

Ueber Desoxycholsäure.

Von

Dr. Ernst Vahlen,

Privatdocenten und Assistenten am pharmakologischen Institut in Halle a. S.

(Der Redaction zugegangen am 9. Februar 1897.)

Durch Oxydation der rohen Cholsäure sowohl mit Chamäleon als mit Chromsäuremischung hat man¹⁾ zwei Säuren erhalten von der Zusammensetzung C_{24} oder $C_{25}H_{34}O_8$, der Biliansäure und Cholansäure. Es zeigte sich nun, dass die unter ganz gleichen Bedingungen ausgeführte Oxydation zu verschiedenen relativen Ausbeuten an diesen beiden Säuren führte. Dies veranlasste Latschinoff²⁾, die rohe Cholsäure, an deren einheitlicher Beschaffenheit seit Strecker niemand gezweifelt hatte, nach dieser Richtung einer erneuten Prüfung zu unterwerfen. Er gelangte dabei zu dem überraschenden Resultat, dass derselben in der That stets, in wechselnder Menge, eine ihr sehr nahe stehende Säure beigemischt ist, deren Analyse die empirische Zusammensetzung $C_{25}H_{42}O_4$ ergab. Diese ging bei der Oxydation in eine Säure von der Zusammensetzung $C_{25}H_{34}O_8$ über, welche sich als identisch mit der oben erwähnten Cholansäure erwies. Andererseits erhielt Latschinoff durch Oxydation von Cholsäure, die sicher von jeder Verunreinigung mit Choleinsäure befreit war, nur Biliansäure, der also, wenn man für die Cholsäure die Strecker'sche Zusammensetzung annimmt, die Formel $C_{24}H_{34}O_8$ zukommt.

Mylius³⁾, welcher sich zu seinen Studien über Cholsäure gefaulter Ochsen-galle bediente, fand in einem Falle, welcher eine besonders geringe Ausbeute an dieser Säure

¹⁾ Cleve, Bulletin soc. chim., XXXV und XXXVIII.

²⁾ Ber. d. dtsh. chem. Gesell., XVIII, 3039.

³⁾ Ber. d. dtsh. chem. Gesell., XIX, 374.

ergab, in der durch Eisessig ausgeschiedenen Krystallmasse neben Choleinsäure eine zweite ihr sehr ähnliche Säure. Diese zeigte aus Eisessig unkrystallisirt einen Schmelzpunkt von 160–170°, während die Choleinsäure bei 187° schmilzt. Die Analyse der bei 120° getrockneten Substanz ergab die Zusammensetzung von 73,32% C und 10,39% H, während die Choleinsäure 73,89% C und 10,34% H verlangt. Das aus Alkohol krystallisirte Barytsalz ergab 62,68% C, 8,67% H und 16,66% Ba, während choleinsaurer Baryt verlangt: 63,35% C, 8,66% H und 14,47% Ba. Diese neue Säure, deren Analysenwerthe am nächsten durch die Formel $C_{24}H_{40}O_4$ ausgedrückt werden, betrachtete Mylius als eine Cholsäure, die durch Reduction infolge der Fäulniss ein Atom Sauerstoff verloren hat, etwa analog der Aepfelsäure, welche durch Fäulniss zu Bernsteinsäure reducirt wird. Diese Vermuthung des Zusammenhanges seiner neuen Säure, die er Desoxycholsäure nannte, mit der Cholsäure bestätigte er durch den Versuch, indem er 12 gr. Cholsäure als Natronsalz in Wasser gelöst und mit zerhacktem Rinderpankreas vermischt faulen liess und dann aus dem Reactionsprodukt seine neue Säure, allerdings nur in so geringer Menge isoliren konnte, um gerade eine Elementaranalyse damit auszuführen, deren Werthe so ziemlich mit den theoretisch veranlagten übereinstimmten.

