

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-methylester¹⁾ 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 ²⁾).

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 beschrieben²⁾. 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 α , 12 β -Diacetoxy-cholansäure-methylester (Desoxycholsäure-methylester-diacetat) (I)³⁾, der durch partielle Verseifung mit Kaliumcarbonat in wässrigem Methanol ein Gemisch von krystallisierter 3 α -Oxy-12 β -acetoxy-cholansäure (II)⁴⁾ und ihrem amorphen Methylester (III)⁵⁾ lieferte. Durch Umsetzung mit methylalkoholischer Salzsäure oder mit Diazomethan wurde die freie Säure (II) ebenfalls in den Methylester (III) übergeführt. Einfacher wird dasselbe Resultat erreicht⁵⁾, 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 β -acetoxy-cholansäure-methylester (IV), der durch energische Verseifung mit Alkali in die 3-Keto-12 β -

¹⁾ 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 β -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.

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

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

⁴⁾ K. Yamasaki, K. Kyogoku, Z. physiol. Ch. **233**, 29 (1935).

⁵⁾ T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942).

oxy-cholansäure (V)¹⁾ übergeführt wird, die noch als krystallisierter Methylester¹⁾ charakterisiert wurde. Andererseits wurde (IV) bromiert und der so entstandene krystallisierte Brom-ester, der in Analogie zum Bromierungsverlauf bei anderen Koprostanon-Derivaten²⁾ vermutlich den 4-Brom-3-keto-12 β -acetoxy-cholansäure-methylester darstellt, durch Verkochen mit Pyridin in den 3-Keto-12 β -acetoxy-cholen-(4)-säure-methylester (VI) übergeführt. Die Lage der Doppelbindung in diesem Ester wurde nicht bewiesen und stützt sich lediglich auf die genannten Analogien, doch konnte festgestellt werden, dass der Stoff (VI) im U.V.-Absorptionsspektrum starke selektive Absorption zeigt mit einem Maximum bei $240\text{ m}\mu$ und $\log \epsilon = \text{ca. } 4,3^3)$, was für das Vorliegen der α, β -ungesättigten Ketongruppierung spricht. Energische alkalische Verseifung lieferte die krystallisierte 3-Keto-12 β -oxy-cholen-(4)-säure (VII), die weiter durch einen ebenfalls krystallisierten Methylester charakterisiert wurde.

Die Säure (V) lieferte bei der thermischen Zersetzung nach *Wieland*⁴⁾ neben dem Lacton von (V) ein Gemisch saurer Produkte, aus dem sich die 3-Keto-cholen-(11)-säure (X) in krystallisierter Form isolieren liess. Sie lieferte einen ebenfalls gut krystallisierenden Methylester (XI). Dass dieser Ester (XI) noch das unveränderte Steringerüst enthält, ergibt sich aus dem Verlauf der Hydrierung, wobei nach Rückoxydation des rohen Hydrierungsproduktes mit Chromsäure 3-Keto-cholansäure-methylester entstand. Es wurde noch weiter versucht, die Lage der Doppelbindung festzustellen, und zwar durch Bereitung des 11,12-Oxyds und dessen hydrierende Spaltung, analog wie dies bei der Cholen-(11)-säure geschehen ist⁵⁾. Dabei wurde jedoch ein unerwartetes Resultat erhalten: Der Ester (XI) verbrauchte in Chloroformlösung nicht nur 1, sondern 2 Mol. Benzopersäure, und die Analysenwerte des krystallisierten Reaktionsproduktes passten auf die Formel $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_5$, die ein Sauerstoffatom mehr enthält als das erwartete Oxyd von (XI). Wir vermuten, dass ein Oxydo-lacton-ester der Formel (XII) entstanden ist, was durch Modellversuche gestützt werden konnte⁶⁾. Von weiteren Versuchen zur Bereitung des Oxyds von (XI) wurde abgesehen, da die in den Formeln bezeichnete Lage der Doppelbindung inzwischen in eindeutiger Weise auf einem kleinen Umweg gesichert werden konnte⁷⁾.

¹⁾ K. Yamasaki, K. Kyogoku, Z. physiol. Ch. **233**, 29 (1935).

