

Rohferment nicht schneller dehydriert, wenn man gleichzeitig reines Coferment zufügt. Daraus ist die Schlussfolgerung zu ziehen, dass eine allfällige Verschiedenheit der die beiden genannten Aminosäuren oxydierenden Fermente nicht darauf beruhen kann, dass sie sich aus derselben prosthetischen Gruppe aber verschiedenen Apofermenten zusammensetzen.

**Tabelle 8.**

Versuchstemperatur: 38°.

Im Hauptaum: 1 cm<sup>3</sup> Rohextrakt aus Schweinenieren,

40 mg Aminosäure in 3,0 cm<sup>3</sup> Phosphatpuffer  $p_H = 8,3$ .

Ev. 10 γ Lactoflavin-adenin-dinucleotid in Wasser,  
ergänzt durch Puffer auf 5,5 cm<sup>3</sup>.

Im Ansatz: 7 Tropfen 40-proz. Kalilauge.

Im Gasraum: Luft.

	O <sub>2</sub> -Aufnahme in mm <sup>3</sup>					
	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	60 Min.	120 Min.
40 mg <i>d,l</i> -Alanin + 40 mg <i>d,l</i> -Asparaginsäure + 10 γ gelbes Ferment . . . . .	3	9	16	21	31	61
40 mg <i>d,l</i> -Alanin + 40 mg <i>d,l</i> -Asparaginsäure + 10 γ gelbes Ferment . . . . .	4	11	17	23	33	66
40 mg <i>d,l</i> -Alanin + 40 mg <i>d,l</i> -Asparaginsäure . . . . .	2	8	16	21	33	73
40 mg <i>d,l</i> -Alanin + 10 γ gelbes Ferment . . . . .	3	11	19	25	38	72
40 mg <i>d,l</i> -Alanin + 10 γ gelbes Ferment . . . . .	2	9	17	22	33	68

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 99. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

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

### 3α,12α-Dioxy-cholansäure (12-*epi*-Desoxycholsäure)

von B. Koechlin und T. Reichstein.

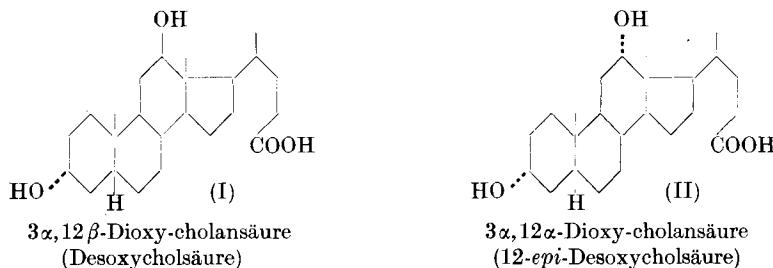
(26. VI. 42.)

S. Kishi<sup>2)</sup> isolierte aus Kaninchengalle eine krystallisierte Säure vom Smp. 156°, die er α-Lago-desoxycholsäure nannte. Sie soll sich von der bekannten Desoxycholsäure, die wir aus den weiter unten zu erwähnenden Gründen als 3α,12β-Dioxy-cholansäure bezeichnen und entsprechend (I) formulieren, nur durch Epimerie in 12-Stellung

<sup>1)</sup> 15. Mitteilung vgl. J. Press, T. Reichstein, Helv. **25**, 878 (1942).

<sup>2)</sup> S. Kishi, Z. physiol. Ch. **238**, 210 (1936).

unterscheiden. Gemäss der hier vorgeschlagenen Nomenklatur wäre die  $\alpha$ -Lago-desoxycholsäure nach den Befunden von *Kishi* somit als  $3\alpha, 12\alpha$ -Dioxy-cholansäure zu bezeichnen und entsprechend (II) zu formulieren.



In Tabelle I sind die spez. Drehungen der zwei Säuren und ihrer Methylester angegeben:

Tabelle I.

Substanz	Smp.	Mol.-Gewicht	Spezifische Drehung	Molekul. Drehung $[M]_D$
Desoxycholsäure <sup>1)</sup> . . .	172°	392,56	$[\alpha]_D^{20} = +57,0^\circ$ (Äthanol)	+ 22300°
$\alpha$ -Lago-desoxycholsäure <sup>2)</sup>	156°	392,56	$[\alpha]_D^{22} = +80,2^\circ$ (90% Äthanol)	+ 31400°
Desoxycholsäure-methylester . . . . .	79°	406,64	$[\alpha]_D^{16} = +54,3^\circ$ (90% Äthanol) <sup>3)</sup>	+ 22100°
$\alpha$ -Lago-desoxycholsäure <sup>2)</sup> methylester . . . . .	107°	406,64	$[\alpha]_D^{18} = +74^\circ$ (90% Äthanol)	+ 30100°

Wie daraus ersichtlich, zeigt sowohl die freie  $\alpha$ -Lago-desoxycholsäure wie ihr Methylester eine um etwa 20° stärkere Rechtsdrehung als Desoxycholsäure und ihr Methylester.

Nun ist aber ein anderes Paar von Epimeren bekannt, die sich nach ihrer Herstellungsart sicherlich nur durch die räumliche Lage der Hydroxylgruppen in 12-Stellung voneinander unterscheiden. Es ist dies der Ätio-desoxycholsäure-methylester (III)<sup>4)</sup> und der 12-*epi*-Ätio-desoxycholsäure-methylester (IV)<sup>5)</sup><sup>6)</sup>. Der erstere (III) ist durch systematischen Abbau von Desoxycholsäure (I) gewonnen

<sup>1)</sup> *H. Wieland, H. Sorge, Z. physiol. Ch.* **97**, 1 (1916).

<sup>2)</sup> *S. Kishi, Z. physiol. Ch.* **238**, 210 (1936).

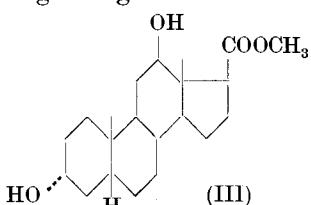
<sup>3)</sup> Dieser Wert wurde von Herrn Dr. *C. W. Shoppee* in unserem Institut bestimmt, um einen genauen Vergleich mit demjenigen von *S. Kishi* zu haben, obgleich Äthanol als Lösungsmittel für Methylester nicht ideal ist.

<sup>4)</sup> *H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc.* **60**, 2824 (1938).

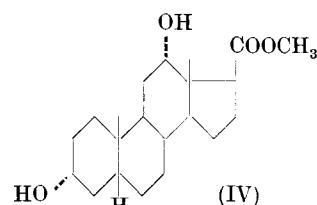
<sup>5)</sup> *M. Steiger, T. Reichstein, Helv.* **21**, 828 (1938).

