

RÉSUMÉ.

Faisant suite aux recherches précédentes sur la production de l'ozone par électrolyse de solutions d'acide sulfurique avec du courant ondulé, on a étudié — toujours en utilisant des électrodes de platine poli — la formation d'oxygène actif dans des solutions alcalines de composition propre à la préparation de perborate.

Contrairement à ce qui a été constaté pour la production de l'ozone, la superposition d'un courant alternatif au courant continu n'a pas donné lieu à des améliorations de rendement. En revanche, en augmentant, au-dessus de la valeur correspondant à l'inversion de polarité de l'anode, l'intensité maximum du courant alternatif, on a relevé, comme dans les essais sur la formation de l'ozone en solution acide, une diminution, voire même une annulation du rendement, associée à la formation d'une pellicule sur l'anode.

Ainsi, l'action des pellicules sur les anodes de platine poli se manifeste en sens contraire de ce qui a été reconnu par d'autres auteurs ayant opéré aussi avec du courant ondulé et en se servant d'anodes de zinc; dans ce dernier cas, le dépôt pelliculaire s'est montré indispensable à la production d'oxygène actif dans de bonnes conditions de rendement.

Laboratoires de Chimie technique, théorique
et d'Electrochimie, Université de Genève.

42. Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.

33. Mitteilung¹⁾.

Derivate der Cholsäure

von R. Grand und T. Reichstein.

(19. I. 45.)

Vor einiger Zeit wurden vereinfachte Methoden zur Bereitung verschiedener Ester der Desoxycholsäure beschrieben²⁾, die auch zur Gewinnung entsprechender Derivate der Nor-³⁾, Bisnor-⁴⁾ und Ätio-desoxycholsäure⁵⁾ brauchbar sind. Wir haben in gleicher Weise auch Abkömmlinge der Cholsäure bereitet. Da diese Versuche zeitweilig

¹⁾ 32. Mitteilung vgl. *J. von Euw, T. Reichstein, Helv. 27, 1851 (1944).*

²⁾ *T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. 25, 797 (1942).*

³⁾ Vgl. eine später erscheinende Mitteilung von *Lardon und Reichstein.*

⁴⁾ *A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 27, 713 (1944).*

⁵⁾ *A. Lardon, T. Reichstein, Helv. 26, 607 (1943); V. Wenner, T. Reichstein, Helv. 27, 965 (1944).*

unterbrochen werden mussten und analoge Reaktionen inzwischen auch von *Plattner* und *Heusser*¹⁾ beschrieben wurden, geben wir die vorläufigen Resultate bekannt.

Cholsäure-methylester (II)²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾ entsteht aus Cholsäure (I) bei 16-stündigem Stehen mit 1-proz. methanolischer Salzsäure⁷⁾ in ausgezeichnete Ausbeute und hoher Reinheit. Energische Acetylierung liefert das Triacetat (III)⁸⁾¹⁾, das beim Stehen mit 1-proz. HCl in Methanol in den schwer krystallisierenden 3 α -Oxy-7 α ,12 β -diacetoxy-cholansäure-methylester (IV)¹⁾ übergeht. Dehydrierung mit CrO₃ gibt 3-Keto-7 α ,12 β -diacetoxy-cholansäure-methylester (VII), aus dem sich durch Reduktion nach *Wolff-Kishner* (Erhitzen mit Hydrazin und Na-Äthylat) leicht 7 α ,12 β -Dioxy-cholansäure⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾ gewinnen lässt. Durch partielle Acetylierung wird aus (I) der gut krystallisierende 3 α -Acetoxy-7 α ,12 β -dioxy-cholansäure-methylester (V)¹⁾ in ca. 50% Ausbeute erhalten, der durch Dehydrierung mit CrO₃ 3 α -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester (VI)¹²⁾ liefert. Dieser gibt bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion leicht Lithocholsäure (X), für deren Herstellung diese Reaktionsfolge den billigsten Weg darstellen dürfte¹³⁾. Der Diketo-ester (VI) geht beim Erwärmen mit Br₂ in Eisessig in ein krystallisiertes Bromderivat über, das gegen kochendes Pyridin beständig ist. Bei leichtem Erwärmen von (V) mit Tosylchlorid in Pyridin wird in mässiger Ausbeute ein Stoff der Formel C₂₇H₄₂O₅ erhalten, der also aus (V) durch Abspaltung von 1 Mol Wasser entstanden ist. Wir nehmen vorläufig an, daß ihm Formel (VIII) zukommt, was später noch bewiesen werden soll. Durch vorsichtige Dehydrierung mit CrO₃ entsteht ein krystallisierter Neutralstoff (wahrscheinlich (IX)), woraus hervorgeht, dass (VIII) noch eine HO-Gruppe enthält. Sowohl (VIII) wie (IX) geben mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Dass die HO-Gruppe in 7-Stellung abgespalten

