

Einwirkung von Salzsäure auf 3 α -Acetoxy-9,11-oxydocholansäure-methylester (X).

40 mg 3 α -Acetoxy-9,11-oxydocholansäure-methylester (X) vom Smp. 120—122° wurden in 1 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,2 cm³ konz. Salzsäure versetzt und ½ Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und anschliessend durch 16-stündiges Stehen mit 0,5 cm³ absolutem Pyridin und 0,1 cm³ Essigsäure-anhydrid acetyliert. Das in üblicher Weise aufgearbeitete Produkt (38 mg) krystallisierte nicht. Die chromatographische Trennung lieferte 4 mg farblose Nadeln vom Smp. 120—122°, die sich nach Mischprobe als unverändertes Ausgangsmaterial (X) erwiesen. Der Rest krystallisierte nicht.

Die Mikroanalysen wurden teils bei Hrn. Dr.-Ing. A. Schoeller, Berlin (Sch.), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (E.T.H.), (Leitung H. Gubser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

59. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

22. Mitteilung.¹⁾

11 α -Keto- und 11 α -Oxy-cholansäure

von H. Reich und T. Reichstein

(11. II. 32)

Eine grössere Anzahl von aus Nebennieren isolierten Steroiden zeichnet sich durch das Vorhandensein eines Sauerstoffatoms in 11-Stellung aus, dessen Anwesenheit auch von Einfluss auf die physiologische Wirksamkeit ist²⁾. In anderen Naturprodukten ist das Vorhandensein eines Sauerstoffatoms in dieser Stellung bisher nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden. Für das Digoxigenin³⁾ und das Sarmentogenin⁴⁾ sind zwar von *Tschesche* und *Bohle* ursprünglich Formeln mit einer 11-ständigen Hydroxylgruppe vorgeschlagen worden. Inzwischen hat sich aber gezeigt, dass sich diese Hydroxyl-

¹⁾ 21. Mitteilung vgl. *E. Seebeck, T. Reichstein, Helv.* **26**, 536 (1943).

²⁾ Vgl. *A. Grollman, J. Pharmacol. exptl. Therapeut.* **67**, 257 (1939); *D. J. Ingle, Am. J. Physiol.* **129**, P. 386 (1940); *C. N. H. Long, B. Katzin, E. G. Fry, Endocrinology* **26**, 309 (1940); *B. B. Wells, E. C. Kendall, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic* **15**, 133, 493, 565 (1940); *E. C. Kendall, Proc. Staff Meetings Mayo Clinic* **15**, 297 (1940); *J. F. Grattan, H. Jensen, J. Biol. Chem.* **135**, 511 (1940); *G. W. Thorn, G. F. Koepf, R. A. Lewis, E. F. Olsen, J. Clin. Investigation* **19**, 813 (1940).

³⁾ *R. Tschesche, K. Bohle, B.* **69**, 793 (1936).

⁴⁾ *R. Tschesche, K. Bohle, B.* **69**, 2497 (1936).

gruppe wenigstens beim Digoxigenin in 12-Stellung befindet¹⁾. Auch für das Ouabain (g-Strophantoin) ist zuerst von *Fieser* und *Newman*²⁾ eine hypothetische Formel mit einer Hydroxylgruppe in 11-Stellung aufgestellt worden, die von *Tschesche* und *Haupt*³⁾ kritisiert wurde. Vor kurzem ist es *Mannich* und *Siewert*⁴⁾ erstmals gelungen, das Ouabaigenin (g-Strophantidin) aus dem genannten Glucosid unverehrt abzuspalten und zu krystallisieren. Sie schlagen eine etwas andere Strukturformel vor, die aber ebenfalls in 11-Stellung eine Hydroxylgruppe aufweist, was unserer Meinung nach unbegründet ist⁵⁾. Versuche zur künstlichen Einführung einer Hydroxyl- oder Ketogruppe in 11-Stellung sind verschiedentlich beschrieben worden, doch haben sie bisher nur zu Stoffen geführt, die ausserdem noch in 12-Stellung ein weiteres Sauerstoffatom besitzen⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾. Versuche, dieses zu eliminieren oder auf anderem Wege zu Stoffen zu gelangen, die im Ring C nur in 11-Stellung Sauerstoff tragen, haben bisher keinen Erfolg gehabt⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾. Wir beschreiben im folgenden die erste gelungene Teilsynthese eines solchen Stoffes am Beispiel der 11-Ketocholansäure.

Als Ausgangsmaterial diente der Cholen-(11)-säure-methylester (I)¹³⁾¹⁵⁾, der mit unterbromiger Säure umgesetzt wurde. Die Reaktion scheint dabei gleichzeitig nach drei Richtungen zu verlaufen. Unter Verbrauch von 1,75 Mol HOBr entstand ein Stoffgemisch, das nicht sauber getrennt werden konnte und daher direkt mit Chromsäure oxydiert und anschliessend mit Zinkstaub entbromt wurde. Aus dem nunmehr erhaltenen Gemisch liessen sich durch chromatographische Trennung relativ leicht drei Stoffe isolieren, nämlich etwas

¹⁾ *M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938); W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc. 60, 1493 (1938); H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938); 61, 1614 (1939).*

²⁾ *L. F. Fieser, M. S. Newman, J. Biol. Chem. 114, 705 (1936).*

³⁾ *R. Tschesche, W. Haupt, B. 70, 43 (1937).*

⁴⁾ *C. Mannich, G. Siewert, B. 75, 737 (1942).*

⁵⁾ Ouabaigenin besitzt sechs Hydroxylgruppen, von denen sich vier mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin bei Zimmertemperatur acetylieren lassen. Die beiden anderen sollen nach *Mannich* und *Siewert* wahrscheinlich tertiär gebunden sein. Unter der Voraussetzung, dass dies zutrifft, ist das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe in 11-Stellung ausgeschlossen, da sich eine solche unter den genannten Bedingungen nicht acetylieren lässt.

⁶⁾ *H. Wieland, T. Posternak, Z. physiol. Ch. 197, 17 (1931).*

⁷⁾ *H. Wieland, E. Dane, Z. physiol. Ch. 216, 99 (1933).*

⁸⁾ *J. Barnett, T. Reichstein, Helv. 21, 926 (1938).*

⁹⁾ *R. E. Marker, E. J. Lawson, Am. Soc. 60, 1334 (1938).*

¹⁰⁾ *J. Barnett, T. Reichstein, Helv. 22, 75 (1939).*

¹¹⁾ *B. B. Longwell, O. Wintersteiner, Am. Soc. 62, 200 (1940).*

¹²⁾ *P. N. Chakravorty, E. S. Wallis, Am. Soc. 62, 318 (1940).*

¹³⁾ *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 805 (1942).*

¹⁴⁾ *S. Bergström, G. A. D. Haslewood, Soc. 1939, 540.*

¹⁵⁾ *A. Lardon, P. Grandjean, J. Press, H. Reich, T. Reichstein, Helv. 25, 1444 (1942).*

Ausgangsmaterial (I), dann als Hauptprodukt ein neuer Stoff, der aus den zu besprechenden Gründen den gesuchten 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) darstellen dürfte, sowie unerwarteterweise der 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (VIII)¹⁾²⁾³⁾. Wir erklären uns den Reaktionsverlauf wie folgt: Grösstenteils lagert sich die unterbromige Säure an die Doppelbindung von (I) an und liefert den 11-Oxy-12-brom-cholansäure-methylester (V), daneben wirkt sie bromierend, und zwar in zweierlei Weise. Einerseits bildet sich der 11,12-Dibrom-cholansäure-methylester (II)⁴⁾, der sich durch chromatographische Trennung des rohen Reaktionsgemisches in kristallisierter Form isolieren liess. Andererseits tritt Bromierung in 9-Stellung ein⁵⁾, wobei voraussichtlich ein 9-Brom-cholen-(11)-säure-methylester (III) entsteht, der weiter unterbromige Säure addiert, nunmehr aber wegen des orientierenden Einflusses des Bromatoms in 9-Stellung unter Bildung des 12-Oxy-9,11-dibrom-cholansäure-methylesters (IV), sodass als nicht getrennte erste Einwirkungsprodukte (V), (II) und (IV) resultieren. Möglicherweise ist auch teilweise bereits durch die unterbromige Säure weitere Oxydation von (V) und (IV) zu (VII) und (VI) erfolgt. In besonderen Versuchen wurde nämlich festgestellt, dass sekundäre Hydroxylgruppen an verschiedenen Stellen des Sterin-Gerüsts durch unterbromige Säure leicht zu Ketogruppen oxydiert werden⁶⁾. Die Oxydation des Gemisches mit Chromsäure bewirkt oder vervollständigt den Übergang von (V) und (IV) in die Keto-ester (VII) und (VI), während (II) von Chromsäure nicht verändert wird. In den Brom-keto-estern (VII) und (VI) ist nunmehr das Sauerstoffatom gegenüber Reduktionsmitteln fixiert, das Bromatom jedoch beweglich geworden. Durch die anschliessende Behandlung mit Zinkstaub tritt leicht Entbromung zu (IX) und (VIII) ein, während aus dem Dibromid (II) wieder Ausgangsmaterial (I) entsteht. Natürlich ist es möglich, dass

1) *J. Barnett, T. Reichstein, Helv. 21, 926 (1938).*

2) *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 26, 492 (1943).*

3) Die Bildung eines analogen ungesättigten Keto-esters wurde zuerst bei der Umsetzung von 3-Keto-cholen-(11)-säure-methylester mit unterbromiger Säure etc. beobachtet (vgl. die folgende Mitteilung).

