

Acétylation du camphène.

Le camphène a été obtenu en déshydratant l'isobornéol par le chlorure de zinc en présence de benzène bouillant.

p. d'éb. = 59°/20 mm.; p. de f. = 45,5—46°; $[\alpha]_D = -77,2^{\circ}$ (alcool, c = 10).

Il a été utilisé en solution à 10,2% dans le décahydronaphtalène. La solution n'avait pas d'indice d'ester et ne donnait pas de dégagement gazeux au contact du réactif de *Grignard*. Les indices de saponification ont été déterminés sur 10 gr. de produit acétylé et rapportés au camphène. Le décahydronaphtalène a été essayé à blanc.

Acétylation «classique» = 21,2; acétylation accélérée (acide sulfurique) = 33,5; (acide phosphorique) = 39,9 (15 minutes à 23—25°); 52,7 (15 minutes à 50°); 95,6 (30 minutes à 50°).

RÉSUMÉ.

Les méthodes d'acétylation «accélérée» au moyen d'anhydride acétique additionné soit d'acide sulfurique, soit d'acide phosphorique, appliquées à l'analyse des huiles essentielles qui renferment du cinéol, conduisent à des résultats inexacts en raison de la transformation du cinéol en un mélange renfermant de l'acétate de terpényle et du diacétate de terpène. L'imprécision des modes opératoires précédemment publiés est la source d'irrégularités des taux d'acétylation.

Laboratoires scientifiques de *L. Givaudan & Cie, S. A.*,
Vernier-Genève.

194. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

31. Mitteilung¹⁾²⁾.

Lactone aus 3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure.

Versuch zur Abklärung der räumlichen Lage der Seitenkette in natürlichen Sterinen und Steroiden

von *M. Sorkin* und *T. Reichstein*.

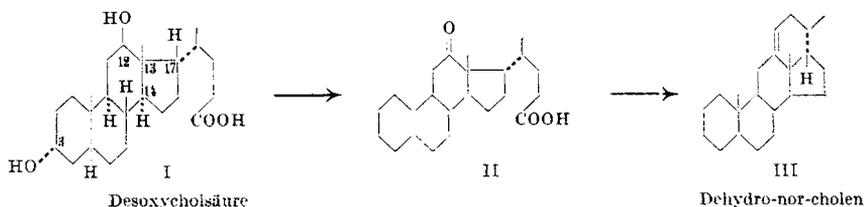
(7. X. 44.)

Für die biologische Wirksamkeit von Sterinen und Steroiden scheint die räumliche Lage von Substituenten in 17-Stellung von grosser Bedeutung zu sein; denn soweit es bisher gelang, auf künstlichem Wege Stoffe zu bereiten, die sich von den Naturprodukten nur durch Raumisomerie an dieser Stelle unterscheiden, erwiesen sie sich entweder als ganz inaktiv oder erheblich schwächer wirksam als

¹⁾ 30. Mitt. vgl. *V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944)*.

²⁾ Teilweise vorgetragen auf der Versammlung der Schweiz. Chem. Ges. in Bern am 26. II. 1944; vgl. *Schw. Ch. Z. 27, 155 (1944)*.

die natürlichen Isomeren¹⁻⁴). Ferner liess sich zeigen, dass bei allen natürlichen Sterinen und Sterinderivaten, die in 17-Stellung eine längere oder kürzere Kohlenstoffkette tragen, diese „Seitenkette“ höchstwahrscheinlich immer dieselbe räumliche Lage hat⁵⁻¹⁰). Es genügt somit, die Lage dieser Seitenkette bei einem natürlichen Vertreter festzulegen, um die Resultate weitgehend auf die ganze Gruppe übertragen zu können. Geeignete Versuchsobjekte für diesen Zweck stellen die Desoxycholsäure (I) und einige ihrer Abbauprodukte dar.



¹) 17-*iso*-Progesteron, A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé, H. Paul, B. **72**, 1112 (1939), ist in Dosen bis 0,9 mg unwirksam.

²) 17-*iso*-Testosteron (*cis*-Testosteron), L. Ruzicka, H. Kügi, Helv. **19**, 842 (1936), ist etwa 30mal schwächer wirksam als *trans*-Testosteron (Hahnenkammtest).

³) 17-*iso*-11-Desoxy-corticosteron-acetat, C. W. Shoppee, Helv. **23**, 925 (1940), erwies sich in Dosen von 1 mg als wirkungslos, ist also zumindest dreimal schwächer wirksam als 11-Desoxy-corticosteron-acetat.

⁴) Auch die biologisch unwirksamen Allo-Formen, die aus herzwirksamen Glykosiden durch Fermentwirkung entstehen, z. B. das Allo-cymar, W. A. Jacobs, J. Biol. Chem. **88**, 519 (1930), das Allo-emicymar, W. A. Jacobs, N. M. Bigelow, J. Biol. Chem. **99**, 521 (1933), und andere unterscheiden sich nach Tschesche und Bohle (B. **71**, 654 (1938)) von den aktiven Formen wahrscheinlich nur durch Isomerie in 17-Stellung. Vgl. dagegen E. Bloch, R. C. Elderfield, J. Org. Chem. **4**, 289 (1939).

⁵) Cholesterin liefert beim Abbau mit CrO₃ 3β-Oxy-cholen-(5)-säure, L. Ruzicka, A. Wettstein, Helv. **18**, 986 (1935), und 3β-Oxy-ätiocholen-(5)-säure, Gesellschaft f. Chem. Ind. in Basel, F. P. 845 795; C. **1940**, I, 3147.

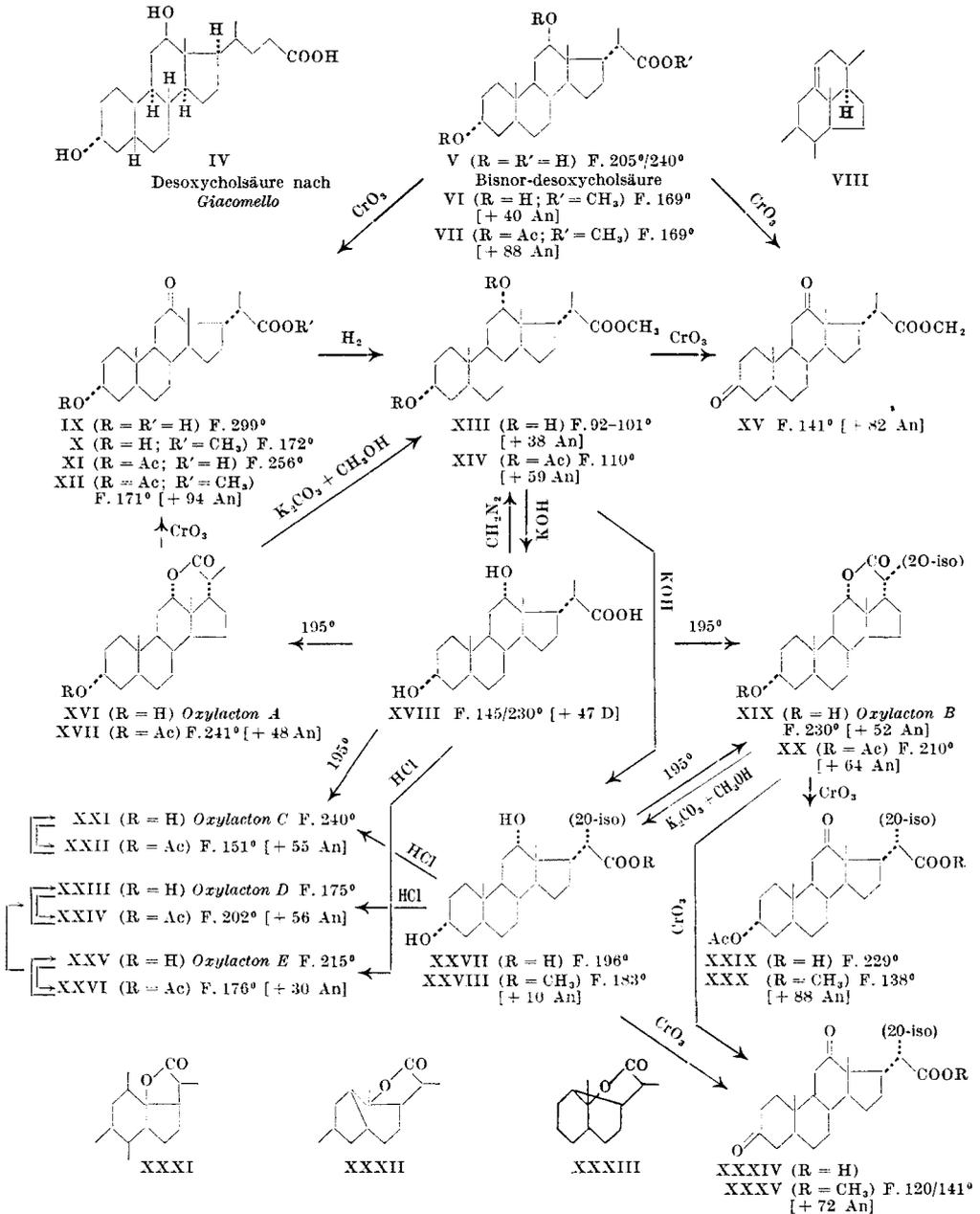
⁶) Progesteron lässt sich aus Cholestenon durch direkte Oxydation mit CrO₃ gewinnen, also unter Bedingungen, unter denen 17-*iso*-Progesteron¹) nicht zu Progesteron isomerisiert wird; W. Dirscherl, F. Hanusch, Z. physiol. Ch. **252**, 49 (1938). — C. F. Boehrtnger & Söhne G. m. b. H., D. R. P. 665 549; C. **1939**, I, 2830.

