

## 62. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

25. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Ester der 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure und der 3 $\alpha$ - und 3 $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure

von A. Lardon und T. Reichstein.

(12. II. 43.)

Für synthetische Arbeiten benötigten wir 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X) sowie 3 $\alpha$ - und 3 $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI) und (XII), deren Herstellung hier beschrieben wird.

Als Ausgangsprodukt diente 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Dioxy-ätio-cholansäure (I)<sup>2)</sup>, von der uns die *Gesellschaft für chemische Industrie in Basel* eine grössere Menge zur Verfügung stellte, was die Ausführung dieser Arbeit erst ermöglichte. Die in technischer Qualität erhaltene Säure (I) wurde über den mit Diazomethan bereiteten Methylester (II)<sup>3)4)</sup> in 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (III) übergeführt und dieser völlig gereinigt. Die 12-ständige Acetoxygruppe in (III) ist ganz bedeutend leichter verseifbar als in dem entsprechenden Derivat der Desoxycholsäure<sup>5)</sup> und wird bereits bei 24-stündigem Stehen mit wässrig-methanolischer Kaliumcarbonatlösung<sup>6)</sup> teilweise abgespalten. Trotzdem gelingt die partielle Verseifung der 3-ständigen Acetoxygruppe recht glatt beim Stehen mit 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure<sup>7)</sup>, wobei der gut kristallisierte 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (IV) entsteht, der durch Oxydation mit Chromsäure in den 3-Keto-12 $\beta$ -acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (V) überging. Energische Verseifung lieferte die 3-Keto-12 $\beta$ -oxy-ätio-cholansäure (VI), die mit Diazomethan in den Methylester (VII) übergeführt wurde. Die Benzoylierung desselben gab bei Einhaltung geeigneter Versuchsbedingungen das Benzoat (VIII), das in zwei verschiedenen schmelzenden Krystallmodifikationen gewonnen wurde. Bei der Bereitung des Benzoats, die unter ziemlich energischen Bedingungen erfolgte, wurde der Überschuss des Benzoylchlorids und eventuell entstandenes Benzoesäure-anhydrid durch Erwärmen mit Pyridin und Methanol zerstört. Bei der Aufarbeitung des Reaktionsproduktes wurde hierauf ein kryst. Stoff erhalten, dessen Analyse

<sup>1)</sup> 24. Mitteilung, *J. Press, P. Grandjean, T. Reichstein*, *Helv.* **26**, 598 (1943).

<sup>2)</sup> *W. M. Hoehn, H. L. Mason*, *Am. Soc.* **60**, 1493 (1938).

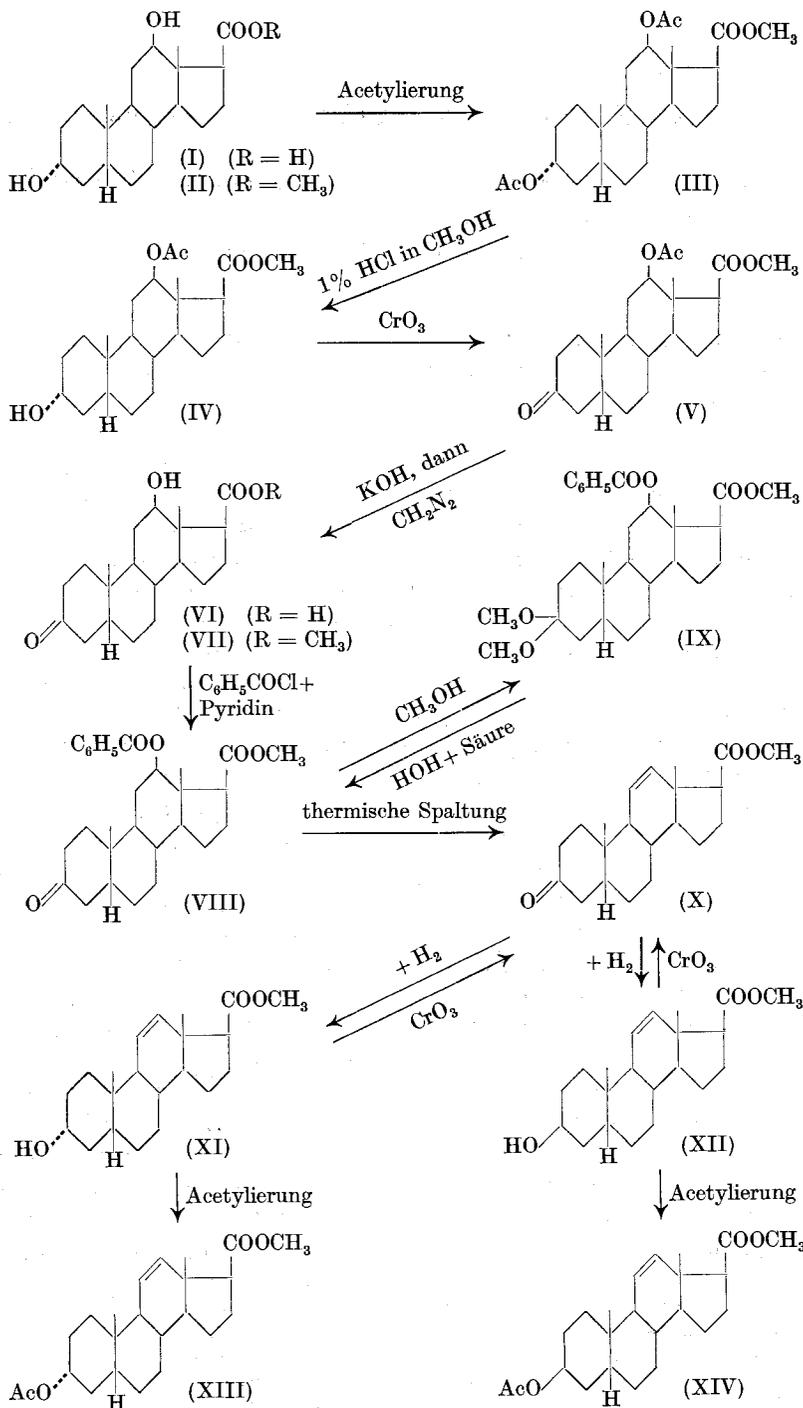
<sup>3)</sup> *H. L. Mason, W. M. Hoehn*, *Am. Soc.* **60**, 2824 (1938).

