. 259° [+ 68 Al] ^d	F. 89° [+ 47° Chf] ^d	F. 132,5° [+ 103 Chf] ^d
β -Apocholsäure	F. 163° [+ 79 Al] ¹	F. 84–87° [+ 79 Al] ¹	— —
„Isodioxycholen- säure“	F. 198° [+ 5,9 Al] ² F. 196° [+ 6,9 Al] ³	— —	— —
3 α ,12 ?-Dioxy- cholen-(9,11)-säure	F. 198° [+ 102 Me] ⁴	F. 97° [+ 98 Me] ⁴	F. 85° [+ 200 Chf] ⁴

D = Dioxan, Chf = Chloroform, An = Aceton, Al = Alkohol, Me = Methanol.

wurden zwei Stoffe erhalten, die ein bzw. zwei O-Atome mehr enthielten als (VII). Der erstere stellt möglicherweise das normale Oxyd (VIII) dar, das durch Verseifung und anschliessende Methylierung die Säure (IX) bzw. den Methylester (X) lieferte. Den zweiten Stoff formulieren wir aus Analogiegründen⁵) unter Vorbehalt als (XVII).

Von Interesse sind die mit (VI) durchgeführten Hydrierungsversuche. Bekanntlich werden Cholesten-Derivate mit 7,8-ständiger Doppelbindung bei der Hydrierung mit Platin ohne Aufnahme von Wasserstoff fast quantitativ zu Cholesten-(8,14)-Derivaten umgelagert⁶)⁷)⁵). Von Koprosten-(7)-Derivaten scheint bisher nur eines untersucht worden zu sein, nämlich das u-Ergostadienol (= Koproergostadien-(7,20)-ol-(3 α)), das sich nach *Windaus* und *Auhagen*⁸) sowie nach *Wetter* und *Dimroth*⁹) zum gesättigten u-Ergostanol hydrieren lässt. *Barton* (l. c.) schliesst daraus, dass die Umlagerung von Koprosten-(7)-Derivaten durch aktiviertes Platin langsamer zu verlaufen scheint. Bei der Hydrierung von (VI) erhielten wir neben unverändertem Ausgangsmaterial als einzigen krystallisierten Stoff das bekannte Apocholsäure-methylester-diacetat (XVI). Das gesättigte Desoxycholsäure-methylester-diacetat konnte auch nach Chromatographie der Mutterlaugen und Impfen nicht aufgefunden

¹) R. K. Callow, Soc. **1936**, 462. ²) K. Yamasaki, Z. physiol. Ch. **220**, 42 (1933).

³) H. Wieland, E. Dietz, H. Ottawa, Z. physiol. Ch. **244**, 194 (1936).

⁴) R. B. Turner, V. R. Mattox, L. L. Engel, B. F. McKenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. **162**, 571 (1946).

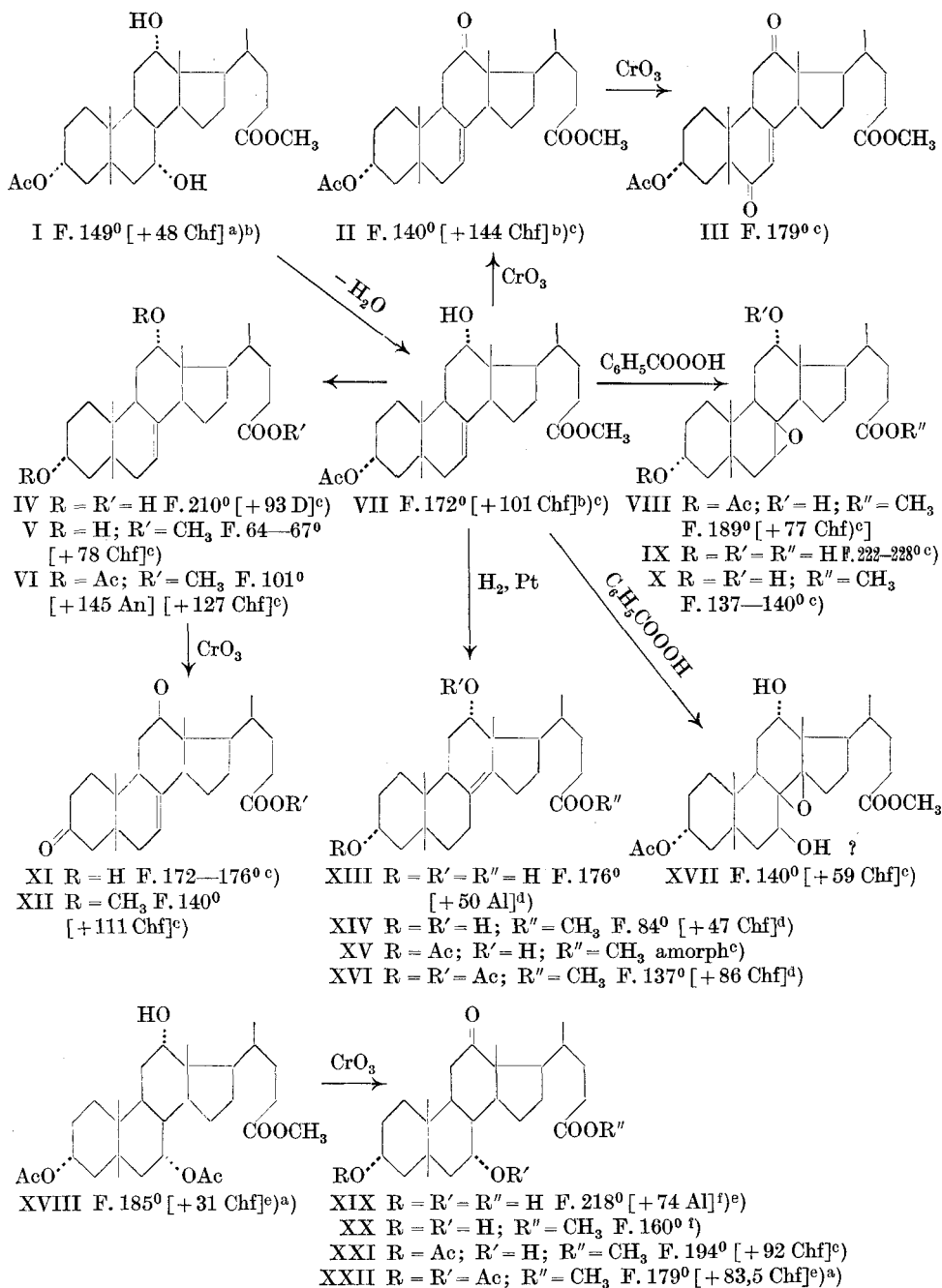
⁵) O. Wintersteiner, M. Moore, Am. Soc. **65**, 1507 (1943).