Gegenüber diesen Angaben von Mylius behauptete Latschinoff¹⁾, dass die Desoxycholsäure identisch sei mit seiner Choleinsäure. Es gelang ihm, aus gefaulter Ochsgalle eine Säure zu isoliren, die zunächst alle von Mylius angegebenen Eigenschaften der Desoxycholsäure zeigte. Sie schmolz bei 160–170° und ihre Analyse ergab die erwarteten Werthe von 73,43% C und 10,45% H. Sie krystallisirte zunächst aus Alkohol nicht, während die Choleinsäure doch so leicht in schönen Krystallen aus diesem Lösungsmittel zu erhalten ist. Um sich völlig von der Richtigkeit der Mylius'schen Angaben zu überzeugen, bediente er sich der Oxydation. Hammarsten hatte gezeigt, dass man durch Oxydation der Cholsäure in

¹⁾ Ber. d. dtsh. chem. Gesell., XX, 1042.

eisessigsaurer Lösung mit Chromsäure eine Säure von der Zusammensetzung $C_{24}H_{34}O_5$, die er Dehydrocholsäure nannte, erhält. Die Choleinsäure dagegen, wie Latschinoff später fand, geht, in gleicher Weise behandelt, in eine der Dehydrocholsäure analoge Säure von der Zusammensetzung $C_{25}H_{34}O_4$ über, die er Dehydrocholeinsäure nannte. War also die neue Säure von Mylius mit Choleinsäure identisch, so müsste sie bei Oxydation mit Chromsäure Dehydrocholeinsäure geben, im anderen Falle, wenn sie ein Reductionsprodukt der Cholsäure war, Dehydrocholsäure. Latschinoff erhielt nun aus der eben beschriebenen Säure Dehydrocholeinsäure. Bei weiterer Oxydation erhielt er dementsprechend auch Cholansäure statt Biliausäure. Somit schien die Angabe von Mylius, es handle sich in seiner Desoxycholsäure um eine von der Choleinsäure verschiedene Substanz, widerlegt. Immerhin zeigte sie so offenkundige Unterschiede von der gewöhnlichen Choleinsäure sowohl in Betreff des Schmelzpunktes wie der elementaren Zusammensetzung, dass eine weitere Aufklärung nöthig war. Auch diese suchte Latschinoff zu geben. Er bemühte sich, durch verschiedene Versuche zu zeigen, dass die Desoxycholsäure nichts anderes als Choleinsäure mit $1\frac{1}{2}$ Molekül Krystallwasser sei und glaubte in dem Eisessig ein Mittel gefunden zu haben, durch das die gewöhnliche wasserfreie Choleinsäure in wasserhaltige übergeführt werden könne. Der Versuch, aus reiner Cholsäure direct Choleinsäure darzustellen, wurde dagegen nicht gemacht. Die Ausführungen Latschinoffs, welche in der That den Eindruck machen, als ob die von ihm für Desoxycholsäure gehaltene Substanz kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von Choleinsäure mit etwas Anderem gewesen wäre, konnten Mylius nicht veranlassen, seine Meinung aufzugeben. Aber selbst wenn die Angaben Latschinoff's richtig sind, so ist damit die Angelegenheit nicht erledigt. Denn da Mylius angibt, dass er aus reiner Cholsäure bei längerem Faulenlassen Desoxycholsäure erhalten hat, von der Latschinoff behauptet, dass sie identisch mit Choleinsäure sei, so müsste diese ein Reductionsproduct der Cholsäure sein, was ihrer elementaren Zusammensetzung nach wohl möglich

wäre, falls man auf den Streit, ob 24 oder 25 Atome Kohlenstoff im Moleküle enthalten sind, da dies durch die Analyse doch nicht absolut sicher festgestellt werden kann, kein besonderes Gewicht legt. Dann aber ist es völlig unverständlich, dass die eine Substanz als successive Oxydationsproducte mit Dehydrocholsäure und Biliansäure, die andere aber nur Dehydrocholeinsäure und Cholansäure liefern sollte, und es bedürfte diese Frage erst recht eines erneuten Studiums.

