

8. Über Steroide und Sexualhormone.

(74. Mitteilung¹⁾).

Herstellung des 14-Desoxy-digitoxigenins ($\Delta^{20,22}$ -3 α , 21-Dioxy-nor-cholensäure-lacton)

von L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und G. Balla.

(25. XII. 41.)

Die natürlichen herzwirksamen Glykoside zeigen sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht recht starke Abstufungen ihrer physiologischen Wirksamkeit. Für diese Unterschiede können einerseits die Zucker-Reste, anderseits die verschiedenen Genine verantwortlich sein. Eine eingehendere Untersuchung dieser Zusammenhänge ist an den natürlichen Vertretern nicht möglich, da manche Glieder, die zu einer systematischen Erforschung benötigt würden, bis jetzt in der Natur nicht aufgefunden worden sind. Durch die vor kurzem erfolgte Erschliessung eines Weges zur synthetischen Herstellung von Lactonen des Digitalistypus²⁾ sind wir nun in der Lage, entsprechende Untersuchungen aufzunehmen.

In erster Linie dürfte wohl der Einfluss der Konstitution des Genin-Anteiles auf die physiologische Wirkung interessieren. Allen bis jetzt bekannten stark wirksamen Stoffen werden mindestens zwei Hydroxylgruppen, eine in 14-Stellung, die andere in 3-Stellung zugeschrieben. Ob diese beiden Gruppen für das Zustandekommen einer kräftigen Wirkung notwendig sind, scheint bis jetzt nicht festzustehen. Da für die Synthese von Lactonen mit einer Hydroxylgruppe in Stellung 14 vorläufig keine leicht zugänglichen Ausgangsmaterialien zur Verfügung stehen, haben wir uns vorerst der Herstellung der 3-Oxy-lactone zugewandt.

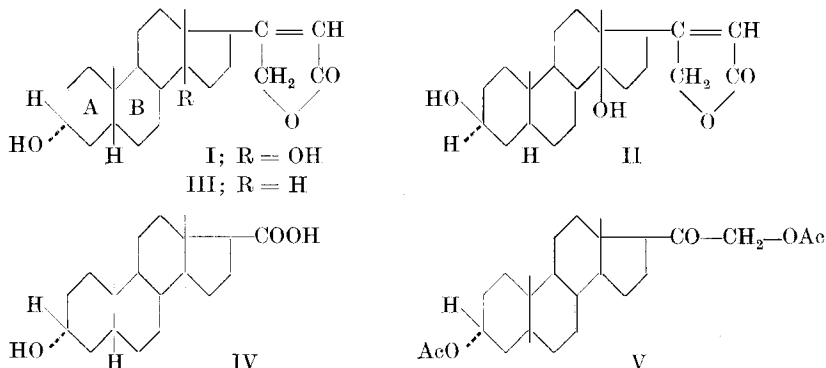
Aus den pharmakologischen Untersuchungen an natürlichen Glykosiden ist geschlossen worden, dass die cis-Konfiguration der Ringe A/B, wie sie bei Digitoxigenin I und Thevetigenin II angenommen wird, für eine starke Herzwirkung wesentlich sei. Die relative Lage des Hydroxyls in 3-Stellung, die bei Digitoxigenin der α -, bei Thevetigenin dagegen der β -Konfiguration entspricht, scheint daneben von geringerer Bedeutung.

Wir beschreiben hier die Synthese des $\Delta^{20,22}$ -3 α , 21-Dioxy-nor-cholensäure-lactons III, das auch als 14-Desoxy-digitoxigenin bezeichnet werden kann und ausgehend von der Ätiolithocholsäure IV relativ leicht zugänglich ist.

¹⁾ 73. Mitt. Helv. **24**, 295E (1941).

²⁾ Ruzicka, Reichstein und Fürst, Helv. **24**, 76 (1941); Ruzicka, Plattner und Fürst, Helv. **24**, 716 (1941).

Die acetylierte Säure IV wurde über das 21-Diazo-keton in das 3 α , 21-Diacetoxy-pregnanon-(20) V übergeführt, dessen Umsetzung mit Bromessigester das Acetat des ungesättigten Lactons III ergibt. Die Einzelheiten des Reaktionsverlaufs werden im folgenden näher besprochen.



Ätiolithocholsäure IV ist erstmals von *Sawlewicz* und *Reichstein*¹⁾ durch Abbau der Lithocholsäure erhalten worden. Sie wurde später von *Steiger* und *Reichstein*²⁾ auch auf einem anderen Wege, d. h. durch Umwandlung der Δ^5 -3-Oxy-ätiolcholsäure hergestellt. Da letztere Säure als Oxydationsprodukt des Cholesterins bei der technischen Bereitung des trans-Dehydro-androsterons heute relativ leicht zugänglich ist, wählten wir das zweite Verfahren für die Herstellung der Ätiolithocholsäure.

Die Verhältnisse bei der analogen Umwandlung von Cholesterin in epi-Koprostanol und die 3 übrigen isomeren gesättigten Alkohole Cholestanol, epi-Cholestanol und Koprostanol sind schon vor längerer Zeit sehr eingehend untersucht worden³⁾. Es hat sich dabei gezeigt, dass die Derivate der Cholanreihe auf dem Umwege über Cholestenon in ausgezeichneten Ausbeuten und guter Reinheit zugänglich sind. So wurde bei der Hydrierung von Cholestenon mit Palladiumschwarz in Äther in 85-proz. Ausbeute Koprostanon erhalten, das mit Platin-oxyd in Äther-Alkohol weiter hydriert praktisch quantitativ epi-Koprostanol ergab. Bei der Übertragung dieser Erfahrungen auf andere ähnliche Fälle wurde aber später kein so einheitlicher Reaktionsverlauf beobachtet. Testosteron und Δ^4 -Androsten-dion lieferten bei der Hydrierung mit Palladium in Äther im wesentlichen die Ketone der Cholestan-Reihe⁴⁾. Auch Δ^4 -3-Keto-bis-nor-cholensäure⁵⁾ gab bei ähnlicher Behandlung merkliche Mengen von 3-Keto-bis-nor-

¹⁾ Helv. **20**, 949 (1937).