⁶) γ -Ergostenol: S. von Reichel, Z. physiol. Ch. **226**, 146 (1934).

⁷) γ -Cholestenol: F. Schenck, K. Buchholz, O. Wiese, B. **69**, 2696 (1936).

⁸) A. Windaus, E. Auhagen, A. **472**, 185 (1929).

⁹) F. Wetter, K. Dimroth, B. **70**, 1665 (1937) hydrierten in Gegenwart von konz. HCl, so dass die vollständige Hydrierung auf intermediärer Umlagerung beruhen könnte.



Ac = CH₃·CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform, D = Dioxan, An = Aceton, Al = Alkohol. Fussnoten S. 1546.

werden. (VI) verhält sich somit bei der Hydrierung ähnlich wie die Cholesten-(7)-Derivate, allerdings mit dem Unterschied, daß die Umlagerung nicht quantitativ erfolgt. Möglicherweise besteht ein Gleichgewicht zwischen (VI) und (XVI), doch wurde nicht geprüft, ob sich (XVI) auch in (VI) umlagern lässt. Durch den Übergang von (VI) in (XVI) dürfte die Lage der Doppelbindung in (VI) und ebenso in (IV), (V) und (VII) weitgehend gesichert sein¹⁾. Bei der Hydrierung von (VII) mit PtO_2 in Eisessig wurde nur ein amorphes Reaktionsprodukt (vermutlich (XV)) erhalten, das sich jedoch noch als ungesättigt erwies (Tetranitromethanprobe positiv). Die alkalische Verseifung dieses Stoffes gab eine Säure vom Smp. 172—178° und der spez. Drehung $[\alpha]_D = +38,3^0$ (in Dioxan), bei der es sich wohl um nicht ganz reine Apocholsäure (XIII)^{a)} handeln dürfte.

Schliesslich wurde noch versucht, den Ester (II) auf einem anderen Wege zu bereiten. 3 α ,7 α -Diacetoxy-12 α -oxy-cholansäuremethylester (XVIII)^{e)}^{a)} wurde mit CrO_3 in (XXII)^{e)}^{a)} übergeführt, aus dem durch Verseifung (XIX)^{f)}^{e)} und durch Remethylierung (XX)^{f)}²⁾ erhalten wurden. Durch partielle Acetylierung von (XX) gelang es, ein Mono-acetat vom Smp. 194° zu bereiten, dem Formel (XXI) zukommt, da es sich durch Dehydrierung mit CrO_3 in 3 α -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäuremethylester^{b)} überführen ließ. Das Mono-acetat (XXI) blieb jedoch bei der Behandlung mit POCl_3 in Pyridin unverändert. Ob wirklich die Ketogruppe in 12-Stellung einen so stark hindernden Einfluss auf die Wasserabspaltung ausübt, konnte nicht mehr untersucht werden.

In der folgenden Tabelle sind die spez. Drehungen der Stoffe (IV), (V), (VI), (XIII), (XIV) und (XVI), der entsprechenden gesättigten Verbindungen und der analogen Cholestan- und Ergostan-Derivate zusammengestellt⁵⁾⁶⁾.

