

# Zur Konstitutionsaufklärung der Cholsäure vermittelt Bromierungsversuche.<sup>1)</sup>

Von

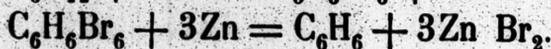
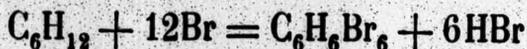
Dr. B. C. P. Jansen.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Amsterdam.  
Direktor Prof. Dr. G. van Rynberk.)

Der Redaktion zugegangen am 24. Oktober 1912.)

Durch die Untersuchungen der letzten Jahre (cf. Panzer<sup>2)</sup>, Letsche<sup>3)</sup> und besonders Pregl<sup>4)</sup> u. a.) ist es sehr wahrscheinlich geworden, daß die Cholsäure zu den hydroaromatischen Körpern gehört. Es wäre daher sehr erwünscht, die hydroaromatischen Ringe im Cholsäuremolekül in aromatische überzuführen.

Nun haben von Baeyer und Villiger<sup>5)</sup> eine, auch von Pregl schon angewandte Methode ausgearbeitet, durch welche viele hydroaromatische Substanzen zu aromatischen oxydiert werden können. Die Methode beruht darauf, daß man zuerst den hydrierten 6-Ring durch vollkommen symmetrische Substitution von 6 Wasserstoffatomen durch Brom in einen Abkömmling von Benzolhexabromid überführt. Hieraus entsteht durch Einwirkung von Zink- und Salzsäure leicht ein aromatischer Körper:



Um die Anwendbarkeit dieser Methode auf die Cholsäure zu prüfen, wurden folgende Versuche gemacht:

18 g Cholsäure (Schmelzpunkt 194°; durch längeres Erhitzen auf 130° vom Krystallalkohol befreit) wurden in ein

<sup>1)</sup> Vorliegende und nachfolgende Abhandlung stellen eine verkürzte Wiedergabe meiner Inauguraldissertation vor. Cf. B. C. P. Jansen, Dissertation, Utrecht.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 48, S. 192 (1908), und Bd. 60, S. 376 (1909).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 61, S. 215 (1909).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 65, S. 157 (1910).

<sup>5)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 31, S. 1401 (1898).

Fraktionierkölbchen von 300 ccm Inhalt gebracht; das Kölbchen wurde geschlossen durch einen mit Vaseline überzogenen Kork, durch den ein Tropftrichter ging; das Seitenrohr war verbunden mit einer Waschflasche mit starker Schwefelsäure, um Feuchtigkeit der Luft auszuschließen. Das Kölbchen wurde in eine Kältemischung gestellt, und aus dem Tropftrichter 75 g Brom, gemischt mit wenig Jod, langsam hinzugefügt. Auch in der Kälte ist die Reaktion sehr heftig, sodaß ein Teil des Broms verdampft; es entweichen ferner Ströme Bromwasserstoffs. Am nächsten Tage wird noch ein wenig Brom hinzugefügt. Während einiger Tage entweicht ein langsamer Strom Bromwasserstoff. Wenn nach zwei Wochen die Gasentwicklung aufgehört hat, wird das Kölbchen geöffnet, und es zeigt sich, daß eine zähe, durch Jod schwarz gefärbte Masse zurückgeblieben ist; sie wird ausgezogen mit verdünnter Natriumbisulfatlösung und geht dadurch in ein gelbbraunes Pulver über. Nach dem Abfiltrieren und Trocknen wog es 98 g. Dies deutet darauf hin, daß 8 Mol. Brom in das Cholsäuremolekül getreten sind.

Bei einer Brombestimmung wurde gefunden:

0,1884 g Substanz gab 0,2570 g AgBr.

Also: 57,9% Brom.

Berechnet für  $C_{24}H_{33}O_5Br_7$ : 58,2% Br.

Das Reaktionsprodukt ist löslich in Natronlauge und in Ammoniak; durch Säuren wird es hieraus niedergeschlagen.

Versuche, die Substanz krystallisiert zu erhalten, hatten keinen Erfolg. Sie ist sehr löslich in Aceton, auch gut in Äther, etwas weniger in Alkohol.

Es wurde nun versucht, das bromierte Produkt zu debromieren mittelst Zink und Salzsäure. Ein Teil der Substanz wurde dazu in Äther und Alkohol gelöst, und diese Lösung mit Zinkstaub + alkoholischer Chlorwasserstofflösung + ein wenig Platinchlorid vermischt. Es wird aber dadurch weder in der Kälte, noch bei längerem Sieden am Rückflußkühler das Brom entfernt.

Statt mit Zinkstaub und Chlorwasserstoff wurde ein anderer Teil des bromierten Produktes mit Natrium + Alkohol

behandelt. Die Lösung wird dadurch ganz schwarz gefärbt. Nach Hinzufügen von überschüssiger Salzsäure entsteht ein braunschwarzer Niederschlag, der sehr löslich ist in Aceton, aber nicht krystallinisch zu bekommen ist.

