

Untersuchungen über die Gallensäuren. II. Mitteilung.¹⁾

Zur Kenntnis der Choleinsäure.

Von

Heinrich Wieland und Hermann Sorge.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften zu München.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. März 1916.)

Außer der Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$, die im Jahre 1848 von Strecker entdeckt worden ist, hat man späterhin noch zwei sauerstoffärmere Säuren, von der Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_4$, aus der Galle isoliert, die Choleinsäure und die Desoxycholsäure. Die Choleinsäure ist im Jahre 1885 von Latschinoff²⁾ aufgefunden worden, und zwar gelang mit Hilfe ihres schwerlöslichen Baryumsalzes die Abtrennung von der Cholsäure. Der Irrtum Latschinoffs, der die Choleinsäure mit der empirischen Formel $C_{25}H_{42}O_4$ versah, wurde durch spätere Bearbeiter richtiggestellt, die für sie die allgemein anerkannte Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_4$ festlegten. Schon ein Jahr nach der Entdeckung der Choleinsäure isolierte Mylius³⁾ aus verseifter Ochsen-galle die zweite Säure von der gleichen Zusammensetzung, die Desoxycholsäure. Eine eingehende Untersuchung von Latschinoff beschäftigt sich dann mit dem Verhältnis, in dem die beiden Säuren zu einander stehen.⁴⁾ Es wird darin versucht, die von Mylius angenommene Verschiedenheit auf Grund wenig überzeugender Versuche zu widerlegen. Nach Latschinoffs Meinung soll die Desoxycholsäure ein Halbhydrat der Choleinsäure sein, sich also um den Bestand eines halben Moleküls Wasser von ihr unterscheiden, obwohl die beiden Säuren verschiedene Salze bilden und obwohl es nicht möglich ist, Desoxycholsäure in Choleinsäure zu verwandeln. Das Isomerenpaar führt in den

¹⁾ I. Mitteilung: Diese Zeitschr., Bd. 80, S. 287 (1912).

²⁾ Ber., Bd. 18, S. 3039.

³⁾ Ber., Bd. 19, S. 374 (1886).

⁴⁾ Ber., Bd. 20, S. 1043 (1887).

nächsten 25 Jahren ein schwankendes Dasein in der Literatur, die meisten Chemiker verneinen im Vertrauen auf Latschinoffs Versuche und Anschauung die Existenz der beiden isomeren Säuren, andere aber, die sich persönlich mit dem Gegenstand befassen, werden durch die augenfälligen und greifbaren Unterschiede dazu bewogen, sie als scharf gesonderte Isomere zu betrachten. Dieser Standpunkt wird namentlich von Pregl vertreten. Der auf dem Gebiet der Gallensäuren wohlbewanderte Chemiker bringt den für die Verschiedenheit der beiden Säuren entscheidenden Beweis, indem sie ihm bei der Oxydation mit Chromsäure zwei durch den Schmelzpunkt und namentlich durch das Drehungsvermögen von einander scharf unterschiedene Dehydrosäuren $C_{24}H_{36}O_4$ geben.¹⁾ Kurz vorher hat auch Langheld zu der Frage Stellung genommen. In einer Untersuchung,²⁾ die sich mit der Trennung und Reindarstellung der drei Gallensäuren befaßt und die ein neues für die Gewinnung reiner Cholsäure heute unentbehrliches Verfahren gebracht hat, erhält er die zwei Säuren im Einklang mit der Beschreibung von Latschinoff und Mylius als durch den Schmelzpunkt und die Löslichkeitsverhältnisse durchaus voneinander unterschiedene Stoffe. Wer die beiden Säuren einmal aus Galle isoliert hat, kann in der Tat nur schwer verstehen, wie man die ausgezeichnet charakterisierten Substanzen überhaupt jemals für identisch halten konnte. Die folgende Gegenüberstellung soll dies deutlich machen.

	Choleinsäure	Desoxycholsäure
Schmelzpunkt	186—188°	172—173°
Krystallform	rhombisch	tetragonal
Löslichkeit in Alkohol		
heiß	1 : 5	1 : 2
kalt	1 : 18	1 : 4
Eisessig (kalt)	leichtlöslich	schwerlöslich
Spez. Drehungsvermögen ³⁾	+ 48,47°	+ 51,86°

Als wir die beiden Säuren im Vakuum erhitzten, um aus ihnen in gleicher Weise wie bei der Cholsäure Wasser heraus-

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 65, S. 157 (1910).

²⁾ Ber., Bd. 41, S. 378 (1908).

³⁾ Pregl, Diese Zeitschr., Bd. 65, S. 158 (1910). Vgl. dazu S. 16 u. 20.

zuspalten,¹⁾ beobachteten wir bei der Choleinsäure ein anderes Verhalten als bei der Desoxycholsäure. Diese geht dabei glatt in Choladiäncarbonsäure über, worüber wir demnächst berichten werden. Auch aus der Choleinsäure entsteht zum größten Teil diese Säure, daneben aber als Art von Vorlauf zu 6 bis 8% der eingesetzten Substanz eine bei etwa 58° schmelzende gesättigte Säure, die in der Zusammensetzung auf Margarinsäure $C_{17}H_{34}O_2$ stimmte. Bei der Einwirkung von Natriumäthylat auf Choleinsäure wird diese Fettsäure in ungefähr dem gleichen Verhältnis abgespalten, der Rest der Choleinsäure geht dabei in Desoxycholsäure über. Auch Kochen in Xylol lieferte jene anfangs für Margarinsäure gehaltene Fettsäure. Obwohl wir Präparate von Choleinsäure verschiedener Herkunft benutzt hatten, die alle unter sich gleichartig und mit den Angaben in der Literatur in Übereinstimmung waren, hielten wir es doch für rätlich, auch eine Choleinsäure aus anderer Hand auf die gefundene Reaktion zu prüfen. Herr Kollege Hans Fischer konnte uns in willkommener und dankenswerter Weise ein Präparat überlassen, das nicht aus Galle, sondern aus Rindergallensteinen durch einfache Extraktion mit Äther gewonnen war.²⁾ Es unterschied sich in nichts von unseren Choleinsäuren und gab die neue Reaktion genau wie diese. Unsere ursprüngliche Hoffnung, wir hätten damit einen Übergang von den Gallensäuren zu den Fettsäuren gefunden, erwies sich im Fortgang der Untersuchung als trügerisch. Es stellte sich nämlich heraus, daß die Choleinsäure nicht mit der Desoxycholsäure isomer ist, daß sie vielmehr ein eigentümliches Kombinationsprodukt aus Desoxycholsäure und Fettsäuren (Palmitin- und Stearinsäure) darstellt. Unsere vermeintliche Margarinsäure war ein Gemisch dieser beiden Säuren. Was die Klarlegung der Sache erschwerte und den jahrzehntelangen Irrtum verursacht hat, das ist das eigentümliche stöchiometrische Verhältnis, in dem die Bestandteile zueinander stehen. Es kommen nämlich auf 1 Molekül Fettsäure 8 Moleküle Desoxycholsäure. Da-

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 80, S. 287 (1912).

²⁾ Ebenda Bd. 76, S. 96 (1911).

durch nähert sich die Zusammensetzung so weit der Formel $C_{34}H_{40}O_4$, daß eine Unterscheidung durch die Analyse nicht mehr möglich ist. Die Fettsäure ist andererseits so fest an die Desoxycholsäure gebunden, daß das gepaarte System der Choleinsäure selbst in den Salzen erhalten bleibt. Die Choleinsäure bildet in der Tat das von Latschinoff beschriebene schön krystallisierte Baryumsalz. Eine alkoholische Lösung der Säure läßt beim Einengen nur Choleinsäure auskrystallisieren, die auch beim völligen Verdampfen ungespalten als Rückstand bleibt. Unter diesen Bedingungen, die seither in der Regel zur Anwendung kamen, enthüllt also die Choleinsäure ihre wahre Natur nicht. Dagegen wird beim Umkrystallisieren aus heißem Eisessig die Fettsäure abgespalten. Latschinoff gibt auch an, daß ihm die in Eisessig gelöste Choleinsäure als Desoxycholsäure auskrystallisiert sei, aber er hat Sinn und Bedeutung dieser Veränderung nicht erkannt. Seine im allgemeinen auf gute und zuverlässige Beobachtung gegründeten Resultate verlieren gerade hier an Wert infolge des verhängnisvollen experimentellen Irrtums, daß die aus Eisessig gewonnene «wässrige Choleinsäure» — d. i. die Desoxycholsäure — aus Alkohol zum Teil als wasserfreie Choleinsäure, d. h. als wahre Choleinsäure auskrystallisiere.

