

CHROM. 6643

Note

Reaktionen an Aluminiumoxiden

6. Mitt. Umsetzungen von 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester an Aluminiumoxid*

Beim Chromatographieren an Aluminiumoxiden muss damit gerechnet werden, dass die als Elutionsmittel verwendeten Flüssigkeiten mit dem Adsorbens in Reaktion treten.

Nach systematischen Untersuchungen der Umsetzungen der Ketone Aceton¹, Butan-2-on², Acetophenon³ und Cyclohexanon⁴ sowie der Aldehyde Propanal und Benzaldehyd⁵ schien auch die Untersuchung eines Esters wünschenswert. Als Modellsubstanz wurde der bifunktionelle Steroidester 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester ausgewählt.

Arbeiten über Reaktionen dieser Substanz an Aluminiumoxiden sind unseres Wissens nicht bekannt.

Synthese der Vergleichssubstanzen

Basische und saure Katalyse kann bei 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester (1), wie bei anderen Steroidestern, zu Verseifungen oder Eliminationen führen. Während die Ester der Lithocholsäure(5 β) durch Kochen der Säure in salzsaurem Methanol nach CHANG *et al.*⁶ bzw. durch Acetylieren mit Acetanhydrid leicht zugänglich sind, ist zur Bildung der potentiell entstehenden Cholensäuren der Umweg über das 3-Tosylat⁷ notwendig. Die Eliminierung durch Erhitzen in 2,4,6-Kollidin ergab ein Produkt, das aus einem Gemisch der Chol-3-en-(6) und Chol-2-ensäure(5 β) (7) im Verhältnis 2:1 bestand. ISSIDORIDES *et al.*⁸ wiesen durch Oxidation des nach CHANG dargestellten Cholensäuremethylestergemisches (3 + 4) mit Selendioxid nach, dass Darstellungsmethoden wie Pyrolyse oder Elimination von Acylresten zur Ausbildung beider Isomere führen, die nicht voneinander getrennt werden können. Durch Nacharbeiten dieser Vorschrift konnte das Entstehen der veresterten und der freien Cholensäuren wahrscheinlich gemacht und die dünnschichtchromatographische (DC) und gaschromatographische (GC) Trennung aufgrund der Mengenverhältnisse der beiden Isomere durchgeführt werden.

Methodik

Allgemeine Beschreibung des Untersuchungsganges. Die benzolische Lösung von 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester wurde über eine Aluminiumoxidsäule filtriert und mit Methanol nachgewaschen. Das Eluat wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Benzol aufgenommen und DC und GC untersucht. In beiden Chromatogrammen konnten neben der Ausgangssubstanz sieben Verbindungen gefunden werden, die mit den synthetisierten Substanzen identisch waren.

* Teilergebnisse der Dissertation H. J. SEEBALD, Mainz, 1972.

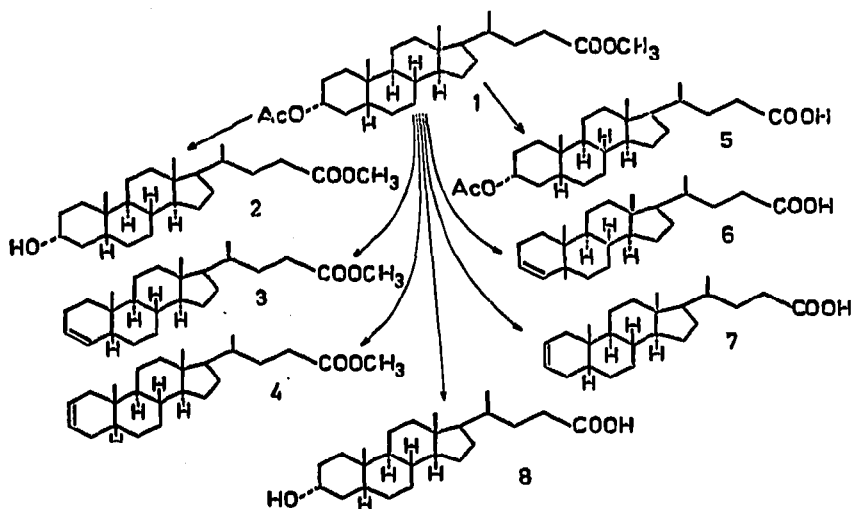


Fig. 1. Reaktionsprodukte von 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester an Aluminiumoxid.