Es zeigte sich, daß durch Einwirkung der Lauge auf das Bromprodukt schon Zersetzung stattfindet; ein Teil des Broms wird hierbei an Natrium gebunden. In der Folge wurde 0,2034 g bromierter Cholsäure während einiger Zeit mit Natronlauge erhitzt; die Lösung wurde mit Wasser verdünnt und angesäuert; nach dem Abfiltrieren der dadurch hervorgerufenen Fällung wurde das Filtrat mit Silbernitrat versetzt. Es entstand eine dicke Fällung von Silberbromid, welche 0,1700 g wog. Ungefähr die Hälfte des Broms wird also durch die Lauge aus dem Molekül entfernt.

Um die zersetzende Wirkung der Lauge zu verhindern, wurde die Reduktion mit einem neutralen Reduktionsmittel versucht, und zwar mit durch Quecksilber aktiviertem Aluminium. Auch hierbei wurde aber weder ein bromfreies Produkt erhalten, noch ein Produkt, das durch Umlösen krystallinisch zu erhalten war.

Daß die oben beschriebene Art des Bromierens solch ein unbequemes Produkt liefert, wäre vielleicht dem zuzuschreiben, daß, wiewohl das Kölbchen in einer Kältemischung stand, die Einwirkung des flüssigen Broms auf die Cholsäure stellenweise doch zu heftig war. Eine gelindere Einwirkung wäre — so nahmen wir an — wahrscheinlich zu erhalten gewesen, wenn wir Bromdampf mit der Cholsäure hätten reagieren lassen. Deshalb wurde der Versuch, wie folgt, angestellt:

In einen großen Vakuumexsikkator wurde ein Schälchen gebracht mit einer feinpulverisierten Mischung von 28 g Cholsäure und 10 g Jod; daneben wurde ein Schälchen gestellt mit 120 g Brom; der geöffnete Hahn war verbunden mit einer Waschflasche mit konzentrierter Schwefelsäure, um die Luftfeuchtigkeit zu absorbieren. Die Reaktion von Brom und Cholsäure findet nun sehr gelinde statt, und der Bromwasserstoff entweicht langsam durch die Waschflasche. Wenn nach ungefähr zwei Wochen alles Brom verdampft ist, wird der Ex-

sikkator geöffnet und das Reaktionsprodukt vom Überschusse des Broms und Jods befreit.

Das so erhaltene Produkt zeigt aber alle Eigenschaften des früher bereiteten.

Aus obigem geht wohl hervor, daß die Methode von Baeyer zur Dehydrierung hydroaromatischer Körper auf die Cholsäure nicht anwendbar ist. Weil aber die Einwirkung von Halogenen auf Cholsäure nur wenig studiert worden war, entschloß ich mich, die Reaktion von zuerst 1 Mol. Brom auf 1 Mol. Cholsäure genauer zu prüfen.

Nun hat schon Landsteiner<sup>1)</sup> Brom auf Cholsäure einwirken lassen, nachdem er beide in Eisessig gelöst hatte; er hat aber keinen gut definierten Körper erhalten. Lassar-Cohn<sup>2)</sup> fand, daß, wenn er eine Lösung von Cholsäure in Eisessig in Wasser goß und darauf Brom hinzufügte, aus der Cholsäure das Oxydationsprodukt, die Dehydrocholsäure, entstand (in ziemlich schlechter Ausbeute). Ich habe den Versuch von Lassar-Cohn wiederholt, mit der Abänderung, daß ich die Cholsäure (10 g) in einem Überschuß Lauge und viel Wasser löste (1,5 l). Wurde nun zu dieser Lösung ein Überschuß Brom hinzugefügt, so entstand eine weiße, teigige Fällung, die wahrscheinlich aus einer Mischung von Dehydrocholsäure und Bromdehydrocholsäure bestand.

Nun hat schon Lassar-Chon (l. c.) darauf hingewiesen, daß von der Dehydrocholsäure leichter krystallisierte Derivate erhalten werden, als von der Cholsäure. Es wurde nun deshalb statt der Cholsäure ihr Oxydationsprodukt, die Dehydrocholsäure, in Angriff genommen.

Zuerst wurde versucht, ob bei Einwirkung von Bromdampf auf Dehydrocholsäure im Exsikkator ein krystallisierter Körper erhalten wurde, oder wenigstens ein Körper, aus dem durch Zink + Salzsäure oder durch Natrium + Alkohol eine krystallisierte Substanz erhalten werden konnte. Die Versuche hatten aber denselben Erfolg wie bei der Cholsäure.

Nun hat Landsteiner (l. c.) ein Monobromprodukt der

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 19, S. 285 (1894).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 488 (1892).

