

Einige Umwandlungsprodukte von Gallensäuren und Sterinen

Über vielwertige quartäre Ammoniumverbindungen. VI. Mitt.*¹

Von

H. Lettré, W. Gottstein und Ch. Scholtissek

Aus dem Institut für experimentelle Krebsforschung der Universität
Heidelberg

(Eingegangen am 31. Juli 1957)

Ausgehend von der Lithobiliansäure werden 3,4-Seco-3,24-bis-dimethylamino-cholanol-(4), 3,4-Seco-3,4,24-tri-dimethyl-amino-cholan und 3,4-Seco-cholan-3,4,24-tri-trimethyl-ammoniumjodid dargestellt. Aus der Dicarbonsäure aus Sitostanol wird durch Reduktion mit LiAlH_4 der entsprechende 2wertige Alkohol, aus ihrem Bis-säure-dimethylamid das entsprechende 2wertige Amin erhalten. Hieraus entsteht durch Anlagerung von Methyljodid das 2,3-Seco-sitostan-2,3-bis-trimethyl-ammoniumjodid.

Wir verdanken *Wessely* und *Swoboda*² einen präparativ ergiebigen Weg von den Gallensäuren zu Polyalkoholen oder Hydroxyaminen der Cholanreihe. Die Autoren führten Cholsäure, Desoxycholsäure, Lithocholsäure und Cholansäure durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in die entsprechenden vier- bis einwertigen Alkohole über und konnten weiterhin die Säureamide von Gallensäuren durch gleichartige Reduktion in Hydroxyamine bzw. Cholansäureamid in das 24-Cholanamin verwandeln. Wir haben später diese Reduktionsmethode auf Carbonsäuren und ihre Säureamide übertragen, die durch Oxydation von Sterinen^{3, 4} oder Gallensäuren^{1, 5} entstehen (siehe auch ⁶). Es sollen hier einige weitere Versuche auf diesem Gebiet beschrieben werden.

* Herrn Prof. Dr. *F. Wessely* zu seinem 60. Geburtstag mit den besten Wünschen gewidmet.

¹ V. Mitt.: *H. Lettré* und *Ch. Scholtissek*, *Ann. Chem.* **600**, 60 (1956).

² *F. Wessely* und *W. Swoboda*, *Mh. Chem.* **82**, 437 (1951).

³ *W. R. Nes* und *H. Lettré*, *Ann. Chem.* **598**, 65 (1956).

⁴ *Ch. Scholtissek*, *H. Endo* und *H. Lettré*, *Ann. Chem.* **598**, 139 (1956).

⁵ *H. Lettré* und *Ch. Scholtissek*, *Ann. Chem.* **599**, 38 (1956).

⁶ *H. L. Herzog*, *C. C. Payne* und *E. B. Hershberg*, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 5324 (1955).

A. Derivate der Lithobiliansäure

Durch Oxydation von Desoxycholsäure entsteht die Desoxybiliansäure, die 3,4-Seco-12-oxo-cholan-3,4,24-trisäure, von Cholsäure die Biliansäure, 3,4-Seco-7,12-dioxo-cholan-3,4,24-trisäure. Die 3,24-Bis-säuredimethylamide der Desoxybiliansäure und der Biliansäure ließen sich durch Reduktion mit LiAlH_4 in zweiwertige Amine, das 3,4-Seco-4,12-di-hydroxy-3,24-bis-dimethylamino-cholan bzw. in das 3,4-Seco-4,7,12-tri-hydroxy-3,24-bis-dimethylamino-cholan überführen^{1, 5}. Diese Substanzen zeigen an Zellen in der Gewebekultur charakteristische Wirkungen: Abrundung spindelförmiger Zellen, Unterbrechung der Plasmateilung und Loslösung von Zellen, die in einem Membranverband wachsen⁷. Diese Wirkung ist wahrscheinlich durch die beiden an entgegengesetzten Stellen der Molekel befindlichen basischen Gruppen bedingt. Um zu prüfen, ob eine weitere Verminderung der Zahl der Hydroxylgruppen diese Wirkung bestehen läßt, haben wir das 3,4-Seco-3,24-bis-dimethylamino-cholanol-(4) (VI) dargestellt.