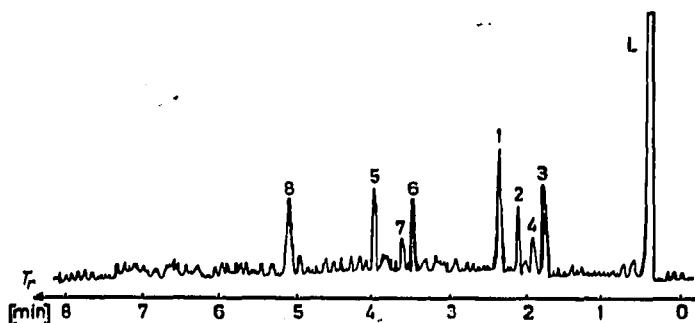


Fig. 2. Gaschromatogramm der Reaktionsprodukte von 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester.

Dünnschichtchromatographie. Die Trennung (siehe Tabelle I) erfolgte auf DC-Fertigplatten "Merck" GF₂₅₄ (20 × 20 cm) im Laufmittel Äthanol-Benzol (5:95); Laufstrecke, 15 cm. Nach dem Trocknen der Platte mit Heissluft wurde besprüht mit dem von NEHER UND WETTSTEIN⁹ für die Papierchromatographie entwickelten Detektionsmittel (a), das aus 0.5 ml frisch dest. Anisaldehyd, 50 ml Eisessig und 1 ml Schwefelsäure 98 % besteht. Die Nachbehandlung erfolgte durch Erwärmen bei 100–105° oder besser durch vorsichtiges Abflammen.

Die ungesättigten Säuren wurden mit einem Reagens (b) aus 1 g Kaliumpermanganat, 10 g Natriumkarbonat und 100 ml Wasser nachgewiesen.

Gaschromatographie. 4 μ l der benzolischen Lösung der Reaktionsprodukte wurden an einem F&M Scientific 5750 Research Chromatograph (Hewlett-Packard, Frankfurt-Niedereschbach) mit einer 2 m × 4 mm-Glassäule mit 10 % UCCW auf Chromosorb W, 70–80 mesh vermessen. Einspritzblock, 350°; FID, 370°; Temperaturprogramm, 250° isotherm; Empfindlichkeit, 2; Bereich, 10²; Trägergas, Helium 60 ml/min, Wasserstoff 60 ml/min und Luft 550 ml/min. Die Bestimmung der Reten-

TABELLE I

DC DER REAKTIONSPRODUKTE VON 3 α -ACETOXYLITHOCHOLSÄURE(5 β)-METHYLESTER AN ALUMINIUM-OXID

No.	Substanz	h _{R_F} -Wert	Sprähen	
			a	b
1	3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester	60	violett-grau	—
2	Lithocholsäure(5 β)-methylester	31	blau	—
3	Chol-3-ensäure(5 β)-methylester	62	violett-grau	+
4	Chol-2-ensäure(5 β)-methylester	67	violett	+
5	3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)	37	blau-violett	—
6	Chol-3-ensäure(5 β)	20	grau	+
7	Chol-2-ensäure(5 β)	28	graublau	+
8	Lithocholsäure(5 β)	16	blau-violett	—

tionszeiten und Peakflächen erfolgte mit einem Hewlett-Packard 3370 A Integrator, der zwischen den Gaschromatographen und einen Hewlett-Packard 7127 A Strip chart recorder geschaltet war. Papiervorschub, 0.5 in./min.

Bestimmung. 1 g 3 α -Acetoxylithocholsäure(5 β)-methylester, gelöst in 30 ml Benzol, wurde über eine Säule gegeben, die mit 10 g Aluminiumoxid basisch "Woelm" (Aktivität: Super) gefüllt war, und mit 50 ml Methanol nachgewaschen. Dann wurde im Wasserstrahlvakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde, in Benzol gelöst, in ein 5 ml-Messkölbchen gespült und mit dem Lösungsmittel bis zur Marke aufgefüllt. Zur GC Untersuchung wurden 4 μ l mit einer 10 μ l-Unimetrics-Spritze injiziert.

