

243. 3- β -Acetoxy-14-*iso*-17-*iso*- α -tio-cholansäure-methylester aus Digitoxigenin.

Glykoside und Aglykone, 25. Mitteilung¹⁾

von K. Meyer.

(6. X. 47.)

Beim Behandeln von Digitoxigenin-acetat (I) mit Ozon in Chloroform und anschliessender oxydativer Spaltung des rohen Ozonids mit KMnO_4 in Aceton erhielten *Hunziker* und *Reichstein*^{a)2)} eine Säure (VIII) $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$ und ein Keto-lacton (VII) $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$. Die Säure (VIII) wurde durch ihr Methylester-acetat (IX) charakterisiert und ihre Konstitution durch Abbau zu 3- β -Acetoxy- α -tio-cholansäure bewiesen, wodurch gleichzeitig die räumliche Stellung der Substituenten an C-3 und C-17 festgelegt wurde. Für die Annahme, dass Digitoxigenin, also auch die Säure (VIII) in 14-Stellung *iso*-Konfiguration besitzt, spricht vor allem die leichte Bildung von Iso-Digitoxigenin nach Behandlung von Digitoxigenin mit Alkali³⁾. Diese Reaktion wird wohl mit Recht so gedeutet, dass sich ein neuer Ring zwischen dem C-Atom Nr. 21 und dem O-Atom an C-14 ausbildet. Diese Ringbildung ist nur möglich, wenn sowohl die HO-Gruppe an C-14 wie der Lactonring auf derselben Seite des Ringsystems angeordnet ist. Hingegen ist bisher nie streng bewiesen worden, dass die genannte Isomerisierung, die auch bei vielen andern herzwirksamen Glykosiden und Aglykonen durchführbar ist, ohne Umkehrung an C-17 verläuft. *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ haben ferner den Ester (IX) ganz kürzlich auf teilsynthetischem Wege bereitet und ihm auf Grund früherer Arbeiten⁴⁾⁵⁾ und theoretischer Überlegungen ebenfalls 14-*iso*-Konfiguration zugeschrieben. In vorliegender Arbeit wird die räumliche Lage der 14-ständigen HO-Gruppe im Digitoxigenin bzw. in (IX) auf unabhängigem Wege abgeleitet⁶⁾.

Falls das Keto-lacton (VII) sterisch gleich gebaut ist wie die Säure (VIII), so ergibt sich daraus mit Sicherheit, dass Digitoxigenin in 14-Stellung *iso*-Konfiguration besitzt, da eine Lactonbildung nur möglich ist, wenn die Substituenten an C-17 und C-14 auf derselben Seite des Ringsystems angeordnet sind.

¹⁾ 24. Mitt. *H. Koechlin, T. Reichstein, Helv.* **30**, 1673 (1947).