Der Auffassung der Choleinsäure als Additionsprodukt von Fettsäure und Desoxycholsäure in dem angeführten ungewöhnlichen Verhältnis widerspricht noch die Angabe Pregls, nach der aus den beiden Säuren durch Oxydation mit Chromsäure verschiedene Dehydrosäuren entstehen sollen. Die Nachprüfung ergab, wie vorauszusehen war, daß jene Angabe auf einem Irrtum beruht, der im experimentellen Teil seine Aufklärung finden wird. In Wirklichkeit liefern beide Säuren die gleiche Dehydro-Desoxycholsäure $C_{24}H_{36}O_4$; aus der Choleinsäure wird nebenbei die Fettsäure abgespalten. Schließlich hat die einfache Synthese der Choleinsäure zur völligen Klarstellung ihrer Natur geführt. Eine alkoholische Lösung von Desoxycholsäure läßt auf Zugabe von Fettsäure (Palmitin-, Stearin- oder Ölsäure) eine Verbindung auskrystallisieren, die in jeder Beziehung mit der natürlichen Choleinsäure identisch ist. Es ist

gleichgültig, welche Menge von Fettsäure man zusetzt, immer krystallisiert ein einheitliches Additionsprodukt vom Schmelzpunkt ca. 186° aus, das die beiden Komponenten in dem erwähnten Verhältnis enthält. Dabei bekommt man naturgemäß aus jeder der drei Fettsäuren eine besondere Choleinsäure, aber die geringe Zumischung an dem Fettsäurebestandteil (ca. 8 %) ändert den chemischen Charakter so wenig, daß die drei Choleinsäuren in ihren physikalischen Eigenschaften keine wesentlichen Unterschiede aufweisen. So haben sie fast den gleichen Schmelzpunkt, zeigen sehr ähnliche krystallographische Verhältnisse und geben daher bei der Mischprobe keine Schmelzpunktsdepression. Dies ist der Grund, weshalb die natürliche Choleinsäure bisher als einheitliche Substanz aufgefaßt wurde, während sie in Wirklichkeit ein Gemisch von Palmitin-, Stearin- und häufig auch Olein-Choleinsäure ist. Ein geringer Löslichkeitsunterschied veranlaßt, daß bei fortgesetzter Krystallisation der natürlichen Choleinsäure ihr Gehalt an Stearin-Choleinsäure zunimmt, die Ölsäurekomponente dagegen verschwindet. So ist das Präparat, das Latschinoff krystallographisch messen ließ, nach der Kontrolle, die Geheimrat von Groth im hiesigen Mineralogischen Institut vornehmen ließ, reine Cholein-Stearinsäure gewesen (vgl. dazu den krystallographischen Teil). Die Ölsäure wird von der Choleinsäurebildung auch dann ausgeschaltet, wenn ein Vorherrschen der gesättigten Fettsäuren in der Galle die vorhandene Desoxycholsäure mit Beschlag belegt.

Die Choleinsäure als Typus.

Die auffallende Eigenschaft der Desoxycholsäure, mit den höheren Fettsäuren verhältnismäßig fest gefügte Additionsverbindungen zu liefern, hat dann zur Übertragung der Reaktion auf die ganze Klasse der Fettsäuren und weiter auf zahlreiche andere Körpergruppen geführt. Es hat sich ergeben, daß fast überall bei organischen Verbindungen solche Anlagerungen sich vollziehen, daß aus allen untersuchten Reihen schön krystallisierte Derivate von ähnlicher Festigkeit, wie sie die Gallencholeinsäure besitzt, dargestellt werden können. Die Choleinsäure wird da-

durch zu einem Typus für diese neuartigen Kombinationsprodukte der Desoxycholsäure, und wir dehnen diesen Namen auf die ganze neue Klasse aus, die uns nicht nur eine systematische und valenztheoretische, sondern vor allem eine beachtenswerte physiologische Bedeutung zu haben scheint. Die einzelnen Vertreter bezeichnen wir mit dem gemischten Namen, indem wir die veränderliche Komponente voranstellen. Wir sprechen also von einer Stearin-Choleinsäure, einer Xylol-, Kampfer-, Phenol- usw. Choleinsäure.

Zuerst wollen wir die Choleinsäuren der Fettsäurereihe behandeln. Es wurde zunächst festgestellt, daß alle Fettsäuren, die herangezogen wurden, Choleinsäuren geben, von der Stearin- und Palmitinsäure abwärts die Caprylsäure, Buttersäure, Propionsäure, Essigsäure. Ameisensäure gibt bemerkenswerterweise keine Choleinsäure. Man sieht also, daß es die Kohlenwasserstoffgruppen in den Fettsäuremolekülen sind, die die Bindung mit der Desoxycholsäure vermitteln. Die Essigsäure-Choleinsäure ist schon lange bekannt, sie ist nichts anderes als die Krystall-Eisessig-Verbindung der Desoxycholsäure, die von Mylius ¹⁾ wegen ihrer ziemlich geringen Löslichkeit zur Isolierung und Reinigung der Desoxycholsäure benützt worden ist. Die Essigsäure ist in ihr außerordentlich fest gebunden.

Bestimmend für eine ausführlichere Untersuchung der ganzen Reihe war die Frage nach der quantitativen Beteiligung der einzelnen Glieder am Aufbau der Choleinsäure. Dabei ergab sich, daß das molekulare Verhältnis von Fettsäure zu Desoxycholsäure mit steigendem Molekulargewicht kleiner wird. Die Essigsäure-Choleinsäure enthält die Bestandteile im Verhältnis 1 : 1, Palmitin- und Stearin-Choleinsäure im Verhältnis 1 : 8, in der Propion-Choleinsäure kommen auf 1 Molekül Fettsäure 3 Moleküle Desoxycholsäure, in der Buttersäureverbindung 4, in der Caprylsäureverbindung 5 Moleküle. Das Verhältnis ändert sich, wie man sieht, nicht genau arithmetisch (sonst müßte Propionsäure 1, Caprylsäure 4 Moleküle Desoxycholsäure binden), aber es ergibt sich aus der Reihe doch deutlich, daß nicht die Carboxylgruppen, sondern die

¹⁾ Ber., Bd. 19, S. 375 (1886).

Methylen- bzw. Methylgruppen die chemische Energie zur Bindung der Desoxycholsäuremoleküle hergeben. Damit stimmt auch aufs beste überein, daß sich von der Ameisensäure keine Choleinsäure erhalten läßt.

Aromatische Kohlenwasserstoffe liefern ebenfalls sehr stabile Choleinsäuren. Die von Xylol und Naphthalin wurden genau untersucht. In ihnen ist jeweils 1 Molekül des Kohlenwasserstoffs mit 2 Molekülen Desoxycholsäure verbunden. Sie können ohne jede Veränderung aus heißem Alkohol umkrystallisiert werden, krystallisieren prächtig und schmelzen beide um einiges höher als die reine Desoxycholsäure. Weiter wurden Choleinsäuren mit Benzoesäure, Benzaldehyd, Kampfer, Phenol, Carvon, Salol, Cholesterin und anderen Verbindungen dargestellt. Ist die Choleinsäure in Alkohol leichter löslich als Desoxycholsäure, so verfahren wir so, daß wir die Desoxycholsäure in der Schmelze des anderen Bestandteils lösen und den Überschuß davon durch ein geeignetes Lösungsmittel, wie Petroläther, entfernen. Nach dieser Methode wurden z. B. die Choleinsäuren des Phenols, des Kampfers und des Benzaldehyds gewonnen. Hervorzuheben ist, daß die Choleinsäuren mit riechender Komponente vollkommen geruchlos sind. In der Benzaldehyd-Choleinsäure hat der gebundene Aldehyd seine Oxydierbarkeit verloren, man kann die Verbindung tagelang an der Luft liegen lassen, ohne daß sie eine Veränderung erleidet.

Nach unseren Feststellungen unterliegt es keinem Zweifel, daß die festen krystallisierten Choleinsäuren aus außerordentlich großen Molekülen aufgebaut sind; das Molekulargewicht der Stearin-Choleinsäure ist z. B. 3420. Es ist bemerkenswert, daß Substanzen von dieser Molekulargröße, die der des Eiweißes sich nähert, noch so ausgezeichnet krystallisieren. Der Zustand der Lösungen ist noch zu untersuchen. Man wird hier an den Zerfall in die Bestandteile denken, aber dieser Zerfall ist sicher kein vollständiger, höchstens ein teilweiser. Denn die Ergebnisse der polarimetrischen Untersuchung lehren, daß das Drehungsvermögen der Choleinsäuren nicht dem des aktiven Bestandteils, der darin enthaltenen Desoxycholsäure, entspricht.