<sup>4)</sup> *H. L. Mason, W. M. Hoehn*, *Am. Soc.* **61**, 1614 (1939).

<sup>5)</sup> Vgl. auch *B. Koechlin, T. Reichstein*, *Helv.* **25**, 918 (1942).

<sup>6)</sup> Vgl. *T. Reichstein, E. von Arx*, *Helv.* **27**, 747 (1940).

<sup>7)</sup> Vgl. *T. Reichstein, M. Sorkin*, *Helv.* **25**, 797 (1942).



dafür spricht, dass ein Dimethylacetal (IX) vorliegt, das sich durch Erwärmen mit wasserhaltiger Essigsäure leicht in das Benzoat (VIII) überführen lässt.

Die thermische Zersetzung des Benzoats (VIII) unter den kürzlich angegebenen Bedingungen<sup>1)</sup> lieferte einen Stoff der Bruttoformel  $C_{21}H_{30}O_3$ , dem die Konstitution eines 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylesters (X) zukommen dürfte. Über Versuche zum Beweis, dass sich die Doppelbindung an der angegebenen Stelle befindet, soll später berichtet werden. Reduktion von (X) mit Aluminium-isopropylat und Isopropylalkohol nach *Meerwein-Ponndorf*<sup>2)3)</sup> gab ein Gemisch von 3  $\alpha$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI) und 3  $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XII), die zusammen eine anscheinend einheitliche und scharf schmelzende Molekelverbindung liefern<sup>4)</sup>. Durch Krystallisation war eine Trennung nicht möglich, sie gelang in üblicher Weise mit Hilfe von Digitonin oder durch Chromatographie. Die beiden reinen Oxy-ester (XI) und (XII) wurden weiter durch die zwei Acetate (XIII) und (XIV) charakterisiert. Ferner wurde festgestellt, dass beide Oxy-ester (XI) und (XII) bei vorsichtiger Oxydation mit Chromsäure wieder in den Keto-ester (X) übergehen, woraus hervorgeht, dass bei der Reduktion keine Verschiebung der Doppelbindung eingetreten ist.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert<sup>5)</sup>.

#### 3 $\alpha$ , 12 $\beta$ -Diacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (III).

26 g rohe, durch Abbau<sup>6)</sup> von Desoxycholsäure erhaltene 3  $\alpha$ , 12  $\beta$ -Dioxy-ätio-cholansäure (I) wurden in wenig Methanol aufgeschlemmt und bei 0° unter Umschwenken portionenweise mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt, bis die Krystalle gelöst waren und die Gasentwicklung aufhörte. Hierauf wurde abdestilliert und der verbleibende rohe 3  $\alpha$ , 12  $\beta$ -Dioxy-ätio-cholansäure-methylester (II) im Vakuum getrocknet. Er wog 27 g und wurde mit 45 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin und 30 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem Essigsäure-anhydrid unter Feuchtigkeitsausschluss 2 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Hierauf wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst und die Lösung mehrmals energisch mit verdünnter Salz-

<sup>1)</sup> *A. Lardon, P. Grandjean, J. Press, H. Reich, T. Reichstein, Helv.* **25**, 1444 (1942).

