

## 189. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

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

### 12 $\alpha$ -Oxy-cholansäure

von M. Sorkin und T. Reichstein.

(8. X. 43.)

Vor kurzem wurde die Bereitung der 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-cholansäure (12-Epi-desoxycholsäure) (IV) beschrieben<sup>2)</sup>; sie entstand neben der bekannten Desoxycholsäure (II) durch Hydrierung von 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (I) mit *Raney*-Nickel und anschließende Verseifung. Wir berichten nunmehr über die Bereitung der 12 $\alpha$ -Oxy-cholansäure (V), die auf zwei Wegen gewonnen wurde, einerseits durch Reduktion des 3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylesters (III)<sup>2)</sup> nach *Wolff-Kishner*, andererseits durch Hydrierung des 12-Keto-cholansäure-methylesters (IX) mit *Raney*-Nickel, wobei ihr Ester (VI) neben dem bekannten 12 $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (VIII)<sup>3)</sup> entstand. Die beiden Ester (VI) und (VIII) liessen sich durch Chromatographie teilweise trennen und der Ester (VIII) weiter durch Krystallisation abscheiden. Der rohe, ölige Ester (VI) gab nach alkalischer Verseifung die gesuchte Säure (V), die spontan schwer krystallisiert. Die Krystallisation liess sich aber durch Impfen mit einer Spur 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxy-cholansäure (IV) anregen. Die auf beiden Wegen erhaltenen Säuren erwiesen sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch. Ihre Konstitution wurde durch Oxydation ihres Methylesters (VI) mit Chromsäure bewiesen, wobei der bekannte 12-Keto-cholansäure-methylester (IX) entstand. Die beiden isomeren Säuren (V) und (VII) zeigen in Aceton die folgenden spez. Drehungen:

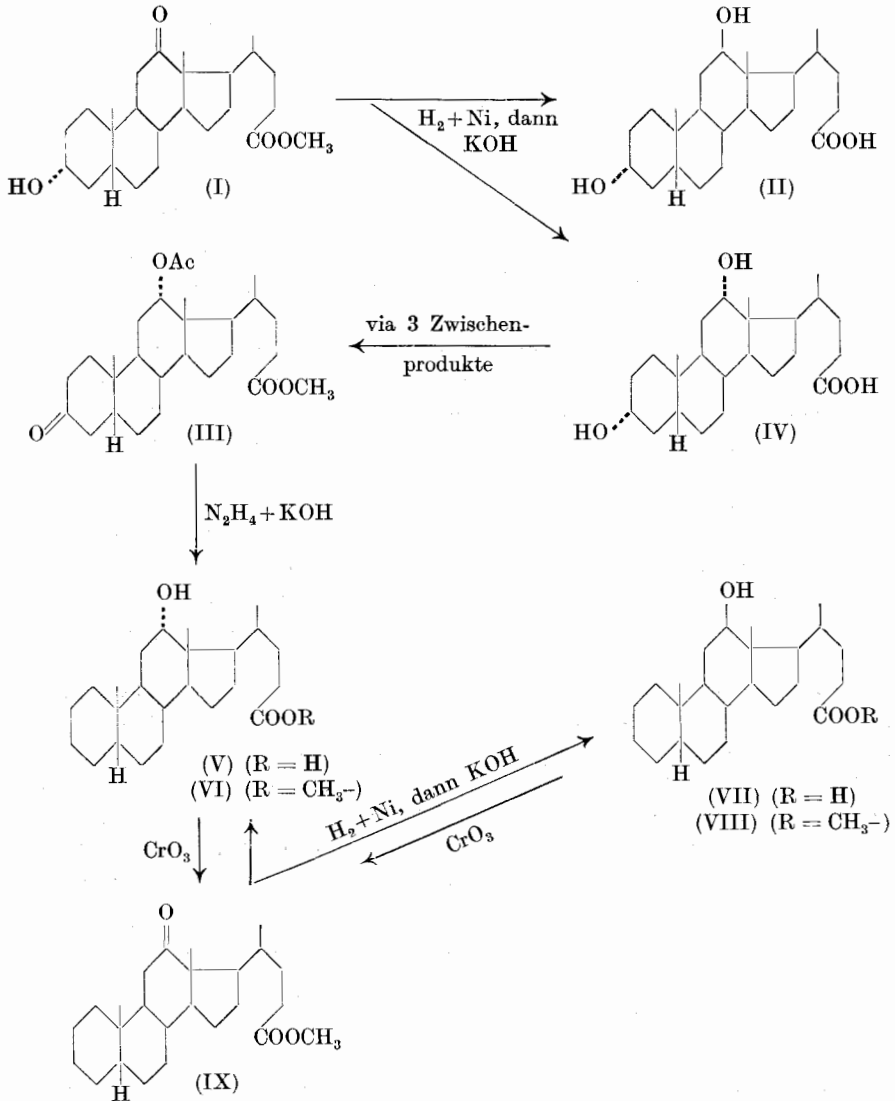
Substanz	Smp.	Mol.-Gewicht	spez. Drehung in Aceton	molekulare Drehung [M] <sub>D</sub>
12 $\beta$ -Oxy-cholansäure .	90—95 <sup>o</sup> <sup>3)</sup>	376,56	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> = +43,5 <sup>o</sup> ± 2 <sup>o</sup>	+16 400
12 $\alpha$ -Oxy-cholansäure .	110—116 <sup>o</sup>	376,56	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> = +37,9 <sup>o</sup> ± 2 <sup>o</sup>	+14 300

