

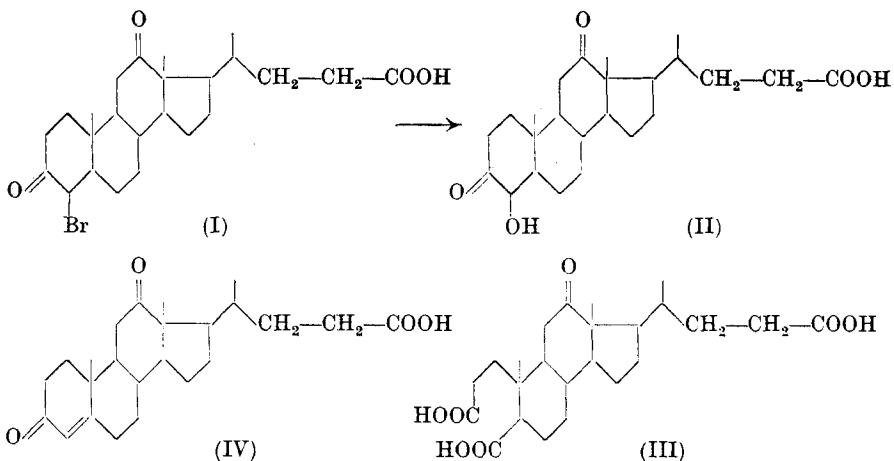
126.  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure und Versuch zur Überführung derselben in 3,12-Diketo-allo-cholensäure

von J. Sawlewicz<sup>1)</sup> und T. Reichstein.

(4. VIII. 37.)

Diese Arbeit bezweckte die Herstellung der 3,12-Diketo-allo-cholensäure. Wegen Zeitmangel konnte sie nicht bis zu Ende geführt werden; es werden daher die bisherigen Resultate mitgeteilt.

Als Ausgangsmaterial benützten wir die 4-Brom-3,12-diketo-cholensäure (I)<sup>2)</sup>, bei der die Stellung des Bromatoms durch Austausch gegen Hydroxyl und Oxydation der 4-Oxy-3,12-diketo-cholensäure (II) zu Desoxy-biliansäure (III) von *Noguchi*<sup>3)</sup> sicher gestellt worden war. Ausserdem fanden wir, dass die 3-Acet-oxy-12-keto-cholensäure<sup>4)</sup> unter den angewandten Bromierungsbedingungen kein Brom aufnimmt.



Durch Kochen mit Pyridin lässt sich aus dieser Säure Bromwasserstoff abspalten, und es entsteht die  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure (IV). Das war nach dem bekannten Verhalten<sup>5)</sup> von in 4-Stellung bromierten Koprostanonderivaten zu erwarten. Die Brom-

<sup>1)</sup> Ich verdanke ein Stipendium dem *Fundusz Kultury Narodowej* (Warschau), das mir die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte.

<sup>2)</sup> T. *Noguchi*, Z. physiol. Ch. **200**, 48 (1931).

<sup>3)</sup> T. *Noguchi*, Z. physiol. Ch. **209**, 249 (1932).

<sup>4)</sup> H. *Wieland*, E. *Dane* und E. *Scholz*, Z. physiol. Ch. **211**, 261 (1932).

<sup>5)</sup> Bei 4-Brom-pregnandion, A. *Butenandt*, J. *Schmidt*, B. **67**, 1901 (1934); bei 4-Brom-3-keto-bis-nor-cholansäure, A. *Butenandt*, L. *Mamoli*, B. **68**, 1855 (1935); bei 4-Brom-koprostanon, A. *Butenandt*, A. *Wolff*, B. **68**, 2091 (1935).

wasserstoffabspaltung gelingt auch mit Kaliumacetat in Eisessig, wobei aber gleichzeitig das Acetat der Säure (II) gebildet wird. Die Säure (IV) zeigt im U.V.-Absorptionsspektrum die typische Bande der  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Ketone<sup>1)</sup>.

