

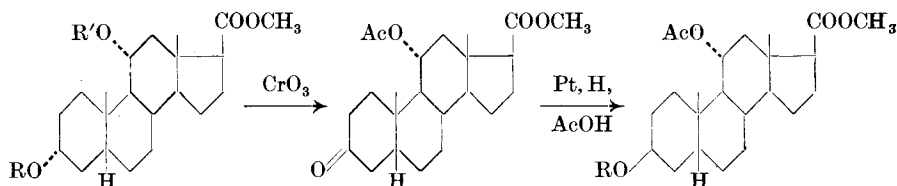
114. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

(44. Mitteilung ¹⁾).**3 β , 11 α -Diacetoxy-ätiocholansäure-methylester**

von A. Katz.

(26. III. 47.)

Zu Vergleichszwecken wurde 3 β , 11 α -Diacetoxy-ätiocholansäure-methylester (VI) benötigt. Er liess sich aus dem kürzlich von *Long, Marshall* und *Gallagher*²⁾ beschriebenen 3 α , 11 α -Diacetoxy-ätiocholansäure-methylester (II) wie folgt bereiten. Partielle Verseifung von (II) mit K₂CO₃ in wässrigem Methanol-Dioxan gab neben geringen Mengen Ausgangsmaterial (II) und Dioxy-ester (I)²⁾ in guter Ausbeute den 3 α -Oxy-11 α -acetoxy-ester (III), der sowohl als Hydrat wie wasserfrei krystallisierte. Er lieferte bei der Dehydrierung mit Chromsäure in Eisessig den 3-Keto-11 α -acetoxy-ätiocholansäure-methylester (IV). Bei der anschliessenden Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig wurde ein Gemisch der 3 α - und 3 β -Oxy-Verbindungen (III) und (V) erhalten, die sich durch Fällung mit Digitonin nicht sauber trennen liessen, da (V) bemerkenswerterweise kein schwerlösliches Digitonid gibt. Deshalb wurde das gesamte Hydrierungsprodukt acetyliert. Das Gemisch der Diacetate (II) und (VI) konnte durch Chromatographie auch nur sehr unvollständig getrennt werden, doch gelang es, aus den Mischfraktionen die beiden Verbindungen (II) und (VI), die nebeneinander krystallisierten, sich aber in der Krystallform unterschieden, durch Auslesen unter der Lupe zu trennen. Der



- I (R = R' = H)
F. 159° [+56]²⁾
II (R = R' = Ac)
F. 170° [+46]²⁾
III (R = H; R' = Ac)
F. 59° (W), 121° (Ä) [+28]

IV F. 156° [+32]

V (R = H) nicht isoliert
VI (R = Ac) F. 182° [+27]

Ac = CH₃·CO—; W = Wasser; Ä = Äther.

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in Chloroform an.

¹⁾ 43. Mitteilung A. Lardon, *Helv.* **30**, 597 (1947).²⁾ W. P. Long, C. W. Marshall, T. F. Gallagher, *J. Biol. Chem.* **165**, 197 (1946).

3 β ,11 α -Diacetoxy-ätiocolansäure-methylester (VI) schmolz bei 182—184° und zeigte die spez. Drehung $[\alpha]_D^{15} = +26,5^{\circ} \pm 3^{\circ}$. Die Mischprobe mit (II) (Smp. 171°, $[\alpha]_D^{23} = +46,3^{\circ}$ in CHCl_3)¹⁾ schmolz bei 147—166°.

Ich danke Herrn Professor T. Reichstein für viele Anregungen und Ratschläge.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^{\circ}$. „Schweinchen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. Die Substanzproben zur Drehung wurden 1 Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium F. Weiser, Basel, ausgeführt.)

3 α -Oxy-11 α -acetoxy-ätiocolansäure-methylester (III).

