

Ansäuern keine Fällung mehr ergab, zum Schluss mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingengt. Die ausgeschiedenen Krystalle wurden mit etwas Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Sie wogen 75 g und schmolzen bei 131—133°. Die Mutterlauge gab beim Einengen nochmals 10 g derselben Reinheit.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 87. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

13. Mitteilung <sup>1)</sup>.

### Cholen-(11)-säure und 11,12-Dioxy-cholansäure

von **H. B. Alther** und **T. Reichstein**.

(3. VI. 42.)

Vor einiger Zeit sind Versuche zur Herstellung verschiedener in 11-Stellung mit Sauerstoff substituierter Sterinabkömmlinge beschrieben worden<sup>2)3)</sup>, die vorzeitig abgebrochen werden mussten. Diese Arbeit stellt die Fortsetzung jener Versuche dar.

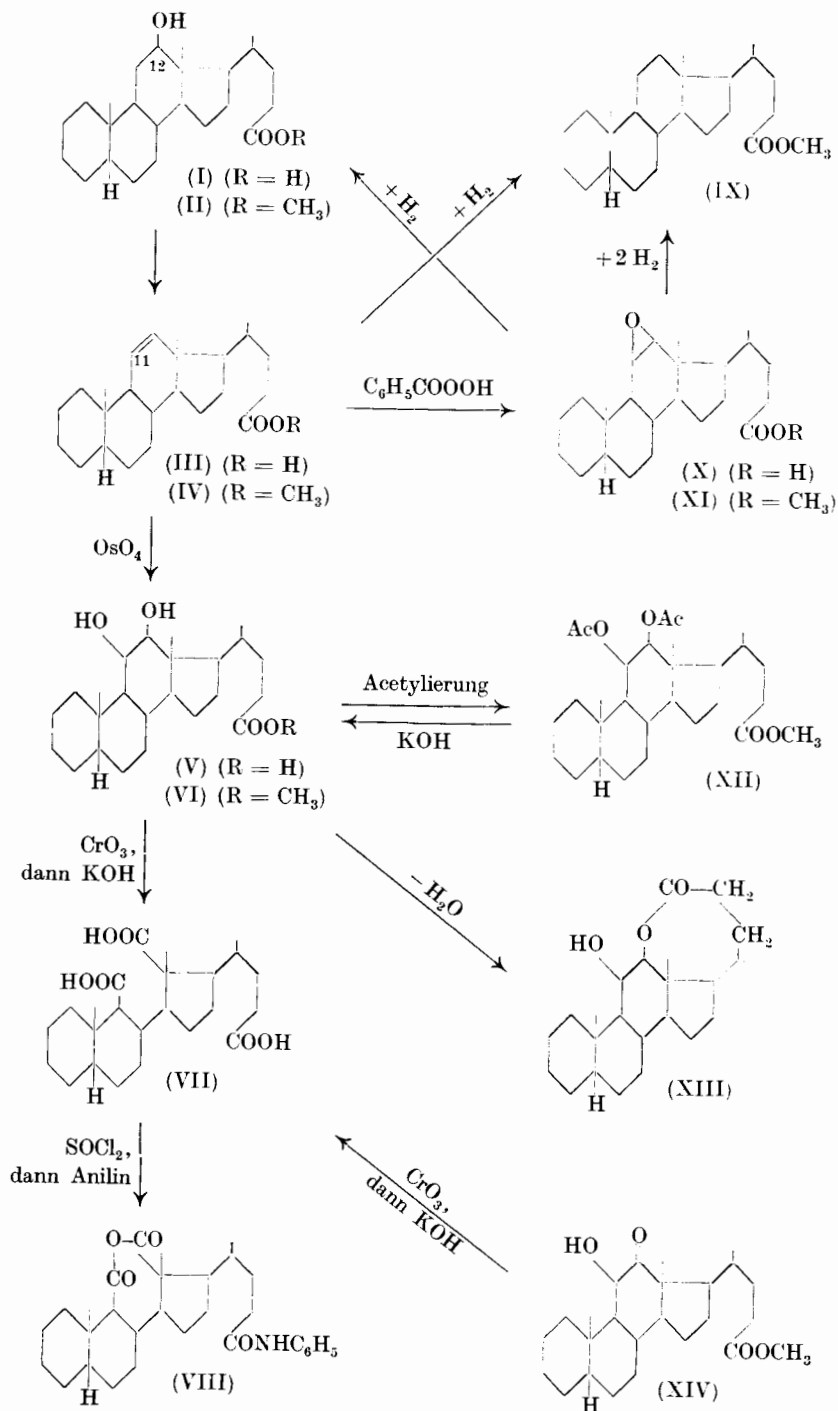
Als Ausgangsmaterial diente 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure (I)<sup>2)</sup>, zu deren Herstellung wir eine vereinfachte Vorschrift geben. Sie wurde in Anwendung der von *Wieland* und Mitarbeitern für verschiedene Gallensäuren benützten Methodik<sup>4)</sup> einer thermischen Zersetzung im Vakuum bei 240—300° unterworfen. Aus dem Gemisch der Reaktionsprodukte konnte neben dem Lacton von (I) und unabgeklärten Nebenprodukten die Cholen-(11)-säure (III) in einer Ausbeute von etwa 40 % in kristallisierter Form erhalten werden. Sie lieferte einen ebenfalls kristallisierten Methylester (IV), der sich weiter durch ein kristallisiertes Dibromid charakterisieren liess, aus dem beim Entbromen mit Zinkstaub reiner Ester (IV) zurückerhalten wird. Auch beim Kochen mit Pyridin tritt Entbromung ein, unter teilweiser Regenerierung des Esters (IV), der aber geringe Mengen eines doppelt ungesättigten Esters enthalten dürfte, da das so erhaltene Material

<sup>1)</sup> 12. Mitteilung vgl. *T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. 25, 797 (1942)*.

<sup>2)</sup> *J. Barnett, T. Reichstein, Helv. 21, 926 (1938)*.

<sup>3)</sup> *J. Barnett, T. Reichstein, Helv. 22, 75 (1939)*.

