

de potassium et d'acide sulfurique de façon à ne pas avoir un réactif oxydant exagérément dilué qui réagirait mal. Dans ces cas là, l'iode mis en liberté au moment du dosage par l'excès de bichromate, nécessite l'emploi d'une macro-burette puis d'une micro-burette pour la détermination exacte de la fraction.

Exemple 2: La densité à 15° de la solution d'alcool était de 0,99858 correspondant d'après les tables à 0,74 gr. % d'alcool absolu.

Utilisé: 2 cm³ de la solution de bichromate à 49 gr. par litre
2 cm³ de la solution d'acide sulfurique à 20%
0,1 cm³ de la solution alcoolique (0,00074 gr.)
10 cm³ d'eau

Il a fallu pour titrer l'excès de bichromate après 10' de chauffage au bain-marie:

19,16 cm³ de thiosulfate 0,1-n.

Le témoin a absorbé:

19,85 cm³ de thiosulfate 0,1-n.

19,85 — 19,16 = 0,64 cm³ de thiosulfate 0,1-n.

0,064 × 0,0115 = 0,000736 gr. d'alcool absolu.

Les dosages effectués par cette méthode ont donné des résultats d'une concordance absolue. L'oxydation de l'alcool en tubes fermés est donc obligatoire si l'on veut obtenir des résultats exacts et comparables d'un laboratoire à l'autre.

Cette méthode permet aussi de doser d'une façon précise l'alcool méthylique en solution aqueuse très diluée, 1 cm³ de bichromate à 49 gr. par litre correspondant à 0,008 gr. d'alcool méthylique.

Laboratoire privé de chimie, Lausanne.

10. Cholansäurederivate mit Substituenten in 11- und 12-Stellung

(2. Mitteilung)¹⁾

von J. Barnett²⁾ und T. Reichstein.

(20. XII. 38.)

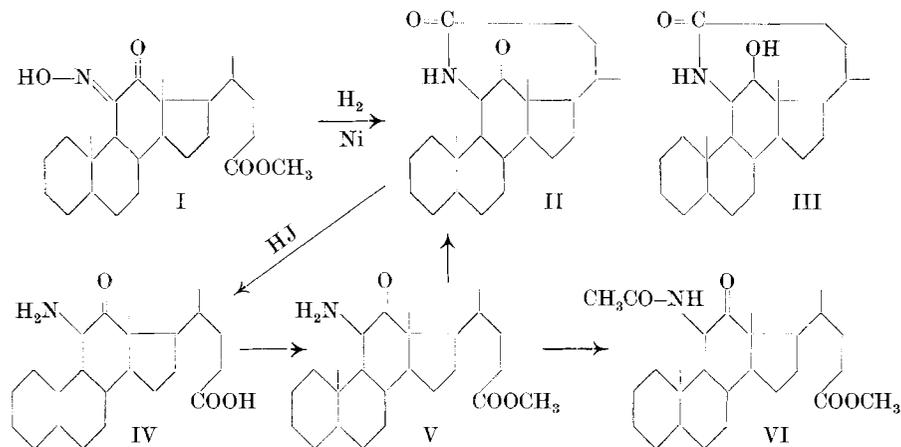
In einer früheren Mitteilung¹⁾ wurde u. a. die katalytische Reduktion des Monoxims des 11,12-Diketo-cholansäure-methylesters (I) beschrieben, die zu einem Lactam vom Smp. 320° korr. führte, dem die Formel (III) zugeschrieben wurde³⁾. Die inzwischen vorgenom-

¹⁾ 1. Mitteilung, Helv. **21**, 926 (1938).

²⁾ Ich danke der N.V. *Organon*, Oss, Holland, für ein Stipendium, das mir die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte.

³⁾ Es ist möglich, dass in dieser und in allen anderen Formeln die in 11- und 12-Stellung befindlichen Substituenten zu vertauschen sind. Da das ursprüngliche Ziel der Arbeit, nämlich die reduktive Entfernung des Sauerstoffs oder Stickstoffs bisher nicht erreicht werden konnte, so musste auch die definitive Abklärung dieses Punktes noch unerledigt bleiben. Die bisherigen Resultate werden bekanntgegeben, da die Arbeit aus äusseren Gründen abgebrochen werden musste.

mene weitere Untersuchung zeigte aber, dass dem Lactam wahrscheinlich die um zwei Wasserstoffatome ärmere Formel (II) zukommt, dass also trotz den relativ energischen Hydrierungsbedingungen lediglich die Oximgruppe der Reduktion anheim gefallen, die benachbarte freie Ketogruppe dagegen unverändert geblieben ist. Wir folgern dies nicht aus den Analysenresultaten, die nicht sehr zuverlässig sind und die eine Entscheidung über den Mehr- oder Mindergehalt von zwei Wasserstoffatomen nicht gestatten, sondern aus dem Ergebnis der weiteren Reduktionsversuche, die an dem Lactam mit Jodwasserstoff durchgeführt wurden.