113 mg 3 α ,11 α -Diacetoxy-ätiocolansäure-methylester (II) vom Smp. 170—171°¹⁾²⁾ wurden in 6 cm³ Methanol und 3 cm³ Dioxan gelöst und mit 27,2 mg K₂CO₃ in 1 cm³ Wasser versetzt. Nach 10-stündigem Stehen bei 18° wurden nochmals 27,2 mg K₂CO₃ in 0,5 cm³ Wasser zugegeben. Nach weiterem 12-stündigem Stehen bei 18° wurde $\frac{1}{2}$ Stunde CO₂ eingeleitet und darauf im Vakuum bei 20° Badtemperatur auf 2 cm³ eingengt. Nach Zusatz von 3 cm³ Wasser und abermaligem Einengen auf 2 cm³ entstand ein schmieriger Niederschlag. Nun wurde Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion zugegeben und 3mal mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und auf 1 cm³ eingengt. Darauf wurde mit einigen Tropfen ätherischer Diazomethanlösung versetzt und nach 10 Minuten das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand (106 mg) wurde an 3 g alkalifreiem Al₂O₃ chromatographiert. Petroläther-Benzol (1:3) eluierte in den ersten 2 Fraktionen wenige mg Ausgangsmaterial (II). Die folgenden mit Petroläther-Benzol, reinem Benzol und Benzol-Äther (9:1) eluierten Fraktionen wogen insgesamt 85 mg und enthielten die 3 α -Oxy-11 α -acetoxy-Verbindung (III). Chloroform-Methanol (9:1) eluierte noch Spuren der 3 α ,11 α -Dioxy-Verbindung (I).

Der rohe 3 α -Oxy-11 α -acetoxy-ätiocolansäure-methylester (III) wurde in Methanol gelöst, mit Wasser versetzt und die Lösung im Vakuum stark eingengt. Es bildete sich ein krystalliner Niederschlag (Hydrat), der abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde. Die Substanz schmolz bei 59—61°, erstarrte darauf wieder und schmolz dann bei 117—120°. Aus Äther-Petroläther wurden nach Animpfen mit der hochschmelzenden Form 60 mg farblose Prismen erhalten, die bei 121—123° schmolzen. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{13} = +27,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,041$ in Chloroform).

10,469 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0,29^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet, dann 15 Minuten auf 125° erhitzt (Schweinchen).

3,750 mg Subst. gaben 9,66 mg CO₂ und 3,09 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₆ O ₅ (392,51)	Ber. C 70,37	H 9,25%
	Gef. „ 70,30	„ 9,23%

3-Keto-11 α -acetoxy-ätiocolansäure-methylester (IV).

85 mg 3 α -Oxy-11 α -acetoxy-ätiocolansäure-methylester (III) wurden in 0,9 cm³ Eisessig gelöst und mit 1,1 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 3 $\frac{1}{2}$ Stunden war noch Chromtrioxyd nachweisbar. Es wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand zwischen Äther und verdünnter H₂SO₄ verteilt, die Ätherlösung 2-mal mit verdünnter

¹⁾ W. P. Long, C. W. Marshall, T. F. Gallagher, J. Biol. Chem. **165**, 197 (1946).

²⁾ Hergestellt nach T. F. Gallagher, J. Biol. Chem. **165**, 211 (1946).

H₂SO₄, 3-mal mit verdünnter Sodalösung und mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (82 mg) gab aus Äther-Petroläther 57 mg farblose rechteckige Plättchen vom Smp. 156–157°. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{16} = +32,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,749$ in Chloroform).

7,500 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,24^\circ \pm 0,03^\circ$

Zur Analyse wurde $\frac{3}{4}$ Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,609 mg Subst. gaben 9,36 mg CO₂ und 2,84 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₅ (390,50) Ber. C 70,74 H 8,78%

Gef. „ 70,78 „ 8,80%

3 β , 11 α -Diacetoxy-ätiocolansäure-methylester (VI).

51 mg 3-Keto-11 α -acetoxy-ätiocolansäure-methylester (IV) wurden in 1 cm³ Eisessig gelöst und mit 5 mg PtO₂·H₂O hydriert. Nach ca. 1 Stunde war die H₂-Aufnahme beendet. Es wurde vom Platin abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Äther aufgenommen und die Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es hinterblieben 48 mg Substanz. Da die Trennung der 3 α - und 3 β -Isomeren (III) und (V) mit Hilfe von Digitonin nicht gelang, wurde die Substanz in 0,5 cm³ Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid 1 Stunde bei 60° acetyliert. Pyridin und Acetanhydrid wurden im Vakuum entfernt, der Rückstand in Äther gelöst und die Lösung mit verdünnter Salzsäure, verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (47 mg) wurde an 1,5 g alkalifreiem Aluminiumoxyd chromatographiert, wobei mit je 5 cm³ Lösungsmittel eluiert wurde.