<sup>4)</sup> Cholsäure: *H. Wieland, F. J. Weil, Z. physiol. Ch. 80, 287 (1912)*; Desoxy-cholsäure: *H. Wieland, H. Sorge, Z. physiol. Ch. 98, 62 (1916)*; Lithocholsäure: *H. Wieland, P. Weyland, Z. physiol. Ch. 110, 123 (1920)*; Über den Mechanismus vgl.: *H. Wieland, E. Boersch, Z. physiol. Ch. 110, 143 (1920)*.



im U.V.-Absorptionsspektrum selektive Absorption bei etwa 246 m $\mu$  zeigt. Dass diese Säure noch das unveränderte Kohlenstoffgerüst enthält, folgt aus dem Ergebnis der Hydrierung ihres Methylesters (IV), wobei der bekannte Cholansäure-methylester (IX)<sup>1)</sup> resultierte. Die Lage der Doppelbindung ergab sich wie folgt durch 2-stufige Oxydation. Die Hydroxylierung des Methylesters (IV) mit Osmiumtetroxyd nach *Criegee*<sup>2)</sup> lieferte einen der vier theoretisch möglichen 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI), der in zwei verschiedenen Krystallisomeren auftrat. Aus diesem wurde durch Oxydation mit Chromsäure und anschliessende Verseifung eine Tricarbonsäure (VII) erhalten, die sich als identisch mit der Tricarbonsäure erwies, die nach *H. Wieland* und *P. Weyland*<sup>3)</sup> durch Oxydation von 12-Keto-cholansäure mit Salpetersäure oder besser von 11-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XIV)<sup>4)</sup> mit Chromsäure und anschliessende Verseifung entsteht<sup>5)</sup> und deren Konstitution entsprechend Formel (VII) somit gesichert ist. Zum weiteren Nachweis der Identität wurden die Tricarbonsäuren beider Provenienz mit Thionylchlorid erwärmt und das entstehende Reaktionsprodukt mit überschüssigem Anilin umgesetzt. In beiden Fällen wurde dasselbe Neutralprodukt erhalten, dessen Analyse auf das Anhydrid-anilid der Formel (VIII) stimmte.

Der Konstitutionsbeweis liess sich noch auf einem anderen Wege führen. Der Ester (IV) lieferte durch Umsetzung mit Benzopersäure nach *Prileschajew*<sup>6)</sup> den Oxydoester (XI), aus dem sich durch alkalische Verseifung auch die entsprechende Oxydosäure (X) bereiten liess. Bei der Hydrierung dieses Oxydoesters (XI) mit *Raney-Nickel* unter Druck wurde ein Gemisch von Cholansäure-methylester (IX) und 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (II) erhalten. Der Letztere kann nur entstehen, wenn sich der Oxydoring in 11,12-Stellung befindet. Unter der Voraussetzung, dass bei der hydrierenden Aufspaltung kein Konfigurationswechsel an C<sub>12</sub> stattfindet, wäre der Oxydring in (X) und (XI) somit als  $\beta$ -ständig, also vor der Tafel-ebene liegend, zu bezeichnen.

Der oben erwähnte 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) gibt bei der Acetylierung durch Kochen mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin den ebenfalls gut krystallisierten 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII). Beide Hydroxylgruppen liessen sich somit acetylieren. Dies ist bemerkenswert, da 11-ständige Hydroxyl

<sup>1)</sup> *A. Windaus, A. Böhne, A.* **433**, 286 (1923).

<sup>2)</sup> *R. Criegee, A.* **522**, 75 (1936); *Z. angew. Ch.* **51**, 519 (1938).

<sup>3)</sup> *H. Wieland, P. Weyland, Z. physiol. Ch.* **110**, 141 (1920).

<sup>4)</sup> *J. Barnett, T. Reichstein, Helv.* **21**, 926 (1938).

<sup>5)</sup> Vgl. die analoge Oxydation der freien 11-Oxy-12-keto-säure, *H. Wieland, Th. Posternak, Z. physiol. Ch.* **197**, 22 (1931).

<sup>6)</sup> *N. Prileschajew, B.* **42**, 4811 (1909); *C.* **1911**, I, 1279; **1912**, II, 2090.

gruppen in Sterinderivaten sich bisher kaum oder nur äusserst schwer acetylieren liessen. Voraussichtlich wird die Acetylierbarkeit aber stark von der räumlichen Lage der 11-ständigen Hydroxylgruppe beeinflusst, und im obigen Ester (VI) könnte das leichter acetylierbare Epimere vorliegen.

Durch Erwärmen lässt sich die freie 11,12-Dioxy-cholansäure (V) in schlechter Ausbeute in ein Lacton der vermutlichen Formel (XIII) überführen, das durch Oxydation ins entsprechende Ketolacton übergeht. Dieser Stoff besitzt in verschiedener Beziehung Interesse, doch hat die relativ schwere Zugänglichkeit weitere Versuche noch nicht gestattet.

### Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert.)

#### Vereinfachte Herstellung von 12 $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (II).

10 g 3-Keto-12-acetoxy-cholansäure-methylester<sup>1)</sup> vom Smp. 125°, 15 cm<sup>3</sup> absoluter Alkohol, 10 g Kaliumhydroxyd und 10 g Hydrazinhydrat wurden in einem geräumigen Hartglas-Destillierkolben unter ständigem Umschwenken allmählich im Ölbad erwärmt. Nachdem alle festen Anteile in Lösung gegangen und die Hauptmenge des Lösungsmittels abdestilliert war, trat bei 220° Badtemperatur lebhaftes Schäumen ein. Es wurde so lange bei dieser Temperatur gehalten, bis die inzwischen fast feste Masse nur noch leichte Blasen bildete. Hierauf wurde das Ölbad bis 240° erwärmt und noch 15 Minuten bei dieser Temperatur gehalten, bis jede Gasentwicklung aufhörte und eine feste Masse zurückblieb. Nach Abkühlen wurde mit Wasser versetzt, mit Äther überschichtet und unter Schütteln wässrige Salzsäure bis zur bleibenden kongosauren Reaktion zugegeben, worauf bis auf wenig harzige Anteile, die vernachlässigt wurden, alles in Lösung ging. Die mit Wasser gewaschene Ätherlösung wurde zur sicheren Reinigung mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt, der Überschuss nach 5 Minuten abdestilliert und die Lösung hierauf mit verdünnter Salzsäure, Sodaauflösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab aus Methanol 7,8 g 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester vom Smp. 118—120°, der für die weitere Verarbeitung rein genug ist. Umkrystallisieren aus Methanol gab den reinen Ester vom Smp. 120—121°.

