

Alkohol versetzt und der Niederschlag in gleicher Weise getrocknet. 110 mg vom Smp. 157 – 160°. Darnach errechnet sich die Ausbeute an Formaldehyd bei der Spaltung von XIV zu 70% der Theorie.

Spaltung von Hetero-lupandiol (XIII)¹⁾ mit Blei(IV)-acetat.

150 mg Substanz wurden in gleicher Weise wie Taraxastandiol mit Blei(IV)-acetat gespalten. Das erhaltene Destillat gab aber weder mit 2,4-Dinitrophenyl-hydrazin, noch mit Dimedon-Lösung Niederschläge. Aus dem Hetero-lupandiol erhält man folglich keine leichtflüchtigen Spaltprodukte.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Zusammenfassung.

Es konnten weitere Beweise für die schon früher abgeleitete Übereinstimmung des Kohlenstoffgerüstes bei Hetero-lupeol, Taraxasterol, Arnidiol und Faradiol aufgefunden werden. Diese einfach ungesättigten Monole und Diole weisen die Doppelbindung paarweise an einer gleichen Stelle des Kohlenstoffgerüstes auf. Bei Heterolupeol und Faradiol befindet sich die Doppelbindung in einem Ringe, während sie bei Taraxasterol und Arnidiol semi- oder extracyclisch liegt und mit einer Methylengruppe endigt.

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

239. Über Steroide und Sexualhormone.

155. Mitteilung²⁾.

**Über 3α ,5-Dioxy-koprostan und zwei epimere
3,4-Dioxy-cholestane**

von **Pl. A. Plattner, H. Heusser und A. B. Kulkarni.**

(3. IX. 48.)

Vor kurzem ist durch Arbeiten aus unserem Laboratorium³⁾ eindeutig bewiesen worden, dass Strophanthidin und Periplogenin cis-Verknüpfung der Ringe A und B besitzen und demnach Derivate des 5-Oxy-koprostan sind. 5-Oxy-koprostan selbst bzw. Steroide mit Koprostan-Konfiguration, welche in Stellung 5 eine Oxy-Gruppe tragen, waren bis heute im Gegensatz zu 5-Oxy-cholestan-Derivaten synthetisch nicht zugänglich.

¹⁾ *O. Jeger, Hs. K. Krüssi und L. Ruzicka*, Helv. **30**, 1048 (1947).

²⁾ 154. Mitt. Helv. **31**, 1455 (1948).

³⁾ *Pl. A. Plattner, A. Segre und O. Ernst*, Helv. **30**, 1432 (1947); vgl. dazu *W. A. Jacobs und R. C. Elderfield*, J. Biol. Chem. **113**, 625 (1936); *P. Speiser und T. Reichstein*, Exper. **3**, 323 (1947); Helv. **30**, 2143 (1947); Helv. **31**, 622 (1948).

5-Oxy-cholestane können durch Hydrierung von Verbindungen vom Typus des Cholesterin- α -oxyds bereitet werden. Die entsprechenden $5,6\beta$ -Oxyde geben dagegen unter analogen Hydrierungsbedingungen keine 5-Oxy-koprostan, sondern Derivate des 6β -Oxy-cholestans¹⁾.

Die Hydrierung von Δ^4 -Cholesten-oxyd²⁾ bzw. Δ^5 -Cholesten-oxyd³⁾ liefert ein Gemisch von Alkoholen, aus dem ein und dasselbe 5-Oxy-„cholestan“ vom Smp. 110° isoliert werden konnte⁴⁾. Die Zugehörigkeit dieses 5-Oxy-Steroids zur Cholestan- bzw. Koprostan-Reihe wurde bisher nicht bestimmt und scheint, da Bezugspunkte fehlen, schwierig.

In der vorliegenden Arbeit ist es uns erstmals gelungen, ein 5-Oxy-koprostan-Derivat, das den in der Natur vorkommenden 5-Oxy-Steroiden entspricht, partialsynthetisch zu bereiten und seine Konfiguration zu beweisen.

Als Ausgangsmaterial diente Δ^4 -Cholestenon-(3) (II), welches als α, β -ungesättigtes Keton nach der Methode von Weitz und Scheffer⁵⁾ zu dem noch unbekannten Cholestenon-epoxyd (V) umgesetzt wurde. Wie später gezeigt wird, ist in diesem der Oxyd-Ring in β -Stellung angeordnet und wir bezeichnen es deshalb im folgenden als 3-Keto- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (V).