So ist $[\alpha]_D$ für Stearin-Choleinsäure gleich $+49,11^\circ$, während sich aus dem Drehungsvermögen der darin enthaltenen Desoxycholsäure subtraktiv der Wert von $+52,26$ berechnen würde.

Auffallenderweise ließen sich von der Cholsäure keine den Choleinsäuren analoge Verbindungen gewinnen, nicht einmal mit den höheren Fettsäuren. Als Cholsäure in geschmolzener Stearinsäure gelöst und die erstarrte Schmelze mit Petroläther extrahiert wurde, blieb reine Cholsäure vom Schmelzpunkt 196° zurück, währenddem natürliche Choleinsäure selbst nach 15 stündiger Extraktion im Soxhlet kaum Spuren von Fettsäure an Petroläther abgab. Die in der Literatur zerstreuten Angaben, daß Fettsäure von Cholsäure zähe zurückgehalten werde, sind daher falsch. Sie sind zweifellos darauf zurückzuführen, daß die verwendete Cholsäure mit Choleinsäure vermischt war. Damit finden auch die seinerzeit Aufsehen erregenden Angaben Tappeiners,¹⁾ daß bei der Oxydation von Cholsäure Fettsäure gebildet werden soll, ihre Erklärung. Es war eben früher ohne das erwähnte Langheldsche Reinigungsverfahren fast unmöglich, von Choleinsäure und damit von Fettsäure freie Cholsäure darzustellen. Trotzdem deutet die Tatsache, daß die in Wasser fast unlöslichen Natronseifen von Alkalicholaten gelöst werden, auch für die Cholsäure auf ein, wenn auch gegenüber der Desoxycholsäure abgeschwächtes Anlagerungsvermögen hin.

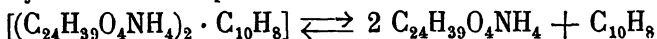
Die Salzbildung der Choleinsäuren.

Das Verhalten der Choleinsäuren gegen Alkalien beansprucht ein besonderes Interesse, aus chemischen Gründen und vor allem im Hinblick auf die Vorgänge im Darm, an denen die Galle mit ihrem Hauptbestandteil, den gallensauren Natriumsalzen, beteiligt ist und von denen im nächsten Kapitel eingehender die Rede sein wird. Wie oben erwähnt wurde, bildet die Choleinsäure aus Galle ein einheitliches Baryumsalz. Der Komplex $(8C_{24}H_{40}O_4 + C_{18}H_{36}O_2)$ geht unverändert in den Salzzustand hinein. Baryum-Choleinat ist in kaltem Alkohol

¹⁾ Liebigs Annalen, 194, S. 227 (1878); Ber., Bd. 12, S. 1627 (1879). Vgl. dazu Latschinoff, Ber., Bd. 12, S. 1022; Kutscheroff, ebenda, S. 2325.

spielend löslich — das Stearat ist darin unlöslich — und wird aus heißem, verdünntem Alkohol in schöner Krystallisation erhalten, in feinen Nadelbüscheln, die dem desoxycholsauren Baryum sehr ähnlich sind, sich aber durch den feststehenden Fettsäuregehalt von ihm unterscheiden. Es wird sicher auch möglich sein, die Alkalisalze der Choleinsäure zu isolieren. Daß sie existieren, geht schon aus der Tatsache hervor, daß eine Lösung von desoxycholsaurem Natrium die schwerlöslichen Natronseifen spielend aufnimmt. Merkwürdigerweise beschränkt sich der Lösungsgrad nicht auf das in den freien Choleinsäuren festgestellte Verhältnis, sondern übersteigt es beispielsweise beim Natriumpalmitat um das Vierfache, d. h. 1 Molekül Natronseife wird von 2 Molekülen Natriumdesoxycholat aufgenommen. In der Salzform äußert also die Desoxycholsäure eine stärkere Bindungskraft als im Zustand der freien Säure.

Diejenigen Choleinsäuren nun, deren Komponenten keine Säuren und in Wasser nicht löslich sind, wie die Naphthalin-, Kampfer-, Benzaldehyd-, Cholesterin-Choleinsäure verhalten sich bei der Salzbildung etwas anders als die Choleinsäuren der Fettsäurereihe. Bringt man z. B. Naphthalin-Choleinsäure durch verdünntes Ammoniak zur Lösung, so scheidet sich fast augenblicklich ein Teil des Kohlenwasserstoffs aus. Es bildet sich dabei ein Gleichgewicht zwischen Choleinat auf der einen, Desoxycholat und Naphthalin auf der andern Seite.



Dieses Gleichgewicht läßt sich nach den Regeln des Massenwirkungsgesetzes beeinflussen. Setzt man nämlich der trüben oder von Krystallen erfüllten Lösung eine solche von desoxycholsaurem Natrium zu, so geht der abgespaltene Bestandteil, hier also das Naphthalin, wieder als Choleinat in Lösung. Daraus ergibt sich die wichtige Tatsache, daß Stoffe, die in Wasser so gut wie ganz unlöslich sind, z. B. Naphthalin, Xylol, Cholesterin, Strychnin, Azobenzol, Kampfer, durch eine wässerige Lösung von Natriumdesoxycholat in Lösung gebracht werden.

Beim Lösen derartiger Choleinsäuren in Lauge oder Soda

wird der neutrale Bestandteil im allgemeinen nicht abgespalten. Die Lösungen bleiben im Gegensatz zu den ammoniakalischen klar. Die Cholsäure, von der sich freie, den Choleinsäuren analoge Derivate, wie erwähnt, nicht fassen lassen, besitzt in ihren Alkalisalzen — das zeigt schon die Auflösung von Natronseifen — ebenfalls die Fähigkeit, eine große Menge wasserunlöslicher Stoffe, zu denen auch die erwähnten gehören, zu kombinierten Salzen zu lösen. Mit der besprochenen neuentdeckten Eigenschaft der gallensauren Alkalisalze, wasserunlösliche Stoffe in Lösung zu bringen, kommen wir auf die

physiologische Bedeutung der Galle.

wie sie sich auf Grund der so gewonnenen chemischen Kenntnisse darstellt. Man wird gegen den Versuch, die an der Desoxycholsäure und Cholsäure gemachten Erfahrungen auf die natürlichen gepaarten Gallensäuren zu übertragen, den an sich berechtigten Einwand erheben, daß in der Galle jene Säuren ja nicht in freier Form, sondern nur mit Glykokoll und Taurin gepaart vorkommen. In der Tat liegt bis jetzt kein Beweis für das Gegenteil vor, und mühevollen und zeitraubenden Versuche, durch die wir die Frage nach dem Vorkommen der ungepaarten Gallensäuren in der Galle beantworten wollen, sind noch nicht zum Abschluß gelangt. Wir brauchen ihr Resultat indes nicht abzuwarten, da uns zwei Arbeiten aus dem Institut von Hammarsten in willkommener Weise die hier nötigen Unterlagen liefern. Wahlgren¹⁾ hat aus der Galle die sogenannte Glykocholeinsäure isoliert, und seine experimentellen Angaben zeigen unzweideutig, daß er mit ihr in der Tat eine Choleinsäure in der Hand gehabt hat. Das gleiche hat auch Gulbring²⁾ für die Taurocholeinsäure sichergestellt. Dadurch ist erwiesen, daß das Choleinsäureprinzip — so wollen wir die von uns entdeckte Anlagerungsfähigkeit der Gallensäuren nennen — auch für die gepaarten Desoxycholsäuren Gültigkeit hat. Zudem wird gezeigt werden, daß sich in der Galle selbst die hier interessierenden

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 36, S. 556 (1902).

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 45, S. 456.

Eigenschaften der freien gallensauren Salze unverändert wiederfinden.

