

Schweinegallensäuren. V¹⁾**Der Abbau von Hyocholsäure zu Pregnanderivaten**

Von G. LEHMANN, L. KOPPE und G. HILGETAG

Inhaltsübersicht

Die Darstellung von Norhyocholsäure und $3\alpha, 6\alpha, 7\alpha$ -Trihydroxy- 5β -pregnanon-(20) durch Seitenkettenabbau von Hyocholsäure ($3\alpha, 6\alpha, 7\alpha$ -Trihydroxy- 5β -cholansäure) wird beschrieben.

Im Rahmen unserer Steroidarbeiten benötigten wir das $3\alpha, 6\alpha, 7\alpha$ -Trihydroxy- 5β -pregnanon-(20) (XVI). Diese unseres Wissens bisher noch nicht beschriebene Verbindung steht in enger struktureller und konformativer Beziehung zu der vor einigen Jahren von G. A. D. HASLEWOOD²⁾ und P. ZIEGLER³⁾ in der Schweinegalle entdeckten Hyocholsäure ($3\alpha, 6\alpha, 7\alpha$ -Trihydroxy- 5β -cholansäure) I. Da einerseits die Hyocholsäure nach verbesserten Methoden^{1) 4) 5)} heute leicht zugänglich ist und andererseits für den Abbau von Gallensäuren zu Pregnanderivaten wirksame Methoden bekannt sind, entschieden wir uns zur Darstellung des gewünschten Pregnans für den Seitenkettenabbau der Hyocholsäure und wählten den bewährten Abbaueweg nach MEYSTRE und MIESCHER⁶⁾.

Wir isolierten die Hyocholsäure (I) aus dem Rohsäuregemisch der Schweinegalle als Methyl- (II)^{5) 3)} oder Äthylester-triacetat (III)^{5) 4)}. Durch alkalische Verseifung erhielten wir aus den Esteracetaten II und III die freie Säure I, die aus Äthylacetat in feinen Nadeln vom Schmp. 186—187°C kristallisierte. Der in der Literatur als Öl beschriebene Methylester IV kristallisierte nach chromatographischer Reinigung an Aluminiumoxyd aus

¹⁾ IV. Mitteilung: G. LEHMANN, L. KOPPE, H.-J. TEPPER u. G. HILGETAG, *Biochem. Z.* **341**, 430 (1965).

²⁾ G. A. D. HASLEWOOD, *Biochem. J.* **62**, 637 (1956).

³⁾ P. ZIEGLER, *Canad. J. Chem.* **34**, 523 (1956).

⁴⁾ G. LEHMANN, H.-J. TEPPER u. G. HILGETAG, *Biochem. Preparations* **11** (1965) im Druck.

⁵⁾ G. LEHMANN, H.-J. TEPPER u. G. HILGETAG, *Biochem. Z.* **340**, 75 (1964).

⁶⁾ CH. MEYSTRE, H. FREY, A. WETTSTEIN u. K. MIESCHER, *Helv. chim. Acta* **27**, 1815 (1944) und spätere Arbeiten.