Ein noch etwas reineres Rohprodukt unter völliger Vermeidung von Harzbildung erhält man, wenn man folgenden Ansatz statt offen zu erhitzen im Autoklaven oder Bombenrohr 8—14 Stunden

<sup>1)</sup> Vgl. T. Reichstein, M. Sorkin, *Helv.* **25**, 797 (1942).

auf 180° erwärmt: 10 g Ester, 10 g Hydrazinhydrat, Lösung von 5 g Natrium in ca. 50 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol.

### Cholen-(11)-säure (III).

11,8 g 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (II) vom Smp. 120 bis 121° wurden in 70 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 2,6 g Kaliumhydroxyd in 5 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von 10 cm<sup>3</sup> Wasser wurde das Methanol im Vakuum entfernt, die alkalische Lösung mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt, die ausgefällte Säure mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die so erhaltene, rohe 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure (I) (11 g) wurde dann in einen geräumigen *Claisen*-Kolben mit Wurstansatz gespült und im Vakuum bei 12 mm im Metallbad allmählich auf 250° erhitzt. Die anfangs farblose Schmelze färbte sich unter lebhaftem Sieden schwach gelb. Die Badtemperatur wurde etwa 2 Stunden bei 250° gehalten, bis die Blasenbildung stark nachgelassen hatte. Während dieser Zeit sublimierte eine kleine Menge nadeliger Krystalle an die kühleren Teile des Kolbens, und Wasser destillierte ab. Anschliessend wurde die Badtemperatur innerhalb 15 Minuten auf 290° gesteigert, und als auch dann keine starke Blasenbildung mehr zu beobachten war, wurde der ganze Inhalt bei 11 mm Druck und 340° Badtemperatur überdestilliert, was in wenigen Minuten beendet war. Das zu einer hellgelben, glasigen Masse erstarrte Destillat wurde in Äther gelöst und mit 2-n. Natronlauge durchgeschüttelt, wobei sich eine reichliche Menge unlöslichen Natriumsalzes ausschied. Die leicht trübe, wässrige Schicht wurde abgelassen, der Äther in einen frischen Scheidetrichter abgegossen und das klebrige Natriumsalz noch mehrmals mit frischem Äther gut durchgeschüttelt und dieser zur Hauptmenge gegeben. Die vereinigten Ätherlösungen wurden noch mehrmals mit kleinen Portionen Natronlauge und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das verbliebene Neutralprodukt wog 0,9 g. Durch Umkrystallisieren aus Petroläther lieferte es 0,2 g 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-lacton als farblose Nadeln vom Smp. 232—233°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Alkohol brachte den Smp. auf 246—248°, in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *H. Wieland*<sup>1)</sup>.

Die vereinigten alkalischen Auszüge und Waschwässer wurden in den Scheidetrichter mit dem unlöslichen Natriumsalz gegeben, das Ganze mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser

<sup>1)</sup> *H. Wieland*, Z. physiol. Ch. **142**, 191 (1925); *H. Wieland*, *O. Schlichting*, Z. physiol. Ch. **150**, 267 (1925).

gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die hellgelbe, harzige, rohe Säure wog 10 g. Eine Probe wurde in der 5-fachen Menge Pentan gelöst, wobei nach kurzer Zeit Krystallisation eintrat, die durch zweistündiges Stehen bei 0° möglichst vervollständigt wurde. Die abgenutzten und mit Pentan gewaschenen Krystalle schmolzen bei 114—132°. Sie wurden aus Äther-Pentan, dann aus Aceton und schliesslich nochmals aus Äther-Pentan umkrystallisiert, wobei farblose Blättchen vom Smp. 133—135° resultierten. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,159 mg Subst. gaben 9,30 mg CO<sub>2</sub> und 3,035 mg H<sub>2</sub>O (*Schwarzkopj*)

C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub> (358,54) Ber. C 80,39 H 10,68%  
Gef. „ 80,34 „ 10,75%

Die Methylierung mit Diazomethan gab den unten beschriebenen Methylester vom Smp. 60°. Eine Probe wurde mit möglichst wenig Chloroform verflüssigt und mit einem Tropfen Tetranitromethan versetzt, wobei deutliche Gelbfärbung eintrat. Einfacher lässt sich die Säure durch kurze alkalische Verseifung des Methylesters rein erhalten.

Cholen-(11)-säure-methylester (IV). Die Hauptmenge der rohen Cholensäure sowie alle Mutterlaugen der zur Krystallisation verwendeten Probe wurden in Äther gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Die Mischung wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (10 g) wurde in Petroläther gelöst, durch eine mit Petroläther bereitete Säule von 250 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert, noch 18mal mit je 350 cm<sup>3</sup> tiefsiedendem Petroläther nachgewaschen und jede Fraktion für sich eingedampft. Anschliessend wurde noch mit Petroläther-Benzol-Gemischen, Benzol sowie Benzol-Äther-Gemischen und Äther nachgewaschen.

Die zwei ersten Petrolätherfraktionen gaben etwas farbloses Öl, das keine Krystalle lieferte. Alle folgenden mit Petroläther erhaltenen Eluate gaben nach gutem Trocknen und Lösen in Methanol nach einigem Stehen bei 0°, rascher beim Impfen, reichliche Mengen von farblosen Krystallen, die scharf abgenutzt und mit gekühltem Methanol gewaschen wurden. Aus den vereinigten Mutterlaugen konnte durch Ausfrieren bei —15° noch eine erhebliche Menge von Krystallen erhalten werden. Insgesamt wurden 4,5 g gewonnen, die einen Smp. von 57—59° zeigten.