Die moderne Stoffwechselphysiologie ist mehr und mehr zu der Auffassung gekommen, daß alle Stoffe, die vom Magen-Darmkanal aus dem Organismus zugeführt werden, in wasserlösliche Form gebracht werden müssen. Nur Lösungen werden von den Zellen der Darmwand resorbiert und von da aus durch Blut oder Lymphe weiterbewegt. Für die Ernährung leistet der Verdauungsprozeß diesen wichtigen Dienst, indem durch hydrolysierende Fermente (Amylasen, Lipasen, Proteasen) die vorher in Wasser unlöslichen Nahrungsstoffe wasserlöslich gemacht werden. Nur für die Fettresorption steht die Frage noch offen, ob hier nicht auch sehr feine Emulsionen von den Darmepithelien aufgenommen werden können. Für Stoffe, die nicht durch einfache Hydrolyse löslich gemacht werden, besitzt der Organismus in den Drüsensekreten von Magen und Darm keine Hilfsmittel zur Löslichmachung. Hier scheint nun das Choleinsäureprinzip eine wichtige Aufklärung zu bringen. Es war bisher unverständlich, wie Stoffe von sehr geringer Wasserlöslichkeit, z. B. gewisse Alkaloide, wie Strychnin oder Chinin, per os eingegeben so rasch zur Resorption und Wirkung kommen können, obwohl sie, nach den Erfahrungen im Reagenzglas, unter der alkalischen Wirkung des Darmsaftes als freie unlösliche Basen augenblicklich zur Fällung kommen müßten. Die im experimentellen Teil beschriebenen Versuche mit den beiden Alkaloiden zeigen, daß durch Natriumdesoxycholat und auch -cholat ihre Fällbarkeit aufgehoben wird. Frische Galle bringt die gleiche Wirkung hervor. Wir glauben, daß durch das Choleinsäureprinzip die Resorption von in Wasser unlöslichen Stoffen ganz allgemein erklärt wird, daß also die Galle u. a. auch die wichtige Funktion hat, Substanzen, die durch die Verdauung nicht zur Lösung kommen, durch die Darmwand hindurch zu transportieren.¹⁾ Von diesem Gesichts-

¹⁾ Wenn diese Theorie richtig ist, muß sie sich durch folgenden Versuch beweisen lassen: Ein Tier mit Gallenfistel sollte nach Eingabe von Strychnin die typischen Vergiftungserscheinungen nicht oder zum mindesten viel langsamer zeigen als ein Tier mit normaler Gallenentleerung.

punkt aus wird auch die Resorption von unverseiftem Fett verständlich. Gallensaure Salze lösen auch Fette. Die Aktivierung der Darmlipase durch die Galle dürfte damit zusammenhängen, daß das Fett in Lösung gebracht und dadurch der Einwirkung des Enzyms leichter zugänglich gemacht wird.¹⁾ Die Fettlösung durch gallensaure Salze läßt sich an der Milch sehr deutlich demonstrieren. Auch die Verhältnisse der Cholesterinresorption werden jetzt klarer. Wenn es gelingt, Beziehungen zwischen dem Gallensäuregehalt der Galle und Neigung zur Gallensteinbildung zu finden derart, daß Cholelithiasis mit Armut an gallensauren Salzen zusammenhängt, so ist ein wichtiger pathologischer Beitrag für die Bedeutung des Choleinsäureprinzips erbracht und gleichzeitig auch vielleicht eine wissenschaftliche Grundlage gegeben für die empirische Therapie der Verordnung von Gallensäurepräparaten als Cholagoga an Gallensteinleidende.

Über die Teilnahme der gallensauren Salze am großen Blutkreislauf ist zu wenig bekannt, als daß man berechtigt wäre, die Folgerungen des Choleinsäureprinzips auch in diesem Zusammenhang zu diskutieren. Aber wir möchten doch auf die große Wichtigkeit hinweisen, die die Lösung dieser Frage, d. h. ob das Blut gallensaure Salze enthält oder nicht, für das Problem der Hydrodiffusion der Körperzellen, für die Mechanik des ganzen Stoffwechsels haben könnte. Der Weg scheint gegeben in der glänzenden Methode, mit der neuerdings Abel die Gegenwart freier Aminosäuren im Blut nachgewiesen hat.²⁾

Experimenteller Teil.

Für die Darstellung der Desoxycholsäure bzw. Choleinsäure aus Galle verweisen wir vorläufig auf die Angaben der Literatur, in besonderem auf die von Pregl.³⁾ Die Aufarbeitung der Gallensäuren nach Langheld,⁴⁾ welche die vorzügliche Reinigung der Cholsäure über das Natriumsalz

¹⁾ Vgl. dazu A. Hamsik, Diese Zeitschr., Bd. 65, S. 232 (1910).

²⁾ Vgl. Zitat in Abderhalden, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 3. Aufl., 1914, S. 540.

³⁾ Monatshefte, Bd. 24, S. 19 (1903).

⁴⁾ Ber., Bd. 41, S. 381 (1908).

ermöglicht, enthält für die Isolierung der beiden anderen Säuren den grundlegenden Irrtum, daß der Ester der Desoxycholsäure in Ligroin unlöslich sei. Das Verfahren ist, aus diesem Grunde unbrauchbar. Wir werden in einer späteren Abhandlung ausführlich über die Verarbeitung von Ochsen-galle und über die Darstellung der Desoxycholsäure berichten. Bei den üblichen Methoden erhält man stets die gewöhnliche Choleinsäure, das zusammen krystallisierende Gemisch von im wesentlichen Palmitin- und Stearin-Choleinsäure. Sie ist durch Umkrystallisieren aus der 5fachen Menge heißen Alkohols oder der 6fachen Menge Holzgeists rein zu erhalten und zeigt dann den Schmelzpunkt 186 bis 187°; bei 182° beginnt die Substanz weich zu werden. Beim Abkühlen erstarrt sie bei 175° wieder zu Krystallen. Aus Lösungen, die nicht heiß gesättigt sind, lassen sich beim langsamen Abkühlen große, glänzende Krystalle erhalten, die sich als Prismen mit abgeschrägter Basis darstellen und meist zu Rosetten gruppiert sind.

Die vielen Analysen, die vorliegen, stimmen auf ein Isomeres der Desoxycholsäure, sie lassen den Eintritt von Fettsäure in dem geringen Verhältnis von 1:8 Molekülen nicht erkennen.

Für $C_{24}H_{40}O_4$	C 73,41	N 10,28
• $(C_{24}H_{40}O_4)_8 + C_{17}H_{34}O_2$ ¹⁾	C 73,63	H 10,39.

Für das spezifische Drehungsvermögen fanden wir an einem Präparat vom Schmelzpunkt 185° den gleichen Wert wie Pregl:

$C = 2,05\%$; Diff. + 0,99°. $[\alpha]_D^{20} = + 48,28^\circ$ (Pregl + 48,47°, Langheld 47,97°, Fischer u. Meyer ²⁾ 48,72°).

Die Abspaltung der Fettsäure wurde zuerst bei der trockenen Destillation der Choleinsäure im Vakuum wahrgenommen. Dabei gingen bei ca. 250° etwa 6% der angewandten Säure als leicht erstarrendes Öl über. Auf Grund der Analysen und der Titration schien Margarinsäure vorzuliegen, die sich indes nicht identifizieren ließ. Der Vergleich mit einem Gemisch von Palmitin- und Stearinsäure vom

¹⁾ Mittel aus je 1 Mol. Palmitin- und Stearinsäure.

²⁾ Diese Zeitschr. 76, S. 96 (1911).

gleichen Schmelzpunkt 57—58° zeigte dann, daß ein solches vorlag. Zur quantitativen Bestimmung der Fettsäure wurde die natürliche Choleinsäure durch kochendes Xylol zersetzt. Dabei entsteht infolge von Massenwirkung die schön krystallisierte Xylolcholeinsäure; die abgespaltenen Fettsäuren bleiben gelöst. 1 g Substanz wurde in 8 ccm Xylol unter Rückfluß gekocht. Die Krystalle gehen in Lösung, gleichzeitig aber scheiden sich glänzende lange Nadeln ab, die unter dem Mikroskop teilweise federartige Verwachsung zeigen. Nach einer Stunde läßt man erkalten, saugt die in Xylol fast unlösliche Xylolcholeinsäure ab, wäscht mit Benzol, unterschichtet die Lösung in einem Rundkolben mit dem doppelten Volumen Wasser und kocht am absteigenden Kühler das organische Lösungsmittel ab. Der Rückstand wird ausgeäthert, der Äther mit Natriumsulfat getrocknet, weggedampft und das, was jetzt bleibt, wird einige Male mit warmem Gasolin extrahiert. Nach dem Verdampfen des Gasolins bleibt das Gemisch der reinen in der Kälte sofort erstarrenden Fettsäuren. Sie wurden in wenig Alkohol aufgenommen und mit $n/_{10}$ -Lauge und Phenolphthalein titriert. 5 Bestimmungen mit Präparaten verschiedener Herkunft, darunter auch von einem aus Rindergallensteinen, gaben Werte zwischen 7,6 und 8,3% Fettsäure mit einem Durchschnitt von 8,2%. Für Palmitin-Choleinsäure $(C_{24}H_{40}O_4)_3 + C_{16}C_{32}O_2$ berechnen sich 7,55% Palmitinsäure, für Stearin-Choleinsäure von der entsprechenden Zusammensetzung 8,3% Stearinsäure.