Hydriert man das 3-Keto- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (V) mit einem nicht sehr aktiven Platinoxyd-Katalysator (Adams) in Äther-Feinsprit, so werden unter Erhaltung der Oxido-Brücke zwei in Stellung 3 isomere 3-Oxy- $4\beta, 5$ -oxido-koprostane (VIIIa und IXa) gebildet. Diese können auch als β -Oxyde des Δ^4 - 3β -Oxy-cholestens (Allo-cholesterin) bzw. des Δ^4 - 3α -Oxy-cholestens (Epi-allo-cholesterin) bezeichnet werden. Ihre Konstitution als in 3 Stellung epimere Verbindungen wurde durch Oxydation zum gemeinsamen Ausgangsmaterial, dem 3-Keto- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (V), bewiesen. Einen ersten Anhaltspunkt zur Zuteilung einer bestimmten Konfiguration an die beiden am C-Atom 3 epimeren Oxido-Alkohole (VIIIa und IXa) gibt deren Verhalten gegen Digitonin. Der eine (IXa) ist mit Digitonin nicht fällbar, während der zweite (VIIIa) unter den gleichen Bedingungen einen voluminösen Niederschlag bildet⁶⁾.

Wird das 3α -Oxy- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (IXa) in Eisessig mit Platinoxyd weiter hydriert, so entsteht als Hauptprodukt das $3\alpha, 4\beta$ -Dioxy-cholestan (XIIa), welches als Diacetat charakterisiert wurde. Daneben wurde in Spuren das $3\alpha, 5$ -Dioxy-koprostan (VIa) erhalten (vgl. dazu weiter unten).

¹⁾ Vgl. Pl. A. Plattner und W. Lang, Helv. **27**, 1872 (1944); Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, Helv. **27**, 513 (1944).

²⁾ J. M. Heilbron, W. Shaw und F. S. Spring, R. **57**, 529 (1938).

³⁾ L. Ruzicka, M. Furter und G. Thomann, Helv. **16**, 333 (1933).

⁴⁾ Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, Helv. **27**, 513 (1944).

⁵⁾ E. Weitz und A. Scheffer, B. **54**, 2327 (1921).

⁶⁾ Die Konfigurationsbestimmung auf Grund des Verhaltens gegen Digitonin ist hier wohl zulässig, da es sich um ein in Stellung 3 epimeres Paar handelt, das sonst weiter keine konstitutiven Unterschiede aufweist, vgl. F. Hunziker und T. Reichstein, Helv. **28**, 1472 (1945).

Bei der hydrolytischen Aufspaltung von IXa in Dioxan-Wasser bei 160° wird ein Triol erhalten, welches mit Acetanhydrid-Pyridin ein Diacetat liefert. Für das Triol sind die beiden möglichen Formeln eines $3\alpha, 4\beta, 5$ -Trioxy-cholestans (XIa) bzw. eines $3\alpha, 4\alpha, 5$ -Trioxy-koprostan (Xa) in Erwägung zu ziehen.

Schliesslich wurde das 3 -Keto- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (V) noch der Hydrierung in Alkohol mit einem besonders aktiven Platin-Katalysator (Adams) unterworfen. Als Reaktionsprodukte konnten dabei wieder 3α -Oxy- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (IXa), 3β -Oxy- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan (VIIIa) und in etwas grösserer Menge das gesuchte $3\alpha, 5$ -Dioxy-koprostan (VIa) isoliert werden.

Die Konstitution von VIa als $3\alpha, 5$ -Dioxy-koprostan wurde durch folgende Umsetzungen bewiesen. Die Verbindung VIa liefert mit Acetanhydrid-Pyridin nur ein Monoacetat (VIb). Das freie Diol VIa bzw. sein Acetat VIb sind weder mit $3\beta, 5$ -Dioxy-cholestan¹⁾, noch mit $3\alpha, 5$ -Dioxy-cholestan²⁾ bzw. den entsprechenden 3 -Monoacetaten identisch. Ferner liefert das Diol VIa bei der Oxydation mit Chromtrioxyd ein Oxy-keton III, welches sich wiederum deutlich vom bekannten 3 -Keto- 5 -oxy-cholestan²⁾ unterscheidet. Bei der Wasserabspaltung liefert jedoch auch das neue Oxy-keton III Cholestenon.

Durch diese Umsetzungen ist rückblickend auch die Konstitution des Oxo-ketons V als 3 -Keto- $4\beta, 5$ -oxido-koprostan bewiesen.

Eine andere Möglichkeit, das Oxo-keton V mit einer Verbindung bekannter Konfiguration an C 4 zu verknüpfen, ergab sich aus der Beobachtung, dass V bei Hydrierung mit Platinoxyd in Eisessig unter gleichzeitiger Hydrierung der Keto-Gruppe zum $3\beta, 4\beta$ -Dioxy-cholestan (VIIa) hydriert wird. Dieses letztere ist identisch mit dem Hydrierungsprodukt von Δ^5 - $3\beta, 4\beta$ -Dioxy-cholesten (IV), welches von Rosenheim³⁾ und gleichzeitig auch von Butenandt⁴⁾ durch Oxydation von Cholesterin mit Selendioxyd bereitet wurde⁵⁾. Die von Rosenheim⁶⁾ gefolgte cis-Stellung der beiden Hydroxyle im Δ^5 - $3\beta, 4\beta$ -Dioxy-cholesten (IV) wird also durch die in dieser Arbeit beschriebenen Umsetzungen weiter bestätigt.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Der eine von uns (A. B. K.) dankt ferner der Universität Bombay und Herrn A. V. Quenim von Panjim für Stipendien, die die Durchführung dieser Arbeit ermöglichten.

