

88. Über Steroide und Sexualhormone.

(97. Mitteilung¹⁾).

Über Beziehungen zwischen Konstitution und optischer Drehung in der Cholsäure-Reihe

von Pl. A. Plattner und H. Heusser.

(29. III. 44.)

*Bernstein, Kauzmann und Wallis*²⁾ haben vor einiger Zeit an Hand vieler Beispiele darauf hingewiesen, dass unter bestimmten Voraussetzungen die spezifischen bzw. molaren Drehungen von Sterin-Derivaten in Beiträge einzelner Molekelbezirke aufgeteilt werden können. Aus den molaren Drehungen geeigneter Steroide lassen sich danach annähernd konstante Drehungs-Inkrementen ableiten, mit deren Hilfe, ausgehend von dem als Grundsubstanz gewählten Cholestan, die molaren Drehungen vieler Steroide durch einfache Addition errechnet werden können. Das Interesse, das ein solches Vorgehen für die Lösung vieler konstitutiver Probleme auf dem Sterin-Gebiet besitzt, liegt wohl auf der Hand. Leider stehen aber der praktischen Anwendung und der experimentellen Überprüfung der Gedankengänge der genannten Autoren vorläufig noch sehr viele Schwierigkeiten im Wege.

So sind einerseits die spez. Drehungen einer grossen Anzahl, sogar leicht zugänglicher, Steroide unbekannt, während andererseits viele der in der Literatur angegebenen Drehungswerte sich nicht in das angegebene Schema einfügen wollen. Es ist vorläufig schwierig, für die Gründe dieser Abweichungen eine Erklärung zu geben³⁾, und es wird noch eine Fülle experimenteller und kritisch sichtender Kleinarbeit notwendig sein, bevor der Gültigkeitsbereich derartiger Berechnungen in der Sterin-Reihe genauer abgegrenzt werden kann. Man hat sich deshalb auch in neuerer Zeit noch meist mit mehr qualitativen Vergleichen, wie sie auch schon vor den Publikationen von *Bernstein, Kauzmann und Wallis* durchgeführt wurden, begnügt.

Vor allem ist es heute noch schwierig, abzuschätzen, welche Genauigkeit der Übereinstimmung zwischen den berechneten und den experimentell gefundenen Werten der molaren Drehungen verlangt werden darf, da die Additivität der einzelnen Drehungsbeiträge schon aus theoretischen Gründen nur in erster Annäherung gültig sein kann und die mannigfachen Einflüsse von Konzentration, Temperatur usw. vernachlässigt werden.

¹⁾ 96. Mitt., *Helv.* **27**, 727 (1944).

²⁾ *S. Bernstein, W. J. Kauzmann, und E. S. Wallis*, *J. Org. Chem.* **6**, 319 (1941); *S. Bernstein, E. J. Wilson jr. und E. S. Wallis*, *J. Org. Chem.* **7**, 103 (1942).

³⁾ Vgl. dazu *S. Bernstein, W. J. Kauzmann und E. S. Wallis*, *J. Org. Chem.* **6**, 329 (1941).

Ein Weg, die erwähnten Probleme weiter abzuklären, besteht nun darin, vorerst die Verhältnisse bei einzelnen, leichter zugänglichen Verbindungen genauer zu untersuchen. Es wird dann eine zweite Aufgabe sein, festzustellen, ob die dabei gewonnenen Erfahrungen auf andere ähnlich gebaute Verbindungen übertragen werden können.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen in der Cholsäure-Reihe haben wir deshalb der Bestimmung der spez. Drehungen der hergestellten Derivate unsere besondere Aufmerksamkeit zugewandt.

Die spez. Drehungen wurden dabei mit den bei organisch-chemischen Arbeiten üblichen Hilfsmitteln gemessen. Fast alle Bestimmungen wurden mehrfach, teilweise mit verschiedenen gereinigten Präparaten durchgeführt¹⁾. Die einzelnen Messungen zeigten bei den vorliegenden Verbindungen erfahrungsgemäss Abweichungen von maximal 5%. In dieser Grössenordnung dürften wahrscheinlich auch die Unsicherheiten liegen, die sich naturgemäss aus dem Vergleich von bei verschiedenen Temperaturen und verschiedenen Konzentrationen gemachten Messungen ergeben. Solange nicht gleichzeitig systematische Untersuchungen über diese letztgenannten Faktoren beabsichtigt sind, scheint deshalb eine Verfeinerung der Messtechnik unnötig zu sein.

Einfluss des Lösungsmittels.