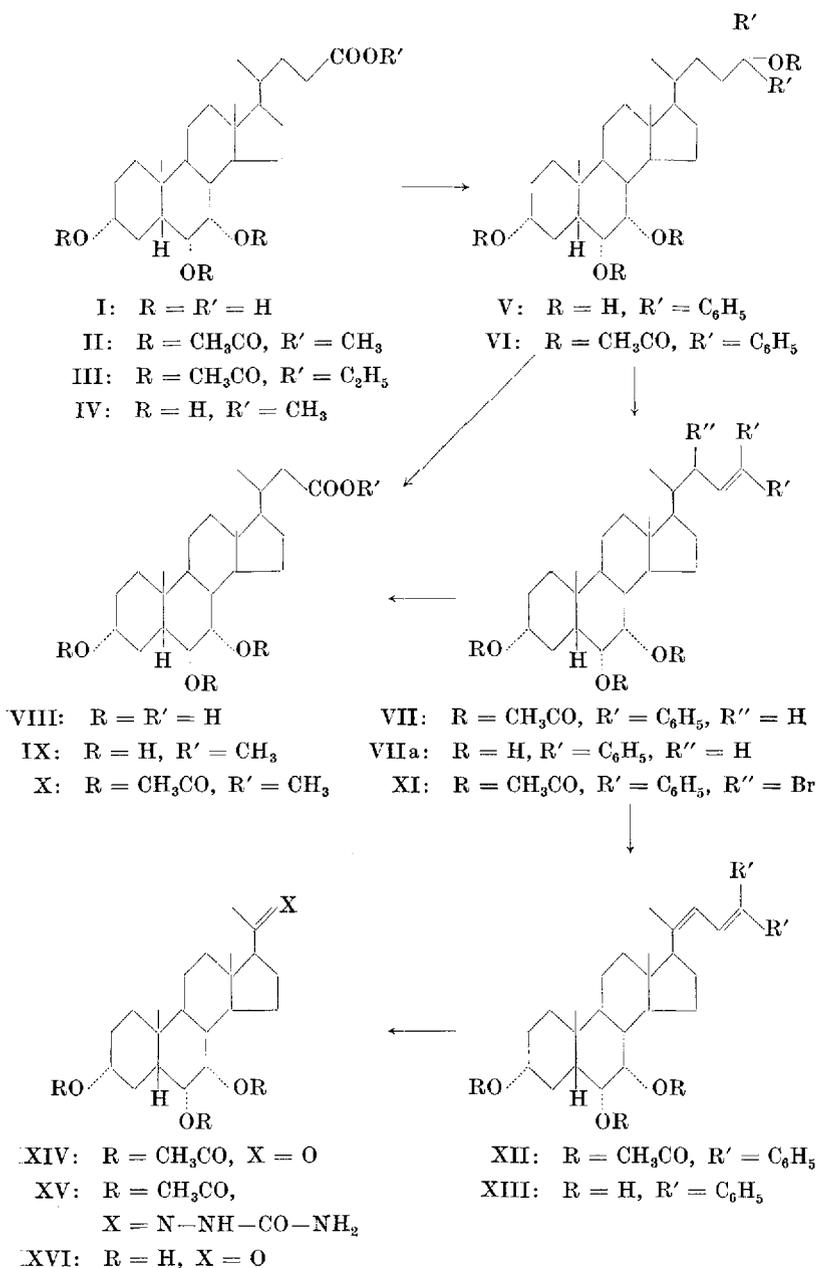
Benzol-Hexan; Schmp. 83—85 °C. Grignardierung des Esters mit 12 Mol Phenylmagnesiumbromid führte zum 3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetrahydroxy-24, 24-diphenylcholan (V). Nach Chromatographie an Aluminiumoxyd bildete die Verbindung feine Nadeln vom Schmp. 135—137 °C. Eine sorgfältige Abtrennung aller bei der Grignardierung entstehenden Nebenprodukte erwies sich als sehr vorteilhaft für die Kristallisationsfreudigkeit des in allen organischen Lösungsmitteln sehr leicht löslichen Carbinols V und seiner weiteren Umwandlungsprodukte. Das Carbinol lieferte mit Acetanhydrid/Pyridin das Tetraacetat VI, das aus Äther-Hexan mit Schmp. 162—164 °C und aus Methanol in Blättchen vom Schmp. 129—132 °C kristallisierte. Die niedrigschmelzende Form ließ sich durch Kristallisation aus Äther-Hexan in die hochschmelzende Form überführen. Beim Kochen mit Eisessig wird die (acetylierte) tertiäre Hydroxylgruppe eliminiert und man erhält das 3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24, 24-diphenyl- Δ^{23} -cholen (VII). Zu dem gleichen ungesättigten Triacetat VII gelangt man, ausgehend vom Carbinol V, auch in einer Reaktionsstufe durch Erhitzen mit Acetanhydrid/Eisessig in Gegenwart katalytischer Mengen Salzsäure. Im UV-Spektrum zeigt die Verbindung das für ein Diphenyläthylen dieses Typs bei 250 m μ zu erwartende⁷⁾ Absorptionsmaximum. Die Doppelbindung läßt sich durch Bromaddition zum Dibromid, Schmp. 133—136 °C, nachweisen.