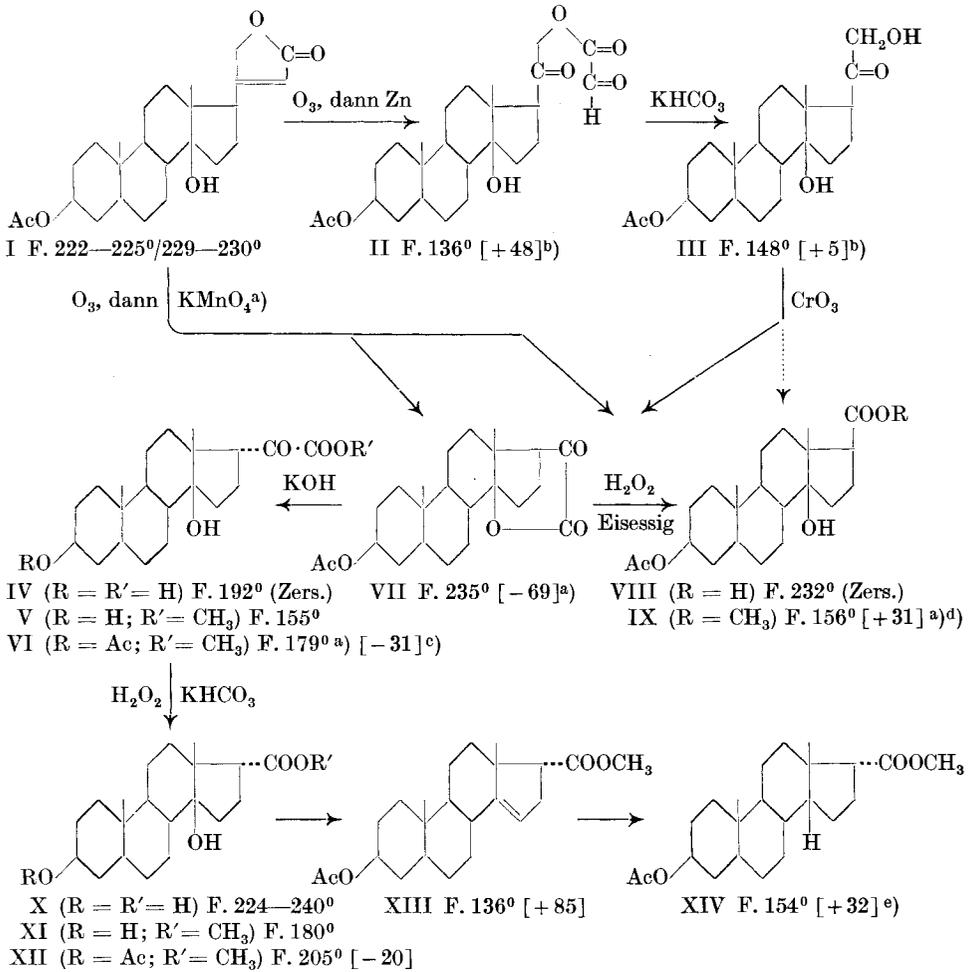
²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

³⁾ *W. A. Jacobs, E. L. Gustus, J. Biol. Chem.* **78**, 573 (1928); vergl. ferner auch *W. D. Paist, E. R. Blout, F. C. Uhle, R. C. Elderfield, J. Org. Chem.* **6**, 273 (1941).

⁴⁾ *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki, Kd. Meier, Helv.* **29**, 942 (1946).

⁵⁾ *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, Kd. Meier, Helv.* **29**, 2023 (1946).

⁶⁾ Diese Arbeit war beim Erscheinen der Publikation von *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ abgeschlossen.



Ac = CH₃CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in Chloroform an.

Um das Lacton (VII) genauer zu untersuchen, wurde zunächst seine Gewinnungsart verbessert. Wie kürzlich erwähnt^{b)}, lässt es sich auch aus dem Glyoxylsäure-ester(II) mit CrO₃ in mässiger Ausbeute bereiten. Neue Versuche ergaben folgendes: beim Behandeln von (II) mit Perjodsäure in wässrigem Dioxan entstand gar kein Lacton, sondern nur etwas Säure (VIII), während die Hauptmenge des Glyoxylsäure-esters unverändert zurückgewonnen und in dieser

a) F. Hunziker, T. Reichstein, Helv. **28**, 1472 (1945).

b) K. Meyer, T. Reichstein, Helv. **30**, 1508 (1947).

c) Vergl. Exper. Teil dieser Arbeit.

d) L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser, Kd. Meier, Helv. **30**, 1342 (1947).

e) K. Meyer, Helv. **29**, 718 (1946).

Weise in besonders reiner Form erhalten wurde. Die besten Ausbeuten an Lacton (VII) wurden durch Oxydation des Ketols (III) mit CrO_3 erhalten; ohne Reinigung der Zwischenprodukte (II) und (III) liessen sich 57% reines (VII) aus (I) gewinnen.

Um die konfigurative Verwandtschaft von (VII) und (VIII) sicherzustellen, wurde das Lacton (VII) mit H_2O_2 in Eisessig bei 18° oxydiert. Neben unverändertem Ausgangsmaterial liess sich dabei die bekannte Säure (VIII) isolieren, die wieder als Methylester-acetat (IX) charakterisiert und mit authentischem Material identifiziert wurde. Da unter den angewandten Oxydationsbedingungen keine räumliche Umlagerung stattfindet (vergl. dagegen die Isomerisierung mit Alkali weiter unten), so ist damit bewiesen, dass die Stoffe (I), (II), (III), (VII), (VIII) und (IX) in 14-Stellung *iso*-Konfiguration besitzen.