^{a)} Pl. A. Plattner, H. Heusser, Helv. **27**, 748 (1944).

^{b)} R. Grand, T. Reichstein, Helv. **28**, 344 (1945).

^{c)} Vgl. experimentellen Teil dieser Arbeit.

^{d)} Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, S. Holtermann, Helv. **28**, 1660 (1945). Frühere Literatur siehe daselbst. Vgl. auch S. Holtermann, Diss. Zürich 1945.

^{e)} H. Wieland, W. Kapitel, Z. physiol. Ch. **212**, 269 (1932).

^{f)} W. Borsche, E. Feske, Z. physiol. Ch. **176**, 109 (1928).

¹⁾ Dioxy-cholen-(8)-säure bleibt ebenso wie Apocholsäure (XIII) bei der Hydrierung unverändert (H. Wieland, E. Dietz, H. Ottawa, Z. physiol. Ch. **244**, 194 (1936)). Dioxy-cholen-(14)-säure wird zu Desoxycholsäure hydriert (F. Boedecker, H. Volk, B. **55**, 2302 (1922)). Dasselbe würde bei der noch unbekannten Dioxycholen-(6)-säure der Fall sein.

²⁾ Dass wirklich dieser und nicht der isomere 7-Keto-ester vorlag, liess sich beweisen, indem eine Probe des Präparates (XX) durch Reduktion nach Wolff-Kishner, Methylierung mit Diazomethan und Dehydrierung mit CrO_3 in 3,7-Diketo-cholansäuremethylester³⁾ vom Smp. 153—160° übergeführt wurde. Der isomere 3,12-Diketo-ester schmilzt bei 131—133°⁴⁾.

³⁾ A. Windaus, A. Bohne, E. Schwarzkopf, Z. physiol. Ch. **140**, 177 (1924).

⁴⁾ T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942).

⁵⁾ Vgl. auch D. H. R. Barton, Soc. **1945**, 813, sowie weitere Literatur daselbst.

⁶⁾ D. H. R. Barton, Soc. **1946**, 1116.

	Gesättigt	Δ^7	$\Delta^{8,14}$
Desoxycholsäure	+ 57,0° (Al) ¹⁾ + 47,7° (Di) ²⁾	+ 92,6° (Di) ³⁾	+ 49,9° (Al) ⁴⁾ + 50,2° (Al) ⁵⁾
Desoxycholsäure-methylester	+ 55,8° (An) ²⁾ + 54,3° (Al) ⁶⁾	+ 78,3° (Chf) ³⁾	+ 46,9° (Chf) ⁵⁾
Desoxycholsäure-methylester-diacetat	+ 94,4° (An) ⁶⁾	+ 127° (Chf) ³⁾ + 144,5° (An) ³⁾	+ 86,1° (Chf) ⁵⁾
Cholestanol	+ 23° (Chf) ⁷⁾	0° (?) ⁸⁾ *	+ 20,4° (Chf) ⁸⁾ + 22,9° (Chf) ⁹⁾
Cholestanyl-acetat	+ 14° (Chf) ⁷⁾	0° (?) ⁸⁾ *	+ 9,5° (Chf) ⁸⁾ ⁹⁾ + 10,1° (Chf) ¹⁰⁾
Ergostanol	+ 15,9° (Chf) ¹¹⁾	0° (?) ¹²⁾ ¹³⁾	+ 17,9° (Chf) ¹¹⁾ + 15,8° (Chf) ¹⁴⁾
Ergostanyl-acetat	+ 6,0° (Chf) ¹¹⁾ ¹⁵⁾ + 8,0° (Chf) ¹⁶⁾	- 5,3° (Chf) ¹²⁾ - 6,3° (Chf) ¹⁷⁾	+ 5,2° (Chf) ¹¹⁾ 0° (Chf) ¹⁴⁾

Al = Alkohol, Di = Dioxan, An = Aceton, Chf = Chloroform.

Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, dass in der Gallensäure-Reihe die 7,8-ungesättigten Verbindungen eine höhere spez. Drehung aufweisen als die entsprechenden gesättigten und 8,14-ungesättigten Stoffe. Die Differenz der molekularen Drehungen von Desoxycholsäure und (IV) beträgt -174° , von Desoxycholsäure und β -Apocholsäure jedoch -83° . Für u-Ergostadienol (=Kopro-ergostadien-(7,22)-ol-(3 α)) wird sie von Barton⁷⁾ zu -147° berechnet. Dagegen zeigen

¹⁾ H. Wieland, H. Sorge, Z. physiol. Ch. **97**, 1 (1916).

²⁾ T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942).

³⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

⁴⁾ F. Boedecker, B. **53**, 1952 (1920).

⁵⁾ Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, S. Holtermann, Helv. **28**, 1660 (1945).

⁶⁾ B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. **25**, 918 (1942).

⁷⁾ D. H. R. Barton, Soc. **1946**, 1116.