¹⁾ Pl. A. Plattner, Th. Petrzilka und W. Lang, *Helv.* **27**, 513 (1944).

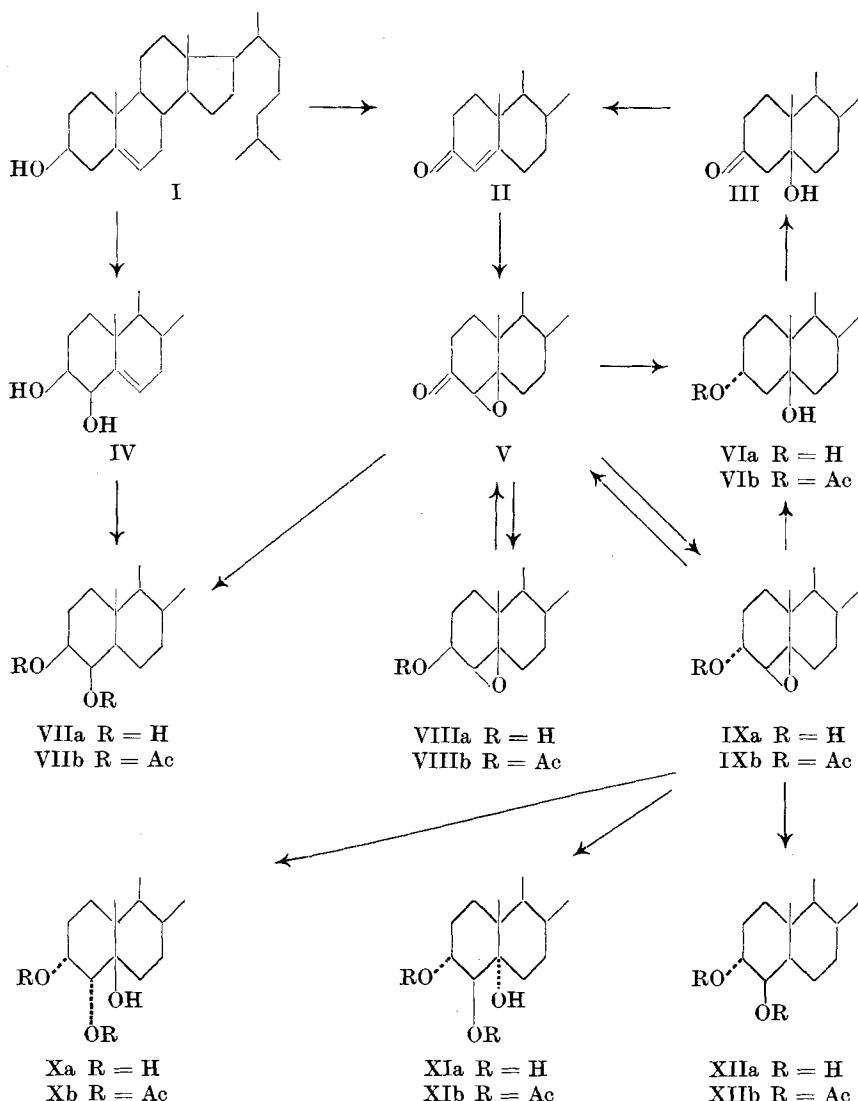
²⁾ Pl. A. Plattner, A. Fürst, F. Koller und W. Lang, *Helv.* **31**, 1455 (1948).

³⁾ O. Rosenheim und W. W. Starling, *Soc.* **1937**, 377.

⁴⁾ A. Butenandt und E. Hausmann, *B.* **70**, 1154 (1937).

⁵⁾ Δ^4 - $3\beta, 4\beta$ -Dioxy-cholesten ist auch aus Cholesterin über dessen 5,6-Dibromid und das Δ^4 - 3β -Oxy- 4 -brom-cholesten zugänglich; vgl. Anmerkung 6).

⁶⁾ V. A. Petrow, O. Rosenheim und W. W. Starling, *Soc.* **1943**, 135.



Experimenteller Teil¹⁾.

3-Keto-4β,5-oxido-koprostan (V).

Zu 10 g Cholestenon (II), gelöst in 1000 cm³ Methanol, wurden unter Kühlen auf 20° tropfenweise je 40 cm³ 4,0-n. wässriges Natriumhydroxyd und 40 cm³ 30-proz. Wasserstoffperoxyd gleichzeitig zugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 72 Stunden bei 0° aufbewahrt, wobei sich reichlich Krystalle ausschieden. Diese wurden abgetrennt. Die Mutterlaugen wurden mit 2 Liter Wasser verdünnt und mit Benzol extrahiert, die benzolische Lösung gut mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Auf die

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert und im evakuierten Röhrchen bestimmt.

gleiche Weise, d. h. durch Lösen in Benzol und Waschen mit Wasser, wurde der krystalline Anteil gereinigt. Die vereinigten Rohprodukte (9,0 g) lieferten aus Aceton umkristallisiert 5,5 g Nadeln, die nach einer weiteren Krystallisation aus Methanol bei 116—117° schmolzen. Zur Analyse wurde eine Probe noch zweimal aus Methanol umkristallisiert und anschliessend 36 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Smp. 116—117°.