Von Interesse ist ferner die Einwirkung von Alkali auf das Lacton (VII). Ein analog gebautes Lacton ist von *Jacobs*¹⁾ beim Abbau von Strophanthidinsäure mit KMnO_4 erhalten und von *Elderfield*²⁾ näher untersucht worden. *Jacobs*¹⁾ machte die Beobachtung, dass dieses Lacton nach alkalischer Verseifung eine Dicarbonsäure liefert, die spontan kein Lacton mehr bildet. *Elderfield*²⁾ erklärte diese Beobachtung damit, dass bei der Ringöffnung eine Isomerisierung an C-17 (unter Enolisierung an C-20) stattfindet. Dadurch wird die Ketocarbonsäure-Gruppierung *trans*-ständig zur HO-Gruppe an C-14, was eine Rückbildung des Lactons unmöglich macht. Ein solcher Reaktionsverlauf konnte beim Lacton (VII) eindeutig bewiesen werden. Schon *Hunziker* und *Reichstein*³⁾ haben durch alkalische Verseifung des Lactons (VII) eine Dioxyketosäure erhalten, die bei Zimmertemperatur kein Lacton mehr bildet, und haben sie als Methylester-acetat (VI) charakterisiert. Dieser Versuch wurde wiederholt und die freie Ketosäure (IV) sowie ihr Methylester (V) in reiner Form isoliert. Die Säure lieferte auch bei längerem Erwärmen auf 55° kein Lacton, und durch Abbau liess sich einwandfrei zeigen, dass ihr 17-*iso*-Konfiguration zukommt. Für die Überführung von (IV) in (X) erwies sich sowohl die Oxydation mit H_2O_2 in Eisessig wie auch diejenige mit Perjodsäure in wässrigem Dioxan als ungeeignet, da beide Methoden nicht einheitlich verliefen und zudem schlechte Ausbeuten an (X) bzw. (XII) ergaben. Wurde (IV) dagegen in ganz schwach alkalischer Lösung³⁾ mit H_2O_2 oxydiert, so entstand in fast quantitativer Ausbeute eine Dioxysäure (X), die als Methylester (XI) und Methylester-acetat (XII) charakterisiert werden konnte. (XII) war eindeutig verschieden von (IX), zeigte aber denselben Smp. und eine ähnliche Drehung wie der inzwischen

¹⁾ *W. A. Jacobs*, *J. Biol. Chem.* **57**, 533 (1923).

²⁾ *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **113**, 631 (1936); vergl. ferner *A. Butenandt*, *T. F. Gallagher*, *B.* **72**, 1866 (1939), sowie *M. Ehrenstein*, *J. Biol. Chem.* **9**, 435 (1944).

³⁾ Vergl. z. B. *A. Reissert*, *B.* **30**, 1030 (1897).

von *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ beschriebene 3 β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure-methylester (XII). Die spez. Drehungen von (IX) und (XII) unterscheiden sich um etwa 50⁰, wie dies auch bei andern Ätio-cholansäure-methylestern, die sich lediglich durch Raumisomerie an C-17 unterscheiden, früher gefunden worden war¹⁾²⁾. Der Methylester (XII) wurde ferner zur Wasserabspaltung mit POCl₃ in Pyridin erhitzt³⁾. Der gut krystallisierte ungesättigte Ester (XIII) stimmte in Schmelzpunkt und Drehung ebenfalls mit dem inzwischen von *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ teilsynthetisch bereiteten Präparat überein und gab bei der Hydrierung mit PtO₂ in Eisessig den bekannten 3 β -Acetoxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-cholansäure-methylester^{e)}, dessen Konfiguration entsprechend einer von *Plattner*, *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ aufgestellten Vermutung von *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ kürzlich bewiesen wurde. Dieser Abbau beweist die 17-*iso*-Konfiguration in (IV), (V), (VI), (X), (XI) und (XII). Die einheitliche Bildung der 14-*iso*-Verbindung (XIV) bei der Hydrierung von (XIII) entspricht den Beobachtungen von *Plattner*, *Ruzicka* und Mitarb.⁴⁾ in der Alkoholan-Reihe und der inzwischen durchgeführten Hydrierung von (XIII)^{e)}. Ausserdem erlaubt der Abbau über das Lacton (VII), zu den 17-*iso*-Ätiosäuren zu gelangen, die den *allo*-Glykosiden entsprechen, und es ist zu erwarten, dass damit die Stereochemie dieser Stoffe eindeutig bewiesen werden kann.