Dehydrocholsäure erhalten durch Bromieren in Eisessiglösung. Die Mischung von 1 Mol. Dehydrocholsäure + 1 Mol. Brom in Eisessig blieb während einiger Stunden unverändert; darauf verschwand die Farbe des Broms bald. Wenn er nun Ligroin hinzufügte, so erhielt er, laut seiner Angaben, mikroskopische Nadelchen. Diese sind löslich in Aceton, Eisessig, Alkohol und Benzol. Aus Alkohol krystallisieren beim Erhalten der heißgesättigten Lösung schöne Oktaederchen. Von diesen Oktaederchen gibt Landsteiner keine Elementaranalyse. Durch Umkrystallisieren aus Benzol erhielt er zum Teil kurze Prismen, zum Teil feine Nadelchen. Beim Umkrystallisieren dieser Nadelchen aus Aceton entstanden wieder Nadelchen (A); beim Umkrystallisieren der Prismen aus Aceton entstand dagegen eine Mischung von Nadelchen und Oktaederchen (B). Schmelzpunkt A 171—173°; Schmelzpunkt B 160—163°. Die Analyse von A, sowie von B (von B wird kein Bromgehalt angegeben) stimmt mit der Formel  $C_{24}H_{33}O_5Br$ .

Ich habe nun die Vorschrift Landsteiners befolgt und das Bromsubstitutionsprodukt aus Alkohol umkrystallisiert. Es wurden dabei die oktaederähnlichen Kryställchen erhalten.

Bei der Analyse zeigte sich aber, daß der Bromgehalt zu hoch war:

0,1930 g Substanz gab 0,0833 g AgBr.

Also: 18,3% Br.

0,1484 g Substanz gab 0,0630 g AgBr.

Also: 18,1% Br.

Berechnet für  $C_{24}H_{33}O_5Br$ : 16,6% Br.

Beim fraktionierten Umkrystallisieren aus Alkohol änderte sich der Bromgehalt nicht; die erste und die letzte Fraktion hatten denselben Bromgehalt.

Der Schmelzpunkt (besser Zersetzungspunkt) dieses aus Alkohol umkrystallisierten Produktes war 130—140°.

Es kann also aus Alkohol nicht rein erhalten werden (vielleicht ist es nicht zu trennen von beigemischtem Dibromprodukt?). Beim Umkrystallisieren aus Aceton oder aus Eisessig wird aber ein in Nadelchen krystallisierendes Produkt

vom Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$  erhalten (der Bromgehalt war etwas zu klein, siehe unten).

Beim Umkrystallisieren dieser Nadelchen vom Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$  aus Alkohol erhielten wir wieder oktaederähnliche Kryställchen, die nach 24 stündigem Liegen an der Luft bei  $110$ — $120^{\circ}$  sich zersetzen. Beim Trocknen auf einem siedenden Wasserbade erleiden sie noch eine Gewichtsabnahme, übereinstimmend mit dem Verlust von 1 Mol. Krystallalkohol.

Der Zersetzungspunkt ist nun  $130$ — $140^{\circ}$ .

Beim Umkrystallisieren aus Eisessig entstehen wieder Nadelchen vom Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$ .

Auch aus Aceton oder aus Aceton + Petroläther erhielten wir immer Nadelchen vom Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$ . Beim Umkrystallisieren aus Aceton + Äther (dieser Äther war durch 4 maliges Waschen mit Wasser vom Alkohol, darauf durch Calciumchlorid vom Wasser befreit) entstehen immer Oktaederchen.

Herr Professor Schoorl hatte die Güte, diese Nadelchen und oktaederähnlichen Kryställchen krystallographisch zu untersuchen, wofür ich ihm zu vielem Danke verpflichtet bin.

Bei dieser Prüfung wurde gefunden daß die Kryställchen aus Eisessig und aus Aceton wenig verschieden sind; erstere sind besser ausgebildet als letztere. Beide sind Nadeln, schwach anisotrop, die Auslöschungsrichtung parallel den Kanten. Die Kryställchen aus Alkohol sind völlig anders: stark doppelbrechende, tetragonale (rhombische?) Doppelpyramiden.

Von diesen verschiedenen Arten Krystalle wurden Elementaranalysen gemacht mit folgendem Resultat:<sup>1)</sup>

1. Nadelchen aus Aceton (Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$ ).

0,2262 g Substanz gaben 0,4984 g  $\text{CO}_2$  und 0,1420 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Also: 60,1% C und 7,0% H.

0,1555 g Substanz gaben 0,3410 g  $\text{CO}_2$  und 0,0896 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Also: 59,8% C und 6,4% H.

0,2001 g Substanz gaben 0,0748 g AgBr.

Also: 15,9% Br.

<sup>1)</sup> Die Substanz war auf dem Wasserbade getrocknet. Die Verbrennung geschah im offenen Rohr mit Bleichromat; das Brom wurde nach Pringsheim oder durch Zersetzung mit Lauge bestimmt (siehe unten).

0,2421 g Substanz gaben 0,0890 g AgBr.

Also: 15,7% Br.

Berechnet für  $C_{24}H_{33}O_5Br$ : 59,8% C, 6,9% H und 16,6% Br.

Der Bromgehalt ist also viel kleiner als berechnet; dies würde eine Folge der Anwesenheit von Krystallaceton sein können; hierdurch verändert sich der Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt beinahe nicht, der Bromgehalt wird natürlich niedriger. Er berechnet sich für  $C_{24}H_{33}O_5Br$ ,  $\frac{1}{3} C_3H_6O$ : 60,0% C, 7,1% H und 16,0% Br.