<sup>2)</sup> *H. Meerwein, A.* **444**, 221 (1925). Vgl. auch *Angew. Ch.* **53**, 266 (1940).

<sup>3)</sup> *W. Ponndorf, Angew. Ch.* **39**, 138 (1926).

<sup>4)</sup> Diese bei 141° schmelzende Molekelverbindung wurde zuerst von *Hrn. J. von Euv* beobachtet.

<sup>5)</sup> Die absolute Genauigkeit unserer Apparatur beträgt kaum mehr als  $\pm 2-3^\circ$ . Die relativen Werte beim Vergleich zweier Proben unter gleichen Bedingungen sind auf  $\pm 1^\circ$  genau.

<sup>6)</sup> *W. M. Hoehn, H. L. Mason, Am. Soc.* **60**, 1493 (1938).

säure, Wasser, Sodalösung und wieder mit Wasser gewaschen, wobei sich reichliche Mengen (aus den Verunreinigungen der rohen Säure (I) stammendes) braunes Harz abschieden. Die klare, über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 30 g rohes Diacetat (III), das noch warm in 40 cm<sup>3</sup> absolutem Äther gelöst und mit 20 cm<sup>3</sup> Petroläther versetzt wurde, wobei sofort die Krystallisation einsetzte. Nach zweistündigem Stehen wurde abgenutscht und mehrmals mit wenig 95-proz. Methanol gewaschen. Die leicht braunen Krystalle gaben in folgender Weise die besten Ausbeuten an reinem Produkt. Sie wurden in 1½ Teilen Aceton gelöst und die Lösung dann allmählich mit der 1—2-fachen Menge 75—85-proz. Methanol versetzt. Nach erfolgter Abscheidung wurde abgenutscht, mit 75—80-proz. Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Erhalten wurden 17 g reine Krystalle und 11,5 g Mutterlaugen. Die letzteren wurden nochmals kurz nachacetyliert und anschliessend über 200 g Aluminiumoxyd chromatographisch gereinigt. Alle mit Benzol-Petroläther eluierbaren Anteile gaben gut krystallisiertes Material, aus dem sich noch 6,25 g analysenreiner Ester gewinnen liessen. Die Ausbeute betrug somit total 23,25 g. Aus reiner Säure (I) wurde der Stoff in quantitativer Ausbeute und sofort rein erhalten.

Das reine Acetat (III) krystallisierte aus Äther-Petroläther in farblosen dicken Nadeln, die bei 149—150° schmolzen. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{25} = +149,8^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$  ( $c = 1,825$  in Aceton).

45,65 mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{25} = +2,735^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 180° Blocktemperatur sublimiert.

3,690 mg Subst. gaben 9,331 mg CO<sub>2</sub> und 2,92 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>6</sub> (434,55)	Ber. C 69,09	H 8,81%
	Gef. „ 69,01	„ 8,85%

Für die weitere Verarbeitung ist auch ein leicht braun gefärbtes Produkt brauchbar.

### 3 $\alpha$ -Oxy-12 $\beta$ -acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (IV).

16 g 3 $\alpha$ ,12 $\beta$ -Diacetoxy-ätio-cholansäure-methylester (III) wurden in der Lösung von 1,6 g Chlorwasserstoff in 160 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen, wobei am Anfang einige Male leicht erwärmt werden musste, da sich etwas Acetat krystallin abzuschneiden begann. Dann wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, der Rückstand in viel Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und die bald einsetzende Krystallisation durch vorsichtigen Zusatz von Petroläther möglichst vervollständigt. Die abgenutschten, mit Äther-Petroläther gewaschenen und im Vakuum getrockneten Krystalle schmolzen bei 140—141°

und wogen 12 g. Die eingedampften Mutterlaugen (3,1 g) lieferten durch chromatographische Trennung über Aluminiumoxyd noch 1,7 g reine Krystalle desselben Stoffes (mit Benzol eluierbar) sowie 0,275 g reinen Dioxy-ester (II) (mit Äther und Äther-Methanol eluierbar).

Das reine Monoacetat (IV) krystallisierte aus Äther-Petroläther in farblosen Stäbchen, die bei 141—142° schmolzen. Sie zeigten nach Trocknen im Hochvakuum die spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{17} = +143,6^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 1,483$  in Aceton).