Bei 16-stündigem Erhitzen des Lactams (II) mit konz. Jodwasserstoffsäure und rotem Phosphor in Wasser-Eisessig-Gemischen bei Temperaturen von 165—200° tritt nämlich zur Hauptsache lediglich Aufspaltung des Lactamringes ein unter Bildung des Jodhydrates der zugehörigen Aminosäure (IV). Eine reduktive Entfernung des der Aminogruppe benachbarten Sauerstoffatoms, die ursprünglich bezweckt war, liess sich bisher nicht erzielen. Das Jodhydrat wurde zur weiteren Charakterisierung in den Methylester (V), der als Chlorhydrat zur Analyse gelangte, und weiter noch ins Acetylderivat (VI) übergeführt.

Als endgültiger Beweis dafür, dass beim Erhitzen des Lactams mit Jodwasserstoff und Phosphor tatsächlich nur Hydrolyse eingetreten ist und die ganze Molekel sonst keine Veränderung erlitten hat, kann die folgende Tatsache gelten:

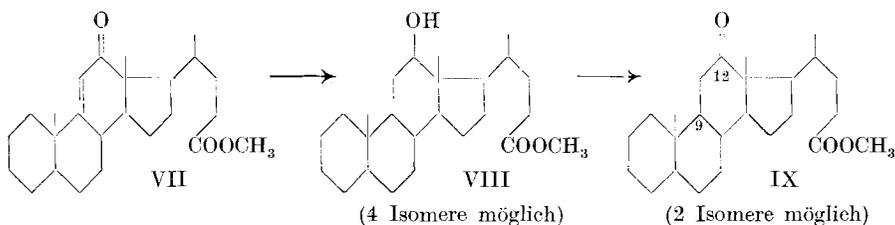
Wird der freie Aminosäure-ester (V) in Methanollösung längere Zeit auf 130° erhitzt, so tritt wieder Ringschluss ein unter Bildung des ursprünglichen Lactams (II) in guter Ausbeute.

Die Beständigkeit des in 12-(oder 11-)Stellung befindlichen Sauerstoffatoms gegen Jodwasserstoff bei relativ hohen Tempera-

turen spricht unserer Meinung nach sehr dafür, dass dieses nicht als Hydroxyl, sondern als Ketogruppe vorhanden ist, dass dem Lactam also Formel (II) und nicht (III) zukommt. Als strenger Beweis ist sie allerdings nicht anzusehen, da es bei der abnormen Reaktions-trägheit der in 11- und 12-Stellung substituierten Sterinderivate nicht ganz ausgeschlossen ist, dass sich auch eine Hydroxylgruppe in dieser Stellung als abnorm stabil gegen Jodwasserstoff erweist. Im Einklang mit Formel (II) steht dagegen noch die Tatsache, dass das Lactam nach 16-stündiger Einwirkung von Chromsäure in Eis-essig bei Zimmertemperatur unverändert regeneriert werden konnte.

Da die Eliminierung des Sauerstoffes im kristallisierten Lactam (II) bisher nicht gelang, wurden noch Reduktionsversuche mit den amorphen Produkten angestellt, die bei der Gewinnung von (II) erhalten worden waren. Diese konnten möglicherweise das Oxy-lactam (III) enthalten. Bei der Behandlung derselben mit Jodwasserstoff wurde die gleiche Aminosäure (IV) in reiner Form aber nur in kleiner Menge isoliert, die schon aus reinem (II) gewonnen war und deren Bildung wahrscheinlich auf das Vorhandensein von (II) in dem rohen Gemisch zurückzuführen ist. Daneben entstehen allerdings noch andere Produkte, die aber wegen vorzeitigem Abbruch der Arbeit nicht mehr abschliessend untersucht werden konnten.

