

Zur Kenntnis der Cholsäure.

II. Mitteilung.

Von

Martin Schenck.

(Aus dem pharmazeutisch-chemischen Institut der Universität Marburg.
Direktor E. Schmidt.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. Oktober 1910.)

In der ersten Mitteilung (Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, S. 308) habe ich eine Säure beschrieben, die bei der elektrolitischen Reduktion der Dehydrocholsäure entsteht und der Formel $C_{24}H_{36}O_5$ entspricht — Reduktodehydrocholsäure. Ich habe diese Säure noch mehrmals dargestellt und dabei beobachtet, daß man, um die Überführung der Dehydrocholsäure in das Reduktionsprodukt möglichst vollständig zu gestalten, zweckmäßig die Einwirkungsdauer des Stromes verlängert, von $1\frac{1}{2}$ Stunden auf 3 Stunden. Die Versuchsbedingungen waren sonst die gleichen wie früher. Die nach Beendigung des Versuches aus der Kathodenflüssigkeit durch Salzsäure abgeschiedene, zunächst amorphe Säure wurde nach mehrtägigem Stehen größtenteils krystallinisch, wie dies auch früher schon einmal beobachtet worden war. Dementsprechend ließ sie sich auch aus heißem Wasser in krystallisiertem Zustand erhalten; sie resultiert dabei in Büscheln von feinen Nadeln. An Stelle des früher angewendeten Benzols läßt sich als Krystallisationsmittel auch stark verdünnter Alkohol oder besser noch stark verdünntes Aceton benutzen. Man löst die Reduktosäure in wenig Aceton auf, setzt Wasser bis zur beginnenden Trübung, die man durch einige Tropfen Aceton wieder beseitigt, zu und läßt im offenen Schälchen ruhig stehen. Es scheiden sich dann nach einiger Zeit dünne, gut ausgebildete, oft zentimeterlange Nadeln aus. Der Schmelzpunkt der Säure

wurde meist etwas höher (190—192°) als früher (188°) gefunden, er ist aber nicht ganz scharf. Die Reduktodehydrocholsäure ist rechtsdrehend, das spezifische Drehungsvermögen $[\alpha]_D$ beträgt ca. + 29° (0,4019 g Substanz gelöst in 25 ccm gewöhnlichen Alkohols). Dazu ist zu bemerken, daß bei dieser Bestimmung wie auch bei den im folgenden weiter erwähnten die alkoholischen Lösungen das Licht ziemlich stark absorbierten, sodaß die Ablesungen nicht mit der wünschenswerten Genauigkeit vorgenommen werden konnten. Zum Vergleich habe ich auch das spezifische Drehungsvermögen der Dehydrocholsäure bestimmt: $[\alpha]_D = \text{ca.} + 26\text{—}27^\circ$ (0,2354 g Substanz, 25 ccm gewönl. Alkohol). Auch eine Probe von Dehydrocholsäure, die aus ihrem Trioxim durch Kochen mit Salzsäure abgeschieden (vgl. Mylius, Ber., Bd. XIX, S. 2007) und dann aus verdünntem Aceton umkrystallisiert worden war, zeigte das gleiche Drehungsvermögen, Schmelzpunkt dieser Säure 237°, wie er immer bei aus Aceton umkrystallisierter Säure erhalten wurde.

In seiner Mitteilung über die Dehydrocholsäure (Ber., Bd. XIV, S. 71) hat Hammarsten kurz erwähnt, daß bei der Einwirkung von Natriumamalgam auf Dehydrocholsäure eine Säure entsteht, die keine typische Pettenkofersche Reaktion liefert, in Alkohol leichter löslich als Dehydrocholsäure ist und aus diesem Lösungsmittel in Form von Blättchen krystallisiert. Weitere Angaben über diese Säure scheinen in der Literatur nicht vorzuliegen. Da es sich bei dieser Säure um eine eventuelle Identität mit der «Reduktodehydrocholsäure» handeln konnte, habe ich den Versuch von Hammarsten wiederholt. Das Verfahren war dabei das folgende: 1 g reine Dehydrocholsäure wurde in ca. 75 ccm 1%iger Natronlauge gelöst und in die Lösung im Verlaufe mehrerer Stunden nach und nach 4%iges Natriumamalgam eingetragen, in einer solchen Menge, daß auf 1 g Dehydrocholsäure 10 g Natrium kamen. Die Temperatur steigt während des Versuches auf etwa 30° und mit zunehmender Konzentration der Natronlauge scheidet sich das Reaktionsprodukt in Form von graugefärbten, zähen Flocken aus. Dieselben wurden aus der Lösung herausgenommen, eventuell durch Filtrieren durch Asbest, in warmem