⁸⁾ F. Schenck, K. Buchholz, O. Wiese, B. **69**, 2696 (1936).

⁹⁾ O. Wintersteiner, M. Moore, Am. Soc. **65**, 1507 (1943).

¹⁰⁾ A. Windaus, O. Linsert, H. J. Eckhardt, A. **534**, 22 (1938).

¹¹⁾ F. Reindel, E. Walter, H. Rauch, A. **452**, 34 (1927).

¹²⁾ A. Windaus, R. Langer, A. **508**, 105 (1933).

¹³⁾ H. Wieland, W. Benend, A. **554**, 1 (1943).

¹⁴⁾ H. Wieland, F. Rath, H. Hesse, A. **548**, 34 (1941).

¹⁵⁾ A. Windaus, J. Brunken, A. **460**, 225 (1928).

¹⁶⁾ M. C. Hart, H. Emerson, Am. Soc. **54**, 1070 (1932).

¹⁷⁾ S. von Reichel, Z. physiol. Ch. **226**, 146; **228**, 112 (1934).

*) In der Diss. Troxler (Zürich 1946) ist ein durch thermische Zersetzung von 3 β -Acetoxy-7 α -benzoxy-cholestan bereitetes γ -Cholestenyl-acetat beschrieben, dessen $[\alpha]_D$ zu -65° bestimmt wurde. Wenn sich diese Angabe bestätigt, so sind alle bisher beschriebenen γ -Cholestenol-Präparate noch stark verunreinigt gewesen.

γ -Cholestenol und γ -Ergostenol eine niedrigere spez. Drehung als Cholestanol und α -Cholestenol bzw. Ergostanol und α -Ergostenol. In diesem Falle beträgt die Differenz der molekularen Drehungen für die 7,8-ungesättigten Verbindungen $+89^\circ$ bzw. $+64^\circ$. Diese Unterschiede dürften in erster Linie durch die verschiedene Konfiguration am Kohlenstoffatom 5 bedingt sein.

Der eine von uns (E. B.) dankt der *Ciba AG.*, Basel, für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte. Derselben Firma danken wir für Überlassung von Material sowie Herrn Dr. H. Reich für seine grosse Hilfe bei der Abfassung des Manuskriptes.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Analyse wurden, wenn nichts anderes erwähnt, im Hochvakuum 2 Stunden bei 80° getrocknet, für die spez. Drehung bei 60° . Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther, Waschen mit verdünnter HCl, verdünnter Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. Zur Tetranitromethan-Probe wurden 2 mg Substanz in möglichst wenig Chloroform gelöst und die Lösung mit kleinen Tropfen Tetranitromethan versetzt. Positiv = Gelbfärbung, negativ = farblos.

3α -Acetoxy- 12α -oxy-cholen-(7)-säure-methylester (VII) (POCl_3 -Methode).

2 g Cholsäure-methylester-mono-acetat-(3) (I)^{a)b)1)} vom Smp. 150 – 153° wurden in 4 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,2 cm³ POCl_3 versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung (Chloroform-Äther als Lösungsmittel) gab 1,97 g rohes Neutralprodukt, das im Hochvakuum bei 140 – 210° sublimiert wurde. Aus dem Sublimat wurden durch Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 410 mg Krystalle vom Smp. 172 – 174° erhalten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{16} = +100,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,895$ in Chloroform).

19,220 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +1,91^\circ \pm 0,02^\circ$

Aus den Mutterlaugen liessen sich durch Chromatographie noch 1 g Ausgangsmaterial (I) und 170 mg (VII) isolieren. Ausbeute 580 mg = ca. 30% bzw. ca. 60% auf umgesetztes Material berechnet.

Eine Wiederholung der Wasserabspaltung von (I) mit 1,8 Mol Tosylchlorid (10 Stunden bei 50°)^{b)} gab nach Chromatographie 23,9% (VII).

$3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-cholen-(7)-säure (IV).

0,3 g 3α -Acetoxy- 12α -oxy-cholen-(7)-säure-methylester (VII) vom Smp. 172 – 174° wurden mit 10 cm³ 8-proz. methylalkoholischer KOH $\frac{1}{2}$ Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, mit HCl angesäuert und mit viel Äther ausgeschüttelt. Beim Einengen der gewaschenen und getrockneten Ätherlösungen fielen Krystalle aus, die nach dem Absaugen und Waschen mit Äther

¹⁾ Merkwürdigerweise gelang es bisher nur mit der von F. Hoffmann-La Roche bezogenen Cholsäure, den Ester (I) in der früher angegebenen Ausbeute^{b)} zu bereiten. Technische Cholsäure liess sich in scharf schmelzendes Methylester-triacetat überführen, das bei energischer Verseifung sofort gut schmelzende Cholsäure gab. Sie wurde trotzdem noch mehrmals aus Aceton-Äther umkrystallisiert, wobei sich der Schmelzpunkt nicht mehr änderte. Auch der aus ihr bereitete Methylester zeigte den richtigen Schmelzpunkt. Partielle Acetylierung gab aber entweder nur Spuren oder gar kein Mono-acetat (I). Das hierauf wieder benützte Handelsprodukt lieferte dagegen (I) in der angegebenen Ausbeute.

