

**Über die partielle Oxydation des Cholsäuremethylesters.
(Untersuchungen über Sterine, XXVI.)**

Von Satoru KUWADA und Syozo MORIMOTO.

(Eigegangen am 4. Dezember 1941.)

Bei der Dehydrierung des Cholsäuremethylesters mit Überschuss Aluminiumphenolat in kochendem Benzol-Aceton⁽¹⁾, konnten wir nur ein Dehydrierungsprodukt ($C_{25}H_{40}O_5$) vom Schmp. 171–172°⁽²⁾ erhalten. Es liefert ein Diacetat ($C_{29}H_{44}O_7$) vom Schmp. 193°, dessen Monoxim ($C_{29}H_{45}O_7N$) bei 178° schmilzt. Durch alkalische Verseifung der Krystalle vom Schmp. 171–172° entsteht eine freie Säure ($C_{24}H_{38}O_5$, $[\alpha]_D^{25}: +37.20^\circ$) vom Schmp. 181°, aus der ein Diacetat ($C_{28}H_{42}O_7$) vom Schmp. 197° dargestellt wurde. Das Dehydrierungsprodukt des Cholsäuremethylesters ist daher der ein von den 3 theoretisch möglichen Monoketodioxy-cholansäuremethylestern.

Durch Chromsäure-Oxydation dieses Esters erhält man den bekannten Dehydrocholsäuremethylester vom Schmp. 239° und durch katalytische Reduktion den Cholsäuremethylester vom Schmp. 152°. Deshalb kann man sagen, dass während der obenerwähnten Dehydrierung keine sterische Umlagerung des Cholsäuremethylesters stattgefunden hat.

In der Literatur sind schon zwei Monoketodioxy-cholansäuren angegeben. Wie in der Tabelle 1 ersichtlich, stimmt aber unsere Monoketodioxy-cholansäure mit keinen bekannten Monoketodioxy-cholansäure überein.

(1) *J. Pharmac. Soc. Japan*, **57** (1937), 247.

(2) Alle Schmelzpunkten sind unkorrigiert.

Tabelle 1.

| Verbindungen | Freie Säure Schmp. u. $[\alpha]_D^{25}$ | Acetat Schmp. | Acetyl-methyl- ester Schmp. |
|--|--|---------------|--------------------------------|
| 3,7-Dioxy-12-keto-cholansäure ⁽³⁾ | 218°, 219–220° +73–74° | 221–222° | 179° |
| 3-Keto-7,12-dioxy-cholansäure ⁽⁴⁾ | 121–123° | | 197–198° |
| Monoketo-dioxy-cholansäure nach Kuwada und Mori.noto | 181°, +37.20° | 197° | 191–193° |

Das aus dem Monoketo-dioxy-cholansäuremethylester vom Schmp. 171–172° dargestellte Hydrazon wurde mit Kali-Pulver im Ölbad bei 150° erhitzt. Der durch Wasserzugabe ausgeschiedene Niederschlag wurde aus Essigester umgelöst, wobei die Nadeln ($C_{24}H_{40}O_4$, $[\alpha]_D^{25}$: +26.58–27.27°) vom Schmp. 206° entstanden. Diese Verbindung liefert einen Methylester vom Schmp. 151°, woraus einen Diacetyl-methylester vom Schmp. 146° entsteht. Die nach Kishner reduzierte Substanz ist also eine der Dioxy-cholansäuren. Mit keiner bekannten Dioxy-cholansäuren (Tabelle 2) stimmte aber die Säure vom Schmp. 206° überein, was wohl auf die verschiedene Konfiguration des Hydroxyls beruht.

