

## Untersuchungen über die Gallensäuren.

### IV. Mitteilung.

#### Die Synthese der Glykodesoxycholsäure und der Taurodesoxycholsäure.

Von

Heinrich Wieland

(mitbearbeitet von Frl. Hedwig Stender).

(Aus dem chemischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften und aus dem organisch-chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule zu München.)  
(Der Redaktion zugegangen am 21. Mai 1919.)

In der II. Mitteilung<sup>1)</sup> ist die Natur der natürlichen Choleinsäure aufgeklärt, sie ist als Additionsverbindung von Desoxycholsäure und Fettsäure erkannt worden. Das rätselhafte Additionsvermögen der Desoxycholsäure hat sich fast allen Körpergruppen organischer Verbindungen gegenüber feststellen lassen. Die Bezeichnung Choleinsäure wurde zu einem Kollektivbegriff. Die Beobachtung, daß die Choleinsäuren bei der Salzbildung ohne Zerfall in die Komponenten weiter existieren, daß auch Choleinsäuren mit nicht saurem, in Wasser unlöslichem Bestandteil, wie Naphthalin- oder Kampfercholeinsäure, von wäßriger Lauge klar aufgenommen werden, daß andererseits auch die wäßrigen Lösungen der Alkalisalze der Desoxycholsäure derartige Komponenten in Lösung nehmen, hat zu einer neuen Theorie über die Funktion der Galle geführt, an der diese allgemein lösende Wirkung ebenfalls festgestellt worden war. Die Aufgabe der Galle wird darin gesehen, daß sie kraft der lösenden Wirkung der in ihr enthaltenen gallensauren Salze an sich schwer lösliche oder unlösliche Stoffe

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 97, S. 1 (1916).

aufnimmt und durch die Darmwand in den allgemeinen Kreislauf transportiert. Man muß nun berücksichtigen, daß die erwähnten Ergebnisse an den nicht mehr gepaarten Gallensäuren und ihren Salzen, vor allem an der Desoxycholsäure gewonnen worden sind, während in der Galle selbst wohl überwiegend die Salze der mit Glykokoll und Taurin gepaarten Säuren vorkommen<sup>1)</sup>.

Wenn auch das an der Galle selbst festgestellte Lösungsvermögen jener Theorie eine gewisse Grundlage gab, so blieb für den Chemiker doch das Bedürfnis, die für die Wirkung verantwortlichen Einzelbestandteile der Galle in dieser Richtung zu prüfen. Und da traten vor allem die Paarungsprodukte der Desoxycholsäure hervor, nicht allein als Material für diese Prüfung, sondern auch als Objekt zur Lösung der Frage nach dem Bestand und der Natur der gepaarten Choleinsäuren. So beschäftigt sich die vorliegende Abhandlung mit der Synthese der gepaarten Desoxycholsäuren mit den natürlichen Paarlingen Glykokoll und Taurin.

In mühevollen Arbeiten, die in Hammarstens Laboratorium entstanden sind, ist einiges Material zum Gegenstand niedergelegt. Wahlgren<sup>2)</sup> hat aus Ochsen-galle die sog. Glykocholeinsäure — damals wurden Desoxycholsäure und Choleinsäure noch für Isomere gehalten — in kristallisierter Form isoliert. Weniger Glück hatte einige Jahre später Gullbring<sup>3)</sup>; dem es nicht gelang, weder aus Hundegalle noch aus Rindergalle, die reine Taurocholeinsäure zu isolieren.

Wir sind für unsere Synthesen den gleichen Weg gegangen, den im Curtiusschen Laboratorium Bondi und Müller mit gutem Erfolg am analogen Beispiel der Cholsäure vorgezeichnet haben<sup>4)</sup>. Desoxycholsäure wurde über den Ester in das Hydrazid verwandelt, dieses mit Nitrit in das Azid, und Desoxychol-

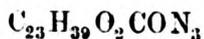
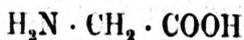
<sup>1)</sup> Ob und bis zu welchem Betrag auch die Salze der freien Säuren in der Galle enthalten sind, wird das Ziel einer gelegentlichen Untersuchung sein.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 36, S. 556 (1902).