<sup>6)</sup> *H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc.* **61**, 1614 (1939).

worden, und zwar auf einem Wege, der die Epimerisierung in 12-Stellung weitgehend unwahrscheinlich macht. Man kann daher mit



$3\alpha,12\beta$ -Dioxy-äthio-cholansäure-methylester (Äthio-desoxycholsäure-methylester)



$3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-äthio-cholansäure-methylester (12-*epi*-Äthio-desoxycholsäure-methylester)

grosser Sicherheit annehmen, dass er im räumlichen Bau der Desoxycholsäure durchaus entspricht. Wir erteilen ihm daher die Raumformel (III) und bezeichnen ihn als  $3\alpha,12\beta$ -Dioxy-äthio-cholansäure-methylester. Der isomere  $3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-äthio-cholansäure-methylester (IV) wurde zuerst durch Abbau von Digoxigenin erhalten<sup>1)</sup>; später konnten *Mason* und *Hoehn*<sup>2)</sup> zeigen, dass er sich von (III) lediglich durch die räumliche Lage der Hydroxylgruppe in 12-Stellung unterscheidet. Vergleicht man die spez. Drehungen dieser Ester, so ergibt sich Folgendes (Tabelle II):

Tabelle II.

Substanz	Smp.	Mol.-Gewicht	Spezifische Drehung	Molekul. Drehung $[M]_D$
Äthio-desoxycholsäure-methylester (III) <sup>3)</sup> . .	115° dann 145°	350,5	$[\alpha]_D^{13} = +106,5^\circ \pm 3^\circ$ (Me-thanol <sup>4)</sup>	+ 37300°
12- <i>epi</i> -Äthio-desoxycholsäure-methylester(IV) <sup>1)</sup> <sup>2)</sup>	180°	350,5	$[\alpha]_D^{24} = +38,9^\circ \pm 3^\circ$ (Me-thanol <sup>2)</sup>	+ 13600°

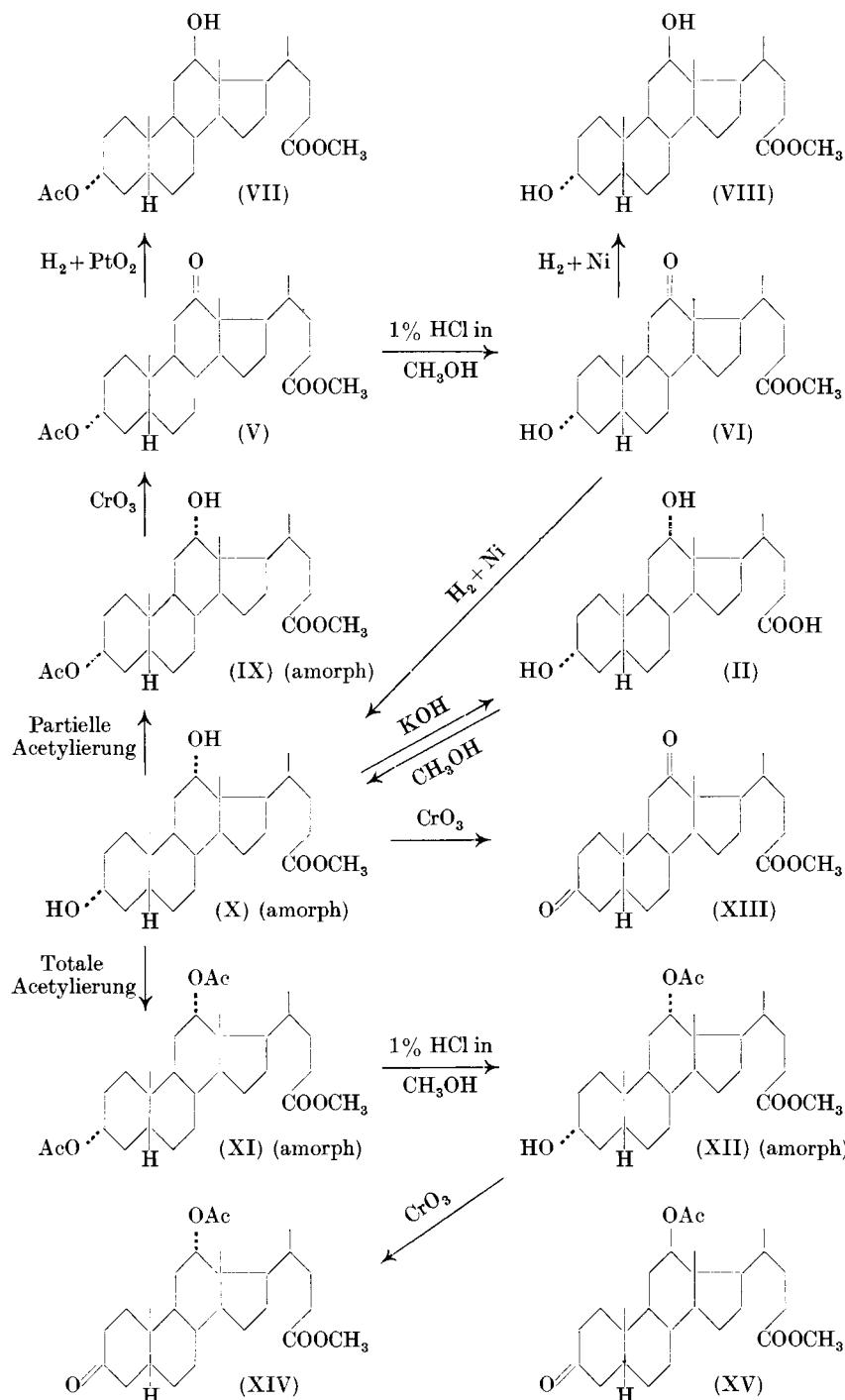
Danach zeigt also der 12-*epi*-Ester (IV) für Natriumlicht eine um etwa  $68^\circ$  niedrigere Drehung als der Ester (III). Das Paar (III) — (IV) verhält sich somit gerade umgekehrt wie das vermeintliche Paar (I) — (II). Dies widerspricht den sonst gebräuchlichen Regeln der optischen Superposition. Falls diese in der Sterinreihe nicht ganz ungültig sind, so war zu vermuten, dass einer der zum Vergleich herbeigezogenen Stoffe nicht die Konstitution besitzt, die ihm bisher zugeschrieben wurde. Da wir die Formeln der Stoffe (III) und (IV) für zuverlässig hielten, glaubten wir, dass noch am ehesten die Formulierung der  $\alpha$ -Lago-desoxycholsäure von *S. Kishi* falsch sein könnte. Dies liess sich durch Teilsynthese der wirklichen 12-*epi*-Desoxy-chol-

<sup>1)</sup> *M. Steiger, T. Reichstein*, Helv. **21**, 828 (1938).

<sup>2)</sup> *H. L. Mason, W. M. Hoehn*, Am. Soc. **61**, 1614 (1939).

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

<sup>4)</sup> Von Herrn Dr. *C. W. Shoppee* im hiesigen Institut bestimmt.



säure (II) bewiesen. Diese Säure konnte relativ leicht durch Hydrierung des  $3\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylesters (VI)<sup>1)</sup> bereitet werden.

Wird die Hydrierung des  $3\alpha$ -Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylesters (V)<sup>2)</sup> in Eisessig mit Platinoxyd durchgeführt, so entsteht fast ausschliesslich der bekannte krystallisierte  $3\alpha$ -Acetoxy- $12\beta$ -oxy-cholansäure-methylester (VII)<sup>2)</sup>, der sich von der gewöhnlichen Desoxycholsäure (I) ableitet. Hydriert man jedoch den  $3\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (VI)<sup>1)</sup> in Methanol mit *Raney*-Nickel, so bildet sich ein Gemisch, das wenig Desoxycholsäure-methylester (VIII) und viel  $12\text{-}epi$ -Ester (X) enthält, das aber für eine Trennung wenig geeignet ist. Vollständige Verseifung dieses Gemisches ergibt ein Gemisch der Säuren (I) und (II), das sich durch fraktionierte Krystallisation trennen lässt. Dabei wird vorwiegend die neue Säure (II) gewonnen.