Bei einer früheren Beschäftigung mit der Cholsäure und Choleinsäure¹⁾ glaubte ich aus gefaulter Ochsen-galle eine Substanz isolirt zu haben, die in Bezug auf Löslichkeit und Schmelz-punct von Latschinoff's Choleinsäure verschieden war, aber mit Mylius' Desoxycholsäure identisch sein konnte. In der Hoffnung, rascher damit zum Ziele zu gelangen, als die wider Erwarten sich einstellenden Schwierigkeiten es schliesslich gestatteten, entschloss ich mich, mich eingehender mit der Sache zu beschäftigen, um den unentschieden gebliebenen Streit zu erledigen und zu dem an sich in noch so viel Dunkel gehüllten Chemismus einer in physiologischer Hinsicht so wichtigen Substanz wie der Cholsäure einen vielleicht nützlichen Beitrag zu liefern.

Bevor ich zur Beschreibung meiner eigenen Versuche über-gehe, will ich noch kurz darauf hinweisen, dass Mylius von seiner Desoxycholsäure als Hauptcharakteristika, durch die sie sich von ihrer Muttersubstanz, der Cholsäure, unterscheiden soll: 1. die geringere Löslichkeit in Eisessig, 2. die Eigen-schaft, dass die Lösung ihrer Alkalisalze in Wasser durch 10procentige Natronlauge in öligen Tropfen gefällt wird, und 3. angibt, dass ihr Barytsalz dadurch gewonnen werden kann, dass man eine Lösung der Säure in Ammoniak mit einer Lösung von Chlorbaryum fällt, während das Barytsalz der Cholsäure, das in Wasser leicht löslich ist, auf diese Weise erst bei sehr starker Concentration und beim Erwärmen der Lösung zu erhalten ist. Aber während man sich leicht davon überzeugen kann, dass die Cholsäure nicht diese für die Des-

¹⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie, XXI. 253.

Desoxycholsäure charakteristischen Eigenschaften besitzt, findet sich nichts darüber angegeben; inwiefern diese die neue Säure von der Choleinsäure zu unterscheiden vermögen. Ich hatte mir diese letztere in reinem Zustande dargestellt. Es zeigte sich, dass ihre Löslichkeit in Eisessig sehr gering ist. Vermischt man eine Lösung ihres Natronsalzes in Wasser mit 10procentiger Natronlauge, so scheidet sich das choleinsäure Natron in Form von zarten Nadeln aus. Löst man die freie Säure in Ammoniak und fällt mit Chlorbaryum, so erhält man sofort einen Niederschlag, der aus feinen Nadeln besteht oder sehr bald in ein Haufenwerk von solchen sich umwandelt. Man sieht also, wie viel Aehnlichkeiten die Choleinsäure und Desoxycholsäure gemein haben. Mylius gibt an, dass die Desoxycholsäure aus Alkohol schwer krystallisirt, während die Choleinsäure, die in demselben Lösungsmittel in der Kälte schwer löslich ist, aus einer heiss gesättigten alkoholischen Lösung sich sofort in einem Haufenwerk von Nadeln ausscheidet. In der That hatte ich aus der Mutterlauge dieser letzteren eine Säure erhalten, die aus Aether krystallisirt, bei 153—155° schmolz. Mylius gibt von seiner Desoxycholsäure an, dass sie bei 160—170° schmilzt.

Ich benutzte zur Darstellung der Desoxycholsäure gefaulte Rindergalle und zwar liess ich anfangs nach dem Vorgange von Mylius mehrere Liter davon unter Zusatz von zerhacktem Rinderpankreas faulen. Es zeigte sich bald, dass die Intensität der Fäulniss von erheblichem Einfluss ist. Bei sehr langer Dauer derselben erhielt man beim Abscheiden der rohen Säuren diese überhaupt nicht mehr, wie gewöhnlich, in Form zäher, klebriger Massen, die beim längeren Liegen unter Wasser krystallinisch werden, sondern es bildet sich ein zähflüssiger, schmieriger Brei, der sich zum weitaus grössten Theil in Wasser zu einer trüben Flüssigkeit auflöste. In solchen Fällen gelang es dementsprechend auch nicht, weder Cholsäure, noch Choleinsäure, noch Desoxycholsäure daraus zu isoliren. Ich glaubte, dass an dieser offenbar zu weit gegangenen Fäulniss das Pankreas schuld wäre, und liess es deshalb bei späteren Versuchen ganz weg. In einem Falle, der eine hinreichende Ausbeute an den gewünschten Substanzen ergab, liess ich 4 Liter Galle