Die Analyse der aus Alkohol umkrystallisierten, bei der Destillation erhaltenen Fettsäuren (Schmelzpunkt 58°) lieferte Zahlen, die ebenfalls auf ein Gemisch ungefähr gleicher Teile der beiden Säuren stimmten:

0,1167 g Substanz gaben 0,3224 CO_2 und 0,1331 H_2O

$C_{17}H_{34}O_2$: Berechnet: C 75,60 H 12,60

Gefunden: C 75,34 H 12,76.

Durch überschüssiges Natriumäthylat wird die Fettsäure aus der alkoholischen Lösung der Choleinsäure als gallertige Seife abgeschieden. Diese Reaktion erlaubt einen sehr scharfen Nachweis auf kleine Mengen natürlicher Choleinsäure. Einige Milligramm werden mit zwei Tropfen Alkohol übergossen, dann

kocht man mit einem Tropfen Äthylatlösung auf und läßt erkalten.

Um die Fettsäuren im großen aus der Choleinsäure abzutrennen, benützt man entweder das Verdrängungsverfahren mit Xylol oder mit Eisessig. Man kocht mit der vierfachen Menge Eisessig einige Minuten auf und erhält dann beim Erkalten die gut krystallisierte Essigsäure-Choleinsäure vom Schmelzpunkt $144-146^{\circ}$. Sie enthält auf 1 Molekül Desoxycholsäure 1 Molekül Essigsäure. Aber auch diese Säure ist so fest gebunden, daß die Choleinsäure geruchlos ist, wochenlang im gewöhnlichen Vakuum konstant bleibt und erst im Hochvakuum bei 110° langsam die Essigsäure abgibt.

0,8034 g verloren erst nach 72 Stunden 0,1003 g Essigsäure = 12,48 %

Theorie für $C_{24}H_{40}O_4 \cdot C_2H_4O_2$ 13,21 %

7,8232 g gaben erst nach 120 Stunden 1,0467 g = 13,38 % ab.

Gegenüber feuchtem Lackmuspapier zeigt die Eisessigverbindung keine saure Reaktion.

Auch Äthyläther erlaubt unter gewissen Umständen infolge von Massenwirkung die Abspaltung der Fettsäuren aus der natürlichen Choleinsäure, indem er sich an deren Stelle setzt. Wenn man eine gesättigte Lösung von Choleinsäure in Alkohol von 40° in das zehnfache Volumen Äther einfließen läßt, den Alkohol mit Wasser herausschüttelt und die getrocknete Lösung zur Krystallisation stehen läßt, so scheidet sich größtenteils die Ätherverbindung der Desoxycholsäure, die Äthyläther-Choleinsäure aus. Nach dem Abdampfen des Äthers kann man dem Rückstand durch Gasolin etwa zwei Drittel der gesamten Fettsäure entziehen, der Rest bleibt in der Choleinsäure. Es liegt hier offenbar ein Gleichgewicht vor, das durch die Konkurrenz zwischen Fettsäure und Äther bestimmt wird und daher durch Konzentrationsänderung nach der einen oder anderen Seite verschoben werden kann. Aus diesem Grund wird auch der Choleinsäure ein großer Teil der Fettsäure entzogen, wenn man ihre Alkalisalzlösungen unter Äther ansäuert. Die Hauptmenge der in Äther schwerlöslichen Desoxycholsäure scheidet sich als krystallinische Äther-

verbindung unlöslich ab. Die zugehörige Fettsäure kann aus dem Äther, wie beschrieben, isoliert werden.

Desoxycholsäure enthält alle Lösungsmittel, aus denen sie auskrystallisiert, außer den Alkoholen, ungemein fest gebunden. Es bedarf tagelangen Trocknens im Hochvakuum bei 130° , um Eisessig, Essigester, Äther, Aceton wegzubringen. Es ist uns auf diese Weise nicht einmal vollständig gelungen, die aus Äther, Essigester, Aceton krystallisierten Präparate vollständig von diesen Addenden frei zu erhalten.

Die völlig reine Desoxycholsäure vom scharfen Schmelzpunkt 172° wird nur durch Krystallisation aus Alkohol gewonnen. Aber auch nur sorgfältig vorgereinigte Präparate sind dieser Reinigung zugänglich, da die Desoxycholsäure große Neigung hat, in Alkohol übersättigte Lösungen zu bilden. Man löst in der $2\frac{1}{2}$ -fachen Menge warmen Alkohols und erhält dann, wenn die Krystallisation einmal eingesetzt hat, große glänzende Aggregate, die dem tetragonalen System angehören. Nach kurzem Trocknen im Vakuum besitzt die Substanz den Schmelzpunkt 125° (unter Aufschäumen). Schon beim längeren Liegen an der Luft verwittern die Krystalle allmählich, beim Trocknen im Hochvakuum bei 110° zerfallen sie zu kreidigen Pseudomorphosen und werden bald gewichtskonstant. Sie erreichen dann den oben angegebenen Schmelzpunkt.

Titration: 0,1048 g brauchen 2,64 ccm $\frac{n}{10}$ -NaOH. Mol.-Gew. 396 statt 392.

Spez. Drehungsvermögen (in Alkohol). Konz. 2,0344 $\frac{g}{100}$, abgeles. Winkel $+1,16^{\circ}$. $[\alpha]_D^{20} = +57,02^{\circ}$.

Die vorliegenden Angaben über die spez. Drehung der Desoxycholsäure enthalten erheblich niedrigere Werte. Pregl gibt z. B. $51,86^{\circ}$ an, Vahlen¹⁾ $49,86^{\circ}$, Langheld $53,28^{\circ}$, Fischer²⁾ $55,20^{\circ}$.

Wir vermuten, daß die genannten Autoren Lösungsmittel enthaltende Säuren gemessen haben, Präparate, die aus Alkohol-Äther, Essigäther, Aceton oder Eisessig umkrystallisiert und nicht völlig getrocknet waren. Die Elementaranalyse sagt hier

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 21, S. 273 (1895).

²⁾ Ebenda Bd. 73, S. 233 (1911).

über den Reinheitsgrad nicht viel mehr als bei der Choleinsäure, und die Analysen der früheren Autoren lassen zudem ein geringes Zuwenig an Kohlenstoff deutlich erkennen. Ein aus Essigester umkrystallisiertes Präparat war im 2 mm-Vakuum 26 Stunden lang bei 110° und 72 Stunden bei 130° getrocknet worden. Trotzdem war der Essigester noch nicht vollständig weggegangen, was sich nur auf polarimetrischem Wege feststellen ließ; die spezifische Drehung betrug nämlich 56,34°. Der Schmelzpunkt war unscharf. Genau die gleiche Beobachtung wurde bei einem aus Aceton umkrystallisierten Präparat gemacht, das nach der gleichen Trocknungszeit unscharf bei 171° schmolz und eine Drehung von + 56,33° bei ca. 2%iger Konzentration besaß.

Daß der oben angegebene Wert der reinen Desoxycholsäure zukommt, wurde noch an einem zur Konstanz getrockneten Präparat von Eisessig-Choleinsäure bestätigt. Konz. 2,197%, abgel. Winkel $1,255^{\circ} [\alpha]_D^{20} = + 57,12^{\circ}$.

Die aus Alkohol-Äther umkrystallisierte Desoxycholsäure schmilzt genau nach den Angaben von Pregl ziemlich scharf bei 153° (unter Schäumen); sie besaß nach 24stündigem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure die spez. Drehung von + 54,18°, enthält aber noch einige Prozent Äther fest gebunden, die auch nach tagelangem Aufenthalt im Hochvakuum bei 130° nicht vollständig zu entfernen sind.

Desoxycholsäureäthylester.

(Bearbeitet von Fr. H. Stender.)