268 mg wogen. Sie schmolzen bei 210–212°, nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther ebenso. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{23} = +92,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,572$ in Dioxan).

15,951 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{23} = +1,46^\circ \pm 0,02^\circ$

3 α ,12 α -Dioxy-cholen-(7)-säure-methylester (V).

240 mg Säure (IV) vom Smp. 210–212° wurden in 5 cm³ Methanol gelöst und bei 0° mit ätherischer Diazomethanolösung versetzt. Nach 10 Minuten wurde wie üblich aufgearbeitet. Das Reaktionsprodukt krystallisierte aus Methanol bei 0° in Nadeln vom Smp. 50–64° (210 mg). Durch weiteres Umkrystallisieren aus Methanol stieg der Schmelzpunkt auf 64–67°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = +78,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,495$ in Chloroform).

15,168 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +1,17^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Vakuum geschmolzen (Schweinchen).

3,652 mg Subst. gaben 9,922 mg CO₂ und 3,285 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₄ (404,59) Ber. C 74,21 H 9,97%

Gef. „ 74,14 „ 10,07%

3 α ,12 α -Diacetoxy-cholen-(7)-säure-methylester (VI).

680 mg Mono-acetat (VII) vom Smp. 172–174° wurden in 4 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 3 cm³ Acetanhydrid versetzt und 3 Tage bei 18° stehen gelassen, dann noch 1½ Stunden auf 60–70° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Methanol bei –10° gab 240 mg farblose Nadeln vom Smp. 101–103°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = +144,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,536$ in Aceton) bzw. $[\alpha]_D^{15} = +127,0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,109$ in Chloroform).

15,586 mg Subst. zu 1,0141 cm³ (Aceton); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +2,22^\circ \pm 0,02^\circ$

21,292 mg Subst. zu 1,0094 cm³ (Chloroform); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +2,68^\circ \pm 0,01^\circ$

3,757 mg Subst. gaben 9,824 mg CO₂ und 3,075 mg H₂O

C₂₉H₄₄O₆ (488,64) Ber. C 71,28 H 9,08%

Gef. „ 71,36 „ 9,16%

Die Mutterlauge der obigen Krystalle wurde wieder aus Methanol bei –10° umkrystallisiert, wobei sich 130 mg derbe Prismen vom Smp. 70–72° abschieden. Die Mischprobe mit den obigen Krystallen vom Smp. 101–103° schmolz bei 101–103°, so dass es sich bei den Krystallen vom Smp. 70–72° um eine zweite Modifikation von (VI) handeln dürfte. Durch Chromatographie der Mutterlaugen konnten noch 270 mg der niedrigschmelzenden Form (Smp. 70–72°) erhalten werden. Die Elution erfolgte mit Petrol-äther-Benzol-Gemischen und reinem Benzol. Mit Benzol-Äther (9:1) wurden noch 24 mg Ausgangsmaterial (VII) eluiert.

3 α -Acetoxy-12-keto-cholen-(7)-säure-methylester (II).

0,5 g Mono-acetat (VII) vom Smp. 172–174° wurden in 10 cm³ reinstem Eisessig gelöst und allmählich mit 4,5 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt. Das Gemisch blieb insgesamt 6 Stunden bei 18° stehen. Die übliche Aufarbeitung (Waschen mit H₂SO₄) und Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther, dann aus Aceton-Äther gab Würfel vom Smp. 139–140°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{14} = +143,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,690$ in Chloroform).

17,139 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +2,43^\circ \pm 0,02^\circ$

3,668 mg Subst. gaben 9,742 mg CO₂ und 2,954 mg H₂O

C₂₇H₄₀O₅ (444,61) Ber. C 72,94 H 9,07%

Gef. „ 72,48 „ 9,01%

Die Tetranitromethanprobe war positiv.

3 α -Acetoxy-6,12-diketo-cholen-(7)-säure-methylester (III) (?).

360 mg 3 α -Acetoxy-12-keto-cholen-(7)-säure-methylester (II) vom Smp. 139—140° wurden in 6,5 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 3,9 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (= 0,97 Mol CrO₃) versetzt und 24 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung (Waschen mit H₂SO₄) gab 380 mg krystallisiertes neutrales Rohprodukt vom Smp. 140—150°, das an 15 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Benzol und Benzol-Äther (9:1) eluierten Fraktionen (170 mg) gaben aus Äther reines Ausgangsmaterial. Die mit Benzol-Äther (4:1) und (7:3) abgelösten Fraktionen (50 mg) gaben aus Methanol-Äther, dann aus Chloroform-Äther dünne Stäbchen vom Smp. 179—181°, die eine negative Tetranitromethanprobe zeigten. Das U.V.-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil erwähnt.

