

Untersuchungen über die Gallensäuren. III. Mitteilung.
Die strukturellen Beziehungen zwischen Cholsäure und Desoxy-
cholsäure.

Von

Heinrich Wieland und Hermann Sorge.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kgl. Akademie der Wissenschaften zu München.)
(Der Redaktion zugegangen am 22. August 1916.)

Die beiden einzigen bis jetzt sicher bekannten Gallensäuren, Cholsäure und Desoxycholsäure, unterscheiden sich, was schon die Bezeichnung ausdrückt, in der Zusammensetzung um ein Sauerstoffatom voneinander. Die Formel der Cholsäure ist $C_{24}H_{40}O_5$, die der Desoxycholsäure $C_{24}H_{40}O_4$. Cholsäure ist nach der vor einigen Jahren vorgeschlagenen Nomenklatur¹⁾ als Trioxycholancarbonsäure zu bezeichnen, es liegt nahe, in der Desoxycholsäure mit ihren zwei alkoholischen Hydroxylgruppen, die ihr nahe verwandte Dioxycholancarbonsäure zu sehen, der eine Hydroxylgruppe des Cholsäuremoleküls fehlt. So nahe diese Vermutung liegt, so ist sie doch bis heute keineswegs bewiesen. Zwar scheint ihre Feststellung in einer der grundlegenden Arbeiten von Mylius über die Gallensäuren enthalten zu sein. Mylius²⁾ gibt an, daß er aus einer der Fäulnis überlassenen Lösung von Natriumcholat Desoxycholsäure isoliert habe. Die Richtigkeit dieser Angabe begegnet indes zwei Bedenken. Einmal war zur Zeit, als Mylius seine Versuche anstellte, die Darstellung reiner, von Choleinsäure³⁾ und damit auch von Desoxycholsäure freier Cholsäure eine kaum zu lösende Aufgabe. Manche Irrtümer aus jener Periode der Gallensäureforschung sind auf diesen Umstand zurückzuführen. Ferner sind die analytischen Belege und die Schmelzpunktsangaben für die

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 80, S. 290 (1912).

²⁾ Ber. Bd. 19, S. 377 (1886).

³⁾ Vgl. Diese Zeitschrift, Bd. 97, S. 1 (1916).

von Mylius isolierte Säure nicht genügend scharf, um ihre Identität mit Desoxycholsäure über alle Zweifel sicher zu stellen.

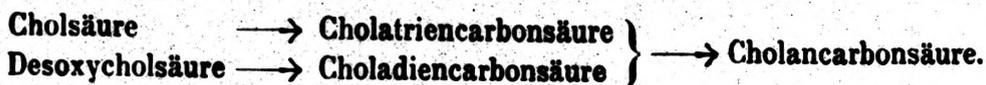
Bei einer einmaligen Wiederholung des Myliusschen Fäulnisversuches mit absolut reiner Cholsäure haben wir keine Desoxycholsäure isolieren können. Wir wollen trotz dieses Mißerfolgs die Möglichkeit jenes biologischen Übergangs nicht bestreiten, haben aber vorerst um so lieber auf die Fortsetzung der höchst widerwärtigen Fäulnisversuche verzichtet, als sich nach einer einwandfreien und durchsichtigen chemischen Methode die Beziehungen zwischen Cholsäure und Desoxycholsäure klären ließen.

Bis jetzt weiß man nur, daß die beiden Säuren bei energischem Abbau nach Abspaltung von 6 Kohlenstoffatomen im gleichen Oxydationsprodukt, der Choloidansäure $C_{18}H_{28}O_8$, zusammentreffen. Es ist das Verdienst von Pregl, dies nachgewiesen zu haben.¹⁾

Die erste Wirkung von Oxydationsmitteln liefert verschiedenartige Säuren von unveränderter Kohlenstoffatomzahl, bei der Cholsäure die beiden isomeren Säuren $C_{24}H_{34}O_8$, Biliansäure und Isobiliansäure, bei der Desoxycholsäure entsprechend die Cholansäure und Isocholansäure $C_{24}H_{36}O_7$.

Der Beweis, daß auch jene 6 abgespaltenen C-Atome in beiden Säuren gleich angeordnet sind, daß also die Strukturbasis für Cholsäure und Desoxycholsäure die gleiche ist, wurde auf folgendem Wege erbracht.

Cholsäure geht bei der trockenen Destillation im Vakuum unter Abspaltung von 3 Molekülen Wasser in eine dreifach ungesättigte Säure $C_{24}H_{34}O_2$, die Cholatriencarbonsäure, über. Durch Hydrierung erhält man aus ihr die Stammsäure der ganzen Gruppe, die Cholancarbonsäure $C_{24}H_{40}O_2$. Desoxycholsäure gab uns bei der trockenen Destillation in vorzüglicher Ausbeute die zu erwartende Choladiencarbonsäure $C_{24}H_{36}O_2$, und deren Hydrierung führte zu einer gesättigten Säure, die mit Cholancarbonsäure vollkommen identisch war.