Es ist bemerkenswert, wie stark die räumliche Anordnung an C-14 die Stabilität von 20-Keto-steroiden beeinflusst. In der normalen Reihe sind diejenigen 20-Keto-Verbindungen stabil (energieärmer), die in 17-Stellung die normale β -Konfiguration besitzen. Die 17-*iso*-20-Keto-steroiden werden beim Kochen mit Alkali oder Säure weitgehend in die normalen Formen umgelagert⁵⁾⁶⁾⁷⁾. Bei den

1) *J. v. Euw*, *T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1851 (1944).

2) *M. Sorkin*, *T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 1209 und 1218 (1946).

3) Im Gegensatz zu (IX) gelang hier die Wasserabspaltung auch in Gegenwart von etwas Wasser⁸⁾ nicht bei Raumtemperatur. Dieses Resultat steht im Widerspruch zu den Befunden von *Pl. A. Plattner*, *L. Ruzicka*, *H. Heusser*, *E. Angliker*, *Helv.* **30**, 1073 (1947) (siehe bes. Fussnote 8 auf S. 1076) in der *allo*-Reihe, wonach die Wasserabspaltung bei den 14-Oxy-14-*iso*-17-*iso*-ätio-*allo*-cholansäure-methylestern leichter verläuft als bei den entsprechenden Derivaten mit normaler 17-Stellung. Vergl. auch *Pl. A. Plattner*, *L. Ruzicka*, *H. Heusser*, *J. Pataki*, *Kd. Meier*, *Helv.* **29**, 942 (1946), bes. Fussnote 2, S. 949. Im Experimentellen Teil dieser Publikation, S. 948, findet sich dagegen die Angabe, dass der in 17-Stellung normale Ester bereits bei Zimmertemperatur leicht Wasser abspaltet. Falls also keine Verwechslung vorliegt, scheint der Erfolg der Wasserabspaltung der 14-ständigen HO-Gruppe bei tiefer Temperatur nicht nur von der Konfiguration an C-17, sondern auch von unabgeklärten Zufällen abhängig zu sein.

4) *Pl. A. Plattner*, *L. Ruzicka*, *H. Heusser*, *J. Pataki*, *Kd. Meier*, *Helv.* **29**, 942 (1946).

5) *A. Butenandt*, *L. Mamoli*, *B.* **68**, 1847 (1935).

6) *A. Butenandt*, *G. Fleischer*, *B.* **70**, 96 (1937).

7) *A. Butenandt*, *J. Schmidt-Thomé*, *H. Paul*, *B.* **72**, 1112 (1939); vergl. ferner auch *C. W. Shoppee*, *Helv.* **23**, 925 (1940).

8) *K. Meyer*, *Helv.* **29**, 1908 (1946).

14-*iso*-Steroiden scheinen umgekehrt die 17-*iso*-Formen energieärmer zu sein, wie sich aus der sehr weitgehenden Umlagerung von (VII) in (IV) ergibt. Dieses Verhalten hat eine gewisse Parallele im Hydrierungsverlauf der Ätio-cholen-(14)-säuren mit Platin in Eisessig. Die „normalen“ 17 β -Säuren liefern bei der Hydrierung die normale Konfiguration an C-14^a), die 17-*iso*-Säuren führen zur 14-*iso*-Reihe¹a). Ein ähnlicher Verlauf wäre auch bei der Hydrierung der in 14-Stellung isomeren Ätio-cholen-(16)-säuren zu erwarten; doch ist hier die 14-*iso*-Säure noch unbekannt.

Ich danke der *Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie* für ein Stipendium, der *Ciba AG.* Basel für die freundliche Überlassung von Digitoxin und Herrn Prof. *T. Reichstein* für seine stete Hilfe.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Analyse und Drehung wurden 1 Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet.)

Oxydation von 3 β -Acetoxy-21-glyoxyloxy-14-oxy-14-*iso*-pregnanon-(20) (II) mit Perjodsäure.