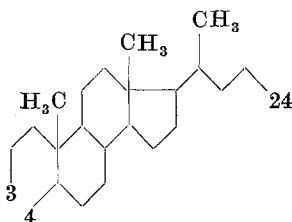
Durch Oxydation von Lithocholsäure bildet sich Lithobiliansäure, die 3,4-Seco-cholan-3,4,24-trisäure (I). Unter der Einwirkung von Essigsäureanhydrid entsteht aus ihr ein Anhydrid (II), das nicht isoliert, sondern gleich mit Dimethylamin umgesetzt wurde. In Analogie zum Verhalten der *Diels-Säure*³, der Desoxybiliansäure⁴ und Biliansäure¹ ist das erhaltene Monodimethylamid als das 3-Dimethylamid der Lithobiliansäure (III) anzusehen. Mit PCl_5 liefern die Anhydride der Biliansäure und der Desoxybiliansäure die entsprechenden Säurechloride der Carboxylgruppe an C-24. Durch Einwirkung von Dimethylamin entstehen so die 3,24-Di-säuredimethylamide der Biliansäure und Desoxybiliansäure. Behandelt man das Anhydrid der Lithobiliansäure mit PCl_5 und anschließend das Reaktionsprodukt mit Dimethylamin, so bildet sich nicht nur das 3,24-Bis-säuredimethylamid der Lithobiliansäure (IV), sondern auch ihr 3,4,24-Trisäuredimethylamid (V). In geringer Menge wird auch das 3-Monosäuredimethylamid (III) gebildet. Unter der PCl_5 -Wirkung muß also auch der Anhydridring teilweise reagiert haben.

IV und V ließen sich durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in das zweiwertige Amin VI bzw. in das dreiwertige Amin VII, das 3,4-Seco-3,2,24-tri-dimethylamino-cholan, überführen. Durch Anlagerung von Methyljodid wurde VII in die dreiwertige quartäre Ammoniumverbindung VIII, 3,4-Seco-cholan-3,4,24-tri-trimethylammoniumjodid, verwandelt.

Die Verbindungen VI und VII zeigen an Zellen in der Gewebekultur die gleichen Wirkungen, wie wir sie für die analogen hydroxylreicheren

⁷ H. Lettré und W. Siebs, Naturwiss. 43, 132 (1956).

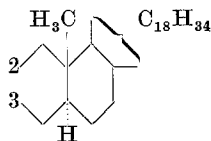
Verbindungen beschrieben haben^{1, 7}. Das Ziel unserer weiteren Arbeiten ist es, ein völlig hydroxylfreies Diamin des Typs VI darzustellen.



	3	4	24
I	COOH	COOH	COOH
II		CO—O—CO	COOH
III	CO—N(CH ₃) ₂	COOH	COOH
IV	CO—N(CH ₃) ₂	COOH	CO—N(CH ₃) ₂
V	CO—N(CH ₃) ₂	CO—N(CH ₃) ₂	CO—N(CH ₃) ₂
VI	CH ₂ —N(CH ₃) ₂	CH ₂ —OH	CH ₂ —N(CH ₃) ₂
VII	CH ₂ —N(CH ₃) ₂	CH ₂ —N(CH ₃) ₂	CH ₂ —N(CH ₃) ₂
VIII	CH ₂ — $\overset{+}{N}(\text{CH}_3)_3\text{J}^-$	CH ₂ — $\overset{+}{N}(\text{CH}_3)_3\text{J}^-$	CH ₂ — $\overset{+}{N}(\text{CH}_3)_3\text{J}^-$

B. Derivate des Sitosterins

Eine Reaktionsfolge, die wir vom Cholestanol aus durchgeführt hatten³, haben wir inzwischen auf das aus dem Pflanzensterin Sitosterin entstehende Sitostanol übertragen. Nach *Windaus* und *Rahlén*⁸ wird Sitostanol mit Chromsäure zu einer Dicarbonsäure oxydiert, der 2,3-Secositostan-2,3-disäure (IX). Sie liefert wie die Dicarbonsäure aus Cholestanol mit Essigsäureanhydrid ein Anhydrid. Ihr Dimethylester



	2	3
IX	COOH	COOH
X	CH ₂ —OH	CH ₂ —OH
XI	CO—N(CH ₃) ₂	CO—N(CH ₃) ₂
XII	CH ₂ —N(CH ₃) ₂	CH ₂ —N(CH ₃) ₂
XIII	CH ₂ — $\overset{+}{N}(\text{CH}_3)_3\text{J}^-$	CH ₂ — $\overset{+}{N}(\text{CH}_3)_3\text{J}^-$

⁸ A. *Windaus* und E. *Rahlén*, Z. physiol. Chem. 101, 223 (1918).

läßt sich mit Lithiumaluminiumhydrid zu einem zweiwertigen Alkohol, zum 2,3-Seco-sitostandiol-(2,3) (X), reduzieren. Über das (nicht isolierte) Di-säurechlorid wurde mit Dimethylamin das Di-säuredimethylamid XI dargestellt, das sich mit Lithiumaluminiumhydrid zu dem Diamin XII (2,3-Seco-2,3-bis-dimethylamino-sitostan) reduzieren ließ. Durch Anlagerung von Methyljodid wurde hieraus die zweiwertige quartäre Ammoniumverbindung XIII (2,3-Seco-sitostan-bis-trimethylammoniumjodid) erhalten. Diese Sitosterinderivate entsprechen in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften den früher beschriebenen analogen Derivaten der Cholesterinreihe.