<sup>1)</sup> 27. Mitteilung vgl. G. H. Ott, T. Reichstein, Helv. **26**, 1799 (1943).

<sup>2)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. **25**, 918 (1942).

<sup>3)</sup> H. Wieland, O. Schlüchting, Z. physiol. Ch. **150**, 267 (1925); J. Barnett, T. Reichstein, Helv. **21**, 926 (1938).

Es wurde ferner gefunden, dass es günstig ist, die Hydrierung von (I) mit *Raney*-Nickel nicht in reinem Methanol, sondern in methylalkoholischer Natronlauge durchzuführen, wodurch die Bildung des gesuchten Isomeren (IV) so stark begünstigt wird, dass sich



seine Hauptmenge durch zweimalige Krystallisation direkt rein erhalten lässt. Für die Trennung des verbleibenden Gemisches von (II) und (IV) wird eine vereinfachte Methode angegeben. Es gelingt auf diese Weise, die Säure (IV) in über 50% Ausbeute zu gewinnen.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert (Fehlergrenze  $\pm 2^\circ$ ).

#### 12 $\alpha$ -Oxy-cholansäure (V) aus (IX).

1,7 g 12-Keto-cholansäure-methylester (IX)<sup>1)</sup> vom Smp. 107<sup>o</sup> wurden in 200 cm<sup>3</sup> reinstem Methanol mit dem frisch aus 3 g Aluminium-Nickel-Legierung<sup>2)</sup> bereiteten und mit Methanol gewaschenen *Raney*-Nickel<sup>3)</sup> bei 20<sup>o</sup> in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach etwa 14 Stunden waren 119 cm<sup>3</sup> Gas verbraucht, und die Hydrierung stand still. Es wurde filtriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Aus dem verbleibenden farblosen Syrup liessen sich nach langem Stehen in Petroläther nur etwa 0,1 g Krystalle erhalten, die sich als 12 $\beta$ -Oxy-cholansäure-methylester (VIII) erwiesen. Daher wurde der Rest (1,6 g) über eine mit Petroläther bereitete Säule aus 40 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) nach der Durchlaufmethode chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen diente zunächst reiner Petroläther und zwar so lange, als sich die dabei erhaltenen Eindampfrückstände durch Animpfen mit dem  $\beta$ -Ester (VIII) zur Krystallisation bringen liessen. Aus diesen Fraktionen wurden total 0,4 g aus Methanol umkrystallisierter  $\beta$ -Ester (VIII) vom Smp. 118<sup>o</sup> erhalten. Die weiteren mit Benzol und Äther erhaltenen Eluate lieferten nach dem Eindampfen zusammen 1,16 g farblosen Syrup, der auch nach langem Stehen nicht krystallisierte. Zur Verseifung wurde dieser Ester mit der Lösung von 0,5 g Kaliumhydroxyd in 0,5 g Wasser und 20 cm<sup>3</sup> Methanol 15 Minuten gekocht. Hierauf wurde mit Wasser versetzt, das Methanol abdestilliert und die Lösung mit Salzsäure angesäuert. Die ausfallende Säure wurde mit Äther ausgeschüttelt, die Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es verblieb etwas über 1 g farbloser Säure, die in Äther-Petroläther gelöst auch nach langem Stehen bei 0<sup>o</sup> nicht krystallisierte. Durch Animpfen mit der aus (III) bereiteten Probe konnte die Krystallisation sofort eingeleitet werden. Die mit Äther-Petroläther gewaschenen, farblosen Prismen schmolzen bei 109–115<sup>o</sup> und wogen 0,8 g. Auch mehrmaliges Umkrystallisieren änderte den Schmelzpunkt nicht merklich. Die Mischprobe mit der bei 90–95<sup>o</sup> schmelzenden  $\beta$ -Säure (VII) schmolz bei 70–103<sup>o</sup>. (Analyse und Drehung vgl. weiter unten.)