60 mg Glyoxylsäure-ester (II) vom Smp. 130—134 $^\circ$ wurden in 1,0 cm³ Dioxan gelöst, mit der Lösung von 180 mg Perjodsäure in 0,2 cm³ Wasser und 0,5 cm³ Dioxan versetzt und 18 Std. bei 18 $^\circ$ stehen gelassen, wobei sich feine Nadelchen von Jodsäure ausschieden. Eindampfen im Vakuum bei 30 $^\circ$, Aufnehmen in Chloroform-Äther und übliche Trennung mit verd. Sodalösung gab 18 mg Säure und 44 mg Neutralprodukt. Die Säure wurde mit ätherischem Diazomethan methyliert und lieferte aus Äther feine Nadelchen vom Smp. 156—158 $^\circ$, die sich nach Mischprobe als identisch mit 3 β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätio-cholensäure-methylester (IX) erwiesen. Das Neutralprodukt gab aus Aceton-Äther feine Plättchen vom Smp. 136—138 $^\circ$ und zeigte mit dem Ausgangsmaterial (II) verrieben keine Schmelzpunktserniedrigung. Der Glykolsäure-ester (II) wird durch diese Behandlung also besonders rein erhalten.

3 β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-lacton(21 \rightarrow 14) (VII) aus (I).

800 mg Digitoxigenin-acetat (I) vom Doppel-Smp. 222—225 $^\circ$ /229—230 $^\circ$ wurden in 40 cm³ reinem, neutralem Essigester gelöst und bei -80° während 20 Minuten trockener ozonhaltiger Sauerstoff (ca. 100 cm³/Min. mit ca. 4,5% O₃, entsprechend ca. 2 Mol O₃) eingeleitet. Die blaviolette Lösung wurde 20 Minuten bei -80° stehen gelassen, wobei die Farbe bestehen blieb. Nach dem Eindampfen im Vakuum wurde der farblose Rückstand in ca. 10 cm³ Eisessig gelöst und unter Schütteln mit kleinen Portionen Zinkstaub versetzt, bis eine Probe auf feuchtem Kaliumjodidstärkepapier keine Blaufärbung mehr zeigte. Dann wurde filtriert, mit Chloroform nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen, die Lösung einmal mit Wasser und Eis, zweimal mit verd. Sodalösung und Eis und zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der schaumige Rückstand (900 mg) wurde in 60 cm³ Methanol gelöst, mit der kalt bereiteten Lösung von 1,4 g KHCO₃ in 32 cm³ Wasser versetzt und 40 Std. bei 18 $^\circ$ stehen gelassen. Nach Entfernen des Methanols im Vakuum wurde in Chloroform-Äther aufgenommen, mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 718 mg. Er wurde in 6 cm³ Eisessig gelöst und mit 8,5 cm³ 4-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (= 320 mg

¹) *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki, Kd. Meier*, *Helv.* **29**, 942 (1946).

CrO_3 , entsprechend 2,6 O) 12 Std. bei 18° stehen gelassen, worauf das CrO_3 vollständig verbraucht war. Dann wurde im Vakuum bei $20-30^\circ$ zum Sirup eingedampft, mit verd. H_2SO_4 und Wasser versetzt und mit Essigester extrahiert. Die Essigesterlösung wurde hierauf so lange mit verd. H_2SO_4 , Eis und Wasser ausgeschüttelt, bis die wässrige Phase farblos blieb. Die übliche Trennung mit verd. Sodalösung gab 500 mg neutrale und 115 mg saure Anteile. Die Säure erwies sich als praktisch reine β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure (VIII). Der Neutralteil wurde mehrmals aus Aceton umkrystallisiert und gab 422 mg (VII) vom Smp. $235-238^\circ$ (Sintern ab 230°). Mischprobe mit dem früher beschriebenen Präparat ebenso.

Oxydation des β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-lactons (21 \rightarrow 14) (VII) mit H_2O_2 in Eisessig.