6½ Monate, und zwar vom September bis März, ohne Pankreas bei Luftzutritt faulen. Darauf wurde die Galle mit Thierkohle zur Trockne verdampft und der Rückstand mit starkem Alkohol erschöpft. Von der Lösung wurde der Alkohol abdestillirt und der Rückstand in Wasser aufgelöst. Darauf wurden durch Salzsäure die Säuren frei gemacht, welche als zähe, um den Glasstab sich windende Massen abschieden, die nach einiger Zeit krystallinische Beschaffenheit annahmen. Nun wurden sie in Ammoniak gelöst und mit Chlorbaryum gefällt. Hierbei mussten die Barytsalze der Fettsäuren, der Choleins- und der Desoxycholsäure, ausfallen, cholsaurer Baryt dagegen in Lösung bleiben. Die ausgeschiedenen Barytsalze wurden in Alkohol gebracht, der nur die fettsauren Barytsalze ungelöst zurücklässt. Von dieser Lösung wurde der Alkohol abdestillirt und die sich ausscheidenden Barytsalze mit Soda zerlegt, vom kohlensauren Baryt abfiltrirt und im Filtrat die Säuren mit Salzsäure gefällt. Darauf wurden sie wiederum in Ammoniak gelöst und mit Chlorbaryum gefällt. Hierbei bildete sich eine reichliche Ausscheidung von langen Nadeln, die in einer amorphen Masse staken. Die Analyse dieses Niederschlages hätte eine Entscheidung, ob es sich nur um choleinsäuren Baryt oder um ein Gemenge dieses mit desoxycholsäurem Baryt handelte, nicht bringen können. Denn der Barytgehalt beider unterscheidet sich zu wenig von einander. Choleinsäurer Baryt verlangt 14,46% Ba, desoxycholsäurer Baryt 14,91% Ba. Es wurde deshalb dieses Barytsalz abermals mit Soda zerlegt und im Filtrat die freie Säure mit Salzsäure gefällt. Darauf wurde sie in heissem Eisessig gelöst. Beim Abkühlen schieden sich Prismen aus, die abgesogen und mehrmals aus Eisessig umkrystallisirt wurden. Sie erwiesen sich als aus Choleinsäure bestehend. Aber aus der Mutterlauge derselben schieden sich nach längerem Stehen Krystalle in zarten Prismen aus, welche getrocknet bei 152—160° schmolzen. Mylius hat für seine Desoxycholsäure den Schmelzpunkt 160—170° angegeben. Ich selbst hatte früher¹⁾ für die aus Aether krystallisirte Substanz, die aber auch noch nicht

¹⁾ L. c. S. 272.

ganz rein war, 150—160° gefunden. Ich wiederholte jetzt das Umkrystallisiren aus Eisessig mehrmals, bis ich eine Substanz erhielt, die, im Kapillarröhrchen erhitzt, bei 140° weich zu werden begann und bei 145° vollkommen geschmolzen war. Dieser Schmelzpunkt änderte sich auch nach weiterem Umkrystallisiren aus Eisessig nicht mehr und blieb derselbe, ob die Substanz lufttrocken, oder längere Zeit im Exsiccator über Schwefelsäure gelassen, oder im Luftbade bei 100—110° erhitzt worden war. Die Choleinsäure verhält sich bekanntlich ganz anders, wie schon Latschinoff angegeben hat und ich mich express zum Vergleich noch einmal überzeugt habe. Löst man gewöhnliche Choleinsäure (wasserfreie Latschinoff's), die aus Alkohol in Prismen krystallisirt, die bei 185—187° schmelzen, in Eisessig, in dem sie, namentlich in der Kälte, sehr viel schwerer löslich ist, als Desoxycholsäure, unter Anwendung von Wärme, so krystallisirt sie beim Erkalten in zarten Prismen aus, die, an der Luft getrocknet, folgendes Verhalten bezüglich des Schmelzpunktes zeigen. Bei 150° sintert die Substanz zusammen in Folge von Verdampfung von Krystallisationsessigsäure, von der sie, wie Latschinoff gezeigt hat, 1 Molekül enthält, bei 171° wird sie weich und bei 185°, dem Schmelzpunkt der wasserfreien Säure, ist sie vollkommen geschmolzen.