Tabelle 2.

| Verbindungen | Schmp. u. $[\alpha]_D^{25}$ | Methylester Schmp. | Acetyl-methyl-ester Schmp. |
|---|-----------------------------|------------------------|----------------------------|
| Desoxycholsäure (3.12) | 172° ^(5a) | 95–97° ^(5b) | 117° ^(5c) |
| α -Lago-desoxy-cholsäure (3.12) ⁽⁶⁾ | 156–157°, +80° | 108° | |
| β -Lago-desoxy-cholsäure ⁽⁶⁾ | 213°, +37.4° | 175° | |
| Iso-desoxy-cholsäure (7.12) ⁽⁷⁾ | 207–208° | 54° | |
| β -Iso-desoxycholsäure (7.12) ⁽⁸⁾ | 226–227° | 64° | |
| Cheno-desoxycholsäure (3.7) ⁽⁹⁾ | 140°, +11.1–13.2° | | |
| Urso-desoxycholsäure (3.7) ⁽¹⁰⁾ | 203°, +44.5–51.1° | | |
| Dioxy-cholansäure nach Kuwada und Morimoto | 206°, +26.93° | 151° | 146° |

Oxydiert man den Dioxy-cholansäuremethylester mit Chromsäure, so erhält man Diketo-cholansäuremethylester ($C_{25}H_{38}O_4$, $[\alpha]_D^{25}$: +15.96°)

(3) Borsche und Feske, *Z. physiol. Chem.* **176** (1928), 109.

(4) Tai Sihk Sihn, *J. Biochem.* **27** (1938), 425.

(5) a) Schlenck, *Z. physiol. Chem.*, **148** (1925), 223.

b) Dane und Brady, *ibid.*, **244** (1936), 242.

c) Wieland und Kapitel, *ibid.*, **212** (1932), 273.

(6) Kishi, *ibid.*, **238** (1936), 210.

(7) Wieland und Dane, *ibid.*, **210** (1932), 268 u. vgl. (2).

(8) Wieland, Honold und Pascual-Vila, *ibid.*, **130** (1923), 326.

(9) Windaus, Bohne und Schwarzenkopf, *ibid.*, **140** (1924), 167.

(10) Kaziro, *ibid.*, **185** (1929), 151; **197** (1931), 206.

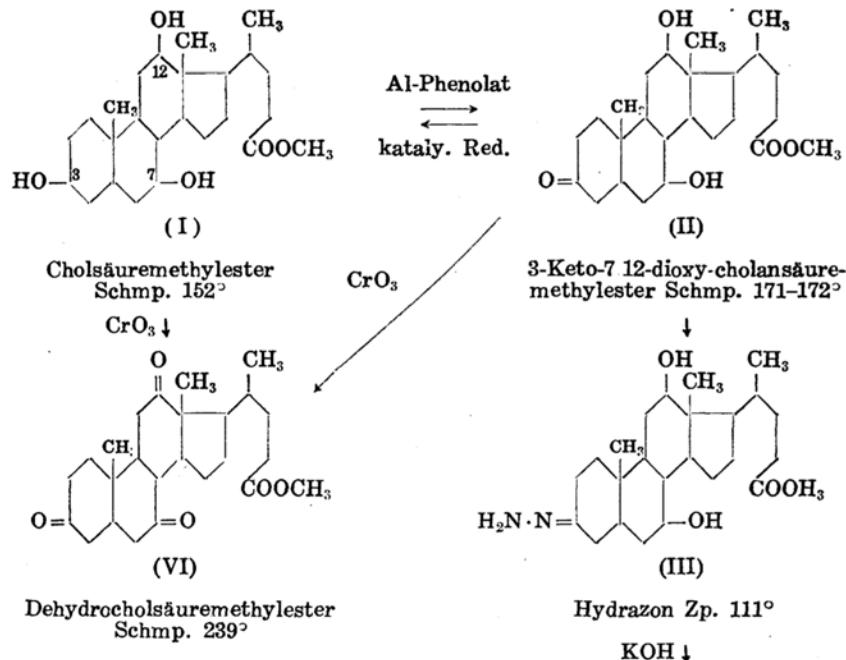
vom Schmp. 137–138°, der durch Verseifen eine freie Säure ($C_{24}H_{36}O_4$, $[\alpha]_D^{24} : +16.10\text{--}16.36^\circ$) vom Schmp. 172° liefert. Die freie Säure bildet auch ein Dioxim vom Zp. 263°. Diese Diketo-cholansäure ist identisch mit 7.12-Diketo-cholansäure wie in der Tabelle 3.

