

Synthese der Glykocholsäure und Taurocholsäure.

Von

S. Bondi und Ernst Müller.

(Mitteilung aus dem chemischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. März 1906.)

Das wichtige Problem der synthetischen Darstellung von Substanzen, welche sich der tierische Körper für seine physiologischen Zwecke aufbaut, konnte bisher für die Glykocholsäure und Taurocholsäure nicht gelöst werden. Eine Reihe von Versuchen in dieser Richtung ist in der Literatur beschrieben worden.

Das Amid der Cholalsäure wurde im Jahre 1878 von Hüfner¹⁾ dargestellt, in der Erwartung, «daß mit Hilfe des Cholamids auch einmal die Synthese der Glykocholsäure außerhalb des Organismus gelingen werde.» Über eine spätere Ausführung dieses Planes ist nichts mehr berichtet.

Lang²⁾ erhitzte äquivalente Mengen von Cholalsäure und Glykokoll im zugeschmolzenen Rohre 12 Stunden auf 200° und erhielt dabei nur «Glykodyslysin.»

S. Tauber³⁾ hat in jüngerer Zeit ein Gemenge von Taurin und cholalsaurem Natron im offenen Tiegel einer Temperatur von 265° ausgesetzt. Aus dem Reaktionsprodukte ließ sich eine Substanz extrahieren, welche in amorphem Zustande analysiert wurde, und von der es der Verfasser selbst offen läßt, ob es sich dabei um Taurocholsäure handelt.

Unter der Leitung von Herrn Geheimrat Curtius haben wir im Heidelberger Universitätslaboratorium das Azid der Cholalsäure dargestellt und konnten dieses nach dem Verfahren von Curtius zur Darstellung der azidilierten Polyglycylverbindungen leicht

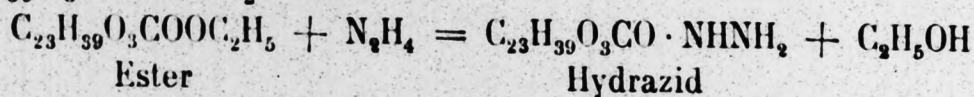
¹⁾ Hüfner, Journal f. pr. Chemie [2], Bd. XIX, S. 307.

²⁾ Johann Lang, Beiträge zur Kenntnis der Zersetzungsprodukte der Gallensäuren. Maly's Jahresbericht für Tierchemie, Bd. VI, 1876, S. 73.

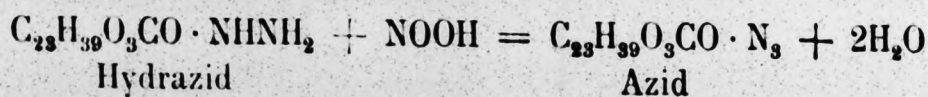
³⁾ Siegfried Tauber, Hofmeister's Beiträge, Bd. IV, S. 323.

mit Glykokoll in Glykocholsäure, mit Taurin in Taurocholsäure überführen.

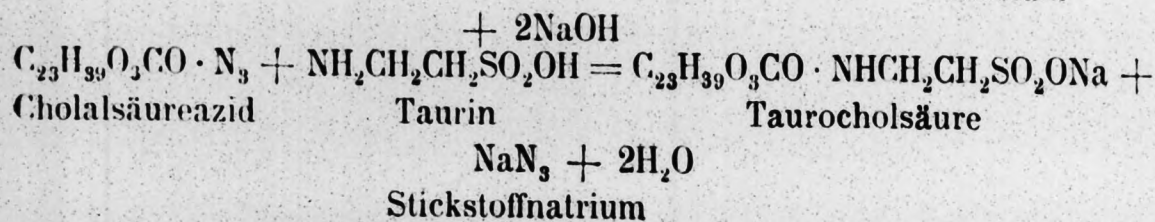
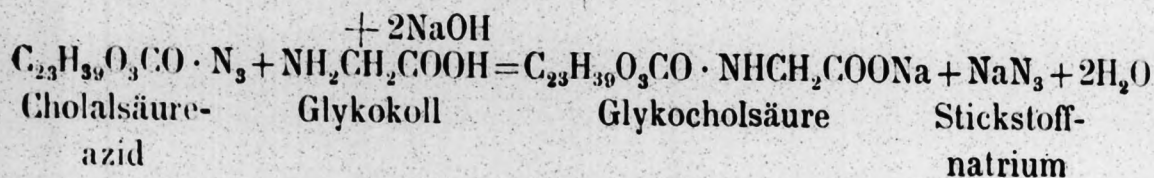
Daß die Cholalsäure wirklich nur ein Carboxyl enthält, wird dadurch bestätigt, daß ihr Ester bei der Einwirkung von Hydrazinhydrat nur ein wohlcharakterisiertes Monohydrazid $C_{23}H_{39}O_3CONHNH_2$ liefert.