⁷) Desoxy-corticosteron besitzt nach Shoppee³) in 17-Stellung „normale“ α-Konfiguration. Dasselbe lässt sich aus den Resultaten von C. W. Shoppee und T. Reichstein, Helv. **23**, 729 (1940) auch für Corticosteron ableiten, da dieser Stoff in 17-Stellung gleich gebaut ist wie die dort erwähnte Substanz N.

⁸) 17-*iso*-3-Keto-ätio-cholen-(4)-säure ist von Shoppee³) bereitet worden; sie bleibt beim Erhitzen mit Säuren und Alkalien unverändert.

⁹) Digoxigenin liefert beim Abbau (über 3-Keto-ätio-cholan-säure) Ätio-cholansäure, die auch aus Cholesterin und Gallensäuren zu gewinnen ist. Die 17-isomere Säure ist beständig gegen Alkali und Säuren (nach unveröffentlichten Versuchen); vgl. auch⁸).

¹⁰) Diosgenin ist von R. E. Marker und D. L. Turner, Am. Soc. **63**, 767 (1941), in Cholesterin übergeführt worden, wobei allerdings eine Isomerisierung in 17-Stellung nicht ausgeschlossen ist.



Ac = Acetyl. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton; D = Dioxan. Zum besseren Überblick wurde bei den 20-*iso*-Verbindungen der Valenzstrich der Methylgruppe an C₂₀ punktiert, wodurch jedoch nichts über die wahre räumliche Lage dieser Gruppe ausgesagt werden soll. Mathematisch wäre es sogar falsch, bei verschiedenen Projektionen derselben Konfiguration (wie z. B. bei XIX und XXIX) diese Punktierung anzuwenden, wenn dadurch die räumliche Lage wirklich fixiert werden soll.

Wieland¹⁾ hat angenommen, dass die Seitenkette der Desoxycholsäure (I) *trans*-ständig zur Methylgruppe an C₁₃, nach dem Nomenklaturvorschlag von Fieser²⁾ somit α -ständig angeordnet ist³⁾, da sich durch Erhitzen der aus (I) leicht zugänglichen 12-Ketocholansäure (II) in guter Ausbeute Dehydro-nor-cholen (III)⁴⁾⁵⁾⁶⁾ erhalten lässt. Ruzicka⁷⁾ hob demgegenüber hervor, dass diese Reaktion, wie sich aus dem Raummodell ergibt, auch bei β -ständiger Seitenkette (wie in IV) möglich sein sollte, wobei dem Dehydro-nor-cholen dann die Formel (VIII) zukäme. Eine vollständige Raumformel für Desoxycholsäure (ausser für C₂₀), nämlich (IV) gibt Giacomello⁸⁾ auf Grund Bernal'scher und eigener Röntgenaufnahmen. Demnach liegt die 12-ständige Hydroxylgruppe annähernd in der „Ebene“ des Vierringsystems. Wie sich aus dem Modell ergibt, ist dies nur bei β -Stellung möglich (Kompensation durch den leicht geneigten Ring C). Eine α -ständige Hydroxylgruppe in 12 müsste, da sich der Valenzwinkel zur leichten Neigung des Ringes C addieren würde, fast senkrecht nach „unten“ gerichtet sein. Diese Hydroxylgruppe muss somit auf derselben Seite stehen wie die Methylgruppe an C₁₃. Nach Giacomello liegt aber auch die lange Seitenkette mit der Carboxylgruppe⁹⁾ weitgehend in derselben Ebene. Er nimmt aus ganz analogen Gründen daher an, dass auch diese β -ständig angeordnet ist, dass sich somit HO-Gruppe, Methyl und Seitenkette alle auf derselben Seite befinden. Ohne uns über die röntgenographischen Befunde ein fachmännisches Urteil anzumassen, sehen wir uns gezwungen, einige Zweifel an der Stichhaltigkeit der letzten Begründung zu äussern, da die folgenden chemischen Befunde mit Giacomello's Raumformel kaum in Einklang zu bringen sind. Wir vermuten nämlich, dass die Carboxylgruppe (und soweit wir verstehen, wird nur ihre Lage im Röntgenbild scharf erfasst) sich wegen der freien Drehbarkeit der Valenzen der Seitenkette sehr wohl auch dann in die Ebene des Vierringsystems einstellen könnte, wenn die Haftstelle an C₁₇ α -ständig angeordnet wäre.

¹⁾ H. Wieland, E. Dane, Z. physiol. Ch. **216**, 91 (1933).

²⁾ L. F. Fieser, "The Chemistry of Natural Products related to Phenanthrene", 2. ed., New York 1937, p. 399.

³⁾ Die Methylgruppe an C₁₃ wird im allgemeinen als β -ständig = über der Tafel-ebene angenommen, obgleich ein definitiver Beweis aussteht. Vgl. L. Ruzicka, M. Furter, M. W. Goldberg, Helv. **21**, 498 (1938). Die *trans*-Verknüpfung der Ringe C und D ist jedoch von K. Dimroth, H. Jonsson, B. **74**, 520 (1941) bewiesen.

⁴⁾ H. Wieland, O. Schlichting, Z. physiol. Chem. **150**, 273 (1925).

⁵⁾ H. Wieland, V. Wiedersheim, Z. physiol. Chem. **186**, 233 (1930).

⁶⁾ J. W. Cook, G. A. D. Haslewood, Soc. **1934**, 433.

⁷⁾ L. Ruzicka, M. W. Goldberg, H. Wirz, Helv. **18**, 61 (1935).

⁸⁾ G. Giacomello, G. **69**, 790 (1939).

⁹⁾ Soweit wir verstehen, ist dies nur für die Carboxylgruppe selbst bewiesen.

Von *Koechlin* und *Reichstein*¹⁾ wurde bereits darauf hingewiesen, dass die aus (I) durch Abbau erhältliche Bisnor-desoxycholsäure (V)²⁾³⁾ als δ -Oxysäure ein Lacton bilden sollte, wenn HO-Gruppe und Seitenkette sich wirklich auf derselben Seite befinden würden. Andernfalls erscheint hier aus sterischen Gründen eine Lactonbildung kaum möglich. Die Säure (V) gibt nun auch bei 200° kein Lacton. Entweder ist also die „sterische Hinderung“, etwa durch die Methylgruppe an C₁₃ zu gross, oder die zwei genannten Gruppen sind entgegen den Befunden von *Giacomello* auf verschiedenen Seiten des Ringsystems angeordnet. Das lässt sich experimentell prüfen, denn nach Umkehrung einer dieser Gruppen müsste Lactonbildung möglich sein, wenn die zweite der genannten Voraussetzungen zutrifft. Zu diesem Zwecke haben wir die Umkehrung (Epimerisierung) der HO-Gruppe gewählt, weil sie sich relativ leicht durchführen lässt, und zunächst die Gewinnung der 3 α , 12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII)⁴⁾ angestrebt.