4) *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 805 (1942).*

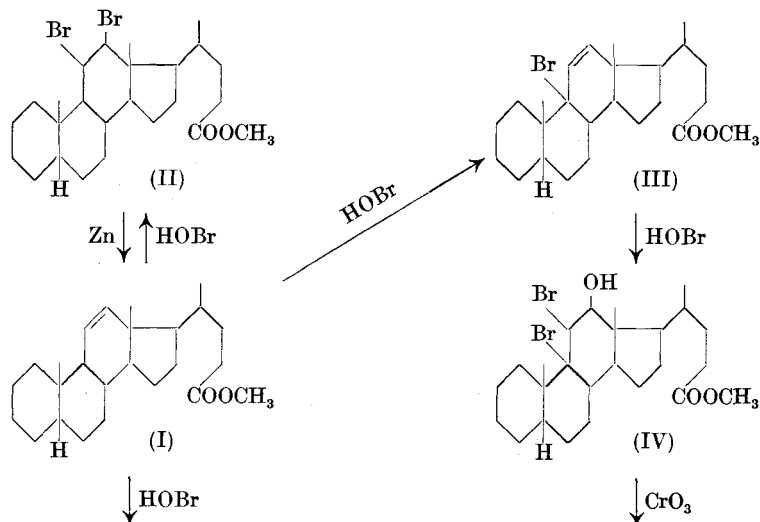
5) Ersatz von Wasserstoffatomen durch Brom in Nachbarstellung zu einer Doppelbindung ist bei der Einwirkung von Bromacetamid verschiedentlich beobachtet worden, vgl. *A. Wohl, B. 52, 51 (1919)*; *A. Wohl, K. Jaschinowski, B. 54, 476 (1921)*. An der β -Cyclogeranium-säure konnte ein solcher Reaktionsverlauf auch mit elementarem Brom bei Belichtung erzielt werden, *G. Wendt, B. 74, 1242 (1941)*. In einer kürzlich erschienenen Arbeit zeigten *K. Ziegler, A. Späth, E. Schaaf, W. Schumann, E. Winkelmann, A. 551, 80 (1942)*, dass die Bromierung von ungesättigten Substanzen in der Allylstellung durch Verwendung von N-Brom-succinimid in indifferenten Lösungsmitteln zur Hauptreaktion werden kann.

6) Vgl. auch die ähnliche Bildung einer 3,11-Diketo-säure mit Bromwasser, *J. von Erw, T. Reichstein, Helv. 25, 988 (1942).*

bei der Reaktion mit unterbromiger Säure noch andere Zwischenprodukte entstehen¹⁾, hingegen konnten als Endprodukte nur die drei genannten Stoffe (IX), (I) und (VIII) aufgefunden werden. Insbesondere dürfte gesättigter 12-Keto-cholansäure-methylester²⁾ nicht entstehen³⁾, d. h. dass eine primäre Bildung von 12-Oxy-11-brom-ester offenbar nicht stattfindet.

Für die Ausführung der geschilderten Reaktion konnte freie unterbromige Säure in wässrigem tert. Butylalkohol verwendet werden. Bequemer ist Bromacetamid in dem gleichen Lösungsmittel oder auch in wässrigem Aceton. Ebenso ist unterchlorige Säure verwendbar oder Chloramin in Gegenwart einer Spur Säure, wobei entsprechende Zwischenprodukte anzunehmen sind, die Chlor statt Brom enthalten.

Die Konstitution von (IX) ergibt sich aus dem Umstand, dass die Lage der Doppelbindung in (I) gesichert ist und dass der Stoff (IX) einen gesättigten Keto-ester der Formel $C_{25}H_{40}O_3$ darstellt, der mit dem bekannten 12-Keto-cholansäure-methylester⁴⁾ nicht identisch ist. Die Ketogruppe ist wie in den natürlichen Nebennieren-Steroiden äusserst träg und lässt sich mit Ketonreagenzien nicht nachweisen.



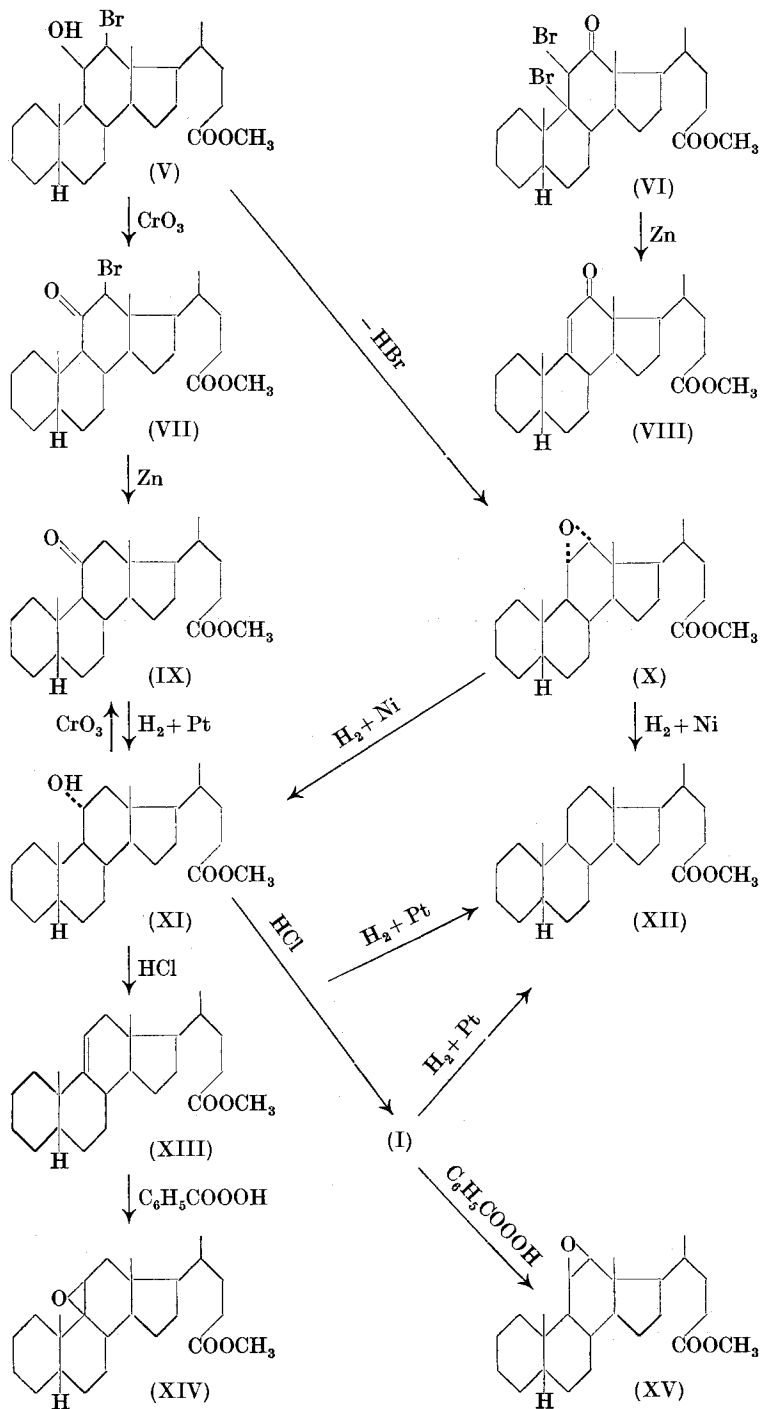
¹⁾ Leicht möglich wäre z. B. die Bildung eines 9,11,12-Tribromids, das bei der Entbromung mit Zinkstaub voraussichtlich (I) liefern würde.

²⁾ J. Barnett, T. Reichstein, Helv. **21**, 926 (1938).

³⁾ Der erhaltene Ester (VIII) zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei 235 m μ und $\log \epsilon = 4,03$, woraus hervorgeht, dass er praktisch frei von dem isomorphen⁵⁾ gesättigten 12-Keto-ester ist.

⁴⁾ J. Barnett, T. Reichstein, Helv. **21**, 926 (1938).

⁵⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. **26**, 492 (1943).



Hingegen konnte der Keto-ester (IX) ($C_{25}H_{40}O_3$) durch katalytische Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig langsam zu einem neuen Stoff der Zusammensetzung $C_{25}H_{42}O_3$ reduziert werden, der sich durch Einwirkung von Chromsäure quantitativ wieder zum Ausgangsprodukt (IX) zurückoxydieren liess. Ein solcher reversibler Übergang ist nur zwischen einem Keton und einem sekundären Alkohol möglich. Den bei der erwähnten Hydrierung entstehenden, sterisch einheitlichen Oxy-ester bezeichnen wir aus den weiter unten angegebenen Gründen vorläufig als 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI), wobei also die Hydroxylgruppe in der üblichen Projektionsart als hinter der Tafelenebene liegend zu denken ist¹⁾.