Latschinoff erwähnt den Ester ohne Angabe einer Analyse mit dem Schmelzpunkt 71°. Sein Präparat war unrein, denn die reine Substanz schmilzt um 10° höher. 5 g reine umkrystallisierte Desoxycholsäure werden in 50 ccm trockenen Alkohols gelöst, mit Chlorwasserstoffgas behandelt, bis etwa 6% davon aufgenommen sind. Nach 4 stündigem Kochen unter Rückfluß gießt man in Wasser, äthert aus, schüttelt die Ätherlösung mit Soda und Wasser, trocknet kurz mit Chlorcalcium und läßt dann an der Luft verdunsten. Der meist sofort, sonst beim Anreiben mit Petroläther, krystallisierende Rückstand wird

aus Ligroin umkrystallisiert. Aus Nadeln zusammengesetzte kugelige Aggregate vom Schmelzpunkt 81°.

0,2030 g: 0,5544 CO₂ und 0,1931 H₂O

C₂₆H₄₄O₄. Berechnet: C 74,23% H 10,54%

Gefunden: C 74,48% H 10,65%.

Spez. Drehung (in Alkohol). Konz. 2,0336%; abgeles. Winkel 1,01°. $[\alpha]_D^{20} = + 49,66^\circ$.

Der Ester ist in den meisten Lösungsmitteln leicht löslich, in Wasser unlöslich.

Desoxycholsäure und Choleinsäure geben die gleiche Dehydrosäure.

(Gemeinsam mit Frl. H. Stender.)

10 g Desoxycholsäure wurden nach dem von Hammarsten für die Cholsäure angegebenen, von Latschinoff¹⁾ und Pregl²⁾ auf die Oxydation der Desoxycholsäure übertragenen Verfahren in Eisessig mit Chromsäure oxydiert. Die Temperatur ließ man nicht über 25° steigen. Das im Vakuum getrocknete krystallinische Rohprodukt wurde in einer Extraktionshülse mit Äther ausgezogen. Die aus dem eingengten Äther in breiten Blättern krystallisierte Säure wurde aus wenig 70%igem Aceton und dann noch zweimal aus wenig unverdünntem Alkohol umkrystallisiert. Man erreicht so den Schmelzpunkt 188—189° (bis 182° beginnende Erweichung); höher läßt sich der Schmelzpunkt auch bei weiter fortgesetztem Umkrystallisieren nicht steigern. Die Dehydro-Desoxycholsäure krystallisiert in der von Latschinoff treffend bezeichneten Form, «in zerrissenen, unregelmäßigen, glänzenden Blättchen». Sie wurden nach 24stündigem Stehen im Vakuum gewichtskonstant.

0,1256 g: 0,3409 CO₂ und 0,1078 H₂O

C₂₄H₃₆O₄. Berechnet: C 74,17% H 9,34%

Gefunden: C 74,02% H 9,60%.

Spez. Drehungsvermögen. Konz. 1,987%; abgeles. Winkel 1,83°. $[\alpha]_D^{20} = + 92,09^\circ$.

Die gleiche Säure entsteht, neben dem Fettsäuregemisch, bei der Oxydation der Choleinsäure. 10 g Choleinsäure aus Galle

¹⁾ Ber., Bd. 20, S. 1044 (1887).

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 65, S. 159 (1910).

wurden genau wie die Desoxycholsäure oxydiert. Das trockene Rohprodukt wurde zuerst mit Gasolin in der Hülse extrahiert. Dabei gingen neben wenig Dehydrosäure 0,4 g Fettsäure, d. i. etwa die Hälfte, in Lösung, die in der üblichen Weise abgetrennt und titrimetrisch bestimmt wurden. Dann folgte eine Extraktion mit Äther und die weitere Reinigung der daraus krystallisierten Säure wie oben beschrieben. Nach viermal wiederholter Krystallisation aus Aceton, Äther, Alkohol, Äther war die Säure rein. Aussehen, Schmelzpunkt (Mischprobe ohne Depression), spezifische Drehung waren die gleichen wie bei der Dehydro-Desoxycholsäure.

Spez. Drehung. Konz. 1,982%: abgeles. Winkel $1,88^{\circ}$. $[\alpha]_D^{20} = +92,23^{\circ}$.

Pregl hat, wie im theoretischen Teil erwähnt wurde, für das Dehydroprodukt der Choleinsäure den Schmelzpunkt 178° und das spez. Drehungsvermögen mit $+66,76^{\circ}$ gefunden. Der Irrtum ist ohne Zweifel darauf zurückzuführen, daß bei der Krystallisation aus wässerigem Alkohol, die zur Reinigung diente, die Fettsäuren ständig mitgeführt wurden. Es ist in der Tat nicht leicht, sie vollkommen zu entfernen, und man sieht ja auch aus unserer Beschreibung, daß mehrstündige Extraktion mit Gasolin nur die Hälfte davon aus dem Oxydationsprodukt herausgeholt hat. Den Rest haben wir aus dem Rückstand der Mutterlaugen nach und nach durch das gleiche Lösungsmittel extrahieren können, aber auch damit sind wir nur zu der Gesamtmenge von 0,62 g an reiner Fettsäure (anstatt 0,8) gelangt, ein Beweis dafür, daß die Fettsäuren von der unreinen Dehydro-Desoxycholsäure zähe festgehalten werden. Den großen Unterschied im Drehungsvermögen können wir nur auf ein experimentelles Versehen oder auf eine unwahrscheinlich starke Anhäufung von Fettsäure, der jedoch der hohe Schmelzpunkt kaum entsprechen könnte, zurückführen.

Die Synthese der natürlichen Choleinsäuren.

1. Stearin-Choleinsäure. Man löst 2g Desoxycholsäure (Äther- oder Eisessigverbindung) in 8 ccm heißen Alkohols und gibt hierzu 0,2 g reine Stearinsäure. Auch wenn man 0,1 oder 0,5 g Stearinsäure verwendet, in jedem Fall krystallisiert

die gleiche Stearin-Choleinsäure vom Schmelzpunkt $186-187^{\circ}$ aus. Sie wird aus der $4\frac{1}{2}$ - bis 5fachen Menge heißen Alkohols umkrystallisiert. Sie erwies sich als identisch mit reiner natürlicher Choleinsäure, wie sie von Jerofejew ¹⁾ gemessen worden ist (vgl. den krystallographischen Teil).

0,1704 g: 0,4588 CO₂ und 0,1598 H₂O
 $(C_{24}H_{40}O_4)_8 \cdot C_{18}H_{36}O_2$. Berechnet: C 73,68% H 10,41
 Gefunden: C 73,43% H 10,54.

Spez., Drehung (in Alkohol). Konz. 2,0664%; abgeles. Winke
 $+1,015^{\circ}$. $[\alpha]_D^{20} = +49,11^{\circ}$.

Bei der Titration brauchten 0,1158 g 3,0 ccm n_{10} -NaOH; das ergibt ein Äquivalent von 386, ber. 381. Die quantitative Bestimmung der drei höheren Fettsäuren in den Choleinsäuren wurde wie oben ausgeführt. Eine Kontrolle mit Ölsäure erwies die ausreichende Genauigkeit. 0,095 g abgewogene Ölsäure wurden aus Xylol in der geschilderten Weise isoliert, bei der Titration wurden 0,0936 g wieder gefunden.

Fettsäurebestimmung in der Stearincholeinsäure.

Angew. Substanz g	n_{10} -NaOH ccm	entspr. Stearinsäure g	in %	für obige Formel berechnet
I. 0,309	0,88	0,0249	8,09	8,30
II. 0,346	0,97	0,0275	7,96	

2. Palmitin-Choleinsäure. Darstellung wie bei 1. Die reine, aus Alkohol umkrystallisierte Verbindung schmilzt bei $184-185^{\circ}$, bei 178° beginnt sie zu sintern. Alle drei in der Galle vorkommenden Choleinsäuren erscheinen aus nicht allzu konzentrierten alkoholischen Lösungen beim langsamen Erkalten in schönen glänzenden Rosetten.

Fettsäurebestimmung:

Angew. Substanz g	n_{10} -NaOH ccm	entspr. Palmitinsäure g	in % für 8 C ₂₄ H ₄₀ O ₄ · C ₁₆ H ₃₂ O ₂ berechnet	
I. 0,341	1,11	0,0284	8,33	7,55
II. 0,5834	1,67	0,0427	7,33	

¹⁾ Ber., Bd. 20, S. 1053 (1887).

Analyse: 0,1135 : 0,3069 CO_2 und 0,1077 H_2O
 $(\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4)_3 \cdot \text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_2$. Berechnet: C 73,58% H 10,38%
 Gefunden: C 73,74% H 10,54%.