Als Ausgangsmaterial zur Bereitung dieser Säure (XVIII) diente 3 α -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII)⁵⁾, der sich durch vorsichtige Verseifung in den Oxyester (X) und weiter in die Oxysäure (IX) überführen lässt. (X) konnte auch direkt aus (VI) durch partielle Oxydation mit CrO₃⁶⁾ gewonnen werden. Hydrierung von (X) oder einfacher von (XII) mit *Raney*-Nickel in methylalkoholischer Natronlauge⁷⁾ lieferte neben wenig (VI) in guter Ausbeute 3 α , 12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIII). Da (VI) und (XIII) isomorph sind, wurde das rohe Hydrierungsprodukt über das scharf schmelzende Diacetat (XIV) gereinigt. Verseifung von (XIV) unter schonenden Bedingungen gab vorwiegend die gesuchte 3 α , 12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII). Daneben entstand eine raumisomere Säure (XXVII), die sich durch fraktionierte Krystallisation abtrennen liess und die sich von (XVIII) durch Isomerie an C₂₀ unterscheidet⁸⁾. Methylierung von (XVIII) mit Diazomethan gab den reinen Methylester (XIII), der bei heisser Acetylierung das Acetat (XIV) lieferte, wodurch bewiesen ist, dass (XIII), (XIV) und (XVIII) die gleiche Konfiguration haben. Aus der 20-*iso*-Säure (XXVII) wird ein Methylester (XXVIII) erhalten, der von (XIII)

¹⁾ *B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).*

²⁾ *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).*

³⁾ *J. Sawlewicz, Roczniki Chemii 18, 755 (1938); C. 1939, II, 2074.*

⁴⁾ Zur Nomenklatur vgl. ⁹⁾.

⁵⁾ *A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).*

⁶⁾ Vgl. die analoge Bereitung der 3 α -Oxy-12-keto-cholansäure, *K. Kaziro, T. Shimada, Z. physiol. Ch. 249, 220 (1937); S. Bergström, G. A. D. Haslewood, Soc. 1939, 540.*

⁷⁾ Vgl. die analoge Hydrierung von 3 α -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester⁹⁾ sowie *M. Sorkin, T. Reichstein, Helv. 26, 2097 (1943).*

⁸⁾ Der Beweis wird in einer folgenden Arbeit erbracht.

⁹⁾ *B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).*

verschieden ist. Die Struktur von (XIII), (XIV) und (XVIII) wurde weiter durch Dehydrierung von (XIII) mit CrO_3 bewiesen, wobei der bekannte, aus (VI) erhältliche 3,12-Diketo-bisnor-cholansäure-methylester (XV)¹⁾ entstand. (XXVIII) liefert mit CrO_3 den 3,12-Diketo-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXXV), der von (XV) deutlich verschieden ist.

Die 12-*epi*-Bisnor-desoxycholsäure (XVIII) wird nun durch 4–6-stündiges Erhitzen in Toluol auf 195° zu etwa 70% lactonisiert, während (V) unter diesen Bedingungen praktisch unverändert bleibt. Zur Auswertung dieses Resultates war allerdings noch eine Komplikation zu überwinden. Beim Erhitzen von (XVIII) entstand nicht nur ein Lacton, sondern es bildeten sich drei Isomere, die wir als Oxylactone A, B und C bezeichnen. In reinem Zustand konnte aus dem Gemisch mit einiger Mühe nur eine kleine Menge freies Oxylacton B (XIX) isoliert werden. Hingegen gelang die Trennung nach Acetylierung durch Chromatographie und fraktionierte Krystallisation, wobei die reinen Acetoxylactone A (XVII), B (XX) und C (XXII) resultierten. Das Oxylacton B (XIX) wurde in besserer Ausbeute durch Erhitzen der 20-*iso*-Säure (XXVII) mit Toluol erhalten, während sich das Oxylacton C (XXI) neben einem weiteren Oxylacton D (XXIII) durch 2-tägiges Stehen der 20-*iso*-Säure (XXVII) in einem Gemisch von Äther und konz. HCl bei 18° gewinnen liess. Es entstanden dabei ca. 85% des Lactongemisches, das wieder in Form der Acetate (XXII) und (XXIV) getrennt wurde, während ca. 15% der Säure (XXVII) unverändert blieben. In gleicher Weise lieferte die Säure (XVIII) etwa 70% eines fünften Lactons E (XXV), das ebenfalls als Acetat (XXVI) charakterisiert wurde²⁾.

Trotz dieser grossen Anzahl von Lactonen liess sich das Resultat doch zur Abklärung der eingangs gestellten Strukturfrage verwerten, da sich die Struktur des wichtigen Oxylactons A (XVI), das bisher nur als Acetat in reiner Form gefasst wurde, durch die zwei folgenden Aufspaltungsreaktionen eindeutig beweisen liess. Kocht man das Acetoxylacton A (XVII) mit K_2CO_3 in wässrigem Methanol oder lässt die Mischung 24 Stunden bei 20° stehen, so wird der Lactonring unter gleichzeitiger Verseifung der Acetoxygruppe aufgebrochen, und es entsteht fast quantitativ der Methylester (XIII) sowie eine

¹⁾ A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).

²⁾ Es mag hervorgehoben werden, dass Bisnor-desoxycholsäure (V) auch unter diesen Bedingungen fast völlig unverändert bleibt, was kaum allein dem Umstand zuzuschreiben ist, dass sie in dem genannten Gemisch sehr wenig löslich ist. Zum Vergleich wurden auch Desoxycholsäure (I), sowie 12-*epi*-Desoxycholsäure³⁾ der Behandlung mit HCl-Äther unterworfen, wobei die erstere unverändert blieb, während die *epi*-Säure eine amorphe Säure (Gemisch?) lieferte, aus der sich keine krystallisierten Derivate isolieren liessen.

³⁾ B. Koehlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

Spur der freien Säure (XVIII). Die Öffnung des Lactonringes gelingt auch durch 1–2-tägiges Stehen mit CrO_3 in Eisessig bei 18° ; aus dem Acetoxylacton A (XVII) entstand dabei die 3α -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure (XI), die durch Methylierung mit Diazomethan in den bekannten Methylester (XII) überging. Das Oxylacton A (XVI) stellt somit bestimmt das normale Lacton der Säure (XVIII) dar, denn die milden Bedingungen, unter denen beide Reaktionen verlaufen, bieten weitgehend Gewähr dafür, dass sie nicht von Umlagerungen begleitet sind. In genau gleicher Weise liess sich die Struktur des Oxylactons B (XIX) ermitteln. Beim Stehen seines Acetats (XX) mit K_2CO_3 in wässrigem Methanol oder mit 1-proz. methanolischer HCl entstand fast quantitativ der 20-*iso*-Ester (XXVIII), und mit CrO_3 wurde die Säure (XXIX) gewonnen, die als Methylester (XXX) charakterisiert wurde. Oxydation des freien Oxylactons B (XIX) mit CrO_3 lieferte neben Ketolacton B (Formel wie (XIX) mit Keto-gruppe statt $-\text{OR}$) die Säure (XXXIV), die mit Diazomethan in den Methylester (XXXV) überging, der sich als identisch mit dem aus (XXVIII) erhaltenen Material erwies. Das Oxylacton B (XIX) leitet sich somit von der 20-*iso*-Säure (XXVII) ab und ist aus dem Oxylacton A (XVI) durch Isomerisierung in 20-Stellung entstanden. Dementsprechend wird es auch in guter Ausbeute beim Erhitzen der 20-*iso*-Säure (XXVII) erhalten.