Um den Einfluss des Lösungsmittels auf die spez. Drehungen nach Möglichkeit auszuschalten, schlagen *Bernstein* und Mitarbeiter vor, alle Bestimmungen in demselben Lösungsmittel — und zwar in Chloroform — durchzuführen. Wir haben in unserem Institut für neu zu bestimmende spez. Drehungen diesen Grundsatz so weit als immer möglich befolgt. Da jedoch einige der hier untersuchten Verbindungen, insbesondere die freien Säuren, in Chloroform für eine genauere Bestimmung der spez. Drehung zu wenig löslich sind und anderseits die meisten in der Literatur bekannten Drehungen der Cholsäure-Reihe in Alkohol bestimmt wurden, so haben wir eine Anzahl Verbindungen sowohl in Chloroform als auch in Alkohol gemessen. Es zeigte sich dabei, dass die spez. Drehungen in Alkohol durchwegs um $4-10^\circ$ höher lagen als in Chloroform. Da aber bestimmte konstitutive Einflüsse hier vorläufig nicht ersichtlich sind, verzichten wir auf eine Zusammenstellung der einschlägigen Messungen und verweisen nur auf die Angaben im experimentellen Teil.

Drehungsverschiebungen bei Änderungen in der Seitenkette.


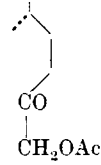
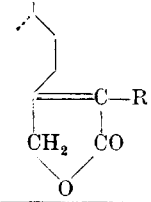
Schon *Bernstein* und Mitarbeiter haben darauf hingewiesen, dass Änderungen an der Seitenkette von Sterinen keinen grossen Einfluss auf die spez. Drehung haben dürften. Dieser Einfluss müsste besonders dann äusserst gering sein, wenn solche Abwandlungen in einiger Entfernung vom asymmetrischen C-Atom 20 vorgenommen werden, und wenn dabei kein neues Asymmetrie-Zentrum entsteht.

¹⁾ Im exp. Teil sind meist nur die zuverlässigsten, mittleren Werte angegeben.

Die in Chloroform bestimmten molaren Drehungen¹⁾ einer Anzahl entsprechender Verbindungen sind in Tabelle A zusammengestellt. Es zeigt sich, dass tatsächlich die meisten dieser Verbindungen recht ähnliche molare Drehungen besitzen.

Tabelle A²⁾.

Molare Drehungen einiger Sterin-Derivate mit identischem Kern (Chloroform).

Kern				
1	3 α ,7 α ,12 β -Trioxy-ätio-cholanyl-(17)–	+115°		+103° R = H ³⁾
2	3 α -Oxy-7 α ,12 β -diacet-oxy-ätio-cholanyl-(17)–	+322°		+334° R = H ³⁾
3	3 α ,7 α ,12 β -Triacetox-ätio-cholanyl-(17)–	+421°	+455° ³⁾	+424° R = H ³⁾
4	3 α ,7 α ,12 β -Triformoxy-ätio-cholanyl-(17)–	+435°	+425° ³⁾	+399° R = H ³⁾
5	Δ^5 -3 β -Oxy-ätio-cholanyl-(17)–	–164°		–175° R = H ⁴⁾ –187° R = CH ₃ ⁵⁾
6	Δ^5 -3 β -Acetox-ätio-cholanyl-(17)–	–192°	–213° ⁴⁾	–184° R = H ⁴⁾ –195° R = CH ₃ ⁵⁾

Den Verbindungen der Zeile 4 schließt sich auch das 3 α ,7 α ,12 β -Triformoxy-24-keto-25-diazo-25-homocholan³⁾ [M]_D = +447°, denjenigen der Zeile 5 das Cholesterin [M]_D = –143°⁶⁾ und denen der Zeile 6 das Cholesterin-acetat [M]_D = –182°⁶⁾ und das Δ^5 -3 β -Acetox-24-keto-25-diazo-25-homocholan⁴⁾ [M]_D = –230° an.

Drehungsverschiebungen bei der Acetylierung von Cholsäure-methylester.

Eine der wichtigsten Tatsachen, die bei der Berechnung der molaren Drehungen von Sterinen nach dem Verfahren von *Bernstein* und Mitarbeitern berücksichtigt werden muss, ist die Erscheinung,

$$^1) [M]_D = \frac{[\alpha]_D \cdot M}{100} ; \text{vgl. dazu } H. \text{ Landolt, Das optische Drehungsvermögen, Braun-schweig 1898, 2. Aufl., S. 6.}$$

²⁾ Die nicht näher bezeichneten Drehungen sind dem experimentellen Teil dieser Arbeit entnommen.

³⁾ *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. 27, 186 (1944).*

⁴⁾ *L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. 25, 435 (1942).*

⁵⁾ Über die Herstellung dieser Verbindung vgl. eine spätere Mitteilung.