Wasser gelöst und die Lösung von fein verteiltem Quecksilber abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Salzsäure angesäuert, die abgeschiedene Säure abgesaugt, gewaschen, zwischen Filtrierpapier abgepreßt, an der Luft getrocknet und dann in heißem Benzol gelöst. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Benzol wurde das Produkt mit verdünntem Aceton behandelt. Beim Stehen der Lösung schieden sich ganz ähnliche lange Nadeln aus, wie ich sie stets bei elektrolytisch gewonnener Reduktosäure erhielt. Diese Nadeln ließen sich jedoch nicht bei 110° trocknen, ohne etwas zusammenzusintern und danach wieder fest zu werden, auch schmolz die fest gewordene und zerriebene Masse ca. 3° niedriger wie die «Reduktodehydrocholsäure», die das Trocknen bei 110° anstandslos vertrug. Das mittels Natriumamalgam erhaltene Reduktionsprodukt schien also trotz wiederholten Umkrystallisierens noch eine kleine Verunreinigung zu enthalten. Es wurde nunmehr in derselben Weise, wie dies in der 1. Mitteilung beschrieben ist, in das Oxim verwandelt, das nach dem Umkrystallisieren aus gewöhnlichem Alkohol und Trocknen bei 120° genau denselben Zersetzungspunkt: 255° zeigte wie das Dioxim der Reduktodehydrocholsäure: Proben von beiden Substanzen wiesen, an demselben Thermometer erhitzt, nicht den geringsten Unterschied auf. Auch eine Stickstoffbestimmung gab den für das Dioxim verlangten Wert:

0,1924 g (bei 120° getrocknet) gaben 11 ccm N bei 17° C.
und 741,8 mm Hg.

Gefunden: 6,57% N. Berechnet für $C_{24}H_{36}O_3(\cdot NOH)_2$: 6,47% N.

Aus dem Oxim wurde hierauf durch Kochen mit verdünnter Salzsäure die ursprüngliche Säure wieder abgeschieden, die nunmehr, aus verdünntem Aceton umkrystallisiert und nach dem Trocknen bei 110°, das ohne Schädigung vertragen wurde, neben typischer Reduktodehydrocholsäure am selben Thermometer erhitzt, genau den gleichen Schmelzpunkt wie diese zeigte (190—192°). Somit dürfte die von Hammarsten bei der Reduktion mit Natriumamalgam erhaltene Säure mit der von mir auf elektrolytischem Wege dargestellten identisch sein.

Es ist bemerkenswert, daß die Dehydrocholsäure mit ziemlicher Leichtigkeit 2 Atome Wasserstoff aufnimmt, daß aber

eine weitere Reduktion nur schwierig oder überhaupt nicht zu erreichen ist. Ich erhielt zwar einmal bei einem Reduktionsversuch mit Natriumamalgam (entsprechend dem oben beschriebenen angestellt) aus der acetonhaltigen, wässerigen Mutterlauge der langen Nadeln von Reduktodehydrocholsäure feine, eigenartig glänzende Nadelchen, die auch nach dem Trocknen bei 110° diesen Glanz nicht verloren und den unscharfen Schmelzpunkt von ca. 160° zeigten. Ob es sich bei dieser Verbindung aber um ein weiteres Reduktionsprodukt handelt, ließ sich nicht ermitteln, da die Menge der Nadelchen nur eine sehr geringe war. Versuche, die Dehydrocholsäure in saurer Lösung durch den elektrischen Strom zu reduzieren (60%ige H_2SO_4 und Bleielektroden, 60% Essigsäure und Platinelektroden) lieferten das unveränderte Ausgangsmaterial. Bei Anwendung des elektrischen Verfahrens in alkalischer Lösung resultierte stets nur Reduktodehydrocholsäure, einerlei ob die Stromstärke, die Temperatur, die Konzentration der Natronlauge, oder die Einwirkungsdauer des Stromes erhöht wurden. Auch die Reduktodehydrocholsäure ließ sich weder durch Natriumamalgam bei Wasserbadtemperatur, noch durch mehrstündiges Kochen mit Natronlauge und Zinkstaub oder 60%iger Essigsäure und Zinkstaub am Rückflußkühler weiterreduzieren: außer unverändertem Ausgangsmaterial konnte ein krystallisiertes Produkt nicht gefaßt werden.