14,828 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +2,13^\circ \pm 0,05^\circ$

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum bei 80° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,462 mg Subst. gaben 8,91 mg CO<sub>2</sub> und 2,82 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub> (372,52)	Ber. C 70,37	H 9,25%
	Gef. „ 70,24	„ 9,11%

### 3-Keto-12β-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (V).

14,5 g 3α-Oxy-12β-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (IV) vom Smp. 140—141°<sup>1)</sup> wurden in 100 cm<sup>3</sup> Eisessig (gegen Chromsäure beständig) gelöst, innerhalb einer halben Stunde unter Wasserkühlung mit der Lösung von 4 g Chromtrioxyd in 5 cm<sup>3</sup> Wasser und 100 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen<sup>2)</sup>. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur auf etwa 45 cm<sup>3</sup> eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mehrmals mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 13 g neutralen Rückstand. Aus den Sodaauszügen konnten durch Ansäuern und Ausschütteln mit Äther 1 g Säuren erhalten werden, die nicht weiter untersucht wurden. Die neutralen Anteile gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 7,5 g analysenreinen 3-Keto-ester (V) vom Smp. 95—96° sowie 2,2 g etwas weniger scharf schmelzender Krystalle. Aus den verbleibenden Mutterlaugen (3,3 g) konnten durch chromatographische Reinigung noch 1,25 g analysenreine Krystalle gewonnen werden. Die Ausbeute betrug somit total 10,95 g.

Der 3-Keto-12β-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (V) krystallisierte aus Äther-Petroläther in farblosen Nadeln, die bei 95—96° schmolzen. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{16} = +138^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,380$  in Aceton).

13,792 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +1,91^\circ \pm 0,03^\circ$

<sup>1)</sup> Es kann hier auch ein etwas braun gefärbtes Präparat verwendet werden.

<sup>2)</sup> In einer Probe soll sich mit Hilfe von Äther, Wasserstoffperoxyd und Schwefelsäure noch etwas Chromsäure nachweisen lassen. Ist dies nicht der Fall, so muss noch etwas CrO<sub>3</sub>-Lösung zugesetzt und die Mischung nochmals 5 Stunden stehen gelassen werden. Der Zusatz ist evtl. zu wiederholen, bis eben ein kleiner Teil unverbraucht bleibt. Ein grösserer Überschuss an CrO<sub>3</sub> ist zu vermeiden, da sonst Ring A teilweise aufgebrochen wird.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,893 mg Subst. gaben 10,12 mg CO<sub>2</sub> und 3,16 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> (390,50)	Ber. C 70,74	H 8,78%
	Gef. „ 70,94	„ 9,08%

### 3-Keto-12β-oxy-ätio-cholansäure-methylester (VII).

10 g 3-Keto-12β-acetoxy-ätio-cholansäure-methylester (V) vom Smp. 94—96° wurden mit der Lösung von 10 g Kaliumhydroxyd in 10 cm<sup>3</sup> Wasser und 140 cm<sup>3</sup> Methanol 1½ Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 20 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, das Methanol im Vakuum abdestilliert, der Rückstand unter Kühlung mit verdünnter Salzsäure angesäuert und die ausfallende Säure (VI) abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Eine aus Aceton-Äther umkrystallisierte Probe ergab Körner vom Smp. 240—241°. Die sauren wässrigen Lösungen wurden noch zweimal mit Äther ausgeschüttelt, die Auszüge mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft, wobei noch wenig Säure (VI) resultierte, die mit der Hauptmenge vereinigt wurde.

Die rohe Säure wurde mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und während 15 Minuten leicht geschwenkt, bis alle festen Partikel in Lösung gegangen waren. Hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Da die Sodauszüge noch etwas freie Säure enthielten, wurde diese isoliert und nochmals analog methyliert. Der rohe Methylester (VII) wog 8,8 g. Umkrystallisieren aus Äther durch Einengen und Zusatz von etwas Petroläther bei der zweiten Fraktion lieferte 6,3 g reinen krystallisierten Ester (VII) sowie 2,6 g Mutterlaugen, die direkt ins Benzoat (VIII) übergeführt wurden.

Der Ester (VII) krystallisierte aus Äther in farblosen Nadeln vom Smp. 144—145°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{16} = +105,9^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,378 in Aceton).