Die so bereitete  $3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-cholansäure (II) besitzt einen Schmelzpunkt von 186—188 $^{\circ}$  und eine spez. Drehung von  $[\alpha]_D^{17} = +38,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,35$  in Dioxan). Ihr Methylester (X) sowie das Diacetat desselben (XI) krystallisierten bisher nicht. Die spez. Drehungen dieser amorphen Stoffe sind daher nur mit Vorsicht für Vergleiche zu benützen. Die Oxydation des Methylesters (X) mit Chromsäure lieferte, wie erwartet, den bekannten  $3,12$ -Diketo-cholansäure-methylester (XIII), was für die Konstitution beweisend ist. Partielle Verseifung von (XI) mit 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure bei Zimmertemperatur ergab den ebenfalls amorphen  $3\alpha$ -Oxy- $12\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XII). Aus diesem wurde jedoch durch Oxydation der krystallisierte  $3$ -Keto- $12\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XIV) gewonnen. Da der in 12-Stellung epimere  $3$ -Keto- $12\beta$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XV)<sup>2)</sup> ebenfalls gut krystallisiert, so ist damit ein weiteres Stoffpaar der Gallensäurerreihe in reiner Form zugänglich, das sich lediglich durch Epimerie einer Acetoxy-Gruppe in 12-Stellung voneinander unterscheidet und für den Vergleich der spez. Drehungen geeignet ist.

Aus der Zusammenstellung der Schmelzpunkte und spez. Drehungen in Tabelle III ergibt sich folgendes:

1. Die  $\alpha$ -Lago-desoxycholsäure ist von  $3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-cholansäure ( $12\text{-}epi$ -Desoxycholsäure) (II) verschieden. Sie muss eine andere Konstitution besitzen.
2. Die  $12\alpha$ -Oxy-Verbindungen der Gallensäurerreihe zeigen eine um etwa 10—12 $^{\circ}$  negativere Drehung als die  $12\beta$ -Oxy-Verbindungen. Bei den  $12$ -Acetoxy-Verbindungen ist ein noch grösserer Unterschied von etwa 38 $^{\circ}$  in derselben Richtung festzustellen.

<sup>1)</sup> *J. Sawlewicz, T. Reichstein*, Helv. **20**, 992 (1937), vgl. *T. Reichstein, M. Sorkin*, Helv. **25**, 797 (1942).

<sup>2)</sup> *T. Reichstein, M. Sorkin*, Helv. **25**, 797 (1942).

Tabelle III.

Substanz	Smp.	Mol.-Gewicht	Spezifische Drehung	Molekul. Drehung $[M]_D$
3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-cholansäure (II) (12- <i>epi</i> -Desoxycholsäure)	186°	392,56	$[\alpha]_D^{17} = +38,4^\circ \pm 2^\circ$ (Dioxan) <sup>1)</sup>	+15100°
3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-cholansäure (I) (Desoxycholsäure)	176°	392,56	$[\alpha]_D^{19} = +47,7^\circ \pm 2^\circ$ (Dioxan) <sup>2)</sup>	+18700°
$\alpha$ -Lago-desoxycholsäure	156°	392,56	$[\alpha]_D^{22} = +57^\circ$ (Äthanol) <sup>3)</sup> $[\alpha]_D^{22} = +80,2^\circ$ (90% Äthanol) <sup>4)</sup>	+22300° +31500°
3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-cholansäure-methylester (12- <i>epi</i> -Desoxycholsäure-methylester) (X)	amorph	406,6	$[\alpha]_D^{17} = +43,6^\circ \pm 2^\circ$ (Aceton) <sup>1)</sup>	+17700°
3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-cholansäure-methylester (Desoxycholsäure-methylester) (VIII)	80°	406,6	$[\alpha]_D^{19} = +55,8^\circ \pm 1^\circ$ (Aceton) <sup>2)</sup> $[\alpha]_D^{16} = +54,3^\circ \pm 2^\circ$ (90% Äthanol) <sup>5)</sup>	+22700° +22100°
$\alpha$ -Lago-desoxycholsäure-methylester	107°	406,6	$[\alpha]_D^{18} = +74^\circ$ (90% Äthanol) <sup>4)</sup>	+30000°
3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Diacetoxy-cholansäure-methylester (12- <i>epi</i> -Desoxycholsäure-methylester-diacetat) (XI)	amorph	490,7	$[\alpha]_D^{17} = +56,8^\circ \pm 2^\circ$ (Aceton) <sup>1)</sup>	+27900°
3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-cholansäure-methylester (Desoxycholsäure-methylester-diacetat) <sup>6)</sup>	118°	490,7	$[\alpha]_D^{22} = +94,4^\circ \pm 2^\circ$ (Aceton) <sup>1)</sup>	+46300°
3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XIV)	110°	446,6	$[\alpha]_D^{16} = +44,1^\circ \pm 2^\circ$ (Aceton) <sup>1)</sup>	+19700°
3-Keto-12 $\beta$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XV)	120°	446,6	$[\alpha]_D^{17} = +83,0^\circ \pm 1,5^\circ$ (Aceton) <sup>2)</sup>	+37100°

Bei den Ätiosäuren (vgl. weiter oben) dreht die 12 $\beta$ -Oxy-Verbindung ebenfalls stärker positiv als die 12 $\alpha$ -Oxy-Verbindung, jedoch ist

<sup>1)</sup> Vgl. experimenteller Teil dieser Arbeit.

<sup>2)</sup> T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942).

<sup>3)</sup> H. Wieland, H. Sorge, Z. physiol. Ch. **97**, 1 (1916).

<sup>4)</sup> S. Kishi, Z. physiol. Ch. **238**, 210 (1936).

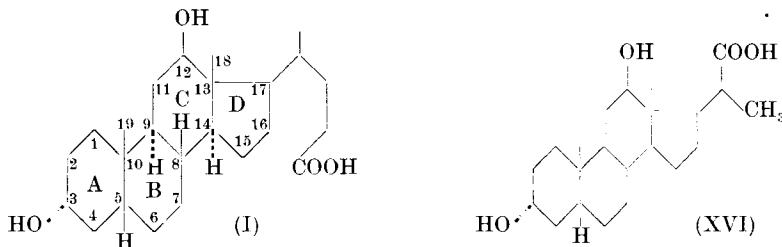
<sup>5)</sup> Dieser Wert wurde von Herrn Dr. C. W. Shoppee in unserem Institut bestimmt.

<sup>6)</sup> H. Wieland, W. Kapitel, Z. physiol. Ch. **212**, 269 (1932).

der Unterschied beträchtlich grösser, was nur zum Teil durch das kleinere Molekulargewicht bedingt ist.