$[\alpha]_D^{21} = +134^\circ; +136^\circ$ (c = 1,295; 1,391 in Chloroform)
 3,652 mg Subst. gaben 10,828 mg CO_2 und 3,600 mg H_2O
 $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$ Ber. C 80,94 H 11,07%
 Gef. ,, 80,92 ,, 11,03%

3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa).

3,0 g 3-Keto-4 β ,5-oxido-koprostan (V) wurden in 100 cm³ Äther und 100 cm³ Feinsprit gelöst und nach Zugabe von 700 mg vorhydriertem Platinoxyd (Adams) unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 16 Stunden waren 293 cm³ (0°, 760 mm; 1,7 Mol) Wasserstoff verbraucht, worauf vom Katalysator abfiltriert und die Lösung auf das halbe Volumen eingeeengt wurde. Beim Abkühlen der Lösung schieden sich 2,2 g feine Blättchen aus, die abgenutscht und erneut aus Alkohol umkristallisiert wurden. Smp. 157—159°. Zur Analyse wurde eine Probe noch zweimal umkristallisiert und anschliessend bei 95° 110 Stunden getrocknet. Smp. 158—159°.

$[\alpha]_D^{21} = +31,4^\circ; 31,1^\circ$ (c = 1,352; 0,605 in Chloroform)
 3,542 mg Subst. gaben 10,435 mg CO_2 und 3,687 mg H_2O
 $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$ Ber. C 80,54 H 11,52%
 Gef. ,, 80,40 ,, 11,65%

Verhalten gegen Digitonin. 40 mg 3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa), gelöst in 4 cm³ 95-proz. Feinsprit, wurden tropfenweise mit 5 cm³ einer 0,5-proz. Digitonin-Lösung in 85-proz. Feinsprit versetzt und bei Zimmertemperatur 24 Stunden aufbewahrt. Es konnte keine Fällung beobachtet werden.

Oxydation mit Chromsäure. 200 mg 3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa) vom Smp. 158—159° wurden in 80 cm³ Eisessig gelöst und unter Kühlung tropfenweise mit 0,90 cm³ einer 1,19-n. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung versetzt. Nach 24 Stunden wurde die überschüssige Chromsäure durch Zusetzen von Methanol zerstört und das Reaktionsgemisch in Wasser eingerührt. Die Extraktion mit Äther lieferte 180 mg Rohprodukt, welches aus Alkohol umkristallisiert wurde. Die Substanz schmolz dann bei 116—117° und erwies sich mit 3-Keto-4 β ,5-oxido-koprostan (V) als identisch.

Acetat. 300 mg 3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa) wurden in einem Gemisch von 4 cm³ Pyridin und 4 cm³ Acetanhydrid 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, anschliessend die Reaktionslösung in Wasser eingerührt und das Acetat IXb mit Äther ausgeschüttelt. Das Rohprodukt (320 mg) wurde in Petroläther gelöst und durch eine Säule von 8 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) filtriert. Die sieben ersten Petroläther-Eluate (zusammen 200 mg) lieferten aus Alkohol umkristallisiert gut ausgebildete Nadeln vom Smp. 69—70°.

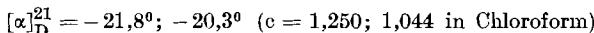
Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Alkohol umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 25° 48 Stunden über Phosphorpenoxyd getrocknet.

$[\alpha]_D^{21} = +29,3^\circ; +31,3^\circ$ (c = 0,879; 0,741 in Chloroform)
 3,750 mg Subst. gaben 10,763 mg CO_2 und 3,623 mg H_2O
 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_3$ Ber. C 78,32 H 10,88%
 Gef. ,, 78,33 ,, 10,81%

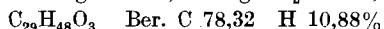
3 β -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (VIIIa).

Die Mutterlaugen, welche bei der Herstellung des vorne beschriebenen 3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa) anfielen, wurden zur Trockne verdampft und der Rückstand (500 mg) in einem Gemisch von 4 cm³ Pyridin und 4 cm³ Acetanhydrid

24 Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Die übliche Aufarbeitung des Reaktionsgemisches ergab 550 mg rohe Acetate, die zur Reinigung an 12 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert wurden. Die ersten drei mit Petroläther eluierten Fraktionen (65 mg) lieferten aus Alkohol umkristallisiert feine Nadeln (VIIIb), die bei 89–90° schmolzen. Die späteren Fraktionen lieferten 240 mg des schon beschriebenen 3 α -Acetoxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXb) vom Smp. 69–70°. Zur Analyse wurde das 3 β -Acetat VIIIb noch zweimal aus Alkohol umkristallisiert und anschliessend 48 Stunden bei 25° im Hochvakuum über Phosphorpentooxyd getrocknet. Smp. 89–90°.