⁶⁾ *H. Wieland, F. Rath und W. Benend, A. 548, 27 (1941).*

dass in manchen Fällen die einzelnen Asymmetrie-Zentren sich gegenseitig sehr stark beeinflussen. Besonders hervorgehoben wird von diesen Autoren die Einwirkung, welche die Zentren C3 und C5 aufeinander ausüben. Für eine Weiterentwicklung des Verfahrens muss also festgestellt werden, inwieweit solche Einflüsse auch in anderen Molekelbezirken bestehen.

Tabelle B¹⁾.

Molare Drehungen acetylierter Cholsäure-methylester.

	[M] _D		Diff. gegen Cholsäure-methylester	
	Alkohol	Chloroform	Alkohol	Chloroform
Cholsäure-methylester .	+154°	+115°	—	—
3α-Acetyl-	+245°	+221°	+91°	+106°
3α, 7α-Diacetyl-	+179°	+157°	+25°	+42°
7α, 12β-Diacetyl-	+364°	+322°	+210°	+207°
3α, 7α, 12β-Triacetyl- .	+448°	+421°	+294°	+306°

Aus dem Verhalten des Cholsäure-methylesters bei der teilweisen bzw. vollständigen Acetylierung kann nun der Schluss gezogen werden, dass die Drehungsbeiträge der Asymmetrie-Zentren an C3, C7 und C12 voneinander weitgehend unabhängig sind. Aus den Zahlen der Tab. B errechnen sich für die Acetylierung der einzelnen Oxy-Gruppen folgende molare Inkremente in Alkohol bzw. Chloroform als Lösungsmittel.

Acetylierung an: C3 = +91° bzw. +106°; C7 (25°–91°) = –66° bzw. (42°–106°) = –64°; C12 (210°+66°) = +276° bzw. (207°+64°) = +271°.

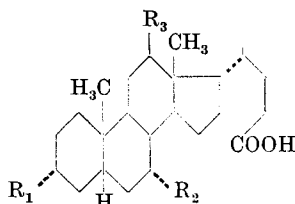
Die Summen (+301° bzw. +313°) dieser Inkremente stimmen gut mit den bei der vollständigen Acetylierung von Cholsäure beobachteten Differenzen (+294° bzw. +306°) überein.

Während die für die Acetylierung an C7 und C12 in Alkohol bzw. Chloroform gefundenen Inkremente gut übereinstimmen, finden wir für C3 in den beiden Lösungsmitteln etwas abweichende Werte, was vielleicht auf eine spez. Beeinflussung der 3-Oxy-Gruppe durch dieselben hinweist.

Betrachtet man übrigens die gleichen Verschiebungen nicht bei den Methylestern, sondern bei den freien, partiell acetylierten Säuren, so erhält man stark abweichende Zahlen. Diese Tatsache zeigt, dass bei solchen Betrachtungen mit manchen a priori nicht voraussehbaren Einflüssen gerechnet werden muss.

¹⁾ Die Drehungswerte sind dem experimentellen Teil dieser Arbeit entnommen.

Drehungsverschiebungen bei der Einführung von Oxy-Gruppen in Stellung 7α , 7β und 12β der Lithocholsäure.



Lithocholsäure	$R_1 = OH$	$R_3 = R_2 = H$
Cheno-desoxy-cholsäure . . .	$R_1 = R_2 = OH$	$R_3 = H$
Desoxy-cholsäure	$R_1 = R_3 = OH$	$R_2 = H$
Cholsäure	$R_1 = R_2 = R_3 = OH$	

Tabelle C.

		$[\alpha]_D$	$[M]_D$	Diff. gegen Lithochol- säure
1	Lithocholsäure (3α -Oxy-cholansäure)	+ 32,1 ⁰¹)	+ 121 ⁰	—
2	Cheno-desoxy-cholsäure (3α , 7α -Dioxy-cholans.)	+ 12,5 ⁰²)	+ 49 ⁰	- 72 ⁰
3	Urso-desoxy-cholsäure . . (3α , 7β -Dioxy-cholans.)	+ 57,0 ⁰³)	+ 224 ⁰	+ 103 ⁰
4	Desoxy-cholsäure (3α , 12β -Dioxy-cholans.)	+ 57,0 ⁰⁴)	+ 224 ⁰	+ 103 ⁰
5	Cholsäure (3α , 7α , 12β -Trioxy-cho- lansäure)	+ 36,9 ⁰⁵)	+ 149 ⁰	+ 28 ⁰

Alle Drehungen in Alkohol.