²⁾ A. Butenandt, J. Schmidt, B. **67**, 1901 (1934); A. Butenandt, L. Mamoli, B. **68**, 1855 (1935); A. Butenandt, A. Wolff, B. **68**, 2091 (1935).

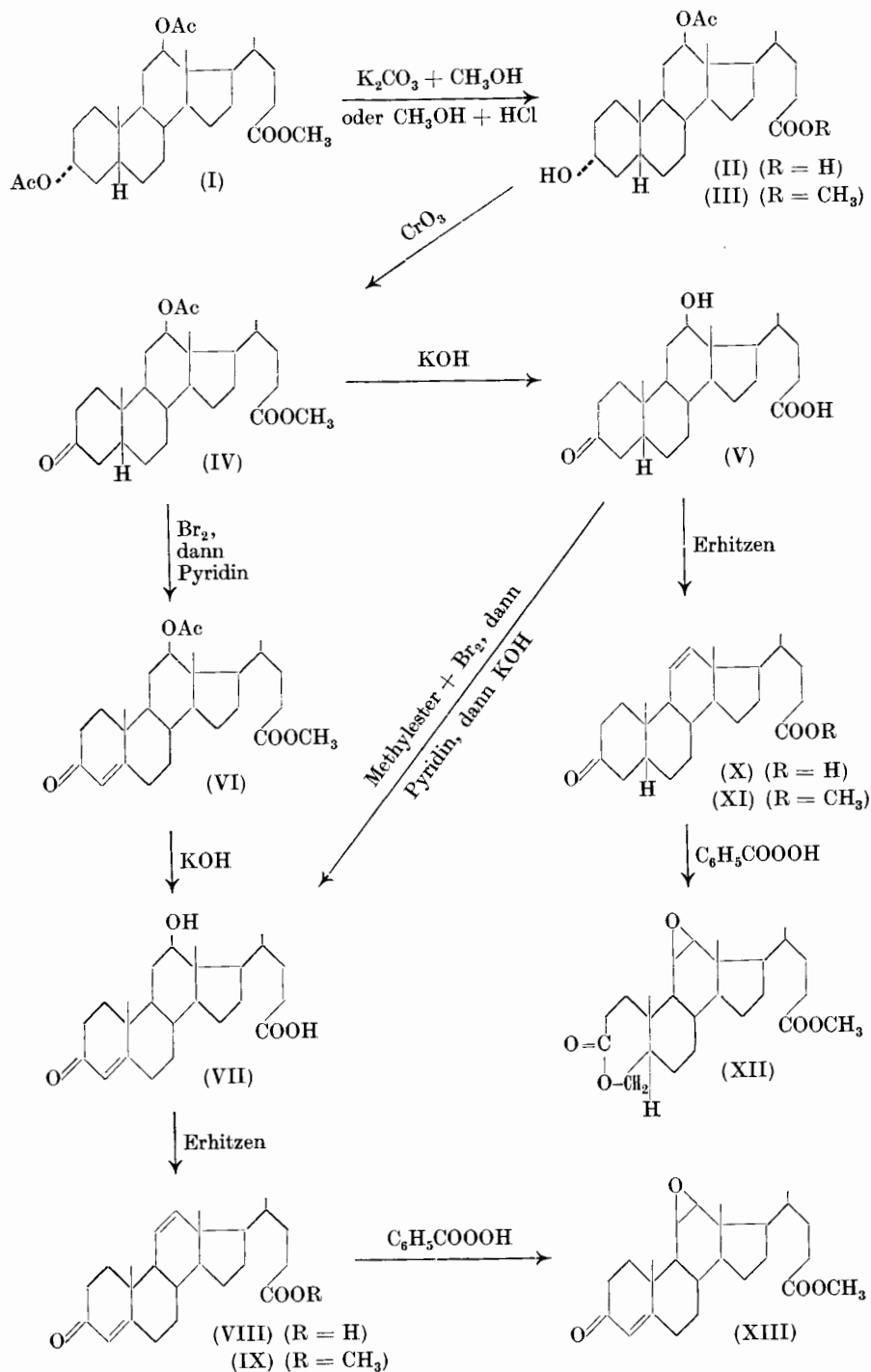
³⁾ Wir danken Herrn P. D. Dr. H. Mohler, Zürich, für die Ausführung dieser Messung.