3. Olein-Choleinsäure. Wie die beiden anderen dargestellt. Aus Alkohol schöne Nadeln vom Schmelzpunkt 185° bis 186° (Sinterung bei 180°). Permanganat wird naturgemäß entfärbt.

Titration: 0,1132 g : 2,95 $\text{N}/10$ -NaOH. Äquivalent 384 statt 381.
 Ölsäurebestimmung: 0,452 g ergaben 0,0377 g = 8,36% (Ber. 8,30%).

Eine gemeinsame Krystallisation gleicher Teile der drei Choleinsäuren schmilzt bei 185 — 186° .

4. Caprylo-Choleinsäure. In gleicher Weise dargestellt. Aus Alkohol umkrystallisiert, Schmelzpunkt 170 — 172° nach vorherigem Erweichen.

Titration: 0,1188 g : 3,38 ccm $\text{N}/10$ -NaOH. Äquivalent 351, für $(\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4)_3 \cdot \text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$. Berechnet: 349.

Analysen: 0,1657 g : 0,4439 CO_2 und 0,1540 H_2O . 0,2077 g : 0,5598 CO_2 und 0,1903 H_2O .

$(\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4)_3 \cdot \text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2$. Berechnet: C 73,00% H 10,24%
 Gefunden: C 73,17% H 10,40%
 C 73,34% H 10,25%.

5. Butyro-Choleinsäure. Mit der doppelten Menge der Berechnung von Buttersäure in der heiß gesättigten alkoholischen Lösung dargestellt. Schmelzpunkt unscharf bei 170° .

Titration: 0,1242 g verbrauchten 3,83 ccm $\text{N}/10$ -NaOH. Äquivalent 324
 0,1046 „ „ 3,16 „ $\text{N}/10$ -NaOH. „ 331
 für $(\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4)_4 \cdot \text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$. Berechnet: 331.

6. Propio-Choleinsäure. 5 g Desoxycholsäure und 3 g Propionsäure werden in 10 ccm Alkohol heiß gelöst. Die beim Erkalten auskrystallisierte Säure wird aus wenig heißem Alkohol umkrystallisiert. Schmelzpunkt unscharf bei 168° . Die Löslichkeit in Alkohol steigt mit abnehmendem Molekulargewicht der Fettsäure. Gleichzeitig sinkt der Schmelzpunkt.

Titration: 0,125 g : 3,94 ccm $\text{N}/10$ -NaOH. Äquivalent 317.

Berechnet für $(\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4)_3 \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$. Berechnet: 313.

Die Aceto-Choleinsäure ist schon oben besprochen. Hier ist nur nachzutragen, daß sie in Übereinstimmung mit den vorliegenden Angaben scharf bei 145° unter Aufschäumen

schmilzt. Das spezifische Drehungsvermögen wurde zu $+53^{\circ}$ gefunden.

Mit Ameisensäure konnte keine Choleinsäure erhalten werden. Aus einer alkoholischen Lösung der beiden Komponenten krystallisiert nichts aus; fällt man mit Wasser und isoliert den beim Reiben flockig werdenden Niederschlag, so findet man, daß von der Desoxycholsäure nur eine minimale Menge Ameisensäure, ohne Zweifel mechanisch, zurückgehalten wird. Die Titration eines derartigen Präparats ergab ein Äquivalent von 353, was auf 1 Molekül Ameisensäure + 8 Moleküle Desoxycholsäure (354) stimmen würde, ein sehr unwahrscheinliches Verhältnis. Die erhaltene amorphe Verbindung trug jedoch durchaus nicht den Charakter der Einheitlichkeit an sich. Bei einem anderen Versuch wurde die Lösung von 1 g Desoxycholsäure in 1 ccm Ameisensäure durch Zusatz von Äther zur Krystallisation gebracht. Das Produkt war vollkommen frei von Ameisensäure und ergab bei der Titration als Äquivalent 398 (Desoxycholsäure 392). Die Ameisensäure fällt demnach hinsichtlich der Fähigkeit, eine Choleinsäure zu bilden, aus der Gruppe der Fettsäuren heraus. Wenn man eine Lösung von Desoxycholsäure in Ameisensäure im Verhältnis 1 : 1 im Vakuum eindampft, den bleibenden Rückstand mit Gasolin anreibt, bis er pulverig geworden ist, so entsteht allerdings ein Produkt, das aus gleichen Molekülen Desoxycholsäure und Ameisensäure aufgebaut ist. Es schmilzt schon bei 90° unter lebhafter Zersetzung und zeigt bei der Titration das charakteristische Verhalten, daß nur die Hälfte des Säureäquivalents sofort acidimetrisch angezeigt wird, während die andere Hälfte erst nach und nach, nach Art eines Lactons oder Esters die entsprechende Menge Alkali absättigt. Die Verbindung hat ganz und gar die Eigenschaften eines Formylesters der Desoxycholsäure, hervorgegangen aus der Veresterung von einer der beiden alkoholischen Hydroxylgruppen. Die nähere Untersuchung wird darüber sicheren Aufschluß geben.

Titration: 0,1012 g verbrauchten sofort 2,6, nach und nach weitere 2,4 ccm $\frac{n}{10}$ -NaOH.

Diese 5 ccm entsprechen einem Äquivalent von 202, für

den (verseiften) Formylester $C_{23}H_{40}O_5$ berechnet sich ein solches von 210.

Choleinsäuren von aromatischen Kohlenwasserstoffen.

Die Verbindung mit Benzol wird aus Desoxycholsäure oder aus der Choleinsäure der Galle — hier unter Verdrängung der Fettsäure — bei mehrstündigem Kochen in diesem Lösungsmittel in schönen Spießen vom Schmelzpunkt 164° (unter Aufschäumen) erhalten. Sie wurde nicht näher untersucht. Dagegen haben wir uns eingehender mit den Derivaten des Xylols und Naphthalins beschäftigt. Die Xylol-Choleinsäure wurde immer als Nebenprodukt bei der quantitativen Bestimmung der höheren Fettsäuren gewonnen. Sie ist in kaltem Xylol sehr schwer, in heißem etwas leichter löslich und krystallisiert daraus in breiten Lanzetten, die häufig federartig verwachsen sind. Der Schmelzpunkt liegt bei 183° (Sintern gegen 170°). Aus Alkohol läßt sie sich in seidenweichen, zu Kugeln zusammengeballten Nadeln erhalten; sie löst sich darin etwa in gleichem Verhältnis wie die Stearin-Choleinsäure. Xylol-Choleinsäure krystallisiert auch sofort aus, wenn man in eine alkoholische Desoxycholsäurelösung (1:3) einige Tropfen Xylol gießt.

0,1550 g : 0,4261 CO_2 und 0,1416 H_2O ; Mikroanalyse nach Pregl:
3,636 mg : 10,04 mg CO_2 und 3,23 mg H_2O .

$(C_{24}H_{40}O_4)_2 \cdot C_8H_{10}$. Berechnet: C 75,51 H 10,11
Gefunden: C 74,97 75,31% H 10,22 9,90%

Titration: 0,1224 g brauchten 2,75 ccm n_{10} -NaOH; Äquivalent 445	} ber.
0,1015 „ „ 2,30 „ n_{10} -NaOH; „ 441	
0,0995 „ „ 2,28 „ n_{10} -NaOH; „ 437	

445

Xylol-Choleinsäure löst sich in verdünnter Natronlauge oder Sodalösung klar auf. Beim Kochen wird daraus ein Teil des Xylols abgespalten. Aber auch bei langem Erhitzen bleibt ein Rest im Salz gebunden. Aus diesem Grunde haben Versuche, das Xylol direkt zu bestimmen, immer ein zu niedriges Resultat ergeben. Wir verfahren dabei so, daß wir eine abgewogene Menge Substanz mit verdünnter Natronlauge ver-

setzten, das Xylol in ein glühendes Verbrennungsrohr aus Quarz trieben, das Wasser durch Chlorcalcium absorbierten und die Kohlensäure in einem gewogenen Kaliapparat auffingen. Aus dem gleichen Grund hat auch die

Naphthalin-Choleinsäure

stets zu niedrige Werte geliefert. Darstellung durch Zugabe des Kohlenwasserstoffs zu einer heißen alkoholischen Desoxycholsäurelösung. Krystallform und Löslichkeitsverhältnisse ähnlich wie bei der vorhergegangenen Choleinsäure. Glänzende Nadeln vom Schmelzpunkt 182°.