²⁾ Helv. **20**, 1040 (1937).

³⁾ Vgl. besonders *Ruzicka*, *Brüngger*, *Eichenberger* und *Meyer*, Helv. **17**, 1407 (1934).

⁴⁾ *Butenandt*, *Tscherning* und *Hanisch*, B. **68**, 2097 (1935).

⁵⁾ *Butenandt* und *Mamoli*, B. **68**, 1854 (1935).

allocholansäure, während aus Δ^4 -3,12-Diketo-choleensäure (Pt) bzw. deren Methylester (Pd, Pt) sowie aus Desoxy-corticosteron-acetat (Pd + CaCO_3) in der Hauptsache Derivate der Cholanreihe entstanden¹⁾²⁾³⁾. Bei der Hydrierung von Δ^4 -3-Keto-Verbindungen mit Platinoxyd in Eisessig wurden, soweit aus den Angaben der Literatur ersichtlich ist, Alkoholgemische erhalten, die durch Oxydation mit Chromsäure meist in Ketone der Cholestan-Reihe übergeführt werden konnten. Diese Erfahrungen wurden bei Progesteron⁴⁾, 11,12-Dehydro-progesteron⁵⁾ und Corticosteron⁶⁾ gemacht.

Auch die Hydrierung der Δ^4 -3-Keto-ätiocolensäure ist bereits untersucht worden. Sie wurde in Form ihres Methylesters von *Steiger* und *Reichstein*⁷⁾ mit Palladium in Methanol hydriert. Da dabei ebenfalls Gemische der cis- und trans-Keto-Verbindungen entstanden, haben *Reichstein* und *Fuchs*⁸⁾ neuerdings Platinoxyd in Eisessig vorgezogen. Dabei wurden wiederum Oxyester-Gemische erhalten, die nur durch langwierige Trennungsoperationen und unter Zuhilfenahme von Digitonin getrennt werden konnten.

Ob die hier zusammengestellten, so verschiedenartig verlaufenden Hydrierungen tatsächlich durch die verschiedene Konstitution der Ausgangsmaterialien bedingt sind⁹⁾ oder ob andere noch nicht genauer erkannte Einflüsse experimenteller Art eine Rolle spielen, kann vorläufig nicht beurteilt werden.

Bei dieser Sachlage entschlossen wir uns, einen Versuch mit *Raney-Nickel* zu machen¹⁰⁾. Zur Orientierung wurden vorerst einige Hydrierungen mit Cholestenon unternommen. Die Hydrierung von Cholestenon mit 5 % seines Gewichtes an *Raney-Nickel* verlief in Feinsprit sehr langsam. Wurde nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff die Reaktion unterbrochen, so konnte neben Cholestanol noch viel unverändertes Cholestenon isoliert werden. Wurde andererseits bis zum Stillstand der Hydrierung weitergeschüttelt, so gelang es, neben schwer trennbaren Gemischen etwa 45 % an epi-Koprostanol zu erhalten. Bei Verwendung von etwa gleichen Gewichtsteilen *Raney-Nickel* und Cholestenon, und gleichzeitigem Zusatz von Natriumhydroxyd oder Natriumäthylat, verliefen die Hydrierungen sehr

1) *Kyogoku*, Z. physiol. Ch. **246**, 99 (1937).

2) *Sawlewicz* und *Reichstein*, Helv. **20**, 997 (1937).

3) *Wettstein* und *Hunziker*, Helv. **23**, 764 (1940).

4) *Butenandt* und *Fleischer*, B. **68**, 2094 (1935).

5) *Shoppee* und *Reichstein*, Helv. **24**, 351 (1941).

6) *Steiger* und *Reichstein*, Helv. **21**, 166 (1938).

7) *Steiger* und *Reichstein*, Helv. **20**, 1040 (1937).

8) *Reichstein* und *Fuchs*, Helv. **23**, 658 (1940).

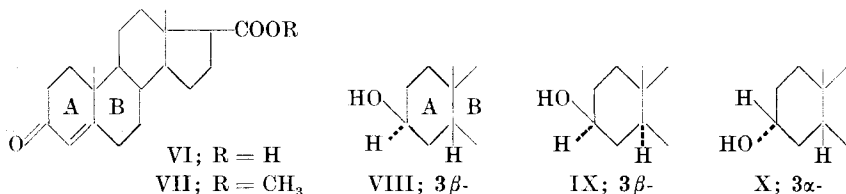
9) Vgl. dazu *Wettstein* und *Hunziker*, Helv. **23**, 764 (1940).

10) Dieser Katalysator ist für ähnliche Hydrierungen bereits von *Sawlewicz* und *Reichstein*, Helv. **20**, 992 (1937), sowie von *Steiger* und *Reichstein*, Helv. **21**, 165 (1938) verwendet worden.

rasch. Die rohen Hydrierungsprodukte enthielten zwar noch erhebliche Mengen an mit Digitonin fällbaren Anteilen, konnten jedoch durch direktes Umkrystallisieren auf epi-Koprosterin verarbeitet werden, das in guter Ausbeute und genügender Reinheit erhalten wurde.