Dieses Krystallaceton entweicht nicht beim Erhitzen bis  $130^\circ$ . Um es aber nachzuweisen und zu bestimmen, wurden 0,3711 g Nadelchen, umkrystallisiert aus Aceton, getrocknet bei  $100^\circ$  und in ein Fraktionierkölbchen gebracht. Das Kölbchen ist verbunden mit einem Kühler, welcher in eine Stöpselflasche mündet, in der sich Wasser befindet. Nun wird aus einem Tropftrichter soviel Essigsäure hinzugefügt, bis alles sich beim Erwärmen gelöst hatte.

Durch Kochen wurde das Aceton überdestilliert, während aus dem Tropftrichter soviel Essigsäure hinzugefügt wurde, daß alles in Lösung ging.

Das Destillat wurde mit überschüssiger Kalilauge gemischt und 24,3 ccm 0,0906 Norm.-Jodlösung hinzugefügt. Nach 10 Minuten langem Stehen wurde angesäuert und zurücktitriert mit 3,0 ccm 0,0906 Norm.-Natriumthiosulfatlösung. Es zeigte sich in einem blinden Versuch, daß die zum Überdestillieren des Acetons nötige Quantität Essigsäure 5,0 ccm 0,0906 Norm.-Jodlösung gebraucht, bis Stärkelösung gebläut wurde. Man bedarf deshalb  $24,3 - 3,0 - 5,0 = 16,3$  ccm 0,0906 Norm.-Jodlösung, um das Aceton, aus 0,3711 g Nadelchen, in Jodoform überzuführen. Es sind deshalb 14,3 mg Aceton überdestilliert. Berechnet für  $\frac{1}{3}$  Mol. Krystallaceton: 14,3 mg.

2. Nadelchen aus Essigsäure (Zersetzungspunkt  $180^\circ$ ).

0,2270 g Substanz gaben 0,4900 g  $CO_2$ .

Also: 58,9% C.

0,1660 g Substanz gaben 0,3575 g  $CO_2$  und 0,1100 g  $H_2O$ .

Also: 58,7% C und 7,4% H.

0,1662 g Substanz gaben 0,0637 g AgBr.

Also: 16,1% Br.

0,1577 g Substanz gaben 0,0584 g AgBr.

Also: 15,8% Br.

Diese Zahlen stimmen gar nicht auf  $C_{24}H_{33}O_5Br$ , sehr gut aber auf  $C_{24}H_{33}O_5Br$ ,  $\frac{1}{2} C_2H_4O_2$ , mit  $\frac{1}{2}$  Mol. Essigsäure; hierfür berechnet man: 58,7% C, 6,9% H und 15,7% Br.

Um zu versuchen, diese Essigsäure (die beim Erhitzen bis  $130^\circ$  nicht entweicht) zu bestimmen, wurden 0,4728 g aus Essigsäure umkrystallisierte Nadelchen in einem Fraktionierkölbchen in Xylol gelöst und die Essigsäure mit Xylol überdestilliert. Das Destillat brauchte 3,8 ccm 0,107 Norm.-Lauge zur Neutralisation. Das entspricht 24,4 mg Essigsäure; für  $\frac{1}{2}$  Mol. berechnet man: 27,8 mg.

3. Oktaederchen aus Alkohol (Zersetzungspunkt  $140^\circ$ ).

0,1741 g Substanz gaben 0,3837 g  $CO_2$  und 0,1110 g  $H_2O$ .

Also: 60,1% C und 7,1% H.

0,2007 g Substanz gaben 0,4413 g  $CO_2$  und 0,1273 g  $H_2O$ .

Also: 60,0% C und 7,0% H.

0,2140 g Substanz gaben 0,0829 g AgBr.

Also: 16,5% Br.

0,2288 g Substanz gaben 0,0900 g AgBr.

Also: 16,7% Br.

Berechnet für  $C_{24}H_{33}O_5Br$ : 59,8% C, 6,9% H und 16,6% Br.

Bei diesen Oktaederchen stimmt deshalb die Analyse auf Monobromdehydrocholsäure ohne Krystallflüssigkeit.

Wenn die Nadelchen Krystallflüssigkeit enthalten, die Oktaederchen aber nicht, dann muß beim Übergang der Oktaederchen in Nadelchen eine Gewichtsvermehrung stattfinden und umgekehrt, beim Übergang der Nadelchen in Oktaederchen eine Gewichtsverminderung. Um diese zu bestimmen, wurde wie folgt gearbeitet:

In einen Erlenmeyer-Kölbchen wurden gebracht  $18,8741 - 18,3816 = 0,4925$  g Nadelchen aus Aceton; diese wurden gelöst in 10 ccm heißem Alkohol; das Kölbchen wurde geschlossen mit einem eingeschliffenen Stöpsel, durch den zwei Röhren für die Zuführung von Kohlensäure und Abführung

von Kohlensäure und Alkoholdampf hindurchgingen. Das Kölbchen wurde in ein Becherglas mit Wasser von ungefähr 70° gestellt und nun Kohlensäure durchgeleitet. Als aller Alkohol verdampft war, wurde noch einige Zeit in kochendem Wasserbade erhitzt. Das Kölbchen wog nun 18,8545 g; es hatte also  $18,8741 - 18,8545 = 0,0196$  g an Gewicht abgenommen. Berechnet für  $\frac{1}{3}$  Mol. Aceton: 0,0190 g.