Beim Versuch zur Bereitung weiterer krystallisierter Derivate wurde der amorphe  $3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-cholansäure-methylester (X) noch partiell acetyliert. Der entstehende  $3\alpha$ -Acetoxy- $12\alpha$ -oxy-cholansäure-methylester (IX) liess sich jedoch nicht krystallisieren. Dass er in dem gewonnenen Rohprodukt wirklich enthalten ist, folgt aus der Tatsache, dass dieses bei der Oxydation mit Chromsäure in etwa 50—60 % Ausbeute reinen  $3\alpha$ -Acetoxy- $12$ -keto-cholansäure-methylester (V) lieferte. Dies ist ein zusätzlicher Beweis für die Konstitution der Säure (II). Auch die partielle Acetylierung von (II) lieferte die rohe  $3\alpha$ -Acetoxy- $12\alpha$ -oxy-cholansäure nur in amorpher Form. Schliesslich wurde noch versucht, den Monotosyl-ester von (X) zu bereiten, da das entsprechende Derivat von (VIII)<sup>1)</sup> ausgezeichnet krystallisiert, doch blieb auch hier das entsprechende Produkt amorph. Die von der  $12$ -*epi*-Säure (II) sich ableitenden Derivate zeigen somit ganz allgemein sehr geringe Krystallisationstendenz.

Um den beiden epimeren Reihen eindeutige Raumformeln und Bezeichnungen zu ordnen, wurde die von *G. Giacomello*<sup>2)</sup> für Desoxycholsäure vorgeschlagene Raumformel (I) benutzt, die er durch Auswertung röntgenologischer Messungen an Desoxycholsäure sowie an Choleinsäuren durch *Patterson*-Projektionen und *Fourrier*-Analyse abgeleitet hat und die hier nochmals detailliert wiedergegeben wird.



Die vor der durch das relativ flach gebaute<sup>3)</sup>) 4-Ring-System gebildeten Fläche, die im Mittel als in der Tafel ebene liegend zu denken ist, befindlichen Substituenten sind dabei mit ausgezogenem Valenzstrich, die hinter dem 4-Ring-System liegenden durch einen punktierten Valenzstrich gekennzeichnet. Während der räumliche Bau des 4-Ring-Systems bereits früher, hauptsächlich auf Grund der eingehenden röntgenographischen Messungen von *Bernal*<sup>3)</sup> sowie chemi-

<sup>1)</sup> *J. Barnett, T. Reichstein, Helv.* **21**, 926 (1938).

<sup>2)</sup> *G. Giacomello, G.* **69**, 790 (1939). Vgl. auch *Atti Accad. Lincei, Rend.* [6], **27**, I, 101 (1938) sowie *Pontifícia Acc. Sc.* 1938.

<sup>3)</sup> Lit. vgl. *D. Crowfoot, J. D. Bernal, Chem. Weekbl.* **34**, 19 (1937).

<sup>4)</sup> Siehe Fussnote <sup>1)</sup> S. 925.

scher Methoden<sup>1)</sup> weitgehend aufgeklärt werden konnte<sup>2)</sup>), wird hier über die räumliche Lage der uns interessierenden Gruppen etwas ausgesagt. Nach *Giacomello* befinden sich also die 12-ständigen Hydroxylgruppen, die Methylgruppe Nr. 18 sowie die lange Seitenkette an C<sub>17</sub> auf derselben Seite der Molekel.

Es wäre interessant, das mit physikalischen Methoden erhaltene Ergebnis auf chemischem Wege zu prüfen, was jedoch bei den Säuren (I) und (II) nicht ganz einfach ist.

Als erster Versuch für eine solche Prüfung wurde die Verseifungsgeschwindigkeit der 12-ständigen Acetylgruppe bei den beiden krystallisierten 3-Keto-12-acetoxy-cholansäure-methylestern (XIV) und (XV) verglichen. Ohne Anspruch auf Präzision<sup>3)</sup> liess sich leicht feststellen, dass der Epi-ester (XIV) merklich leichter verseifbar ist als der in 12-Stellung stereoisomere Stoff (XV), der sich von der gewöhnlichen Desoxycholsäure ableitet. Bei letzterem ist also die 12-ständige Acetylgruppe stärker „gehindert“. Schwerer ist hingegen die Deutung dieses Ergebnisses, da es kaum abzuschätzen ist, ob der „abschirmende“ Einfluss der Methylgruppe Nr. 18 oder derjenige der Methingruppe Nr. 17 mit ihrem grossen Substituenten stärker ist. Sicher steht hingegen fest, dass die Länge der Seitenkette am C<sub>17</sub> auf die Verseifungsgeschwindigkeit der 12  $\beta$ -ständigen Acetoxygruppe in Desoxycholsäure und ihren Abkömmlingen von grossem Einfluss ist, da sie bei der entsprechenden Ätiosäure<sup>4)</sup> oder beim 3  $\alpha$ -Oxy-12  $\beta$ -acetoxy-pregnanon-(20)<sup>5)</sup>, deren 12-ständige Acetoxygruppe dieselbe räumliche Lage besitzt, wieder viel leichter verseift wird<sup>4)</sup>. Dieser starke Einfluss der Seitenkette wäre am besten verständlich, wenn sich die 12-ständige Hydroxylgruppe und die Methingruppe Nr. 17 in cis-Stellung zueinander befinden (also OH und Methyl Nr. 18 trans-ständig), immerhin kann er auch mit der Formulierung nach (I) in Einklang gebracht werden, wenn man mit *Giacomello* annimmt, dass auch die lange Seitenkette auf derselben Seite des Ringsystems angeordnet ist. Eine bessere Kontrolle sollte die analoge Bestimmung der Verseifbarkeit der 12-Acetoxygruppe bei einem analogen isomeren Paar ergeben, das in 17-Stellung gar keinen Substituenten trägt, da dann der „abschirmende“ Einfluss der Methylgruppe Nr. 18 am grössten sein sollte, doch ist ein solches Paar bisher noch unbekannt.

<sup>1)</sup> *L. Ruzicka, M. Furter, G. Thomann, Helv.* **16**, 327 (1933); *L. Ruzicka, H. Brünger, E. Eichenberger, J. Meyer, Helv.* **17**, 1407 (1934). Vgl. frühere Lit. daselbst.

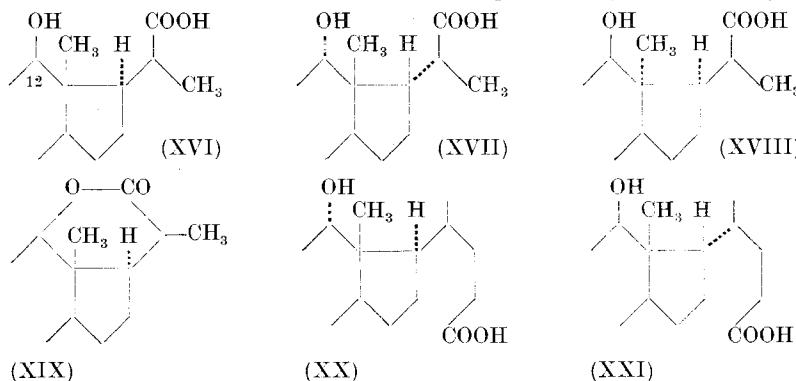
<sup>2)</sup> Die hier besonders interessierende trans-Verknüpfung der Ringe C und D ist inzwischen von *K. Dimroth, H. Jonsson, B.* **74**, 520 (1941) sichergestellt worden.

<sup>3)</sup> Genauere Messungen finden sich in der demnächst erscheinenden Dissertation *H. Gubser, Zürich*.