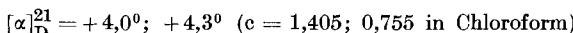


3,943 mg Subst. gaben 11,353 mg CO₂ und 3,760 mg H₂O

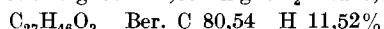


Gef. „, 78,58 „, 10,67%

Verseifung des Acetats VIIIb. 180 mg 3 β -Acetoxy-4 β ,5-oxido-koprostan (VIIIb) wurden in einer Lösung von 50 cm³ Methanol, 180 mg Natriumhydrogencarbonat und 10 cm³ Wasser 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Der grösste Teil des Methanols wurde abgedampft, die Lösung mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Die übliche Aufarbeitung gab 170 mg Rohprodukt, welches aus Methanol umkristallisiert feine Nadeln vom Smp. 95–96° lieferte. Zur Analyse wurde das 3 β -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (VIIIa) noch zweimal aus 75-proz. Alkohol umkristallisiert und anschliessend 48 Stunden bei 25° im Hochvakuum über Phosphorpentooxyd getrocknet.



3,628 mg Subst. gaben 10,676 mg CO₂ und 3,728 mg H₂O



Gef. „, 80,31 „, 11,50%

Verhalten gegen Digitonin. 30 mg 3 β -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (VIIIa), gelöst in 3 cm³ 95-proz. Feinsprit, wurden tropfenweise mit 4 cm³ einer 0,5-proz. Digitonin-Lösung in 85-proz. Feinsprit versetzt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Schon nach wenigen Stunden bildete sich ein voluminöser Niederschlag.

Oxydation mit Chromsäure. 50 mg 3 β -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (VIIIa) vom Smp. 95–96° wurden in 25 cm³ Eisessig gelöst und unter Kühlen tropfenweise mit 0,25 cm³ einer 1,19-n. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die überschüssige Chromsäure wurde dann durch Zusetzen von wenig Methanol zerstört, worauf das Reaktionsgemisch in Wasser eingerührt wurde. Die Extraktion mit Äther gab 40 mg Rohprodukt, welches nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol Nadeln lieferte, die bei 116–117° schnielen. Die Substanz erwies sich als identisch mit dem weiter oben beschriebenen 3-Keto-4 β ,5-oxido-koprostan (V).

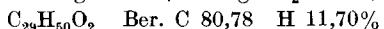
Hydrierung von 3-Keto-4 β ,5-oxido-koprostan (V) in Eisessig.

1,0 g 3-Keto-4 β ,5-oxido-koprostan (V) vom Smp. 116–117° wurden in 100 cm³ Eisessig gelöst und unter Zusatz von 400 mg vorhydriertem Platinoxyd (Adams) im Schüttelautoklaven bei einem Druck von 125 Atmosphären 18 Stunden hydriert. Nun wurde vom Katalysator abfiltriert, die Lösung im Vakuum bei Zimmertemperatur stark eingeengt, mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die übliche Aufarbeitung gab 990 mg eines amorphen Rohproduktes, welches bei Zimmertemperatur mit einem Gemisch von 5 cm³ Acetanhydrid und 5 cm³ Pyridin acetyliert wurde. Das rohe Acetylierungsprodukt (1,0 g) wurde in wenig Petroläther gelöst und an einer Säule von 25 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert.

a) Cholestanol. Die ersten Eluate (Petroläther) (220 mg) lieferten nach dem Umkristallisieren aus Alkohol Cholestanol-acetat vom Smp. 107–108°. Zur Analyse wurde eine Probe nochmals umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 60° 72 Stunden getrocknet.

$$[\alpha]_D^{23} = +13,0^\circ \text{ (c} = 0,925 \text{ in Chloroform)}$$

3,613 mg Subst. gaben 10,672 mg CO₂ und 3,763 mg H₂O



Gef. „, 80,61 „, 11,65%

b) 3 β , 4 β -Dioxy-cholestan (VIIa). Die Petroläther-Benzol-Fraktionen (4:1) des oben beschriebenen Chromatogramms lieferten 350 mg einer krystallisierten Substanz, die nach dem Umfallen aus Äthanol bei 134–135° schmolz. Eine Probe wurde zur Analyse dreimal aus Alkohol umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 100° getrocknet. Es liegt das Diacetat VIIb des 3 β , 4 β -Dioxy-cholestans vor.