1) *Pl. A. Plattner, H. Heusser, Helv. 27, 748 (1944).*

2) *F. Hoppe-Seyler, J. pr. 89, 272 (1863).*

3) *C. Schotten, Z. physiol. Ch. 10, 175 (1886).*

4) *Z. Uraki, Z. physiol. Ch. 207, 20 (1932).*

5) *F. von Werder, Diss. München 1927.*

6) *H. Morsman, M. Steiger, T. Reichstein, Helv. 20, 3 (1936).*

7) *T. Reichstein, M. Sorkin, Helv. 25, 797 (1942).*

8) *H. Wieland, W. Kapitel, Z. physiol. Ch. 212, 269 (1932).*

9) *W. Borsche, E. Feske, Z. physiol. Ch. 176, 109 (1928).*

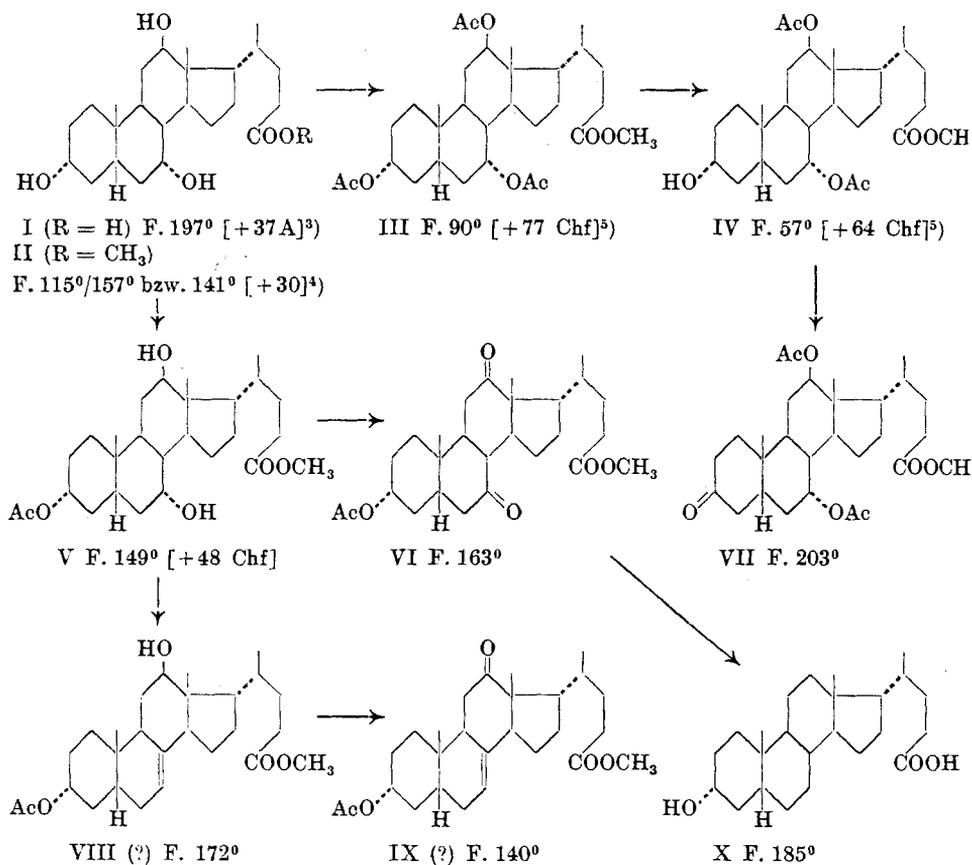
10) *H. Wieland, E. Dane, Z. physiol. Ch. 210, 268 (1932).*