Von *Kendall* und Mitarbeitern²⁾ ist erstmals gezeigt worden, dass die 11-ständige Ketogruppe in Nebennieren-Steroiden hydrierbar ist. Aus einer 3-Oxy-11-keto-ätio-allo-cholansäure erhielten sie eine 3,11-Dioxy-ätio-allo-cholansäure. Weiter konnten sie Gründe beibringen, die es wahrscheinlich machen, dass die 11-ständige Hydroxylgruppe in der neuen Säure räumlich umgekehrt angeordnet ist wie die native, in 11-Stellung befindliche Hydroxylgruppe des Corticosterons. Die Konfiguration der letzteren ist nicht gesichert, doch würden die obigen Befunde *Kendall's* dafür sprechen, dass sie β -ständig angeordnet ist³⁾, wenigstens wenn man annimmt, dass die Hydrierung einer 11-ständigen Ketogruppe mit Platin in Eisessig sowohl in der Cholansäure-Reihe als in der Allo-Reihe zu 11 α -Oxy-Verbindungen führt.

Als wesentlichste, vorläufige Stütze für die erwähnte Raumformel des Oxy-esters (XI) sehen wir die folgenden Ergebnisse an, die bei Versuchen erhalten wurden, das bei der Einwirkung von unterbromiger Säure auf (I) erhaltene Gemisch durch Chromatographie über Aluminiumoxyd zu trennen. Aus diesem Gemisch, das — wie oben gesagt — in gewichtsmässig abnehmender Reihenfolge zur Hauptsache aus den drei Stoffen (V), (II) und (IV) besteht, liessen sich bei Verwendung von stark aktivem Aluminiumoxyd in der Tat drei Stoffe gewinnen, nämlich das krystallisierte Dibromid (II), ferner in etwa 35 % Ausbeute ein bei 64° schmelzender, bromfreier Stoff, sowie eine kleinere Menge eines amorphen, bromhaltigen Produktes, das voraussichtlich zur Hauptsache aus (IV) bestand; denn nach Entbromung mit Zinkstaub und anschliessender Oxydation mit Chromsäure wurde daraus der Ester (VIII) erhalten. Besonderes Interesse hat der

¹⁾ Zur Nomenklatur vgl. *B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942)*.

²⁾ *H. L. Mason, W. M. Hoehn, B. F. McKenzie, E. C. Kendall, J. Biol. Chem. 120, 719 (1937)*.

³⁾ Unsicher, wenn auch wahrscheinlich ist es ferner, dass sie dieselbe Konfiguration besitzt, wie das analoge Hydroxyl in den Vertretern der Nebennieren-Steroide der $C_{21}O_3$ -Gruppe. Für diese wurde vor kurzem gezeigt⁴⁾, dass die Substanzen A, E, M und V in bezug auf die Hydroxylgruppe in 11-Stellung räumlich gleich gebaut sind.

⁴⁾ *J. v. Euw, T. Reichstein, Helv. 25, 988 (1942)*.

erwähnte bromfreie Stoff. Die relativ gute Ausbeute an diesem Körper und das gleichzeitige Verschwinden von (V) deutet darauf hin, dass er aus (V) entstanden ist. Die Verbrennung ergab eine Formel $C_{25}H_{40}O_3$, d. h. er ist mit dem 11-Keto-ester (IX) isomer, aber weder mit diesem noch mit dem 12-Keto-cholansäure-methylester¹⁾ identisch und stellt, wie besonders aus dem weiter unten erwähnten Hydrierungsergebnis hervorgeht, überhaupt kein Keton dar. Es muss sich somit um ein Oxyd handeln, das durch Bromwasserstoff-Abspaltung, in an sich bekannter Weise, aus dem Bromhydrin (V) entstanden ist, also um ein 11,12-Oxyd. Nun ist ein 11,12-Oxydo-cholansäure-methylester, der aus (I) mit Benzopersäure entsteht, bereits bekannt²⁾; es kommt ihm, wie aus der Hydrierbarkeit zum 12 β -Oxy-cholansäure-methylester hervorgeht, mit grosser Wahrscheinlichkeit die Formel (XV) eines 11 β ,12 β -Oxyds zu. Das neue, durch Bromwasserstoff-Abspaltung aus dem Bromhydrin (V) erhaltene Oxyd muss somit das raumisomere 11 α ,12 α -Oxyd (X) darstellen. Zur weiteren Prüfung dieser Schlussfolgerung verfahren wir ähnlich, wie dies mit Erfolg früher beim β -Oxyd (XV) geschehen ist; wir hydrierten den Stoff (X) mit *Raney*-Nickel unter Druck und erhielten wie dort ein Gemisch von Cholansäure-methylester (XII) und einem Oxy-ester. Der letztere erwies sich nun bemerkenswerterweise nach Schmelzpunkt, Mischprobe und spez. Drehung als identisch mit dem durch Hydrierung mit Platin aus (IX) erhältlichen Oxy-ester (XI) und lieferte wie dieser bei der Oxydation mit Chromsäure reinen Keto-ester (IX). Falls also die Konfiguration des Oxyds (X) richtig ist und bei der hydrierenden Öffnung des Oxydringes kein Konfigurationswechsel stattfindet, so folgt für den Oxy-ester (XI) ebenfalls 11 α -Konfiguration. Da bei Reaktionen mit Äthylenoxyden jedoch sehr häufig *Walden*'sche Umlagerungen eintreten, ist diese Schlussfolgerung nicht als strenger Beweis zu betrachten.

Weiterhin zeigte es sich, dass der Oxy-ester (XI) durch längeres Erwärmen mit Essigsäure-anhydrid und Pyridin acetyliert werden kann. Das Acetat krystallisierte allerdings bisher nicht. Die Reaktion verläuft auch recht träge und zeigt somit hierin grosse Ähnlichkeit mit der äusserst schwer verlaufenden Acetylierung der 11 β (?)-ständigen Hydroxylgruppe der Naturprodukte³⁾.

Wie die natürlichen 11-Oxy-steroid⁴⁾ verhielt sich der 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) auch beim Erwärmen mit Eisessig-

¹⁾ *J. Barnett, T. Reichstein, Helv. 21, 926 (1938).*

²⁾ *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 805 (1942).*

³⁾ Am Modell ist ersichtlich, dass die 11 β -ständige Oxygruppe sterisch stärker gehindert sein sollte als die 11 α -ständige. Versuche zur Bestimmung der relativen Veresterungs- und Verseifungsgeschwindigkeit, die ein weiteres Kriterium für den räumlichen Bau ergeben sollten, können durchgeführt werden, sobald ein geeignetes, nur in 11-Stellung isomeres Stoffpaar erhalten wird.

⁴⁾ *C. W. Shoppee, Helv. 23, 740 (1940); C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. 24, 351 (1941).*

Salzsäure. Es trat Wasserabspaltung ein unter Bildung eines schwer trennbaren Gemisches, das zur Hauptsache aus den zwei Cholensäuremethylestern (XIII) und (I) bestand, dessen Zusammensetzung aber wahrscheinlich je nach den angewandten Bedingungen etwas variiert. Für die Untersuchung eines solchen Gemisches ist vor kurzem eine brauchbare Methode entwickelt worden¹⁾, die auch hier angewandt wurde. Eine Probe des Gemisches wurde mit Platin in Eisessig hydriert und gab unter Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff reinen Cholensäuremethylester (XII). Eine weitere Probe wurde mit Benzopersäure umgesetzt und anschliessend chromatographisch getrennt, wobei zur Hauptsache 9,11-Oxydo-cholensäuremethylester (XIV)¹⁾ und wenig 11 β ,12 β -Oxydo-cholensäuremethylester (XV)²⁾ resultierten. Das Gemisch der Wasserabspaltungsprodukte besteht also zur Hauptsache aus Cholen-(9)-säuremethylester (XIII) und wenig Cholen-(11)-säuremethylester (I) und enthält daneben vielleicht noch kleine Mengen anderer Stoffe, deren Nachweis bisher nicht gelungen ist.

Weitgehend einheitlich verlief dagegen die Wasserabspaltung mit Phosphoroxychlorid und Pyridin bei Zimmertemperatur³⁾, wobei (XIII) praktisch frei von Nebenprodukten entstand. Der auf diesem Wege zum erstenmal in reiner Form gewonnene Ester (XIII) wurde in zwei Kristallmodifikationen erhalten, die bei 49,5⁰ bzw. 67⁰ schmolzen.

Wir danken der *Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel*, der *Haco-Gesellschaft*, Gümligen und der *N. V. Organon*, Oss (Holland), für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil.