Die zu sämtlichen Versuchen benutzte Cholsäure war nach dem bekannten Verfahren von Mylius u. a. aus hiesiger Rindergalle dargestellt worden. Es zeigte sich aber, daß die Rohsäure aus alkoholischer Lösung in keiner Weise zum Krystallisieren zu bringen war. Ich wandte deshalb noch das von Pregl (Monatsh. f. Ch. Bd. XXIV, S. 33) für «Sommerrohsäure» empfohlene besondere Reinigungsverfahren (Versetzen der 1% Rohsäure enthaltenden, ammoniakalischen Lösung mit $BaCl_2$, Ausfällen der Säure aus dem Filtrat mittels Salzsäure) an, aber auch jetzt war aus alkoholischer Lösung keine, oder nur eine äußerst geringfügige Krystallisation zu erzielen. Ebenso verhielt sich ein von der Firma E. Merck-Darmstadt bezogenes, nach dem Pregl'schen Verfahren gereinigtes Präparat. Da-

gegen fand ich in dem Aceton ein brauchbares Lösungsmittel. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton erhält man die Rohsäure in Form von fast ungefärbten, harten, knirschenden Krystallen, die aber noch nicht den richtigen Schmelzpunkt zeigen und, wie sich aus Oxydationsversuchen ergab, aus einem Gemenge von Cholsäure mit Desoxycholsäure bzw. Choleinsäure bestehen. Um aus diesen Krystallen reine Cholsäure zu gewinnen, krystallisiert man sie noch einige Male aus Alkohol um, was jetzt leicht gelingt, bis der Schmelzpunkt der reinen Cholsäure 197° erreicht ist, oder man bedient sich des von Langheld (Ber. Bd. XLI, S. 380) angegebenen, auch von Pregl (Diese Zeitschr. Bd. LXV, S. 157) neuerdings empfohlenen Verfahrens, das auf der Schwerlöslichkeit des Natriumcholats in heißem Alkohol beruht.

Bei der Oxydation von nur aus Aceton umkrystallisierter Cholsäure mittels Kaliumpermanganat zu Biliansäure nach dem Verfahren von Lassar-Cohn (Ber. Bd. XXXII, S. 683) erhielt ich ein Biliansäurepräparat, das stark mit Cholansäure, dem Oxydationsprodukt der Desoxycholsäure bzw. Choleinsäure, vermischt war. Bei weiterer Oxydation eines solchen Biliansäurepräparates (Lassar-Cohn, l. c. S. 685) wurde eine Ciliansäure erhalten, der ebenfalls erhebliche Mengen der schwer oxydablen Cholansäure beigemischt waren.

Als ich eine derartige Ciliansäure auf ihr Verhalten gegen Hydroxylamin prüfte, gelang es, ein stickstoffhaltiges Produkt zu gewinnen, das sich aber bei weiterer Untersuchung nicht als das vermutete Oxim der Ciliansäure, sondern als dasjenige der Cholansäure herausstellte. Ich habe diese Verbindung dann auch aus reiner Cholansäure erhalten, reine Ciliansäure reagiert dagegen weder mit Hydroxylamin, noch mit Phenylhydrazin, wie auch Pregl (Diese Zeitschr. Bd. LXV, S. 168) bemerkt, daß die Ciliansäure den gewöhnlichen Ketonreagenzien gegenüber sich negativ verhalte. Die Cholansäure wurde in reiner Form aus dem oben erwähnten Biliansäurepräparat durch fraktionierte Krystallisation aus Alkohol (Pregl, Monatsh. f. Ch. Bd. XXIV, S. 48) erhalten. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol war der von Pregl (l. c.)

angegebene Schmelzpunkt 295° erreicht, der sich auch nach weiterem Umkrystallisieren nicht mehr änderte. Nach der letzten Arbeit Pregl's (Diese Zeitschr., Bd. LXV, S. 160) ist es nicht ausgeschlossen, daß es zwei Cholansäuren gibt (eine der Desoxycholsäure und eine der Choleinsäure-entsprechende), nach dem konstanten Schmelzpunkt möchte ich das von mir benutzte Präparat für einheitlich halten. Die polarimetrische Untersuchung ergab für $[\alpha]_D$ den ungefähren Wert von $+95^{\circ}$ (0,3055 g gelöst in 25 ccm Alkohol, vgl. die Bemerkung auf S. 384). Bulnheim (Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 312) fand für eine verdünntere Lösung 113° ; Tappeiner (Liebig's Ann., Bd. CXCIV, S. 233) beobachtete 53° (0,3576 g in 14 ccm absol. Alkohol), Kutscheroff (nach Latschinoff, Ber., Bd. XV, S. 714) 88° .