Die relative Unabhängigkeit der Asymmetrie-Zentren in Stellung 7 und 12 des Sterin-Gerüsts voneinander zeigt sich auch, wenn man die bei der Einführung von Oxy-Gruppen in die Lithocholsäure auftretenden Drehungsverschiebungen betrachtet.

Aus Tabelle C, Zeile 2 und 4, errechnet man für den Übergang Lithocholsäure zu Cholsäure eine molare Verschiebung von + 31⁰, während experimentell (Zeile 5) eine solche von + 28⁰ festgestellt wird.

Die totale Verschiebung beim Übergang von der 7α - zur 7β -Oxy-Verbindung (+ 175⁰), wie sie hier in Alkohol gefunden wurde, stimmt übrigens dem absoluten Betrag nach gut mit dem in der Cholestan-Reihe von Wintersteiner⁶⁾ (in Chloroform) für den

¹⁾ H. Fischer, Z. physiol. Ch. **73**, 235 (1911).

²⁾ Vgl. den experimentellen Teil dieser Arbeit.

³⁾ Takeshi Iwasaki, Z. physiol. Ch. **244**, 181 (1936).

⁴⁾ H. Wieland und H. Sorge, Z. physiol. Ch. **97**, 16 (1916).

⁵⁾ Vgl. S. Miyazi und T. Kumura, J. Biochem. **26**, 337; nach C. **1939** II, 224C.

⁶⁾ O. Wintersteiner und M. Moore, Am. Soc. **65**, 1503 (1943).

Übergang 3 β ,7,, α “-Dioxy-cholestan ($[\text{M}]_{\text{D}} + 214^{\circ}$) zu 3 β ,7,, β “-Dioxy-cholestan ($[\text{M}]_{\text{D}} = +33^{\circ}$) beobachteten Wert (-181°) überein. Die Bezeichnungen 7 α bzw. 7 β stimmen demnach offenbar in der Cholestan- bzw. Cholsäure-Reihe nicht miteinander überein. In der Cholsäure-Reihe steht die sterische Lage der 7-Oxy-Gruppe in der Cheno- bzw. Urso-desoxy-cholsäure fest, und die verwendeten Bezeichnungen befinden sich hier in Übereinstimmung mit dem Vorschlag, dass in der üblichen Schreibweise des Sterin-Skelettes die mit α indizierten Gruppen unter, die mit β indizierten über der Projektionsebene stehen sollen.

In Zusammenhang mit dieser Untersuchung wurden verschiedene neue Derivate der Cholsäure hergestellt und die bereits früher von *Sin'iti Kawai*¹⁾ vorgenommene Überführung von Cholsäure in Cheno-desoxy-cholsäure auf einem etwas abgeänderten Wege, der eine Berührung der 7-Oxy-Gruppe vermeidet, durchgeführt. Die sterische Übereinstimmung der 7-Oxy-Gruppe in den beiden genannten Verbindungen²⁾ steht demnach zweifelsfrei fest.

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

Experimenteller Teil³⁾.

Triacetyl-cholsäure-methylester⁴⁾.

10,0 g Cholsäure-methylester⁵⁾, 10 cm³ Pyridin und 100 cm³ Acetanhydrid wurden bei 165° 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen zur Trockene im Vakuum wurde der Rückstand in Benzol aufgenommen und durch 20 g Aluminiumoxyd filtriert. Nach dem Nachspülen mit Äther und Abdampfen der Lösungsmittel wurde der Triacetyl-cholsäure-methylester aus Aceton-Hexan umkrystallisiert. Ausbeute 9,2 g. Smp. 89—90°. Zur Analyse und Bestimmung der spez. Drehung wurde noch dreimal aus Aceton-Hexan bis zum konstanten Schmelzpunkt von 90,5—91° umkrystallisiert und dann 24 Stunden im Hochvakuum bei 50° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{14} = +81,8^{\circ}; [\text{M}]_{\text{D}}^{14} = +448^{\circ 6)} \quad (c = 1,063 \text{ in Feinsprit})$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +76,8^{\circ}; [\text{M}]_{\text{D}}^{17} = +421^{\circ} \quad (c = 1,295 \text{ in Chloroform})$$

4,000 mg Subst. gaben 9,950 mg CO₂ und 3,200 mg H₂O

C ₃₁ H ₄₈ O ₈	Ber. C 67,85	H 8,82%
	Gef. „ 67,88	„ 8,95%

Triformyl-cholsäure-methylester.