70 mg Ketolacton (VII) vom Smp. $235-240^\circ$ wurden in $3,0 \text{ cm}^3$ Eisessig gelöst, mit $0,6 \text{ cm}^3$ 30-proz. H_2O_2 versetzt und 48 Std. bei 18° stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Chloroform gelöst und wie üblich in saure und neutrale Anteile getrennt. Die Säure (14 mg) gab aus Aceton flache zu Drusen vereinigte Nadelchen vom Smp. $230-239^\circ$ (Zers.). Die Mischprobe mit β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure (VIII) schmolz ebenso. Der mit ätherischem Diazomethan bereitete Methylester lieferte nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan flache Nadelchen vom Smp. $154-157^\circ$. Die Mischprobe mit β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure-methylester (IX) schmolz ebenso. Das Neutralprodukt gab aus Aceton dicke Prismen vom Smp. $230-237^\circ$ und war unverändertes Ketolacton (VII).

β -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-17-*iso*-pregnan-21-säure-methylester (VI) aus (VII)^a.

420 mg Ketolacton (VII) wurden mit 4,0 g KOH in $15,5 \text{ cm}^3$ Wasser und 25 cm^3 Methanol während 30 Minuten auf dem Wasserbad gekocht. Beim Entfernen des Methanols im Vakuum schied sich das Kaliumsalz der Säure als dicke Gallerte aus. Sie wurde mit soviel Wasser versetzt, dass eben völlige Lösung eintrat, und zweimal mit Essigester ausgeschüttelt. Der Essigester gab nach dem Waschen mit Wasser, Trocknen, Filtrieren und Eindampfen 3 mg Rückstand. Die alkalische wässrige Lösung wurde hierauf auf 0° abgekühlt, unter Kühlen und Umschwenken tropfenweise mit 20-proz. HCl bis zur kongosaueren Reaktion versetzt und zweimal mit Essigester ausgeschüttelt. Die Essigesterlösung wurde mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft und zur event. Rückbildung des Lactons während 15 Minuten im Vakuum auf 55° erhitzt (401 mg Schaum). Hierauf wurde in Essigester aufgenommen und die Lösung mehrmals in kleinen Portionen mit 2-n. Sodalösung ausgezogen. Die Essigesterlösung gab nach einmaligem Waschen mit Wasser, Trocknen über Natriumsulfat, Filtrieren und Eindampfen 6 mg Rückstand. Die vereinigten Sodaauszüge wurden auf 0° abgekühlt, mit 20-proz. HCl kongosauer gemacht und mit Essigester extrahiert, die Essigester auszüge einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft (395 mg Schaum). Aus Aceton und Aceton-Chloroform kugelige Drusen vom Smp. $192-193^\circ$ (Zers.). Ausbeute an krystallisierter reiner Säure (IV) = 295 mg.

Methylester (V). Eine Probe von (IV) wurde in einigen Tropfen Methanol gelöst, auf 0° abgekühlt und tropfenweise mit ätherischem Diazomethan versetzt, bis die gelbe Farbe bestehen blieb. Nach 10 Minuten wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Aus Aceton-Äther glänzende Plättchen, die sich bei $86-90^\circ$ verflüssigten, hierauf wieder zu fiederförmigen Nadelchen erstarrten, die bei $155-156^\circ$ schmolzen.

Methylester-acetat (VI)^a, Acetylierung des oben erhaltenen Esters (V) in Pyridin-Acetanhydrid bei 18° während 16 Std. gab aus Aceton-Äther flache Nadeln vom Smp. $179-180^\circ$. $[\alpha]_D^{21} = -30,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,5946$ in Chloroform).

$$15,97 \text{ mg Subst. zu } 1,0015 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{21} = -0,49^\circ \pm 0,02^\circ$$

3 β -Acetoxy-14-oxy-14-iso-17-iso-ätio-cholansäure-
methylester (XII) aus (IV).

a) Mit H₂O₂ in Eisessig.

82 mg Ketosäure (IV) vom Smp. 192—193° (Zers.) wurden in 2 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,70 cm³ 30-proz. H₂O₂ versetzt und 40 Std. bei 45° stehen gelassen und hierauf im Vakuum eingedampft. Der Rückstand krystallisierte nach dem Versetzen mit Chloroform, erwies sich aber in diesem Lösungsmittel wie auch im Essigester als äusserst schwer löslich. Das Rohprodukt wurde im Vakuum getrocknet und in Aceton gelöst. Beim Einengen schied sich ein krystallines Pulver aus, das abgesaugt und mit Essigester und Äther gewaschen wurde. Smp. 234—264° (unter Gelbfärbung und Zers.).