Schliesslich sollen noch Vorversuche über die katalytische Reduktion des 12-Keto-cholen-(9,11)-säure-methylesters (VII) erwähnt werden. Sie wurden vorgenommen, um eventuell das Isomere der Cholsäure zu erhalten, das sich von der normalen Säure durch Isomerie am Kohlenstoff 9 unterscheidet.



Das Vorliegen eines solchen Ringsystems wurde in verschiedenen Naturprodukten vermutet, zuerst von *Tschesche* und *Bohle* für das Herzgift-Aglucon Sarmetogenin¹⁾. In jüngster Zeit wurde es von *Marker* einer ganzen Reihe von Sterinderivaten zugeschrieben, die von ihm besonders aus Stutenharn isoliert wurden. Für den zugrunde liegenden Kohlenwasserstoff wurde von ihm der Name „Uran“ vorgeschlagen²⁾. *Marker* diskutiert besonders auch die Möglichkeit, dass die Hormone der Nebenniere das „Uran“- und nicht das Pregnan-Gerüst enthalten³⁾. Da ein bündiger Beweis in keinem Falle

¹⁾ R. *Tschesche*, K. *Bohle*, B. **69**, 2497 (1936).

²⁾ R. E. *Marker*, O. *Kamm*, T. S. *Oakwood*, E. L. *Wittle*, E. J. *Lawson*, Am. Soc. **60**, 1061 (1938). Weitere Literatur bei ³⁾.

³⁾ R. E. *Marker*, Am. Soc. **60**, 1725 (1938).

vorliegt¹⁾, so wäre es erwünscht, einen solchen Stoff als Vergleichs-
substanz zu besitzen, dem mit Sicherheit dieses Ringsystem zu-
kommt.

Als erste bemerkenswerte Beobachtung möchten wir erwähnen,
dass der Ester (VII) sehr schwer hydrierbar ist. Während normale
 α , β -ungesättigte Ketone sich besonders leicht hydrieren lassen, nahm
der Ester (VII) bei Zimmertemperatur in Gegenwart von Platinoyd
in Methanol-Eisessig gar keinen Wasserstoff auf. Es ist daher an-
zunehmen, dass eine in 9,11-Stellung befindliche isolierte Doppel-
bindung in Cholderivaten, die also in 12-Stellung keine aktivierende
Ketogruppe tragen, noch viel schwerer hydrierbar sein dürfte²⁾.

Die Hydrierung des Esters gelang dagegen in Gegenwart von
Raney-Nickel im Drehautoklaven bei 100⁰ und 140 Atmosphären
Wasserstoffdruck. Das Hydrierungsprodukt (VIII) liess sich nicht
direkt krystallisieren. Es kann theoretisch vier Stereoisomere ent-
halten, da zwei neue Asymmetriezentren gebildet wurden. Aus
diesem Grunde wurde es zunächst zum entsprechenden Ketoester (IX)
oxydiert. Es sind jetzt nur noch maximal zwei Isomere theoretisch
vorauszusehen. Das Oxydationsprodukt krystallisierte bald, wenn
auch nicht ganz vollständig. Die Hauptmenge schmolz bei 104⁰
und erwies sich als identisch mit dem bekannten 12-Keto-cholan-
säure-methylester³⁾. Die öligen Mutterlaugen können eventuell den
gesuchten isomeren Ester enthalten, der aber bisher nicht gefasst
werden konnte. Auf jeden Fall scheint, wenigstens unter den an-
gewandten Bedingungen der Hydrierung, die Bildung des normalen
Cholansäuresystems begünstigt zu sein.

Experimenteller Teil.

Versuch zur Oxydation des Lactams (II) mit Chrom- trioxyd.

50 mg reines Lactam (II) vom Smp. 320⁰ korr. wurden in 1 cm³
reinstem Eisessig gelöst, mit der Lösung von 20 mg Chromtrioxyd

¹⁾ Die Hypothese, dass im Sarmentogenin die Konfiguration am Kohlenstoffatom
Nr. 9 nicht dem normalen Cholestan entspricht, wurde von *Tschesche* und *Böhle*²⁾ auf-
gestellt, um die Verschiedenheit von dem isomeren Digoxigenin zu erklären, da an-
genommen wurde, dass beide Aglucone eine Hydroxylgruppe in 11-Stellung tragen. Nun
hat sich aber gezeigt, dass im Digoxigenin dies Hydroxyl nicht in 11-, sondern in 12-
Stellung sitzt. (*H. L. Mason, W. M. Hoehn, Am. Soc. 60, 2824 (1938); M. Steiger,
T. Reichstein, Helv. 21, 828 (1938).*) Es besteht daher heute überhaupt kein Grund
mehr gegen die Annahme, dass auch im Sarmentogenin das normale Cholestan-Gerüst
vorliegt. Beim „Uran“ und seinen Derivaten erlauben die bisherigen experimentellen
Ergebnisse unseres Erachtens noch keine endgültige Stellungnahme.