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

11-Keto-cholensäuremethylester (IX) und 12-Keto-cholen-(9)-säuremethylester (VIII) aus (I).

a) Mit Bromacetamid in wässrigem tert. Butylalkohol. 2 g Cholen-(11)-säuremethylester (I) vom Smp. 61⁰ wurden in 90 cm³ tert. Butylalkohol gelöst und die Lösung mit 40 cm³ Wasser versetzt. Dann wurden 1,484 g (= 2 Mol) Bromacetamid zugegeben und die Lösung im Dunkeln stehen gelassen. Von Zeit zu Zeit wurde 1 cm³ herausgenommen, mit einer mit Essigsäure angesäuerten Kaliumjodidlösung versetzt und mit 0.1-n. Thiosulfatlösung titriert. Es konnte so festgestellt werden, dass nach einer Stunde 0,09 Mol, nach 3 Stunden 0,85 Mol, nach 6 Stunden 1,67 Mol und nach 22 Stunden 1,76 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Die Lösung färbte sich

¹⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 26, 492 (1943).

²⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 805 (1942).

³⁾ Diese Methode wurde zuerst von E. Seebeck und T. Reichstein, Helv. 26, 536 (1943), zur Herstellung von reiner 3 α -Oxy-cholen-(9)-säure verwendet.

nach einigen Stunden gelb und war am nächsten Tage stark braun gefärbt. Sie wurde durch Zusatz von 4,35 cm³ 0.1-n. Thiosulfatlösung entfärbt und die Hauptmenge des Butylalkohols im reduzierten Vakuum bei 40° Badtemperatur abgedampft. Die Suspension wurde dreimal mit Äther ausgeschüttelt (die wässrige Lösung war kongosauer!), die Ätherlösungen mit ganz verdünnter Thiosulfatlösung, Soda-lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und abgedampft. Der 2,68 g wiegende Rückstand wurde in 24 cm³ reinstem Eisessig gelöst und mit 24 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 480 mg CrO₃) versetzt. Nach Stehen über Nacht wurde die grünlich-braune Lösung¹⁾ mit 500 cm³ Wasser verdünnt und dreimal mit viel Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der Rückstand wurde in 20 cm³ Eisessig gelöst und mit 3 g Zinkstaub ½ Stunde auf dem siedenden Wasserbad unter häufigem Umschwenken erwärmt.

Frak-tions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand		
		Menge roh	Smp. nach Umkryst. aus Methanol	
1	250 cm ³ Petroläther	ca. 30 mg	—	
2	250 cm ³ „	„ 230 mg	60—60,5°	
3	250 cm ³ „	„ 40 mg	— 59,5°	
4	250 cm ³ „	„ 70 mg	84—86,5°	
5	250 cm ³ „	„ 50 mg	87,5—88°	
6	250 cm ³ „	„ 60 mg	} 202,5 mg 88—89°	
7	600 cm ³ „	„ 80 mg		
8	600 cm ³ „	„ 55 mg		
9	600 cm ³ „	„ 45 mg		
10	600 cm ³ „	„ 45 mg		
11	600 cm ³ „	„ 20 mg		
12	150 cm ³ Benzol-Petroläther (1:19) .	„ 5 mg		} 88—88,5°
13	150 cm ³ „ „ (1:19) .	„ 15 mg		
14	150 cm ³ „ „ (1:19) .	„ 10 mg		
15	150 cm ³ „ „ (1:9) .	„ 15 mg		
16	150 cm ³ „ „ (1:9) .	„ 25 mg		
17	150 cm ³ „ „ (1:4) .	„ 45 mg		
18	250 cm ³ „ „ ca. (1:1) .	„ 60 mg		
19	250 cm ³ „ „ ca. (1:1) .	„ 100 mg		
20	500 cm ³ Benzol	„ 25 mg	} gelbes Öl	
21	200 cm ³ Benzol-Äther	„ 30 mg		
22	200 cm ³ „ „	„ 10 mg		
23	400 cm ³ Chloroform-Methanol	40,8 mg	gelbes Öl, verworf.	

¹⁾ Die Lösung muss noch etwas freie Chromsäure enthalten. Ist keine solche mehr nachweisbar, so wird noch etwas zugegeben, bis auch nach mehrstündigem Stehen eine positive Reaktion erhalten wird.

Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand wiederholt mit Äther ausgezogen und die Ätherlösungen mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Es hinterblieb ein Rohprodukt von 1,83 g, das in Petroläther gelöst und nach der Durchlaufmethode über 60 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert wurde. Es wurde mit den in der Tabelle S. 570 genannten Lösungsmitteln nachgewaschen.

Insgesamt wurden bei dieser und ähnlichen Chromatographien nur zwei Drittel des eingesetzten Materials eluiert.

Die Fraktionen 2 und 3 stellten unverändertes Ausgangsmaterial (I) dar, das in einer Ausbeute von 12% zurückerhalten wurde.

Aus den Fraktionen 4—17 wurden durch Umkrystallisieren aus Methanol 465 mg (= 22% der Theorie) 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) in Form farbloser, derber Prismen isoliert, die bei 88—89° schmolzen.

Zur Analyse wurde 1 Stunde bei 0,07 mm und 50° getrocknet.

3,731 mg Subst. gaben 10,571 mg CO₂ und 3,456 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₃ (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%

Gef. „ 77,32 „ 10,37%

Bei der Mischprobe mit 11β,12β-Oxydo-cholansäure-methylester (XV) (Smp. 99—100°) und mit 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (VIII) (Smp. 89—90°) gab der Stoff starke Schmelzpunktserniedrigungen. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{19} = +46,0^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,024 in Aceton).

20,490 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{19} = +0,93^\circ \pm 0,02^\circ$.

Sie ist also etwa 40° niedriger als diejenige des 12-Keto-cholansäure-methylesters¹⁾.

Die Fraktionen 18—22 wurden vereinigt (174 mg) und nochmals über eine Säule von 5,2 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand nach Waschen mit Methanol
1	100 cm ³ Petroläther	Spuren verworfen
2	20 cm ³ Benzol-Petroläther (1:9) . .	Smp. 70—79°
3	20 cm ³ „ „ (1:4) . .	„ 67,5—71,5°
4	20 cm ³ „ „ (3:7) . .	„ 87 —90°
5	20 cm ³ „ „ (2:3) . .	„ 88 —90°
6	20 cm ³ „ „ (1:1) . .	„ 89 —90,5°
7	50 cm ³ „ „ ? . .	„ 89,5—90,5°
8	50 cm ³ „ „ ? . .	nicht krystallisiert
9	50 cm ³ „ „ ? . .	„ „
10	20 cm ³ Benzol	farbloses Öl

¹⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, *Helv.* **26**, 492 (1943).

Die Fraktionen 4—7 wurden aus Methanol umkrystallisiert und lieferten 56 mg (= 2,7 %) 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (VIII) in Form farbloser Nadeln vom Smp. 88—90°. Analyse und Spektrum siehe unter c).

b) Mit Bromacetamid in wässrigem tert. Butylalkohol unter Zusatz von Eisessig. 200 mg Cholen-(11)-säure-methylester (I) wurden in 6 cm³ tert. Butylalkohol, 5 cm³ Eisessig und 3 cm³ Wasser gelöst und mit 148,4 mg Bromacetamid (= 2 Mol) versetzt. Durch Titration wurde ermittelt, dass nach 1 Stunde 1,83 Mol, nach 5 Stunden 1,91 Mol und nach 22 Stunden 2 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Die wie oben durchgeführte weitere Verarbeitung lieferte nach Umkrystallisieren aus Methanol 15,7 % Ausgangsmaterial (I) sowie 11,5 % 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) vom Smp. 86—88°. Weitere bei der Chromatographie schwerer eluierbare Anteile waren in der Hauptsache ölig und gaben wenig uneinheitliche Krystalle. Insgesamt wurden hier bei der Chromatographie nur 63,5 % eluiert.

c) Mit Bromacetamid in wässrigem Aceton. 100 mg Cholen-(11)-säure-methylester (I) wurden in 20 cm³ Aceton gelöst und nach Zusatz von 5 cm³ Wasser mit 92,8 mg Bromacetamid (= 2,5 Mol) versetzt. Nach 2½ Stunden war die Lösung hellgelb gefärbt, nach 5 Stunden farblos und nach 24 Stunden ganz schwach gelb. Auf Zusatz von mit Essigsäure angesäuerter Kaliumjodidlösung schied sich erst bei längerem Stehen etwas Jod aus. Nach Titration mit Thiosulfatlösung färbte sich die Lösung allmählich wieder braun, ohne dass ein Endwert der Titration erreicht werden konnte. Das Aceton wurde im Vakuum bei 35° Badtemperatur abgedampft, die Suspension dreimal ausgeäthert, die Ätherlösungen neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Das 122,8 mg betragende Rohprodukt wurde in 1,5 cm³ Eisessig mit 1,5 cm³ 2-proz. Chromsäurelösung oxydiert, wobei 121,5 mg Neutralprodukt erhalten wurden. Die Entbromung erfolgte mit 500 mg Zinkstaub und 5 cm³ Eisessig wie unter a) und lieferte 98 mg Öl, das in Petroläther gelöst und durch eine Säule von 3 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) filtriert wurde. Die ersten 4 mit je 5 cm³ Petroläther eluierten Fraktionen enthielten nur Spuren und wurden verworfen. Die folgenden 4 ebenfalls mit je 5 cm³ Petroläther eluierten Fraktionen lieferten nach Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 7 % Ausgangsmaterial vom Smp. 55—56°. Die folgenden 3 ebenso eluierten Fraktionen krystallisierten nur teilweise und wurden verworfen. Durch weitere Elution mit 200 cm³ Petroläther und 40 cm³ Benzol-Petroläther (1:9) wurden nun Fraktionen erhalten, die nach Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 22,5 % 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) vom Smp. 86—88° lieferten. Eine weitere, mit 40 cm³ Benzol-Petroläther (1:1) erhaltene Fraktion von 20 mg wurde aus Methanol-

Wasser umkrystallisiert und zeigte darauf einen Schmelzpunkt von 86—88,5°. Diese Substanz gab mit 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) eine starke Schmelzpunktserniedrigung. Hingegen wurde bei der Mischprobe mit 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (VIII) keine Erniedrigung erhalten. Das Präparat zeigte ferner im U.V.-Absorptionsspektrum in Hexan ein Maximum bei 235 m μ und log ϵ = 4,03¹⁾, wodurch seine Identität mit 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester erwiesen ist. Zur Analyse wurde eine Probe 1 Stunde bei 0,005 mm und 60° getrocknet.