Darauf gingen wir zur Hydrierung der Δ^4 -3-Keto-ätiocolensäure VI über. Die freie Säure wird in Feinsprit, selbst mit viel *Raney-Nickel*, nur schleppend hydriert. Aus den Reaktionsprodukten liess sich durch Chromatographieren in etwa 40-proz. Ausbeute als Methyl-ester eine Fraktion isolieren, die zur Hauptsache aus 3 β -Oxy-ätiocolensäure VIII bestand. Wurde nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff Alkali zugefügt, so beschleunigte sich die Hydrierung stark; auch ein Zusatz von Alkali zu Beginn der Hydrierung aktivierte die Wasserstoffaufnahme. In beiden Fällen wurde neben fast untrennbaren Gemischen in etwa 30-proz. Ausbeute über den Methylester die 3 β -Oxy-allo-ätiocolensäure IX isoliert.

Günstigere Resultate wurden bei der Hydrierung des Methyl-esters VII der Δ^4 -3-Keto-ätiocolensäure erhalten. Die Hydrierung konnte dabei wenigstens in bezug auf die Konfiguration der Ringe A/B ziemlich einheitlich geleitet werden. Zur Abscheidung der geringen Menge von 3 β -Oxy-allo-ester IX, die entstanden war, erwies sich die Umwandlung der rohen Hydrierungsprodukte in die Esterbenzoate als vorteilhaft. Das Benzoat des 3 β -Oxy-allo-ätiocolensäure-methylesters IX ist in Petroläther sehr schwer löslich und konnte so von dem Gemisch der isomeren 3-Oxy-ätiocolensäuren VIII und X gut abgetrennt werden. Das Benzoat des Esters IX krystallisiert aus Essigester in schönen Nadeln vom Smp. 210—212°. Durch Verseifung wurde die freie Säure IX vom Smp. 247—249° erhalten.



Die in Petroläther leicht löslichen Benzoate der isomeren 3-Oxy-ätiocolensäure-methylester (Benzoyl-ester von VIII und X) konnten im Durchlauf-Chromatogramm recht gut getrennt werden. Das Benzoat der 3 α -Oxy-Verbindung X (Smp. 105—107°, $[\alpha]_D = +78^\circ$) wird an Aluminiumoxyd schwächer adsorbiert. Diese Verbindung wurde ausgehend vom Ketosäure-ester VII in einer Ausbeute von etwa 40% erhalten. Durch Verseifung entstand daraus die Ätiolithocholsäure IV (Smp. 274—276°).

Aus den Nachläufen des Chromatogramms konnte in etwa 15-proz. Ausbeute ein zweites reines Benzoat vom Smp. 155—157° ($[\alpha]_D = +50^\circ$) isoliert werden, das zu 3 β -Oxy-ätiocholansäure VIII (Smp. 226—228°) verseift wird.

Das geschilderte Verfahren zur Herstellung der Ätiolithocholsäure IV arbeitet zwar befriedigend, dürfte aber wohl noch verbesserungsfähig sein.

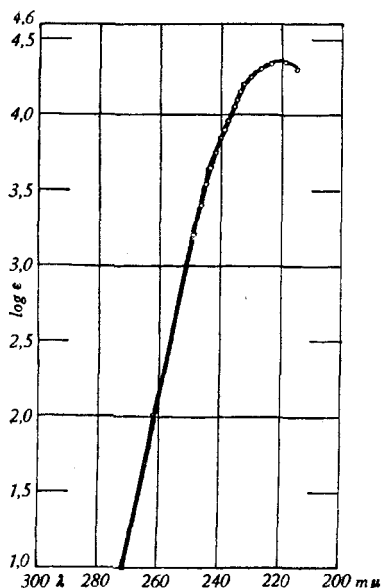


Fig. A.

U. V.-Absorptionskurve von 14-Desoxy-digitoxigenin
($\Delta^{20,22}$ -3 α ,21-Dioxy-nor-cholensäure-lacton (III)).

Die nächste Stufe der Synthese, die Herstellung des 21-Diazoketons aus acetylierter Ätiolithocholsäure ist von *Reichstein* und *Fuchs*¹⁾ bereits durchgeführt worden. In Übereinstimmung mit deren Angaben fanden wir für das rohe Diazoketon einen Zersetzungspunkt von etwa 80°. Das umkrystallisierte, analysenreine Präparat besass dagegen einen Schmelzpunkt von 142° (u. Zers.). Es zeigte die typische U.V.-Absorption, wie wir sie auch bei anderen Diazoketonen schon gemessen haben, insbesondere eine breite Absorptionszone ohne ausgeprägtes Maximum von 240 bis 290 mμ (log ε = ca. 4,0). Durch Kochen mit Eisessig wurde die Diazo-Verbindung in 3 α , 21-Diacetoxy-pregnanon-(20) (V) übergeführt. Die durch Umkrystallisieren gewonnenen Präparate dieser Verbindung schmolzen stets unscharf von 60—70°, während die wiedererstarrte Schmelze einen Smp. von 86

¹⁾ Helv. **23**, 658 (1940).

bis 88° zeigte. Zur Charakterisierung dieser Substanz eignet sich besser ihre spezifische Drehung $[\alpha]_D = +106^\circ$.

Die Umsetzung des Diacetoxy-ketons V wurde entsprechend unseren Erfahrungen am 21-Acetoxy-pregnenolon¹⁾ vorgenommen und führte erwartungsgemäss zu einem Gemisch, aus dem das Acetat des ungesättigten Lactons III und der entsprechende, um 1 Mol Wasser reichere, gesättigte 20-Oxy-Körper isoliert werden konnten. Das Lacton der 3 α -Acetoxy-20,21-dioxy-nor-cholansäure schmilzt bei 204—207° und zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = +58^\circ$. Der *Legal*-Test verläuft hier erwartungsgemäss negativ.

Das Acetat des ungesättigten Lactons III gibt dagegen einen stark positiven *Legal*-Test und zeigt die typische Absorption im U.V.-Spektrum, die auch den natürlichen herzwirksamen Aglykonen zukommt²⁾. Es schmilzt bei 166—167° und zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = +42^\circ$.