Tabelle 3.

| Verbindungen | Freie Säure Schmp. u. $[\alpha]_D$ | Methylester Schmp. u. $[\alpha]_D$ |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 3.7-Diketo-cholansäure | 153°(9) 156°(11) | |
| | 161°, –33.6°(10) | 161–162° |
| 3.12-Diketo-cholansäure ⁽¹²⁾ | 188–189° | 136° |
| 7.12-Diketo-cholansäure | 176°(13) 171–172°(6) | |
| | 176°(14) | 135°, +15.5° |
| Diketo-cholansäure nach Kuwada u. Morimoto | 171–172°, +16.23° | 137–138°, +15.95° |

Aus diesen Ergebnissen wurde es sichergestellt, dass bei der Aluminiumphenolat-Dehydrierung des Cholsäuremethylesters nur die am C 3 ständige Hydroxylgruppe angegriffen wird und 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäure-methylester entsteht.

Die vorliegende Arbeit wird daher schematisch wie folgt zusammengestellt:

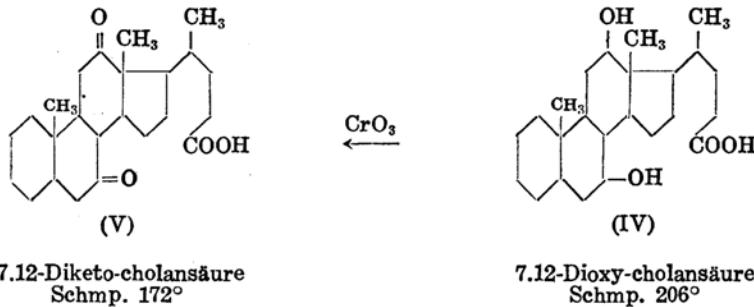


(11) Wieland und Jacob, *Z. physiol. Chem.*, **148** (1925), 232.

(12) Wieland und Borsche, *ibid.*, **106** (1919), 190.

(13) Borsche, *Ber.*, **52** (1919), 1352.

(14) Tschesche, *Z. physiol. Chem.*, **203** (1932), 263.



Beschreibung der Versuche. *Cholsäuremethylester* (I). Die aus frischen Rindergallen isolierte Cholsäure wurde mit Methanol und konz. Schwefelsäure methyliert und der Methylester aus absol. Alkohol umgelöst. Schmp. 152° (Anhydrid). 47.7 mg Sbst., gelöst in Chloroform zu 3 ccm, 2 dm, 29°, $\alpha: +0.8^\circ$, $[\alpha]_D^{25}: +25.15^\circ$.

Dehydrocholsäuremethylester (VI). Cholsäuremethylester wurde in Eisessig bei 35–40° mit 10%iger Chromsäure-Eisessiglösung oxydiert und das Oxydationsprodukt aus Essigester zweimal umkristallisiert. Schmp. 239°.

Dehydrierung des Cholsäuremethylesters mittels Aluminiumphenolats: *3-Keto-7,12-dioxy-cholansäuremethylester* (II). 5 g Cholsäuremethylester wurden in 100 ccm Aceton gelöst und mit benzolischer Aluminiumphenolatlösung (dargestellt aus 3 g Aluminium-Amalgam und 15 g Phenol unter Zusatz von Spuren Sublimat und Jod) auf dem Wasserbade 10 Stdn. erhitzt. Die Reaktionslösung wurde dann nacheinander mit 10%iger Schwefelsäure und 10%iger Natronlauge geschüttelt. Beim Abdampfen des Benzols erhielt man einen krystallinischen Rückstand, der aus Aceton umgelöst wurde. Feine Säulen vom Schmp. 171–172°. ($C_{25}H_{40}O_5$. Ber. C 71.37, H 9.37, OCH_3 7.37. Gef. C 71.50, H 9.38, OCH_3 7.02.)

3-Keto-7,12-diacetoxy-cholansäuremethylester. Durch Erhitzen des 3-Keto-7,12-dioxy-cholansäuremethylesters mit Essigsäureanhydrid 3 Stdn. auf dem Drahtnetz erhielt man ein Diacetat, das aus Essigester in Nadeln vom Schmp. 193° krystallisiert. ($C_{29}H_{44}O_7$. Ber. C 69.00, H 8.79, OCH_3 6.14. Gef. C 69.05, H 8.46, OCH_3 6.09.)