Durch Chromsäureoxydation und nachfolgende Verseifung erhält man aus dem ungesättigten Triacetat VII die Norhyocholsäure (VIII). Für den Erfolg dieser Oxydation ist es jedoch nicht notwendig, von dem vorgebildeten Olefin VII auszugehen. Die bereits bei der Acetylierung des Carbinols V beobachtete leichte Abspaltbarkeit der tert. Acetoxygruppe in Position 24 ermöglicht es, statt des Äthylens VII auch das Carbinolacetat VI einzusetzen. Die Norhyocholsäure wurde durch den Methylester (IX) und das Methyl-estertriacetat (X) charakterisiert.

Zum weiteren Abbau der Carbonsäureseitenkette gingen wir vom acetylierten Diphenyläthylen VII aus. Mit N-Brom-succinimid in trockenem Tetrachlorkohlenstoff ließ sich die Verbindung bei UV-Bestrahlung in das Allylbromid XI überführen. Wegen seiner Zersetzlichkeit haben wir eine Isolierung dieses Bromids nicht angestrebt, sondern es sogleich einer Bromwasserstoffabspaltung zum $\Delta^{20(22),23}$ -Dien XII unterworfen. Diese Eliminierung vollzieht sich mit größter Leichtigkeit bei kurzem Erhitzen des Bromids mit Dimethylanilin, kann aber auch im gleichen Arbeitsgang mit der Bromierung durch mehrstündiges Erhitzen der Tetrachlorkohlenstofflösung erreicht werden. Das acetylierte Dien XII ließ sich nicht kristallin erhalten; es blieb selbst nach säulenchromatographischer Reinigung harzig.

⁷⁾ K. R. BHARUCHA, G. C. BUCKLEY, C. K. CROSS, L. J. AUBIN u. P. ZIEGLER, *Canad. J. Chem.* **34**, 982 (1956).

Die hydrolytische Abspaltung der Acetylgruppen mit wäßrig-alkoholischer Kalilauge führte zum $3\alpha, 6\alpha, 7\alpha$ -Trihydroxy-24, 24-diphenyl- $\Delta^{20(22), 23}$ -choladien (XIII), das im Gegensatz zu seinem Acetylderivat XII ganz vorzügliche



Kristallisationseigenschaften aufweist und sich daher besonders zur Reinigung solcher Ansätze empfiehlt, bei denen in vorangegangenen Stufen auf eine Isolierung oder Reindarstellung der Zwischenprodukte verzichtet wurde.

Durch Reacetylierung des kristallisierten reinen Diens XIII haben wir das Acetylderivat XII ebenfalls nicht kristallin erhalten können. Die Dienstruktur der Verbindung XII kann aber durch das Absorptionsmaximum bei 308 $m\mu$ als gesichert angesehen werden.

Die amorphe Acetylverbindung XII haben wir dann in bekannter Weise mit Chromsäure oxydiert. Benzophenon und Oxalsäure können dabei als Bruchstücke der Seitenkette gefaßt werden. Das resultierende 3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-5 β -pregnanon-(20) (XIV) kristallisiert aus Äthanol oder Isopropanol in Blättchen vom Schmp. 181–183 °C; Semicarbazon (XV): Schmp. 252–257 °C. Alkalische Hydrolyse in wäßrigem Äthanol liefert das gewünschte 3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-5 β -pregnanon-(20) (XVI).