13,771 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{16} = +1,46^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

3,667 mg Subst. gaben 9,736 mg CO<sub>2</sub> und 3,036 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> (348,47)	Ber. C 72,38	H 9,26%
	Gef. „ 72,46	„ 9,26%

### 3-Keto-12β-benzoxy-cholansäure-methylester (VIII).

6,2 g 3-Keto-12β-oxy-cholansäure-methylester (VII) vom Smp. 144—145° wurden durch Abdampfen mit absolutem Benzol getrocknet, in 23 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol gelöst, mit 4,7 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin und 4,65 cm<sup>3</sup> frisch destilliertem Benzoylchlorid versetzt und 17 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft und durch Erwärmen im Hochvakuum auf 70° von allen flüchtigen

Stoffen möglichst befreit. Der Rückstand wurde mit 8 cm<sup>3</sup> Methanol und 3,33 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin versetzt, wobei Selbsterwärmung eintrat. Die Mischung wurde ½ Stunde stehen gelassen, dann wieder im Vakuum völlig eingedampft, der Rückstand mit 13,3 cm<sup>3</sup> Eisessig und 2 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und 2 Minuten leicht gekocht. Nach erneutem Eindampfen im Vakuum wurde in Äther gelöst, die Lösung mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und stark eingeeengt. Beim Stehen krystallisierten 5 g Benzoat vom Smp. 192—195°. Die Mutterlaugen gaben noch 2,66 g Krystalle vom Smp. 188—192°.

Die 2,6 g Mutterlaugen des 3-Keto-12 β-oxy-esters (VII) wurden analog benzoiliert und lieferten noch 1,1 g rohes Benzoat vom Smp. 186—191°. Die vereinigten Krystalle (8,76 g) wurden aus Chloroform-Äther umkrystallisiert und lieferten 4,2 g analysenreines Material vom Smp. 197—198°, sowie 3,7 g Krystalle vom Smp. 193—195°, die für die weitere Verarbeitung rein genug waren. Wegen der guten Krystallisierbarkeit des Benzoats werden unreine Anteile der vorher beschriebenen Zwischenprodukte zweckmässig in dieser Stufe gereinigt.

Das Benzoat wurde beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther zuerst in einer labilen, bei 148—150° schmelzenden Modifikation in Form durchsichtiger Körner erhalten, die beim Impfen der Lösung leicht in die viel schwerer lösliche hochschmelzende Form übergeht. Später wurde nur noch die letztere erhalten. Sie krystallisiert in glasklaren, farblosen Körnern oder kurzen Prismen, die bei 197—198° schmelzen. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{19} = +117,9^{\circ} \pm 3^{\circ}$  (c = 1,28 in Aceton).

33,2 mg ± 0,2 mg Subst. (Smp. 148°) zu 2,5012 cm<sup>3</sup>; *l* = 1 dm;  $\alpha_D^{19} = +1,51^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$   
 4,045 mg Subst. gaben 10,98 mg CO<sub>2</sub> und 2,86 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub> (452,57)	Ber. C 74,30	H 8,02%
	Gef. „ 74,08	„ 7,91%

### 3-Keto-12 β-benzyloxy-ätio-cholansäure-methylester- dimethylacetal (IX).

Bei einem Vorversuch wurden 0,77 g 3-Keto-12 β-oxy-cholansäure-methylester (VII) vom Smp. 144—145° wie oben beschrieben benzoiliert und das Rohprodukt mit Methanol und Pyridin 15 Minuten unter Rückfluss gekocht, hingegen wurde die anschliessende Behandlung mit Essigsäure und Wasser unterlassen. Das so gewonnene Material wurde in Äther gelöst, die Lösung mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (1,2 g) wurde über 35 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Die mit Benzol-Petroläther eluierbaren Anteile

(550 mg) enthielten fast reines Dimethylacetal (IX), das aus Methanol in farblosen feinen Nadeln vom Smp. 115—117° krystallisierte. Die mit absolutem Benzol sowie mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen gaben 0,3 g krystallisiertes Benzoat (VIII).

Das neue Produkt wurde zur Analyse im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{16} = +105,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,977$  in Aceton).

49,45 mg  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +2,09^{\circ} \pm 0,03^{\circ}$

3,766 mg Subst. gaben 9,980 mg CO<sub>2</sub> und 2,909 mg H<sub>2</sub>O

2,682 mg Subst. verbrauchten 4,738 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (Zeisel)

C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub> (498,64)	Ber. C 72,25	H 8,49	-OCH <sub>3</sub> 18,67%
	Gef. „ 72,32	„ 8,64	„ 18,27%

Spaltung mit Essigsäure. Eine Probe des Acetals wurde 2 Minuten mit wässriger Essigsäure gekocht und lieferte nach der Aufarbeitung in fast quantitativer Ausbeute das Keto-benzoat (VIII) vom Smp. 197° (Mischprobe).

### 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X).

4,5 g 3-Keto-12  $\beta$ -benzoxy-ätio-cholansäure-methylester (VIII) vom Smp. 197—198° wurden 1½ Stunden in einem *Claisen*-Kolben mit Wurstanatz im Wasserstrahlvakuum (12 mm) auf 330—340° (Metallbadtemperatur) erhitzt, während durch die feine Kapillare Kohlendioxyd geleitet wurde. Der Kolben wurde dabei nur so weit ins Metallbad eingesenkt, dass die Benzoesäure abdestillieren konnte, das höher siedende Material jedoch zurückfloss. Nach der angegebenen Zeit wurde der Kolben tiefer eingetaucht und die Badtemperatur zum Schluss auf 380—400° gesteigert, wobei die ganze Menge bis auf einen sehr geringen Rückstand überdestillierte.