11) Wir geben den Hydroxylgruppen dieselben Indices, wie dies für Cholsäure üblich ist, wobei der Beweis, dass durch die energische Alkalibehandlung keine Isomerisierung eingetreten ist, noch aussteht. Immerhin spricht die spez. Drehung der Säure dafür, dass eine solche Isomerisierung nicht eingetreten ist.

12) Den analogen 3-Carbäthoxy-ester beschreibt *W. Borsche, B. 57, 1620 (1924).*

13) Zur Bereitung von Lithocholsäure aus freier Redukto-dehydrocholsäure vgl. *W. Borsche, W. Hallwass, B. 55, 3324 (1922); L. Ruzicka, M. W. Goldberg, Helv. 18, 668 (1935).*

worden ist, schliessen wir daraus, dass wir bei Derivaten der Desoxycholsäure die Abspaltung der 12-ständigen Hydroxylgruppe unter so milden Bedingungen bisher nie beobachten konnten. Andererseits fanden Wintersteiner und Moore¹⁾, dass 3 β -Acetoxy-7 β -oxycholestan²⁾ beim Erwärmen mit Tosylchlorid in Pyridin leicht in 3 β -Acetoxycholesten-(7) (γ -Cholesterin-acetat) und isomere Produkte übergeht. Die Untersuchung wird gelegentlich fortgesetzt.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung in Chloroform an.

¹⁾ O. Wintersteiner, M. Moore, Am. Soc. **65**, 1503, 1507 (1943).

²⁾ Die 7-ständige Hydroxylgruppe in 3 β ,7 β -Dioxy-cholesterin hat trotz der bisher verschiedenen Bezeichnungsart räumlich dieselbe Lage in bezug auf das Ringsystem wie die entsprechende HO-Gruppe in der Cholsäure. Vgl. ¹⁾ und ⁵⁾.

³⁾ S. Miyazi, T. Kimura, J. Biochem. **26**, 337 (1939); C. **1939**, II, 2240.

⁴⁾ Z. Uraki, Z. physiol. Ch. **207**, 16 (1932).

⁵⁾ Pl. A. Plattner, H. Heusser, Helv. **27**, 748 (1944).

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Die Substanzproben zur Analyse wurden, wenn nichts anderes erwähnt, 2 Stunden im Hochvakuum bei 80° getrocknet.)

Cholsäure-methylester (II).

50 g Cholsäure (I) werden in 200 cm^3 1-proz. HCl in Methanol unter leichtem Erwärmen gelöst und 16 Stunden bei 20° stehengelassen. Falls keine Krystallisation eingetreten ist, wird geimpft und die rasch eintretende Abscheidung durch 1-stündiges Stehen bei 0° beendet. Abnutschen, Waschen mit Methanol und Trocknen im Vakuum gab 50 g Ester vom Doppelschmelzpunkt $110\text{--}115^\circ$, dann $156\text{--}158^\circ$. Aus der Mutterlauge durch starkes Einengen noch 3 g. Der Rest lässt sich auch durch Ausschütteln mit Äther und Neutralwaschen gewinnen. Zur Bereitung von wasser- und methanolfreiem Ester wird in der eben erforderlichen Menge absolutem Benzol heiss gelöst, im Vakuum bei 80° rasch eingedampft, der verbleibende Schaum sofort in absolutem Äther gelöst und geimpft. Zum Impfen ist eine geschmolzene und bei ca. $130\text{--}140^\circ$ wieder erstarrte Probe der aus Methanol gewonnenen Krystalle geeignet. Das aus Äther erhaltene und mit Äther gewaschene Krystallpulver schmilzt bei $141\text{--}142^\circ$.