Beschreibung der Versuche

Allgemeines: Alle Schmelzpunkte wurden mit einem Heitzischmikroskop nach BOËTTUS bestimmt und sind korrigiert. Die Ultrarot-Spektren wurden mit dem Zeiss-Gerät UR 10 an KBr-Preßlingen, die Ultraviolett-Spektren mit dem UVISPEK H 700 308 (Fa. Hilger und Watts, London) in Äthanol aufgenommen.

3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-5 β -cholansäure (Hyocholesäure) (I)

55 g Hyocholesäuremethylester-triacetat (II) werden in 750 ml Methanol suspendiert und mit 18 g Natriumhydroxyd in 150 ml Wasser 1 Stunde unter Rühren zum Rückfluß erhitzt. Dann wird mit 750 ml Wasser verdünnt, die Hauptmenge Methanol abdestilliert und nach dem Abkühlen die freie Säure mit Salzsäure gefällt. Das lufttrockene Rohprodukt (43 g) wird aus 860 ml Äthylacetat unter Zusatz einiger ml Wasser umkristallisiert. Ausbeute 36 g (88%) Nadeln vom Schmp. 186–187 °C [Lit.³]; 183–185 °C].

3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-5 β -cholansäuremethylester (Hyocholesäuremethylester) (IV)

Eine Lösung von 5 g Hyocholesäure in 50 ml Methanol wird mit 0,3 ml konz. Schwefelsäure 2 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Nach Eingießen in 150 ml Wasser extrahiert man den Ester mit Benzol. Die Benzollösung hinterläßt nach Waschen, Trocknen und Eindampfen 5,1 g Methylester als gelbes Harz. Der Ester wird wieder in Benzol aufgenommen, auf eine Säule von 100 g Aluminiumoxyd aufgetragen und mit Chloroform-Methanol (98:2) eluiert. Die vereinigten Mittelfractionen werden mit 1 g Kohle aufgeköcht und ergeben 3,0 g farbloses Esterharz. Dieses löst man in 6 ml heißem Benzol und setzt bis zur Trübung Hexan zu. Dabei erhält man den Ester in kleinen unregelmäßigen Schuppen vom Schmp. 83–85 °C, $[\alpha]_D^{20} = 3 \pm 3^\circ$ ($c = 1$, in Chloroform).

3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetrahydroxy-24, 24-diphenylcholan (V)

43 g (0,105 Mol) Hyocholsäure werden mit Methanol verestert. Nach üblicher Aufarbeitung löst man den Ester in 700 ml trockenem Benzol und tropft dazu unter Rühren eine GRIGNARD-Lösung aus 31 g (1,27 Mol) Magnesiumspänen, 210 g (1,34 Mol) Brombenzol und 500 ml Äther. Nach Abdestillieren des Äthers bis zu einem Siedepunkt von etwa 60°C wird die Reaktion durch 4stündiges Rühren unter Rückfluß beendet. Dann gießt man in 1 l Eiswasser und treibt den größten Teil des entstandenen Diphenyls mit Wasserdampf ab. Nach Ansäuern mit verdünnter Salzsäure läßt sich das Carbinol leicht absaugen. Zur Reinigung chromatographiert man die Benzollösung der Substanz an einer Säule aus 800 g Aluminiumoxyd. Nach Auswaschen unpolarer Verunreinigungen mit Benzol wird das Carbinol mit Chloroform-Äther (95:5) eluiert und aus der 5fachen Menge Aceton kristallisiert. Ausbeute 35 g (61%) Nadeln vom Schmp. 135–137°C.

$C_{36}H_{50}O_4$ (546,8) ber.: C 79,08; H 9,22;
gef.: C 78,86; H 8,83.