3,644 mg Subst. gaben 10,370 mg CO₂ und 3,181 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₈ O ₃ (386,55)	Ber. C 77,68	H 9,91%
	Gef. „ 77,66	„ 9,77%

Mit Benzol und Äther wurden nur noch sehr geringe Mengen Substanz eluiert.

d) Durch Einwirkung von unterbromiger Säure auf das Natriumsalz der Cholen-(11)-säure. 100 mg Cholen-(11)-säure-methylester (I) wurden mit 1,55 cm³ 2-proz. methylalkoholischer Kalilauge unter Zusatz von 0,1 cm³ Wasser 15 Minuten gekocht. Dann wurde das Methanol im Vakuum entfernt, die Lösung angesäuert und dreimal ausgeäthert. Die Ätherlösungen wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft, der Rückstand in 7 cm³ tert. Butylalkohol aufgenommen und die Lösung mit 0,13 cm³ 2-n. Natronlauge und tropfenweise mit 0.1-n. Natronlauge bis zur schwachen Rotfärbung gegen Phenolphthalein versetzt. Nachdem der Alkali-Überschuss durch Einleiten von Kohlendioxyd entfernt war, wurde eine aus 0,08 cm³ Brom in 3 cm³ Wasser durch Eintragen von frisch gefälltem, feuchtem Silbercarbonat bei 0° bereitete und filtrierte Lösung von unterbromiger Säure bei 0° zugegeben, die, wie in einem Vorversuch festgestellt war, ca. 3 Mol HOBr enthielt, und das Gemisch 20 Stunden bei 0° stehen gelassen. Es trat keine Braunfärbung auf. Nach Zusatz von etwas Natriumhydrogensulfidlösung wurde mit Salzsäure schwach angesäuert, mit viel Wasser verdünnt und dreimal mit viel Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen wurden mit Salzsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, eingengt und mit überschüssiger Diazomethanlösung versetzt. Nach 5 Minuten wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet. Das 144 mg betragende Rohprodukt wurde mit 1,5 cm³ Eisessig und 1,5 cm³ 2-proz. Chromsäurelösung versetzt und 46 Stunden stehen gelassen. Die Oxydation lieferte 130,6 mg Reaktionsprodukt, das wie bei a)—c) mit 500 mg Zinkstaub in 5 cm³ Eisessig durch 15 Minuten langes Erwärmen auf dem Wasserbad entbromt wurde. Die nach der üblichen Aufarbeitung erhaltenen 93 mg Rohprodukt wurden in Petroläther gelöst und über 3 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardi-

¹⁾ Wir danken Hrn. P.-D. Dr. H. Mohler, Zürich, für die Ausführung dieser Messung.

siert nach *Brockmann*) chromatographiert, wobei neben wenig Cholen-(11)-säure-methylester (I) 27 mg (= 26%) 11-Keto-ester (IX) gewonnen wurden. Die schwerer eluierbaren Anteile wurden verworfen.

e) Durch Einwirkung von „Chloramin“ (Natrium-p-toluolsulfo-chloramid) auf (I). 100 mg Cholen-(11)-säure-methylester (I) wurden in 4,5 cm³ tert. Butylalkohol gelöst und mit einer Lösung von 151,5 mg „Chloramin“ (= 2 Mol) in 2 cm³ Wasser versetzt. Da durch Titration festgestellt werden konnte, dass nach 5 Stunden noch fast alles Chloramin unverbraucht war, wurden in einem zweiten Versuch 100 mg Cholen-(11)-säure-methylester in 4,0 cm³ tert. Butylalkohol und 0,5 cm³ Eisessig mit 2 cm³ Chloraminlösung wie oben angesetzt. Nunmehr wurden im Verlauf von 5 Stunden 1,22 Mol und von 24 Stunden 1,475 Mol Chloramin verbraucht. Die Reaktionslösung wurde mit viel Wasser verdünnt, dreimal ausgeäthert, die Ätherlösungen neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der 134,6 mg betragende Rückstand wurde in 1,5 cm³ Eisessig mit 1,5 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung 16 Stunden stehen gelassen und lieferte nach der Aufarbeitung 105,9 mg Oxydationsprodukt, das durch $\frac{3}{4}$ -stündiges Erwärmen mit 500 mg Zinkstaub in 5 cm³ Eisessig entchlort wurde. Die so erhaltenen 93,5 mg Rohprodukt gaben bei der chromatographischen Trennung über 3 g Aluminiumoxyd 8,7% 11-Keto-cholansäure-methylester (IX). Die schwerer eluierbaren Anteile wurden nicht weiter untersucht.

Einwirkung von Hydroxylamin auf 11-Keto-cholansäure-methylester (IX).

30 mg 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) wurden in 2 cm³ Methanol gelöst und mit der Lösung von 50 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 100 mg kryst. Natriumacetat in 0,2 cm³ Wasser 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Einengen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Abdampfen einen Rückstand, der nach Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 19 mg unverändertes Ausgangsmaterial lieferte.

Chromatographische Trennung des Gemisches von (II), (V) und (IV) und Isolierung von 11 α , 12 α -Oxydo-cholansäure-methylester (X).

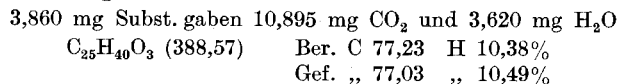
300 mg Cholen-(11)-säure-methylester (I) wurden in 60 cm³ Aceton und 15 cm³ Wasser gelöst und mit 222,6 mg Bromacetamid (= 2 Mol) versetzt. Nach 22 Stunden wurde das Aceton im Vakuum bei 35⁰ Badtemperatur abgedampft, die Suspension mit Äther ausgeschüttelt, die Lösung neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Reaktionsprodukt (370 mg) löste sich grösstenteils in Petroläther und

wurde über 10 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert. Es wurde mit je 100 cm³ Lösungsmittel nachgewaschen und jede Fraktion für sich aus Methanol-Wasser (die erste aus viel Methanol) umkrystallisiert.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Smp.	Gewicht der Krystalle
1	Petroläther	101,5—103,5 ^o	33,8 mg
2	„	66—93 ^o	9,8 mg
3	„	59,5—61 ^o	13,2 mg
4	„	62—64 ^o	24,3 mg
5	„		
6	Benzol-Petroläther (1:9)	60—63 ^o	35,8 mg
7	„ „ ca. (1:9)		
8	„ „ (1:4)	60—63 ^o	23,7 mg
9	„ „ (3:7)	57—60 ^o	11,0 mg
10	„ „ (2:3)	amorph	59,2 mg
11	„ „ ?		
12	„ „ ?		
13	Benzol		
14	Benzol-Äther		

Die Krystalle der ersten Fraktion (33,8 mg) stellten farblose Blättchen dar, die sich nach Mischprobe als 11,12-Dibrom-cholansäure-methylester (II) erwiesen. Aus der Mutterlauge wurden noch 6,3 mg weniger reines Produkt isoliert, zusammen somit 40 mg (= 9,3 %).

Die Fraktionen 3—9 lieferten durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 87 mg analysenreinen 11 α ,12 α -Oxydocolansäure-methylester (X) vom Smp. 64,5—65,5^o in Form von zu Büscheln vereinigten Nadeln. Aus der Mutterlauge wurden noch 22 mg etwas tiefer schmelzendes Material erhalten, total somit 109 mg = 35 %. Eine reine Probe wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 50^o getrocknet.



Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{20} = +47,5^o \pm 9^o$ (c = 2,272 in Aceton).

22,707 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{20} = +1,08^o \pm 0,02^o$.

Die Mischprobe mit Cholen-(11)-säure-methylester (I) vom Smp. 60^o schmolz bei 59—63^o, gab also keine Schmelzpunktserniedrigung. Mit wenig Chloroform verflüssigt, zeigte der Ester (X) auf Zusatz von Tetranitromethan jedoch keine Gelbfärbung.