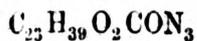
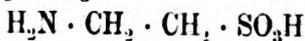
<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 45, S. 448 (1905).

<sup>4)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 47, S. 499 (1906).

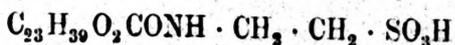
säureazid dann unter Abspaltung von Stickwasserstoff in alkalischer Lösung mit Glykokoll und Taurin kombiniert.



&gt;



&gt;



Nach Überwindung verschiedener experimenteller Schwierigkeiten wurde das Ziel erreicht, die beiden gepaarten Säuren wurden in reinem, kristallisiertem Zustande erhalten.

Der erste Versuch mit ihnen galt der Darstellung der entsprechenden Choleinsäuren. Er fiel negativ aus. Weder Glyko- noch Taurodesoxycholsäure kombinieren sich mit Stearinsäure; die freien Säuren liefern keine Additionsprodukte. Dagegen besitzen ihre Alkalisalze die gleiche lösende Wirkung wie die Desoxycholate, was am Naphthalin, Cholesterin, Chinin und an Seifen festgestellt wurde.

Dieses negative Verhalten der beiden gepaarten Desoxycholsäuren gegenüber dem Choleinsäureprinzip, wie ich allgemein die ausgedehnte Verbindungsfähigkeit der Desoxycholsäure genannt habe, bildet eine schwerwiegende Unstimmigkeit zu den Resultaten der erwähnten schwedischen Autoren. Die gepaarten Säuren, die sie aus Galle isoliert haben, sind gepaarte Choleinsäuren, enthalten also Fettsäure gebunden. Denn bei der Hydrolyse durch Alkali liefert sowohl die kristallisierte Glykcholeinsäure von Wahlgren, wie auch die in unreiner Form von Gullbring erhaltene Taurocholeinsäure nicht Desoxycholsäure, sondern die sog. Choleinsäure, d. h. die von Wieland und Sorge aufgeklärte Kombination von Desoxycholsäure mit Fettsäure (Stearin-, Palmitin- oder Ölsäure). In beiden Fällen wird der richtige Schmelzpunkt (185—187°) für die aus Alkohol umkristallisierte Säure angegeben, so daß kein Zweifel darüber bestehen kann, daß Fettsäure in den beiden natürlichen gepaarten Säuren gebunden war.

Für die nicht rein gewonnene Taurocholeinsäure liegt die Möglichkeit nahe, daß das Präparat Fettsäure mechanisch

beigemengt enthielt, die sich dann an die freigemachte Desoxycholsäure addiert hat. Die höheren Fettsäuren sind aus Gallensäurederivaten, namentlich amorphen, nur schwierig zu entfernen.

Die Glykocholeinsäure Wahlgrens dagegen ist eine gut definierte, kristallisierte Verbindung. Der Vergleich mit der synthetischen Glykodesoxycholsäure zeigt vor allem im Schmelzpunkt eine erhebliche Differenz. Jene Säure schmilzt bei  $175\text{--}176^\circ$ , um  $12^\circ$  tiefer als die synthetische. In der Kristallform, im Geschmack, in den Löslichkeitsverhältnissen, den Fällungsreaktionen der Alkalisalze, im Gewichtsverlust beim Erhitzen im Vakuum herrscht im allgemeinen Übereinstimmung. Die Löslichkeit der synthetischen Säure in siedenden Azeten ist, abweichend von den Angaben Wahlgrens für seine Säure, ziemlich bedeutend. Beim Verdunsten des Azetons bleibt die Substanz in prächtigen Nadelbüscheln zurück. Auch das Baryumsalz konnte nicht in der von Wahlgren angegebenen Weise zur Kristallisation gebracht werden. Es ist nun von Wichtigkeit, daß Glykokoll als Paarungskomponente der natürlichen Säure nicht nachgewiesen worden ist. Lediglich die gut stimmenden Analysen und die physiologische Wahrscheinlichkeit führten zur Aufstellung der Formel. — Der Widerspruch wird nur durch eine neue Untersuchung der natürlichen Säure zu lösen sein. Zurzeit kann man vermuten, daß die beiden Säuren identisch seien, das natürliche Präparat aber noch geringe Mengen von Fettsäure enthalten habe, oder — was wahrscheinlicher ist —, daß es sich um verschiedene Verbindungen handelt. Es erscheint z. B. durchaus möglich, daß in der natürlichen Säure das Glykokoll an einer alkoholischen Hydroxylgruppe der Desoxycholsäure in Esterbindung angelegt ist. Der strenge Beweis dafür, daß die Desoxycholsäure in der Galle in der gleichen Weise wie die Cholsäure amidartig mit Glykokoll und Taurin gepaart ist, muß jedenfalls noch erbracht werden durch Isolierung der beiden in der vorliegenden Abhandlung synthetisch dargestellten amidartig gepaarten Säuren.