²⁾ *R. Tschesche, K. Böhle, B. 69, 2497 (1936)* erwähnen die erfolgreiche Hydrierung
eines Sterinderivates, dem eine Doppelbindung in 9,11-Stellung zugeschrieben wird (l. c.
Formel II). Nach den oben erwähnten Resultaten (vgl. Anm. 1), enthält dieser Stoff
jedoch die Doppelbindung vielleicht in 11,12-Stellung.

³⁾ *K. Kyogoku, Z. physiol. Ch. 246, 101 (1937).*

(= 1,2 Mol) in 1 cm³ Eisessig versetzt und über Nacht bei Zimmer-temperatur stehen gelassen. Die Lösung blieb dabei klar und braunrot. Sie wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in etwas Wasser aufgenommen und mit viel Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde neutral gewaschen, getrocknet und stark eingedampft. Es krystallisierten 44 mg farbloser Nadeln, die wie das Ausgangsprodukt bei 320° korr. schmolzen und damit keine Schmelzpunkts-erniedrigung zeigten.

Jodhydrat der 11-(oder 12-)Amino-12-(oder 11-)keto-
cholansäure (IV).

1 g Lactam (II) vom Smp. 320° korr., 300 mg roter Phosphor, 3,5 cm³ wässrige Jodwasserstoffsäure ($d = 1,7$) und 5 cm³ Eisessig wurden in ein Bombenrohr gefüllt, dieses nach starkem Verengen im Vakuum (12 mm) zugeschmolzen und hierauf 16 Stunden auf 165° erhitzt. Nach dem Erkalten waren neben Phosphor in der farblosen Flüssigkeit reichlich lange Nadeln enthalten. Der Rohrinhalt wurde mit etwas Wasser und Eisessig in einen Rundkolben gespült und im Vakuum zur Trockne gedampft. Nach Zugabe von etwas Wasser wurden die mit Phosphor verunreinigten Krystalle abgenutscht und mit Wasser und Äther gewaschen. Sie enthalten die Hauptmenge der Aminosäure als Jodhydrat.

Die Mutterlaugen wurden noch wie folgt verarbeitet: Zunächst wurde mit Sodalösung bis zur alkalischen Reaktion versetzt und mit wenig Chloroform, dann gut mit Äther ausgeschüttelt. Diese Auszüge gaben nur ca. 10 mg krystallisierten Rückstand, der bei ca. 300° schmolz. Die alkalische Lösung wurde mit konz. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt und erschöpfend mit frisch destil- liertem Chloroform ausgeschüttelt. Die getrockneten Auszüge wurden fast völlig eingedampft und der Rückstand mit etwas Äther versetzt. Es trat rasch Krystallisation ein. Das mit Äther gewaschene Produkt wog 280 mg. Es erwies sich als Chlorhydrat der Amino-keto-cholan- säure, denn nach Methylierung und Acetylierung wurde dasselbe Derivat daraus erhalten wie aus dem Jodhydrat. Für die Aufarbei- tung ist auf alle Fälle die Tatsache sehr nützlich, dass sich das Chlor- hydrat der Aminosäure mit viel Chloroform aus salzsaurer Lösung extrahieren lässt.

Zur Reinigung des Jodhydrates wurden die mit Phosphor ver- unreinigten Krystalle in wenig wässriger Sodalösung warm gelöst, filtriert und die klare Lösung zunächst mit etwas Eisessig, dann tropfenweise mit konz. Jodwasserstoffsäure bis zur rein blauen Reaktion auf Kongo versetzt. Dabei fiel das Jodhydrat in kleinen, farblosen Nadeln aus. Es wurde mehrmals mit Wasser, dann mit Äther gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute betrug 1,06 g. Zur Analyse wurde es aus heissem Eisessig unter Zusatz von etwas Wasser

unkrystallisiert und im Hochvakuum eine Stunde bei 120° getrocknet. Es schmolz bei etwa 285° korr. unter Zersetzung. Die Analyse stimmt am besten für 1 Mol Krystallwasser.