<sup>4)</sup> Vgl. spätere Mitteilungen.

<sup>5)</sup> *M. Bockmühl, G. Ehrhart, H. Ruschig, W. Aumüller, A. P. 2 142 170; C. 1939, II, 170; T. Reichstein, E. v. Arx, Helv.* **23**, 747 (1940).

Von der Desoxycholsäure weiss man<sup>1)</sup>, dass sie durch starke Erwärmung in ein Lacton übergeführt werden kann, bei dessen Bildung die Carboxylgruppe sich mit der 12-ständigen Oxygruppe unter Bildung eines 8-gliedrigen Ringes lactonisiert. Wegen der Grösse dieses Ringes ist diese Reaktion zur Entscheidung von stereochemischen Fragen ungeeignet. Ein deutlicheres Resultat wäre von einem niederen Homologen, insbesondere von der Bis-nor-desoxycholsäure<sup>2)</sup> (XVI) zu erwarten. Diese Säure besitzt eine  $\delta$ -ständige Hydroxylgruppe und müsste bei der Lactonisierung einen 6-Ring (XIX) liefern, der sich bekanntlich äusserst leicht bildet, wenn die räumliche Lage der reagierenden Gruppen günstig ist. Besonders leicht müsste sich eine Säure lactonisieren, der eine der räumlichen Teilformeln (XVII) oder (XVIII)<sup>3)</sup> zukäme. Aber auch von der Säure (XVI) sollte, wie man sich am Raummodell leicht überzeugen kann, die Bildung eines



Lactons (XIX) relativ leicht möglich sein. Wir prüften nun das Verhalten der Bis-nor-desoxycholsäure und fanden, dass sie weder durch zweistündiges Kochen in Tetralin noch durch Vakuum-Destillation bei 300° ein Lacton liefert. Dies spricht eher dafür, dass sich die Substituenten in 12- und 17-Stellung auf verschiedenen Seiten des Ringes befinden und Desoxycholsäure somit eine der zwei Teilformeln (XX) oder (XXI) besitzt. Da ein solches negatives Ergebnis jedoch nicht geeignet ist, als Grundlage für Raumformeln zu dienen, so soll die oben genannte Nomenklatur unter Zugrundelegung der Resultate von *Giacomello* benutzt werden. Es ist vorgesehen, diesen Punkt weiter abzuklären durch Versuche zur Bereitung der 12-*epi*-Bis-nor-desoxycholsäure. Falls diese sich leicht lactonisiert, so bedarf die Formel (I) einer Revision<sup>4)</sup>. Der verschiedene Verlauf der Hydrierung

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

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

<sup>3)</sup> Formel (XVIII) braucht hier nicht berücksichtigt zu werden, da die Konfiguration an C<sub>13</sub> bzw. die Lage der Methylgruppe Nr. 18 weitgehend gesichert ist.

<sup>4)</sup> Auf Grund von Vergleichen der optischen Aktivität geeigneter Hilfsstoffe lässt sich jetzt schon angeben, dass dann Formel (XXI) die wahrscheinlichste wäre.

des Esters (V) in saurem und neutralem Medium wurde zur Diskussion von Konfigurationsfragen hier absichtlich nicht berücksichtigt, da bei so weitgehend substituierten Ketonen die Anwendung der *Auwers-Skita*'schen Regel, die von *L. Ruzicka*<sup>1)</sup> erfolgreich für Zuordnungen bei der 3-ständigen Hydroxylgruppe benutzt wurde, sich hier nicht auf klare Grundlagen stützen lässt.

### Experimenteller Teil.

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

#### Hydrierung des $3\alpha$ -Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylesters (V) mit Platin in Eisessig.

In einem 50 cm<sup>3</sup> fassenden Hydrierungskolben wurde die Lösung von 910 mg  $3\alpha$ -Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylesters (V)<sup>2)</sup> vom Smp. 154—155° in 7 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig mit 94 mg  $\text{PtO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  bei 16° in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 17 Stunden waren 72,5 cm<sup>3</sup> Gas aufgenommen, und die Hydrierung stand still (ber. für  $\text{PtO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  18,6 cm<sup>3</sup>; für Substanz 47,2 cm<sup>3</sup>; total 65,8 cm<sup>3</sup>). Es wurde filtriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft, der kristalline Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und stark eingeengt. Die beim Stehen ausgeschiedenen Krystalle wurden abgenutscht und mit Äther und Petroläther gewaschen. Die Mutterlauge gab nach Einengen und Zusatz von Petroläther noch weitere Mengen. Total wurden 770 mg Krystalle vom Smp. 124—127° erhalten, die sich nach Mischprobe als  $3\alpha$ -Acetoxy-12 $\beta$ -oxy-cholansäure-methylester (VII)<sup>2)</sup> erwiesen. Die Mutterlauge lieferte noch kleine Mengen etwas niedriger schmelzender Krystalle, doch war es nicht möglich, ein Isomeres darin nachzuweisen.

#### $3\alpha$ , $12\alpha$ -Dioxy-cholansäure (12-*epi*-Desoxycholsäure) (II).

10,25 g  $3\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (VI)<sup>3)</sup> vom Smp. 110—112° wurden in 50 cm<sup>3</sup> reinstem Methanol gelöst, mit dem aus 10 g Nickel-Aluminium-Legierung<sup>4)</sup> bereiteten und mit Wasser und Methanol gewaschenen *Raney*-Nickel<sup>5)</sup> versetzt, das mit weiteren 60 cm<sup>3</sup> Methanol in den Kolben gespült wurde, und bei 16° hydriert. Die anfangs ziemlich rasche Gasaufnahme nahm innerhalb 4—5 Stunden ständig ab und blieb nach Verbrauch von 571 cm<sup>3</sup> (ber. 547 cm<sup>3</sup>) völlig stehen. Es wurde filtriert, mit Methanol nachgewaschen,

<sup>1)</sup> *Helv.* **17**, 1407 (1934).

<sup>2)</sup> *T. Reichstein, M. Sorkin*, *Helv.* **25**, 797 (1942).

<sup>3)</sup> *J. Sawlewicz, T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 992 (1937), vgl. *T. Reichstein, M. Sorkin*, *Helv.* **25**, 797 (1942).

<sup>4)</sup> Dies Material wurde uns von Herrn *M. Raney*, Chattanooga, Tenn., freundlichst zur Verfügung gestellt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

<sup>5)</sup> *L. Covert, H. Adkins*, *Am. Soc.* **54**, 4116 (1932).

das Filtrat auf ein kleines Volumen eingeengt und längere Zeit bei 0° stehen gelassen. Durch Animpfen mit Desoxycholsäure-methylester (VIII) konnte die Bildung von Krystallen angeregt werden, die durch Verdünnen mit etwas mehr Methanol und starke Kühlung möglichst vervollständigt wurde. Die Krystalle wurden abgenutscht und mit Methanol von —80° nachgewaschen. Sie schmolzen bei 80° und erwiesen sich nach Mischprobe als Desoxycholsäure-methylester (VIII). Die Ausbeute war gering.

Die vereinigten Mutterlaugen wurden eingedampft und eine Probe (1 g Syrup) durch 3-stündiges Erhitzen mit 2 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin und 1 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid auf dem siedenden Wasserbad acetyliert. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es verblieb ein Syrup, der nicht krystallisierte und der eine spez. Drehung von:  $[\alpha]_D^{23} = +63,2^\circ \pm 1^\circ$  (c = 3,782 in Aceton) zeigte.