## I. Glykodesoxycholsäure.

Desoxycholsäurehydrazid,  $C_{23}H_{39}O_2C : O (NH \cdot NH_2)$ .

3 g reiner Desoxycholsäureester<sup>1)</sup> werden in 4 ccm Alkohol mit 0,7 g Hydrazinhydrat 12 Stunden lang im Einschlußrohr auf 100° erhitzt. Dann läßt man die Lösung in einer Schale im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure zur Trockne eindunsten und extrahiert den kristallinisch gewordenen Rückstand in der Extraktionshülse mit Essigester. Beim Erkalten erscheint das Hydrazid in schönen farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 208°.

0.1635 g: 0.4237 CO<sub>2</sub> und 0.1542 H<sub>2</sub>O

$C_{24}H_{42}O_3N_2$  Ber. C 70,93 H 10,34

Gef. C 70,67 H 10,48.

Desoxycholsäureazid. 2 g des Hydrazids löst man in 8 ccm n-Salzsäure und verdünnt mit 50 ccm Wasser. Unter Eiskühlung und Umschütteln gibt man dazu die Lösung von 0,5 g Natriumnitrit in ca. 5 ccm Wasser bis zu dem Punkt, an dem mit Jodkaliumstärkepapier freie salpetrige Säure nachzuweisen ist. Der amorphe Niederschlag des Azids wird nach ¼ stündigem Stehen abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und in feuchtem Zustande gleich weiter verarbeitet.

Glykodesoxycholsäure. Hier war eine Änderung gegenüber der von Bondi und Müller zur Synthese der Glykocholsäure angewandten Methode nötig. Da das Azid ziemlich leicht verseift wird und da dadurch die schwer abzutrennende Desoxycholsäure zum Reaktionsprodukt kommt, setzte man die für die Reaktion erforderliche Alkalimenge — 2 Mol. — in dem Maße zu, als die alkalische Reaktion der Lösung verschwand. Nach den einzelnen Zugaben wurde jeweils auf der Maschine geschüttelt. Für das Azid aus 4 g Hydrazid wurden etwa 18 ccm n-NaOH verbraucht. Aus der klaren Lösung wird mit verdünnter Salzsäure die gepaarte Säure unter Prüfung mit Kongopapier gefällt. Gut gewaschen und getrocknet 3,5—4 g. Zur Kristallisation löst man in wenig Alkohol, setzt so viel Äther zu, daß eben keine Trübung

<sup>1)</sup> II. Mitteilung S. 17.

entsteht, und spritzt nun mit Wasser bis zur Trübung an, mit Äther weiter verdünnend. Nach einigem Stehen scheiden sich schöne farblose Nadeln ab, die sich bei allmählichem, weiterem Wasser- und Ätherzusatz vermehren. Da die Säure in Alkohol leicht, in Äther und Wasser schwer löslich ist, so kann man sie durch Herausschütteln des Alkohols aus dem Äther durch Wasser fast vollständig kristallisiert erhalten. Die reine Glykodesoxycholsäure schmilzt bei 187—188° unter schwachem Schäumen. Sie enthält 1 Mol. Kristallwasser, das teilweise im Vakuumexsikkator, vollständig bei längerem Erhitzen auf 150° im Vakuum weggeht.