	3,757 mg Subst. gaben 7,437 mg CO ₂ und 2,63 mg H ₂ O
	4,528 mg Subst. gaben 0,144 cm ³ N ₂ (24°; 727 mm)
C ₂₄ H ₄₀ O ₃ NJ·H ₂ O (535,5)	Ber. C 53,83 H 7,91 N 2,62%
	Gef. „ 53,98 „ 7,83 „ 3,50%

Dasselbe Produkt entsteht auch beim Erhitzen auf 200°, nur ist die Ausbeute etwas schlechter.

11-(oder 12-)Amino-12-(oder 11-)keto-cholansäure-methylester (V).

100 mg obigen Jodhydrates (IV) oder eine entsprechende Menge des Chlorhydrates wurden in Methanol gelöst und bei 0° mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt, bis die gelbe Farbe kurze Zeit bestehen blieb. Dann wurde im Vakuum eingedampft, mit wässriger Sodalösung und Äther geschüttelt, die Ätherschicht mit Wasser gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der freie Aminosäure-ester blieb als farbloser Sirup zurück, der langsam krystallisierte. Das Rohprodukt schmolz bei 100—108° und wog 95 mg. Zur Reinigung wurde es wie folgt in das Chlorhydrat übergeführt. Es wurde in abs. Äther gelöst und mit einer frisch bereiteten Lösung von Chlorwasserstoffgas in Äther in geringem Überschuss versetzt. Die sofort ausfallenden farblosen Nadelchen wurden abgenutscht, mit Äther gewaschen und eine Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Sie schmolzen bei 235° korr. unter Zersetzung nach vorherigem Sintern von ca. 230° an.

	3,715 mg Subst. gaben 9,394 mg CO ₂ und 3,29 mg H ₂ O
C ₂₅ H ₄₂ O ₃ NCl (440,06)	Ber. C 68,23 H 9,58%
	Gef. „ 68,96 „ 9,91%

11-(oder 12-)Acetylamino-12-(oder 11-)keto-cholansäure-methylester (IV).

150 mg Chlorhydrat des Amino-keto-cholansäure-methylesters wurden mit wässriger Sodalösung und Äther geschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit etwas Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst und mit 0,5 cm³ Acetanhydrid versetzt. Die Mischung wurde eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur belassen, kurz aufgeköcht, sofort abgekühlt, mit 50 cm³ Äther aufgenommen, mehrmals mit verdünnter Salzsäure und dann etwa 10 Minuten mit verdünnter Sodalösung geschüttelt, bis der Überschuss des Essigsäure-anhydrids völlig zerstört war. Dann wurde mit Wasser gewaschen, getrocknet und auf ein kleines Volumen eingengt. Das Acetylderivat schied sich dabei rasch in farblosen Nadeln aus, die mit etwas Äther gewaschen wurden, worin sie schwer löslich sind. Die Ausbeute betrug 75 mg, der

Schmelzpunkt lag bei 211—214⁰ korr. Zur Reinigung wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm und 210⁰ Badtemperatur sublimiert und dann nochmals aus viel Äther durch Einengen umkrystallisiert. Das Produkt schmolz dann bei 214—216⁰ korr. Zur Analyse wurde nochmals frisch im Hochvakuum sublimiert.

4,182 mg Subst. gaben	11,27 mg CO ₂	und	3,65 mg H ₂ O
4,535 mg Subst. gaben	0,140 cm ³ N ₂	(20 ⁰ ; 721 mm)	
C ₂₇ H ₄₃ O ₄ N (445,62)	Ber. C 72,76	H 9,72	N 3,15%
	Gef. „ 72,84	„ 9,77	„ 3,41%

Dieses Derivat ist zur Charakterisierung der Aminosäure sehr geeignet.

Rückverwandlung der Aminosäure ins Lactam (II).

130 mg 11-Amino-12-keto-cholansäure-methylester, der wie oben frisch aus dem Chlorhydrat bereitet worden war, wurde in 1,5 cm³ Methanol gelöst, in einem Bombenrohr eingeschmolzen und 14 Stunden lang auf 130⁰ erhitzt. Nach dem Erkalten wurde geöffnet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt krystallisierte sofort. Es schmolz nach dem Waschen mit etwas Äther bei 316—320⁰ korr. und wog 120 mg. Zur Reinigung wurde in etwas Chloroform gelöst, mit Äther verdünnt und mit Sodalösung, verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach dem Eindampfen wurde krystallisiert und mit Äther gewaschen. Der Schmelzpunkt lag bei 320⁰ korr., und die Mischprobe mit dem ursprünglichen Lactam schmolz gleich. Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

1,982 mg Subst. gaben	5,61 mg CO ₂	und	1,81 mg H ₂ O
C ₂₄ H ₃₇ O ₂ N (371,55)	Ber. C 77,58	H 10,04%	
	Gef. „ 77,19	„ 10,22%	

Hydrierung des 12-Keto-cholen-(9, 11)-säure-methylesters (VII).