Aus den mit Benzol-Äther erhaltenen Fraktionen wurde eine kleine Menge 12β-Oxy-cholansäure-methylester vom Smp. 118—120° (Mischprobe) erhalten.

Der oben genannte Ester war für die meisten Umsetzungen direkt verwendbar. Eine Probe wurde nochmals aus Methanol umkrystallisiert, wobei farblose Nadeln vom Smp. 57—59° resultierten. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{12} = +34,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,99$  in Aceton).

19,506 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{12} = +0,68^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet und kurz bei 80° geschmolzen.

3,384 mg Subst. gaben 10,00 mg CO<sub>2</sub> und 3,26 mg H<sub>2</sub>O (*Schwarzkopf*)

C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub> (372,57) Ber. C 80,59 H 10,82%

Gef. „ 80,60 „ 10,78%

Der Ester gab in möglichst wenig Chloroform gelöst mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Im Molekularkolben liess er sich bei 0,02 mm und 140° Badtemperatur leicht destillieren. In den üblichen organischen Lösungsmitteln ausser in Methanol und Äthanol ist er sehr leicht löslich. Die Mischprobe mit Cholansäuremethylester (IX) vom Smp. 86—87° schmolz bei 53—56° (ein kleiner Rest erst gegen 74°), gab also keine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

#### 11, 12-Dibrom-cholansäure-methylester.

200 mg Cholen-(11)-säure-methylester (IV) wurden in 1,5 cm<sup>3</sup> Chloroform gelöst und langsam mit der Lösung von 86 mg Brom in 1,3 cm<sup>3</sup> Chloroform versetzt, das zuerst sofort entfärbt wurde; erst die letzten Tropfen ergaben Gelbfärbung. Der nach Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand wurde in wenig Äther gelöst und dieser nach Zusatz von Methanol im Vakuum langsam entfernt, wobei sich Krystalle ausschieden, die mit Methanol gewaschen und nochmals analog umkrystallisiert wurden, wobei 200 mg farbloser Blättchen vom Smp. 102—103° resultierten.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet.

4,061 mg Subst. gaben 3,03 mg AgBr (E.T.H.)

C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> (532,4) Ber. Br 30,03 Gef. Br 31,75%

Entbromung mit Zinkstaub. Durch kurzes Erwärmen mit Zinkstaub und etwas Natriumacetat in Eisessig wird aus dem Dibromid der reine Methylester (IV) vom Smp. 58—59° zurückerhalten.

Verkochen mit Pyridin. 52 mg Dibromid wurden mit 1 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Entfernung des Pyridins im Vakuum wurde der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Essigsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der amorphe Rückstand gab erst nach Chromatographie aus Methanol Krystalle vom Smp. 57—59°, die bei der Mischprobe mit (IV) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Jedoch zeigte das U.V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum bei 246 mμ und  $\log \epsilon = 2,9$ .

Das Präparat enthielt demnach offenbar als Verunreinigung etwa 6% eines Choladiensäure-methylesters mit konjugierten Doppelbindungen. Ein solcher, der in Hexan bei  $245\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,13$ ) absorbiert, wird später beschrieben.

### Cholansäure-methylester (IX) aus Cholen-(11)-säure-methylester (IV).

Eine Probe des Cholen-(11)-säure-methylesters (IV) vom Smp.  $59\text{--}61^\circ$  wurde in Eisessig mit Platinoxyd hydriert, wobei die Wasserstoffaufnahme nach 30 Minuten beendet war. Das Reaktionsprodukt krystallisierte aus Methanol in farblosen Nadeln vom Smp.  $86\text{--}87^\circ$ , die mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung gaben. Die Mischprobe mit authentischem Cholansäure-methylester (IX), der den gleichen Schmelzpunkt zeigte, gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_{\text{D}}^{11} = +24,6^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,955$  in Aceton).

19,533 mg Subst. zu  $0,9994\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{11} = +0,48^\circ \pm 0,02^\circ$

Die authentische Probe zeigte:  $[\alpha]_{\text{D}}^{11} = +25,2^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,94$  in Aceton).

19,424 mg Subst. zu  $0,9994\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $\alpha_{\text{D}}^{11} = +0,49^\circ \pm 0,02^\circ$

### 11, 12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI).

1,3 g Cholen-(11)-säure-methylester (IV) vom Smp.  $59\text{--}61^\circ$  wurden in  $50\text{ cm}^3$  absolutem Äther gelöst, mit der Lösung von 1 g Osmiumtetroxyd in  $50\text{ cm}^3$  absolutem Äther versetzt und 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die dunkle Lösung wurde zuerst auf dem Wasserbad, dann im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in  $10\text{ cm}^3$  Benzol und  $50\text{ cm}^3$  Alkohol gelöst, heiss mit der heissen Lösung von 2 g Kaliumhydroxyd und 2 g kryst. Natriumsulfit in  $12\text{ cm}^3$  Wasser versetzt und die Mischung 3 Stunden unter Rückfluss gekocht<sup>1)</sup>. Hierauf wurde zur besseren Ausflockung noch die filtrierte Mischung von  $2\text{ cm}^3$  gesättigter, wässriger Kochsalzlösung mit  $8\text{ cm}^3$  Alkohol zugegeben und noch 1 Stunde weiter gekocht, wobei man das Benzol unter Ersatz durch kochsalzgesättigten Alkohol abdestillieren liess. Hierauf wurde heiss filtriert und mit heissem Alkohol, der mit Kochsalz gesättigt war, erschöpfend ausgewaschen. (Es lässt sich leicht prüfen, ob die Spaltung vollständig erfolgt ist, wenn man den schwarzen Filtrerrückstand mit Chloroform wäscht. Färbt sich dieses violett, so wird erschöpfend mit Chloroform gewaschen, bis dieses farblos abläuft. Die Filtrate

<sup>1)</sup> Die sonst übliche reduktive Spaltung mit Natriumsulfit in wässrigem Alkohol nach *Criegee* gab nur sehr schlechte Ausbeuten. Dies dürfte daran liegen, dass dabei ein Osmiumester entsteht, der in Alkohol fast unlöslich ist. Er löst sich leicht in Chloroform und ziemlich leicht in heissem Benzol und bildet violette Krystalle, die bei  $202\text{--}206^\circ$  schmelzen.



werden eingedampft und der Rückstand wie oben beschrieben nochmals reduktiv gespalten. Die auf dem Filter verbleibenden Osmiumreste können wie üblich zur Regenerierung verwendet werden).