0,1657:0,4210 CO<sub>2</sub> und 0,1472 H<sub>2</sub>O; 0,1413 g:9,35 ccm N (15°, 715 mm).

5,514 mg:0,1588 ccm N (18°, 717 mm).

0,1226 g verloren 0,0054 g H<sub>2</sub>O;

0,6706 g verloren 0,0234 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>O<sub>5</sub>N Ber. C 69,48 H 9,58 N 3,12 H<sub>2</sub>O 3,85

Gef. C 69,31 H 9,87 N 3,43, 3,19 H<sub>2</sub>O 4,40, 3,50.

Bei zwei, im Vakuumexsikkator vorgetrockneten Präparaten betrug der endgültige Wasserverlust 2,43 und 2,55%.

Aus Alkohol allein läßt sich Glykodesoxycholsäure weniger gut umkristallisieren, dagegen erhält man sie in schönen breiten Nadeln, wenn man die heiß gesättigte alkoholische Lösung mit wenig Wasser anspritzt und dann erkalten läßt.

Spezifische Drehung der zur Konstanz getrockneten Säure in Alkohol.  
Konz. 2,389%, abgel. Winkel 1,165°,  $[\alpha]_D = + 48,70^\circ$ .

Die Säure läßt sich nicht ganz scharf mit Phenolphthalein als Indikator titrieren. 0,1 g verbrauchten 2,10 ccm n/10-Lauge anstatt 2,22 ccm, 0,2624 g der H<sub>2</sub>O-haltigen Säure 5,28 ccm anstatt 5,62. Der Geschmack der Glykodesoxycholsäure ist rein bitter.

Zur Verseifung wurde 1 g Glykodesoxycholsäure mit 20 ccm 5%iger Natronlauge 12 Stunden lang unter Rückfluß gekocht. Die mit Salzsäure ausgefällte Säure besaß nach dem Umkristallisieren aus Eisessig den Schmelzpunkt der Desoxycholsäure (142—144°).

Mit Stearinsäure eine Glykcholeinsäure zu erzeugen, gelang, wie oben ausgeführt, nicht. Weder in alkoholischer Lösung traten die beiden Bestandteile zusammen, noch auch führte die Auflösung der Glykodesoxycholsäure in geschmolzener Stearinsäure zum Ziel. In beiden Fällen ließ die mit niedrig siedendem Petroläther weggenommene Stearinsäure die unveränderte Glykodesoxycholsäure zurück.

Dagegen konnten von der wäßrigen Lösung des Natriumsalzes kleine Mengen von Cholesterin, Naphthalin und Chinin durch Schütteln aufgenommen werden; auch Seifen werden reichlich gelöst.

Bei der Bedeutung der Additionsfrage wurde auch versucht, über die Alkalisalze die Kombination zu erreichen. In einer wäßrigen Natriumglykodesoxycholatlösung wurde bis zur Sättigung Natriumstearat gelöst. Dann wurde angesäuert, der Niederschlag getrocknet und wie oben aus Alkohol-Äther-Wasser unkristallisiert. Schmelzpunkt 187°. Beim Erhitzen des Präparates im Hochvakuum auf 210° sublimierte keine Spur Stearinsäure.

## II. Taurodesoxycholsäure



Hier wurde der vorzeitigen Verseifung des Hydrazids durch Steigerung der Taurinkonzentration Einhalt getan. Die Lauge wurde auch in Anteilen zugegeben, durch kräftiges Schütteln wurde die Umsetzung beschleunigt. Auf das Azid aus 3 g Desoxycholsäurehydrazid wurden 2 g Taurin in 40 ccm Wasser und im ganzen 14 ccm n-Natronlauge angewandt. Die nach völliger Lösung des Azids neutral gewordene Lösung wird mit 14 ccm n-Salzsäure bis zur eben eintretenden Kongobläue angesäuert. Sie bleibt klar, geseht aber nach einiger Zeit zu einer Gallerte. Man dunstet die ganze Lösung nach dem Einengen auf dem Wasserbad im Vakuumexsikkator über Ätzkali und Schwefelsäure vollständig ein, kocht den trockenen gepulverten Rückstand einige Male mit wenig absolutem Alkohol aus und läßt die von überschüssigem Taurin und Kochsalz abfiltrierten alkoholischen Auszüge im Exsikkator eindunsten.