700 mg Triformyl-cholsäure⁷⁾ wurden in Äther aufgeschlemmt und mit ätherischer Diazomethan-Lösung verestert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels verblieb ein farbloses Harz, das auf Zusatz von wenig Methanol in feinen Nadeln krystallisierte. Die Reinigung des Triformyl-cholsäure-methylesters ist sehr verlustreich, da er sich in reinem Methanol ausserordentlich leicht löst, bei Verwendung von wässrigem Methanol aber nur als Öl erhalten wird. Nach dreimaligem Umkrystallisieren verblieben 155 mg gut ausgebildeter Nadeln vom Smp. 133,5—134,5°. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 70° im Hochvakuum getrocknet.

¹⁾ Z. physiol. Ch. **214**, 71 (1933). ²⁾ Vgl. den exp. Teil dieser Arbeit.

³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

⁴⁾ Vgl. H. Wieland und W. Kapitel, Z. physiol. Ch. **212**, 269 (1932).

⁵⁾ Hergestellt nach der Vorschrift von H. Morsmann, M. Steiger und T. Reichstein, Helv. **20**, 3 (1937).

⁶⁾ $[\text{M}]_{\text{D}} = \frac{[\alpha]_{\text{D}} \cdot \text{M}}{100}$; vgl. H. Landolt, Das optische Drehungsvermögen, 2. Aufl., S. 6.

⁷⁾ F. Cortese und L. Baumann, Am. Soc. **57**, 1393 (1935); L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. **27**, 186 (1944).

$[\alpha]_D^{14} = +90,0^{\circ}; 89,5^{\circ}; [M]_D^{14} = +455^{\circ}; 453^{\circ}$ ($c = 1,397; 1,398$ in Feinsprit)
 $[\alpha]_D^{17;14} = +86,0^{\circ}; 85,8^{\circ} [M]_D^{17;14} = +435^{\circ}; 434^{\circ}$ ($c = 0,961; 1,400$ in Chloroform)

3,768 mg Subst. gaben 9,169 mg CO_2 und 2,790 mg H_2O

$\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_8$ Ber. C 66,38 H 8,36%

Gef. „ 66,41 „ 8,29%

3 α -Oxy-7 α , 12 β -diacetoxy-cholansäure¹⁾.

1,700 g Triacetyl-cholsäure-methylester wurden unter leichtem Erwärmen in 25,0 cm³ einer 0,5-n. methanolischen Natronlauge gelöst und anschliessend bei 20° 55 Minuten stehen gelassen. Nach 55 Minuten waren 1,94 Äquiv. Natronlauge verbraucht (Titration mit 0,1-n. Salzsäure auf Phenolphthalein). Durch Neutralisation der überschüssigen Lauge wurde nun die Verseifung unterbrochen und dann der Methylalkohol im Vakuum abgedampft. Auf Zugabe von Salzsäure fiel die rohe Diacetyl-cholsäure aus. Sie wurde abgenutscht, gut mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 1,40 g. Zur Reinigung wurde dieses Rohprodukt in Äther aufgenommen und die sauren Anteile mit Bariumhydroxydlösung ausgezogen. Die aus der Bariumsalz-Lösung mit Salzsäure gefällte und mit Wasser gut gewaschene Säure wurde in Alkohol gelöst und in der Hitze bis zur leichten Trübung mit Wasser versetzt. Innerhalb 6 Stunden wurde die Lösung langsam auf 20° abgekühlt, wobei die Säure in grossen Rhomboedern krystallisierte. Ausbeute 1,33 g. Smp. 202—203°. Bei raschem Abkühlen fällt die Säure als Öl aus. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 140° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D^{14;17} = +71,6^{\circ}; 70,3^{\circ}; [M]_D^{14;17} = +352^{\circ}; 346^{\circ}$ ($c = 0,916; 1,273$ in Feinsprit)

3,826 mg Subst. gaben 9,586 mg CO_2 und 3,072 mg H_2O

$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_7$ Ber. C 68,26 H 9,00%

Gef. „ 68,37 „ 8,99%

Methylester. 600 mg 3 α -Oxy-7 α , 12 β -diacetoxy-cholansäure, gelöst in 10 cm³ Dioxan, wurden mit Diazomethan verestert. Das durch Verdampfen zur Trockene erhaltene ölige Rohprodukt wurde in Äther gelöst durch wenig Aluminiumoxyd filtriert. Nach dem Einengen wurde in der Kälte tropfenweise mit Petroläther versetzt. Der Ester krystallisierte langsam in langen Spiessen. Ausbeute: 480 mg; Smp. 49—51°. (Aus einer warm gesättigten Lösung fällt der Ester als Öl aus.) Nach zweimaligem Umkrystallisieren stieg der Schmelzpunkt auf 57—59°. Das Produkt enthält Krystalllösungsmittel. Zur Analyse wurde 12 Stunden bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet und vor dem Verbrennen kurz im Vakuum bei 150° geschmolzen.