3α -Acetoxy- 7α , 12β -dioxy-cholansäure-methylester (V)¹⁾.

Um eine gute Ausbeute zu erzielen, ist es unumgänglich, reinsten, trockenen (am besten wie oben beschrieben aus Benzol-Äther rekrystallisierten) Cholsäure-methylester (II) zu verwenden. 8,8 g davon wurden in 25 cm^3 absolutem Benzol unter Rückfluss zum Sieden erhitzt und durch den Kühler innerhalb von 30 Minuten die Mischung von $6,6\text{ cm}^3$ Essigsäure-anhydrid (= 3,36 Mol) und 10 cm^3 absolutem Benzol zugetropft. Dann wurde noch 2 Stunden unter Rückfluss gekocht, im Vakuum völlig eingedampft und der Rückstand in warmem Äther gelöst²⁾. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Ätherlösung wurde auf ca. 30 cm^3 eingengt und mit Petroläther nicht ganz bis zur Trübung versetzt. Nach einigem Stehen, sofort beim Impfen, trat Krystallabscheidung ein. Nach Abnutschen, Waschen mit Äther und Trocknen im Vakuum wogen die Krystalle 3,85 g und schmolzen bei $148\text{--}150^\circ$. Die Mutterlauge gab nach Einengen noch 0,9 g derselben Reinheit. Ausbeute total 4,75 g (= 51%). Umkrystallisieren aus viel Äther durch Einengen oder aus Aceton-Äther liefert das analysenreine Produkt vom Smp. $149\text{--}150^\circ$.

3,743 mg Subst. gaben 9,564 mg CO_2 und 3,195 mg H_2O
 $\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_8$ (464,35) Ber. C 69,79 H 9,55%
 Gef. „ 69,73 „ 9,55%

Aus den Mutterlaugen kann ein weiterer Rest durch Chromatographie gewonnen werden. Einfacher ist es, diese Gemische zur Bereitung des Triacetats (III) zu verwenden oder sie durch alkalische Verseifung wieder in Cholsäure (I) überzuführen.

3α -Acetoxy- 7 , 12 -diketo-cholansäure-methylester (VI) aus (V).

4,75 g 3α -Acetoxy- 7α , 12β -dioxy-cholansäure-methylester (V) in 30 cm^3 Eisessig³⁾ wurden unter Kühlung auf 15° langsam mit 83 cm^3 2-proz. CrO_3 -Eisessiglösung versetzt und 16 Stunden stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter H_2SO_4 , Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na_2SO_4 getrocknete Ätherlösung gab nach starkem Einengen Krystalle, deren Abscheidung durch Zugabe von Petroläther vervollständigt wurde.

¹⁾ *Pl. A. Plattner, H. Heusser, Helv. 27, 748 (1944).*

²⁾ Häufig tritt hier bereits Abscheidung von Krystallen ein, die dann direkt abfiltriert werden; sie stellen fast reines Mono-acetat (V) dar.

³⁾ Über CrO_3 destilliert.

Einmaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 3,76 g farblose Plättchen vom Smp. 163—164°.

3,768 mg Subst. gaben 9,730 mg CO₂ und 3,02 mg H₂O (*Ciba*)
 $C_{27}H_{40}O_8$ (460,31) Ber. C 70,39 H 8,76%
 Gef. „ 70,46 „ 8,97%

Lithocholsäure (X) aus (VI).

0,1 g 3 α -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester, 0,5 cm³ Hydrazinhydrat und die Lösung von 0,1 g Natrium in 2,5 cm³ absolutem Alkohol wurden im Bombenrohr 18 Stunden auf 175° erhitzt. Die übliche Aufarbeitung gab 70 mg Lithocholsäure vom Smp. 185—187° (Mischprobe). Zur weiteren Identifizierung wurde das Methylesteracetat¹⁾ bereitet, das bei 129—131° schmolz; Mischprobe ebenso.