94,6 mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 2$  dm;  $\alpha_D^{23} = +4,78^\circ \pm 0,05^\circ$ .

Desoxycholsäure-methylester-diacetat (Smp. 118°) zeigte in Aceton eine spez. Drehung<sup>1)</sup> von:  $[\alpha]_D^{22} = +94,4^\circ \pm 2^\circ$ , woraus hervorgeht, dass bei der Hydrierung ein Stoff mit geringerer Drehung entstanden ist.

Die Hauptmenge des syrupösen Hydrierungsproduktes (10 g) wurde hierauf mit der Lösung von 5 g Kaliumhydroxyd in 5 cm<sup>3</sup> Wasser und 125 cm<sup>3</sup> Methanol 20 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit Wasser versetzt, das Methanol im Vakuum abgedampft und die wässrige Lösung zur Entfernung eventueller Neutralteile einmal mit Äther ausgeschüttelt. Die alkalisch-wässrige Phase wurde hierauf mit 600 cm<sup>3</sup> frischem Äther überschichtet und unter energischem Schütteln mit 2-n. Salzsäure bis zur deutlich kongo-sauren Reaktion versetzt. Nach Trennung der Schichten wurde die wässrige Phase noch einmal mit Äther ausgeschüttelt, die ätherischen Lösungen zweimal mit je 50 cm<sup>3</sup> Wasser gewaschen, kurz über Natriumsulfat getrocknet, dann abgegossen und zur Krystallisation stehen gelassen. Zur Trennung der beiden Isomeren bewährte sich bisher die fraktionierte Krystallisation aus Äther am besten. Es hängt von Zufällen ab, welche Säure zuerst auskrystallisiert, da die Desoxycholsäure schwerer löslich, aber in kleineren Mengen vorhanden ist als die 12 $\alpha$ -Säure. Sobald reine Proben vorliegen, kann aus der nicht zu stark übersättigten Lösung meist durch Impfen die Abscheidung einer reinen Form erreicht werden. Die Mutterlaugen wurden eingeengt und wenn nötig nochmals geimpft. Eine gewisse Unterscheidung ist bereits durch den Krystallhabitus möglich, da die Krystalle der *epi*-Säure viel größer sind. Zur sicheren Entscheidung

<sup>1)</sup> Von Herrn Dr. J. Press im hiesigen Institut bestimmt.

wurde jede Fraktion durch die Mischprobe geprüft. Gemische sind durch nochmaliges Umkristallisieren möglichst zu zerlegen. Insgesamt wurden 1,6 g reine Desoxycholsäure (I) und 3,5 g reine *epi*-Säure (II) sowie knapp 5 g ungetrenntes Gemisch erhalten. Zur sicheren Charakterisierung der Desoxycholsäure wurde sie mit Diazomethan methyliert und der sofort krystallisiert erhaltene Methylester (Smp. 79°) durch 3-stündiges Erhitzen mit Pyridin und Essigsäure-anhydrid acetyliert. Das krystallisierte Acetat schmolz bei 118° und gab mit authentischem Desoxycholsäure-methylester-diacetat keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die *epi*-Säure (II) wurde aus Aceton umkristallisiert und in farblosen, sechskantigen Prismen erhalten, die bei 186—188° schmolzen. Die Mischprobe mit reinster, bei 176—177° schmelzender Desoxycholsäure schmolz bei 130—170°, gab also eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Die Säure scheint Lösungsmittel bedeutend weniger festzuhalten als Desoxycholsäure und schmilzt daher stets nur einmal ohne merkbare vorherige Umwandlung. Das im Hochvakuum bei 60° getrocknete Produkt zeigt eine spez. Drehung von:  $[\alpha]_D^{17,5} = +38,4^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,350 in Dioxan).

13,493 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $[\alpha]_D^{17,5} = +0,52^\circ \pm 0,02^\circ$ .

Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung nochmals analog nachgetrocknet.

3,942 mg Subst. gaben 10,61 mg CO<sub>2</sub> und 3,61 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub> (392,56) Ber. C 73,42 H 10,27%  
Gef. „ 73,45 „ 10,25%

### Methylester (X).

150 mg 3  $\alpha$ , 12  $\alpha$ -Dioxy-cholansäure (II) wurden in 1 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, auf 0° abgekühlt und mit so viel ätherischer Diazomethanlösung versetzt, dass die Mischung nach 10 Minuten noch deutlich gelb war. Dann wurde mit 30 cm<sup>3</sup> Äther in einen Scheidetrichter gespült, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Ester konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden und stellte ein farbloses Glas dar. Nach Trocknen im Hochvakuum bei 80° betrug die spez. Drehung  $[\alpha]_D^{17,5} = +43,6^\circ \pm 1,5^\circ$  (c = 1,89 in Aceton).

47,3 mg zu 2,5012 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $[\alpha]_D^{17,5} = +0,825^\circ \pm 0,02^\circ$ .

### 3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -Diacetoxy-cholansäure-methylester (XI).

1,4 g des im Vakuum getrockneten amorphen 3  $\alpha$ , 12  $\alpha$ -Dioxycholansäure-methylesters (X) wurden in 3 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, mit 1,5 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss 4 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 90 cm<sup>3</sup> Äther auf-

genommen, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden, auch nicht nach chromatographischer Reinigung. Die spez. Drehung betrug nach Trocknen im Hochvakuum bei 80°:  $[\alpha]_D^{17} = +56,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,495$  in Aceton).

37,4 mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $[\alpha]_D^{17} = +0,85^\circ \pm 0,02^\circ$ .

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,923 mg Subst. gaben 10,19 mg CO<sub>2</sub> und 3,26 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>6</sub> (490,65) Ber. C 70,98 H 9,45%  
Gef. „, 70,89 „, 9,30%

3,12-Diketo-cholansäure-methylester (XIII)<sup>1)</sup> aus (X).

117 mg amorpher 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-cholansäure-methylester (X) wurden in 1 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 2,6 cm<sup>3</sup> 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 52 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Einengen im Vakuum bei 30° Badtemperatur wurde der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene sowie über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde stark eingeengt und mit Petroläther versetzt. Die ausgeschiedenen Krystalle schmolzen nach zweimaligem Umkrystallieren aus Äther-Petroläther bei 133—135° und gaben bei der Mischprobe mit einer authentischen Probe von 3,12-Diketo-cholansäure-methylester keine Schmelzpunktterniedrigung. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{18} = +90,9^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,495$  in Aceton). Die authentische Probe zeigte in Aceton eine spez. Drehung<sup>2)</sup> von:  $[\alpha]_D^{18} = +89,3^\circ \pm 2^\circ$ .

3 $\alpha$ -Oxy-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure und -methylester (XII).

0,96 g des amorphen Diacetats (XI) wurden in 35 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit der Lösung von 0,49 g Kaliumcarbonat in 6 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit etwas Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 0,5 g 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XII) als farbloses Glas.

Die alkalische Lösung wurde hierauf angesäuert und die nebenher entstandene freie 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Die erhaltene rohe Säure wog 350 mg und stellte ein farbloses Harz dar, das bisher nicht krystallisiert werden konnte.