3,780 mg Subst. gaben 9,774 mg CO₂ und 2,793 mg H₂O

C₂₇H₃₈O₆ (458,57) Ber. C 70,71 H 8,35%
Gef. „ 70,33 „ 8,27%

Weiteres mit Benzol-Äther (7:3) eluiertes Material (40 mg) krystallisierte zwar auch noch (Smp. 140—180°), liess sich aber nicht reinigen. Mit Äther-Methanol wurden noch 105 mg Sirup erhalten.

Wurde die Oxydation von (II) mit mehr CrO₃ (2 Mol) ausgeführt und das Reaktionsgemisch länger stehen gelassen, so liess sich trotzdem keine bessere Ausbeute an (III) erzielen.

3,12-Diketo-cholen-(7)-säure-methylester (XII).

160 mg 3 α ,12 α -Dioxy-cholen-(7)-säure-methylester (V) vom Smp. 64—67° wurden in 2,6 cm³ Eisessig mit 2,8 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung vorsichtig oxydiert. Die übliche Aufarbeitung (Waschen mit H₂SO₄) gab 160 mg neutrales Rohprodukt, das an 8 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Benzol eluierten Anteile lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 90 mg Krystalle vom Smp. 138—140°. Aus Aceton-Äther wurden feine Nadeln vom Smp. 140—141° erhalten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +110,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,617$ in Chloroform).

16,162 mg Subst. zu 0,9995 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +1,79^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum geschmolzen.

3,706 mg Subst. gaben 10,174 mg CO₂ und 2,993 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₄ (400,54) Ber. C 74,96 H 9,06%
Gef. „ 74,92 „ 9,04%

3,12-Diketo-cholen-(7)-säure (XI).

50 mg Ester (XII) vom Smp. 140—141° wurden mit 2,5 cm³ 6-proz. methylalkoholischer KOH 20 Minuten unter Rückfluss gekocht. Die wie bei (IV) durchgeführte Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab 42 mg Krystalle vom Smp. 172 bis 176°.

Einwirkung von Benzopersäure auf (VII).

290 mg Mono-acetat (VII) vom Smp. 172—174° wurden mit der Lösung von 360 mg Benzopersäure (= 4 Mol) in 4,7 cm³ Chloroform versetzt und 8 Tage bei 18° im Dunkeln stehen gelassen. Dann wurde mit 1 g NaJ in 10 cm³ Wasser und 2 cm³ Eisessig versetzt und mit 0,1-n. Na₂S₂O₃-Lösung titriert. Verbrauch an Benzopersäure 174,6 mg = 2 Mol. Es wurde mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösungen wie üblich neutral gewaschen. Das Neutralprodukt gab aus Äther 20 mg Krystalle vom Smp. 189—191°. Die Mutterlauge wurde über 9 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol sowie die ersten mit Benzol-Äther (9:1) eluierten Fraktionen (80 mg) gaben aus Äther-Petroläther 61 mg farblose Prismen vom Smp. 189—191° (VIII), die mit den direkt isolierten Krystallen identisch waren. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{15} = +76,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,485$ in Chloroform).

15,062 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +1,14^\circ \pm 0,02^\circ$

3,710 mg Subst. gaben 9,450 mg CO₂ und 3,074 mg H₂O

C₂₇H₄₂O₆ (462,61) Ber. C 70,09 H 9,15%

Gef. „ 69,51 „ 9,27%

Die Tetranitromethanprobe war negativ.

Eine weitere mit Benzol-Äther (9:1) sowie eine folgende mit Benzol-Äther (1:1) eluierte Fraktion (zusammen 32 mg) gaben nach Umkrystallisieren aus Äther 20 mg Nadeln vom Smp. 140–142° (XVII?). Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = +58,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,748$ in Chloroform).

7,593 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,44^\circ \pm 0,02^\circ$

3,809 mg Subst. gaben 9,442 mg CO₂ und 3,022 mg H₂O

C₂₇H₄₂O₇ (478,61) Ber. C 67,75 H 8,84%

Gef. „ 67,65 „ 8,88%

Die Tetranitromethanprobe war negativ.

3 α ,12 α -Dioxy-7,8-oxydo-cholansäure (IX) (?) und Methylester (X) (?).

40 mg „Oxyd“ (VIII) vom Smp. 188–190° wurden mit 2 cm³ 5-proz. methylalkoholischer KOH $\frac{1}{2}$ Stunde unter Rückfluss gekocht. Die wie bei (IV) beschriebene Aufarbeitung lieferte 33 mg Krystalle (IX?) vom Smp. 222–228°. Der mit Diazomethan bereitete Methylester (X?) krystallisierte aus Äther in Würfeln vom Smp. 137–140°.