Zur Bereitung des Methylesters wurden Krystalle und Mutterlaugen vereinigt, im Vakuum zur Trockene gebracht, in wenig Methanol gelöst und mit ätherischem Diazomethan bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach 10 Minuten wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand krystallisierte aus Aceton-Äther in feinen, nicht gut ausgebildeten Blättchen, die bei 122—140° schmolzen.

Zur Acetylierung wurden Krystalle und Mutterlauge vereinigt und nach dem Trocknen im Hochvakuum in 1,0 cm³ Pyridin und 0,7 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 35° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 86 mg Öl, das über 2,6 g Al₂O₃ chromatographisch gereinigt wurde. Benzol und Chloroform-Benzol (1:19) eluierten 38 mg, die aus Aceton-Äther 24 mg Prismen vom Smp. 205—206° gaben (XII). $[\alpha]_D^{20} = -20,1^\circ \pm 2,0^\circ$ ($c = 1,292$ in Chloroform).

12,935 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,26^\circ \pm 0,02^\circ$

3,848 mg Subst. gaben 9,90 mg CO₂ und 3,21 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₆ O ₅ (392,52)	Ber. C 70,37	H 9,25%
	Gef. „ 70,21	„ 9,34%

Chloroform-Benzol (1:9) und (1:4) eluierten 18 mg, die aus Aceton-Äther in rhombischen Plättchen krystallisierten. Smp. 224—250°. Die Substanz zeigte auch nach mehrmaligem Umkrystallisieren keinen schärferen Smp. und wurde deshalb nicht näher untersucht.

Chloroform-Benzol (1:1) und Chloroform allein eluierten noch 12 mg ölige Anteile.

b) Mit Perjodsäure.

50 mg Ketosäure (IV) vom Smp. 192—193° (Zers.) wurden in 2 cm³ Dioxan gelöst und mit 100 mg Perjodsäure in 0,6 cm³ Wasser versetzt. Nach 20 Std. bei 18° hatte sich ein reichlicher Niederschlag feiner Nadelchen von Jodsäure gebildet. Nach Zufügen von ca. 2 cm³ Wasser wurde im Vakuum bei 30—40° eingengt, wobei ein feiner krystalliner Niederschlag ausfiel, der abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet wurde. Aus Aceton Plättchen vom Smp. 185—205° (Zers.). Die Krystalle und die Mutterlauge wurden vereinigt, im Vakuum zur Trockene gebracht, in wenig Methanol gelöst und mit ätherischem Diazomethan methyliert. Aus Aceton Krystalle, die bei 140—150° schmolzen, hierauf zu Platten vom Smp. 170—176° erstarrten. Krystalle und Mutterlauge wurden vereinigt und nach dem Trocknen im Hochvakuum in 1,0 cm³ Pyridin gelöst, mit 0,7 cm³ Acetanhydrid versetzt und 15 Std. bei 35° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 54 mg Öl, das chromatographisch gereinigt wurde. Benzol eluierte 10 mg Öl, das aus Aceton-Äther 4 mg Prismen vom Smp. 201—205° gab, die mit dem im obigen Versuch erhaltenen Produkt vom Smp. 205—206° (XII) identisch waren.

Die späteren Fraktionen waren alle ölig und liessen sich nicht zur Krystallisation bringen.

c) Mit H₂O₂ in wässrigem KHCO₃.

187 mg Ketosäure (IV) wurden in 10 cm³ Wasser und 80 mg KHCO₃ gelöst und mit 2,0 cm³ 30-proz. H₂O₂ versetzt. Im Laufe einer Stunde hatte sich ein weisser, pulveriger Niederschlag gebildet, der sich nach 16-stündigem Stehen bei 18° z. T. wieder auflöste. Nun wurde mit verd. H₂SO₄ unter kräftigem Schütteln allmählich kongossauer gemacht.

und der pulverig-krystalline Niederschlag abgesaugt, dreimal mit wenig Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute 172 mg. Aus Dioxan-Aceton Drusen, die sich z. T. bei 210° zu langen Nadeln umwandelten und schliesslich bei 224—240° schmolzen. Der in üblicher Weise mit Diazomethan bereitete Methylester (XI) gab aus Aceton-Äther glänzende, dünne sechsseitige Plättchen, die bei 120—140° opak wurden und bei 180—182° schmolzen. Acetylierung in 2,0 cm³ abs. Pyridin und 1,4 cm³ Acetanhydrid während 20 Std. bei 35° gab 206 mg rohes Acetat (XII). Aus Aceton und Aceton-Äther 160 mg dicke Prismen. Smp. 205—206°.