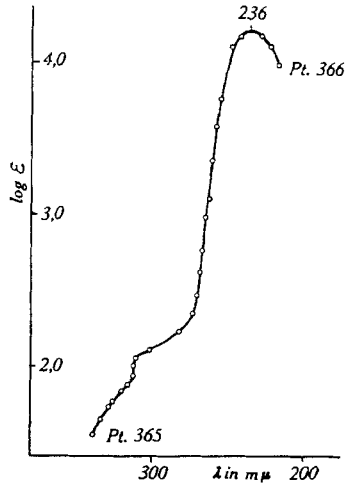
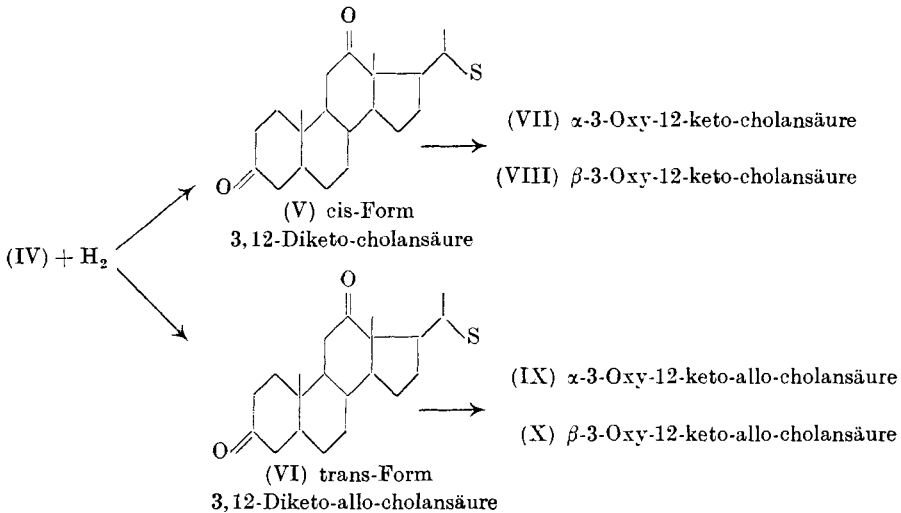


Fig. 1.

$\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure.

Pt 365 0,0728% in Alkohol. Pt 366 0,00728% in Alkohol.

Die Säure (IV) wurde in den gut krystallisierten Methylester übergeführt und dieser in neutraler, methyl-alkoholischer Lösung hydriert, und zwar bis zur Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff einerseits einstufig mit Nickel, anderseits zweistufig zuerst mit Palladium, dann mit Platin.



<sup>1)</sup> Die Kurve verdanken wir Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mohler in Zürich.

Nach den bisher vorhandenen Beobachtungen<sup>1)</sup> bei der Hydrierung von Cholestenonderivaten war zu erwarten, dass in der ersten Stufe ein Gemisch von Diketo-cholansäure (V) und Diketo-allocholansäure (VI) entsteht. Wir haben, wie gesagt, bisher nicht versucht, dieses zu trennen, sondern gleich weiter reduziert. Aus (V) sollte in neutraler Lösung zur Hauptsache die  $\alpha$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure (VII) (nicht fällbar mit Digitonin) entstehen und wenig der  $\beta$ -Form (VIII). Aus (VI) dagegen sollte sich zur Hauptsache die mit Digitonin fällbare  $\beta$ -Form (X) neben wenig (IX) bilden (IX und X sind bisher unbekannt).

Es wurde daher das Endprodukt als Ester mit Digitonin getrennt. Sowohl beim Nickel-, wie beim Palladium-Platin-Versuch konnten bisher nur (VII) und (VIII) in reiner Form erhalten werden, die durch Oxydation mit Chromtrioxyd wieder reine Dehydro-desoxy-cholsäure (V) oder Desoxy-biliansäure (III) gaben. Nur das Verhältnis dieser beiden war verschieden; mit Nickel wurde relativ viel (VIII) erhalten, während diese Säure mit Platin in geringerer Menge und sehr unrein entsteht.

Die Hydrierung war also so verlaufen, dass sich offenbar in erster Stufe relativ viel (V) und sehr wenig (VI) gebildet hatte. Die Hydrierungsprodukte von (VI) sind dann bei der Reinigung nicht aufgefunden worden.