Es wurden nun 0,4590 g Oktaederchen gelöst in Aceton und diese Lösung wie oben im Kohlensäurestromer erhitzt. Das Gewicht vermehrte sich dann um 0,0202 g. Berechnet für  $\frac{1}{3}$  Mol. Aceton: 0,0185 g.

Ebenso wurden 0,5609 g aus Essigsäure umkrystallisierte Nadelchen in oben beschriebenen Kölbchen in Alkohol gelöst und die Lösung zur Trockne gedampft. Es verlor dann 0,0252 g an Gewicht. Berechnet für  $\frac{1}{2}$  Mol. Essigsäure: 0,033 g.

Das Mol.-Gewicht der Nadelchen aus Aceton wurde bestimmt nach der Methode von Barger.<sup>1)</sup> Es wurde dazu eine Lösung von 0,0480 g der Nadelchen (0,1 Milli-Mol. berechnet für ein Einzelmolekül) verglichen in bezug auf ihren Dampfdruck mit einer Lösung von 0,0138 g (0,1 Milli-Mol.) und mit einer Lösung von 0,0069 g (0,05 Milli-Mol.) Salizylsäure, jede in 2 g Aceton. Die Lösung der Bromdehydrocholsäure war isotonisch mit der Lösung von 0,1 Milli-Mol. Salizylsäure. In Acetonlösung befinden sich deshalb Einzelmoleküle der Bromdehydrocholsäure.

Die nicht ganz reine Bromdehydrocholsäure löst sich leicht in Aceton, auch in der Kälte. Die reine Substanz aber ist in den gewöhnlichen Lösungsmitteln (Aceton, Alkohol, Essigsäure, Benzol und Homologe, Chloroform, Äther, Petroläther) in der Kälte nur wenig löslich; am meisten in Aceton.

Die Löslichkeit in Aceton wurde bestimmt: Das reine Produkt wurde längere Zeit im Thermostaten bei 20° geschüttelt mit so wenig Aceton, daß nicht alles sich löste. Gleichgültig, ob wir von Nadelchen oder von Oktaederchen ausgingen, nach einiger Zeit bestand der Bodenkörper aus Nadelchen.

<sup>1)</sup> Ber., Bd. 37. S. 1754 (1904).

Nach dem Schütteln wird ein Teil der Lösung (nach Filtrieren durch einen vor der Pipette angebrachten Wattebausch) abpipettiert, schnell in ein Wägefläschchen gebracht, gewogen, das Aceton verdunstet und wieder gewogen.

So wurde gefunden:

Nach einigen Stunden Schütteln:

abpipettiert:  $14,3753 - 12,9833 = 1,3920$  g Lösung,  
nach dem Trocknen:  $13,0363 - 12,9833 = 0,0530$  g Substanz.

In  $1,3920 - 0,0530 = 1,3390$  g Aceton ist deshalb gelöst  $0,0530$  g Substanz. Die Löslichkeit ist also  $3,9\%$ .

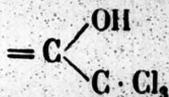
Nach 24 stündigem Schütteln:

abpipettiert:  $29,1550 - 26,2416 = 2,9134$  g Lösung,  
nach dem Trocknen:  $26,3454 - 26,2416 = 0,1038$  g Substanz.

In  $2,9134 - 0,1038 = 2,8096$  ist deshalb gelöst  $0,1038$  g Substanz. Die Löslichkeit ist also  $3,7\%$ .

Beim Umkrystallisieren der Bromdehydrocholsäure aus Benzol, Toluol oder Xylol entstehen stabförmige Krystalle (bis zu einigen Millimetern Größe), die an der Luft sofort verwittern.

Aus Chloroform entstehen glitzernde Blättchen mit einem Molekül Krystallchloroform. Diese Krystallflüssigkeit ist sehr fest gebunden; beim Erhitzen während einiger Zeit bei  $90-100^\circ$  im absolutem Vakuum einer Gae de-Pumpe fand keine nennenswerte Gewichtsverminderung statt. Man könnte hier an die Bildung eines Additionsproduktes denken, analog dem Acetonchloroform, indem die Carbonylgruppe verändert wird zu der Gruppe:



(Die Bildung würde dann aber ohne Lauge stattgefunden haben.) Man sollte dann erwarten, daß ebenso mit Blausäure ein Cyanhydrin entstände. Nun löst sich die Bromdehydrocholsäure sehr leicht in flüssiger Blausäure auch bei  $0^\circ$ . Beim Verdampfen der Lösung entstehen aber oktaederähnliche Kryställchen, die kein Cyan enthalten. (Durch Lösen des Esters der Bromdehydrocholsäure in Blausäure und Hinzufügen einer Spur Lauge wird ein cyanhaltiges Produkt gebildet.)