Durch Einwirkung von salpetriger Säure geht dasselbe in das Cholalazid $C_{23}H_{39}O_3CON_3$ über:



Dieses Azid vereinigt sich in der weiter unten beschriebenen Weise in alkalischer Lösung unter Abspaltung von Stickstoffalkali mit Glykokoll resp. Taurin unter Bildung von glykocholsaurem oder taurocholsaurem Salz, aus welchem beiden durch Einwirkung von Salzsäure die Glyko- und Taurocholsäure abgeschieden werden kann. Die beiden auf diesem Wege synthetisch erhaltenen Säuren erwiesen sich vollkommen identisch mit den im Organismus vorkommenden.



Bei den Elementaranalysen der Derivate der Cholalsäure wurde beobachtet, daß die Substanzen nur in einem sehr langen Verbrennungsofen bei sehr langsam geleiteter Operation mit Kupferoxyd vollständig verbrannt werden können. Arbeitet man zu schnell, so bilden sich beträchtliche Mengen von Kohlenoxyd, welche den Kohlenstoffgehalt vermindern, den volumetrisch gefundenen Stickstoffgehalt zu groß erscheinen lassen. Wir haben das bei der Verbrennung reiner Cholalsäure mit Kupferoxyd entstehende, über Kalilauge aufgefangene Gas mit alkalischer Kupferchlorürlösung als reines Kohlenoxyd bestimmen können.

Darstellung von Cholalsäure.

Wir haben zu unseren ersten Versuchen eine Cholalsäure vom Schmelzpunkt 194° benutzt, welche der eine von uns (Bondi) nach den Angaben von Mylius¹⁾ in größeren Mengen dargestellt hatte. Bei der Herstellung weiterer Mengen von Cholalsäure fand der andere von uns (E. Müller), daß reine Cholalsäure vom bisher noch nicht beobachteten konstanten Schmelzpunkt von 198° durch folgende Modifizierung und zur Darstellung des Rohproduktes wesentliche Vereinfachung des Mylius'schen Verfahrens gewonnen werden kann. Darstellung: 5 kg Rindergalle wird unmittelbar nach der Entnahme aus dem Körper mit 1 kg 30%iger Natronlauge versetzt und 30 Stunden lang in einem gußeisernen Topf auf freier Flamme unter Rückflußkühlung gekocht. Hierauf werden 5 l kaltes Wasser zugesetzt und zu der 50° warmen Flüssigkeit sofort konzentrierte Salzsäure zugefügt, bis kein Niederschlag mehr ausfällt. Die teigartig ausfallende, rohe, noch blaugrün gefärbte Cholalsäure ballt sich zu einem Klumpen zusammen, der aus der Flüssigkeit genommen und, um überschüssige Salzsäure zu entfernen, mit kaltem Wasser wiederholt durchgeknetet wird. Die abgepreßte Masse wird auf dem Wasserbad erhitzt, dabei schmilzt sie und erstarrt nach dem Verdampfen des Wasserrestes zu einem harten Kuchen, der sich leicht pulverisieren läßt. Die zerkleinerte Säure wird in 4 l verdünnten Ammoniakwassers gelöst, $\frac{1}{2}$ Stunde mit Tierkohle gekocht, filtriert, mit überschüssiger Chlorbaryumlösung versetzt und 1 l gewöhnlicher Alkohol zugesetzt. Die Lösung des Baryumsalzes der Cholsäure wird von dem Rückstand abfiltriert, auf 1 l 4 l Wasser zugefügt und mit Salzsäure versetzt. Die Cholalsäure fällt nunmehr fast farblos krystallinisch aus. Sie wird abfiltriert, auf dem Wasserbad getrocknet und aus möglichst wenig heißem absolutem Alkohol umkrystallisiert. Die so erhaltene Cholalsäure zeigt den bekannten Schmelzpunkt von 194° . Sie ist genügend rein, um aus ihr die reinen Verbindungen, den Ester, das Hydrazid und Azid darzustellen.