Durch saure Verseifung wird das Acetat in 14-Desoxy-digitoxigenin III ($\Delta^{20,22}$ -3 α ,21-Dioxy-norcholensäure-lacton) vom Smp. 225 bis 227° übergeführt. Die von uns gemessene U.V.-Absorptionskurve dieser Verbindung (Fig. A) fällt mit derjenigen von Strophanthidin, einem typischen Vertreter der Digitalisgenine, vollkommen zusammen²⁾ ($\lambda_{\max} = 221 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 4,35$). Die Substanz zeigt einen starken *Legal*-Test und gibt erwartungsgemäss kein schwerlösliches Digitonid.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil³⁾.

Die Ausführung der Hydrierungen.

Sämtliche weiter unten beschriebenen Hydrierungen wurden mit *Raney*-Nickel-Katalysator ausgeführt. Zur Verwendung gelangte eine 60 % Nickel enthaltende Legierung, welche in folgender Weise zersetzt wurde: zu 1 g der Legierung wurden 25 cm³ 3-n. Natronlauge zugegeben. Man erwärmte am Wasserbad, bis die Wasserstoffentwicklung nachgelassen hatte. Die Lösung wurde abgegossen und der Rückstand nochmals mit dem gleichen Volumen Lauge erwärmt. Dann wurde mehrmals mit Wasser unter Erwärmen digeriert, bis die abgegossene Lösung auf Lackmus nur noch schwach alkalisch reagierte. Der so bereitete Katalysator wurde noch dreimal mit je 10 cm³ Feinsprit unter kurzem Erwärmen vom Wasser befreit. Das *Raney*-Nickel wurde immer unmittelbar vor Beginn der Versuche bereitete und vor der Hydrierung nicht mit Wasserstoff gesättigt. Bei den

¹⁾ Helv. **24**, 76, 716 (1941).

²⁾ Vgl. dazu die folgende Abhandlung.

³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt. In offenen Röhrchen werden tiefere Schmelzpunkte beobachtet.

alkalischen Hydrierungen wurde das Natriumhydroxyd stets in 40-proz. wässriger Lösung zugegeben. Nach der Zugabe von Alkali färbten sich die Lösungen stets hellgrün.

Hydrierungen von Cholestenon.

1. Hydrierung mit 5 % *Raney*-Nickel, Abbruch nach Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff. 636 mg Cholestenon vom Smp. 78—79° wurden in 30 cm³ Feinsprit mit *Raney*-Nickel aus 50 mg Legierung hydriert. Die Wasserstoffaufnahme ging sehr gleichmässig vor sich. Nach 7 Stunden waren 40,2 cm³ Wasserstoff (0°, 760 mm), also etwas mehr als für 1 Mol berechnet (37,1 cm³) aufgenommen. Die Hydrierung wurde nun abgebrochen und das rohe Hydrierungsprodukt nach der üblichen Aufarbeitung chromatographiert. Die ersten Fraktionen gaben ölige Produkte, welche nicht krystallisierten. Aus der Benzol-Fraktion erhielt man Cholestenon (180 mg). Die Benzol-Äther-Fractionen gaben in der Hauptsache Cholestanol (IX).

2. Erschöpfende Hydrierung mit 10 % *Raney*-Nickel. 387 g Cholestenon wurden in 30 cm³ Feinsprit mit *Raney*-Nickel aus 50 mg Legierung erschöpfend hydriert. In 27 Stunden wurden 47 cm³ (0°, 760 mm) Wasserstoff aufgenommen (Ber. für 2 H₂ = 45,2 cm³). Das Chromatogramm gab neben 180 mg epi-Koprostanol (X) Gemische von Alkoholen, die nicht weiter untersucht wurden.

3. Hydrierung in Gegenwart von Natrium-äthylat. 586 mg Cholestenon wurden in 30 cm³ absolutem Alkohol, der mit 80 mg Natrium umgesetzt worden war, gelöst und mit *Raney*-Nickel aus 500 mg Legierung hydriert. In 15 Minuten wurden 67 cm³ Wasserstoff aufgenommen, nach 40 Minuten stand die Hydrierung nach Aufnahme von 72,3 cm³ (0°, 760 mm) still. Das Hydrierungsprodukt enthielt 40% mit Digitonin fällbare Substanz (als Digitonid gewogen). Kochte man das rohe Hydrierungsprodukt in absolutem Xylol mit Natrium 8 Stunden¹⁾, so erhielt die Substanz nur mehr 12% mit Digitonin fällbare Sterinalkohole.

4. Hydrierung in Gegenwart von Natriumhydroxyd. 516 mg Cholestenon wurden in 35 cm³ Feinsprit unter Zusatz von 0,3 cm³ 40-proz. Natronlauge mit *Raney*-Nickel aus 500 mg Legierung hydriert. In 50 Minuten wurden 55 cm³ Wasserstoff aufgenommen. Nach 90 Minuten war die Hydrierung beendet; Verbrauch 57,6 cm³, ber. für 2 H₂ = 60,3 cm³ (0°, 760 mm). Es wurde nun in üblicher Weise aufgearbeitet und ein aliquoter Teil mit einer 1-proz. alkoholischen Digitoninlösung versetzt. Es waren etwa 25% Hydrierungsprodukte fällbar. Der Rest des rohen Hydrierungsproduktes wurde aus Aceton umkrystallisiert. Man erhielt in guter Ausbeute epi-Koprostanol (X) vom Smp. 113—115°, welches mit einem authentischen Präparat keine Schmelzpunkts-erniedrigung gab. Die Mutterlaugen der Umkrystallisation wurde nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Schon mit Petroläther wurde der grösste Teil der eingetragenen Substanz von der Kolonne abgelöst. Er erwies sich ebenfalls als epi-Koprostanol. Verbindungen vom Cholestan-Typus liessen sich nicht nachweisen.