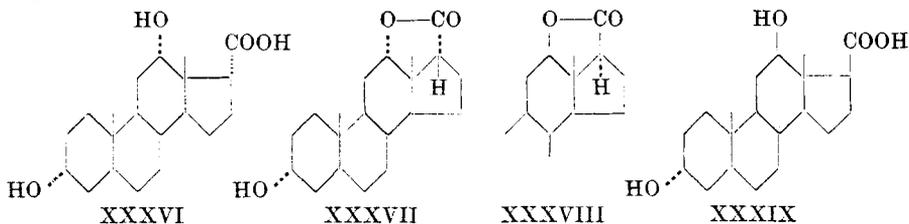
Ganz anders verhalten sich die 3 Acetoxylactone C, D und E gegenüber K_2CO_3 in wässrigem Methanol; es wird dabei lediglich die Acetoxygruppe verseift, sodass die drei freien Oxylactone C, D und E in dieser Weise leicht rein erhältlich sind. Mit KOH hingegen tritt Aufspaltung des Lactonringes ein. Aus Oxylacton C entsteht dabei das Kaliumsalz einer Dioxysäure, die jedoch beim Freisetzen sofort das Oxylacton C regeneriert¹⁾. Ganz gleich verhält sich Lacton D. Das Lacton E hingegen wird auch durch Alkali verseift; beim Ansäuern der alkalischen Lösung wird jedoch Lacton D erhalten, d. h. es tritt Isomerisierung, höchstwahrscheinlich in 20-Stellung, ein. Acetoxylacton C wird von CrO_3 in Eisessig bei Zimmertemperatur nur wenig angegriffen. Weitere Versuche zur Aufklärung der Struktur der drei Lactone C, D und E wurden nicht unternommen, weil sie zur Abklärung der eingangs diskutierten Strukturfrage kaum beitragen können. Wir vermuten, dass es sich um Produkte einer Retro-pinakolinumlagerung handelt. Einige Möglichkeiten sind durch die Formeln (XXXI), (XXXII) und (XXXIII) angedeutet, wobei jeweils noch Raumisomere denkbar sind. In 20-Stellung dürfte Lacton E normale, die Lactone C und D dagegen *iso*-Konfiguration besitzen.

Als wichtigstes Ergebnis der Untersuchung folgt, dass die 12-*epi*-Bisnor-desoxycholsäure (XVIII) ein Lacton (XVI) zu bilden vermag,

¹⁾ Auf diesem Wege lassen sich unreine Proben des Lactons C, die noch etwas Oxylacton A oder B enthalten, leicht reinigen.

während die normale Säure (V) dazu nicht fähig ist. Dies spricht u. E. eindeutig dafür, dass sich 12-ständige HO-Gruppe und Seitenkette in der *epi*-Säure (XVIII) auf derselben, in den normalen Säuren (V) und (I) somit auf verschiedenen Seiten des Ringsystems befinden, denn im Raummodell ist eine Lactonbildung ohne allzugrosse Spannung nur möglich, wenn ersteres zutrifft¹⁾. Durch die Überführbarkeit der 20-*iso*-Säure (XXVII) in ein Lacton (XIX) wird dieses Resultat weiter gestützt. Da wir, wie oben erwähnt, die von *Giacomello* aus den Röntgenspektren abgeleiteten Ergebnisse in bezug auf die räumliche Lage der 12-ständigen HO-Gruppe bei der Desoxycholsäure für besser begründet ansehen als diejenigen für die Seitenkette, so nehmen wir mit ihm an, dass diese HO-Gruppe in (I) β -ständig angeordnet ist. Unter dieser Voraussetzung muss man daher für die Seitenkette in der Desoxycholsäure, im Cholesterin, im Progesteron und wahrscheinlich in allen natürlichen Sterinen und Steroiden α -Stellung annehmen. Die von uns verwendete Formulierung entspricht diesem Vorschlag.

Es muss jedoch hervorgehoben werden, dass sich diese Formulierung ausschliesslich auf die röntgenologisch festgestellte β -Stellung der Hydroxylgruppe an C₁₂ bei der Desoxycholsäure stützt und dass die rein chemischen Befunde mindestens ebensogut auch mit der umgekehrten Formulierung (Hydroxylgruppe α -ständig und Seitenkette β -ständig) vereinbar sind. Die folgenden Resultate wären dadurch sogar noch besser erklärbar. Es zeigte sich nämlich, dass 3 α ,12 α -Dioxy-ätio-cholansäure (XXXVI)²⁾³⁾ weder durch Erhitzen in Toluol auf 195° noch durch Stehenlassen mit HCl-Äther in ein Lacton übergeführt wird, sondern in beiden Fällen unverändert bleibt, obgleich sich rein formelmässig ein 5-gliedriges Lacton (XXXVII) hätte bilden können. Auch die 3 α ,12 β -Dioxy-ätio-cholansäure⁵⁾ blieb bei beiden Behandlungsmethoden unverändert, was jedoch nach dem analogen Verhalten der Bisnor-desoxycholsäure (V) zu erwarten war. Das negative Ergebnis bei (XXXVI) ist jedoch auffallend und wäre leichter verständlich, wenn dieser



Säure in Wirklichkeit die Konfiguration (XXXIX) zukäme, da die Bildung des entsprechenden Lactons (XXXVIII) am Raummodell auf erhebliche Schwierigkeiten stösst. Dies hätte dann zur Folge, dass in der Desoxycholsäure die HO-Gruppe an C₁₂ α -ständig und die Seitenkette somit β -ständig anzunehmen wäre. Zu einer solchen Annahme können

¹⁾ Im Raummodell ist die Lactonbildung am leichtesten möglich, wenn beide Gruppen α -ständig sind, etwas schwerer, aber noch gut möglich, wenn beide β -ständig sind. Ist die OH-Gruppe α -ständig und die Seitenkette β -ständig oder umgekehrt, so lässt sich mit den üblichen Tetraedermodellen keine Lactonbildung mehr erzielen.

²⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).*

³⁾ *H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938).*

⁴⁾ *V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).*

⁵⁾ *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938).*

wir uns jedoch vorläufig nicht entschliessen und glauben eher, dass die geringe Tendenz zur Bildung eines fünfgliedrigen Lactons (XXXVII) bei der relativen Starrheit des Sterinskeletts bereits dadurch bedingt sein kann, dass die Valenzwinkel der beteiligten funktionellen Gruppen in (XXXVI) geringe Abweichungen von der zur Lactonbildung günstigen Lage aufweisen.

Wir danken der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die Überlassung einer grösseren Probe Bisnor-desoxycholsäure.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Die zur Analyse und Drehung bestimmten Substanzproben wurden, wenn nichts weiter bemerkt ist, 1—2 Stunden im Hochvakuum bei $80\text{--}90^\circ$ getrocknet.)

3 α -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (X).

a) Aus (XII). 25 mg 3 α -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII)¹⁾ vom Smp. $171\text{--}173^\circ$ wurden in 8 cm³ Methanol gelöst, mit 0,1 g K₂CO₃ in 1 cm³ Wasser versetzt und zwei Tage bei 20° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung lieferte nach starkem Einengen und Zusatz von Petroläther lange Nadeln vom Smp. $171\text{--}173^\circ$. Die Mischprobe mit (XII) gab eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 30° .

b) Aus (VI). 100 mg 3 α ,12 β -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (VI)²⁾³⁾ vom Smp. 168° wurden in 0,5 cm³ Eisessig gelöst und mit 0,4 cm³ (= 1,2 Äquiv.) 5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt, wobei Selbsterwärmung eintrat. Nach ca. 5 Minuten wurde mit Äther verdünnt und die Lösung mit verd. H₂SO₄, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Chromatographie über Al₂O₃ lieferte aus den mit Benzol-Äther (9:1) eluierbaren Anteilen wenig 3,12-Diketo-ester (XV) vom Smp. 140° und aus den mit Äther abgelösten Fraktionen 60 mg (X) vom Smp. $165\text{--}170^\circ$ (Mischprobe).

3 α -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure (IX).

0,1 g 3 α -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII) vom Smp. $171\text{--}173^\circ$ wurden in der Lösung von 0,5 g KOH in 1,5 cm³ Methanol gelöst und 3 Stunden bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung und Umkrystallisieren aus Äther durch Einengen gab farblose Nadeln vom Smp. $299\text{--}300^\circ$.

3 α ,12 α -Diacetoxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIV).