Die Elementaranalyse der übrigens schwer verbrennlichen Substanz gab folgende Werthe:

1. 0,1317 gr. gaben 0,3521 CO₂ = 72,92 % C
und 0,1339 H₂O = 11,28 % H.
2. 0,1437 gr. gaben 0,3861 CO₂ = 73,28 % C
und 0,1523 H₂O = 11,62 % H.

Die Desoxycholsäure von Mylius verlangt 73,43 % C und 10,45 % H, die Choleinsäure 73,89 % C und 10,34 % H. Für das aus der wässrigen Lösung abgeschiedene und bei 120° getrocknete Barytsalz wurden folgende Zahlen für den Barytgehalt gefunden:

1. 0,1109 gaben 0,0209 Ba CO₃ 13,11 % Ba
2. 0,1663 " 0,0324 Ba CO₃ 13,52 % Ba
3. 0,1813 0,0348 Ba CO₃ 13,35 % Ba

Dieses Barytsalz konnte nicht choleinsaurer Baryt sein, denn dieses verlangt 14,46 % Ba. Allerdings weichen meine

Barytbestimmungen auch von dem für das desoxycholsaure Barium angegebenen Werth von 14,91% Ba ab. Ich nehme an, dass mein Barytsalz das oxycholsaure Barium mit 4 Molekülen Krystallwasser darstellt, das auch beim Erhitzen auf 120° nicht entfernt werden kann. Dieser Annahme würden 13,82% Ba entsprechen. Als ich versuchte, durch Erhitzen auf 150° das Krystallwasser zu entfernen, zeigte es sich, dass bei dieser Temperatur die Substanz selbst sich zu zersetzen anfängt.

Obwohl ich die Ergebnisse meiner bisherigen Experimente für hinreichend halte, um darzuthun, dass in der gefaulten Rindergalle eine Substanz enthalten ist, die der Cholsäure und der Choleinsäure sehr nahe steht, aber nicht mit ihnen identisch ist, so erforderte doch die Frage nach den Beziehungen dieser neuen Säure zur Cholsäure weitere Versuche. Da es mit grosser Schwierigkeit verbunden ist, die Desoxycholsäure aus gefaulter Galle zu gewinnen und namentlich von der Choleinsäure, mit der sie so viele Aehnlichkeit hat, sicher zu trennen, dachte ich daran, sie durch Reduction mit rein chemischen Mitteln aus einer von etwaigen Beimengungen von Choleinsäure sicher befreiten Cholsäure darzustellen. Ich entschloss mich um so lieber dazu, da man bisher bei dem Studium der Cholsäure hauptsächlich oxydirende Mittel auf sie hat einwirken lassen und, wo man sie mit reducirenden Mitteln angriff, dieselben sofort in so energischer Weise in Anwendung brachte, dass das ganze Molekül dabei in Stücke ging. Ich bediente mich der Reduction mit Zinkpulver. Nachdem ich mir Cholsäure durch Verseifen von Ochsegalle mit Natronlauge dargestellt hatte und dann durch Auflösen in Ammoniak und Fällen mit Chlorbaryum von Choleinsäure befreit hatte, löste ich sie in kochendem Eisessig und fügte Zinkstaub hinzu. Darauf wurde sie auf kleiner Flamme mehrere Stunden am Rückflusskühler erwärmt. Erhitzt man zu stark, so wird sehr rasch die gesammte Cholsäure in einer Weise verändert, dass aus der verdünnten und neutralisirten Lösung auf Zusatz von Salzsäure überhaupt keine Fällung mehr entsteht. Andererseits geht die Reaction auf dem Wasserbade nur äusserst langsam