3 α -Acetoxy-x-brom-7,12-diketo-cholansäure-methylester.

In einem Rundkolben mit eingeschliffenem Rückflusskühler wurden 2,3 g 3 α -Acetoxy-7,12-diketo-cholansäure-methylester (VI) vom Smp. 164° in 10 cm³ Eisessig²⁾ gelöst, mit 2 Tropfen 33-proz. HBr-Eisessiglösung versetzt, bei 75° unter Umschwenken innerhalb von 2 Stunden 0,8 g Brom in 10 cm³ Eisessig eingetropt und die Mischung noch weitere 3 Stunden bei 75° gehalten. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst und mit eiskalter Sodalösung ausgeschüttelt. Die beim Ansäuern der Sodauszüge reichlich ausfallenden Säuren wurden in ätherischer Lösung mit Diazomethan kurz methyliert und mit der neutralen Ätherlösung vereinigt. Nach Waschen mit verdünnter HCl, Sodalösung und Wasser wurde über Na₂SO₄ getrocknet, stark eingengt, mit Petroläther versetzt und angeimpft. Die ersten Impfkristalle wurden durch Chromatographie einer Probe erhalten. Die so gewonnenen 1,8 g Rohkristalle gaben aus Aceton-Äther farblose Plättchen vom Smp. 178—180°.

3,586 mg Subst. gaben 7,960 mg CO₂ und 2,387 mg H₂O
 3,466 mg Subst. gaben 1,220 mg AgBr
 $C_{27}H_{39}O_8Br$ (539,50) Ber. C 60,11 H 7,29 Br 14,81%
 Gef. „ 60,58 „ 7,45 „ 14,98%

Nach mehrstündigem Kochen des Stoffes mit Pyridin war die Hauptmenge unverändert. Sogar nach 3-stündigem Kochen mit Collidin war ein Teil unzersetzt, der Rest in braune, nicht krystallisierende und immer noch bromhaltige Produkte übergegangen. 2-stündiges Kochen mit Dimethylanilin führte unter Entbromung zu (VI).

3-Keto-7 α ,12 β -diacetoxy-cholansäure-methylester (VII) aus (III).

2 g 3 α ,7 α ,12 β -Triacetoxy-cholansäure-methylester (III) wurden in 10 cm³ 1-proz. methanolischer HCl gelöst und 20 Stunden bei 18° stehengelassen. Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther, Waschen mit Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen lieferte 1,9 g rohen Ester (IV), der nur schwer krystallisiert³⁾ und für die Bereitung von (VII) direkt mit 0,38 g CrO₃ in 25 cm³ Eisessig²⁾ bei 18° dehydriert wurde. Die übliche Aufarbeitung gab 1,8 g neutrales Rohprodukt. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther lieferte 1,3 g Prismen vom Smp. 203—204°.

3,812 mg Subst. gaben 9,646 mg CO₂ und 2,993 mg H₂O
 $C_{29}H_{44}O_7$ (504,34) Ber. C 69,02 H 8,79%
 Gef. „ 69,06 „ 8,79%

¹⁾ *S. Bergström, G. A. D. Haslewood, Soc. 1939, 540.*

²⁾ Über CrO₃ destilliert.

³⁾ Vgl. *Pl. A. Plattner, H. Heusser, Helv. 27, 748 (1944).*

7 α ,12 β -Dioxy-cholansäure (Iso-desoxy-cholsäure) aus (VII).

Die Reduktion von 0,4 g 3-Keto-7 α ,12 β -diacetoxy-cholansäure-methylester (VII) nach *Wolff-Kishner*, genau wie bei (X) aus (VI) beschrieben, gab 0,16 g reine Iso-desoxy-cholsäure¹⁾ vom Smp. 210—211° (aus Äther).