⁴⁾ H. Wieland, H. Sorge, Z. physiol. Ch. **98**, 59 (1916); H. Wieland, P. Weyland, Z. physiol. Ch. **110**, 136 (1920).

⁵⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. **25**, 805 (1942).

⁶⁾ Vgl. spätere Mitteilung.

⁷⁾ Vgl. die Mitteilung von J. Press und T. Reichstein, Helv. **25**, 878 (1942).



Zur Bereitung der doppelt ungesättigten Säure (VIII) wurde die Säure (VII) ebenfalls der thermischen Spaltung unterworfen. Auch hier entstand neben etwas Lacton von (VII) ein Säuregemisch, aus dem sich die krystallisierte Säure (VIII) entweder direkt oder in Form ihres ebenfalls gut krystallisierten Methylesters (IX) isolieren liess. Umsetzung von (IX) mit Benzopersäure in Chloroform lieferte, neben anderen Produkten, ein Oxyd, dessen Analysenwerte mit der erwarteten Formel (XIII) in Einklang stehen. Auf einen eindeutigen Beweis dieser Formel wurde verzichtet. Der Methylester der Säure (VII) kann auch aus dem Methylester von (V) durch Bromierung und Verkochen des Reaktionsproduktes mit Pyridin bereitet werden.

Experimenteller Teil.

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

3-Keto-12 β -oxy-cholansäure (V).

18,7 g Diacetyl-desoxycholsäure-methylester (I)¹⁾ wurden zur partiellen Verseifung²⁾ in 400 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 10,5 g Kaliumcarbonat in 90 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde mit Salzsäure bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt, das Methanol im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, mit Diazomethanolösung bis zur bestehenden Gelbfärbung versetzt und nach kurzem Stehen mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 16,6 g und stellte ein farbloses Harz dar, das nicht krystallisierte. Die Nachmethylierung kann statt mit Diazomethan auch durch 20-stündiges Stehen mit 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure durchgeführt werden. Die partielle Verseifung gelingt einfacher direkt mit methylalkoholischer Salzsäure nach *Reichstein* und *Sorkin*³⁾.

Zur Oxydation wurde der amorphe, gut im Vakuum getrocknete 3 α -Oxy-12 β -acetox-y-cholansäure-methylester (III) (46 g) in 92 cm³ gegen Chromsäure beständigem Eisessig gelöst, unter Kühlung im Laufe einer ½ Stunde allmählich mit der Lösung von 10,3 g Chromtrioxyd in 10 cm³ Wasser und 50 cm³ Eisessig versetzt und die Mischung 8 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurden im Vakuum bei 40° Badtemperatur etwa 75 cm³ Eisessig abdestilliert, der Rückstand mit Äther in einen Scheidetrichter gespült, die Lösung mehrmals mit verdünnter Schwefelsäure, dann erschöpfend mit Sodalösung, zum Schluss mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingeeengt. Die beim Stehen

¹⁾ H. Wieland, W. Kapitel, Z. physiol. Ch. **212**, 269 (1932), vgl. auch ³⁾.

²⁾ Vgl. T. Reichstein, E. von Arx, Helv. **23**, 748 (1940).

³⁾ T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942).

ausgeschiedenen Krystalle wurden abgenutscht, mit Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Sie wogen 28 g und schmolzen bei 121—123°. Die Mutterlauge gab nach starkem Einengen noch weitere 3 g derselben Reinheit. Das Material war für weitere Umsetzungen durchaus geeignet. Ein Teil wurde aus Äther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die farblosen Krystalle schmolzen bei 122—123° und zeigten eine spez. Drehung von: $[\alpha]_D^{21} = + 82,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 2,1531$ in Aceton).

21,8 mg Subst. zu $1,0125 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{21} = + 1,78^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

5,173 mg Subst. gaben $13,740 \text{ mg CO}_2$ und $4,36 \text{ mg H}_2\text{O}$

$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5$ (446,61) Ber. C 72,61 H 9,43%

Gef. „ 72,62 „ 9,48%

Die Mischprobe mit 3 α , 12 β -Diacetoxy-cholansäure-methylester (I) schmolz bei 90—120°.