Ein wenig von der Bromdehydrocholsäure wurde in Aceton

gelöst und gekocht mit (nach Gladstone und Tribe) aktiviertem Zinkstaub. Nach ungefähr einer Stunde wurde die Lösung mit viel heißem Wasser verdünnt; es entsteht eine gallertartige Fällung, die sich beim Hinzufügen von Salzsäure löst. Beim Erkalten dieser Lösung scheidet sich ein Brei von Nadelchen ab, vom Schmelzpunkt  $230^{\circ}$ ; nach dem Umkrystallisieren aus Aceton + Petroläther ist der Schmelzpunkt  $235^{\circ}$ . Der Schmelzpunkt einer innigen Mischung des Reduktionsproduktes und der Dehydrocholsäure ist  $235^{\circ}$ . Bei der Reduktion wird deshalb das Brom sehr leicht resubstituiert durch Wasserstoff.

Hier mögen einige Besonderheiten der Darstellung der Bromdehydrocholsäure erwähnt werden. Die Cholsäure wurde dargestellt nach Langheld,<sup>1)</sup> dessen Methode bei Anwendung von Sommergalle gute Ausbeuten gab. Die Rohsäuren wurden mit dem doppelten Gewicht Alkohol und einem Überschuß alkoholischer Natronlauge einige Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Das cholsaure Natrium scheidet sich in Gestalt kleiner, schwach grünlich gefärbter Nadeln ab. Es wird heiß abgesaugt und mit siedendem Alkohol gewaschen. Das Salz wird gelöst in viel Wasser und die Lösung versetzt mit Salzsäure. Die so erhaltene Cholsäure wird getrocknet und ohne weitere Reinigung in Essigsäure gelöst. Die Lösung wird nach der Vorschrift von Hammarsten<sup>2)</sup> oxydiert mit einer Lösung von 200 g Chromsäure in 500 ccm Wasser + 500 ccm Essigsäure. Die Temperatur wird dabei unter  $40^{\circ}$  gehalten. Wenn genügend Chromsäure hinzugefügt ist, wird die Mischung mit sehr viel Wasser (oder mit 25%iger Kochsalzlösung) versetzt.

Nach 24 Stunden wird die ausgefällte Dehydrocholsäure, die bei der Oxydation entstanden ist, abgesaugt und ausgewaschen mit viel Wasser. Die noch feuchte Masse wird mit verdünnter Sodalösung gekocht und das ungelöst gebliebene Chromoxyhydrat abfiltriert. Aus dem gelbgefärbten Filtrat wird die Dehydrocholsäure durch Salzsäure gefällt; darauf abgesaugt, mit Wasser gewaschen und auf dem Wasserbade

<sup>1)</sup> Ber., Bd. 41, S. 378 (1908).

<sup>2)</sup> Ber., Bd. 14, S. 71 (1881).

getrocknet. Die trockene Masse wird portionenweise aus wenig Aceton umkrystallisiert. Man erhält dann sofort ganz reine Dehydrocholsäure vom Schmelzpunkt  $236^{\circ}$ .

Beim Bromieren dieser Dehydrocholsäure in Eisessiglösung nach der Vorschrift von Landsteiner (l. c.) wurde gefunden, daß die Reaktion sehr beschleunigt wird durch die Anwesenheit von Salzsäure oder Bromwasserstoffsäure. Dieser Befund steht in gutem Einklang mit dem Verlauf der Reaktion ohne Hinzufügen von Bromwasserstoffsäure. Die Reaktion geht dann zuerst sehr langsam, später (wenn sich Bromwasserstoff gebildet hat) viel schneller vor sich.

Der starke Einfluß der Bromwasserstoffsäure wird ersichtlich aus folgendem Versuch: 4 g Dehydrocholsäure wurden in Eisessig gelöst und eine äquivalente Menge Brom hinzugefügt und zugleich eine Lösung von 1,5 g Natriumacetat in Eisessig, wodurch etwa gebildeter Bromwasserstoff gebunden wird. Die in einer Stöpselflasche befindliche Lösung wird während einiger Tage dem Sonnenlicht ausgesetzt. Es hat keine merkbare Einwirkung stattgefunden.