<sup>1)</sup> Bereitet nach *H. B. Alther, T. Reichstein, Helv. 26, 492 (1943)*.

<sup>2)</sup> Wir danken Hrn. *M. Raney, Chattanooga, U.S.A.*, für dieses Material.

<sup>3)</sup> Amer. Patent 1 628 190 (C. 1927, II, 653); *L. W. Covert, H. Adkins, Am. Soc. 54, 4116 (1932)*.

Verbesserte Methode zur Bereitung von 12-Epi-desoxy-cholsäure (IV).

10 g 3 $\alpha$ -Oxy-12-keto-cholansäure-methylester (I)<sup>1</sup>) vom Smp. 110–112<sup>0</sup> wurden in 110 cm<sup>3</sup> 0,9-proz. methylalkoholischer Natronlauge<sup>2</sup>) gelöst, mit frisch aus 20 g Nickel-Aluminium-Legierung bereitetem *Raney*-Nickel versetzt und bei 15<sup>0</sup> in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. In 3 Stunden wurden 535 cm<sup>3</sup> Gas aufgenommen, und nach weiteren 3 Stunden und einer Totalaufnahme von 592 cm<sup>3</sup> stand die Hydrierung still. Es wurde filtriert, das Filtrat einmal aufgekocht und das Methanol nach Zusatz von Wasser im Vakuum abdestilliert. Die verbleibende alkalische Lösung wurde mit  $\frac{1}{2}$  Liter Äther überschichtet und unter kräftigem Schütteln langsam mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt. Nach völliger Lösung wurde abgetrennt, die Ätherschicht mit Wasser gewaschen, kurz über Natriumsulfat getrocknet und stark eingeeengt, wobei sich 3,7 g Prismen vom Smp. 160–176<sup>0</sup> abschieden. Sie lieferten nach einmaligem Umkrystallisieren aus Aceton 3,2 g derbe Prismen der reinen 3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -Dioxycholansäure vom Smp. 178–180<sup>0</sup> <sup>3</sup>). Das Präparat von *B. Koechlin* und die Mischprobe schmolzen bei gleicher Erhitzungsgeschwindigkeit genau gleich. Zur Trennung der Mutterlaugen bewährte sich das folgende Verfahren:

Die vereinigten Mutterlaugen (6,8 g) wurden in 50 cm<sup>3</sup> 70-proz. Essigsäure heiss gelöst, die Lösung rasch abgekühlt und mit einer Spur von aus 70-proz. Essigsäure umkrystallisierter Desoxycholsäure angeimpft, wobei rasch Krystallisation eintrat. Nach kurzem Stehen bei 0<sup>0</sup> wurden die ausgeschiedenen Krystalle scharf abgesaugt und mehrmals mit 70-proz. Essigsäure von –10<sup>0</sup> gewaschen. Sie wogen nach dem Trocknen im Vakuum 2 g und stellten fast reine Desoxycholsäure-Eisessig-Verbindung<sup>4</sup>) dar. Die mit Wasser gefällten Mutterlaugen lieferten durch Umkrystallisieren aus Aceton noch 3 g reiner 12-Episäure (IV).