3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetraacetoxy-24, 24-diphenylcholan (VI)

30 g 3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetrahydroxy-24, 24-diphenylcholan (V) werden mit 150 ml Pyridin und 150 ml Acetanhydrid 3–4 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Am nächsten Tage wird im Vakuum eingeeengt, in 250 ml Wasser eingegossen und mit 300 ml Chloroform extrahiert. Die neutralgewaschene Chloroformlösung ergibt beim Eindampfen 35 g hellgelben harzigen Rückstand. Die Substanz kristallisiert beim Auflösen in 150 ml Äther und Zugabe von 300 ml Hexan. Ausbeute 28 g (71%), Schmp. 162–164°C.

Anschließende Kristallisation aus der 15fachen Menge Methanol führt zu Blättchen vom Schmp. 129–132°C, die mit Äther-Hexan wieder in die hochschmelzende Form übergehen.

$C_{44}H_{58}O_8$ (714,9) ber.: C 73,92; H 8,18;
gef.: C 73,78; H 8,07.

3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24, 24-diphenyl- Δ^{23} -cholen (VII)

a) 30 g 3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetrahydroxy-24, 24-diphenylcholan (V) werden mit 60 ml Eisessig, 90 ml Acetanhydrid und 0,6 ml konz. Salzsäure 2 Stunden auf 100°C erhitzt. Am folgenden Tage wird das überschüssige Anhydrid mit Wasser zersetzt und das ausgefallene Cholen in 250 ml Äther aufgenommen. Der Rückstand der neutral gewaschenen Ätherlösung kristallisiert aus 350 ml Benzol-Hexan (1:9) und ist für die Weiterverarbeitung genügend rein. Ausbeute 30 g (83%), Schmp. zwischen 123 und 131°C.

Umkristallisation aus der 6fachen Menge Methanol erhöht den Schmp. auf 130–135°C (Sintern ab 126°C), $\lambda_{max.} = 252$ m μ (log. $\epsilon = 4,56$), IR-Banden: 1045, 1235, 1260, 1368, 1740/cm.

$C_{42}H_{54}O_6$ (654,9) ber.: C 77,03; H 8,31;
gef.: C 77,32; H 8,09.

b) 2,6 g 3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetraacetoxy-24, 24-diphenylcholan (VI) werden mit 15 ml Eisessig 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach Eingießen in 200 ml Wasser extrahiert man mit Äther, löst den Ätherrückstand (2,7 g) in 2,5 ml Benzol und versetzt mit 25 ml Hexan. Dabei kristallisieren 1,9 g VII, Schmp. und Mischprobe wie unter a) angeben.

23, 24-Dibrom-3 α , 6 α , 7 α -triacetoxy-24, 24-diphenylcholan

Aus VII mit Brom in Chloroform; Schmp. 133—136 °C (aus Methanol).

3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-24, 24-diphenyl- Δ^{23} -cholen (VIIa)

Man erhitzt 5 g 3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24, 24-diphenyl- Δ^{23} -cholen (VII) in 40 ml Äthanol mit 1,7 g Natriumhydroxyd in 5 ml Wasser 2 Stunden zum Rückfluß. Dann destilliert man das Äthanol ab, verdünnt mit Wasser und schüttelt mit Äther aus. Die neutralgewaschene Ätherlösung hinterläßt beim Eindampfen etwa 4 g ölige Substanz, die beim Anreiben mit Aceton größtenteils kristallisiert. Schmp. 164—167 °C (aus Aceton).

$C_{36}H_{48}O_3$ (528,8) ber.: C 81,76; H 9,15;
gef.: C 82,06; H 9,32.