Daß die Bromierung ein Substitutions-, kein Additionsvorgang ist, wurde beim Äthylester quantitativ gezeigt; 1,1180 g Äthylester der Dehydrocholsäure wurden in einem 100 ccm-Kölbchen in 10 ccm Eisessig + einem Tropfen Schwefelsäure (statt Bromwasserstoffsäure, um die Reaktion zu beschleunigen) gelöst. In einem zugeschmolzenen Röhrchen wurden 0,4140 g Brom abgewogen, dieses in das Kölbchen gebracht und, nach dem Schließen mit einem gläsernen Stöpsel, durch Schütteln zertrümmert. Nach 10 Minuten ist die Mischung entfärbt. Nun wird Wasser hinzugefügt, bis genau 100 ccm Flüssigkeit vorhanden sind. Nach starkem Schütteln wird filtriert und vom Filtrat 25 ccm abpipettiert. Zu diesen 25 ccm wurde Wasser, Salpetersäure und ein Überschuß Silbernitrat gefügt. Das gefällte Bromsilber wog 0,1224 g, entsprechend 0,052 g Brom. In der ganzen Menge Flüssigkeit ist deshalb  $4 \times 0,052 = 0,208$  g Brom. Es sind 0,414 g Brom hinzugefügt worden. Genau die Hälfte ist also in Bromwasserstoff übergegangen. Das Brom hat deshalb rein substituierend reagiert.

Auch das Licht hat einen großen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit. Beim Licht elektrischer Glühlämpchen findet die Reaktion, auch bei Gegenwart vieler Bromwasserstoffsäure, nur sehr langsam statt. Das Licht einer Bogenlampe oder einer Uviollampe beschleunigt die Reaktion sehr. Im Sommer, im direkten Sonnenlicht, verläuft die Reaktion nahezu momentan.

Zum Schluß gab folgende Darstellungsweise die besten Ausbeuten:

Eine bestimmte Menge Dehydrocholsäure wird in wenig Essigsäure + einige Tropfen 48%iger Bromwasserstoffsäure gelöst. Aus einer Pipette wird nun die berechnete Quantität Brom im direkten Sonnenlicht hinzugefügt; die Lösung wird dann sofort verdünnt mit viel Wasser. Die Fällung wird abgesaugt, getrocknet und einige Male aus Aceton oder Eisessig umkrystallisiert. Das Filtrat gibt nach 24 stündigem Stehen noch eine kleine Fällung von Nadelchen, die sofort den richtigen Schmelzpunkt ( $180^{\circ}$ ) zeigen.

Es wurde nun probiert, das Bromatom durch andere Elemente oder Gruppen zu substituieren. Es zeigte sich aber (wie auch schon Landsteiner, l. c. gefunden hat), daß Lauge stark zersetzend wirkt: die Lösung wird sofort gelb gefärbt, nach längerer Einwirkung braun. Kohlensaures Natrium, Ammoniak, Pyridin, Äthylamin haben dieselbe Wirkung wie Lauge.

Durch Ansäuern und Ausäthern der durch Lauge gelb gefärbten Lösung von Bromdehydrocholsäure wurde ein zähes Öl erhalten, das in vacuo (3 mm) nicht destilliert werden konnte.

Bei der Prüfung zeigte sich, daß das Brom durch die Lauge quantitativ aus dem Molekül entfernt wird. Ich habe deshalb manchmal bei der Brombestimmung die Kontrollanalyse gemacht durch Zersetzung mit Lauge (s. o.).

Es wurde der Äthylester der Bromdehydrocholsäure dargestellt auf 2 verschiedene Weisen: 1. durch Bromieren des Äthylesters der Dehydrocholsäure, 2. durch Esterifizieren der Bromdehydrocholsäure.

Sowohl der nach der ersten wie der nach der zweiten Darstellungsweise erhaltene Ester krystallisiert aus Alkohol in

oktaederähnlichen Krystallen. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Essigsäure konnte ich eine Mischung von Nadelchen und Oktaederchen erhalten vom Zersetzungspunkt  $190^{\circ}$ .

Eine innige Mischung der aus Alkohol umkrystallisierten Oktaederchen der ersten Darstellungsweise (Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$ ) mit aus Alkohol umkrystallisierten Oktaederchen der zweiten Darstellungsweise (Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$ ) fängt bei  $180^{\circ}$  an sich zu zersetzen, ein Beweis für die Identität der beiden Substanzen.

Brombestimmung des durch Bromieren des Äthylesters der Dehydrocholsäure erhaltenen Produktes:

0,2030 g Substanz gaben 0,0764 g AgBr.

Also: 16,0% Br.

Brombestimmung des durch Esterifizieren der Bromdehydrocholsäure erhaltenen Produktes:

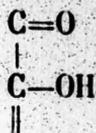
0,2323 g Substanz gaben 0,0850 g AgBr.

Also: 15,6% Br.

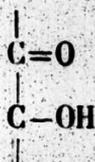
Berechnet für  $C_{26}H_{37}D_5Br$ : 15,7% Br.

Auch eine Lösung des Esters wird durch Lauge sofort gelb gefärbt, also zersetzt.