$[\alpha]_D^{14} = +72,0^{\circ}; 71,0^{\circ}; [M]_D^{14} = +364^{\circ}; 359^{\circ}$ ($c = 1,150; 0,739$ in Feinsprit)

$[\alpha]_D^{14} = +63,7^{\circ}; 63,9^{\circ}; [M]_D^{14} = +322^{\circ}; 323^{\circ}$ ($c = 0,720; 0,729$ in Chloroform)

3,648 mg Subst. gaben 9,174 mg CO_2 und 2,989 mg H_2O

$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_7$ Ber. C 68,74 H 9,15%

Gef. „ 68,63 „ 9,17%

3 α , 7 α -Diacetoxy-12 β -oxy-cholansäure²⁾.

23,2 g Cholsäure wurden nach den Angaben von W. Borsche²⁾ in Eisessig mit Acetylchlorid acetyliert. Die Krystallisation aus Essigester ergab 8,4 g einer rohen Säure vom Smp. 255—259°. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol-Wasser stieg der Schmelzpunkt auf 261—263°. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 140° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

¹⁾ W. S. Knowles, J. Fried und R. C. Elderfield, J. Org. Chem. **7**, 383 (1942), zit. nach B. C. A. **1942** A II, 415.

²⁾ W. Borsche, B. **57**, 1620 (1924); H. Wieland und E. Boersch, Z. physiol. Ch. **110**, 143 (1920); vgl. auch H. Wieland und W. Kapitel, Z. physiol. Ch. **212**, 269 (1932).

$[\alpha]_D^{17;14} = +49,8^\circ; 49,4^\circ; [M]_D^{17;14} = +245^\circ; 243^\circ$ ($c = 0,806; 0,891$ in Feinsprit)

3,722 mg Subst. gaben 9,344 mg CO_2 und 3,025 mg H_2O

$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_7$	Ber. C 68,26	H 9,00%
Gef. „	68,51	„ 9,09%

Methylester. 300 mg $3\alpha,7\alpha$ -Diacetoxy-12 β -oxy-cholansäure wurden, in Dioxan gelöst, mit Diazomethan in Äther verestert. Nach dem Verdampfen zur Trockne wurde der Rückstand in Methanol gelöst, durch wenig Aluminiumoxyd filtriert und anschliessend aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Feine Nadeln vom Smp. 182—183°. Ausbeute: 290 mg. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 120° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet und vor dem Verbrennen im Vakuum bei 190° geschmolzen.

$[\alpha]_D^{14} = +35,3^\circ; [M]_D^{14} = +179^\circ$ ($c = 0,697$ in Feinsprit)

$[\alpha]_D^{14;17} = +31,0^\circ; 30,3^\circ; [M]_D^{14;17} = +157^\circ; 153^\circ$ ($c = 1,224; 1,064$ in Chloroform)

3,680 mg Subst. gaben 9,263 mg CO_2 und 2,995 mg H_2O

$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_7$	Ber. C 68,74	H 9,15%
Gef. „	68,69	„ 9,11%

3α -Acetoxy- $7\alpha,12\beta$ -dioxy-cholansäure-methylester¹⁾.

7,3 g Cholsäure-methylester²⁾ wurden in 30 cm³ absolutem Benzol gelöst und durch Abdestillieren des Lösungsmittels getrocknet. Dann wurden weitere 30 cm³ Benzol zugefügt und zur siedenden Lösung des Esters innert 45 Minuten eine Mischung von 4,3 g Acetanhydrid und 10 cm³ Benzol zugetropft. Nach 2 Stunden Kochen am Rückfluss wurde das Benzol im Vakuum abgesaugt, der Rückstand in Äther aufgenommen und mit Wasser und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Äthers verblieben 7,9 g eines schwach gefärbten Harzes, das nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

Das Rohprodukt wurde in wenig Benzol gelöst und an 100 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Äther und Äther erhaltenen Eluate wurden einmal aus Methanol und anschliessend zweimal aus Methanol-Wasser umkrystallisiert und ergaben 1,04 g feine Nadeln vom scharfen Smp. 149—150°.

Zur Kontrolle der Einheitlichkeit wurde ein zweites Mal an Aluminiumoxyd chromatographiert und eine mittlere Fraktion dreimal aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 140° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet. Der Schmelzpunkt dieses Produktes lag bei 149,5—150°.