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

<sup>2)</sup> Von Herrn Dr. A. Lardon in unserem Institut bestimmt.

3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XIV).

0,5 g amorpher 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XII) wurden in 2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 5,55 cm<sup>3</sup> 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (1 Mol) versetzt und 26 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Soda-lösung und Wasser gewaschene, sowie über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung lieferte nach Einengen und Zusatz von etwas Petroläther farblose, sechseckige Plättchen vom Smp. 108—111°. Die Mutterlauge gab nach chromatographischer Reinigung noch eine weitere Menge derselben Krystalle. Diese wurden nochmals aus Äther-Petroläther umkristallisiert und schmolzen hierauf bei 109—111°. Die Mischprobe mit dem bekannten bei 122—123° schmelzenden 3-Keto-12 $\beta$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XV)<sup>1)</sup> schmolz bei 88—110°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{16} = +44,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,252 in Aceton).

12,531 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{16} = +0,55^\circ \pm 0,02^\circ$ .

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,055 mg Subst. gaben 10,77 mg CO<sub>2</sub> und 3,45 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub> (446,60) Ber. C 72,60 H 9,48%

Gef. „ 72,48 „ 9,77%

Vergleich der Verseifungsgeschwindigkeit der 12-ständigen Acetoxy-Gruppen bei den isomeren Estern (XIV) und (XV).

Prinzip. 3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XIV) und 3-Keto-12 $\beta$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XV) wurden nebeneinander unter genau gleichen Bedingungen mit überschüssiger methylalkoholischer Kalilauge verseift. Dann wurde mit Säure zurücktitriert. Um Fehlschlüsse zu vermeiden, mussten Bedingungen gewählt werden, unter denen die viel leichter verseifbare Methylester-Gruppe in jedem Falle ganz, die 12-ständige Acetoxyl-Gruppe jeweils aber nur teilweise abgespaltet wird, also solche, unter denen pro Mol Substanz zwischen 1 und 2 Mol Alkali verbraucht werden. Durch Vorversuche liess sich feststellen, dass diese Voraussetzung bei 15 bis 90 Minuten langem Kochen der beiden Substanzen mit einem etwa 10-fachen Überschuss einer ca. 0,5-n. Kaliumhydroxyd-Lösung in Methanol erfüllt wird.

Ausführung. Die Lauge wurde bereitet durch Lösen von 3 g festem Kaliumhydroxyd in 2 cm<sup>3</sup> Wasser und 98 cm<sup>3</sup> Methanol. Pro 20—30 mg Substanz, die sich in einem Jenaer Rundkolben mit aufgeschliffenem Rückflusskühler befanden, wurden 0,8—1 g dieser

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

Lauge (auf  $\pm 1$  mg genau) eingewogen, was einem grossen Überschuss (ca. 10 Mol) entspricht, und nach Aufsetzen des Rückflusskühlers und Natronkalkverschlusses die angegebene Zeit gekocht. Dann wurde rasch abgekühlt und nach Zusatz von Phenolphthalein mit 0,1-n. Salzsäure zurücktitriert. Als Vergleich diente eine zu gleicher Zeit eingewogene und genau gleich vorbehandelte Menge derselben Lauge, da deren Titer sich beim Stehen ziemlich rasch ändert. Die Tabelle IV zeigt die Resultate nach Kochdauern von 15, 55 und 85 Minuten.

Tabelle IV.

Substanz	Einwage		Kochzeit in Min.	KOH-Verbrauch		Von 12-ständig. Acetoxygruppe verseift
	in mg	in Mol $\times 10^{-4}$		Mol $\times 10^{-4}$	Mol KOH pro Mol Substanz	
$\beta$ -Verb. (XV)	30,7	0,69	15	0,90	1,30	0,30 Mol
$\alpha$ -Verb. (XIV)	21,0	0,47	15	0,85	1,77	0,77 Mol
$\beta$ -Verb. (XV)	30,7	0,69	55	0,94	1,36	0,36 Mol
$\alpha$ -Verb. (XIV)	23,1	0,52	55	0,95	1,83	0,83 Mol
$\beta$ -Verb. (XV)	30,0	0,67	85	0,97	1,49	0,49 Mol
$\alpha$ -Verb. (XIV)	23,5	0,52	85	0,98	1,87	0,87 Mol

Die letzte Kolonne zeigt, dass die Verseifung der Acetoxygruppe bei der  $12\alpha$ -Verbindung viel schneller verläuft.

### $3\alpha$ -Acetoxy- $12\alpha$ -oxy-cholansäure-methylester (IX).

800 mg im Vakuum getrockneter  $3\alpha,12\alpha$ -Dioxy-cholansäure-methylester (X) wurden in 2 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol gelöst und unter Feuchtigkeitsausschluss unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Dann wurde durch den Kühler innerhalb  $\frac{1}{2}$  Stunde die Lösung von 256 mg Essigsäure-anhydrid in 1 cm<sup>3</sup> Benzol zugetropft und zum Schluss noch weitere 2 Stunden gekocht. Dann wurde im Vakuum vollständig eingedampft. Der Rückstand (880 mg) konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden.

### $3\alpha$ -Acetoxy- $12$ -keto-cholansäure-methylester (V) aus (IX).

880 mg des amorphen  $3\alpha$ -Acetoxy- $12\alpha$ -oxy-cholansäure-methylesters (IX) wurden in 4 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 6,86 cm<sup>3</sup> 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 1 Mol CrO<sub>3</sub>) versetzt und 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, worauf noch freies Chromtrioxyd nachweisbar war. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung

wurde eingeengt und mit Petroläther versetzt, worauf bald Krystallisation eintrat. Da das Produkt nicht scharf schmolz, wurde die ganze Menge (inkl. Mutterlaugen) über 27,5 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Aus den mit Benzol- Petroläther-Gemischen (1:9)—(1:3) eluierbaren Anteilen wurden 500 mg Krystalle erhalten, die bei 152—154° schmolzen und sich nach Mischprobe als 3  $\alpha$ -Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylester (V) erwiesen. Die mit absolutem Benzol und Benzol-Äther-Gemischen eluierbaren Anteile lieferten beim Umkristallisieren aus Äther-Petroläther 150 mg Krystalle vom Smp. 133—135°, die nach Mischprobe mit 3,12-Diketo-cholansäure-methylester identisch waren. Das Rohprodukt (IX) enthielt somit noch etwas 3  $\alpha$ ,12  $\alpha$ -Dioxy-cholansäure-methylester (X).

#### Partielle Acetylierung der 12-*epi*-Desoxycholsäure.

315 mg 12-*epi*-Desoxycholsäure (II) vom Smp. 186—188° wurden in einem Schliffkölbchen in 3 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst und auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wurde unter Feuchtigkeitsausschluss durch den aufgesetzten Rückflusskühler innerhalb 1 Stunde eine Lösung von 0,091 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid (1,2 Mol) in 20 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig zugetropft und anschliessend weitere 1,5 Stunden erhitzt. Da sich das Reaktionsprodukt aus der stark eingeengten, mit Wasser bis zur Trübung angespritzten Eisessiglösung nicht krystallin abschied, wurde der Eisessig vollständig abgesaugt, der Rückstand in Äther aufgenommen, die Ätherlösung intensiv mit Wasser gewaschen, getrocknet, filtriert, stark eingeengt, mit Petroläther versetzt und bei 0° stehen gelassen, wobei nach einiger Zeit Krystallisation einsetzte. Die nach 2 Tagen abgenutzten Krystalle wurden aus Aceton-Äther umkristallisiert. Sie wogen 130 mg und erwiesen sich als unveränderte 12-*epi*-Desoxycholsäure. Das in der Mutterlauge befindliche Acetat konnte nicht krystallisiert werden.