3 α -Acetoxy-12 β -oxy-cholen-(7)-säure-methylester (VIII) (?) und
3 α -Acetoxy-12-keto-cholen-(7)-säure-methylester (IX) (?)

2 g 3 α -Acetoxy-7 α ,12 β -dioxy-cholansäure-methylester (V) vom Smp. 149—150° wurden in 2,5 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 1,5 g Tosylchlorid (= 1,8 Mol) versetzt und unter H₂O-Ausschluss 7 Stunden auf 50° erwärmt. Nach dem Erkalten wurde 1 cm³ Wasser zugegeben, 1 Stunde bei 20° stehengelassen, dann im Vakuum eingedampft, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit HCl, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen (bei 50°) 2,51 g im Vakuum getrockneten Rückstand, der über 60 g Al₂O₃ chromatographisch getrennt wurde.

Die mit Benzol sowie Benzol-Äther (1:1) eluierbaren Anteile (1,375 g) lieferten aus Äther-Petroläther 0,476 g Rohkrystalle (VIII) vom Smp. 168—172°. Die Mutterlauge war S-haltig. Aus den mit Äther eluierbaren Fraktionen (0,56 g) liessen sich 0,48 g Ausgangsmaterial gewinnen. Äther-Methanol eluierte noch 0,23 g amorphes Material.

Die Rohkrystalle lieferten aus viel Äther durch Einengen farblose Blättchen vom Smp. 172—175°.

3,815 mg Subst. gaben 10,129 mg CO₂ und 3,26 mg H₂O

C ₂₇ H ₄₂ O ₅ (446,34)	Ber. C 72,61	H 9,48%
	Gef. „ 72,46	„ 9,56%

Die Einheitlichkeit der Substanz ist unsicher, sie gibt in wenig CHCl₃ mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung. Vorsichtige Dehydrierung mit der eben erforderlichen Menge³⁾ CrO₃ in Eisessig lieferte ein Neutralprodukt (IX) (?), das nach Umkrystallisieren aus Äther bei 140—141° schmolz. Ein gleich schmelzendes Produkt, das bei der Mischprobe jedoch eine geringe Schmelzpunktserniedrigung gab, wurde in folgender Weise erhalten:

4 g (V) wurden durch Abdampfen mit Benzol getrocknet und in 5 cm³ absolutem Pyridin mit 3 g Tosylchlorid 3 Tage bei 18° stehengelassen. Das erhaltene rohe Neutralprodukt (4,08 g) enthielt (VIII), das bei der Chromatographie eines Teiles davon isoliert werden konnte. Die Hauptmenge (3,4 g) des Rohprodukts wurde mit 1 Mol CrO₃ in Eisessig dehydriert und das neutrale Dehydrierungsprodukt (2,85 g) mit 5 cm³ Collidin 5 Stunden gekocht. Nach üblicher Aufarbeitung wurden die neutralen Teile chromatographisch getrennt. Die mit Benzol-Petroläther eluierbaren Anteile gaben aus Äther Krystalle vom Smp. 140—141°.

3,766 mg Subst. gaben 10,017 mg CO₂ und 2,975 mg H₂O

C ₂₇ H ₄₀ O ₅ (444,31)	Ber. C 72,94	H 9,07%
	Gef. „ 72,59	„ 8,84%

Die Identität der beiden Krystallisate ist unsicher. Im letztgenannten Versuch wurden aus den mit Benzol und Benzol-Äther eluierbaren Anteilen noch reichliche Mengen (VI) erhalten.

Die Mikroanalysen wurden, wenn nichts anderes erwähnt, im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *W. Borsche, E. Feske, Z. physiol. Ch.* **176**, 173 (1923).

²⁾ *H. Wieland, E. Dane, Z. physiol. Ch.* **210**, 268 (1932).

³⁾ Vgl. *A. Lardon, T. Reichstein, Helv.* **27**, 713 (1944).