Herstellung der Δ^4 -3-Keto-ätiocolensäure (VI).

10 g Δ^5 -3-Oxy-ätiocolensäure vom Smp. 280—282° werden in 100 cm³ reinem Eisessig suspendiert. Man tropft langsam eine Lösung, bestehend aus 5 g Brom und 15 g Eisessig zu, worauf die Säure in Lösung ging. Zu der leicht gelb gefärbten Lösung gab man 5 g Chromtrioxyd, welches man in 5 cm³ Wasser löste und mit 15 cm³ Eisessig verdünnte. Nach 16 Stunden wurden 5 cm³ Methanol zugegeben und nach einer weiteren halben Stunde am Wasserbad erwärmt, bis die Lösung grün war. Nun gab man 10 g reinen Zinkstaub

¹⁾ Windaus, B. 49, 1727 (1916).

zu und erwärmte noch zwei Stunden am Wasserbad. Ein Drittel des Eisessigs wurde im Vakuum verdampft, der Rückstand in Äther gegossen und mit Wasser verdünnt. Die ätherische Lösung wurde schliesslich so lange mit Wasser gewaschen, bis die Waschwässer farblos abliefen. Nach Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand zur Trockne gebracht und dann aus Alkohol umkrystallisiert. Man erhielt in dieser Weise in rund 50-proz. Ausbeute die von *Steiger* und *Reichstein*¹⁾ beschriebene Ketosäure vom Smp. 242—246°.

Hydrierungen der Δ^4 -3-Keto-ätiocolensäure.

1. Hydrierung ohne Alkali-Zusatz. 493 mg der Ketosäure wurden in 30 cm³ Feinsprit mit *Raney*-Nickel aus 500 mg Legierung hydriert. Nach 22 Stunden wurde etwas weniger als 1½ Mol Wasserstoff (48,8 cm³, ber. für 1 H₂ = 35,0 cm³ bei 0° u. 760 mm) aufgenommen. Nach der Aufarbeitung wurde mit Diazomethan verestert und chromatographiert. Neben viel öligem Eluat erhielt man 200 mg einer krystallisierten Fraktion, in welcher wahrscheinlich noch nicht ganz reiner 3 β -Oxy-ätiocolensäure-methylester (VIII) vorliegt. (Smp. 129—131°.)

2. Hydrierung mit Zusatz von Alkali nach Aufnahme von 1 Mol H. 705 mg Ketosäure wurden in 35 cm³ Feinsprit mit *Raney*-Nickel aus 800 mg Legierung hydriert. Nach Aufnahme von 1 Mol (7 Stunden) wurden 0,5 cm³ 40-proz. Natronlauge zugegeben und die Hydrierung fortgesetzt. Nach weiteren vier Stunden war die Wasserstoffaufnahme beendet. Der Katalysator wurde abfiltriert, die Lösung mit Wasser verdünnt und mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Die ausgefallenen Säuren wurden abgenutscht, mit Wasser gründlich gewaschen, getrocknet und dann mit Diazomethan verestert. Zur Analyse des Gemisches wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die ersten Eluate des Chromatogramms gaben schwierig trennbare Gemische. Mit Benzol-Äther erhielt man 250 mg 3 β -Oxy-*allo*-ätiocolensäure-methylester (IX) vom Smp. 165—170°.

3. Hydrierung unter Zusatz von Alkali (zu Beginn). 474 mg Substanz wurden in 30 cm³ Feinsprit und 0,5 cm³ 40-proz. Natronlauge mit *Raney*-Nickel aus 500 mg Legierung hydriert. Nach Aufnahme von etwas mehr als 2 Mol Wasserstoff in 6 Stunden war die Hydrierung beendet. 390 mg des rohen Hydrierungsproduktes wurden mit Diazomethan verestert und chromatographiert. Neben schwer trennbaren Oxy-säure-ester-Gemischen wurden 160 mg 3 β -Oxy-*allo*-ätiocolensäure-methylesters (IX) erhalten, also eher etwas mehr als im vorhergehenden Versuch.

¹⁾ *Helv.* **20**, 1049 (1937).

Herstellung des Δ^4 -3-Keto-ätiocholensäure-methylester (VII).

11 g Ketosäure wurden in 150 cm³ Äther suspendiert; man gab dann solange eine ätherische Diazomethan-Lösung bei 0° zu, bis fast die ganze Substanz in Lösung gegangen war. Nach einer halben Stunde wurde das Diazomethan abdestilliert, die ätherische Lösung filtriert und mit 2-n. Natriumcarbonat-Lösung gewaschen. Schliesslich wurde die mit Wasser neutral gewaschene ätherische Lösung eingedampft. Der Rückstand wurde aus Methanol umkrystallisiert, woraus man derbe Prismen vom Smp. 127—130° erhielt¹⁾.

Hydrierungen des Δ^4 -3-Keto-ätiocholensäure-methylesters (VII).

1. Hydrierung unter Zusatz von viel Natriumhydroxyd. 1,2 g Methylester wurden in 35 cm³ Feinsprit gelöst und nach Zugabe von 2 cm³ Alkalilösung mit *Raney*-Nickel aus 1,5 g Legierung hydriert. Die Hydrierung war in 6 Stunden beendet. Es wurde in saure und neutrale Anteile getrennt. Letztere (900 mg) konnten durch Umkrystallisation nicht gereinigt werden. So wurden nun die neutralen Anteile mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin kalt acetyliert. Man arbeitete wie üblich auf. Aus dem Acetat-Gemisch konnte nach viermaligem Umkrystallisieren aus Alkohol in 15-proz. Ausbeute eine reine Verbindung vom Smp. 117—118° erhalten werden, welche durch Mischprobe als 3 α -Acetoxy-ätiocholensäure-methylester (X) identifiziert werden konnte²⁾.