3 α ,12 α -Diacetoxy-cholen-(8,14)-säure-methylester (Apocholsäure-methylester-diacetat) (XVI) aus (VI).

a) 50 mg PtO₂·H₂O wurden in 2 cm³ Eisessig vorhydriert. Dann wurde die Lösung von 230 mg Diacetat (VI) vom Smp. 101–103° in 2 cm³ Eisessig zugefügt und 1 Stunde in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme betrug 2,8 cm³. Es wurde vom Platin abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Ätherlösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab nach Umkrystallisieren aus Methanol bei –10° 70 mg Krystalle vom Smp. 125–135°.

b) 50 mg PtO₂·H₂O wurden in 2 cm³ Eisessig vorhydriert. Nach Zusatz von 290 mg Diacetat (VI) vom Smp. 70–72° in 2 cm³ Eisessig wurde 2 Stunden in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme betrug 3,4 cm³. Die wie unter a) durchgeführte Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Methanol bei –10° gab 95 mg Krystalle vom Smp. 125–135°, die bei der Mischprobe mit den unter a) erhaltenen Krystallen keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

c) Die Mutterlaugen von a) und b) wurden vereinigt (355 mg) und über 10 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol-Gemischen und reinem Benzol eluierten Fraktionen gaben nach Umkrystallisieren aus Methanol bei –10°, dann aus Petroläther noch 45 mg Krystalle vom Smp. 125–135° und 195 mg Ausgangsmaterial (VI) vom Smp. 68–72°, das in Petroläther leichter löslich ist als die Krystalle vom Smp. 125–135°. Mit Äther-Benzol wurden noch 3 ölige Fraktionen erhalten, aus denen sich weder Ausgangsmaterial (VI) noch Desoxycholsäure-methylester-diacetat abscheiden liessen. Die drei Krystallisate vom Smp. 125–135°, insgesamt 210 mg, wurden zunächst aus Petroläther, dann aus Methanol bei 0° umkrystallisiert und lieferten 125 mg Prismen vom Smp. 136–138°, die sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit Apocholsäure-methylester-diacetat (XVI)¹⁾ als identisch erwiesen. Die Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial vom Smp. 101–103° schmolz bei 88–100°, mit dem Ausgangsmaterial vom Smp. 70–72° bei 70–90°. Mit Desoxycholsäure-methylester-diacetat (Smp. 117–119°) wurde ein

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. Plattner (Zürich) für dieses Präparat.

Mischschmelzpunkt von 102–110° erhalten. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = +84,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,298$ in Chloroform).

13,110 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,09^\circ \pm 0,02^\circ$

Plattner u. Mitarb.^{d)} geben für ein aus Cholsäure hergestelltes Präparat einen Schmelzpunkt von 137–137,5° und eine spez. Drehung $[\alpha]_D^{14} = +86,1^\circ$ ($c = 2,512$ in Chloroform) an.

Aus der Mutterlauge wurden durch weiteres Umkrystallisieren noch 30 mg Prismen vom Smp. 130–135° gewonnen. Die Ausbeute an (XVI) betrug insgesamt 155 mg = 30% bzw. 47,8% unter Berücksichtigung des zurückgewonnenen Ausgangsmaterials.

3 α ,12 α -Dioxy-cholen-(8,14)-säure (Apocholsäure) (XIII) aus (VII).

1 g 3 α -Acetoxy-12 α -oxy-cholen-(7)-säure-methylester (VII) vom Smp. 172–174° wurden in 17 cm³ reinstem Eisessig mit 120 mg PtO₂·H₂O hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war nach 20 Minuten beendet. Die wie im vorigen Versuch durchgeführte Aufarbeitung gab 1,02 g amorphes Material, das noch eine positive Tetranitromethanprobe zeigte und grösstenteils das Mono-acetat (XV) enthalten haben dürfte. 0,9 g dieses Produktes wurden mit 25 cm³ 6-proz. methylalkoholischer KOH $\frac{1}{2}$ Stunde unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei (IV) beschrieben und lieferte beim Einengen der ätherischen Lösung 0,7 g Krystalle vom Smp. 168–176°. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Äther wurden Prismen vom Smp. 172–176° erhalten, die bei der Mischprobe mit authentischer Apocholsäure¹⁾ keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. Die Tetranitromethanprobe war positiv. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{22} = +38,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,359$ in Dioxan).

13,592 mg Subst. zu 0,9995 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0,52^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde bei 120° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,527 mg Subst. gaben 9,492 mg CO₂ und 3,208 mg H₂O

C ₂₄ H ₃₈ O ₄ (390,59)	Ber. C 73,80	H 9,81%
	Gef. „ 73,44	„ 10,18%

3 α ,7 α -Dioxy-12-keto-cholansäure-methylester (XX).