Die Fraktionen 10—14 der Chromatographie wurden vereinigt und durch 15 Minuten langes Erwärmen mit 500 mg Zinkstaub und 5 cm³ Eisessig auf dem Wasserbad entbromt. Das Reaktionsprodukt (59,1 mg) wurde über 1,8 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert, doch konnte keine der mit Petroläther, Benzol-Petroläther und Benzol erhaltenen Fraktionen zur Krystallisation gebracht werden. Daraufhin wurden alle diese Fraktionen vereinigt (38,6 mg), mit 0,5 cm³ Eisessig und 0,5 cm³ 2-proz. Chromsäurelösung versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte 35 mg Rohprodukt, das über 1,1 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert wurde. Die ersten mit Petroläther erhaltenen Fraktionen gaben nur wenig Öl. Mit Benzol-Petroläther (1:9)—(1:1) wurden Fraktionen erhalten, die nach Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser lange Nadeln vom Smp. 87—89,5⁰ lieferten, die nach Mischprobe mit 12-Keto-cholen-(9)-säure-methylester (VIII) identisch waren.

Einwirkung von Chromsäure auf Cholen-(11)-säure-methylester (I)¹.

100 mg Cholen-(11)-säure-methylester (I) wurden in 1,35 cm³ Eisessig gelöst und mit 1,35 cm³ 2-proz. Chromsäurelösung versetzt. Das Gemisch blieb 21 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, wurde dann mit viel Wasser verdünnt und dreimal ausgeäthert. Die Ätherlösungen wurden mit Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft und lieferten 66,5 mg Neutralprodukt, das in Petroläther gelöst und über 2,2 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert wurde. Die ersten mit Petroläther eluierbaren Fraktionen lieferten etwa 40 mg unverändertes Ausgangsmaterial.

Aus den mit Benzol-Petroläther eluierbaren Anteilen wurden durch Umkrystallisieren aus Methanol etwa 7 mg farblose, derbe Prismen vom Smp. 97—98⁰ gewonnen, die bei der Mischprobe mit 11 β ,12 β -Oxydo-cholansäure-methylester (XV)² keine Schmelzpunktserniedrigung gaben und wahrscheinlich mit diesem Stoff identisch waren. Andere krystallisierbare Anteile wurden nicht gefunden.

11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) aus (IX).

100 mg 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) wurden in 4 cm³ Eisessig mit 55,4 mg Platinoxid hydriert. Nach 6 Stunden war die Hydrierung beendet, und es waren 17,6 cm³ Wasserstoff verbraucht (berechnet: für den Katalysator 11,2 cm³, für die Substanz 6,4 cm³).

¹) Dieser Versuch wurde unternommen, um zu prüfen, ob bei der Einwirkung von Chromsäure auf (I) nicht Substanzen entstehen, die das Vorliegen von (IX) vortäuschen könnten. Wie sich aus den folgenden Resultaten ergibt, ist dies nicht der Fall.

²) *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 805 (1942).*

Das Platin wurde abfiltriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Ätherlösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Das Rohprodukt wurde zunächst aus Petroläther umkrystallisiert (Smp. 86—87,5°) und dann aus Methanol unter Zusatz von wenig Wasser. Es wurden zu Büscheln vereinigte Nadeln erhalten, die mit Methanol-Wasser (3:1) gewaschen wurden und nach dem Trocknen einen Schmelzpunkt von 87—88° aufwiesen. Der Mischschmelzpunkt mit dem Ausgangsmaterial lag bei 60—77°.

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +49,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,505$ in Aceton).

15,238 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,75^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$.

Zur Analyse wurde eine Probe 2 Stunden bei 0,08 mm und 60° getrocknet.

4,106 mg Subst. gaben 11,57 mg CO₂ und 3,93 mg H₂O

C ₂₅ H ₄₂ O ₃ (390,59)	Ber. C 76,87	H 10,84%
	Gef. „ 76,90	„ 10,71%

11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) und Cholansäure-methylester (XII) aus (X).

Das aus 500 mg Nickel-Aluminium-Legierung¹⁾ hergestellte und mit Methanol gewaschene *Raney-Nickel*²⁾ wurde mit ca. 5 cm³ reinstem Methanol in den Glaseinsatz eines Rotierautoklaven gespült. Nach Zugabe von 144 mg 11 α ,12 α -Oxydo-cholansäure-methylester (X) wurde Wasserstoff auf 115 Atmosphären aufgedrückt, unter ständigem Rotieren auf 100° geheizt und die Temperatur 2½ Stunden konstant gehalten. Nach dem Abkühlen wurde das Nickel abfiltriert, das Filtrat eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und die Lösung mit Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das 141 mg betragende Rohprodukt wurde in Petroläther gelöst und über 4,3 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert.

Die Fraktion 2 wurde aus Methanol umkrystallisiert und lieferte Prismen vom Smp. 82—84°, die sich nach Mischprobe als Cholansäure-methylester (XII) erwiesen.

Die Fraktionen 6 und 7 lieferten durch dreimaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 10,0 mg gefiederte Nadelbüschel vom Smp. 85,5—86,5°, die nach Mischprobe identisch waren mit 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI). Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 21,5%, die an Reinprodukt 15%. Zum sicheren Nachweis der

¹⁾ Das Material wurde uns von Hrn. *M. Raney*, Chattanooga, U.S.A., freundlichst zur Verfügung gestellt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

²⁾ Am. Pat. 1628190; C. 1927, II, 653; *L. W. Covert*, *H. Adkins*, Am. Soc. 54, 4116 (1932).

Identität wurde noch die spez. Drehung bestimmt. Sie betrug:
 $[\alpha]_D^{19} = +49,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,973$ in Aceton).

9,725 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,48^\circ \pm 0,01^\circ$.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand
1	20 cm ³ Petroläther	Öl
2	20 cm ³ „	Krystalle Smp. 78—82°
3	20 cm ³ „	„ „ 66—69°
4	20 cm ³ „	wenig Öl
5	20 cm ³ „	„ „
6	100 cm ³ „	} 27,7 mg Krystalle
7	100 cm ³ „	
8	20 cm ³ Benzol-Petroläther ca. (1:9)	} 3,2 mg Krystalle
9	20 cm ³ „ „ „ (1:9)	
10	20 cm ³ „ „ „ (1:9)	
11	20 cm ³ „ „ „ (1:4)	Öl
12	20 cm ³ „ „ „ (1:4)	„
13	20 cm ³ „ „ „ ? . .	—

Eine Probe des so erhaltenen 11 α -Oxy-cholansäure-methylesters wurde wie weiter unten beschrieben mit Chromsäure oxydiert. Es wurde 11-Keto-cholansäure-methylester vom Smp. 85,5—87° erhalten, der mit authentischem Material keine Schmelzpunktserniedrigung gab. Die Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial schmolz bei 58—74°.

11 α -Acetoxy-cholansäure-methylester.

50 mg 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) wurden mit 1,5 cm³ Pyridin und 0,75 cm³ Essigsäure-anhydrid 3 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, die Ätherlösung neutral gewaschen, getrocknet und abgedampft. Das Rohprodukt wurde dann in Petroläther gelöst und über 1,7 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert. Durch Elution mit Petroläther wurde kaum etwas von der Säule heruntergelöst. Mit 60 cm³ Benzol-Petroläther (1:9) wurden ölige Fraktionen erhalten, die nicht zur Krystallisation zu bringen waren und vermutlich 11 α -Acetoxy-cholansäure-methylester darstellen. Eine Probe wurde zur Analyse 1 Stunde bei 0,02 mm und 65° getrocknet.

3,881 mg Subst. gaben 10,352 mg CO₂ und 3,594 mg H₂O

C₂₇H₄₄O₄ (432,62) Ber. C 74,96 H 10,25%
 Gef. „ 74,13 „ 10,55%

Die mit Benzol-Petroläther (1:4) erhaltene Fraktion krystallisierte erst nach zwei Monaten, und die mit Benzol-Petroläther (3:7)

bzw. (1:1) eluierten lieferten nach Umkrystallisieren aus Methanol 13,5 mg unveränderten 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) vom Smp. 88—89°. Mit Benzol und Äther wurden nur Spuren eluiert.

11-Keto-cholansäure-methylester (IX) aus (XI).

8,9 mg reiner 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) wurden in 0,15 cm³ Eisessig gelöst und mit 0,15 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 3 mg CrO₃) versetzt. Nach 16 Stunden wurde die violett gefärbte Lösung im Vakuum bei 25° zur Trockne gedampft, der Rückstand in Wasser und Äther aufgenommen und die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Es hinterblieben 9 mg Neutralprodukt, die nach Umkrystallisieren aus Methanol einen Schmelzpunkt von 87—88° aufwiesen und nach Mischprobe mit 11-Keto-cholansäure-methylester (IX) identisch waren.

Wasserabspaltung von 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) mit Salzsäure.

1. Versuch. 87,9 mg 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) wurden mit 2,5 cm³ einer Mischung von Eisessig und konz. Salzsäure im Verhältnis (4:1) 20 Minuten unter Rückfluss gekocht, wobei die Hauptmenge der Substanz in Lösung ging, ein beträchtlicher Teil jedoch ungelöst blieb. Dann wurde im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand im Vakuum-Exsikkator über Kaliumhydroxyd getrocknet, in abs. Äther gelöst und mit überschüssiger Diazomethanlösung versetzt. Nach 5 Minuten wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet und 91,6 mg Rohprodukt erhalten, das in Petroläther gelöst und über 3 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert wurde. Durch Nachwaschen mit 180 cm³ Petroläther (Fraktionen 1—5) wurden 68,5 mg eines Öls erhalten, das eine stark positive Tetranitromethanprobe gab, aber nicht krystallisierte. Für die weiteren Versuche wurden die mit Petroläther eluierbaren Fraktionen verwendet.