6,82 g 3 α -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure-methylester (XII) wurden in 50 cm³ reinstem Methanol heiss gelöst und mit 22,5 cm³ 4-proz. NaOH-Lösung in Methanol versetzt. Nach dem Erkalten wurde die Lösung und das frisch aus 6,8 g Nickel-Aluminium-Legierung⁴⁾ bereitete und mit Methanol gewaschene *Raney-Nickel*⁵⁾ mit 35 cm³ Methanol in einen Hydrierkolben gespült und in H₂-Atmosphäre geschüttelt. Nach 18 Stunden war die berechnete Menge Gas (421 cm³) aufgenommen. Es wurde filtriert, über wenig Kohle geklärt, im Vakuum eingedampft und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung hinterliess 6,45 g rohen Ester (XIII) als farbloses Harz. Aus Äther-Petroläther liessen sich auch nach

¹⁾ A. Lardon, T. Reichstein, Helv. **27**, 713 (1944).

²⁾ J. Sawlewicz, Roczniki Chemii **18**, 755 (1938); C. **1939**, II, 2074.

³⁾ T. Kazuno, T. Shimizu, J. Biochemistry **29**, 421 (1939).

⁴⁾ Dieses Material wurde uns von Herrn M. Raney, Chattanooga, USA., freundlichst zur Verfügung gestellt.

⁵⁾ Am. Pat. 1 628 190; C. **1927**, II, 653; L. W. Covert, H. Adkins, Am. Soc. **54**, 4116 (1932).

Animpfen mit (VI) keine Krystalle erhalten, wohl aber sofort beim Animpfen der Methanol-lösung mit (VI), doch war eine sichere Reinigung der so erhaltenen Krystalle nicht möglich. Das ganze im Vakuum getrocknete Material (6,45 g) wurde daher durch 4-stündiges Erhitzen mit 7 cm³ abs. Pyridin und 7 cm³ Acetanhydrid auf dem siedenden Wasserbad acetyliert. Aufnehmen in Äther, Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen gab 7,86 g rohes Diacetat. Fraktionierte Krystallisation aus Äther-Petroläther lieferte 6,0 g reinen 3 α ,12 α -Ester (XIV) in farblosen Prismen vom Smp. 109—111° und wenig 3 α ,12 β -Ester (VII) vom Smp. 166—167°. Die spez. Drehung von (XIV) betrug: $[\alpha]_D^{13} = +58,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,26$ in Aceton).

22,6 \pm 0,2 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +1,32^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,880 mg Subst. gaben 9,977 mg CO₂ und 3,175 mg H₂O

C₂₇H₄₂O₈ (462,61) Ber. C 70,09 H 9,15%

Gef. „ 70,17 „ 9,16%

3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII).

6 g 3 α ,12 α -Diacetoxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIV) vom Smp. 109—111° wurden in der Lösung von 12 g KOH in 24 cm³ Methanol warm gelöst und anschliessend 3 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Zusatz von Wasser wurde die Lösung mit Äther ausgeschüttelt, der jedoch beim Eindampfen keinen Rückstand hinterliess. Die alkalische Lösung wurde nun mit HCl angesäuert und wieder mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 4,95 g rohe Säure. Nach Aufnehmen in Äther krystallisierten rasch 0,79 g rohe 3 α ,12 α -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXVII) in Tetraedern vom Smp. 186—196° (vgl. weiter unten). Die Mutterlauge (4,16 g) gab nach längerem Stehen in Äther zu Büscheln vereinigte Nadeln, deren Abscheidung durch Zusatz von Petroläther möglichst vervollständigt wurde. Ausbeute total 3,85 g, Smp. 140—142° und nach Wiedererstarren 218—228°. Aus Methanol-Äther-Petroläther wurde eine in Prismen krystallisierende Form erhalten, die sich viel besser reinigen liess und schliesslich bei 145—146° und nach sofortigem Wiedererstarren bei 230—232° schmolz. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{14} = +47,1^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 1,932$ in Dioxan).

48,3 \pm 0,2 mg Subst. zu 2,501 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +0,91^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die beiden Formen lassen sich durch Impfen der übersättigten Lösung ineinander überführen. Bei halbstündigem Stehen mit konz. H₂SO₄ tritt starke grüne Fluoreszenz ein; bei der 12 β -Säure (V) ist diese Reaktion viel schwächer¹⁾.

Methylester (XIII). 40 mg reine Säure (XVIII), in wenig Methanol gelöst, wurden mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Minuten stehen gelassen. Nach Neutralwaschen, Trocknen und Eindampfen verblieben 41 mg Rohprodukt. Umkrystallisieren aus Methanol gab 32 mg farblose Prismen vom Smp. 92—101°, die Krystallmethanol enthalten.

Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{12} = +38,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,396$ in Aceton).

34,9 \pm 0,2 mg Subst. zu 2,501 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +0,53^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3 α ,12 β -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (VI) krystallisiert aus Methanol ebenfalls mit Krystallmethanol und schmilzt dann bei 85—92° und nach Wiedererstarren bei 170—171°. Die Mischprobe dieser Form mit (XIII) gab keine eindeutige Schmelzpunkts-erniedrigung. Die spez. Drehung von (VI) betrug $[\alpha]_D^{13} = +40,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,316$ in Aceton).

32,9 \pm 0,2 mg Subst. zu 2,501 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0,53^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Durch heisse Acetylierung wird aus (XIII) wieder (XIV) vom Smp. 109—111° erhalten.

¹⁾ Analog verhalten sich 12 α - und 12 β -Oxy-cholansäure sowie 3 α ,12 α - und 3 α ,12 β -Dioxy-cholansäure.

3,12-Diketo-bisnor-cholansäure-methylester (XV) aus (XIII).

20 mg 3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIII) in 0,5 cm³ Eisessig wurden mit 0,40 cm³ 5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (Überschuss zur Oxydation des Krystallmethanols) versetzt und drei Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Aufnehmen mit Äther, Waschen mit verd. H₂SO₄, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen wurden aus Äther-Petroläther 14 mg farblose Blättchen vom Smp. 141—143° erhalten. Die Mischprobe mit (XV) aus (VI)¹⁾ schmolz ebenso.

3 α ,12 α -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXVII).

Das als Nebenprodukt von (XVIII) erhaltene Material (0,79 g) gab nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther typische Tetraeder vom Smp. 196—200°. Die Mischprobe mit der bei 205—207° schmelzenden 3 α ,12 β -Säure (V) gab eine Schmelzpunktserniedrigung von ca. 50°.

Methylester (XXVIII). Aus (XXVII) mit Diazomethan wie bei (XIII). Farblose Blättchen aus Äther-Petroläther, Smp. 183—184°; $[\alpha]_D^{21} = +9,90 \pm 1^{\circ}$ ($c = 1,097$ in Aceton).

10,964 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,10^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum bei 100° nachgetrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,730 mg Subst. gaben 9,967 mg CO₂ und 3,391 mg H₂O
 $C_{23}H_{38}O_4$ (378,54) Ber. C 72,97 H 10,12%
 Gef. „ 72,92 „ 10,17%

3,12-Diketo-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXXV) aus (XXVIII).

Aus 20 mg 3 α ,12 α -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXVIII) vom Smp. 183—184° in 0,5 cm³ Eisessig mit 0,2 cm³ 5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung durch 8stündiges Stehen bei 17° und Aufarbeitung wie bei (XV) wurden farblose, rhombisch begrenzte Krystalle aus Äther-Petroläther erhalten, die ein erstes Mal bei 118—119° schmelzen und zu hexagonal und quadratisch begrenzten Platten erstarren, worauf bei 141—142° definitive Verflüssigung eintritt. Das Produkt erwies sich nach Mischprobe identisch mit dem schon früher beschriebenen Material¹⁾ (Analyse siehe bei (XXXV) aus (XIX)). Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{16} = +72,10 \pm 1^{\circ}$ ($c = 1,318$ in Aceton).

13,169 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,95^{\circ} \pm 0,01^{\circ}$

Lactonisierung der 3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII) durch Erhitzen.