Die alkalischen Filtrate, die höchstens leicht gelblich gefärbt sein sollen, wurden nach Zusatz von Wasser zur Vermeidung des Schäumens mit Essigsäure bis zur leicht lackmussauren Reaktion versetzt und hierauf im Vakuum vom Alkohol völlig befreit. Dann wurde Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion zugegeben und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit etwas Wasser gewaschenen Ätherlösungen wurden über Natriumsulfat getrocknet und mit ätherischer Diazomethanolösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach 10 Minuten wurde mit wässriger Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es verblieb ein hellbrauner Rückstand, der 1,24 g wog und nach einigen Stunden krystallin erstarrte.

Zur Reinigung wurde in Benzol gelöst, mit dem 4-fachen Volumen Petroläther versetzt und durch eine mit Petroläther bereitete Säule von 30 g Aluminiumoxyd filtriert. Es wurde zuerst mehrmals mit Benzol-Petroläther (1:4), dann mit Benzol-Petroläther (1:1) und weiter mit absolutem Benzol sowie mit Benzol-Äther-Gemischen nachgewaschen. Die ersten Fraktionen gaben eine kleine Menge Cholen-(11)-säure-methylester (IV). Die mit Benzol-Petroläther (1:1), sowie besonders die mit absolutem Benzol erhaltenen Filtrate gaben beim Eindampfen Rückstände, die aus wenig absolutem Äther mit Petroläther krystallisierten. Es wurden zwei Formen beobachtet, entweder farblose, gerade abgeschnittene, dünne Nadeln vom Smp. 83—85°, deren Schmelze bei weiterem Wärmen meist rekrySTALLISIERT und bei 102—104° erneut schmilzt, oder grobe, zu Büscheln vereinigte Nadeln vom Smp. 102—104°. Die mit Äther eluierten Fraktionen gaben nur noch sehr wenig amorphes Material.

Die aus den erwähnten Fraktionen erhaltenen Krystalle erwiesen sich als identisch und wurden vereinigt. Aus den entsprechenden Mutterlaugen konnte noch eine weitere Menge durch starkes Einengen und allmählichen Zusatz von Pentan gewonnen werden. Total wurden 0,74 g erhalten. Zur Reinigung wurde in absolutem Äther gelöst, stark eingengt und mit Pentan versetzt. Beim Animpfen trat jeweils rasche Krystallisation ein, die durch weiteren Pentanzusatz vervollständigt wurde. Je nach den zum Impfen verwendeten Krystallen konnte die tiefschmelzende Form vom Smp. 83—85° oder die hochschmelzende Form vom Smp. 103—104° erhalten werden. Auch durch Impfen der Schmelze liess sich die tiefschmelzende Form leicht in die hochschmelzende umwandeln. Es handelt sich somit um Krystallisomerie. Zum Umkrystallisieren ist auch Methanol geeignet. Der Dioxyester (VI) gibt mit Tetranitro-

methan keine Gelbfärbung. Die spez. Drehung eines Präparates vom Smp. 83—85° betrug:  $[\alpha]_D^{16} = + 11,3^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,86$  in Methanol).

18,85 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = + 0,21^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Ein Präparat vom Smp. 103—104° zeigte die spez. Drehung von:  $[\alpha]_D^{15} = + 12,2^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,973$  in Methanol).

19,725 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = + 0,24^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

5,114 mg Subst. (Smp. 83—85°) gaben 13,85 mg CO<sub>2</sub> und 4,73 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

5,035 mg Subst. (Smp. 103—104°) gaben 13,635 mg CO<sub>2</sub> und 4,58 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

3,039 mg Subst. (Smp. 103—104°) gaben 1,90 mg AgJ (*Zeisel*) (*Schoeller*)

C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub> (406,59) Ber. C 73,85 H 10,41 -OCH<sub>3</sub> 7,64%

Präparat Smp. 83—85° Gef. „ 73,91 „ 10,35 — —

„ „ 103—104° Gef. „ 73,90 „ 10,18 „ 8,26%

### 11,12-Dioxy-cholansäure (V).

30 mg 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) wurden mit der Lösung von 8 mg Kaliumhydroxyd in 0,5 cm<sup>3</sup> Methanol 15 Minuten gekocht. Dann wurde etwas Wasser zugegeben, das Methanol im Vakuum entfernt und nach Zusatz von Salzsäure mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingengt und mit Pentan versetzt. Die Säure krystallisierte in kleinen, zu kompakten Drusen vereinigten Nadeln vom Smp. 211—214°. Sie ist leicht löslich in Methanol, schwerer in Äther und fast unlöslich in Petroläther. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{11} = + 3,2^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,863$  in Dioxan).

18,651 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{11} = + 0,06^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

### 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII).

100 mg 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) wurden mit 0,6 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid und 1 cm<sup>3</sup> Pyridin 8 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (118 mg) wurde aus Methanol umkrystallisiert und gab 80 mg farblose Stäbchen vom Smp. 108—110°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{13} = + 1,5^{\circ} \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1,94$  in Aceton).