Der Verlauf der Hydrierung der freien Dehydro-desoxy-cholsäure (V) ist kürzlich von *K. Kyogoko*<sup>2)</sup> untersucht worden. Er fand ebenfalls, dass sich bei Anwendung von Platin in neutralem oder alkalischem Medium ein Gemisch von (VII) und (VIII) bildet.

### Experimenteller Teil.

Dehydro-desoxy-cholsäure (V) wurde nach *H. Wieland* und *T. Noguchi*<sup>3)</sup> hergestellt, nur dass ohne Rühren über Nacht oxydiert und dann die Hauptmenge des Eisessigs im Vakuum entfernt wurde. Ausbeute wie angegeben. Die 4-Brom-3,12-diketo-cholansäure wurde nach *T. Noguchi*<sup>4)</sup> hergestellt.

*Abspaltung von Bromwasserstoff aus 4-Brom-3,12-diketo-cholansäure.*

a) Mit Pyridin.

5 g 4-Brom-3,12-diketo-cholansäure wurden in 150 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin gelöst und 5 Stunden zum Sieden erhitzt. Hierauf wurde die Hauptmenge des Pyridins im Vakuum verdampft. Die mit Wasser verdünnte, angesäuerte Reaktionslösung wurde mit Äther

<sup>1)</sup> *L. Ruzicka, H. Brüngger, E. Eichenberger* und *Jules Meyer*, *Helv.* **17**, 1415 (1934); *H. Grasshof*, *Z. physiol. Ch.* **223**, 250; **225**, 197 (1934).

<sup>2)</sup> *Z. physiol. Ch.* **246**, 99 (1937).

<sup>3)</sup> *Z. physiol. Ch.* **194**, 257 (1931).

<sup>4)</sup> *Z. physiol. Ch.* **200**, 48 (1931).

ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen und Einengen der ätherischen Lösung wurde der krystallisierende Rückstand abgesaugt und aus Essigester umkrystallisiert. Der Smp. lag bei 199—201°. Ausbeute 2 g.

b) Mit Kaliumacetat.

3 g 4-Brom-3,12-diketo-cholansäure wurden in 75 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit 2 g wasserfreiem Kaliumacetat während 15 Stunden gekocht. Die Hauptmenge des Eisessigs wurde im Vakuum eingedampft. Die Reaktionslösung wurde in Äther aufgenommen und gut mit Wasser gewaschen. Nach Einengen wurde der Rückstand mit Essigester versetzt und die abgeschiedenen Krystalle nach einigem Stehen filtriert. Der Schmelzpunkt dieses Produktes lag nach dem Umkrystallisieren aus 60-proz. Eisessig bei 240—242° (gesintert und noch einmal krystallisiert bei 214—216°). Ausbeute 0,15 g.

4,303 mg Subst. gaben 10,94 mg CO<sub>2</sub> und 3,23 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{26}H_{38}O_6$  Ber. C 69,90 H 8,59%  
 Gef. „ 69,34 „ 8,40%

Die Analysenwerte zeigen, dass dieses Produkt die Acetoxy-3,12-diketo-cholansäure ist.

Aus dem Filtrat wurden nach längerem Stehen noch 0,9 g Krystalle erhalten, deren Smp. bei 198—204° lag. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Essigester erhielt man die ganz reine  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholansäure vom Smp. 199—201°. Eine Mischprobe mit der Säure, welche durch Entbromung mit Pyridin entstanden war, zeigt keine Depression.

*$\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure-methylester.*

1 g  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure wurde in 25 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und bis zur bleibenden Gelbfärbung mit einer ätherischen Diazomethanlösung versetzt. Nach kurzem Stehen wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus Methanol umkrystallisiert. Der Smp. lag bei 142—144°. Ausbeute 0,9 g.

Sublimieren einer Probe im Molekularkolben bei 220—230° und 0,05 mm Druck und Umkrystallisieren aus Methanol führte zu einem Smp. von 154—155°.