Wenn das Bromatom der Bromdehydrocholsäure in eine  $CH_2$ -Gruppe eingetreten ist, die mit einer Aldehydgruppe verbunden ist, so würde nach der Substitution des Broms durch OH eine Substanz gebildet worden sein mit der Kohlenhydrat-Gruppe:



Lösen wir ein wenig Bromdehydrocholsäure in Lauge und neutralisieren darauf die Lösung, dann schmeckt diese noch rein bitter; die Lösung reduziert aber beim Kochen sofort Fehlingsche Lösung und ammoniakalische Silberlösung, während diese Reagenzien auf Dehydrocholsäure nicht einwirken. Wenn das Produkt der Einwirkung der Lauge auf Bromdehydrocholsäure die Gruppe



enthält, so würde man erwarten, daß mit Phenylhydrazin ein Osazon gebildet wird. Auf verschiedene Weise wurde versucht, dieses Osazon krystallinisch zu erhalten. Es entstanden aber immer schwarze, amorphe Fällungen.

Es wurde weiter versucht, die Bromdehydrocholsäure zu kondensieren mit den Aldehydreagenzien Semicarbamid und Hydroxylamin. Es wurden dazu methylalkoholische Lösungen des Semicarbamids oder des salzsauren Semicarbamids (bezw. des Hydroxylamins oder des salzsauren Hydroxylamins) gemischt mit einer methylalkoholischen Lösung des Bromproduktes.

Beim Erwärmen aller dieser Mischungen aber wurden sie gelb bis rot und es konnte keine krystallinische Substanz isoliert werden.

Auch beim Bromieren des Trioxims der Dehydrocholsäure wurde kein krystallinisches Produkt erhalten.

Beim Erwärmen einer essigsauen Lösung von Dehydrocholsäure mit einer Lösung von salzsaurem Semicarbamid + Natriumacetat in Eisessig erstarrt die Masse zu einer dicken Gallerte. Diese Gallerte wurde im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet, darauf gepulvert, ausgekocht mit Wasser und auf einem Tonteller getrocknet. Die trockene Masse wurde in Eisessig gelöst und mit der berechneten Menge Brom versetzt; darauf viel Wasser hinzugefügt, filtriert und die Fällung aus Alkohol umkrystallisiert. Es entsteht dabei aber wieder eine nicht krystallinisch zu erhaltene Gallerte.

Statt mit Lauge, wurde noch versucht, das Brom zu entfernen mit Bleihydroxyd, mit Baryumcarbonat, mit Silberoxyd und mit Quecksilberoxyd. Es wurden aber keine krystallinischen Körper erhalten.

### Zusammenfassung.

Bei den Versuchen zur völligen Bromierung der Cholsäure wurde eine braune, amorphe Masse erhalten; diese wird durch Lauge zersetzt und verliert dabei einen Teil des Broms. Bei der Reduktion mit Zinkstaub + alkoholischer Salzsäure oder mit Aluminiumamalgam wird nicht alles Brom entfernt.

Beim Bromieren in Essigsäure wurde gezeigt, daß die Reaktion beschleunigt wird durch Sonnenlicht und Wasserstoffionen (durch Natriumacetat wird die Bromierung verhindert). Es wurde gezeigt, daß die Bromierung ein Substitutionsvorgang ist.

Das Bromierungsprodukt kann nicht gereinigt werden durch Umkrystallisieren aus Alkohol. Es wird aber rein erhalten durch Umkrystallisieren aus Essigsäure oder aus Aceton; es krystallisiert daraus in Nadelchen vom Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$  und enthält, je nachdem aus Essigsäure oder aus Aceton umkrystallisiert worden ist,  $\frac{1}{2}$  Mol. Essigsäure oder  $\frac{1}{3}$  Mol. Aceton.

Beim Umkrystallisieren dieser Nadelchen vom Schmelzpunkt  $180^{\circ}$  entstehen obtaederähnliche Krystalle vom Zersetzungspunkt  $+140^{\circ}$ . Diese enthalten keine Krystallflüssigkeit. Beim Umkrystallisieren aus Aceton oder Eisessig entstehen wieder Nadelchen vom Zersetzungspunkt  $180^{\circ}$ .

Beim Umkrystallisieren der Bromdehydrocholsäure aus Benzol, Toluol oder Xylol entstehen Stäbchen mit Krystallflüssigkeit, die an der Luft sofort verwittern.

Beim Umkrystallisieren aus Chloroform entstehen glitzernde Blättchen, die Chloroform enthalten. Dieses Chloroform entweicht nicht beim Erhitzen auf  $100^{\circ}$  im absoluten Vakuum.

Die Löslichkeit der Bromdehydrocholsäure in Aceton wurde bestimmt.

Der Äthylester der Bromdehydrocholsäure wurde dargestellt durch Bromieren des Äthylesters der Dehydrocholsäure und durch Esterifizieren der Bromdehydrocholsäure.

Durch Einwirkung von Lauge oder von alkalisch reagierenden Flüssigkeiten wird aus der Bromdehydrocholsäure oder aus dem Äthylester das Brom quantitativ entfernt.

Während siedende Fehlingsche Lösung oder ammoniakalische Silberlösung auf Dehydrocholsäure nicht einwirkt, wird Bromdehydrocholsäure sofort oxydiert.

Beim Reduzieren der Bromdehydrocholsäure mit Zinkstaub oder mit Magnesium entsteht Dehydrocholsäure.