Zur Verseifung wurden 10 g des Esters (IV) mit der Lösung von 5 g Kaliumhydroxyd in 10 cm^3 Wasser und 50 cm^3 Äthanol 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit verdünnter Salzsäure nicht ganz neutralisiert, der Alkohol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand diente direkt zur thermischen Spaltung. Ein Teil wurde aus Äther umkrystallisiert und schmolz bei 100—110°. *Yamasaki* und *Kyogoku*¹⁾ geben als Smp. 112—120° an.

Methylester. Eine Probe der Säure wurde in üblicher Weise mit ätherischer Diazomethanolösung methyliert. Der Ester krystallisierte aus Äther-Pentan oder aus Methanol in farblosen, meist zu Büscheln vereinigten Nadeln vom Smp. 144—145° in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Yamasaki* und *Kyogoku*¹⁾. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = + 50,5^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ ($c = 1,365$ in Aceton).

13,644 mg Subst. zu $0,9994 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{15} = + 0,69^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Derselbe Ester wurde auch erhalten bei 20-stündigem Stehen der Säure mit 4 Teilen 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure.

Eine Probe des Esters (20 mg) wurde zur Oxydation mit 10 mg Chromtrioxyd in 1 cm^3 Eisessig 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 3,12-Diketo-cholansäure-methylester vom Smp. 130—132° (Mischprobe).

3-Keto-cholen-(11)-säure (X).

In einem geräumigen Destillierkolben mit Wurstansatz wurden 4,10 g rohe 3-Keto-12 β -oxy-cholansäure (V) im Wasserstrahlvakuum (12 mm Druck) etwas vorgewärmt und dann möglichst tief in ein Metallbad getaucht und dieses innerhalb 20 Minuten auf 250° erhitzt.

¹⁾ K. *Yamasaki*, K. *Kyogoku*, Z. physiol. Ch. **233**, 29 (1935).

Diese Badtemperatur wurde während einer $\frac{1}{2}$ Stunde beibehalten und dann allmählich auf $360\text{--}380^\circ$ gesteigert, wobei der Inhalt in lebhaftes Sieden geriet und bis auf einen geringen Rückstand überdestilliert werden konnte. Das hellgelbe, glasige Destillat wurde in Äther gelöst und die Lösung so oft mit kleinen Portionen Sodalösung ausgeschüttelt, bis diese nichts mehr aufnahm. Die verbliebene Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 0,4 g und gab aus Benzol-Pentan farblose Nadeln vom Smp. 230° . Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +20,4^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,669$ in Aceton).

16,9 mg Subst. zu $1,0125\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = +0,34^\circ \pm 0,02^\circ$

Es handelt sich offenbar um das Lacton von (V). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,360 mg Subst. gaben 12,385 mg CO_2 und 3,82 mg H_2O

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_3$ (372,52)	Ber. C 77,38	H 9,74%
	Gef. „ 77,47	„ 9,80%

Die vereinigten Sodaauszüge wurden mit Salzsäure bis zur kongo-sauren Reaktion versetzt und die harzig ausfallende Säure mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde eingedampft und lieferte 2,9 g Rückstand. Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 1,61 g Krystalle vom Smp. $136\text{--}150^\circ$. Die völlige Reinigung geschah über den Methylester (XI).

Die 1,61 g Krystalle wurden in Äther suspendiert und mit ätherischer Diazomethanolösung bis zum Verschwinden der Krystalle und zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach einigen Minuten wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und mit Petroläther versetzt. Erhalten wurden 1,15 g zu Rosetten gruppierte flache Nadeln oder Plättchen vom Smp. $118\text{--}122^\circ$. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Äther-Pentan sowie aus Methanol brachte den Schmelzpunkt auf $123\text{--}124^\circ$. Durch chromatographische Reinigung liess sich der Schmelzpunkt bis auf $125,5\text{--}126^\circ$ steigern. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{14} = +36,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,895$ in Aceton).