Ergebnisse

Die Auswertung der Gaschromatogramme ergab, dass an den verschiedenen Aluminiumoxiden Reaktionsprodukte gleicher qualitativer Zusammensetzung gebildet wurden. Neben den Verseifungsprodukten des Steroidesters traten auch die Substanzen auf, die durch Elimination von Essigsäure entstanden sein mussten. Darüber hinaus konnten auch die freien, ungesättigten Steroidcarbonsäuren nachge-

TABELLE II

UMSETZUNGSRATEN VON 3 α -ACETOXYLITHOCHOLSÄURE(5 β)-METHYLESTER AN VERSCHIEDENEN ALUMINIUMOXIDEN

Substanz	Aktivität Aluminiumoxid			
	Sauer (I)	Neutral (I)	Basisch (I)	Basisch (Super)
2	6.7	6.3	8.8	10.1
3	6.7	5.4	5.4	6.3
4	13.4	10.8	10.5	12.3
5	4.0	1.8	10.7	12.7
6	5.3	7.2	9.7	11.1
7	2.7	3.6	5.2	6.2
8	3.3	2.2	13.5	15.8
<i>Umsetzungsraten, bezogen auf die Ausgangsverbindung (%)</i>				
	42.1	37.3	67.8	74.6

wiesen werden. Die Menge des Gesamtkondensats und dessen quantitative Zusammensetzung, die in Abhängigkeit vom verwendeten Aluminiumoxidtyp variierten, sind in Tabelle II aufgeführt.

Diskussion

Die Chromatographie von 3α -Acetoxylithocholsäure(5β)-methylester an Aluminiumoxiden führt zu sieben Reaktionsprodukten des Steroidesters, die Reinigungsoperationen beeinträchtigen können. Dabei ist es gleichgültig, ob saures, neutrales oder basisches Aluminiumoxid eingesetzt wird. Die Basizität des Adsorbens hat jedoch erheblichen Einfluss auf die qualitative Zusammensetzung der Komponenten im Eluat. So katalysieren die basischen Oxide vorwiegend Verseifungs-, saure und neutrale Adsorbentien hauptsächlich Eliminierungsreaktionen.

Die Auswertung der Messergebnisse zeigt ausserdem, dass die Umsatzraten in Abhängigkeit vom Aluminiumoxidtyp (neutral < sauer < basisch) und von der Aktivitätsstufe (I < Super) beträchtlich ansteigen, ohne grundlegende Änderung der qualitativen Zusammensetzung der Eluate. Die gebildeten Verbindungen wurden durch Vergleichssubstanzen nach^{6-8, 10} identifiziert und DC und GC nachgewiesen.

Wir danken der Fa. E. Merck AG, Darmstadt, für die Bereitstellung von Sachmitteln.

*Pharmazeutisches Institut der
Johannes Gutenberg-Universität,
65 Mainz, Saarstr. 21 (B.R.D.)*

H. J. SEEBALD
W. SCHUNACK

- 1 H. J. SEEBALD UND W. SCHUNACK, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 305 (1972) 406.
- 2 H. J. SEEBALD UND W. SCHUNACK, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 305 (1972) 785.
- 3 H. J. SEEBALD UND W. SCHUNACK, *J. Chromatogr.*, 74 (1972) 129.
- 4 H. J. SEEBALD UND W. SCHUNACK, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, im Druck.
- 5 H. J. SEEBALD UND W. SCHUNACK, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, im Druck.
- 6 F. C. CHANG, A. FELDSTEIN, J. R. GRAY, G. S. MCCALED UND D. H. SPRUNT, *J. Amer. Chem. Soc.*, 79 (1957) 2167.
- 7 R. S. TIPSON, *J. Org. Chem.*, 9 (1944) 235.
- 8 C. H. ISSIDORIDES, M. FIESER UND L. F. FIESER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 82 (1960) 2003.
- 9 R. NEHER UND A. WETTSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 34 (1951) 2278.
- 10 F. REINDEL UND K. NIEDERLANDER, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 68 (1935) 1969.

Eingegangen am 8. Februar 1973