$$[\alpha]_D^{21} = -8,3^\circ \text{ (c} = 1,120 \text{ in Chloroform)}$$

3,728 mg Subst. gaben 10,407 mg CO₂ und 3,557 mg H₂O

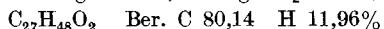


Gef. „, 76,19 „, 10,68%

Verseifung. 200 mg Diacetat VIIb vom Smp. 134–135° wurden in 50 cm³ Äthanol gelöst und mit einer Lösung von 200 mg Natriumhydrogencarbonat in 10 cm³ Wasser versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt, anschliessend der grösste Teil des Äthanols abgedampft, die Lösung mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die übliche Aufarbeitung ergab 140 mg Rohprodukt, das nach dem Umkristallisieren aus Methanol bei 193–194° schmolz. Zur Analyse wurde eine Probe nochmals aus Äthanol umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 100° getrocknet. Smp. 196–198°.

$$[\alpha]_D^{21} = +20,0^\circ \text{ (c} = 1,187 \text{ in Chloroform)}$$

3,837 mg Subst. gaben 11,268 mg CO₂ und 4,082 mg H₂O



Gef. „, 80,14 „, 11,90%

Die Substanz erwies sich als identisch mit einem nach der Methode von Rosenheim und Starling¹⁾ aus Δ^5 -3 β , 4 β -Dioxy-cholesten (IV) durch katalytische Hydrierung bereiteten 3 β , 4 β -Dioxy-cholestan. Für die von Rosenheim¹⁾ und später auch von Butenandt²⁾ beschriebenen Verbindungen fanden wir folgende Daten:

Δ^5 -3 β , 4 β -Dioxy-cholesten (IV); Smp. 175–176°;

$$[\alpha]_D^{21} = -61,4^\circ \text{ (c} = 0,832 \text{ in Chloroform)}$$

3 β , 4 β -Dioxy-cholestan (VIIa); Smp. 196–198°;

$$[\alpha]_D^{21} = +20,0^\circ \text{ (c} = 1,187 \text{ in Chloroform)}$$

3 β , 4 β -Diacetoxy-cholestan (VIIb); Smp. 134–135°;

$$[\alpha]_D = -8,3^\circ \text{ (c} = 1,120 \text{ in Chloroform)}$$

Hydrierung von 3 α -Oxy-4 β , 5-oxido-koprostan (IXa).

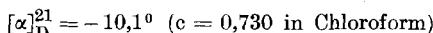
850 mg 3 α -Oxy-4 β , 5-oxido-koprostan (IXa) vom Smp. 157–159° wurden in 75 cm³ Eisessig gelöst und unter Zusatz von 100 mg vorhydriertem Platinoxyd (Adams) im Schüttelautoklaven bei einem Druck von 75 Atmosphären während 16 Stunden hydriert. Nun wurde vom Katalysator abfiltriert, die Lösung im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst und durch Waschen der ätherischen Schicht mit Wasser und Natriumhydrogencarbonat-Lösung gereinigt. Das Rohprodukt (850 mg) wurde in einem Gemisch von 5 cm³ Acetanhydrid und 5 cm³ Pyridin acetyliert, anschliessend wie üblich aufgearbeitet und zur Reinigung an 22 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) chromatographiert.

a) 3 α , 4 β -Dioxy-cholestan (XIIa). Die Petroläther-Benzol-Fraktionen (4:1) (325 mg) wurden vereinigt und erneut an einer Säule von 7 g Aluminiumoxyd adsorbiert. Die Petroläther-Benzol-Eluate (4:1) dieses zweiten Chromatogramms lieferten schliess-

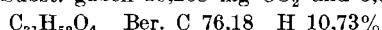
¹⁾ O. Rosenheim und W. W. Starling, Soc. 1937, 377.

²⁾ A. Butenandt und E. Hausmann, B. 70, 1154 (1937).

lich 85 mg einer krystallisierten Substanz, die bei 128–131° schmolz. Es liegt das $3\alpha,4\beta$ -Diacetoxy-cholestan (XIIb) vor. Zur Analyse wurde das Präparat aus Methanol umkrystallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 100° getrocknet. Smp. 132–133°.

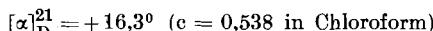


3,685 mg Subst. gaben 10,268 mg CO_2 und 3,521 mg H_2O

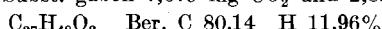


Gef. „ 76,04 „ 10,69%

Verseifung zum $3\alpha,4\beta$ -Dioxy-cholestan (XIIa). 200 mg Diacetat XIIb wurden mit äthanolischer Natriumhydrogencarbonat-Lösung verseift und anschliessend aufgearbeitet. Aus Alkohol umkrystallisiert schmolz das $3\alpha,4\beta$ -Dioxy-cholestan (XIIa) (150 mg) bei 234–236°. Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.