47,4 mg Subst. zu $2,5012\text{ cm}^3$; $l = 1\text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +0,70^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

5,709 mg Subst. gaben 16,250 mg CO_2 und 5,01 mg H_2O

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_3$ (386,55)	Ber. C 77,68	H 9,98%
	Gef. „ 77,63	„ 9,81%

Der Ester gab, in wenig Chloroform gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Die Mischprobe mit 3-Keto-12 β -oxy-cholansäure-methylester (vom Smp. $144\text{--}145^\circ$) schmolz bei $105\text{--}122^\circ$, die mit 3-Keto-12 β -acetoxy-cholansäure-methylester (IV)

(vom Smp. 122°) bei 103—120°, die mit 3-Keto-cholansäure-methylester (Smp. 118—120°) bei 120—123°. Im letzten Fall trat somit keine Erniedrigung ein. Die Mutterlaugen der rohen krystallisierten Säure (X) wurden ebenfalls methyliert und mit den Mutterlaugen des reinen Methylesters (zusammen 1,087 g) über 30 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther (1:1) sowie mit absolutem Benzol erhaltenen Eluate gaben nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther und Methanol noch 0,23 g reinen Methylester (XI).

Semicarbazon. Eine Probe des Methylesters (XI) wurde 16 Stunden mit überschüssiger methylalkoholischer Semicarbazid-acetatlösung bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Einengen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt, das ausgefällte Material abgenutscht, mit Wasser gewaschen, im Vakuum getrocknet und aus Chloroform-Methanol umkrystallisiert. Die farblosen Stäbchen schmolzen bei 196°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

2,854 mg Subst. gaben 0,227 cm³ N₂ (19°; 757 mm)

C₂₆H₄₁O₃N₃ (443,6) Ber. N 9,47 Gef. N 9,26%

Freie Säure (X). 60 mg Methylester (XI) vom Smp. 123—124° wurden mit der Lösung von 100 mg Kaliumhydroxyd in 0,15 cm³ Wasser und 1 cm³ Methanol 15 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von etwas Wasser und Entfernung des Methanols im Vakuum wurde mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingengt und mit Petroläther versetzt. Beim Stehen krystallisierten 55 mg Blättchen, die bei 150 bis 152° schmolzen. Sie zeigten eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{12} = +41,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,629$ in Aceton).

16,286 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +0,67^\circ \pm 0,02^\circ$

3-Keto-cholansäure-methylester aus (XI).

128 mg 3-Keto-cholen-(11)-säure-methylester (XI) vom Smp. 123 bis 124° wurden in 4 cm³ Eisessig gelöst, mit 19 mg Platinoxid versetzt und in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Innerhalb 10 Minuten waren 17,8 cm³ Gas aufgenommen, und die Hydrierung stand still (für 2 Mol berechnet 17,6 cm³). Hierauf wurde filtriert, mit reinstem Eisessig nachgewaschen, das Filtrat mit der Lösung von 33 mg Chromtrioxyd in 0,7 cm³ Wasser versetzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach starkem Einengen im Vakuum wurde der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der

krystalline Rückstand wog 116 mg. Mehrmaliges Umkrystallisieren aus Äther-Pentan gab flache, zu Büscheln vereinigte Nadeln vom Smp. 116—117°, in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Borsche* und *Hallwass*¹⁾. Das Produkt gab, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Die Mischprobe mit einem durch analoge Oxydation von reinem Lithocholsäure-methylester hergestellten Präparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Oxydo-lactonester (XII) aus (XI).

61 mg 3-Keto-cholen-(11)-säure-methylester (XI) wurden mit 0,75 cm³ einer 0,5-molaren Lösung von Benzopersäure in Chloroform 16 Stunden bei 16° stehen gelassen. Nach Zusatz einer Lösung von 0,15 g Natriumjodid in 6 cm³ Wasser und 0,6 cm³ Eisessig wurde mit 0,1-n. Thiosulfatlösung zurücktitriert, wobei ein Verbrauch von 2,0 Mol. gefunden wurde. Die Mischung wurde hierauf mit Wasser verdünnt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mehrmals mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, eingengt und mit Pentan versetzt. Beim Stehen erhielt man 45 mg farblose Krystalle vom Smp. 121—122°. Einmaliges Umkrystallisieren aus Benzol-Pentan ergab feine, zu dichten Rosetten gruppierte Nadeln vom Smp. 122—123°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17,5} = +38,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,761$ in Aceton).