vor sich. Nach mehreren Stunden filtrirt man die eisessigsäure Lösung vom übriggebliebenen Zinkpulver ab und verdünnt mit dem mehrfachen Volumen Wasser. Dabei scheidet sich die Cholsäure sofort in der bekannten harzartigen Weise aus. Nun wurde sie nach wiederholtem Auswaschen in Ammoniak gelöst und mit Chlorbaryum gefällt. Es entsteht sofort ein Niederschlag oder eine reichliche milchige Trübung, die sich nach einiger Zeit als amorpher Niederschlag absetzt. Dieser ist das Barytsalz einer durch Reduction aus der Cholsäure entstandenen Säure. Aus dem Filtrat kann man mittelst Salzsäure die unverändert gebliebene Cholsäure ausscheiden und einer abermaligen Reduction mit Zink und Eisessig unterwerfen. Das Barytsalz des Reductionsproductes, wie es in der eben beschriebenen Weise erhalten wird, ist im Gegensatz zu dem auf dieselbe Weise fällbaren Barytsalz der Choleinsäure, das, falls sie rein oder wenigstens frei von Fettsäuren ist, in langen dünnen Nadeln krystallisirt ist, amorph. Nur wenn die Säure vollständig gereinigt ist, wandelt sich dieser anfangs amorphe Niederschlag des Barytsalzes allmählich in mehr oder wenig deutliche, aber stets nur mit dem Mikroskop wahrnehmbare Nadeln um. Dieses Barytsalz ergab, bei 100–120° getrocknet, folgenden Ba-Gehalt:

1.	0.3097	gaben	0.0692	Ba SO ₄	13.13 % Ba.
2.	0.2908	"	0.0684	Ba SO ₄	13.88 % Ba.
3.	0.2608	"	0.0502	Ba CO ₃	= 13.39 % Ba.

Diese Werthe stimmen sehr gut mit denen des aus gaulther Galle isolirten Barytsalzes überein. Es wurde mit Soda zerlegt und im Filtrat die freie Säure durch Salzsäure gefällt. Nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus Eisessig schmolz sie bei 140–145°. Ihre Elementaranalyse ergab folgende Werthe:

0.1376	gaben	0.3678	CO ₂	=	72.79 % C
		und	0.1394	H ₂ O	= 11.25 % H.

Dieselbe Substanz kann man durch Reduction der Cholsäure mittelst Zinkstaub in alkalischer Lösung erhalten. Man löst Cholsäure in Ammoniak, fügt Zinkpulver hinzu und lässt es einige Tage bei Zimmertemperatur einwirken. Darauf filtrirt

man und fällt sofort mit Chlorbaryum. Das Zink wirkt auf Cholsäure in alkalischer Lösung sehr viel energischer reduciend als in essigsaurer. Daher darf man die alkalische Lösung nicht erwärmen, denn selbst mässiges Erhitzen auf dem Wasserbade führt die Reaction sehr bald so weit, dass in der von überschüssigen Zinkpulver abfiltrirten Flüssigkeit keine harzige Fällungen mehr mit Salzsäure zu bekommen sind.

Die genaue Zusammensetzung der freien Säure, namentlich in Rücksicht auf die ihr so nahe stehende Choleinsäure, hoffe ich demnächst durch eine grössere Anzahl von Analysen als ich sie hier gegeben habe, feststellen zu können. Zugleich werde ich mich durch Oxydationsversuche überzeugen, ob meine Desoxycholsäure wirklich, wie ich erwarte, in Dehydrocholsäure und Biliansäure übergeht, nicht wie die Choleinsäure in Dehydrocholeinsäure und Cholansäure.