Das Destillat wurde in Äther gelöst, die Lösung mehrmals mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und auf ein kleines Volumen eingengt. Beim Stehen krystallisierten 1,7 g unverändertes Benzoat (VIII). Die eingengte Mutterlauge lieferte nach Zusatz von Petroläther 340 mg ungesättigten Ester (X) vom Smp. 133—135°. Die verbleibenden Mutterlauge wogen 1,89 g. Aus den Sodaauszügen wurden 500 mg Benzoesäure gewonnen.

Die 1,7 g regeneriertes Benzoat wurden nochmals in gleicher Weise thermisch zersetzt, worauf neben 170 mg Benzoesäure und 400 mg unverändertem Benzoat (VIII) 1,2 g rohes Gemisch resultierte, das durch direkte Krystallisation kein reines (X) lieferte und daher mit den 1,89 g der ersten Destillation vereinigt (zusammen 3,09 g) und über 50 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch getrennt wurde. Zum Nachwaschen dienten je 150 cm<sup>3</sup> der in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	
1	10% Benzol	90% Petroläther
2	15% ..	85% ..
3—4	25% ..	75% ..
5—17	30% ..	70% ..
18—19	50% ..	50% ..
20—22	100% Benzol	
23—24	100% Äther	

Die Fraktionen 3—9 lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 760 mg reinen ungesättigten Ester (X) sowie 320 mg Mutterlaugenprodukte. Aus den Fraktionen 10—21 wurden 1 g reines Benzoat (VIII), 350 mg tiefer schmelzende Krystalle (Gemisch) sowie 560 mg Mutterlaugenprodukte erhalten.

Total wurden nach den zwei Destillationen somit 1,4 g reines Benzoat (VIII) zurückgewonnen, sowie 1,1 g reiner ungesättigter Ester (X) erhalten. Die Gemische gaben bei nochmaliger Chromatographie noch etwas der reinen Produkte.

Der 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X) krystallisierte aus Äther-Petroläther in glasklaren, dicken Körnern vom Smp. 133—135°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{15} = + 79,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,162 in Aceton).

14,223 mg Subst. zu 1,2237 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{16} = + 0,92^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,039 mg Subst. gaben 11,29 mg CO<sub>2</sub> und 3,33 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> (330,45) Ber. C 76,32 H 9,15%

Gef. ,, 76,28 ,, 9,23%

Der Stoff gibt, mit wenig Chloroform verflüssigt, auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Hydrierung. 20 mg 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X) vom Smp. 133—135° wurden mit 10 mg Platinoxid in 4 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig hydriert. Die Gasaufnahme war nach 40 Minuten beendet. Hierauf wurde filtriert, mit Äther nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (20 mg) wurde in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 0,3 cm<sup>3</sup> 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 6 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum bei 30° Badtemperatur wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene Ätherlösung wurde eingedampft. Der Rückstand lieferte beim Umkrystallisieren aus Petroläther farblose Prismen vom Smp. 147—149°. Die Mischprobe mit dem gleichschmelzenden 3-Keto-ätio-cholensäure-methyl-

ester<sup>1)</sup> gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Der Stoff gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

3 $\alpha$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI)  
und 3 $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XII).