¹⁾ Mylius, Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 263.

Wirklich analysenreine Cholalsäure gewinnt man durch nochmaliges 4stündiges Kochen des wie oben erhaltenen Produktes vom Schmelzpunkt 194° mit reiner 10%iger Natronlauge. Aus der erkalteten Flüssigkeit wird nun, wie oben angegeben, mit Salzsäure reine farblose krystallinische Cholalsäure vom Schmelzpunkt 198° ausgefällt. Durch Umkrystallisieren aus Alkohol ändert sich der Schmelzpunkt nicht weiter.

Cholalsäure-Äthylester $C_{23}H_{39}O_3COOC_2H_5$.

Cholalsäureäthylester kann man nach dem folgenden modifizierten Verfahren Hüfner's¹⁾ bequem in reinem Zustande darstellen.

20 g fein gepulverte Cholalsäure vom Schmelzpunkt 194° wird mit 150 ccm absolutem Alkohol übergossen und ohne zu kühlen ein nicht zu langsamer Strom trockener Salzsäure eingeleitet. Nach etwa 15 Minuten ist alles gelöst. Sodann wird auf dem Wasserbad kurz aufgeköcht und mit 300 ccm kaltem Alkohol versetzt. In diese Flüssigkeit werden 2 l stark verdünnter Sodalösung gegossen. Die trüb gewordene Lösung scheidet nach einigen Stunden den Ester in Nadeln ab. Nach 24stündigem Stehen erfüllt der Ester als voluminöse Masse den ganzen Kolben. Man saugt ab und wäscht mit Wasser aus, trocknet an der Luft und krystallisiert aus 5 Teilen Essigester um. Schmierige Produkte entstehen bei dieser Darstellungsweise gar nicht.

Erhalten 18,0 g, entsprechend 93,5% der Theorie. Der so erhaltene Ester schmilzt bei 162° ; Tappeiner²⁾ fand 140 bis 152° ; Schotten³⁾ den Schmelzpunkt bei 158° .

Cholalsäureäthylester krystallisiert in feinen verfilzten Nadeln vom Schmelzpunkt 162° . Er ist schon bei Zimmertemperatur in Alkohol oder Chloroform löslich. In der Hitze löst er sich leicht in Essigester, Benzol und Tetrachlorkohlenstoff. Heißer Äther, Ligroin oder Schwefelkohlenstoff nehmen nur wenig auf.

¹⁾ Hüfner, Journal f. pr. Chem. [2], Bd. XIX, S. 308.

²⁾ Tappeiner, Berichte d. Deutsch. chem. Ges., Bd. VI, S. 1285.

³⁾ Schotten, Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 194.

Cholalsäurehydrazid $C_{23}H_{39}O_3CO \cdot NHNH_2$.

18 g reiner Cholalsäureester vom Schmelzpunkt 162° werden mit 4 g (bimolekulare Menge) Hydrazinhydrat auf dem Wasserbad am Rückflußkühler erwärmt und tropfenweise absoluter Alkohol zugegeben, bis völlige Lösung eingetreten ist. Nach 2 tägigem Erhitzen erstarrt die Masse zu einem harten Krystallkuchen. Derselbe wird zerkleinert, mit etwas absolutem Alkohol verrieben, abgesaugt, mit wenig Alkohol ausgewaschen und über Schwefelsäure im Vacuum von noch anhaftenden Spuren von Hydrazinhydrat befreit. Das Produkt wird aus heißem Wasser umkrystallisiert. Nach dem Abkühlen fällt Cholalsäurehydrazid in langen glänzenden farblosen Nadeln aus, welche nach dem Absaugen beim Trocknen im Exsikkator verwittern. Nach längerem Trocknen im Exsikkator oder nach kurzem Erwärmen im Toluolbad ergibt sich der Schmelzpunkt von $188-189^\circ$.

I. 0,1902 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben bei 16° und 746 mm
11,5 ccm N.

0,1960 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,4917 g CO_2 u. 1780 g H_2O .