**3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-24-nor-cholan-23-säuremethylester
(Norhyocholsäuremethylester) (IX)**

Zu einer Lösung von 5,8 g 3 α , 6 α , 7 α , 24-Tetraacetoxy-24, 24-diphenyl-cholan (VI) in 90 ml Eisessig tropft man innerhalb einer Stunde unter Rühren eine Lösung von 3,8 g Chrom(VI)-oxyd in 3,8 ml Wasser und 30 ml Eisessig. Dann läßt man 4 Stunden bei 95 °C stehen, kühlt ab, gießt in Wasser und extrahiert mit Äther. Die Ätherlösung wird mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser gewaschen und eingedampft. Es hinterbleibt ein gelbliches Öl, das zur Verseifung 2 Stunden mit wäßrig-methanolischer Kalilauge zum Rückfluß erhitzt wird. Nach dem Abtreiben des Methanols wird die wäßrige Lösung mit Äther gewaschen und angesäuert. Die ausgefallene Norhyocholsäure (lufttrocken etwa 1,8 g) wird mit Methanol in Gegenwart von etwas Schwefelsäure verestert und der Ester nach üblicher Aufarbeitung aus Benzol-Hexan kristallisiert. Der rohe Ester (Schmp. 97—103 °C) bildet nach Umkristallisation aus Aceton derbe Nadeln vom Schmp. 104—106 °C.

$C_{24}H_{40}O_5$ (408,6) ber.: C 70,55; H 9,87;
gef.: C 70,54; H 10,19.

**3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24-nor-cholan-23-säuremethylester
(Norhyocholsäuremethylester-triacetat) (X)**

1,6 g Norhyocholsäuremethylester (IX), 2 ml Pyridin und 10 ml Acetanhydrid werden 4 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Dann engt man im Vakuum ein, zersetzt restliches Anhydrid mit Wasser und extrahiert den acetylierten Ester mit Äther. Die Ätherlösung wird nacheinander mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen. Den Abdampfrückstand des Äthers kristallisiert man aus 12—15 ml Hexan. Ausbeute 1,2 g Blättchen vom Schmp. 92—94 °C.

$C_{30}H_{46}O_8$ (534,7) ber.: C 67,39; H 8,67;
gef.: C 67,67; H 8,54.

3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24, 24-diphenyl- $\Delta^{20(22), 23}$ -choladien (XII)

Eine siedende Lösung von 22,7 g (0,035 Mol) 3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24, 24-diphenyl- Δ^{23} -cholen (VII) in 720 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff wird mit 6,9 g (0,039 Mol) frisch bereitetem N-Bromsuccinimid versetzt und unter Rückfluß gerührt. Bei kräftiger UV-

Bestrahlung dauert die Bromierung etwa 15 Minuten. Nach dieser Zeit setzt bereits Bromwasserstoffabspaltung ein und man kühlt auf 0°C und filtriert das ausgeschiedene Succinimid ab. Nach Zusatz von 130 ml Dimethylanilin destilliert man den Tetrachlorkohlenstoff ab und vervollständigt die Bromwasserstoffspaltung durch 10minütiges Erhitzen auf 190°C. Nach Abkühlen wird die Lösung mit Salzsäure angesäuert und das Dien in Äther aufgenommen. Der Ätherrückstand kristallisierte nicht und bildete, auch nach chromatographischer Reinigung, ein amorphes gelbes Pulver. Ausbeute 20 g. $\lambda_{\max.} = 308 \text{ m}\mu$ (log. $\epsilon = 4,45$), IR-Banden: 1045, 1235, 1255, 1378, 1745/cm.

3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-24, 24-diphenyl- $\Delta^{20(22), 23}$ -choladien (XIII)

20 g (0,03 Mol) 3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-24, 24-diphenyl- $\Delta^{20(22), 23}$ -choladien (XII) werden in 240 ml Äthanol gelöst und mit 6,6 g (0,12 Mol) Kaliumhydroxyd in 48 ml Wasser 2 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Beim Abkühlen kristallisieren 12,2 g verfilzte Nadeln, weitere 1,5 g erhält man durch Einengen der Mutterlauge, Ausbeute zusammen 85%. Zur Analyse wird aus der 6fachen Menge Aceton-Methanol (9:1) kristallisiert, Schmp. 177–178°C, $\lambda_{\max} = 308 \text{ m}\mu$ (log. $\epsilon = 4,40$). IR-Banden: 1060, 1375, 1445, 3200–3400/cm.