Der reine Methylester (VII) vom Smp. 88⁰ wurde zu den Hydrierungsversuchen nochmals im Hochvakuum im Molekularkolben bei 0,01 mm und 190⁰ Badtemperatur destilliert und aus reinstem Methanol umkrystallisiert.

0,3 g Ester wurden in einem Gemisch von 3 cm³ reinstem Eisessig und 6 cm³ katalytisch reinem Methanol mit dem aus 50 mg Platinoxid durch Vorhydrierung bereiteten Platin in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Es trat auch nach mehrmaligem Aktivieren mit Luft keine Aufnahme von Wasserstoff ein, und das Ausgangsmaterial wurde bei der Aufarbeitung unverändert zurückgewonnen.

0,3 g Ester wurden hierauf in 5 cm³ Methanol gelöst und mit dem Raney-Nickel aus 300 mg Nickel-Aluminium-Legierung in den Glaseinsatz eines Hochdruck-Rotierautoklaven gefüllt. Nach Vertreiben der Luft wurde Wasserstoff auf 100 Atmosphären aufgespresst,

unter ständigem Rotieren bis 100° aufgeheizt und acht Stunden bei dieser Temperatur laufen gelassen. Nach dem Erkalten wurde filtriert, mit Äther nachgewaschen, das Filtrat im Vakuum getrocknet, in Äther gelöst, neutral gewaschen und eingedampft. Es blieb ein farbloser Rückstand von 270 mg, der auch nach Animpfen mit 12-Oxy-cholansäure-methylester nicht zur Krystallisation zu bringen war. (Nach dem Ergebnis der Oxydation enthält das Produkt zur Hauptsache wohl die zwei in 12-Stellung isomeren Oxy-ester.) Das gut getrocknete Produkt wurde daher in 1 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit der Lösung von 80 mg Chromtrioxyd in 4 cm³ Eisessig versetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zur Aufarbeitung wurde im Vakuum eingedampft, mit Äther und Wasser getrennt, die Ätherlösung neutral gewaschen und eingedampft. Der Rückstand krystallisierte bald nach Zusatz von einer Spur Methanol in zu Drusen vereinigten Blättchen, die bei 94—98° schmolzen. Einmaliges Umkrystallisieren aus Pentan gab Blättchen vom Smp. 104° korr. Die Mischprobe mit dem bei 106—108° schmelzenden gewöhnlichen 12-Keto-cholansäure-methylester gab keine Depression.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium des Instituts (Leitung Priv.-Doz. Dr. M. Furter) ausgeführt.

Laboratorium für organ. Chemie, Eidg. Techn.
Hochschule Zürich.

11. Zur Kenntnis homologer Reihen acylierter Azofarbstoffe aus o- und p-Acylamino-phenolen und 1,7-Acylamino-naphtholen

von H. E. Fierz-David und W. Kuster.

(13. XII. 38.)

Einführung.

Die Untersuchungen von *Landsteiner* und *van der Scheer*¹⁾ haben die Tatsache festgestellt, dass ganz bestimmte Azofarbstoffe die Eigenschaft haben, den anaphylaktischen Schock auszulösen. Zur Anaphylaktisierung war eine Eiweissverbindung des Farbstoffes verwendet worden (Azoprotein). Welche Rolle bei der Anaphylaktisierung dieses Eiweiss spielt, ist noch nicht bekannt. Auch bei der Anaphylaxieauslösung ist die Bedeutung des Eiweiss noch nicht klar gestellt. Es ist jetzt *Fierz*, *Jadassohn* und *Kleemann*²⁾ im Gegensatz zu früheren Versuchen gelungen, die Anaphylaxieauslösung mit Bis-

¹⁾ *Landsteiner* und *van der Scheer*, J. Expl. Med. **56**, 399 (1932).

²⁾ *H. Fierz*, *W. Jadassohn* und *A. Kleemann*, Helv. **22**, 3 (1939).