5 g Cholsäure-methylester vom Smp. 156–158° wurden durch Abdampfen mit absolutem Benzol getrocknet, in 14,2 cm³ absolutem Benzol gelöst und in der Hitze innerhalb von 50 Minuten tropfenweise mit der Mischung von 3,72 cm³ Acetanhydrid (= 3,36 Mol) und 5,7 cm³ absolutem Benzol versetzt. Anschliessend wurde noch 2 Stunden unter Rückfluss gekocht, im Vakuum eingedampft und wie üblich aufgearbeitet. Aus der eingengten Ätherlösung schieden sich auf Zusatz von Petroläther nach mehrtägigem Stehen Krystalle ab, die abgesaugt und mit Petroläther gewaschen wurden. Sie wogen 800 mg, schmolzen bei 185–187° und gaben bei der Mischprobe mit 3 α ,7 α -Diacetoxy-12 α -oxy-cholansäure-methylester (XVIII)^{e)} keine Schmelzpunktserniedrigung. Die Mutterlauge wurde nicht weiter untersucht.

780 mg (XVIII) wurden in 5,5 cm³ Eisessig mit 7 cm³ einer 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung innerhalb von 8 Stunden wie üblich oxydiert. Aus Äther-Petroläther wurden 570 mg Krystalle vom Smp. 177–180° erhalten. Nach nochmaligem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 179,5–181°. Wieland u. Mitarb.^{e)} geben für 3 α ,7 α -Diacetoxy-12-keto-cholansäure-methylester (XXII) einen Schmelzpunkt von 179°, Plattner und Heusser^{a)} einen solchen von 177–178,5° an.

520 mg (XXII) vom Smp. 177–180° wurden mit einer Lösung von 1 g KOH in 10 cm³ Methanol 20 Minuten unter Rückfluss gekocht. Die wie bei (IV) durchgeführte Aufarbeitung lieferte nach Umkrystallisieren aus Äther 460 mg Krystalle vom Smp. 214

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. Plattner (Zürich) für dieses Präparat.

bis 216°, bei denen es sich um die gewünschte Dioxysäure (XIX)^{f)} handelte. 420 mg dieses Produktes gaben bei der Methylierung mit Diazomethan 360 mg Krystalle vom Smp. 157 bis 160°. Nach Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther schmolz der 3 α ,7 α -Dioxy-12-keto-cholansäure-methylester (XX)^{f)} bei 158–160°.

3,7-Diketo-cholansäure-methylester aus (XIX).

100 mg rohe 3 α ,7 α -Dioxy-12-keto-cholansäure (XIX) wurden im Bombenrohr mit einer Lösung von 80 mg Na in 3,5 cm³ absolutem Alkohol und 0,5 cm³ Hydrazinhydrat 8 Stunden auf 160° erhitzt. Nach Zusatz von Wasser wurde der Alkohol im Vakuum entfernt, konz. HCl zugegeben, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Das Rohprodukt (Chenodesoxycholsäure) (98 mg) wurde wie üblich mit Diazomethan methyliert und der rohe Methylester in 2 cm³ Eisessig mit 2,4 cm³ einer 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung durch 4-stündiges Stehen bei 18° oxydiert. Die übliche Aufarbeitung lieferte nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 80 mg Prismen vom Smp. 153–160°. *Windaus* und Mitarb.¹⁾ geben für 3,7-Diketo-cholansäure-methylester einen Schmelzpunkt von 161–162° nach Sintern ab 155 an.

3 α -Acetoxy-7 α -oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XXI).

274 mg 3 α ,7 α -Dioxy-12-keto-cholansäure-methylester (XX) vom Smp. 158–160° wurden durch Abdampfen mit absolutem Benzol getrocknet, dann in 2 cm³ absolutem Benzol gelöst und in der Siedehitze innerhalb von 20 Minuten portionsweise mit der Mischung von 0,15 cm³ Acetanhydrid und 0,29 cm³ absolutem Benzol versetzt. Dann wurde noch 4 Stunden unter Rückfluss gekocht, im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Ätherlösungen neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt (340 mg) wurde über 12 g Al₂O₃ nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Die mit Benzol und Benzol-Äther-Gemischen bis 50% Äther eluierten Fraktionen gaben nach Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 210 mg feine Nadeln vom Smp. 193–195°. Nach nochmaligem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 194 bis 195°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{19} = +92,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,656$ in Chloroform).

16,802 mg Subst. zu 1,0141 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +1,53^\circ \pm 0,03^\circ$

3,726 mg Subst. gaben 9,558 mg CO₂ und 3,063 mg H₂O

C₂₇H₄₂O₆ (462,61) Ber. C 70,10 H 9,15%

Gef. „ 70,00 „ 9,20%

Eine Probe dieses Stoffes lieferte bei der Oxydation mit CrO₃ 3 α -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester vom Smp. 161–163°^{b)}, woraus hervorgeht, dass es sich um das 3-Monoacetat handelt.

Die mit Äther eluierten Fraktionen wogen 117 mg und gaben nach Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther 73 mg unverändertes Ausgangsmaterial (XX) vom Smp. 158–160°.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *A. Windaus, A. Bohne, E. Schwarzkopf, Z. physiol. Ch.* **140**, 177 (1924).