7,706 mg zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,29^\circ \pm 0,03^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,253 mg Subst. gaben 11,225 mg CO₂ und 3,51 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₈ O ₅ (418,53)	Ber. C 71,74	H 9,15%
	Gef. „ 71,98	„ 9,23%

Bei einem Versuch, das Lacton chromatographisch zu reinigen, trat offenbar Verseifung auf, denn es blieb fast vollständig am Aluminiumoxyd haften. Dies wurde auch bei anderen Lactonen dieses Typs beobachtet.

3-Keto-12 β -acetoxy-cholen-(4)-säure-methylester (VI).

10 g 3-Keto-12 β -acetoxy-cholansäure-methylester (IV) wurden in 20 cm³ Eisessig gelöst und langsam mit der Lösung von 1,3 cm³ Brom in 10 cm³ Eisessig (entsprechend 0,975 Mol.) versetzt. Es trat fast sofortige Entfärbung ein, und nach kurzer Zeit begann das Reaktionsprodukt auszukrystallisieren. Die Hauptmenge des Eisessigs wurde hierauf im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit Wasser verdünnt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Chloroformlösung wurde stark eingengt und mit Petroläther versetzt, worauf sich bald in reichlicher Menge farblose Blättchen ab-

¹⁾ W. Borsche, F. Hallwass, B. 55, 3324 (1922).

schieden, die nach dem Abnutschen, Waschen mit Äther und Trocknen im Vakuum bei 167—168° schmolzen und 10,1 g wogen. 9,5 g dieses 4-Brom-3-keto-12 β -acetoxy-cholansäure-methylesters wurden mit 30 cm³ absolutem Pyridin 4 Stunden unter Rückfluss gekocht, wobei rasch Dunkelfärbung eintrat. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 7,91 g und stellte ein dunkles Öl dar. Zur Vorreinigung wurde dieses in absolutem Benzol gelöst, über 50 g Aluminiumoxyd filtriert und dieses mehrmals mit Benzol nachgewaschen. Die noch gefärbte Benzollösung wurde durch Kochen mit Tierkohle etwas aufgehellt, stark eingeeengt und mit Petroläther versetzt. Beim Stehen krystallisierten 3,4 g farblose, zu kugeligen Drusen angeordnete Nadeln, die bei 132—134° schmolzen. Einmaliges Umkrystallisieren aus Methanol lieferte Blättchen, die bei 132—134° schmolzen. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +114,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,990$ in Aceton).

10,020 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,13^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,889 mg Subst. gaben 13,130 mg CO₂ und 3,980 mg H₂O

C ₂₇ H ₄₀ O ₅ (444,58)	Ber. C 72,94 H 9,07%
	Gef. „ 73,24 „ 9,11%

Der Ester (VI) ist leicht löslich in Benzol, schwerer in Äther und in Methanol, sehr schwer in Petroläther. Er gibt, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Das in alkoholischer Lösung aufgenommene U.V.-Absorptionsspektrum zeigt ein Maximum bei 240 m μ und $\log \epsilon = 4,08^1$).

3-Keto-12 β -oxy-cholen-(4)-säure (VII).

1,041 g 3-Keto-12 β -acetoxy-cholen-(4)-säure-methylester (VI) wurden mit der Lösung von 0,6 g Kaliumhydroxyd in 1 cm³ Wasser und 10 cm³ Methanol 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von Wasser und Entfernung des Methanols im Vakuum wurde mit Salzsäure versetzt, die ausgefällte Säure abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser gab 0,68 g farbloser Blättchen vom Smp. 230—235°. Die Säure ist in Äther, Benzol, Aceton und Chloroform ziemlich schwer löslich, leicht in Methanol.