Chromatographische Reinigung der Mutterlaugen gab noch 20 mg (XII) vom selben Smp. Totalausbeute an reinem (XII) somit 180 mg (= 90% der Theorie).

In einem zweiten Versuch wurden aus 100 mg (IV) 90 mg reiner Ester (XII) erhalten.

3β-Acetoxy-17-iso-ätio-cholen-(14)-säure-methylester
(XIII) aus (XII).

100 mg (XII) vom Smp. 205—206° wurden in 1,2 cm³ Pyridin gelöst und mit 0,34 cm³ frisch destilliertem reinem POCl₃ versetzt. Da die Lösung nach 1-stündigem Stehen bei 18° kaum gefärbt und frei von Krystallen war, wurde unter Umschwenken vorsichtig ca. 20 mg Wasser¹⁾ zugegeben, worauf sich nach wenigen Minuten etwas kryst. Pyridin-hydrochlorid abschied, das sich aber auch nach 16-stündigem Stehen bei 18° kaum vermehrte. Das schwach gelbrosa gefärbte Reaktionsprodukt wurde nach 15 Minuten auf 50° erwärmt und hierauf wie früher^{e)} aufgearbeitet und gab in beinahe quantitativer Ausbeute unverändertes Ausgangsmaterial (XII) zurück. Die Wasserabspaltung aus (XII) gelang dagegen in sehr guter Ausbeute nach der folgenden Methode²⁾.

130 mg (XII) vom Smp. 205—206° wurden in einer Ampulle mit 2,5 cm³ Pyridin und 0,06 cm³ frisch destilliertem reinem POCl₃ eingeschmolzen und 45 Minuten auf 135° erhitzt (Xyloldampf). Hierauf wurde die dunkelbraune Lösung im Vakuum zum Sirup eingedampft, mit verd. HCl versetzt und mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung blieb dabei beinahe farblos. Sie wurde wie üblich neutral gewaschen und im Vakuum verdampft, wobei ein gelb gefärbtes Öl zurückblieb, das im Hochvakuum bei 140—150° destilliert wurde. Das Destillat wog 120 mg und krystallisierte spontan beim Versetzen mit Aceton in länglichen, prismatischen Platten. Umkrystallisieren aus Methanol gab total 111 mg (XIII) vom Smp. 136—137° (= 90% der Theorie). $[\alpha]_D^{20} = +85,0 \pm 2^\circ$ (c = 1,999 in Chloroform).

20,020 mg Subst. zu 1,0015 cm³; *l* = 1 dm; $\alpha_D^{20} = +1,70 \pm 0,02^\circ$

3,700 mg Subst. gaben 10,00 mg CO₂ und 3,03 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₄ (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15%

Gef. „ 73,75 „ 9,16%

Die Substanz zeigte in wenig Chloroform gelöst mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

3β-Acetoxy-14-iso-17-iso-ätio-cholansäure-methylester (XIV)
aus (XIII).

180 mg (XIII) vom Smp. 136—137° wurden in 3 cm³ Eisessig mit 90 mg PtO₂·H₂O hydriert. Die Aufarbeitung gab 180 mg Rohprodukt, das im Hochvakuum bei 135—140° sublimiert und aus Pentan umkrystallisiert wurde. 160 mg prismatische Nadeln vom Smp. 154,5—156°. Mischprobe mit dem aus Gitoxigenin^{d)} erhaltenen Produkt ebenso.

Die Mikroanalysen wurden von *F. Weiser*, Basel, ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ *K. Meyer*, *Helv.* **29**, 1908 (1946).

²⁾ Vergl. dazu *A. Butenandt, J. Schmidt-Thomé*, *B.* **72**, 182 (1939).