Frakt. Nr.	Eluierungsmittel	Menge	Smp.
1	Petroläther-Benzol 4:1	Spur	—
2—3	„ „ 4:1	—	—
4	„ „ 1:1	viel	150—182°
5	„ „ 1:1	viel	150—182°
6	„ „ 1:1	viel	164—181°
7	„ „ 1:1	wenig	—
8	„ „ 1:1	Spur	—
9	„ „ 1:1	Spur	—
10	„ „ 2:3	wenig	145—178°
11	„ „ 2:3	wenig	181—184° (Sint. 170°)
12	„ „ 1:3	Spur	179—184° (Sint. 175°)
13	„ „ 1:3	Spur	175—182° (Sint. 165°)
14	Benzol	—	—
15	„	wenig	170—180°
16	Benzol-Äther	wenig	145—170°
17	„ „ 4:1	—	—

Die Fraktionen 4—10 wurden vereinigt und aus Äther-Petroläther umkrystallisiert. Nebeneinander schieden sich 4- oder 6-eckige dicke Plättchen sowie dünne Lamellen (gestreckte dünne Blättchen) ab, die nach Waschen mit Petroläther durch Aussuchen unter der Lupe getrennt wurden. Die dünnen Lamellen schmolzen bei 163—172° (Sintern ab 155°) und erwiesen sich nach Mischprobe als identisch mit der 3 α -Form (II), die auch dieselbe Krystallform besass. Die dicken Plättchen (3 β -Form VI) schmolzen roh bei 178—183° (Sintern ab 174°).

Die Fraktionen 11–13 wurden mit den Mutterlaugen der Fraktionen 4–10 vereinigt und fraktioniert aus wenig Äther krystallisiert. Die erste Krystallfraktion gab nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther dünne Lamellen der α -Form vom Smp. 162–170° (Sintern ab 145°). Das zweite Krystallisat lieferte nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther dicke Plättchen vom Smp. 179–183°, welche die β -Form darstellten. Diese wurden mit den analogen Krystallen aus den Fraktionen 4–10 vereinigt, zweimal aus wenig Äther umkrystallisiert und mit Petroläther gewaschen. Es resultierten 12 mg farblose Plättchen vom Smp. 182–184° (Sintern ab 180°). Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{15} = +26,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,981$ in Chloroform).

9,858 mg Subst. zu $1,0052 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{15} = +0,26^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,628 mg Subst. gaben 9,17 mg CO_2 und 2,82 mg H_2O

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_6$ (434,54) Ber. C 69,10 H 8,80%

Gef. „ 68,98 „ 8,70%

Die Mischprobe mit $3\alpha, 11\alpha$ -Diacetoxy-ätiocolonsäure-methylester (II) schmolz bei 147–166°.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

115. Stabilisierte Diazoniumsalze als Reagenzien zur Bestimmung von Dioxybenzolderivaten.

I. Darstellung und Eigenschaften einiger naphthalinsulfosaurer Diazoniumsalze

von P. Heinrich und W. Schuler.

(27. III. 47)

Zur kolorimetrischen Bestimmung biochemisch interessierender Dioxybenzolderivate kamen bisher einerseits oxydierende Reagenzien, wie Phosphorwolframsäure¹⁾ und Arsenmolybdänsäure²⁾, andererseits einfach gebaute, meist in Parastellung substituierte Phenyl-diazoniumsalze³⁾ zur Anwendung.

Phosphorwolframsäure und Arsenmolybdänsäure reagieren zwar sehr empfindlich auf Dioxybenzolderivate und gestatten, solche noch in einer Konzentration von 20 bzw. 2 γ % quantitativ zu erfassen; doch ist die Spezifität des *Folin*'schen Reagens gering⁴⁾, ein Einwand, der auch gegen Arsenmolybdänsäure, selbst in der verbesserten Anwendungsweise von *Shaw*⁵⁾, gemacht wurde⁶⁾. Die

¹⁾ O. Folin, W. B. Cannon und W. Denis, J. Biol. Chem. **13**, 477 (1912).

²⁾ J. C. Whitehorn, J. Biol. Chem. **108**, 633 (1935).

³⁾ Vgl. A. A. Hymans van den Bergh und P. Müller, Bioch. Z. **77**, 90 (1916); H. Friend, J. Biol. Chem. **57**, 497 (1923); R. C. Theis u. S. R. Benedict, J. Biol. Chem. **61**, 67 (1924).

⁴⁾ H. Fujiwara und E. Kataoka, Z. physiol. Ch. **216**, 133 (1933).

⁵⁾ F. H. Shaw, Biochem. J. **32**, 19 (1938).

⁶⁾ W. R. Bloor und S. S. Bullen, J. Biol. Chem. **138**, 727 (1941).