Vorproben. Kleine Proben der Säure (XVIII) wurden in neutralen Lösungsmitteln auf verschiedene Temperaturen erhitzt. Die Menge des Lösungsmittels wurde so bemessen, dass die Säure beim Siedepunkt völlig gelöst war. Zur Aufarbeitung wurde mit Äther verdünnt, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, eingedampft und der so erhaltene Neutralteil im Vakuum getrocknet. Über das Resultat orientiert folgende Tabelle:

Dauer des Erhitzens	Temperatur	Lösungsmittel	Rohes Lacton	
			Ausbeute	Smp.
4 Std.	108°	Toluol	10%	213—223°
3 „	166°	Phenetol	35%	200—218°
2,5 „	195°	Toluol ²⁾	50%	—
6 „	192°	„ ²⁾	70%	200—214°
8 „	194°	„ ²⁾	80%	200—214°
2 „	207°	Tetralin	90%	teilw. ölig

¹⁾ A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).

²⁾ Im Einschussrohr.

Präparativer Versuch. 1,65 g 3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII) und 100 cm³ abs. Toluol wurden im Drehautoklaven 6 Stunden auf 190° erhitzt. Die Trennung gab 0,7 g unveränderte Säure (XVIII) sowie 0,93 g Lactongemisch, das fast völlig aus feinen Nadeln bestand und roh bei 200—218° schmolz.

Oxylacton B (XIX) aus (XVIII).

Eine Probe des Lactongemisches gab nach mühsamer Reinigung durch Chromatographie über alkalifreiem Al₂O₃¹), Hochvakuumsublimation und fraktionierte Krystallisation aus Benzol-Äther-Petroläther, wobei leicht Gallerten entstehen, eine kleine Menge reines Oxylacton B als farblose Nadeln vom Smp. 230—232° (Drehung und Analyse siehe weiter unten). Acetylierung mit Pyridin-Acetanhydrid gab daraus Acetoxylacton B (XX) in Nadeln vom Smp. 209—212° (Mischprobe).

Trennung des Oxylactongemisches aus (XVIII) in Form der Acetate.

1,4 g des obigen Lactongemisches vom Smp. 200—218° wurden mit 2 cm³ Acetanhydrid und 3 cm³ abs. Pyridin 16 Stunden bei 20° stehengelassen. Nach Aufnehmen mit Äther wurde mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (1,69 g) wurde über 50 g alkalifreiem Al₂O₃¹) chromatographisch getrennt. Die mit abs. Benzol eluierbaren Anteile (0,63 g) lieferten beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 190 mg Acetoxylacton B in farblosen, verfilzten Nadeln vom Smp. 209—212°. Die Mutterlaugen wurden für sich nochmals chromatographiert, wobei aus den leichter eluierbaren Anteilen durch Umkrystallisieren aus Petroläther 140 mg reines Acetoxylacton C in farblosen, rechtwinklig begrenzten Säulen vom Smp. 150—152° erhalten wurden; die etwas schwerer eluierbaren Fraktionen gaben noch wenig Acetoxylacton B. Die mit Benzol-Äther abgelösten Fraktionen des ersten Chromatogramms (0,48 g) gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther und Methanol 0,1 g reines Acetoxylacton A in quadratischen Blättchen vom Smp. 241—242°, das bei der Mischprobe mit dem Acetoxylacton B keine eindeutige Schmelzpunktserniedrigung zeigte.

Acetoxylacton A (XVII).

Smp. 241—242°; $[\alpha]_D^{17} = +48,2^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,705$ in Aceton)
 7,046 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,34^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$
 3,720 mg Subst. gaben 10,059 mg CO₂ und 3,069 mg H₂O
 12,590 mg Subst. verbr. 0,621 cm³ 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung²)
 C₂₄H₃₆O₄ (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26
 Gef. „ 73,79 „ 9,23% „ „ 202,73

Acetoxylacton B (XX).

Smp. 209—212°; $[\alpha]_D^{16} = +64,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,889$ in Aceton)
 8,880 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,74^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$
 3,749 mg Subst. gaben 10,170 mg CO₂ und 3,091 mg H₂O
 14,572 mg Subst. verbr. 0,747 cm³ 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)
 C₂₄H₃₆O₄ (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26
 Gef. „ 74,03 „ 9,23% „ „ 195,07

Acetoxylacton C (XXII).

Smp. 150—152°; $[\alpha]_D^{17} = +54,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 2,067$ in Aceton)

¹) Vgl. A. Lardon, J. v. Euv, T. Reichstein, Helv. 27, 1287 (1944), und zwar S. 1292, Fussnote ²).

²) Bei den Lactontitrationen wurde mit ca. 0,5-n. KOH in Methanol gekocht und mit 0,1-n. Säure zurücktitriert.

20,66 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,13^\circ \pm 0,03^\circ$
 3,680 mg Subst. gaben 9,998 mg CO₂ und 3,088 mg H₂O
 17,928 mg Subst. verbr. 0,923 cm³ 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)
 C₂₄H₃₈O₄ (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26
 Gef. ,, 74,14 ,, 9,38% ,, ,, 194,24

Oxylacton B (XIX) aus (XXVII).

100 mg 3 α ,12 α -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXVII) vom Smp. 196—200⁰ wurden in 5 cm³ abs. Toluol im evakuierten Bombenrohr 4 Stunden auf 190⁰ erhitzt. Die Aufarbeitung lieferte 80 mg rohes Lacton vom Smp. 228—232⁰. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab Nadelchen vom Smp. 230—232⁰, Mischprobe ebenso. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{14} = +51,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,753$ in Aceton).

7,528 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +0,39^\circ \pm 0,02^\circ$.
 3,761 mg Subst. gaben 10,494 mg CO₂ und 3,291 mg H₂O
 C₂₂H₃₄O₃ (346,49) Ber. C 76,26 H 9,89%
 Gef. ,, 76,14 ,, 9,79%

Acetylierung von 80 mg Rohprodukt mit Pyridin-Acetanhydrid bei Zimmer-temperatur gab 80 mg rohes Acetat und hieraus nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther und Methanol 25 mg reines Acetoxylacton B in Nadeln vom Smp. 209—212⁰; Mischprobe ebenso.

Bei 9-stündigem Kochen von 100 mg Säure (XXVII) in 3 cm³ abs. Toluol wurden nur 5 mg Lacton erhalten.

Versuch zur Lactonisierung von 3 α ,12 β -Dioxy-bisnor-cholansäure (V), 3 α -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure (IX) und 3 α ,12 α - und 3 α ,12 β -Dioxy-ätio-cholansäure durch Erhitzen.

100 mg 3 α ,12 β -Dioxy-bisnor-cholansäure (V) wurden mit 4 cm³ abs. Toluol im evakuierten Bombenrohr 6 Stunden auf 191⁰ erhitzt. Die Aufarbeitung gab nur 2 mg ölige neutrale Anteile. Die aus dem sodalöslichen Anteil gewonnene Säure krystallisierte aus Chloroform-Äther in groben Nadeln vom Smp. 205—207⁰. Die Mischprobe mit dem genau gleich schmelzenden Ausgangsmaterial schmolz ebenso. Dies steht in Übereinstimmung mit früheren Resultaten¹⁾.

Auch 3 α -Oxy-12-keto-bisnor-cholansäure (IX) wurde unter denselben Bedingungen unverändert zurückgewonnen, ebenso 3 α ,12 α -Dioxy-ätio-cholansäure²⁾, sowie die 3 α ,12 β -Dioxy-ätio-cholansäure³⁾.

Acetoxylactone C (XXII) und D (XXIV) aus (XXVII) mit HCl.

100 mg 3 α ,12 α -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure vom Smp. 196—200⁰ wurden in der Mischung von 2 cm³ konz. Salzsäure und 2 cm³ Äther gelöst und 2 Tage bei 18⁰ stehen gelassen. Die Trennung mit Sodalösung und Äther gab 15 mg unveränderte Säure und 81 mg neutrale Anteile. Letztere wurden durch einstündiges Erwärmen mit 0,3 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid acetyliert und das wie üblich isolierte Acetatgemisch (85 mg) über 5 g Al₂O₃ chromatographiert. Die zwei ersten mit Benzol-Äther (9 : 1) eluierten Fraktionen (35 mg) gaben beim Umkrystallisieren aus Aceton-Petroläther Acetoxylacton D (XXIV) in farblosen, quadratischen Blättchen vom Smp. 202—203⁰ und aus Chloro-

¹⁾ B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. **25**, 918 (1942).