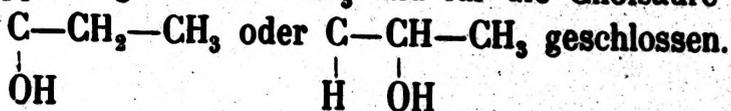


¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 65, S. 160 (1910).

Die sichere Feststellung dieser Beziehungen ist an sich notwendig, sie ist aber unerlässlich für den, der die einfacher zusammengesetzte Desoxycholsäure als Ausgangsmaterial für die Konstitutionserforschung der Gallensäuren benutzen will. Alle Resultate, die bei der Bearbeitung der Desoxycholsäure gewonnen werden, können nun, soweit es sich um das Hauptproblem, das Kohlenstoffgerüst, handelt, ohne weiteres auf die Cholsäure übertragen werden.

Wieland und Weil haben bei der partiellen Hydrierung der Cholatriencarbonsäure schon eine Choladiencarbonsäure erhalten. Mit ihr ist die neue, aus der Desoxycholsäure gewonnene, nicht identisch. Deren Schmelzpunkt liegt viel niedriger, und außerdem gibt sie nicht die bei der Säure von Wieland und Weil besonders prächtige Farbreaktion mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure. Die Isomerie ist jedenfalls auf die verschiedene Lage der Doppelbindungen zurückzuführen und zwar dürften sie in der neuen Säure räumlich entfernter von einander liegen.

Die erst in Angriff genommene Untersuchung der β -Choladiencarbonsäure erlaubt uns, eine kleine, zurzeit noch wenig bedeutsame Angabe über den Standort der Hydroxylgruppen zu machen. In der ersten Abhandlung ist gezeigt worden, daß bei der Oxydation der Cholatriencarbonsäure mit Permanganat ein Molekül Essigsäure gebildet wird. Daraus wurde auf die Gruppierung $C=CH-CH_3$ und für die Cholsäure auf



β -Choladiencarbonsäure liefert bei der Oxydation keine Essigsäure, und dies berechtigt zu der Folgerung, daß in der Desoxycholsäure jene Hydroxylgruppe der Cholsäure fehlt. Ob die beiden übrigen in beiden Säuren an gleicher Stelle stehen, ist zwar wahrscheinlich, aber nicht sicher. Der positive Ausfall des Fäulnisversuchs, der wiederholt werden soll, würde es beweisen.¹⁾

¹⁾ Als die vorliegende Untersuchung schon abgeschlossen war, erfuhr ich zufällig auf brieflichem Weg von Herrn Kollegen Fritz Pregl-Graz, daß er auf anderem Weg zu dem gleichen Ergebnis gekommen ist, wie wir.

Experimentelles.**Die Destillation der Desoxycholsäure.**

Wie wir in der kürzlich erschienenen Abhandlung berichtet haben, sind wir bei der Vakuumdestillation der sogenannten Choleinsäure zuerst ihrer Natur auf die Spur gekommen. Es ging zuerst Fettsäure über, die wir als Gemisch von Stearin- und Palmitinsäure erkannten; dann folgte Choladiencarbonsäure. Da sich die in der Vorlage erstarrenden Fettsäuren sehr leicht von dem nachfolgenden Hauptprodukt mechanisch abtrennen lassen, so kann man an Stelle von Desoxycholsäure auch die natürliche Choleinsäure der Galle als Material verwenden.

Zur Destillation haben wir den von Wieland und Weil verwendeten elektrischen Ofen mit der beschriebenen Apparatur¹⁾ benutzt, die sich auch hier vortrefflich bewährte. Die Kapillare haben wir weggelassen. Um die β -Choladiencarbonsäure in guter Ausbeute zu erhalten, läßt man die Wasserabspaltung unter langsamem Anwärmen bei möglichst tiefer Temperatur vor sich gehen. 11,5 g aus Eisessig umkrystallisierte Desoxycholsäure (1 Mol. Essigsäure enthaltend) werden im Vakuum von 12 mm mit 4 Amp. Stromstärke (110 Volt Spannung) auf 300° erhitzt. Unter Aufschäumen geht die Spaltung vor sich und bei weiterer vorsichtiger Steigerung der Temperatur geht bei 320—340° (außen im Heizraum gemessen) fast die ganze Substanzmenge über, in dem erweiterten Ansatzrohr zu einer fast farblosen harzigen Masse erstarrend (8,5 g). Dabei soll kein weißes Sublimat auftreten. Die Operation beansprucht 5—6 Stunden, braucht aber nur von Zeit zu Zeit beaufsichtigt zu werden. Nach dem Erkalten spült man den geringfügigen Rückstand mit Chloroform heraus, beseitigt das anhängende Chloroform und löst dann das Destillat aus dem Ansatz am Rückflußkühler mit 16 ccm Ligroin heraus. Die Lösung, die nach dem Erkalten bald zu einem Krystallbrei erstarrt, wird nach mehrstündigem Stehen in Eis abgesaugt, die auskrystallisierte Säure wird mit

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 80, S. 292 (1912).