3,720 mg Subst. gaben 9,965 mg CO₂ und 3,222 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₆ O ₄	Ber. C 73,36	H 9,64%
Gef. „	73,10	„ 9,69%

Die Mutterlaugen wurden chromatographiert. Es konnten jedoch keine scharf-schmelzenden Produkte erhalten werden.

2. Hydrierung unter Zusatz von wenig Natriumhydroxyd. 12 g Methylester (VII) wurden in 200 cm³ Feinsprit gelöst und nach Zugabe von 4 cm³ Alkalilösung mit *Raney*-Nickel aus 12 g Legierung hydriert. Die Hydrierung war in 4 Stunden nach Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff beendet. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde in 500 cm³ Wasser gegossen und mit Äther ausgezogen. Aus der wässrig-alkalischen Lösung erhielt man 400 mg saure Anteile. Die Verseifung durch Alkali ist also unter diesen Bedingungen praktisch unbedeutend. Die neutral gewaschene Ätherlösung wurde eingedampft, der Rückstand in möglichst wenig Pyridin gelöst und mit 10 g Benzoylchlorid versetzt. Nach 16 Stunden wurde mit Wasser verdünnt und in üblicher Weise aufgearbeitet. Auf

¹⁾ *Steiger und Reichstein, Helv. 20, 1049 (1937).*

²⁾ Für die Ausführung der Mischproben danken wir Herrn Prof. *Reichstein* bestens.

Grund von Vorversuchen wurde folgendes Verfahren zur Aufarbeitung gewählt.

Abscheidung von 3 β -Oxy-allo-ätiocholansäure (IX). Die erhaltenen Benzoate wurden in etwa 250 cm³ hochsiedendem Petroläther gelöst; neben geringen Mengen öligter Anteile schied sich bald ein fein krystallisierter Niederschlag ab. Nach zwei Tagen wurde die Petroläther-Lösung abgegossen (über deren Verarbeitung vgl. weiter unten) und der Rückstand unter gelindem Erwärmen mit demselben Lösungsmittel einige Male nachgewaschen. Der danach zurückbleibende Rückstand betrug 2,1 g. Dieser wurde aus Essigester umkrystallisiert. Man erhielt feine Nadeln, welche nach nochmaligem Umkrystallisieren den Schmelzpunkt von 210 bis 212° besaßen. Es handelt sich um das Benzoat des 3 β -Oxy-allo-ätiocholansäure-methylesters (XI).

$$[\alpha]_D = + 38^\circ \quad (c = 1,70 \text{ in Chloroform})$$

3,772 mg Subst. gaben 10,615 mg CO₂ und 2,918 mg H₂O

C ₂₈ H ₃₈ O ₄	Ber. C 76,67	H 8,73%
Gef. „	76,80	„ 8,65%

3 β -Oxy-allo-ätiocholansäure. 200 mg dieses Benzoats wurden mit 10 cm³ 15-proz. methylalkoholischer Kaliumhydroxyd-Lösung 5 Stunden gekocht. Die bei der Aufarbeitung erhaltene Säure wurde zweimal aus Alkohol umkrystallisiert. Die in Nadeln krystallisierende Substanz schmolz konstant bei 247—249°. Nach 16-stündigem Trocknen im Hochvakuum erhielt die Säure ½ Mol Krystall-Alkohol.

3,837 mg Subst. gaben 10,31 mg CO₂ und 3,53 mg H₂O

C ₂₀ H ₃₂ O ₃ + ½ C ₂ H ₅ OH	Ber. C 73,42	H 10,27%
Gef. „	73,33	„ 10,29%

Durch Sublimation im Hochvakuum bei 170° erhielt man die Säure alkoholfrei.

3,950 mg Subst. gaben 10,84 mg CO₂ und 3,51 mg H₂O

C ₂₀ H ₃₂ O ₃	Ber. C 74,95	H 10,07%
Gef. „	74,89	„ 9,94%

Trennung der epimeren 3-Oxy-ätiocholansäuren. Die petroläther-löslichen Benzoate aus mehreren analogen Versuchen (ausgehend von 25 g 1⁴-3-Ketosäure-ester) wurden auf etwa 50 cm³ eingengt, über eine mit Petroläther bereitete Säule von 900 g Aluminiumoxyd filtriert und nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Reiner Petroläther, sowie 1-proz. und 5-proz. Benzol in Petroläther eluierten nur Spuren. Die nächsten Eluate mit bis zu 40 % Benzol in Petroläther enthielten etwas mehr als die Hälfte der eingetragenen Substanz. Die verwendete Lösungsmittelmenge betrug 8,3 Liter. Nach dem Eindampfen zur Trockene wurden sämtliche Fraktionen in wenig Äther gelöst, dann wurde etwa die zweifache Menge Alkohol zugegeben und zur Entfernung des Äthers kurz erwärmt. Beim Stehen scheiden sich bald sehr schöne drusenartig

angeordnete Nadeln ab, welche nach dem Umkrystallisieren aus denselben Lösungsmitteln den konstanten Schmelzpunkt von 105—107° aufwiesen. Aus den 25 g Ketosäure-ester erhielt man rund 40 % der Theorie an krystallisiertem Benzoat des Ätiolithocholsäure-methylesters (X).

$[\alpha]_D = + 78^0$ ($c = 1,132$ in Chloroform)
 3,686 mg Subst. gaben 10,340 mg CO₂ und 2,873 mg H₂O
 $C_{28}H_{38}O_4$ Ber. C 76,67 H 8,73%
 Gef. „ 76,55 „ 8,72%

3 α -Oxy-ätiocholansäure (Ätiolithocholsäure). 1 g dieses Benzoat-methylesters wurden mit 10 cm³ 10-proz. methylalkoholischer Kalilauge 16 Stunden gekocht, in Wasser gegossen, mit Salzsäure angesäuert und abgenutscht. Die rohe Ätiolithocholsäure wurde zweimal aus Alkohol umkrystallisiert und zeigte dann den konstanten Schmelzpunkt von 274—276° (Mischschmelzpunkt keine Erniedrigung).