Methylester. Eine Probe der Säure wurde in möglichst wenig Methanol gelöst und bei 0° mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur eben bestehenden Gelbfärbung versetzt. Nach Zusatz von mehr Äther wurde mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft.

¹⁾ Wir danken Herrn P.D. Dr. H. Mohler, Zürich, für die Ausführung dieser Messung.

Der im Vakuum getrocknete Rückstand schmolz nach Umkrystallisieren aus Äther sowie aus Benzol-Petroläther bei 150—152°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = + 80,9^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,606$ in Aceton).

6,136 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = + 0,49^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,845 mg Subst. gaben 13,200 mg CO₂ und 4,07 mg H₂O

C₂₅H₃₈O₄ (402,55) Ber. C 74,59 H 9,51%

Gef. „ 74,30 „ 9,40%

3-Keto-choladien-(4,11)-säure (VIII).

2,084 g rohe 3-Keto-12 β -oxy-cholen-(4)-säure (VII) vom Smp. 226 bis 235° wurden, wie bei (X) beschrieben, im Vakuum thermisch zersetzt. Die Aufarbeitung des Destillates gab 610 mg neutrale und 0,89 g saure Anteile. Die Neutralteile wurden nicht weiter untersucht. Die sauren Anteile gaben nach Digerieren und Waschen mit Äther-Petroläther 690 mg fast farblose Krystalle vom Smp. 184 bis 194°. Zur Reinigung wurden sie mit Diazomethan in den Methylester (IX) übergeführt und dieser chromatographisch über 17 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) gereinigt. Die mit Benzol-Petroläther (1 : 1) sowie mit absolutem Benzol erhaltenen Eluate lieferten aus Äther-Pentan 395 mg Blättchen vom Smp. 111 bis 113°. Einmaliges Umkrystallisieren aus Benzol-Methanol gab Blättchen vom Smp. 114—115°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = + 99,7^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,622$ in Aceton).

6,293 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = + 0,62^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,620 mg Subst. gaben 10,385 mg CO₂ und 3,08 mg H₂O

C₂₅H₃₆O₃ (384,53) Ber. C 78,08 H 9,44%

Gef. „ 78,24 „ 9,52%

Der Ester gab, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Freie Säure (VIII). 86 mg Methylester (IX) (vom Smp. 111 bis 113°) wurden 15 Minuten mit der Lösung von 78 mg Kaliumhydroxyd in 0,1 cm³ Wasser und 0,9 cm³ Methanol unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von Wasser und Entfernung des Methanols im Vakuum wurde bei 0° mit Salzsäure angesäuert, die ausfallende Säure in Äther aufgenommen, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeeengt und schliesslich im Vakuum vollkommen eingedampft. Der krystalline Rückstand (84 mg) gab aus Chloroform-Pentan 59 mg Krystalle vom Smp. 202 bis 204°.

3-Keto-11,12-oxydo-cholen-(4)-säure-methylester (XIII).

82 mg 3-Keto-choladien-(4,11)-säure-methylester (IX) vom Smp. 114—115° wurden mit der Lösung von 76 mg Benzopersäure in

1,82 cm³ Chloroform versetzt und 16 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde mit 0,2 g Natriumjodid in 9 cm³ Wasser und 1 cm³ Eisessig versetzt und mit 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert. Es wurde festgestellt, dass 1,8 Mol. Benzopersäure verbraucht waren. Die Mischung wurde mehrmals mit Äther ausgeschüttelt, die vereinigten Ätherauszüge mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingengt und im Vakuum vollkommen eingedampft. Der Rückstand (88 mg) wurde nach der Durchlaufmethode durch eine Säule von 2,7 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch getrennt. Die mit absolutem Benzol erhaltenen Eluate krystallisierten aus Benzol-Pentan in Blättchen vom Smp. 148 bis 155°. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Methylalkohol schmolz die Substanz bei 152—155°. Ausbeute 18 mg. Die vereinigten Mutterlaugen gaben nach Eindampfen 27 mg Rückstand. 43 mg der chromatographierten Substanz waren daher nicht eluierbar.

Die bei 152—155° schmelzenden Krystalle wurden zur Analyse im Hochvakuum bei 85° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = + 91,7^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,4906$ in Aceton).