$[\alpha]_D^{14} = +52,8^\circ; 52,5^\circ; [M]_D = +245^\circ; 244^\circ$ ($c = 0,880; 0,697$ in Feinsprit)

$[\alpha]_D^{15} = +47,6^\circ; 48,0^\circ; [M]_D = +221^\circ; 223^\circ$ ($c = 0,729; 0,868$ in Chloroform)

3,745 mg Subst. gaben 9,584 mg CO_2 und 3,192 mg H_2O

$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_6$	Ber. C 69,79	H 9,55%
Gef. „	69,83	„ 9,54%

$3\alpha,7\alpha$ -Diacetoxy-12-keto-cholansäure³⁾.

1,50 g $3\alpha,7\alpha$ -Diacetoxy-12 β -oxy-cholansäure wurden nach den Angaben von H. Wieland und W. Kapitel³⁾ mit Chromtrioxyd in Eisessig oxydiert. Die Krystallisation des Rohproduktes aus Alkohol-Wasser ergab 1,16 g der Säure in Form feiner Platten, die Krystalllösungsmittel enthalten. Sie schmolzen zwischen 103 und 109°; bei 130° erstarrte die Substanz wieder, wobei feine Nadeln gebildet werden, die sich bei 227—228° erneut verflüssigten.

¹⁾ T. Reichstein und M. Sorkin, Helv. **25**, 797 (1942), haben mit Acetanhydrid in Benzol Desoxy-cholsäure-methylester partiell in Stellung 3 acetyliert. In analoger Weise wurde versucht, Cholsäure-methylester in Stellung 3 und 7 zweifach zu acetylieren. Es traten jedoch komplexe Gemische auf, aus denen nur das oben beschriebene 3-Monoacetat in krystallisierter Form isoliert werden konnte.

²⁾ H. Morsmann, M. Steiger und T. Reichstein, Helv. **20**, 3 (1937).

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

Anschliessend wurde noch zweimal aus Alkohol-Wasser und dann aus Aceton-Hexan umkrystallisiert. Das letztere Produkt enthielt kein Krystalllösungsmittel mehr und schmolz scharf bei 229—230°. Zur Analyse wurde 48 Stunden bei 120° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{17} = +86,5^{\circ}; [M]_D^{17} = +424^{\circ} \quad (c = 0,755 \text{ in Chloroform})$$

3,770 mg Subst. gaben 9,474 mg CO₂ und 2,959 mg H₂O
 $C_{28}H_{42}O_7$ Ber. C 68,54 H 8,63%
 Gef. „ 68,58 „ 8,78%

Methylester. 900 mg 3 α ,7 α -Diacetoxy-12-keto-cholansäure wurden in Dioxan mit Diazomethan umgesetzt. Der Ester krystallisierte aus Methanol-Wasser in langen Nadeln vom Smp. 176,5—178°. Ausbeute 810 mg. Eine zweite Krystallisation ergab ein analysenreines Produkt vom Smp. 177—178,5°. Es wurde 12 Stunden bei 130° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{17} = +83,5^{\circ}; [M]_D^{17} = +421^{\circ} \quad (c = 0,879 \text{ in Chloroform})$$

3,792 mg Subst. gaben 9,557 mg CO₂ und 3,022 mg H₂O
 $C_{28}H_{44}O_7$ Ber. C 69,02 H 8,79%
 Gef. „ 68,78 „ 8,92%

Cheno-desoxy-cholsäure (3 α ,7 α -Dioxy-cholansäure)¹⁾.

Zu einer Lösung von 1,0 g Natrium in 15 cm³ absolutem Alkohol wurden 2,0 g Hydrazinhydrat und 400 mg 3 α ,7 α -Diacetoxy-12-keto-cholansäure-methylester gegeben. Der Ansatz wurde 14 Stunden im Einschliessrohr auf 160° erhitzt, dann mit Wasser verdünnt und 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Der Alkohol wurde nun im Vakuum abgedampft und der wässrigen Lösung Spuren von neutralen Anteilen mit Äther entzogen. Dann wurde die Cheno-desoxy-cholsäure mit verdünnter Schwefelsäure als feiner flockiger Niederschlag gefällt. Ausbeute 340 mg.