12 $\alpha$ -Oxy-cholansäure (V) aus (III).

0,35 g 3-Keto-12 $\alpha$ -acetoxy-cholansäure-methylester (III)<sup>5</sup>) vom Smp. 108–111<sup>0</sup> wurden in einem Bombenrohr mit 1,5 g Hydrazinhydrat und der Lösung von 0,5 g Natrium in 10 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol im Vakuum eingeschmolzen und nach Durchmischen 16 Stunden auf 180<sup>0</sup> erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Inhalt mit Wasser verdünnt, der Alkohol im Vakuum abdestilliert und die wässrige Lösung

<sup>1</sup>) *J. Sawlewicz, T. Reichstein, Helv. 20, 992 (1937); T. Reichstein, M. Sorokin, Helv. 25, 804 (1942).*

<sup>2</sup>) Das verwendete Methanol wurde zur Reinigung zweimal über festes Kaliumhydroxyd destilliert.

<sup>3</sup>) *B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942)*, fanden den Smp. bei 186<sup>0</sup>, doch ist dieser von der Erhitzungsgeschwindigkeit abhängig.

<sup>4</sup>) *H. Wieland, H. Sorge, Z. physiol. Ch. 97, 1 (1916).*

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

einmal mit Äther ausgeschüttelt. Die abgetrennte wässrige Schicht wurde mit Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und die ausgefällte Säure in Äther aufgenommen. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 0,31 g farblosen Rückstand, der in wenig Äther gelöst und mit Petroläther bis zur Trübung versetzt auch nach langem Stehen nicht krystallisierte. Durch Animpfen mit einer Spur  $3\alpha$ ,  $12\alpha$ -Dioxy-cholansäure (IV)<sup>1)</sup> trat sofort Krystallisation ein. Die ausgeschiedenen, mit Äther-Petroläther gewaschenen und im Vakuum getrockneten Krystalle (0,23 g) schmolzen bei 109–115°. Auch mehrmaliges Umkrystallisieren änderte den Schmelzpunkt nicht mehr. Zur Analyse und zur Drehung wurde im Hochvakuum bei 90° getrocknet und unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum bei 120° kurz geschmolzen.

3,760 mg Subst. gaben 10,541 mg CO<sub>2</sub> und 3,61 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub> (376,56) Ber. C 76,55 H 10,71%  
Gef. „ 76,51 „ 10,74%

Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{12} = +37,9^0 \pm 2^0$  (c = 1,844 in Aceton).

46,1 ± 0,2 mg Subst. zu 2,501 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{12} = +0,70^0 \pm 0,02^0$ .

Spez. Drehung der  $12\beta$ -Oxy-cholansäure<sup>2)</sup>.

Zum Vergleich wurde die spez. Drehung der  $12\beta$ -Oxy-cholansäure bestimmt. Sie betrug nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 90°:  $[\alpha]_D^{12} = +43,5^0 \pm 2^0$  (c = 1,472 in Aceton).

36,8 ± 0,2 mg Subst. zu 2,501 cm<sup>3</sup>; l = 1 dm;  $\alpha_D^{12} = +0,64^0 \pm 0,02^0$ .

12-Keto-cholansäure-methylester (IX) aus (V).

20 mg  $12\alpha$ -Oxy-cholansäure (V) vom Smp. 109–115° wurden mit ätherischer Diazomethanlösung geschüttelt, bis die Krystalle gelöst waren, und anschliessend noch 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst, mit 0,2 cm<sup>3</sup> 5-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung versetzt und 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde Wasser zugegeben, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand lieferte aus Petroläther 15 mg farblose, breite Nadeln vom Smp. 106–108°. Die Mischungprobe mit authentischem 12-Keto-cholansäure-methylester (IX) gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Analyse wurde im mikroanalytischen Laboratorium der Eidgen. Techn. Hochschule Zürich (Leitung W. Manser) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> B. Koechlin, T. Reichstein, Helv. 25, 918 (1942).

<sup>2)</sup> H. Wieland, O. Schlichting, Z. physiol. Ch. 150, 267 (1925).