4,967 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = + 0,45^\circ \pm 0,02^\circ$

3,614 mg Subst. gaben 9,98 mg CO₂ und 2,93 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₆ O ₄ (400,53)	Ber. C 74,96	H 9,06%
	Gef. „ 74,80	„ 9,00%

Die Werte der Verbrennungsanalyse stimmen somit gut auf die Formel C₂₅H₃₆O₄. Immerhin ist in Betracht zu ziehen, dass bei der Oxydation mehr als 1 Mol. Benzopersäure verbraucht wurde und dass fast die Hälfte des Reaktionsproduktes bei der Chromatographie in der Säule haften blieb. Vermutlich wurde bei einem Teil der Substanz zwischen C₃ und C₄ ein Sauerstoffatom eingeschoben. Ein ähnlicher Reaktionsverlauf wurde von *Bösesken* und *Kremer*¹⁾ bei der Einwirkung von Benzopersäure auf Benzalacetone beobachtet, wobei das Enol-acetat des Phenyl-acetaldehyds entstand. Die durch Oxydation von 3-Keto-Verbindungen der Sterinreihe erhältlichen Lactone sind aber im allgemeinen beim Chromatographieren aus der Aluminiumoxydsäule nicht eluierbar.

3-Keto-12 β -oxy-cholen-(4)-säure-methylester (VII) aus
3-Keto-12 β -oxy-cholansäure-methylester (V).

393 mg 3-Keto-12 β -oxy-cholansäure-methylester (V) vom Smp. 144—146° wurden in 1,3 cm³ Eisessig gelöst und unter Kühlung mit der Lösung von 0,045 cm³ Brom in 0,5 cm³ Eisessig versetzt (entsprechend 0,9 Mol. Br₂). Nach halbstündigem Stehen bei 20° wurde mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt und das Reaktions-

¹⁾ J. Bösesken, A. Kremer, R. 50, 827 (1931).

produkt mehrmals mit Äther ausgezogen. Die vereinigten Ätherauszüge wurden mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und der Äther im Vakuum vollkommen abgedampft. Der farblose, amorphe Rückstand wurde zum Trocknen in wenig Benzol gelöst, das Benzol im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit 5 cm³ Pyridin 3 Stunden gekocht. Dann wurde das Pyridin im Vakuum bei 60° Badtemperatur abgedampft und der Rückstand in Äther aufgenommen. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der krystalline Rückstand wog 353 mg und wurde nach der Durchlaufmethode durch eine Säule von 10 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch getrennt. Aus den mit Benzol-Äther (4:1) eluierten Anteilen erhielt man nach Umkrystallisieren aus Äther-Pentan unverändertes Ausgangsmaterial vom Smp. 144—146° zurück. Die Mischprobe mit 3-Keto-12 β -oxy-cholansäure-methylester gab keine Schmelzpunktserniedrigung; die Mischprobe mit 3-Keto-12 β -oxy-cholen-(4)-säure-methylester (VII) schmolz bei 126 bis 140°.

Die mit Aceton-Äther eluierbaren Anteile gaben nach Umkrystallisieren aus Äther-Pentan, dann aus Benzol-Pentan 120 mg flache Nadeln, die bei 148—150° schmolzen. Die Mischprobe mit 3-Keto-12 β -oxy-cholen-(4)-säure-methylester gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. A. Schoeller, Berlin, ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

89. Strukturehemische Untersuchungen VII.

Über das reaktive Verhalten des Thioharnstoffs gegenüber ungesättigten Säuren

von H. Erlenmeyer und F. Heitz.

(3. VI. 42.)

Die zur Synthese von Thiazolderivaten üblichen Reaktionen lassen sich nicht mit allen formal möglichen Reaktionskomponenten im Experiment verwirklichen.

So kann man nach *M. Steude*¹⁾ den Brombrenztraubensäure-ester mit Thioharnstoff wohl zur 2-Amino-thiazol-4-carbonsäure kondensieren, während aber entsprechende Versuche mit Thioacetamid und, wie wir fanden, auch mit Thioformamid zu keinem Ergebnis führen.

¹⁾ A. 261, 26 (1891).