Das beinahe farblose Harz, das zurückbleibt, wird beim Durchreiben mit Essigester fest. Der pulvrige Rückstand, den man absaugt, läßt sich aus wenig absolutem Alkohol (2—3 fache Menge) umkristallisieren. Die Kristallisation wird durch Animpfen und Anreiben beschleunigt; es empfiehlt sich, die übersättigte Lösung mehrere Stunden lang im Kältegemisch zu halten. Der Schmelzpunkt der mehrfach umkristallisierten, einheitlichen Substanz ist nicht scharf. Bei 175° beginnende Erweichung, um 200° undeutliches Schmelzen unter Blasenbildung. Taurodesoxycholsäure kristallisiert in farblosen prismatischen Nadeln, die zu Rosetten vereinigt sind. Die Säure ist etwas hygroskopisch, aber nur in unreinem Zustand. Sie zerfließt dann beim längeren Stehen an der Luft zu einer harzartigen Masse. Die Ausbeute an kristallisierter Säure betrug zwischen 60 und 80% der Theorie. Vor der Analyse war längeres Trocknen in Vakuum bei 120° nötig.

18,015 mg: 41,12 mg CO<sub>2</sub> und 14,94 mg H<sub>2</sub>O; 12,185 mg: 0,29596 ccm N bei 14,5° und 724 mm; 0,2425 g: 0,1086 BaSO<sub>4</sub>  
 C<sub>26</sub>H<sub>45</sub>O<sub>6</sub>NS Ber. C 62,47 H 9,08 N 2,81 S 6,41  
 Gef. C 62,26 H 9,28 N 2,75 S 6,15.

Die reine Säure ist in Alkohol ziemlich schwer, in Wasser leicht löslich, in Äther und Essigester fast unlöslich. Sie schmeckt intensiv bitter. Mit Stearinsäure ließ sich Taurodesoxycholsäure ebensowenig vereinigen, wie die erste gepaarte Säure. Die Lösung des Natriumsalzes nahm wie dort geringe Mengen von Naphthalin, Chinin, Cholesterin in Lösung. Ebenso werden Seifen reichlich gelöst.

Spezifische Drehung: Lösungsmittel Wasser

I. Konz. 1,997%, abgel. Winkel 0,66° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> 15° = + 33,04°

II. „ 1,945%, „ „ 0,63° [ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = + 32,38°

Die beiden Präparate waren nur im Vakuumexsikkator getrocknet.

Einige Präparate kristallisierter Taurodesoxycholsäure verwandelten sich beim Kochen mit Alkohol in eine isomere amorphe Form, die nicht mehr zur Kristallisation gebracht werden konnte, im übrigen aber die Eigenschaften und Löslichkeitsverhältnisse der Verbindung bewahrte. Diese Erschei-

nung erinnert an den nicht aufgeklärten Übergang der Glykocholsäure in die sog. Paraglykocholsäure.

Die spezifische Drehung der amorphen Taurodesoxycholsäure ist unverändert geblieben.

Conc. 1,981%. Abgel. Winkel  $0,655^\circ$  [ $\alpha$ ]  $\frac{16^\circ}{D} = + 33,07^\circ$ .

Der Firma J. D. Riedel A.-G. Berlin bin ich für kostenlose Überlassung von Taurin, der Firma C. H. Böhringer Sohn, Niederingelheim, für die benötigte Desoxycholsäure zu lebhaftem Dank verpflichtet. Meinem Privatassistenten, Herrn Dr. Albert Kulenkampff, danke ich für seine eifrige und sorgfältige Unterstützung.