19,401 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{13} = + 0,03^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,837 mg Subst. gaben 9,985 mg CO<sub>2</sub> und 3,170 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>6</sub> (490,66) Ber. C 70,98 H 9,45%

Gef. „ 71,02 „ 9,25%

Ein analoger Ansatz wurde im Bombenrohr auf 200° erhitzt. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der braune Rückstand mit verdünnter Salzsäure und Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung

mit ätherischem Diazomethan versetzt und nach 10 Minuten mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde über 0,5 g Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Aus den mit Benzol-Petroläther (1 : 1) erhaltenen Filtraten krystallisierte 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester in Stäbchen, die bei 104—106° schmolzen. Die Mischprobe mit dem analysierten Präparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Zur weiteren Sicherstellung der Tatsache, dass wirklich beide Hydroxylgruppen acetyliert waren, wurde der folgende Oxydationsversuch angestellt:

20 mg 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII) wurden in 0,2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 0,25 cm<sup>3</sup> 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (21 mg) krystallisierte aus Methanol. Die farblosen Nadeln schmolzen bei 106—108° und gaben bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial keine Schmelzpunktserniedrigung.

Verseifung. 16 mg 11,12-Diacetoxy-cholansäure-methylester (XII) wurden 1 Stunde mit der Lösung von 12 mg Kaliumhydroxyd in 2 cm<sup>3</sup> Methanol unter Rückfluss gekocht. Die in üblicher Weise isolierte Säure wurde mit ätherischer Diazomethanolösung versetzt. Der Methylester krystallisierte aus Äther-Pentan in groben Nadeln vom Smp. 100—103°. Die Mischprobe mit dem Dioxyester (VI) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

#### 11,12-Dioxy-cholansäure-lacton (XIII).

117 mg 11,12-Dioxy-cholansäure wurden in einem einseitig zugeschmolzenen Glasrohr mit zwei Verengungsstellen im Hochvakuum bei 0,05 mm langsam destilliert. Die Temperatur des Heizblocks wurde etwa 1 Stunde auf 190—210° gehalten, dann im Verlauf einer halben Stunde auf 250° und schliesslich bis auf 350° gesteigert. Das in Äther gelöste gelbliche, glasige Destillat wurde durch mehrmaliges Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge in Neutralteile und Säuren getrennt. Die neutrale ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, wobei 18 mg Rückstand verblieben, der aus Äther-Pentan in feinen Nadelchen krystallisierte, die bei 236—237° schmolzen.

Die alkalische Lösung wurde mit Salzsäure kongosauer gemacht, mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (94 mg) gab aus Äther-Pentan Krystalle (Smp. roh

170—200°), die sich zur Hauptsache als unverändertes Ausgangsmaterial (V) erwiesen. Daher wurden die 94 mg roher Säure gleich nochmals einer analogen Destillation unterworfen, wobei noch 23 mg rohes Lacton, neben 55 mg sauren Anteilen erhalten wurden.

Die aus beiden Neutralteilen durch Digerieren mit Pentan erhaltenen Rohkrystalle wurden zusammen im Molekularkolben bei 0,02 mm und 190° Badtemperatur sublimiert und aus Benzol-Pentan umkrystallisiert. Erhalten wurden 14 mg farbloser Nadeln vom Smp. 240—242°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{17} = -41,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,197$  in Benzol).

12,119 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = -0,50^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,542 mg Subst. gaben 12,895 mg CO<sub>2</sub> und 4,12 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub> (374,55) Ber. C 76,95 H 10,22%

Gef. „ 77,48 „ 10,15%

Die Lactonisierung der 11,12-Dioxy-cholansäure liess sich auch im Wasserstrahlvakuum bei 12 mm durchführen; die Substanz ging bei langsamer Destillation bei 230—280° Blocktemperatur über.

Oxydation des Lactons. 12 mg des Lactons vom Smp. 240—242° wurden in 0,1 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit der Lösung von 3,21 mg Chromtrioxyd in 0,16 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum und Zusatz von Wasser wurde mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure, Natronlauge und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand krystallisierte aus Äther-Pentan in kleinen Blöckchen vom Smp. 152—154°.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

2,320 mg Subst. gaben 6,591 mg CO<sub>2</sub> und 2,05 mg H<sub>2</sub>O (E.T.H.)

C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> (372,53) Ber. C 77,37 H 9,74%

Gef. „ 77,53 „ 9,89%

Tricarbonsäure (VII) aus 11  $\beta$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XIV).

100 mg 11  $\beta$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (XIV)<sup>1)</sup> vom Smp. 106—107° wurden in 2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 5 cm<sup>3</sup> einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 100 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, mit wässriger Schwefelsäure versetzt und mit viel Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen und die sauren Anteile durch mehrmaliges Ausschütteln mit kleinen Portionen wässriger Natronlauge ausgezogen. Die verbleibende Ätherlösung gab nach Waschen mit

<sup>1)</sup> J. Barnett, T. Reichstein, *Helv.* **21**, 929 (1938).

Wasser, Trocknen und Eindampfen keinen Rückstand, sodass die Oxydation völlig beendet war.

Die alkalischen Auszüge, die den Mono-ester der Tricarbon-säure (VII) enthalten sollten, wurden zur Verseifung 10 Minuten gekocht und nach dem Erkalten tropfenweise mit konz. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt. Die ausgefällte Säure wurde mit viel Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 90 mg und schmolz bei 249—261°. Umkrystallisieren aus Äther gab 40 mg farbloser Nadeln vom Smp. 258—263° unter Zersetzung. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{11} = +14,9^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,00$  in Dioxan).

20,001 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{11} = +0,30^\circ \pm 0,02^\circ$

Das Produkt erwies sich nach Mischprobe als identisch mit einer nach *Wieland* und *Weyland*<sup>1)</sup> aus 12-Keto-cholansäure mit Salpetersäure bereiteten Probe. Der mit Diazomethan bereitete Methylester liess sich nicht krystallisieren.