Eine Analyse der bei 130° getrockneten Cholansäure ergab Übereinstimmung der gefundenen mit den berechneten Werten:

0,1615 g Substanz: 0,3899 g CO_2 und 0,1217 g H_2O .	
Gefunden: 65,84% C	Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_7$: 66,01% C
8,43% H.	8,31% H.

Von den 7 Sauerstoffatomen der Cholansäure $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_7$ verteilen sich bekanntlich 6 auf drei Carboxylgruppen, während ein Atom in Form einer Carbonylgruppe darin vorhanden ist. Diese Carbonylgruppe konnte Bulnheim (Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 313 ff.) nachweisen, indem es ihm gelang, ein Phenylhydrazinderivat des Triäthylesters der Cholansäure darzustellen, auch die freie Säure reagierte vielleicht mit Phenylhydrazin, doch liegt keine Analyse des Reaktionsproduktes vor. Dagegen gibt die Cholansäure nach Bulnheim mit Hydroxylamin weder bei gewöhnlicher Temperatur, noch bei 90° , noch bei 140° ein Oxim. Wie ich gefunden habe, erhält man aber ein solches Oxim leicht, wenn man in folgender Weise verfährt.

Oxim der Cholansäure.

Man löst Cholansäure in der erforderlichen Menge 5%iger Natronlauge, setzt das Dreifache der berechneten Menge Hydroxylaminchlorhydrat zu und löst die durch das Chlorhydrat

wieder ausgefällte Säure durch weiteren Zusatz von Natronlauge auf. Diese Lösung erwärmt man ca. 1 Stunde auf dem Wasserbade, wobei sie vollständig klar bleibt. Man läßt dann noch 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, wobei ebenfalls keine Ausscheidung eines Reaktionsproduktes erfolgt. Dies mag der Grund dafür gewesen sein, weshalb Bulnheim die Bildung des Oxims entgangen ist. Säuert man nunmehr die alkalische Flüssigkeit mit Essigsäure an, so fällt das Oxim in Form einer weißen Masse aus, die ausgewaschen, getrocknet und aus verdünntem Aceton umkrystallisiert wurde. Man löst in wenig Aceton, setzt Wasser bis zur beginnenden Trübung, die man durch einige Tropfen Aceton wieder beseitigt, zu und läßt im offenen Schälchen ruhig stehen. Es resultieren zierliche, schimmernde Blättchen, bisweilen auch feine, harte Nadeln. Beide Formen beginnen, nach dem Trocknen bei 100°, im Schmelzröhrchen erhitzt, bei ca. 160° unscharf sich zu zersetzen, bei ca. 197° ist die Zersetzung vollständig. Das Oxim ist gegen Wasser nicht sehr beständig, denn schon beim längeren Stehen der acetonhaltigen, wässerigen Lösung bei Zimmertemperatur schieden sich auch stickstofffreie Krystalle ab, die sich durch ihren Zersetzungspunkt (295°) als Cholansäure charakterisierten. Die Analysen von Proben zweier verschiedener Darstellungen (I und II) ergaben:

I. 0,3204 g (bei 100—110° getrocknet) gaben 9,3 ccm N bei 24° C.
und 738,9 mm Hg.

0,1632 g Substanz gaben 0,3779 g CO₂ und 0,1195 g H₂O.

II. 0,3168 » » » 8,4 ccm N bei 17° C. und 747,8 mm Hg.

Gefunden: I.	3,24% N	Berechnet für C ₂₄ H ₃₆ O ₆ (:NOH):	3,11% N
	63,15% C		63,81% C
	8,19% H		8,26% H

II. 3,07% N

Durch die Gewinnung eines Oxims ist somit ein weiterer Beweis für das Vorhandensein einer Carbonylgruppe in der Cholansäure erbracht.