3-Keto-7,12-dioxy-cholansäure. 3-Keto-7,12-dioxy-cholansäuremethylester wurde mit alkoholischen Kalilauge verseift und die freie Säure aus Essigester umgelöst. Schuppen vom Schmp. 181°. 0.0129 g Sbst., gelöst in absol. Alkohol zu 3 ccm, 2 dm, 29°, $\alpha: +0.32^\circ$, $[\alpha]_D^{25}: +37.20^\circ$. ($C_{24}H_{38}O_5$. Ber. C 70.88, H 9.42. Gef. C 70.56, H 9.57.)

3-Keto-7,12-diacetoxy-cholansäure. Das durch Erhitzen der 3-Keto-7,12-dioxy-cholansäure mit Essigsäureanhydrid 2 Stdn. dargestellte Diacetat wurde aus Essigester umkristallisiert. Nadeln vom Schmp. 197°. ($C_{28}H_{42}O_7$. Ber. C 68.52, H 8.63. Gef. C 68.38, H 8.75.)

Oxim des 3-Keto-7,12-diacetoxy-cholansäuremethylesters. 3-Keto-7,12-diacetoxy-cholansäuremethylester wurde in Alkohol mit Hydroxylaminacetat auf dem Wasserbad 2 Stdn. erwärmt. Nach der Wasserzugabe wurde der ausgeschiedene Niederschlag in Aether aufgenommen und der

Aetherrückstand aus Methanol umkristallisiert. Nadeln vom Schmp. 178°. ($C_{29}H_{45}O_7N$. Ber. C 67.01, H 8.73, N 2.67. Gef. C 67.04, H 8.62, N 2.62.)

Chromsäure-Oxydation des 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäuremethylesters: *Dehydrocholsäuremethylester* (VI). 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäuremethylester wurde in Eisessig beim Zimmertemperatur mit Chromsäure oxydiert. Das Oxydationsprodukt krystallisiert aus Essigester in Nadeln vom Schmp. 239°. Sie zeigte bei der Misch-Schmp.-Bestimmung mit dem oben beschriebenen Dehydrocholsäuremethylester keine Schmp.-Erniedrigung. ($C_{25}H_{36}O_5$. Ber. C 72.06, H 8.72. Gef. C 71.83, H 8.33.)

Katalytische Reduktion des 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäuremethylesters (II): *Cholsäuremethylester* (I). 1 g 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäuremethylester und 1 g Platinoxyd (nach Adams) wurden in 150 ccm Eisessig unter Wasserstoffstrom geschüttelt, wobei innerhalb 4 Stdn. 68 ccm Wasserstoff absorbiert wurden (theoretisch berechnet 53.3 ccm). Nach der Beendigung der Reduktion wurde die Eisessiglösung in Wasser hineingegossen, und der ausgeschiedene Niederschlag in Aether aufgenommen. Der Aetherrückstand wurde wiederholt aus absol. Alkohol umkristallisiert. Säulen vom Schmp. 152°. 31.0 mg Sbst., gelöst in Chloroform zu 3 ccm, 2 dm, 29°, $\alpha: +0.52^\circ$, $[\alpha]_D^{25}: +25.16^\circ$. ($C_{25}H_{42}O_5$. Ber. C 71.03, H 10.02. Gef. C 71.35, H 10.03.) Cholsäure.

Der obenerwähnte Ester wurde mit alkoholischen Kalilauge verseift, und das Verseifungsprodukt aus absol. Alkohol umgelöst. Säulen vom Schmp. 196°. 0.0843 g Sbst., gelöst in absol. Alkohol zu 10 ccm, 2 dm, 29°, $\alpha: +0.43^\circ$, $[\alpha]_D^{25}: +25.50^\circ$. ($C_{24}H_{40}O_5$. Ber. C 70.53, H 9.87. Gef. C 70.76, H 10.18.)