Anhydrid-Anilid (VIII). 50 mg Tricarbonsäure (VII) wurden mit 0,75 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum völlig entfernt, der Rückstand in absolutem Äther gelöst und in die Lösung von 0,5 g Anilin in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Äther eingegossen, wobei Anilin-hydrochlorid ausfiel. Nach 10 Minuten wurde die Mischung mit verdünnter Salzsäure, Natronlauge, Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 55 mg und krystallisierte sofort. Er schmolz roh bei 155—172°. Umkrystallisieren aus Benzol-Äther gab ein farbloses Krystallpulver vom Smp. 176—183°. Zur weiteren Reinigung wurde über Aluminiumoxyd chromatographiert. Die reine Substanz liess sich mit Benzol-Petroläther (1:1) eluieren. Die Rohfraktionen zeigten einen doppelten Schmelzpunkt. Sie schmolzen zunächst bei etwa 120°, worauf wieder Erstarren eintrat und definitives Schmelzen bei 181—185°. Nochmaliges Umkrystallisieren aus absolutem Benzol oder Methanol gab farblose, zu Büscheln vereinigte, flache Nadeln vom Smp. 188—189°.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,748 mg Subst. gaben 10,325 mg CO<sub>2</sub> und 2,87 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

3,172 mg Subst. gaben 0,086 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (20,5°, 755 mm)

C<sub>30</sub>H<sub>41</sub>O<sub>4</sub>N (479,64) Ber. C 75,10 H 8,26 N 2,92%

Gef. „ 75,17 „ 8,57 „ 3,14%

Tricarbonsäure (VII) aus 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI).

35 mg 11,12-Dioxy-cholansäure-methylester (VI) vom Smp. 83—85° wurden in 1 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 1,5 cm<sup>3</sup> einer

<sup>1)</sup> *H. Wieland, P. Weyland, Z. physiol. Ch. 110, 141 (1920).*

2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 30 mg  $\text{CrO}_3$ ) versetzt und 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 25° Badtemperatur eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen und mehrmals mit kleinen Portionen 2-n. Natronlauge ausgeschüttelt. Die Ätherlösung hinterliess nach dem Waschen mit Wasser und Trocknen über Natriumsulfat einen Rückstand von 12 mg Neutralsubstanz.

Die alkalischen Auszüge wurden 15 Minuten gekocht, abgekühlt, tropfenweise mit konz. Salzsäure versetzt und die ausgefällte Säure mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene Lösung hinterliess beim Eindampfen 24 mg krystallisierte Rohsäure. Dreimaliges Umkrystallisieren aus Äther durch Einengen gab Nadelbüschel vom Smp. 254—260°. Die Mischprobe mit der aus 11  $\beta$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester bereiteten Tricarbonsäure gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Anhydrid-anilid (VIII). 4,6 mg der aus (VI) erhaltenen Tricarbonsäure wurden mit 0,2 cm<sup>3</sup> Thionylchlorid 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung und weitere Umsetzung geschah wie oben beschrieben. Nach der chromatographischen Reinigung wurden 1 mg farbloser Nadelchen vom Smp. 184° erhalten. Die Mischprobe mit dem oben beschriebenen Vergleichspräparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

#### 11 $\beta$ , 12 $\beta$ -Oxydo-cholansäure-methylester (XI).

668 mg Cholen-(11)-säure-methylester (IV) vom Smp. 59—61° wurden mit der Lösung von 745 mg über das Bariumsalz<sup>1)</sup> gereinigter Benzopersäure in 40 cm<sup>3</sup> Chloroform<sup>2)</sup> versetzt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

1 cm<sup>3</sup> der verwendeten Benzopersäurelösung (Blindprobe) verbrauchten nach Zusatz von Essigsäure und Kaliumjodid 2,7 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung. 1 cm<sup>3</sup> der Mischung verbrauchte 1,7 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung. Die Differenz betrug somit 1,0 cm<sup>3</sup> und entspricht 1,1 Mol. Dieser Wert war übrigens schon nach einstündigem Stehen erreicht.

Das Chloroform wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingengt und mit Pentan versetzt, wobei reichliche Krystallisation eintrat. Nach dem Abnutschen, Waschen mit Pentan und Trocknen wurden 453 mg farbloser Nadeln vom Smp. 96—97° erhalten. Zur Analyse wurde noch-

<sup>1)</sup> A. Baeyer, V. Villiger, B. **33**, 1569 (1900).

<sup>2)</sup> Zur verschiedenen Oxydationsgeschwindigkeit in Äther und Chloroform vgl. L. Ruzicka, L. Sternbach, Helv. **23**, 124 (1940).

mals aus Methanol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Der Schmelzpunkt war unverändert.

4,690 mg Subst. gaben 13,240 mg CO<sub>2</sub> und 4,32 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub> (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%

Gef. „ 77,04 „ 10,31%

Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{17} = +29,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,871$  in Aceton).

18,944 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,55^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

### 11 $\beta$ , 12 $\beta$ -Oxydo-cholansäure (X).

252 mg des Esters (XI) vom Smp. 96—97° wurden in 35 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit der Lösung von 180 mg Kaliumcarbonat in 3,6 cm<sup>3</sup> Wasser 15 Minuten unter Rückfluss gekocht und anschliessend 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde nochmals 15 Minuten gekocht, mit etwas Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung mit wässriger Natronlauge ausgezogen. Aus dem Äther wurden 15 mg unveränderter Ester zurückgewonnen. Die alkalischen Auszüge wurden mit Salzsäure angesäuert, mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 200 mg und schmolz bei 154—157°. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan wurden farblose Körnchen vom Smp. 155—157° erhalten.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,744 mg Subst. gaben 13,215 mg CO<sub>2</sub> und 4,26 mg H<sub>2</sub>O (*Schoeller*)

C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>3</sub> (374,55) Ber. C 76,95 H 10,23%

Gef. „ 76,02 „ 10,05%

Eine Probe der Säure wurde mit Diazomethan methyliert. Der erhaltene Ester schmolz roh bei 94—96° und gab bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial keine Schmelzpunktserniedrigung.

Cholansäure-methylester (IX) und 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (II) aus 11  $\beta$ , 12  $\beta$ -Oxydo-cholansäure-methylester (XI).

350 mg gepulverte Nickel-Aluminium-Legierung (mit ca. 50 % Nickel)<sup>1)</sup> wurden mit 10 cm<sup>3</sup> 4-proz. Natronlauge versetzt und eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Abdekantieren der Flüssigkeit wurden nochmals 10 cm<sup>3</sup> Lauge zugegeben und erneut 30 Minuten erwärmt. Dann wurde der Katalysator ca. 20mal durch

<sup>1)</sup> Amer. Patent 1 628 190 (C. 1927 II, 653); *L. W. Covert, H. Adkins*, Am. Soc. 54, 4116 (1932). Wir danken Herrn *M. Raney*, Chattanooga (Tenn.) für dieses Material, das er uns freundlichst zur Verfügung stellte.