Auffällig ist die geringe Wasserlöslichkeit der zweiwertigen quartären Ammoniumverbindung XIII, die auch bei dem analogen Cholesterinderivat besteht. Das Diamin XII bewirkt wie die analoge Verbindung aus Cholesterin eine starke Bildung fettiger Vakuolen an in vitro gezüchteten Zellen.

Experimenteller Teil

Lithobiliansäure-3-mono-dimethylamid (III)

Lithobiliansäure wird mit Essigsäureanhydrid gekocht; der Rückstand wird mit äther. Dimethylaminlösung umgesetzt. Aus Methanol Nadeln vom Schmp. 251 bis 252°.

$C_{26}H_{43}O_5N$ (449,6). Ber. C 69,43, H 9,64. Gef. C 69,37, H 9,78.

Lithobiliansäure-3,4,24-tri-dimethylamid (V) und

Lithobiliansäure-3,24-bis-dimethylamid (IV)

1 g Lithobiliansäure wird 1 Std. mit 50 ccm Essigsäureanhydrid gekocht und anschließend das Lösungsmittel im Vak. entfernt. Der Rückstand wird in Benzol gelöst und mit einem Überschuß an PCl_5 15 Min. im Eisbad geschüttelt. Die Lösung wird vom überschüssigen PCl_5 abgegossen und im Vak. abgedampft. Der Rückstand wird mit äther. Dimethylaminlösung 30 Min. bei Raumtemp. stehen gelassen. Die äther. Lösung wird mit Wasser ausgewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird in CCl_4 gelöst und an einer Säule von Al_2O_3 adsorbiert. Nach Vorwaschen mit Äther wird mit Essigester eluiert. V bildet aus Essigester-Äther Prismen vom Schmp. 151 bis 152°. Ausbeute 60 bis 70% d. Th.

$C_{30}H_{53}O_3N_3$ (503,8). Ber. C 72,07, H 10,61, N 8,34.

Gef. C 71,98, H 10,77, N 8,42.

Aus der wäßr. Phase, die nach der Umsetzung mit Dimethylamin erhalten wird, scheidet sich bei Ansäuern mit verd. Schwefelsäure das Bis-dimethylamid aus. IV bildet aus Methanol-Wasser Nadeln vom Schmp. 232 bis 233°. Ausbeute 15 bis 20% d. Th.

$C_{28}H_{48}O_4N_2$ (476,7). Ber. N 5,88. Gef. N 5,82.

Auch wenn die Umsetzung des Anhydrids der Lithobiliansäure mit PCl_5 in Toluol bei -30° durchgeführt wird, steigt die Ausbeute an IV nicht an. Aus solchen Ansätzen wird auch das Mono-dimethylamid III erhalten.

3,4-Seco-cholan-ol-(4)-3,24-bis-dimethylamin-hydrochlorid (VI)

100 mg IV werden zunächst mit Diazomethan in Äther in den Methyl ester verwandelt. Dieser wird im Tetrahydrofuran mit einem Überschuß an LiAlH_4 4 Stdn. gekocht. Nach Zugabe von Essigester wird das Reaktionsgemisch im Vak. eingedampft. Der Rückstand wird mit 10%iger Natronlauge versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die basischen Anteile werden aus der äther. Lösung mit verd. Schwefelsäure ausgeschüttelt und nach Zugabe von NaOH wieder in Äther überführt. Der Rückstand dieser äther. Lösung wird in Aceton aufgenommen und mit methanol. Salzsäure versetzt. VI kristallisiert in Form von Doppelpyramiden aus. Schmp. 292 bis 295° u. Zers.

$\text{C}_{28}\text{H}_{56}\text{ON}_2\text{Cl}_2 \cdot 1,5 \text{H}_2\text{O}$ (534,7). Ber. C 62,90, H 11,12, N 5,23, Cl 13,27.
Ber. C 62,96, H 11,20, N 4,89, Cl 13,50.