2,616 mg Subst. gaben 7,679 mg CO_2 und 2,815 mg H_2O



Gef. „ 80,11 „ 12,04%

b) $3\alpha,5$ -Dioxy-koprostan (VIa). Die Äther-Fraktionen (30 mg) des ersten Chromatogramms lieferten aus Alkohol umkrystallisiert Krystalle, die bei 135–138° schmolzen. Durch nochmaliges Umkrystallisieren stieg der Schmelzpunkt auf 138–139°. Die Mischprobe mit dem weiter unten beschriebenen Präparat von 3α -Acetoxy-5-oxy-koprostan (VIb) (Smp. 148°) zeigte keine Depression.

Zur sicheren Identifizierung wurden die Mutterlaugen dieses Präparates in alkoholischer Lösung mit Natriumhydrogencarbonat verseift und das Rohprodukt aus Methanol umkrystallisiert. Die Substanz schmolz dann bei 185–187° und zeigte im Gemisch mit dem weiter unten genauer beschriebenen $3\alpha,5$ -Dioxy-koprostan (VIa) keine Schmelzpunktserniedrigung.

$3\alpha,5$ -Dioxy-koprostan (VIa).

Hydrierung von 3 -Keto- $4\beta,5$ -oxido-koprostan (V) in Äthanol. 3,7 g 3 -Keto- $4\beta,5$ -oxido-koprostan (V) wurden in 400 cm³ Äthanol gelöst, mit 200 mg vorhydriertem Platinoxyd (Adams) versetzt und unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 4 Stunden waren 294 cm³ (0°, 760 mm, 1,4 Mol.) Wasserstoff verbraucht. Vom Katalysator wurde abfiltriert und die Lösung auf ein kleines Volumen eingeengt, worauf sich 1,2 g Krystalle ausschieden, die als 3α -Oxy- $4\beta,5$ -oxido-koprostan (IXa) identifiziert werden konnten. Die Mutterlaugen wurden zur Trockne eingedampft (2,5 g) und in üblicher Weise mit einem Gemisch von Acetanhydrid-Pyridin acetyliert. Die rohen Acetate (2,7 g) wurden an einer Säule von 75 g Aluminiumoxyd (Aktivität II) vorsichtig chromatographiert.

Die ersten drei mit Petroläther eluierten Fraktionen konnten nicht krystallisiert werden. Die folgenden 4 Fraktionen lieferten nach dem Umkrystallisieren aus Äthanol 280 mg 3β -Acetoxy- $4\beta,5$ -oxido-koprostan (VIIIb). Aus den Fraktionen 10–20, welche mit Petroläther-Benzol 4:1 eluiert wurden, konnten 435 mg 3α -Acetoxy- $4\beta,5$ -oxido-koprostan (IXb) isoliert werden. Die folgenden Eluate 21–32 bestanden aus Mischfraktionen und konnten nicht krystallisiert werden.

$3\alpha,5$ -Dioxy-koprostan (VIa). Schliesslich liessen sich mit Äther (Fraktionen 33–38) 420 mg des gesuchten 3α -Acetoxy-5-oxy-koprostans (VIb) eluieren. Dieses wurde zur Reinigung mit alkoholischer Natriumhydrogencarbonat-Lösung verseift und in bekannter Weise aufgearbeitet. Das Rohprodukt lieferte aus Methanol umkrystallisiert 120 mg Blättchen, die unscharf bei 172–184° schmolzen. Nach dreimaligem Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 192–193°. Zur Analyse wurde eine Probe 24 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

$$[\alpha]_D^{21} = +47,3^\circ \text{ (c} = 0,605 \text{ in Chloroform)}$$

3,964 mg Subst. gaben 11,606 mg CO₂ und 4,174 mg H₂O

C₂₇H₄₈O₂ Ber. C 80,14 H 11,96%

Gef. „ 79,90 „ 11,78%

Die Mischprobe mit 3 α ,5-Dioxy-cholestan¹⁾ vom Smp. 198—199° schmolz bei 165—170°.

3 α -Acetoxy-5-oxy-koprostan (VIIb). 30 mg 3 α ,5-Dioxy-koprostan (VIa) wurden in einem Gemisch von 1 cm³ Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid in bekannter Weise acetyliert und aufgearbeitet. Das Rohprodukt (31 mg) wurde zweimal aus 75-proz. Äthanol umkristallisiert und schmolz dann bei 147—148°. Zur Analyse wurde eine Probe bei 90° 72 Stunden im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{21} = +50,8^\circ \text{ (c} = 1,980 \text{ in Chloroform)}$$

3,610 mg Subst. gaben 10,313 mg CO₂ und 3,615 mg H₂O

C₂₉H₅₀O₃ Ber. C 77,97 H 11,28%

Gef. „ 77,90 „ 11,20%

Die Mischprobe mit 3 α -Acetoxy-5-oxy-cholestan¹⁾ vom Smp. 131—132° schmolz bei 124—125°.

3-Keto-5-oxy-koprostan (III).