Kishnersche Reduktion des 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäuremethylesters: *7.12-Dioxy-cholansäure* (IV). 5 g 3-Keto-7.12-dioxy-cholansäuremethylester und 1 g Hydrazinhydrat wurden in 20 ccm absol. Alkohol 2 Stdn. auf dem Wasserbad erhitzt und beim Zimmertemperatur stehengelassen. Das ausgeschiedene rohe Hydrazon schmolz bei 111° (unter Zers.). 5 g Hydrazon wurden mit 10 g Kali-Pulver innig gemischt und im Ölbad unter Wasserstoffstrom bis 150° erhitzt, wobei die Entwicklung des Ammoniakgases deutlich bemerkt wird. Nach dem Aufhören der Ammoniak-Entwicklung wurde die Reaktionsmasse kaltgestellt und dann mit Wasser versetzt. Die Wasserlösung wurde angesäuert, der ausgeschiedene Niederschlag abfiltriert und in Aether aufgenommen. Aus Aceton, dann aus Essigester mehrmals umkristallisiert, bildet der Aetherrückstand Nadeln vom Schmp. 206°. 23.70 mg, 18.70 mg Sbst., gelöst in absol. Alkohol zu 3 ccm, 2 dm, 21°, $\alpha: +0.42^\circ$, $+0.34^\circ$, $[\alpha]_D^{25}: +26.58^\circ$, $+27.27^\circ$. ($C_{24}H_{40}O_4$. Ber. C 73.41, H 10.29. Gef. C 73.22, H 9.92.)

7.12-Dioxy-cholansäuremethylester. Der aus 7.12-Dioxy-cholansäure mit Methanol und konz. Schwefelsäure dargestellte Methylester wurde aus Methanol wiederholt umkristallisiert. Nadeln vom Schmp. 151°. ($C_{25}H_{42}O_4$. Ber. C 73.83, H 10.42, OCH_3 7.62. Gef. C 74.06, H 10.28, OCH_3 7.30.)

7.12-Diacetoxy-cholansäuremethylester. Der nach der üblichen Weise mit Essigsäureanhydrid acetylierte 7.12-Dioxy-cholansäuremethylester krystallisierte aus Methanol als Nadeln vom Schmp. 145°. ($C_{29}H_{46}O_6$. Ber. C 70.97, H 9.45. Gef. C 70.71, H 9.33.)

Chromsäure-Oxydation des 7.12-Dioxy-cholansäuremethylesters:
7.12-Diketo-cholansäuremethylester. 3 g 7.12-Dioxy-cholansäuremethylester wurden in 30 ccm Eisessig gelöst und bei 27–31° unter Röhren innerhalb 1 Std. 10 ccm 10%iger Chromsäure-Eisessiglösung tropfenweise hinzugefügt und noch 1 Std. umgerührt. Der durch Wasserzugabe abgeschiedene Niederschlag wurde in Aether aufgenommen und der Aetherrückstand aus Methanol mehrmals umgelöst. Nadeln vom Schmp. 137–138°. 14.10 mg Sbst., gelöst in Chloroform zu 3 ccm, 2 dm, 25°, $\alpha:+0.15^\circ$, $[\alpha]_D^{25}:+15.96^\circ$. ($C_{25}H_{38}O_4$. Ber. C 74.57, H 9.52, OCH_3 7.70. Gef. C 74.21, H 9.61, OCH_3 7.43.)

7.12-Diketo-cholansäure (V). 7.12-Diketo-cholansäuremethylester wurde mit alkoholischen Kalilauge verseift und das Verseifungsprodukt aus Alkohol umgelöst. Nadeln vom Schmp. 172°. 11.0 mg, 14.9 mg Sbst., gelöst in Chloroform zu 3 ccm, 2 dm, 24°, $\alpha:+0.12^\circ$, $+0.16^\circ$, $[\alpha]_D^{25}:+16.36^\circ$, $+16.10^\circ$. ($C_{24}H_{36}O_4$. Ber. C 74.17, H 9.39. Gef. C 74.06, H 8.95.)

7.12-Diketo-cholansäure-dioxim. 7.12-Diketo-cholansäure wurde in Alkohol mit Hydroxylaminacetat erwärmt. Das durch Wasserzugabe ausgeschiedene Oxim wurde in Aether aufgenommen und der Aetherrückstand mehrmals aus Methanol umgelöst. Säulen vom Zp. 263°. ($C_{24}H_{38}O_4N_2$. Ber. C 68.85, H 9.15, N 6.69. Gef. C 68.88, H 9.19, N 6.95.)

*Wissenschaftliches Laboratorium,
 Ch. Takeda & Co., Ltd., Osaka.*