3,4-Seco-cholan-3,4,24-tri-dimethylamin-hydrochlorid (VII)

IV wird analog reduziert. Aus Methanol-Aceton Nadeln, die sich ab 275° zersetzen. Ausbeute 90% d. Th.

$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{N}_3\text{Cl}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (607,2). Ber. C 59,28, H 10,96, N 6,92, Cl 17,51.
Gef. C 59,18, H 10,93, N 7,08, Cl 17,24.

3,4-Seco-cholan-3,4,24-tri-trimethylammoniumjodid (VIII)

Aus dem Hydrochlorid von VII wird die Base freigemacht und diese in methanol. Lösung mit Methyljodid 48 Stdn. bei Raumtemp. stehen gelassen. Die Lösung wird dann eingengt. Nach Zusatz von Wasser werden Prismen vom Schmp. 290° u. Zers. erhalten.

$\text{C}_{33}\text{H}_{68}\text{N}_3\text{J}_3$ (887,7). Ber. C 44,65, H 7,72. Gef. C 44,36, H 8,02.

2,3-Seco-sitostan-2,3-disäureanhydrid

0,5 g Dicarbonsäure aus Sitostanol (IX) werden mit 30 ccm Essigsäureanhydrid 2 Stdn. gekocht. Die Lösung wird im Vak. eingedampft. Der Rückstand liefert aus Petroläther farblose Plättchen vom Schmp. 176°. Ausbeute 76% d. Th.

$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_3$ (444,7). Ber. C 78,32, H 10,89. Gef. C 78,36, H 10,79.

2,3-Seco-sitostandi-ol-(2,3) (X)

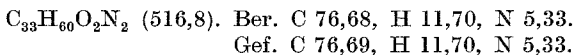
0,25 g des Dimethylesters von IX werden in 15 ccm einer 0,1 m äther. Lösung von LiAlH_4 gelöst. Nach 2 Stdn. bei Raumtemp. wird zum Reaktionsansatz verd. Schwefelsäure gegeben. Der Rückstand der gewaschenen und getrockneten äther. Schicht bildet aus Methanol farblose Plättchen vom Schmp. 182 bis 183°. Ausbeute 88% d. Th.

$\text{C}_{29}\text{H}_{54}\text{O}_2$ (434,7). Ber. C 80,12, H 12,75. Gef. C 80,23, H 12,55.

2,3-Seco-sitostan-2,3-disäure-dimethylamid (XI)

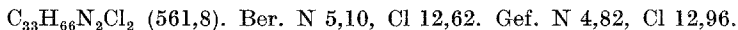
1 g der Dicarbonsäure aus Sitostanol wird in 50 ccm absol. Äther gelöst und mit einem kleinen Überschuß von PCl_5 30 Min. geschüttelt. Die Lösung wird vom überschüssigen PCl_5 dekantiert und im Vak. abgedampft. Der Rückstand wird mit einer äther. Lösung von Dimethylamin versetzt. Nach

1 Std. wird die Lösung mit Wasser und verd. Schwefelsäure gewaschen. Der Rückstand kristallisiert nicht direkt und wird aus CCl_4 an Al_2O_3 adsorbiert. Nach Auswaschen mit CCl_4 wird mit Äther und mit Essigester eluiert. Der Rückstand beider Eluate liefert aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 106 bis 107°. Ausbeute 48% d. Th.



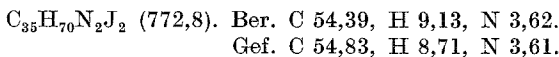
Dihydrochlorid des 2,3-Seco-sitostan-2,3-bis-dimethylamins (XII)

XI wird in siedender äther. Lösung mit LiAlH_4 reduziert. Der Rückstand der nach üblicher Aufarbeitung erhaltenen äther. Lösung des Diamins wird in wenig Methanol unter Erwärmen gelöst. Nach Zugabe von methanol. Salzsäure scheiden sich farblose Nadeln aus, die nach Umkristallisieren aus Methanol den Schmp. 326° u. Zers. zeigen. Ausbeute 68% d. Th.



2,3-Seco-sitostan-2,3-di-trimethylammoniumjodid (XIII)

Die freie Base XII wird in äther. Lösung mit Methyljodid versetzt. Schon nach kurzer Zeit scheidet sich ein farbloses Pulver ab. Aus viel Methanol farblose Plättchen vom Schmp. 323°. Ausbeute quantitativ.



Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für eine Unterstützung unserer Arbeiten.