Hydrierung. 11,1 mg Öl wurden in 3 cm³ Eisessig mit 11,4 mg Platinoxyd hydriert. Nach 2 Stunden waren 3,1 cm³ Wasserstoff aufgenommen, und die Hydrierung stand still (berechnet: für den Katalysator 2,30 cm³, für die Substanz 0,75 cm³). Das Platin wurde abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne gedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, die Ätherlösung neutral gewaschen und der Abdampfrückstand in Petroläther über 300 mg Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert. Die Elution erfolgte durch sechsmaliges Nachwaschen mit je 5 cm³ Petroläther. Die ersten drei Fraktionen wurden aus Methanol umkrystallisiert und lieferten lange Nadeln vom Smp. 81—84,5°, die mit Cholansäure-methylester (XII) vom Smp. 85—86° keine Schmelz-

punktserniedrigung gaben. Eine weitere Reinigung war in Anbetracht der kleinen Menge nicht möglich. Die Fraktionen 4—6 lieferten nur noch ganz wenig Material.

Oxydation mit Benzopersäure. 57,4 mg des oben erwähnten Öls wurden mit 2 cm³ einer Lösung von Benzopersäure (enthaltend 70,5 mg = 3,3 Mol) in Chloroform versetzt und 24 Stunden im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde in eine essigsäure Kaliumjodidlösung übergespült und mit 0.1-n. Thiosulfatlösung titriert, von der 6,82 cm³ verbraucht wurden. Das entspricht einem Verbrauch von 23,7 mg = 1,1 Mol Benzopersäure. Nach Zusatz von Äther wurde die wässrige Schicht abgetrennt und die Chloroform-Ätherlösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der Rückstand betrug 82 mg. Er wurde in Petroläther gelöst und über 2,5 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand
1	20 cm ³ Petroläther	wenig, nicht krystallisiert
2	20 cm ³ Benzol-Petroläther (1:19) . .	aus Methanol Krystalle
3	20 cm ³ „ „ (1:9) . .	„ „ „
4	20 cm ³ „ „ (1:9) . .	nicht krystallisiert
5	20 cm ³ „ „ (1:4) . .	„ „
6	20 cm ³ „ „ (1:3) . .	„ „
7	20 cm ³ „ „ (3:7) . }	aus Methanol-Wasser wenig schmierige Krystalle
8	20 cm ³ „ „ (4:6) . }	
9	20 cm ³ „ „ (1:1) . .	Spuren
10	20 cm ³ Benzol	Öl
11	20 m ³ Äther	„

Die Fraktion 2 lieferte durch Umkrystallisieren aus Methanol eine Spitzenfraktion vom Smp. 68° bis ca. 150° und dann aus Methanol-Wasser Blättchen vom Smp. 69—71°.

Die Fraktionen 3—6 wurden zweimal aus Methanol-Wasser umkrystallisiert und lieferten Krystalle vom Smp. 71—75°. Diese wurden mit den entsprechenden Krystallen der Fraktion 2 nochmals aus Methanol-Wasser umkrystallisiert und lieferten 13,5 mg Blättchen vom Smp. 73—75° nach starkem Sintern ab ca. 68°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +20,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,323$ in Aceton).

13,220 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,27^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$.

Das von der Drehung zurückerhaltene Material wurde nochmals aus Methanol-Wasser umkrystallisiert, worauf es einen Schmelzpunkt von 74—76° zeigte nach starkem Sintern ab ca. 70°. Mit

authentischem 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIV)¹⁾ vom Smp. 74,5—76° gab die Substanz keine Schmelzpunktserniedrigung. Auch die spez. Drehungen der beiden Präparate stimmten innerhalb der Fehlergrenze überein.

Zur Analyse wurde eine Probe 2 Stunden bei 0,02 mm und 50° getrocknet.

3,990 mg Subst. gaben 11,28 mg CO₂ und 3,69 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₃ (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%
 Gef. „ 77,15 „ 10,35%

2. Versuch. 252,5 mg 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) wurden in 12 cm³ Eisessig gelöst und mit 3 cm³ konz. Salzsäure versetzt, wobei sich ein Teil der Substanz wieder ausschied, der während des nachfolgenden 20 Minuten langen Kochens unter Rückfluss fast vollständig in Lösung ging. Die Aufarbeitung und die Methylierung mit Diazomethan erfolgte genau wie im ersten Versuch. Es wurden 247 mg Rohprodukt erhalten, die in Petroläther über 7,5 g Aluminiumoxyd (*Merk*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographiert wurden. Die erste Fraktion (20 cm³ Petroläther) wurde verworfen und die folgenden 7 (insgesamt 200 cm³ Petroläther) vereinigt. Sie wogen 216,5 mg, krystallisierten nicht und stellten wohl wiederum ein Gemisch von Wasserabspaltungsprodukten dar.

Oxydation mit Benzopersäure. Obige 216,5 mg Öl wurden mit 3,5 cm³ einer Lösung von 248,75 mg Benzopersäure (= 3,11 Mol) in Chloroform versetzt und 22 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am nächsten Tage wurde durch Titration ermittelt, dass 96,6 mg Benzopersäure = 1,2 Mol verbraucht waren. Die Aufarbeitung erfolgte wie in Versuch 1.

Bei der chromatographischen Trennung wurde etwas 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIV) und wenig 11 β ,12 β -Oxydo-cholansäure-methylester (XV) vom Smp. 96—98° (Mischprobe) erhalten. Die Hauptmenge des Materials blieb diesmal ölig.

Aus den beiden Versuchen geht hervor, dass die Wasserabspaltung mit Eisessig-Salzsäure nicht immer gleich verläuft, obwohl die Reaktionsbedingungen fast die gleichen waren (im 2. Versuch wurde mehr Eisessig-Salzsäure angewandt). Neben Cholen-(9,11)-säure-methylester (XIII) und Cholen-(11)-säure-methylester (I) dürften vielleicht noch andere Cholen-säure-methylester entstehen, welche die Aufarbeitung erschweren.

Cholen-(9)-säure-methylester (XIII) aus (XI).

97,5 mg 11 α -Oxy-cholansäure-methylester (XI) vom Smp. 84° bis 86° wurden in 0,5 cm³ Pyridin gelöst und mit 0,2 cm³ frisch dest. Phosphoroxychlorid versetzt. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde mit Äther und Wasser aufgenommen und die

¹⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, *Helv.* **26**, 492 (1943).

Ätherlösung mit Salzsäure, Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der 89,9 mg betragende Rückstand wurde in Petroläther gelöst und die Lösung durch eine Säule von 3 g Aluminiumoxyd (*Brockmann*, regeneriert) filtriert. Zum Nachwaschen dienten die in der Tabelle angegebenen Lösungsmittel.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand	
		Gewicht	Aussehen
1	100 cm ³ Petroläther	6,9 mg	teilw. krystall.
2	100 cm ³ „	25,7 mg	Krystalle
3	100 cm ³ „	11,0 mg	„
4	100 cm ³ „	6,9 mg	„
5	100 cm ³ Benzol-Petroläther ca. (1:9) .	9,2 mg	„
6	100 cm ³ „ „ „ (1:9) .	3,3 mg	„
7	100 cm ³ „ „ „ (1:4) .	Spuren	—
8	100 cm ³ „ „ „ (1:4) .	nichts	—
9	100 cm ³ „ „ „ (1:1) .	Spuren	—
10	10 cm ³ Benzol	„	—
11	100 cm ³ Benzol-Äther	„	—

Die Fraktion 2 wurde aus Methanol umkrystallisiert und lieferte Blättchen vom Smp. 49,5—50⁰, die Fraktion 3 aus Methanol-Wasser ebensolche vom Smp. 48,5—49⁰. Beide Fraktionen wurden dann nochmals zusammen aus Methanol-Wasser umkrystallisiert, wobei Nadeln erhalten wurden, die bei 67—67,5⁰ schmolzen und eine positive Tetranitromethanprobe zeigten. Die Fraktionen 4—6 lieferten beim Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser sofort die hochschmelzende Form. Die spez. Drehung betrug nach Trocknen im Hochvakuum bei 75⁰: $[\alpha]_D^{14} = +39,15^0 \pm 1^0$ ($c = 2,605$ in Aceton)¹⁾.

26,037 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +1,02^0 \pm 0,01^0$.

Zur Analyse wurde das von der Drehung zurückerhaltene Material nochmals aus Methanol-Wasser umkrystallisiert (Smp. 66,5—67⁰) und 1 Stunde bei 0,02 mm und 50⁰ getrocknet.

3,751 mg Subst. gaben 11,068 mg CO₂ und 3,650 mg H₂O

C₂₅H₄₀O₂ (372,57) Ber. C 80,59 H 10,82%

Gef. „ 80,52 „ 10,89%

Die Mischprobe der hochschmelzenden Form mit Cholen-(11)-säure-methylester (Smp. 58—59,5⁰) zeigte einen Schmelzpunkt von 48—56⁰.