$[\alpha]_D = + 49,6^0$ ($c = 1,43$ in Dioxan)
 3,780 mg Subst. gaben 10,38 mg CO₂ und 3,40 mg H₂O
 $C_{20}H_{32}O_3$ Ber. C 74,95 H 10,07%
 Gef. „ 74,94 „ 10,07%

Auf diese Weise wurden insgesamt 13,65 g Benzoat verseift. Die Ausbeute an reiner Säure betrug 90 %.

Die Petroläther-Benzol-Eluate, enthaltend 50—70 % Benzol, gaben 1,6 g krystallisierte Substanz, welche wahrscheinlich ein Gemisch der Benzoate des Epi-methylesters und des unten beschriebenen normalen Methylesters darstellt. Die Fraktionen konnten durch öfteres Umkrystallisieren nicht gut getrennt werden. Der Schmelzpunkt lag unscharf bei 125—130°.

Durch reines Benzol und 40 % Äther enthaltendes Benzol wurden in rund 15-proz. Ausbeute, bezogen auf Ketosäure-ester, ein nach zweimaligem Umkrystallisieren bei 155—157° schmelzender Körper erhalten. Dieser krystallisiert ebenfalls in sehr schönen grossen Nadeln, welche denjenigen des epi-Benzoats (X) sehr ähnlich sind.

$[\alpha]_D = + 50,4^0$ ($c = 0,992$ in Chloroform)
 3,760 mg Subst. gaben 10,56 mg CO₂ und 2,92 mg H₂O
 $C_{28}H_{38}O_4$ Ber. C 76,67 H 8,73%
 Gef. „ 76,64 „ 8,69%

3 β -Oxy-ätiocholansäure (VIII). 100 mg Benzoat vom Smp. 155—157° wurden mit 10 cm³ 15-proz. methylalkoholischer Kalilauge 5 Stunden gekocht. Nach Ansäuern mit verdünnter Salzsäure wurde in üblicher Weise aufgearbeitet. Die nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol erhaltenen Blättchen schmolzen bei 226—228°.

$[\alpha]_D = + 36,8^0$ ($c = 0,760$ in Chloroform)
 3,904 mg Subst. gaben 10,70 mg CO₂ und 3,51 mg H₂O
 $C_{20}H_{32}O_3$ Ber. C 74,95 H 10,07%
 Gef. „ 74,80 „ 10,06%

Acetyl-ätiolithocholsäure. Die Acetylierung der Ätiolithocholsäure wurde nach den von *Reichstein* und *Fuchs*¹⁾ für die isomere β -Säure gemachten Angaben durchgeführt. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol erhielt man kleine Blättchen, welche konstant bei 230—232° schmolzen²⁾ (Mischprobe). Zur Analyse wurde nochmals umkrystallisiert.

$$[\alpha]_D = + 81^\circ \quad (c = 0,506 \text{ in Chloroform})$$

3,999 mg Subst. gaben 10,69 mg CO₂ und 3,40 mg H₂O

C ₂₂ H ₃₄ O ₄	Ber. C 72,89	H 9,46%
Gef. „	72,95	„ 9,51%

Acetat des 21-Diazo-pregnan-ol-(3 α)-on-(20).

1,35 g Acetyl-ätiolithocholsäure vom Smp. 230—232° wurden in warmem absolutem Benzol gelöst und nach Zugabe von 2,5 g Thionylchlorid zwei Stunden stehen gelassen. Die Lösung wurde dann im Vakuum eingedampft und hierauf noch einige Male zur Entfernung des Thionylchlorids mit absolutem Benzol eingedampft. Der Rückstand war ölig, begann aber alsbald zu krystallisieren. Das gesamte Reaktionsprodukt wurde in absolutem Benzol gelöst und bei — 10° in eine frisch bereitete und über Kaliumhydroxyd getrocknete ätherische Lösung von Diazomethan, welche einen dreifachen Überschuss enthielt, eingetragen. Man liess über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Nun wurde im Vakuum eingedampft. Das rohe Produkt hatte einen Zersetzungspunkt von etwa 70—80°³⁾. Eine Probe zeigte nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther einen scharfen Smp. von 140—142° (unter Zersetzung). Das Diazoketon zeigt eine breite Absorptionszone von 240—290 m μ (log ϵ = ca. 4,0) und ein niederes Absorptionsmaximum bei etwa 380 m μ (log ϵ = 1,5).

$$[\alpha]_D = + 189^\circ \quad (c = 0,720 \text{ in Chloroform})$$

3,544 mg Subst. gaben 9,30 mg CO₂ und 2,80 mg H₂O

3,429 mg Subst. gaben 0,227 cm³ N₂ (18,5°, 725 mm)

C ₂₃ H ₃₄ O ₃ N ₂	Ber. C 71,47	H 8,87	N 7,25%
Gef. „	71,61	„ 8,84	„ 7,39%

3 α , 21-Diacetoxy-pregnanon-(20) (V).

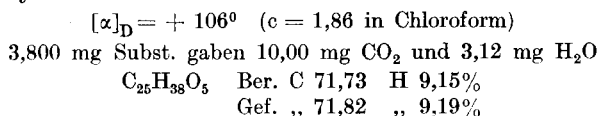
Der Rest des rohen Diazoketons (1,0 g) wurde in wasserfreiem Eisessig gelöst. Beim Erwärmen am Wasserbad setzte eine lebhafte Stickstoffentwicklung ein, welche nach einer Stunde beendet war. Man dampfte im Vakuum ein. Aus dem Rückstand erhielt man mit einem Äther-Pentan-Gemisch 700 mg krystallisierte Anteile. Das ein wenig gelb gefärbte Produkt schmolz auch nach öfterem Umkrystallisieren sehr unscharf gegen 60°. Eine Probe wurde im Hochvakuum

¹⁾ *Helv.* **23**, 663 (1940).