33 mg 3 α ,5-Dioxy-koprostan (VIa) wurden in 20 cm³ Eisessig gelöst und unter Kühlung tropfenweise mit 0,3 cm³ einer 1,19-n. Lösung von Chromtrioxyd in Eisessig versetzt. Nach 24 Stunden wurde die überschüssige Chromsäure mit wenig Methanol zerstört, die Lösung in Wasser eingerührt und mit Äther extrahiert. Die übliche Aufarbeitung ergab 30 mg eines kristallisierten Rohproduktes, das bei 148—152° schmolz. Nach dem Umkristallisieren aus 75-proz. Methanol lag der Smp. bei 151—152°. Zur Analyse wurde eine Probe bei 85° im Hochvakuum getrocknet.

$$[\alpha]_D^{21} = +63,1^\circ \text{ (c} = 0,758 \text{ in Chloroform)}$$

3,494 mg Subst. gaben 10,309 mg CO₂ und 3,611 mg H₂O

C₂₇H₄₆O₂ Ber. C 80,54 H 11,52%

Gef. „ 80,55 „ 11,56%

4⁴-3-Keto-cholesten (II). 8 mg 3-Keto-5-oxy-koprostan (III) wurden im Hochvakuum auf 110° erhitzt. Nach 24 Stunden war die Substanz geschmolzen. Sie wurde aus Alkohol umkristallisiert und zeigte dann einen Schmelzpunkt von 76—78°. Nach nochmaligem Umkristallisieren schmolz das Präparat bei 78—79° und gab im Gemisch mit Cholestenon vom Smp. 79—80° keine Depression.

Aufspaltung von 3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa) zur 3 α ,4,5-Trioxy-Verbindung (X bzw. XI).

500 mg 3 α -Oxy-4 β ,5-oxido-koprostan (IXa) wurden in einem Gemisch von 20 cm³ Dioxan und 5 cm³ Wasser unter Zusatz einiger kleinen Stückchen Tonteller im V₂A-Einschlussrohr 7 Tage auf 150—160° erhitzt. Anschliessend wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, die Substanz in Äther aufgenommen, die Äther-Lösung mit Wasser gut gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Alkohol umkristallisiert und lieferte 120 mg Krystalle. Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal aus Alkohol umkristallisiert und anschliessend im Hochvakuum bei 100° 72 Stunden getrocknet. Smp. 295—297°.

$$[\alpha]_D^{21} = +43,5^\circ \text{ (c} = 0,818 \text{ in Pyridin)}$$

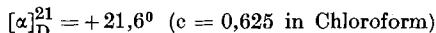
3,622 mg Subst. gaben 10,229 mg CO₂ und 3,724 mg H₂O

C₂₇H₄₈O₃ Ber. C 77,09 H 11,50%

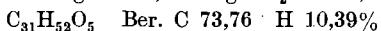
Gef. „ 77,08 „ 11,51%

¹⁾ Helv. 31, 1455 (1948).

Diacetat (Xb bzw. XIb): 50 mg des Triols (Xa bzw. XIa) wurden in einem Gemisch von 2 cm³ Pyridin und 2 cm³ Acetanhydrid acetyliert und in bekannter Weise aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde zweimal aus Alkohol umkristallisiert und schmolz dann bei 129–130°. Zur Analyse wurde eine Probe 48 Stunden bei 95° im Hochvakuum getrocknet.



3,583 mg Subst. gaben 9,694 mg CO₂ und 3,389 mg H₂O



Gef. „, 73,86 „, 10,58%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. *W. Manser* ausgeführt.

Zusammenfassung.

Durch katalytische Reduktion des Cholestenon-epoxyds ist es gelungen, auf partialsynthetischem Weg 3 α ,5-Dioxy-koprostan zu bereiten, das in der räumlichen Anordnung des Asymmetriezentrums 5 der Konfiguration des Strophanthidins und verwandter Aglykone entspricht.

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

240. Sur les enzymes amylolytiques VIII¹⁾.

L' α -amylase de pancréas de porc cristallisée

par *Ed. H. Fischer*²⁾ et *P. Bernfeld*.

(3 IX 48)

Nous avons décrit l'isolement³⁾ puis la cristallisation⁴⁾ de l' α -amylase de pancréas de porc. Nous rapportons ici une méthode simplifiée et améliorée de purification de l'enzyme, sa cristallisation ainsi que ses propriétés.

Méthode améliorée de purification.

Nous avons constaté que la stabilité de l' α -amylase de pancréas de porc était considérablement augmentée lors de sa purification, en opérant en milieu alcalin. Ainsi, nous avons pu éviter l'adjonction d'une solution d'amylase bouillie employée naguère pour stabiliser

¹⁾ VII^{me} communication, *Helv.* **31**, 1735 (1948).

²⁾ Boursier de la *Fondation pour des recherches scientifiques dans le domaine de la chimie*.

³⁾ *K. H. Meyer, Ed. H. Fischer et P. Bernfeld, Exper.* **2**, 362 (1946); *Helv.* **30**, 64 (1947).

⁴⁾ *K. H. Meyer, Ed. H. Fischer et P. Bernfeld, Exper.* **3**, 106 (1947); *Arch. Biochem.* **14**, 149 (1947).