¹⁾ Zum Vergleich wurde die Drehung von Cholen-(11)-säure-methylester nochmals bestimmt. Sie betrug nach Trocknen im Hochvakuum bei 75⁰: $[\alpha]_D^{16} = +38,2^0 \pm 2^0$ ($c = 1,519$ in Aceton).

15,179 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,58^0 \pm 0,02^0$.

Früher (*H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 25, 811 (1942)*) war sie zu $[\alpha]_D^{12} = +34,1^0 \pm 2^0$ (Aceton) ermittelt worden.

Oxydation mit Benzopersäure. 31,2 mg Cholen-(9)-säure-methylester (XIII) vom Smp. 66—67° wurden in 1 cm³ Chloroform gelöst und mit 0,4 cm³ Benzopersäurelösung (enthaltend 33,89 mg = 2,93 Mol) versetzt. Nach 24-stündigem Stehen im Dunkeln bei Zimmertemperatur wurde der Verbrauch an Benzopersäure titrimetrisch ermittelt. Er betrug 14,50 mg = 1,25 Mol. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Das 35 mg wiegende Rohprodukt wurde in Petroläther gelöst und über 1 g Aluminiumoxyd (*Brockmann*, regeneriert) chromatographiert. Es wurde mit je 20 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand	
		Gewicht	Smp.
1	Petroläther	6,9 mg	Spuren, verworfen umkryst. Methanol-Wasser Smp. 66—72°
2	„		
3	„		
4	Benzol-Petroläther ca. (1:9) .	12,9 mg	umkryst. Methanol-Wasser Smp. 69—73,5°
5	„ „ „ (1:9) .		
6	„ „ „ (1:4) .		
7	„ „ „ (3:7) .		
8	„ „ „ (3:7) .	2,7 mg	umkryst. Methanol-Wasser Smp. 68,5—74°
9	„ „ „ (1:1) .		
10	10 cm ³ Benzol + 10 cm ³ Benzol-Äther	1,2 mg	nicht krystallisiert

Die beiden Krystallisate der Fraktionen 4—9 wurden vereinigt und noch zweimal aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Es wurden flache Prismen erhalten, die sich unter dem Mikroskop als langgestreckte Blättchen erwiesen. Sie schmolzen bei 74—75°. 9,11-Oxydo-cholansäure-methylester (XIV)¹⁾ sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Die Mischprobe mit 11 α ,12 α -Oxydo-cholansäure-methylester (X) (Smp. 64,5—65,5°) zeigte einen Schmelzpunkt von 64—67° und die Mischprobe mit 11 β ,12 β -Oxydo-cholansäure-methylester (XV) (Smp. 95—97°) einen Schmelzpunkt von 71—93°. Daraus, dass bei der Chromatographie kein 11,12-Oxydo-cholansäure-methylester (XV) aufgefunden werden konnte, geht hervor, dass der als Ausgangsmaterial benützte, durch Wasserabspaltung mit Phosphoroxychlorid und Pyridin erhaltene Cholen-(9)-säure-methylester vom Smp. 67° weitgehend rein war.

Oxydationen mit Bromacetamid.

a) *trans*-Androsteron. 74,4 mg *trans*-Androsteron wurden in 4,5 cm³ tert. Butylalkohol und 2 cm³ Wasser gelöst und die Lösung mit 70,8 mg Bromacetamid (= 2 Mol) versetzt. Nach 4 Stunden

¹⁾ *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 26, 492 (1943).*

begann sich Brom auszuschcheiden. Nach 22 $\frac{1}{2}$ Stunden wurde Kaliumjodidlösung und etwas Eisessig zugegeben und das in Freiheit gesetzte Jod mit 0.1-n. Thiosulfatlösung titriert. Die Titration ergab, dass 1,235 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Dann wurde noch vorsichtig Wasser bis zur beginnenden Krystallisation zugegeben. Die abgesaugten und mit verdünntem Butylalkohol gewaschenen Krystalle (Blättchen) wogen nach dem Trocknen 28 mg, zeigten einen Schmelzpunkt von 133—134° und gaben bei der Mischprobe mit Androstandion keine Erniedrigung. Die Mutterlauge wurde ausgeäthert, die Ätherlösungen neutral gewaschen und der Abdampfrückstand aus Petroläther mit einer Spur Äther und dann aus Methanol-Wasser umkrystallisiert. Auf diese Weise wurden noch 15,5 mg Blättchen vom Smp. 133—136° erhalten. Die Ausbeute an reinen Krystallen betrug 58,5 %.

b) Androstandiol. 61,7 mg Androstandiol vom Smp. 168° bis 168,5° wurden in 6,5 cm³ tert. Butylalkohol und 2 cm³ Wasser gelöst und die Lösung mit 116,6 mg Bromacetamid (= 4 Mol) versetzt. Nach 2 Stunden hatte sich aus der hellbraun gefärbten Lösung ein Niederschlag abgeschieden. Nach 20 $\frac{1}{2}$ Stunden war die Lösung wieder klar, aber noch tiefer braun gefärbt. Die Titration ergab, dass 2,21 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Durch vorsichtige Zugabe von Wasser wurde das Reaktionsprodukt ausgefällt, abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Es wurden 50,2 mg Blättchen vom Smp. 131—134° erhalten, die sich nach Mischprobe als Androstandion erwiesen. Die Ausbeute an diesem nicht ganz reinen Produkt betrug 82,5 %.

c) 12 β -Oxy-cholansäure-methylester. 100 mg 12 β -Oxy-cholansäure-methylester vom Smp. 120° wurden in 4,5 cm³ tert. Butylalkohol und 2 cm³ Wasser gelöst und mit 70,8 mg Bromacetamid (= 2 Mol) versetzt. Die Lösung färbte sich schon nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunden braun. Nach 23 Stunden wurde durch Titration ermittelt, dass 1,205 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Durch Zugabe von Wasser wurde das Reaktionsprodukt ausgefällt, abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Es wurden 96,5 mg Rohprodukt vom Smp. 102—107,5° erhalten. Einmaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser lieferte Blättchen vom Smp. 106—108,5° (nach starkem Sintern ab 100°), die mit authentischem 12-Keto-cholansäure-methylester¹⁾ keine Schmelzpunktserniedrigung gaben.

d) Desoxycholsäure-methylester. 100 mg Desoxycholsäure-methylester vom Smp. 78—80° wurden in 4,5 cm³ tert. Butylalkohol und 2 cm³ Wasser gelöst und die Lösung mit 102 mg Bromacetamid (= 3 Mol) versetzt. Bereits nach einer halben Stunde begann sie sich gelb zu färben. Nach 23 $\frac{1}{2}$ Stunden wurde durch Titration ermittelt,

¹⁾ H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. **26**, 492 (1943).

dass 2,25 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Das Reaktionsprodukt wurde durch Zugabe von Wasser ausgefällt, abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Es zeigte einen rohen Schmelzpunkt von 115—125°, wurde in Benzol-Petroläther (1:9) gelöst und über 3 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Mit Benzol-Petroläther (1:1), (3:1), mit reinem Benzol und schliesslich mit Benzol-Äther wurden Fraktionen erhalten, die mit Äther krystallisierten und nach Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser 39 mg Nadelbüschel vom Smp. 134—135° lieferten. Sie erwiesen sich nach Mischprobe als Diketo-cholansäure-methylester. Die Mutterlaugen gaben noch weitere Mengen weniger reines Material vom Smp. 129—133,5°.

e) Desoxy-corticosteron. Eine Probe Desoxy-corticosteron wurde wie in den Versuchen a) bis d) mit 3 Mol Bromacetamid oxydiert. Nach 23½ Stunden waren 1,275 Mol verbraucht. Die Aufarbeitung lieferte nur Neutralprodukt, das Silberdiamminlösung mit rötlichbrauner Färbung reduzierte, aber keine Säuren. Daher wurde vermutet, dass Pregnen-(4)-dion-(3,20)-al-(21)¹⁾ vorliegt, jedoch konnte daraus mit methylalkoholischer Salzsäure das krystallisierte Pregnen-(4)-dion-(3,20)-al-(21)-dimethylacetal nicht erhalten werden.

f) Progesteron. 61 mg Progesteron vom Smp. 129—130° wurden in 4,5 cm³ tert. Butanol gelöst, mit der Lösung von 54 mg Bromacetamid (= 2 Mol) versetzt und 17 Stunden bei 20° stehen gelassen. Die braune Lösung zeigte bei der Titration, dass 0,12 Mol Bromacetamid verbraucht waren. Die Aufarbeitung gab in fast quantitativer Ausbeute unverändertes Progesteron vom Smp. 129—130° (Mischprobe), das also von dem Reagens nicht merklich angegriffen wird.

Weitere Oxydationsversuche mit 21-Acetoxy-pregnen-(4)-diol-(17β,20)-on-(3) und mit Substanz J ergaben keine krystallisierten Stoffe. Der Verbrauch an Bromacetamid in den beiden Versuchen betrug 0,97 Mol bzw. 1,76 Mol.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *H. Reich, T. Reichstein, Helv. 22, 1124 (1939).*