Gasolin gewaschen und zur völligen Reinigung aus der vierfachen Menge heißen Ligroins umkrystallisiert. In Gestalt der ersten Krystallisation werden, wenn man die geringe Nachausbeute aus der Mutterlauge hinzurechnet, 5,5—6 g β -Choladien-carbonsäure gewonnen, das sind bis zu 65% der Theorie.

Die reine Säure krystallisiert in feinen flachen Nadeln vom Schmelzpunkt 132—133°; bei 127° beginnt die Substanz zu sintern. Sie ist in allen organischen Lösungsmitteln, außer Petroläther, leicht löslich, kann indes aus wenig heißem Alkohol umkrystallisiert werden. Die Liebermannsche Farb-reaktion mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefel-säure (ein Tropfen) verläuft über Rot, Braun nach Olivgrün. Dabei tritt intensive grüne Flurorescenz auf, wie auch mit konzentrierter Schwefelsäure allein. Gegen Permanganat ist die Säure ungesättigt.

Analysen:

0,0900 g Substanz: 0,2657 CO₂ und 0,0824 H₂O

0,1066 „ „ 0,3153 „ „ 0,0947 „

0,1329 „ „ 0,3935 „ „ 0,1212 „

C₂₄H₃₆O₂ Ber.: C 80,89

H 10,11

Gef.: C 80,52, 80,67, 80,75, H 10,25, 9,94, 10,20.

Titration. 0,0787 g wurden von 2,03 ccm $\frac{n}{10}$ -KOH in ver-dünntem Alkohol neutralisiert; berechnet für eine Säure von Mol.-Gew. 256 : 2,21 ccm.

Die Alkalisalze sind ebenso wie die der Cholatriencarbon-säure in Wasser sehr schwer löslich. Das Gleiche gilt für das Baryumsalz.

Zur Hydrierung werden 3 g der reinen Säure in wenig Alkohol gelöst und nach Zugabe von 0,5 g Palladiumschwarz unter Wasserstoff bis zum Aufhören der Absorption in der Birne geschüttelt. Die schwerer lösliche Cholancarbon-säure krystallisiert während des Prozesses aus. Wenn eine Probe Permanganat nicht mehr entfärbt, bringt man den In-halt der Birne nach Entfernung des Wasserstoffs auf dem Wasserbad zur Lösung, filtriert heiß ab und krystallisiert die in der Kälte ausgeschiedene gesättigte Säure noch zweimal aus Eisessig um. Sie erscheint in den für Cholancarbon-

säure charakteristischen kugeligen Aggregaten. Der Schmelzpunkt lag bei 154—155°, wurde aber durch wiederholte Krystallisation aus Alkohol auf 156—157° gebracht. Im Gemisch mit einem Präparat von Cholancarbonensäure, die aus Cholatriencarbonensäure gewonnen war, schmolz die Säure bei der gleichen Temperatur. Sie ist also damit identisch.

0,1602 g Substanz: 0,4683 CO₂ und 0,1612 H₂O

C₂₄H₄₀O₂ Ber.: C 79,93, H 11,19

Gef.: C 79,70, H 11,26.

Führt man die Destillation der Desoxycholsäure unter raschem Erhitzen aus, so erhält man neben Choladiencarbonensäure eine prachtvoll krystallisierte isomere Verbindung, die sich durch ihre geringe Löslichkeit in Ligroin vom Hauptprodukt trennen läßt. Sie krystallisiert aus viel Ligroin oder auch aus heißem Alkohol in langen glänzenden Nadeln vom Schmelzpunkt 215—217° (bei 204° beginnende Sinterung).

0,1040 g Substanz: 0,3089 CO₂ und 0,0971 H₂O

C₂₄H₃₆O₂ Ber.: C 80,89, H 10,11

Gef.: C 81,01, H 10,45.

Diese isomere Substanz ist auffallenderweise keine Säure. Sie wird erst bei längerem Kochen mit Alkali zu einer solchen aufgespalten, was auch ihre Laktonnatur nicht gerade wahrscheinlich macht. Zudem verhält sie sich gegen Permanganat weit gesättigter als die Choladiencarbonensäure. Die Liebermannsche Farbreaktion gibt sie nicht. Bis zur weiteren Untersuchung dieser interessanten Verbindung wollen wir keine Vermutung über ihre Konstitution äußern.