²⁾ Die Säure ⁴⁾ ⁵⁾ wurde von uns durch alkalische Verseifung des Methylesters⁶⁾ gewonnen; sie schmolz bei 282—286⁰.

³⁾ W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. **60**, 1493 (1938).

⁴⁾ M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **21**, 328 (1938).

⁵⁾ H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. **60**, 2824 (1938).

⁶⁾ V. Wenner, T. Reichstein, Helv. **27**, 965 (1944).

form-Äther-Petroläther Büschel langer Nadeln vom gleichen Smp. Die Mischprobe mit Acetoxylacton B (XX) vom Smp. 209—212° gab eine Schmelzpunktserniedrigung von 25°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{21} = +56,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,957$ in Aceton).

9,569 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,54^\circ \pm 0,02^\circ$

3,544 mg Subst. gaben 9,658 mg CO₂ und 2,997 mg H₂O

14,368 mg Subst. verbr. 0,743 cm³ 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)

C₂₄H₃₆O₄ (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26

Gef. „ 74,36 „ 9,46% „ „ 193,78

Weitere vier mit Benzol-Äther eluierte Fraktionen (40 mg) gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther reines Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 150—152° (Mischprobe ebenso).

Oxylacton E (XXV) aus (XVIII) mit HCl.

1 g 3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure (XVIII) vom Smp. 145°/230° wurde in der Mischung von je 12,5 cm³ konz. HCl und Äther gelöst und 4 Tage bei 17° stehen gelassen. Die Trennung mit Sodalösung lieferte 0,3 g unveränderte Säure (XVIII) und 0,68 g rohes Lacton als Neutralteil. Umkrystallisieren des letzteren aus Äther-Petroläther gab 0,64 g reines Oxylacton E in farblosen, zu Drusen verwachsenen Säulen vom Smp. 215—216°.

3,732 mg Subst. gaben 10,339 mg CO₂ und 3,245 mg H₂O

C₂₂H₃₄O₃ (346,49) Ber. C 76,26 H 9,89%

Gef. „ 75,60 „ 9,73%

Acetoxylacton E (XXVI).

260 mg Oxylacton E (XXV) vom Smp. 215—216° wurden mit 0,7 cm³ abs. Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid 24 Stunden bei 16° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 280 mg rohes Acetat. Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther lieferte 250 mg farblose Blöcke vom Smp. 176—177°; $[\alpha]_D^{24} = +30,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,050$ in Aceton).

10,496 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{24} = +0,32^\circ \pm 0,02^\circ$

3,584 mg Subst. gaben 9,763 mg CO₂ und 2,976 mg H₂O

15,717 mg Subst. verbr. 0,818 cm³ 0,1-n. KOH (12-stündige heisse Verseifung)

C₂₄H₃₆O₄ (388,53) Ber. C 74,19 H 9,34% Äquiv.-Gew. 194,26

Gef. „ 74,34 „ 9,29% „ „ 192,14

Versuch zur Lactonisierung von 3 α ,12 β -Dioxy-bisnor-cholansäure (V), Desoxycholsäure (I), 12-*epi*-Desoxycholsäure¹⁾, 3 α ,12 α -Dioxy-ätio-cholansäure²⁾³⁾ und 3 α ,12 β -Dioxy-ätio-cholansäure⁴⁾ mit HCl.

70 mg 3 α ,12 β -Dioxy-bisnor-cholansäure (V) vom Smp. 205°/240° wurden in der Mischung von je 1,5 cm³ konz. HCl und Äther suspendiert und 60 Stunden bei 20° stehen gelassen. Zum Unterschied von (XVIII) und (XXVII) trat keine Lösung ein. Die Aufarbeitung lieferte nur ca. 0,5 mg ölige Neutralteile und 70 mg sodalösliches Material. Dieses gab beim Umkrystallisieren aus Benzol 50 mg rechteckige Platten, die sich als unveränderte Säure (V) erwiesen. Unverändert blieben bei analoger Behandlung auch Desoxycholsäure (I), 3 α ,12 α -Dioxy-ätio-cholansäure⁵⁾ und 3 α ,12 β -Dioxy-ätio-cholansäure⁴⁾, wobei nur die erst- und letztgenannte Substanz in Lösung gingen. Etwas abweichend verhielt sich 12-*epi*-Desoxycholsäure¹⁾. Aus 0,5 g davon, die sich in 20 cm³

¹⁾ B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. **25**, 918 (1942).

²⁾ M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **21**, 828 (1938).

³⁾ H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. **60**, 2824 (1938).

⁴⁾ W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. **60**, 1493 (1938).

⁵⁾ Die Säure ²⁾³⁾ wurde von uns durch alkalische Verseifung des Methylesters ⁶⁾ gewonnen; sie schmolz bei 282—286°.

⁶⁾ V. Wenner, T. Reichstein, Helv. **27**, 965 (1944).

HCl-Äther (1:1) gut lösten, wurden nach 4-tägigem Stehen bei 20° nur 35 mg amorphe Neutralteile erhalten. Die Hauptmenge (445 mg) war ein sodalösliches Harz, aus dem sich keine Ausgangssubstanz mehr gewinnen liess. Auch nach Methylierung und Chromatographie waren keine Krystalle erhältlich, ebenso nicht nach Acetylierung und Oxydation des Methylsters.

Oxylacton C (XXI).

50 mg Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 150—152° wurden in 2 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 30 mg K₂CO₃ in 0,3 cm³ Wasser versetzt und 20 Stunden stehengelassen. Nach Zugabe von Äther wurde mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (45 mg) gab aus Aceton-Äther 37 mg zu Drusen verwachsene, hexagonale Säulen vom Smp. 240—241°.

Reinigung von rohem Acetoxylacton C (XXII) durch Verseifung.

235 mg unreines Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 135—150° (aus (XVIII) durch Erhitzen in Toluol gewonnen) wurden in der Lösung von 0,5 g KOH in 1 cm³ Methanol gelöst und 3 Stunden bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit Wasser versetzt und durch Ausschütteln mit Äther vom Unverseiften (5 mg) befreit. Die alkalische Lösung wurde mit HCl angesäuert und nach kurzem Stehen mit Äther ausgeschüttelt. Die mehrmals mit verd. Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 152 mg neutralen Rückstand. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther gab 140 mg reines Oxylacton C (XXI) vom Smp. 240—241°. Durch Acetylierung wurde daraus 161 mg rohes und 120 mg umkrystallisiertes Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 150—152° gewonnen.

Oxylacton D (XXIII).

50 mg Acetoxylacton D (XXIV) vom Smp. 202—203° wurden wie bei (XXI) beschrieben mit K₂CO₃ in wässrigem Methanol verseift. Das Rohprodukt (45 mg) gab aus Chloroform-Petroläther 36 mg zu Drusen vereinigte Spiesse vom Smp. 175—176°. Reacetylierung gab wieder das Acetat vom Smp. 202—203°. Auch das Oxylacton D (XXIII) und sein Acetat (XXIV) geben bei der Verseifung mit KOH in Methanol das K-Salz einer Säure, die beim Freisetzen mit HCl das Lacton (XXIII) sofort regeneriert.

Oxylacton E (XXV) aus (XXVI).

40 mg Acetoxylacton E (XXVI) vom Smp. 176—177° in 7 cm³ Methanol wurden mit der Lösung von 30 mg K₂CO₃ in 0,6 cm³ Wasser versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Aufarbeitung wie bei (XXI) und (XXIII) gab 34 mg Neutralprodukt. Aus Äther-Petroläther farblose Prismen vom Smp. 215—216° (Mischprobe ebenso). Acetylierung gibt wieder (XXVI).

Oxylacton D (XXIII) aus Oxylacton E (XXV).