Die rohe Säure wurde in verdünnter Ammoniak-Lösung aufgenommen, das überschüssige Ammoniak durch Erhitzen auf dem Wasserbad im Vakuum entfernt und die heisse Lösung mit Bariumchlorid versetzt. Schon in der Hitze fiel das Bariumsalz der Cheno-desoxy-cholsäure als feine Nadeln aus, die nach dem Erkalten abgenutscht und mit Wasser gut gewaschen wurden. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Alkohol-Wasser wurde das Bariumsalz rein erhalten. Zur Analyse wurde 12 Stunden bei 130° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

3,327 mg Subst. gaben 0,842 mg BaSO₄
 $(C_{24}H_{39}O_4)_2Ba$ Ber. Ba 14,92 Gef. Ba 14,89%

62 mg Bariumsalz wurden in 4 cm³ 3-n. Soda-Lösung 1 Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Vom ausgeschiedenen Bariumcarbonat wurde abfiltriert und die Cheno-desoxy-cholsäure mit verdünnter Schwefelsäure gefällt. Sie wurde abgenutscht, gut mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Aus wenig Essigester krystallisierte sie in Drusen von feinen Nadeln, die beim Trocknen zerfielen. Ausbeute 51,5 mg. Nach dem Trocknen im Vakuum bei 100° zeigte die Cheno-desoxy-cholsäure einen scharfen Schmelzpunkt von 140—141,5°. Zur Analyse wurde 2 Stunden bei 110° im Hochvakuum getrocknet und vor dem Verbrennen im Vakuum geschmolzen.

$$[\alpha]_D^{17} = +12,5^{\circ}; [M]_D = +49^{\circ} \quad (c = 0,582 \text{ in Chloroform})^2)^3)$$

3,663 mg Subst. gaben 9,843 mg CO₂ und 3,364 mg H₂O
 $C_{24}H_{40}O_4$ Ber. C 73,43 H 10,27%
 Gef. „ 73,33 „ 10,28%

¹⁾ A. Windaus, A. Bohne und E. Schwarzkopf, Z. physiol. Ch. **140**, 177 (1924).
 Sin'iti Kawai, Z. physiol. Ch. **214**, 71 (1932); Takeshi Iwasaki, Z. physiol. Ch. **244**, 181 (1936), $[\alpha]_D^{20} = +12,52^{\circ}$ in Alkohol.

²⁾ A. Windaus, A. Bohne und E. Schwarzkopf, l. c.

³⁾ S. Miyazi und T. Kimura, J. Biochem. **26**, 337 (1938), $[\alpha]_D^{22} = +10,6^{\circ}$ in Alkohol.

3 α , 7 α -Diformoxy-cholansäure (Diformyl-cheno-desoxy-cholsäure)¹⁾.

16 mg Cheno-desoxy-cholsäure wurden in 5 cm³ 95-proz. Ameisensäure 5 Stunden auf 60° erwärmt. Nach dem Absaugen der Ameisensäure im Vakuum wurde aus Alkohol-Wasser umkrystallisiert. Es wurden 5,6 mg feine Nadeln vom Smp. 132,5—133,5° bzw. 181—182° erhalten. Zur Analyse wurde 2 bzw. 12 Stunden bei 120° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet.

$[\alpha]_D^{16} = +31,0^\circ$; $31,8^\circ$; $[M]_D = +139^\circ$; 142° ($c = 1,085$; 0,845 in Feinsprit)
 3,637; 3,710 mg Subst. gaben 9,219; 9,520 mg CO₂ und 2,802; 3,024 mg H₂O
 C₂₆H₄₀O₈ Ber. C 69,61 H 8,99%
 Gef. „ 69,17; 70,03 „ 8,62; 9,12%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den HH. Hs. Gubser, W. Manser und W. Ingold ausgeführt.

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

89. Etude critique des réactifs des cations.

11. Réactifs des cations du fer

par Paul Wenger et Roger Duckert.

(Collaboratrice Mlle Y. Ruseonl.)

(30 III 44)

Nous reprenons, au cours de ce travail, notre série d'études sur les réactifs qualitatifs des cations du groupe du sulfure d'ammonium²⁾. Les réactifs ne manquent pas pour la recherche du fer. Les dérivés phénoliques peuvent en fournir un grand nombre (pour le cation Fe⁺⁺⁺); et c'est précisément un de ces dérivés qui représente le meilleur de tous les réactifs de ce cation. Le cation bivalent, par son pouvoir réducteur énergétique, peut être décelé à l'aide d'indicateurs rédox, ce qui permet une identification aisée, très sensible et spécifique dans plusieurs cas.

Nous avons conduit nos essais comme précédemment, en observant toujours les mêmes principes critiques pour le choix des réactifs dont nous recommandons ici l'emploi.

1. Réactifs des ions du fer dont nous ne recommandons pas l'emploi.

Nous énumérons ci-dessous tous les réactifs que nous avons décidé d'écarter au cours de nos recherches; ils sont répartis en quatre groupes d'après leurs défauts caractéristiques.

¹⁾ H. Wieland und G. Revere, Z. physiol. Ch. **140**, 186 (1924).

²⁾ Voir Helv. **26**, 338, 416 et 1465 (1943).