1,1 g 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X) vom Smp. 133—135° wurden mit 22 cm<sup>3</sup> absolutem Isopropylalkohol und 1,8 g frisch im Hochvakuum destilliertem Aluminium-isopropylat versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss langsam destilliert (1—2 Tropfen pro Minute, Ölbad ca. 105°). Gleichzeitig wurde langsam absoluter Isopropylalkohol zugetropft, um das Volumen immer ungefähr konstant zu halten. In den ersten Stunden liess sich im Destillat etwas Aceton nachweisen. Im ganzen wurde 10 Stunden in der angegebenen Weise erhitzt, hierauf die Hauptmenge des Isopropylalkohols unter gewöhnlichem Druck, der Rest im Vakuum abdestilliert und der Rückstand mit Eis und verdünnter Salzsäure zerlegt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 1,25 g Rückstand, der zur Verseifung von evtl. entstandenen Isopropylestern 16 Stunden mit der Lösung von 1,5 g Kaliumhydroxyd in 1,5 cm<sup>3</sup> Wasser und 15 cm<sup>3</sup> Methanol unter Rückfluss gekocht wurde. Die Mischung wurde hierauf im Vakuum von Methanol befreit, der Rückstand mit 10 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene Ätherlösung lieferte nach Eindampfen nur eine kleine Menge Neutralteile, die für sich nochmals in gleicher Weise energisch verseift wurden und hierauf fast kein Neutralprodukt mehr enthielten. Die vereinigten alkalischen Lösungen wurden mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und die ausfallende Säure mit viel Äther ausgeschüttelt. Eine Probe dieser Lösung gab beim Einengen farblose spicse, die nach Waschen mit Äther bei 234—235° schmolzen (Umwandlung in dünne Nadeln bei 220°). Möglicherweise handelt es sich um ein Mischkrystalliat der beiden Oxysäuren. Die Hauptmenge der mit Wasser gewaschenen Ätherlösung wurde mit viel überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt, 20 Minuten stehen gelassen, mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Durch Umkrystallisieren aus Äther liessen sich farblose, dünne Nadeln erhalten, die bei 142—143° schmolzen und die eine Molekelverbindung der beiden Oxy-ester (XI) und (XII) darstellen. Für die Trennung mit Digitonin verfahren wir wie folgt:

Der im Vakuum getrocknete Rückstand (1,2 g) wurde mit der warmen Lösung von 3,75 g Digitonin in 37,5 cm<sup>3</sup> Methanol vermischt und hierauf mit 3,75 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, wobei eine voluminöse Fällung entstand, die nach einstündigem Stehen bei 0° abgenutzt,

<sup>1)</sup> M. Steiger, T. Reichstein, Helv. **20**, 1040 (1937).

mit 90-proz. Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet wurde (Teil A).

Die vereinigten Mutterlaugen und Waschflüssigkeiten wurden im Vakuum bei 50° Badtemperatur eingedampft, der Rückstand im Vakuum getrocknet und mehrmals mit Äther ausgekocht. (Teil B bleibt ungelöst.)

Die Ätherauszüge wurden mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, wobei 680 mg roher 3 $\alpha$ -Oxy-ester (XI) (Teil C) zurückblieben.

Die erste Fällung (Teil A) wurde in der eben nötigen Menge absolutem Pyridin gelöst und die Mischung mit dem 10-fachen Volumen absolutem Äther versetzt. Das ausgefällte und mit Äther gewaschene Digitonin wurde noch einmal analog umgefällt. Die vereinigten Pyridin-Ätherlösungen wurden mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es verblieben 345 mg roher 3 $\beta$ -Oxy-ester (XII), der aus Methanol in Nadeln vom Smp. 131—133° kristallisierte.

Teil B gab nach analoger Spaltung noch etwa 50 mg eines Gemisches, das nicht weiter untersucht wurde.

3 $\alpha$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI). Die 680 mg Rohprodukt gaben bei der direkten Krystallisation aus Äther-Petroläther nur etwa 100 mg reines Produkt vom Smp. 122—124°. Der Rest (580 mg) wurde über 18 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Die ersten mit Benzol-Petroläther (1 : 1) eluierbaren Anteile blieben ölig. Aus den weiteren, mit demselben Lösungsmittelgemisch sowie mit absolutem Benzol und Benzol-Äther (1 : 1) abgelösten Fraktionen wurden durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 400 mg krystallisierter 3 $\alpha$ -Oxy-ester (XI) erhalten, total somit 500 mg.

Der 3 $\alpha$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI) krystallisierte aus Äther-Petroläther in langen farblosen Nadeln vom Smp. 122—124° und zeigte nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 60° die spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{16} = +77,7^\circ \pm 2,5^\circ$  ( $c = 0,875$  in Aceton).

21,9 mg  $\pm$  0,2 mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +0,68^\circ \pm 0,02^\circ$

Das Produkt gab, mit wenig Chloroform verflüssigt, auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Zur Analyse diente das Acetat (vgl. weiter unten).

3 $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XII). Die 345 mg Rohprodukt gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther sowie aus Methanol 230 mg farbloser langer Nadeln, die bei 131—133° schmolzen. Die Mutterlauge lieferte nach chromatogra-

phischer Reinigung noch 45 mg desselben Produktes. Es wurde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{16} = +70,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,427$  in Aceton).

35,7 mg  $\pm 0,2$  mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = +1,01^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert, unmittelbar vor der Verbrennung nochmals im Hochvakuum bei 140° geschmolzen und im Schweinchen eingewogen.

3,893 mg Subst. gaben 10,80 mg CO<sub>2</sub> und 3,42 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub> (332,47)	Ber. C 75,86	H 9,70%
	Gef. „ 75,71	„ 9,83%

Die Substanz gibt, mit wenig Chloroform verflüssigt, auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Molekelverbindung. Gleiche Mengen (XI) und (XII) liefern beim Umkrystallisieren aus Äther feine Nadeln vom Smp. 142—143°.