4,603 mg Subst. gaben 12,625 mg CO<sub>2</sub> und 3,60 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{25}H_{36}O_4$  Ber. C 74,93 H 9,06%  
 Gef. „ 74,81 „ 8,76%

*Hydrierung von  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure-methylester mit Raney-Nickel.*

2,5 g  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure-methylester wurden in 150 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit 2 g frisch bereitetem, aber nicht vorhydrier-

tem *Raney*-Nickel während 2 Stunden in einer Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Der aufgenommene Wasserstoff betrug 300 cm<sup>3</sup>. Der Katalysator wurde abgesaugt und das Methanol im Vakuum entfernt. Den Rückstand löste man in 20 cm<sup>3</sup> Methanol und fügte eine Lösung von 3 g Digitonin in 10 cm<sup>3</sup> Methanol zu. Nach Zusatz von 1 cm<sup>3</sup> Wasser wurde ein weisser Niederschlag ausgefällt. Die Lösungsmittel wurden im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Äther extrahiert.

a) Nicht fällbar mit Digitonin.

Nach dem Einengen der ätherischen Lösung wurde der Rückstand (1 g) aus sehr wenig Methanol umkrystallisiert. Smp. 98—105°.

$\alpha$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure.

0,1 g Produkt vom Smp. 98—105° wurden in 25 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit 0,5 g Kaliumhydroxyd 30 Minuten auf dem Wasserbad gekocht. Durch Zusatz vom Wasser, Entfernen des Methanols im Vakuum und Ansäuern mit Salzsäure wurde die freie Säure abgeschieden; diese wurde mit Äther ausgeschüttelt und nach dem Trocknen durch starkes Einengen krystallisiert erhalten. Zur Reinigung wurde aus Äther nochmals umkrystallisiert. Flache Nadeln vom Smp. 164—165°.

Zum Vergleich wurde die  $\alpha$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure nach *K. Kyogoku*<sup>1)</sup> aus 3-Acetoxy-12-keto-cholansäure hergestellt. Sie krystallisierte aus verdünntem Alkohol oder Äther-Pentan in Nadeln vom Smp. 164—166°. Der mit Diazomethan hergestellte Methyl-ester krystallisierte aus Äther-Pentan langsam in kleinen Nadelbüscheln vom Smp. 106—108°.

Mischprobe der freien Säure mit der durch Hydrierung an Nickel erhaltenen zeigte keine Depression, ebensowenig die Mischprobe der Methylester.

Oxydation der  $\alpha$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure.

30 mg  $\alpha$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure wurden in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 20 mg Chromtrioxyd in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig und einer Spur Wasser versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde das Reaktionsprodukt in Äther aufgenommen und gut mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser gewaschen. Nach starkem Einengen der getrockneten Ätherlösung wurde ein in Äther schwer lösliches Krystallpulver erhalten. Umkrystallisieren desselben aus Aceton durch Einengen führte zu einem Smp. von 303—305°. Eine Mischprobe mit Desoxy-biliansäure zeigte keine Depression.

Titration. 5,718 mg Subst. verbrauchten 3,939 cm<sup>3</sup> 0.01-n. KOH

$C_{24}H_{36}O_7$	Ber. Äquiv.-Gew. 145,4
Gef. „	145,2

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. 246, 99 (1937).

Der Methylester krystallisiert aus Äther-Pentan in langen, flachen Nadeln vom Smp. 117—118°. Die Mischprobe mit Desoxy-biliansäure-trimethylester zeigt keine Depression.

b) Fällbar mit Digitonin.

$\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester.

Das Digitonid, welches wie oben erhalten wurde, wurde in 15 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Pyridin durch leichtes Erwärmen gelöst. Nach dem Erkalten wurde die Pyridinlösung mit absolutem Äther versetzt und das ausgefällte Digitonin abgesaugt und gut mit Äther gewaschen. Die Ätherlösung wurde mit verdünnter Salzsäure, Soda-lösung und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen mit Sulfat wurde der Äther abdestilliert und der verbleibende Rückstand aus Äther umkrystallisiert. Der Smp. lag bei 126—128° korr. *K. Kyogoku* gibt für den Methylester der  $\beta$ -3-Oxy-keto-12-keto-cholansäure einen Smp. von 115—117° unkor. an.

$\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure.