100 mg Oxylacton E (XXV) vom Smp. 215—216° wurden in der Lösung von 0,2 g KOH in 0,5 cm³ Methanol gelöst und 3 Stunden bei 18° stehengelassen. Nach Zusatz von Wasser liessen sich mit Äther 5 mg unverseifte Anteile ausschütteln. Die alkalische Lösung wurde mit HCl angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verd. NaOH und Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung hinterliess 95 mg neutralen Rückstand. Umkrystallisieren aus Chloroform-Petroläther lieferte 80 mg Oxylacton D (XXIII) vom Smp. 175—176°. Einstündige Acetylierung mit 0,3 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid bei 100° gab 91 mg rohes und 70 mg umkrystallisiertes Acetoxylacton D (XXIV) vom Smp. 202—203° (Mischprobe ebenso).

3 α ,12 α -Dioxy-bisnor-cholansäure-methylester (XIII) aus Acetoxylacton A (XVII).

40 mg Acetoxylacton A (XVII) vom Smp. 240—242° wurden in 10 cm³ Methanol heiss gelöst, mit der Lösung von 30 mg K₂CO₃ in 0,6 cm³ Wasser und 2 cm³ Methanol

versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 35 mg neutralen Rückstand. Aus der K_2CO_3 -Lösung liessen sich mit HCl 4 mg rohe Säure abscheiden, die aus Äther 3 mg Krystallnadeln vom Doppelschmelzpunkt $132\text{--}137^\circ/226\text{--}230^\circ$ ergaben. Die Mischprobe mit (XVIII) gab keine Schmelzpunkterniedrigung. Der Neutralteil krystallisierte aus wenig Methanol nach Animpfen mit (XIII) sofort in Säulen vom Smp. $85\text{--}93^\circ$. Zur Charakterisierung wurde die ganze Menge (35 mg) durch 3-stündiges Erhitzen mit $0,1\text{ cm}^3$ Acetanhydrid und $0,15\text{ cm}^3$ abs. Pyridin auf 100° acetyliert. Das rohe Acetat (41 mg) gab aus Pentan 34 mg reines Diacetat (XIV) vom Smp. $109\text{--}111^\circ$ (Mischprobe ebenso). (Die Spaltung von (XVII) gelingt auch bei 20° wie bei (XX), doch ist dieses Verfahren wegen der geringen Löslichkeit von (XVII) in Methanol ungünstig).

3 α ,12 α -Dioxy-20-*iso*-bisnor-cholansäure-methylester (XXVIII) aus Acetoxy-lacton B (XX).

a) Mit K_2CO_3 .

40 mg Acetoxy-lacton B (XX) vom Smp. $209\text{--}212^\circ$ wurden in 2 cm^3 Methanol gelöst, mit der Lösung von 30 mg K_2CO_3 in $0,3\text{ cm}^3$ Wasser versetzt und 26 Stunden bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 2,5 mg rohe Säure, die in Tetraedern vom Smp. $189\text{--}196^\circ$ krystallisierte; bei der Mischprobe mit (XXVII) keine Schmelzpunkterniedrigung. Der Neutralteil (35 mg) lieferte aus Aceton-Äther 30 mg quadratische Blättchen vom Smp. $183\text{--}184^\circ$. Die Mischprobe mit (XXVIII) schmolz ebenso.

b) Mit HCl in Methanol.

39 mg Acetoxy-lacton B (XX) vom Smp. $209\text{--}212^\circ$ wurden in $1,33\text{ cm}^3$ Methanol heiss gelöst, bei 20° mit $0,66\text{ cm}^3$ 3-proz. HCl in Methanol versetzt und 15 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab nur Neutralprodukt. Aus Äther 32 mg quadratische Blättchen vom Smp. $183\text{--}184^\circ$; Mischprobe ebenso.

3 α -Acetoxy-12-keto-bisnor-cholansäure (XI) aus Acetoxy-lacton A (XVII).

16 mg Acetoxy-lacton A (XVII) vom Smp. $240\text{--}242^\circ$ wurden in $0,4\text{ cm}^3$ Eisessig gelöst, mit $0,2\text{ cm}^3$ 5-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung versetzt und 24 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde mit Wasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherlösung mit verd. H_2SO_4 , Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es verblieben 8 mg unreines Ausgangsmaterial. Die Sodauszüge gaben nach Ansäuern mit HCl und Ausschütteln mit Äther 8 mg rohe Säure (XI), die aus Aceton-Petroläther in Blättchen vom Smp. $256\text{--}258^\circ$ krystallisierte. Zur Charakterisierung wurden alle sauren Anteile (8 mg) mit Diazomethan methyliert und der rohe Methylester mit Pyridin-Acetanhydrid nachacetyliert. Krystallisation aus Äther-Petroläther gab 5,5 mg hexagonale Blättchen vom Smp. $168\text{--}171^\circ$. Die Mischprobe mit reinem (XII) schmolz bei $170\text{--}172^\circ$.

3 α -Acetoxy-12-keto-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXIX) aus Acetoxy-lacton B (XX).

120 mg Acetoxy-lacton B (XX) vom Smp. $209\text{--}212^\circ$ in 2 cm^3 Eisessig wurden mit 1 cm^3 5-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung vermischt und 50 Stunden bei 16° stehen gelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 10 mg Neutralprodukt (Ausgangsmaterial) sowie 107 mg rohe Säure. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther lieferte 36 mg lange Nadeln vom Smp. $229\text{--}230^\circ$ und aus der Mutterlauge noch 50 mg vom Smp. $225\text{--}227^\circ$. Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum bei 100° nachgetrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,654 mg Subst. gaben 9,463 mg CO_2 und 2,856 mg H_2O

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$ (404,53) Ber. C 71,25 H 8,97%
Gef. „ 70,67 „ 8,75%

Methylester (XXX). 10 mg Säure (XXIX) vom Smp. 229—230° wurden mit ätherischer Diazomethanlösung 10 Minuten stehen gelassen. Aus Petroläther krystallisierten lange Nadeln (7 mg) vom Smp. 138—139° und $[\alpha]_D^{21} = +87,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,096$ in Aceton).

10,958 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,96^\circ \pm 0,02^\circ$

3,573 mg Subst. gaben 9,356 mg CO₂ und 2,863 mg H₂O

C₂₅H₃₈O₃ (418,56) Ber. C 71,73 H 9,15%

Gef. „ 71,46 „ 8,97%

Ketolacton B und 3,12-Diketo-20-*iso*-bisnor-cholansäure (XXXIV) aus Oxylacton B (XIX).

50 mg fast reines Oxylacton B (XIX) vom Smp. 225—232° in 1,5 cm³ Eisessig wurden mit 0,3 cm³ 5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung vermischt und 15 Stunden bei 17° stehen gelassen, worauf sich noch freies CrO₃ nachweisen liess. Die wie oben durchgeführte Aufarbeitung gab 20 mg Neutrales (Ketolacton) und 25 mg rohe Säure (XXXIV).

Ketolacton B. Der Neutralteil gab aus Benzol-Petroläther lange Nadeln vom Smp. 229—235°, die zur Analyse im Hochvakuum sublimiert wurden. Das Sublimat schmolz bei 214—216°.

3,604 mg Subst. gaben 10,130 mg CO₂ und 3,024 mg H₂O

C₂₂H₃₂O₃ (344,48) Ber. C 76,70 H 9,36%

Gef. „ 76,71 „ 9,39%

Säure (XXXIV). Die rohe Säure wurde direkt mit ätherischem Diazomethan methyliert. Der aus Methanol und Äther-Petroläther umkrystallisierte Methylester (Rhomben) schmolz bei 119—121° und nach Rekrystallisation definitiv bei 142—143°. Mischprobe mit (XXXV) aus (XXVIII) ebenso.

3,714 mg Subst. gaben 10,085 mg CO₂ und 3,086 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₄ (374,51) Ber. C 73,76 H 9,15%

Gef. „ 74,10 „ 9,30%

Einwirkung von CrO₃ auf Acetoxylacton C (XXII).

80 mg fast reines Acetoxylacton C (XXII) vom Smp. 148—150° wurden in 1 cm³ Eisessig gelöst, mit 1 cm³ 5-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und 20 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 72 mg neutrale Anteile, die beim Umkrystallisieren wieder Acetoxylacton C gaben, das aber weniger scharf schmolz als das Ausgangsmaterial.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.