3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X) aus (XI) und (XII).

15 mg 3 $\alpha$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI) wurden in 0,2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst, mit 0,225 cm<sup>3</sup> 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 4,5 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Die Aufarbeitung lieferte 8 mg 3-Keto-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (X) vom Smp. 133—135° (Mischprobe). Ein ganz gleiches Resultat wurde bei der Oxydation einer Probe des 3 $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylesters (XII) erhalten.

3 $\alpha$ -Acetoxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XIII).

0,2 g 3 $\alpha$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XI) wurden in 1,5 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, mit 0,3 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid versetzt und 16 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand lieferte beim Umkrystallisieren aus Petroläther 180 mg lange farblose Nadeln vom Smp. 99—100°. Sie wurden im Hochvakuum bei 80° getrocknet und zeigten eine spez. Drehung von:  $[\alpha]_D^{17} = +87,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,287$  in Aceton).

32,2 mg  $\pm 0,2$  mg Subst. zu 2,5012 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +1,13^\circ \pm 0,02^\circ$

3,750 mg Subst. gaben 10,137 mg CO<sub>2</sub> und 3,065 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub> (374,50)	Ber. C 73,76	H 9,15%
	Gef. „ 73,77	„ 9,15%

3 $\beta$ -Acetoxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XIV).

200 mg 3 $\beta$ -Oxy-ätio-cholen-(11)-säure-methylester (XII) wurden in 1,5 cm<sup>3</sup> absolutem Pyridin gelöst, mit 0,5 cm<sup>3</sup> Essigsäure-anhydrid

versetzt, zunächst 16 Stunden bei 18° stehen gelassen und anschliessend unter Feuchtigkeitsausschluss noch 2 Stunden auf 80° erwärmt. (Der 3β-Ester (XII) ist merklich schwerer acetylierbar als der 3α-Ester (XI)). Die Aufarbeitung lieferte das Acetat zunächst als Öl, das auch nach langem Stehen bei 0° nicht kristallisierte. Die Kristallisation konnte schliesslich durch Animpfen mit einer Spur des gesättigten 3β-Acetoxy-ätio-cholansäure-methylesters<sup>1)</sup> vom Smp. 125 bis 126° angeregt werden. Die mit auf -10° gekühltem Petroläther gewaschenen Krystalle schmolzen bei 70—72° und zeigten eine spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{24} = +62,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,375$  in Aceton).

13,748 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{24} = +0,86^\circ \pm 0,02^\circ$

3,521 mg Subst. gaben 9,494 mg CO<sub>2</sub> und 2,876 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub> (374,5)	Ber. C 73,76	H 9,15%
	Gef. „ 73,58	„ 9,14%

Die Substanz kristallisiert leichter aus Methanol bei 0°.

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

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

### 63. Beitrag zur Kenntnis der essentiellen ungesättigten Fettsäuren

von *P. Karrer* und *H. Koenig*.

(12. II. 43.)

Im Jahre 1929 beobachteten *G. O. Burr* und *M. M. Burr*<sup>2)</sup>, dass Ratten, die mit einer Nahrung bestehend aus Casein, Zucker, Salzmischung, entfetteter Hefe und einem Zusatz von Vitamin A und Vitamin D, also fettfrei ernährt wurden, schwer erkrankten: junge Tiere stellten das Wachstum ein, ausgewachsene zeigten Schuppenbildung der Haut (Ekzem- und Dermatitis-artige Erscheinungen), Schwellung des Schwanzendes, die später in Nekrose überging („Schachtelhalmschwanz“), Vermehrung der Schuppen in den Haaren, auf dem Rücken und am Hals, Albuminurie; schliesslich gingen die Tiere ein. Bei etwas veränderter Nahrung haben *Schneider*, *Steenbock* und *Platz*<sup>3)</sup> ein noch schwereres Krankheitsbild erzielt („Akrodynie“). Dieser neuen Diät fehlte die Hefe und vom B-Komplex waren nur Aneurin und Lactoflavin zugesetzt. Wurde der *Schneider-Steenbock-Platz*-Kost getrocknete Brauerhefe, die den gesamten Vitamin B-Komplex enthält, zugefügt, so trat das mit der *Burr*- und *Burr*-

<sup>1)</sup> *T. Reichstein, H. G. Fuchs, Helv. 23, 658 (1940).*

<sup>2)</sup> *J. Biol. Chem. 82, 345 (1929).*

<sup>3)</sup> *J. Biol. Chem. 132, 539 (1940).*