²⁾ *Sawlewicz und Reichstein*, *Helv.* **20**, 952 (1937).

³⁾ *Reichstein und Fuchs*, *Helv.* **23**, 664 (1940).

bei 100° sublimiert. Das Sublimat erstarrte glasig und gab keine guten Analysenwerte. Die Mutterlaugen und Krystalle wurden in einem Petroläther-Benzol-Gemisch (1:1) gelöst und über eine mit Petroläther bereitete Säule von 20 g Aluminiumoxyd filtriert. Mit 50 cm³ Petroläther-Benzol (1:1) wurde die Hauptmenge eluiert, woraus man 600 mg farblose Krystalle erhielt. Auch nach häufigem Umkrystallisieren aus Äther-Hexan konnte kein scharfer Schmelzpunkt erhalten werden. Sämtliche Proben schmolzen zwischen 60—70°, krystallisierten nach dem Abkühlen wieder und schmolzen dann ziemlich scharf bei 86—88°. Die Analyse eines Präparates, welches 24 Stunden im Hochvakuum bei 40° getrocknet wurde, zeigte, dass die Substanz wahrscheinlich noch Lösungsmittel enthält. Nach 6-stündigem Trocknen im Luftstrom erhielt man stimmende Analysenwerte.



Einwirkung von Bromessigester auf 3 α , 21-Diacetoxy-pregnanon-(20).

700 mg 3 α , 21-Diacetoxy-pregnanon-(20) wurden in 10 cm³ absolutem Toluol gelöst. Dieses wurde dann zuerst bei gewöhnlichem Druck, später im Vakuum abdestilliert. Man löste nun den Rückstand in etwa 10 cm³ absolutem Benzol und liess diese Lösung zu 1 g mit Jod aktivierten Zinkspänen zufließen. Man destillierte hierauf nochmals 5 cm³ Benzol ab. Zu der noch warmen Lösung gab man 2,1 g Bromessigester. Nach Abdestillieren von noch 2 cm³ Benzol setzte die Reaktion stark ein. Nach Abklingen derselben wurden 2 cm³ absolutes Dioxan zugegeben und 45 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 20 cm³ Alkohol verdünnt, die Lösung noch heiss filtriert und das Zink gründlich mit warmem Alkohol und Aceton ausgewaschen. Das Filtrat wurde in 30 cm³ 2-n. Salzsäure gegossen. Man verdünnte dann mit Wasser und erwärmte noch 1 Stunde am siedenden Wasserbad. Die abgekühlte Lösung wurde mit Äther ausgezogen. Die in Äther schwerlöslichen Anteile wurden in Essigester aufgenommen. Die neutral gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Lösungen wurden eingedampft und die vereinigten Rückstände mit Essigsäure-anhydrid unter kurzem Erwärmen in Pyridin-Lösung acetyliert. Nach 16-stündigem Stehen wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 20 cm³ Petroläther-Benzol (1:1) gelöst, in eine Säule (bereitet mit Petroläther und 20 g Aluminiumoxyd) eingetragen und nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Die ersten Petroläther-Benzol- und Benzol-Eluate enthielten zunächst etwas öliges Material.

Die Benzol-Äther-Eluate (100 mg) enthielten das Lacton der $\Delta^{20,22}$ -3 α -Acetoxy-21-oxy-nor-cholensäure (Acetat von III). Diese Fraktion war zunächst ölig, krystallisierte aber nach Zugabe von Alkohol. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus demselben Lösungsmittel erhielt man Nadeln, die einen Schmelzpunkt von 166—167° zeigten und einen stark positiven *Legal*-Test gaben. U.V.-Spektrum: $\lambda_{\max} = 220 \text{ m}\mu$, $\log \varepsilon = 4,4$.

$$[\alpha]_D = + 42^\circ \quad (c = 1,60 \text{ in Chloroform})$$

3,971 mg Subst. gaben 10,88 mg CO₂ und 3,15 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₆ O ₄	Ber. C 74,96	H 9,06%
Gef. „	74,77	„ 8,88%

Die Äther-Aceton-Eluate enthielten das Lacton der 3 α -Acetoxy-20,21-dioxy-nor-cholensäure (90 mg). Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol erhielt man kompakte Krystalle. Diese wurden mit Äther gewaschen, wonach sie unter Zersetzung bei 204—207° schmolzen.

$$[\alpha]_D = + 58^\circ \quad (c = 0,822 \text{ in Chloroform})$$

3,982 mg Subst. gaben 10,46 mg CO₂ und 3,24 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₈ O ₅	Ber. C 71,73	H 9,15%
Gef. „	71,69	„ 9,10%

14-Desoxy-digitoxigenin (Lacton der $\Delta^{20,22}$ -3 α , 21-Dioxy-nor-cholensäure).

100 mg Acetoxy-lacton vom Smp. 166—167° wurden in 4 cm³ Dioxan gelöst und mit 2 cm³ 2-n. Salzsäure versetzt. Es wurde 4 Stunden am Wasserbad gekocht und dann im Vakuum eingedampft. Das Reaktionsprodukt wurde aus Alkohol umkrystallisiert. Man erhielt Blättchen vom Smp. 225—227°, die einen stark positiven *Legal*-Test gaben. U.V.-Absorptions-Spektrum vgl. Fig. A. Mit Digitonin erhielt man keine Fällung.

3,971 mg Subst. gaben 11,22 mg CO₂ und 3,40 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₄ O ₃	Ber. C 77,05	H 9,56%
Gef. „	77,11	„ 9,58%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Hs. Gubser) ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.
Technischen Hochschule, Zürich.