II. 0,1910 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben bei $16,5^\circ$ und 748 mm
11,2 ccm N.

Berechnet für $C_{24}H_{42}O_4N_2$, $M = 422,3$:

Gefunden:

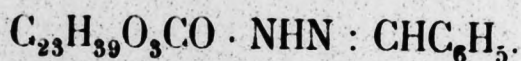
68,20% C; 10,02% H; 6,63% N I. 68,42% C, 10,16% H, 6,91% N

II. — — 6,71% N

Cholalsäurehydrazid krystallisiert in farblosen glänzenden Prismen, welche Krystallwasser oder Krystallalkohol enthalten und beim völligen Trocknen zu einem weißen Pulver vom Schmelzpunkt $188-189^\circ$ zerfallen. Cholalhydrazid löst sich in heißem Benzol, Äther, Essigester, Tetrachlorkohlenstoff oder Schwefelkohlenstoff. In kaltem Wasser ist es fast unlöslich. Auch in heißem Wasser ist es ziemlich schwer löslich. Äthylalkohol nimmt die Substanz schon in der Kälte leicht auf.

Ammoniakalische Silberlösung wird schon in der Kälte, Fehling'sche Lösung erst in der Wärme reduziert.

Die Lösung von Cholalhydrazid in sehr verdünnter Salzsäure gibt beim Schütteln mit Benzaldehyd einen farblosen krystallinischen Niederschlag von Cholalbenzalhydrazin.



Dieser Körper wurde noch nicht näher untersucht, auch wurde das salzsaure Salz und die übrigen, die Substanz als Hydrazid charakterisierenden Derivate, noch nicht dargestellt.



4,3 g Cholalsäurehydrazid werden in 100 ccm Wasser und 10 ccm n-Salzsäure gelöst und zu der eisgekühlten Flüssigkeit unter Umrühren 10 ccm n-Natriumnitritlösung langsam zutropfen gelassen. Der erhaltene Niederschlag wird nach viertelstündigem Stehen abgesaugt und gut mit Wasser ausgewaschen. Nach 12stündigem Trocknen im Vacuum erhält man ein staubfeines weißes Pulver, welches nach der Bestimmung des Stickstoffgehaltes nahezu die Zusammensetzung des reinen Cholalsäureazids besitzt. Bei längerem Aufbewahren nimmt der Stickstoffgehalt immer weiter ab; nach 8 tägigem Aufbewahren im Exsikkator enthielt das Produkt nur noch 4,2% Stickstoff.

0,2030 g Substanz gaben bei 17° und 751 mm 15,8 ccm N.

Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{O}_4\text{N}_3$, $M = 433,3$:

9,69% N

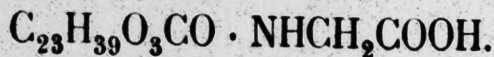
Gefunden:

8,92% N.

Cholalsäureazid bildet ein staubförmiges Pulver von nur undeutlich krystallinen Eigenschaften. Es zersetzt sich lebhaft bei 73°. In Wasser ist es unlöslich; Äther und Ligroin lösen es schwer, Alkohol und Chloroform leicht schon bei Zimmertemperatur auf. Durch verdünnte Alkalilauge wird das Azid normal verseift; nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure zu der alkalischen Flüssigkeit kann Stickstoffwasserstoffsäure von den bekannten Eigenschaften abdestilliert werden.

Zu den folgenden Synthesen wird frisch bereitetes noch feuchtes Azid verwendet.

Glykocholsäure aus Cholalazid und Glykokoll



4,3 g Cholalsäurehydrazid werden in der beschriebenen Weise in Azid umgewandelt und das Produkt nach dem Absaugen und Auswaschen mit Eiswasser allmählich unter Schütteln in 100 ccm einer wässrigen Flüssigkeit eingetragen, die 0,9 g Glykokoll und 10 ccm n-Natronlauge enthält.

Während des Eintragens des Azids wurden allmählich noch weitere 11 ccm n-Natronlauge zugefügt. Die so erhaltene klare abgekühlte Flüssigkeit wird nach und nach mit 23 ccm n-Salzsäure versetzt. Die ausfallenden Flocken ballen sich zu einer teigigen, später erhärtenden Masse zusammen. Aus der überstehenden Flüssigkeit scheidet sich der Rest der Substanz in farblosen kleinen Prismen aus.

Der gesamte Kolbeninhalt wird abgesaugt, zerkleinert, ausgewaschen und aus heißem Wasser umkrystallisiert. Beim Umkrystallisieren zeigte sich die Erscheinung, welche Wahlgreen¹⁾ für die natürliche Glykocholsäure wie folgt beschrieben hat:

«Bei dem Versuche, diese Säure durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser völlig zu reinigen, löste sich allerdings die Hauptmasse leicht; es blieb aber immer ein öliger oder harziger, mehr oder weniger stark gefärbter Rest als in der Flüssigkeit schwebender Tropfen oder als harziger Klumpen ungelöst zurück.»