#### Toluolsulfoester des 12-*epi*-Desoxycholsäure-methylesters.

312 mg amorpher, scharf getrockneter 12-*epi*-Desoxycholsäure-methylester (X) wurden in 0,4 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst, auf 0° abgekühlt und mit einer Lösung von 155 mg reinem p-Toluolsulfochlorid in 0,3 cm<sup>3</sup> Pyridin von Zimmertemperatur versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 20 Stunden wurde bei 0° mit 0,1 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und weiter  $\frac{3}{4}$  Stunden verschlossen stehen gelassen. Dann wurde viel Wasser zugegeben, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und mit Petroläther versetzt. Auch nach langem Stehen bei 0° konnten keine Krystalle erhalten werden.

3-Keto-12 $\alpha$ -oxy-cholansäure und 3-Keto-12 $\alpha$ -oxy-cholansäure-methylester.

170 mg 3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (XIV) vom Smp. 109—111° wurden mit 4 cm<sup>3</sup> 10-proz. methanolischer Kalilauge durch 4½-stündiges Kochen unter Rückfluss auf dem Wasserbad verseift. Die hierauf wie üblich isolierte Säure stellte ein farbloses Harz dar und konnte bisher nicht krystallisiert werden. Eine Probe wurde mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Auch der Methylester liess sich nicht krystallisiert gewinnen.

Lactonisierungsversuche mit Bis-nor-desoxycholsäure (XVI).

1. Durch Kochen in Tetralin. 500 mg Bis-nor-desoxycholsäure (XVI)<sup>1)</sup> vom Smp. 195—200<sup>0</sup><sup>1)</sup> wurden mit 30 cm<sup>3</sup> frisch über Natrium destilliertem Tetralin 2 Stunden unter Rückfluss gekocht (Ölbad 220°). Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in Äther gelöst und so oft mit verdünnter Sodalösung ausgeschüttelt, bis diese beim Ansäuern keine Fällung mehr gab. Die hierauf mit Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess einen sehr geringen neutralen Rückstand, der im Hochvakuum destilliert wurde. Es ging nur eine sehr geringe Menge amorpher Substanz über, aus der sich kein definiertes Produkt isolieren liess. Die angesäuerten Sodaauszüge lieferten 486 mg Bis-nor-desoxycholsäure zurück, entsprechend 97% der angewandten Menge, woraus hervorgeht, dass eine Lactonisierung nicht eingetreten ist.

2. Durch Vakuumdestillation. 206 mg Bis-nor-desoxycholsäure wurden in einem kleinen Wurstkolben im Vakuum bei 11 mm erhitzt, wobei durch die Kapillare Kohlendioxyd geleitet wurde. Erst bei einer Metallbadtemperatur von 300° machte sich Sublimation bemerkbar. Es wurde 2 Stunden auf dieser Temperatur gehalten und das Bad zum Schluss noch auf 340° aufgeheizt. Das teilweise krystalline Destillat wurde in Äther gelöst und durch häufiges Ausschütteln mit verdünnter Sodalösung in neutrale und saure Bestandteile zerlegt.

Die Neutralteile wogen 80 mg und waren bis auf wenige Flocken in Petroläther löslich. Da sie nicht krystallisierten, wurde über eine Säule von 2,4 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Die Hauptmenge (54 mg) liess sich bereits mit reinem Petroläther eluieren. Diese Anteile rochen naphtalinartig und krystallisierten nicht. Möglicherweise handelt es sich um ein sauerstofffreies Decarboxylierungsprodukt. Anschliessend liess sich mit absolutem

<sup>1)</sup> W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. **60**, 1493 (1938), geben einen Schmelzpunkt von 195—202°, dann Wiedererstarren und erneutes Schmelzen bei 236—238° an. J. Sawlewicz, Roczniki Chemii, **18**, 755 (1938) gibt einen Smp. von 236—238°, nach Schäumen bei 195—205°.

Benzol noch etwas Material eluieren, das aus Äther-Petroläther krystallisierte. Die Krystalle schmolzen bei 150—175°, wogen aber nur 4 mg, sodass eine Untersuchung nicht möglich war.

Die aus den Sodaauszügen erhaltenen sauren Anteile (84 mg) krystallisierten aus Äther teilweise, schmolzen aber unscharf bei 220—254°. Eine Spitzenfraktion von 260—265° (16 mg) wurde für sich abgetrennt. Der Rest wurde mit analogen Säuren aus einem weiteren, unten erwähnten, bei 0,1 mm und 250—290° durchgeföhrten Sublimationsversuch vereinigt (zusammen 160 mg), mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und das Gemisch der Methylester (157 mg) über eine Säule von 4,5 g Aluminiumoxyd chromatographisch nach der Durchlaufmethode getrennt. Mit Petroläther-Benzol-Gemischen von 5—15 % Benzolgehalt liessen sich 37 mg Ester eluieren, die nicht krystallisierten. Bei 25—50 % Benzolgehalt wurden 29 mg Ester abgelöst, der in Petroläther leicht löslich war und aus Methanol Krystalle vom Smp. 105—110° lieferte. Derselbe Ester (Mischprobe) liess sich aus der bei 260—265° schmelzenden Säure erhalten. Reines Benzol sowie Benzol-Äther eluieren dann noch 35 mg Ester, der sich aus Äther-Petroläther umkrystallisieren liess und nach Sublimation im Hochvakuum bei 161—163° schmolz (Ausbeute 10 mg). Anschliessend konnten mit Äther sowie mit Chloroform-Methanol-Gemischen noch 28 mg Substanz abgelöst werden, die nicht krystallisierten.

Der bei 161—163° schmelzende Ester wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,692 mg Subst. gaben 10,351 mg CO<sub>2</sub> und 3,335 mg H<sub>2</sub>O  
C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> (360,52) Ber. C 76,62 H 10,06%  
Gef. „ 76,51 „ 10,11%

Es handelt sich somit um einen Mono-anhydro-bis-nor-desoxy-cholsäure-methylester. Der leichter eluierbare, bei 105—110° schmelzende Ester könnte das Bis-anhydro-Produkt darstellen.

Bei einem zweiten Versuch wurden 206 mg Bis-nor-desoxy-cholsäure (XVI) im Hochvakuum bei 0,1 mm zunächst 3½ Stunden auf 250—260° (Badtemperatur) und nach Herauslösen des Sublates weitere 4 Stunden auf 270—290° erhitzt. Beide Teile wurden für sich aufgearbeitet. Das bis 260° erhaltene Sublimate gab nur 11 mg Neutralteile. Das zweite lieferte 20 mg solcher, doch konnten aus beiden nur Spuren von Krystallen erhalten werden. Die Hauptmenge beider Sublimate bestand aus Säuren, die wie oben beschrieben aufgearbeitet wurden.

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