Dekantieren mit destilliertem Wasser und zuletzt dreimal mit Methanol gewaschen, mit Methanol in den Glaseinsatz eines Hochdruck-Rotierautoklaven gespült und die überstehende Flüssigkeit bis auf etwa 3 cm<sup>3</sup> abgegossen. Nach Zugabe von 100 mg 11,12-Oxyd-cholansäure-methylester (XI) vom Smp. 96—97° wurde der Autoklav verschlossen, die Luft vertrieben und Wasserstoff auf 100 Atm. aufgepresst. Unter ständigem Rotieren wurde auf 100° aufgeheizt, 2½ Stunden bei dieser Temperatur gehalten und dann erkalten gelassen. Das Nickel wurde nun abfiltriert, mit Äther nachgewaschen, das Filtrat im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol 48 mg rohen Cholansäure-methylester (IX), der aber noch unscharf bei 72—82° schmolz. Die getrocknete Mutterlauge (46 mg) gab nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan 27 mg farbloser Blättchen vom Smp. 118—119°. Die Mischprobe mit gleich hoch schmelzendem 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (II) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die 48 mg Krystalle vom Smp. 72—82° wurden in Petroläther gelöst und zur Reinigung durch eine Säule von 1,5 g Aluminiumoxyd (*Merek*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert und diese mehrmals mit Petroläther nachgewaschen. Die eingedampften Filtrate gaben nach Umkrystallisieren aus Methanol 23 mg farbloser Nadeln vom Smp. 86—87°. Authentischer Cholansäure-methylester<sup>1)</sup> sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich.

Beim Nachwaschen der Aluminiumoxydsäule mit Benzol-Petroläther (1 : 1) wurde noch etwas Material eluiert, das beim Umkrystallisieren aus Methanol 8 mg Krystalle vom Smp. 95—97° lieferte, die sich als unveränderter Oxydoester (IX) erwiesen.

Anschliessend wurde noch mit reinem Benzol nachgewaschen. Die eingedampften Eluate gaben durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan noch 5 mg farbloser Rosetten vom Smp. 118—120°, die sich nach Mischprobe als mit 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (II) identisch erwiesen.

Oxydation. Zur weiteren Sicherstellung, dass es sich um 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester handelt, wurden 18 mg der bei der Hydrierung gewonnenen Krystalle vom Smp. 118—119° in 0,2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 0,3 cm<sup>3</sup> einer 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 6 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 14 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung

<sup>1)</sup> A. Windaus, A. Bohne, A. 433, 286 (1923); A. Stoll, A. Hofmann, A. Helfenstein, Helv. 18, 644 (1935).



mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand krystallisierte aus Methanol in Blättchen, die bei 107—109° schmolzen. Die Mischprobe mit authentischem 12-Keto-cholansäure-methylester<sup>1)</sup> gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Mikroanalysen wurden teilweise von Herrn Dr. O. Schwarzkopf, Paris, teilweise von Herrn Dr. A. Schoeller, Berlin, sowie teilweise im mikroanalyt. Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich, (Leitung H. Gubser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 88. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

14. Mitteilung <sup>2)</sup>.

### 3-Keto-cholen-(11)-säure und 3-Keto-choladien-(4,11)-säure

von V. Burekhardt und T. Reichstein.

(3. VI. 42.)

Vorstehend wurde die Herstellung der Cholen-(11)-säure beschrieben<sup>2)</sup>. Auf ähnlichem Wege sind nun auch die 3-Keto-cholen-(11)-säure (X) und die 3-Keto-choladien-(4,11)-säure (VIII) sowie einige ihrer Derivate bereitet worden.

Als Ausgangsmaterial diente 3  $\alpha$ , 12  $\beta$ -Diacetoxy-cholansäure-methylester (Desoxycholsäure-methylester-diacetat) (I)<sup>3)</sup>, der durch partielle Verseifung mit Kaliumcarbonat in wässrigem Methanol ein Gemisch von krystallisierter 3  $\alpha$ -Oxy-12  $\beta$ -acetoxy-cholansäure (II)<sup>4)</sup> und ihrem amorphen Methylester (III)<sup>5)</sup> lieferte. Durch Umsetzung mit methylalkoholischer Salzsäure oder mit Diazomethan wurde die freie Säure (II) ebenfalls in den Methylester (III) übergeführt. Einfacher wird dasselbe Resultat erreicht<sup>5)</sup>, wenn (I) direkt mit methylalkoholischer Salzsäure bei Zimmertemperatur stehen gelassen wird, wobei unter Abspaltung der 3-ständigen Acetylgruppe direkt recht reiner Methylester (III) entsteht. Durch Dehydrierung mit Chromsäure liefert dieser den 3-Keto-12  $\beta$ -acetoxy-cholansäure-methylester (IV), der durch energische Verseifung mit Alkali in die 3-Keto-12  $\beta$ -

<sup>1)</sup> K. Kyogoku, Z. physiol. Ch. **246**, 101 (1937), vgl. J. Barnett, T. Reichstein, Helv. **21**, 926 (1938). Das Vergleichsmaterial wurde einerseits durch Oxydation von 12  $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester mit Chromsäure, sowie durch Methylierung von 12-Keto-cholansäure mit Diazomethan oder 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure gewonnen und schmolz nach Umkrystallisieren aus Methanol bei 108—109° korr.

<sup>2)</sup> 13. Mitteilung, H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. **25**, 805 (1942).

<sup>3)</sup> H. Wieland, W. Kapitel, Z. physiol. Ch. **212**, 269 (1932).

<sup>4)</sup> K. Yamasaki, K. Kyogoku, Z. physiol. Ch. **233**, 29 (1935).

<sup>5)</sup> T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942).