Analyse: 0,1630 g: 0,4544 CO ₂ und 0,1430 H ₂ O			
(C ₂₄ H ₄₀ O ₄) ₂ · C ₁₀ H ₈ . Berechnet: C 76,31% H 9,65%			
Gefunden: C 76,02% H 9,81%.			
Titration: 0,1092 g: 2,43 ccm n/10-NaOH. Äquivalent 449			
0,1044	»:	2,3	» n/10-NaOH. » 454
0,1144	»:	2,50	» n/10-NaOH. » 457
Für obige Formel berechnetes Äquivalent			456.

Gegen Alkalien verhält sich diese Choleinsäure wie die Xylolverbindung. Hier wirkt es besonders überraschend, daß das aus der ammoniakalischen Lösung abgeschiedene Naphthalin, sogar in Krystallen, von zugesetztem desoxycholsaurem Natrium (n/5-Lösung) klar gelöst wird.

Spez. Drehungsvermögen (in Alkohol): Konz. 2,0392%; abgeles. Winkel + 0,97°. $[\alpha]_D^{20} = + 47,56^\circ$.

Eine Reihe anderer Choleinsäuren, die dargestellt worden sind, harren noch der näheren Untersuchung. Interessantes ist dabei vielleicht insofern zu erwarten, als man möglicherweise auf Zusammenhänge zwischen Konstitution und Bindungsvermögen für Desoxycholsäure treffen wird.

Soweit der Paarling in der Choleinsäure nicht saurer Natur ist, zeigt die Choleinsäure gegen Alkalien ein ähnliches Verhalten, wie die der beiden aromatischen Kohlenwasserstoffe. Daraus folgt weiter, daß viele in Wasser schwer lösliche oder unlösliche Substanzen von wässriger Desoxycholatlösung gelöst werden. Man zeigt diese Eigenschaft am einfachsten mit einer Suspension, die man von der in Alkohol gelösten Substanz durch Ausfällung mit Wasser herstellt.

Man kann so naturgemäß alle die Stoffe, von denen Choleinsäuren erhalten worden sind, in Lösung bringen, außerdem aber eine sehr große Zahl anderer, die jedenfalls auch Choleinsäure geben, aber nach dieser Richtung nicht geprüft worden sind. Um einen Begriff von der weiten Anwendbarkeit der Lösungsreaktion zu geben, sei erwähnt, daß z. B. Anilin, Diphenylamin, Azobenzol, Nitrobenzol, Benzoesäureester, Phenolblau, Kolophonium, Äthylalkohol und viele andere durch $\frac{n}{5}$ -Desoxycholatlösung (= ca. 8%) gelöst werden.

Auf den physiologisch bedeutsamen Versuch mit Cholesterin sei hier besonders hingewiesen. Er gelingt wie die meisten der angeführten Lösungsversuche auch mit Natriumcholat und mit frischer Ochsen-galle.

Auch fein verteiltes Fett wird von desoxycholsaurem Natrium deutlich gelöst. Das geeignetste Versuchsmaterial ist die Milch. $\frac{1}{2}$ ccm davon wird auf 3 ccm mit Wasser verdünnt, diese werden auf 2 Reagenzgläser gleichmäßig verteilt. Zu einer Hälfte werden 3 ccm Wasser, zur andern 3 ccm $\frac{n}{5}$ -Desoxycholatlösung gegeben. Diese zweite Probe erfährt eine so starke Aufhellung, daß der Versuch leicht in der Vorlesung gezeigt werden kann.

Desoxycholsäure und Alkaloide. Mehr als die freien Choleinsäuren, die in der üblichen Weise oder auch durch doppelte Umsetzung von Desoxycholat mit einem Alkaloidsalz gewonnen werden können, interessiert hier das Verhalten gegen Alkali. Die Versuche mit den in Wasser sehr schwer löslichen Alkaloiden Chinin und Strychnin eignen sich zur Demonstration. 20—30 mg salzsaures Chinin werden in $\frac{1}{4}$ ccm Wasser gelöst, die Lösung wird auf 2 Reagenzgläser verteilt. In zwei kleinen Meßzylindern verdünnt man je 1 ccm $\frac{n}{10}$ -Lauge einmal mit 1 ccm Wasser, das andere Mal mit 1 ccm $\frac{n}{5}$ -Desoxycholatlösung. Von den beiden Chininsalzlösungen scheidet die eine mit der Lauge sofort eine dicke Trübung der freien Base ab, während die mit dem gallensauren Salz versetzte völlig klar bleibt. Man kann sogar durch Eingießen dieser klaren Lösung in die erste auch das ausgeschiedene Chinin wieder in Lösung bringen. Mit Strychninnitrat kann der

gleiche Versuch gemacht werden. Zusatz von Galle bringt, wie auch sonst, bei den beiden Alkaloiden die gleiche Wirkung hervor wie desoxycholsaures (und cholsaures) Natrium.

Anhang.

Krystallographisches.

In den Choleinsäuren liegen Verbindungen vor, die der Hauptmasse des Moleküls nach aus Desoxycholsäure bestehen. Es erschien nun interessant, zu untersuchen, ob und wieweit die Krystallform durch den der Masse nach untergeordneten, veränderlichen Bestandteil beeinflußt wird. Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat von Groth hat Herr Dr. Steinmetz, I. Assistent am mineralogischen Institut der Universität, die Ausführung dieser Untersuchung übernommen. Vorläufig wurden die drei natürlichen Choleinsäuren der höheren Fettsäuren krystallographisch gemessen und miteinander verglichen. Es zeigte sich, daß ihre Krystallformen einander sehr nahe stehen, daß aber, was vom chemischen Standpunkt aus höchst bemerkenswert ist, Palmitin- und Olein-Choleinsäure viel näher miteinander verwandt sind, als die Verbindungen der beiden homologen gesättigten Fettsäuren.

Von den ausführlichen Resultaten des Herrn Dr. Steinmetz, die später im ganzen an anderer Stelle veröffentlicht werden sollen, teilen wir folgendes mit:

«Stearin-Choleinsäure. Rhombisch bisphenoidisch, $a:b:c = 0,5057:1:1,8598$.

Beobachtete Formen: q (011), c (001), an den Enden o (111), s (102) und manchmal a (100), s und o oft gerundet. Sowohl die Krystalle des synthetischen Präparates von Wieland, als auch die aus Alkohol bei langsamer Abkühlung von 30° auf 15° umkrystallisierten Krystalle zeigten den von Jerofejew an der natürlichen Choleinsäure beobachteten nach a langprismatischen Habitus. Am Ende erschienen meist gerundete Flächen von s , selten und dann kleine Flächen der sonst genannten Formen. Niemals wurde die für die beiden

andern Choleinsäuren charakteristische Form k (012) hier gefunden.

Die Krystalle sind sehr vollkommen spaltbar nach c. Die Ebene der optischen Axen ist a (100), die 1. Mittellinie die c-Axe. Optisch positiv.

Palmitin-Choleinsäure. Rhombisch bisphenoidisch. $a:b:c = 0,545:1:1,927$.

Beobachtete Formen: q (011), k (012), c (001), s (102), o (111). Untergeordnet a (100) und b (010). Sehr dünne (etwa 0,1—0,3 mm), parallel der a-Axe verlängerte Prismen; die Zone [100] zeigt vielfach Vizinalflächen und Streifung.

Vollkommen spaltbar nach c. Die Ebene der optischen Axen ist a (100); die c-Axe ist die erste Bisectrix. Optisch negativ.

Olein-Choleinsäure. Rhombisch bisphenoidisch. $a:b:c = 0,563:1:1,946$.

Beobachtete Formen: q (011), k (012), c (001), b (010), s (102), sehr untergeordnet a (100). Habitus wie bei den beiden vorhergehenden Verbindungen. Häufig überwiegt k etwas über q, beide Formen sind immer durch Vizinalflächen gestört, b immer sehr schmal, a manchmal verhältnismäßig breit, so daß die Krystalle linealförmig sind.

Vollkommen spaltbar nach c. Die Ebene der optischen Axen ist a (100), die 1. Mittellinie die c-Axe. Der scheinbare Winkel der optischen Axen in Luft (durch die c-Flächen beobachtet) ist ca. 112° für Gelb, $113,5^\circ$ für Blau. Optisch negativ. >

Wir sagen Herrn Geheimrat von Groth und Herrn Dr. Steinmetz unseren ergebensten Dank für ihren wichtigen Beitrag zur vorliegenden Arbeit. Auch Frl. Dr. J. Bäumer haben wir für wertvolle Mithilfe zu danken.

München, Anfang März 1916.