Es ist uns weder bei der natürlichen noch der synthetischen Glykocholsäure gelungen, einen scharfen Schmelzpunkt festzustellen. Die sorgfältigst gereinigten Präparate erweichten bei 133° und schmolzen bei 152° zu einer klaren Flüssigkeit. Wir haben Glykocholsäure durch langsames Abkühlen in wässriger Lösung in haarfeinen langen Prismen erhalten. Versetzt man die Lösung der Säure in Alkohol mit Äther bis zur bleibenden Trübung, so erhält man kurze, dickere Prismen.

I. 0,1878 g (bei 100° getrocknete Glykocholsäure) gaben 0,4594 g CO₂ und 0,1588 g H₂O.

0,2855 g (bei 100° getrocknete Glykocholsäure) gaben bei 23° und 749 mm 8,4 ccm N.

II. 0,1899 g (bei 100° getrocknete Glykocholsäure) gaben 0,4675 g CO₂ und 0,1582 g H₂O.

Berechnet für C₂₆H₄₃NO₆, M = 465,3:

Gefunden:

C 67,05%, H 9,31%, N 3,02%.

I. C 66,71%, H 9,45%, N 3,27%.

II. C 67,14%, H 9,32% —

Taurocholsäure aus Cholalazid und Taurin



In eine Lösung von 1,4 g Taurin in 15 ccm n-Natronlauge wird das aus 4,3 g Cholalsäurehydrazid frisch dargestellte, noch

¹⁾ Wahlgreen, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 560.

feuchte Azid so eingetragen, daß die Flüssigkeit stets alkalisch bleibt, wozu noch weitere 10 ccm n-Natronlauge erforderlich sind. Wenn alles gelöst ist, erwärmt man noch etwa 3 Minuten auf 35—40°, kühlt stark ab und versetzt nach und nach mit 25 ccm n-Salzsäure. Die Taurocholsäure fällt dann aus der salzhaltigen Lösung als gallertartige, an Stärkekleister erinnernde Masse aus. Dieselbe wird im Vacuumexsikkator über Kalk vollständig zur Trockne eingedunstet, der Rückstand zerkleinert und mit absolutem Alkohol, in dem nur Taurocholsäure löslich, Taurin wie Chlornatrium aber unlöslich sind, ausgezogen und mit trockenem Äther wieder gefällt. Erhalten 4,2 g entsprechend 81,5% der Theorie. Zur Reinigung wird die Säure noch zweimal in Alkohol gelöst und wieder mit Äther ausgefällt. Man erhält so die Taurocholsäure als vollkommen weißes Pulver, das im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet wird.

0,2584 g Substanz gaben nach Carius 0,1121 g BaSO ₄ .	
Berechnet für C ₂₆ H ₄₅ NO ₇ S, M = 515,3:	Gefunden:
6,22% S	5,95% S.

2 g Taurocholsäure wurden zum Trocknen im Toluolbad auf 100° erhitzt. Hierbei zersetzt sie sich unter Gelb- bis Braunfärbung, eine Beobachtung, die Hammarsten¹⁾ ebenfalls bei der aus Galle dargestellten natürlichen Taurocholsäure machte. Über einen Schmelzpunkt der Taurocholsäure liegen keine Angaben vor. Wir fanden, daß dieselbe bei 140° sintert, sich gegen 160° zu zersetzen beginnt und bei 180° zu einer braunen Flüssigkeit schmilzt. Die Säure zeigte alle neuerdings von Hammarsten für die natürliche Substanz angegebenen Eigenschaften.

Taurocholsäure ist in Alkohol, Essigester und Wasser schon in der Kälte löslich; unlöslich ist sie in Benzol, Chloroform, Äther und Ligroin.

Synthetische Taurocholsäure wurde am Rückflußkühler 10 Stunden lang mit 10%iger Natronlauge erhitzt. Aus der Lösung wurde die Cholalsäure mit Salzsäure gefällt. Sie zeigte nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol den Schmelzpunkt 198°, der, wie oben erwähnt, der reinen Cholalsäure zukommt.

¹⁾ Hammarsten, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 135.