$C_{36}H_{46}O_3$ (526,8) ber.: C 82,09; H 8,80; O 9,11;
gef.: C 82,06; H 9,32; O 9,16.

3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-5 β -pregnanon-(20) (XIV)

14 g (0,028 Mol) 3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-24, 24-diphenyl- $\Delta^{20(22), 23}$ -choladien (XIII) werden durch dreistündiges Rückflußkochen mit 70 ml Pyridin und 98 ml Acetanhydrid reacyliert. Nach Einengen im Vakuum zersetzt man das restliche Anhydrid mit Wasser und schüttelt das Triacetat XII mit Äther aus. Der Ätherrückstand, 17 g gelbliches Öl, wird in 340 ml Chloroform und 220 ml 80proz. Essigsäure aufgenommen. Zu dieser Lösung tropft man unter gutem Rühren innerhalb von 30 Minuten eine Lösung von 12 g (0,12 Mol) Chrom(VI)-oxyd in 340 ml 80proz. Essigsäure und hält dabei die Temperatur bei +3°C. Anschließend rührt man weitere 3 Stunden bei 23°C und reduziert dann die überschüssige Chromsäure mit Hydrogensulfit. Nach Abziehen der Hauptmenge Lösungsmittel im Vakuum wird die Lösung zunächst mit Äther, dann mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Beim Eindampfen der vereinigten organischen Phasen hinterbleiben etwa 17 g gelbliches Öl. Nach Zusatz von 40 ml Äther scheiden sich etwa 5,5 g (42%) kristallines Keton ab. Schmp. nach Umkristallisation aus Äthanol oder Isopropanol 181–183°C, IR-Banden: 1040, 1235, 1255, 1365, 1695, 1735/cm.

$C_{27}H_{40}O_7$ (476,6) ber.: C 68,05; H 8,46;
gef.: C 68,02; H 8,47.

Semicarbazon (XV): Nadeln, Schmp. 252–257°C (aus 70proz. Äthanol).

$C_{29}H_{43}N_3O_7$ (533,7) ber.: C 63,02; H 8,12; N 7,87;
gef.: C 62,71; H 7,86; N 7,66.

3 α , 6 α , 7 α -Trihydroxy-5 β -pregnanon-(20) (XVI)

1,7 g 3 α , 6 α , 7 α -Triacetoxy-5 β -pregnanon-(20) (XIV) werden in 25 ml Äthanol gelöst und mit 1,12 g Kaliumhydroxyd in 10 ml Wasser 2 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Beim

Einengen kristallisieren 1,2 g (95%) des Triolons. Nach Umkristallisation aus der 12fachen Menge Äthanol bildet die Substanz derbe Würfel vom Schmp. 236—238 °C, die wenig unterhalb des Schmp. zu sublimieren beginnen.

$C_{21}H_{34}O_4$ (350,5) ber.: C 71,96; H 9,78;
gef.: C 71,68; H 9,91.

Berlin-Adlershof, Institut für organische Chemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Grünau, VEB Chemisches Werk.

Bei der Redaktion eingegangen am 8. April 1965.

Verantwortlich

für die Schriftleitung: Prof. Dr.-Ing. Dr. h. c. E. Leibnitz, 705 Leipzig, Permoserstraße 15; für den Anzeigenteil: DEWAG-Werbung Leipzig, 701 Leipzig, Friedrich-Ebert-Str. 110, Ruf 7851. Z. Z. gilt Anzeigenpreisliste 4; Verlag: Johann Ambrosius Barth, 701 Leipzig, Salomonstraße 18 B; Fernruf 27681 und 27682. Veröffentlicht unter der Lizenz-Nr. 1395 des Presseamtes beim Vorsitzenden des Ministerrates der DDR

Printed in Germany



Druck: Paul Dünnhaupt, Köthen (IV/5/1) L 143/66