0,7 g  $\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester wurden durch ½stündiges Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge verseift und das gewonnene Produkt aus 70-proz. Aceton umkrystallisiert, wobei man die scharf bei 224—225° korr. schmelzende  $\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure erhielt. Ausbeute 0,6 g.

*K. Kyogoku* gibt für die  $\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure einen Smp. 218—220° unkor. an.

Oxydation der  $\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure.

0,5 g  $\beta$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure wurden in 20 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit einer Lösung von 0,3 Chromtrioxyd in einer Spur Wasser und 5 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde die Hauptmenge des Eisessigs im Vakuum verdampft (Badtemp. 40°), der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Schwefelsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Einengen wurde der krystallisierende Anteil abgesaugt, mit Äther gewaschen und aus Aceton umkrystallisiert. Der Smp. lag bei 302—304° und zeigte keine Depression mit Desoxy-biliansäure. Das in Äther leichtlösliche Produkt wurde nach dem Verdunsten des Äthers aus 70-proz. Aceton umkrystallisiert. Die erhaltenen Krystalle (Blättchen) schmolzen bei 186—188° und zeigten keine Depression mit Dehydro-desoxy-chol-säure. Auch die Methylester waren identisch.

*Hydrierung von  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure-methylester  
mit Palladium und Platin.*

2 g  $\Delta^4$ -3,12-Diketo-cholensäure-methylester wurden in 100 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und mit 50 mg Palladium während 2½ Stunden

in einer Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt, worauf die Hydrierung stillstand. Die Aufnahme von Wasserstoff betrug  $125 \text{ cm}^3$  (Ber. für  $1 \text{ Mol } 112 \text{ cm}^3$ ). Dann wurde das Palladium abfiltriert und nach Zugabe von  $100 \text{ mg}$  Platinoxid weiter während 3 Stunden in einer Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Es wurden noch  $95 \text{ cm}^3$  aufgenommen. Der Katalysator wurde abgesaugt und der Rückstand aufgearbeitet, wie bei der Hydrierung mit *Raney-Nickel*.

Der nicht fällbare Anteil der Methylester wog  $1 \text{ g}$  und wurde aus Äther-Pentan in kleinen Nadelbüscheln vom Smp.  $110\text{--}112^\circ$  erhalten. Die Mischprobe mit  $\alpha$ -3-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester zeigte keine Depression. Alkalische Verseifung gab die freie Säure in schönen Nadeln aus Äther vom Smp.  $164\text{--}166^\circ$ . Oxydation mit Chromtrioxyd liefert Dehydro-desoxy-cholsäure und Desoxy-biliansäure.

Der aus dem Digitonid gewonnene Methylester ( $1 \text{ g}$ ) lieferte nach Umkrystallisieren aus Äther-Pentan Blättchen, die unscharf bei  $80\text{--}90^\circ$  schmolzen. Alkalische Verseifung (einschliesslich der Mutterlauge) gab eine Säure, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren unscharf bei  $158\text{--}165^\circ$  schmolz. Es wurde zuerst vermutet, dass hier die gesuchte Allo-säure vorläge. Es handelt sich aber um ein Gemisch, das relativ viel 3-Oxy-12-keto-cholansäure enthalten muss; denn die Oxydation mit Chromtrioxyd lieferte neben wenig Desoxy-biliansäure als einzig fassbares Produkt wieder Dehydro-desoxy-cholsäure (als reine Säure und als Methylester charakterisiert). Der Rest bleibt ölig oder halbkristallinisch.

Für die Gewinnung von (VI) dürfte es demnach zweckmässig sein, zunächst das Hydrierungsgemisch der ersten Stufe zu trennen und daraus entweder (VI) direkt zu isolieren oder das Gemisch wenigstens vor weiterer Hydrierung von der Hauptmenge (V) zu befreien, da sich sonst aus (V) zu viel mit Digitonin fällbare  $\beta$ -Säure (VIII) bildet, welche die Isolierung von (X) stört. Dies konnte wegen Zeitmangel nicht mehr durchgeführt werden.

Die Mikroanalysen wurden im Mikroanalyt. Laboratorium des Institutes (Leitung Privat-Doz. Dr. *M. Furter*) ausgeführt.

Laboratorium für organ. Chemie  
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.