

Beiträge zur Kenntnis des Cholesterins und der Cholalsäure und über ein gemeinsames Abbauprodukt derselben

von

Hugo Schrötter, Richard Weitzenböck und Reinhold Witt.

Mitteilung aus dem chemischen Institut der k. k. Universität in Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 23. Jänner 1908.)

Daß dem Cholesterin und der Cholalsäure eine analoge Struktur zu Grunde liegt, wird wohl von den meisten Chemikern angenommen und findet sich auch in den Lehrbüchern angegeben, obwohl ein Beweis eigentlich nicht vorliegt und uns ja auch über die Konstitution dieser Körper so viel wie nichts Sicheres bekannt ist. Als einziges Argument für die Zusammengehörigkeit wäre unseres Wissens zu erwähnen, daß sowohl aus Cholalsäure wie aus Cholesterin durch starke Oxydation die Cholesterinsäure von der Formel $C_{12}H_{16}O_7$ von Retenbacher, Schieper und endlich von Tappeiner erhalten wurden. Da die Konstitution der Cholesterinsäure vollkommen unaufgeklärt blieb, die Angaben Tappeiner's in neuerer Zeit von verschiedenen Seiten angezweifelt wurden, wie auch in den letzten Jahren, als das Studium des Cholesterins von mehreren Seiten in Angriff genommen wurde, die Cholesterinsäure unseres Wissens nicht wieder untersucht worden war, blieb dieselbe für die Chemie der Stammkörper bedeutungslos.

Im Jahre 1903 hat der eine von uns¹ einige hochbromierte Produkte, die durch Einwirkung von überschüssigem Brom auf

¹ Schrötter, Monatshefte für Chemie, 24, 220.

Cholesterin entstehen, beschrieben und ein analoges Studium der Cholalsäure angekündigt. Leider schlugen alle Versuche, von diesen Bromiden zu wohl definierten Abbauprodukten zu gelangen, fehl. Trotzdem die Versuche auf alle mögliche Art und Weise variiert wurden und darauf eine Unmenge von Zeit, Mühe und des so kostbaren Ausgangsmaterials verwendet wurde, resultierten stets untrennbare Gemenge, die keine konstante Zusammensetzung hatten. Nachdem deshalb der Plan, von diesen Bromiden zu niedrigeren Abbauprodukten zu gelangen, aufgegeben wurde, habe ich (Schrötter) in Gemeinschaft mit Herrn R. Witt in der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure bei Anwesenheit von geringen Mengen Quecksilber und nachfolgendes Behandeln mit Salpetersäure ein Mittel gefunden, das Cholesterinmolekül aufzusprengen, wobei wir neben anderen noch nicht untersuchten Produkten eine sehr schön kristallisierende niedermolekulare Säure erhielten. Angeregt durch diesen Erfolg, habe ich mit Herrn R. Weitzenböck in derselben Weise die Cholalsäure untersucht und gefunden, daß die Reaktion ganz analog wie beim Cholesterin verläuft und als Hauptprodukt dieselbe Säure entsteht.

Da nun der Verlauf der Reaktion in beiden Fällen ziemlich gleich, das Endprodukt sicher identisch ist, erlauben wir uns im folgenden gemeinsam über die Resultate unserer Untersuchung zu berichten.

Einwirkung von konzentrierter H_2SO_4 und Hg auf Cholesterin.¹

Das zu den Versuchen verwendete Cholesterin wurde aus menschlichen Gallensteinen, die gepulvert und mit heißem Wasser ausgelaugt wurden, durch einfache Extraktion mit heißem Alkohol dargestellt. Nach einmaligem Umkristallisieren war es rein. Je 10 g Cholesterin wurden in einem Fraktionierkolben mit der zwanzigfachen Menge konzentrierter H_2SO_4

¹ Das so kostbare Material für die Darstellung des Cholesterins, die menschlichen Gallensteine, verdanke ich der Liebenswürdigkeit der Herren Professoren Hofrat Dr. Hans Chiari in Prag, nun in Straßburg, Dr. K. B. Hofmann und Dr. Fr. Pregl in Graz und erlaube mir, den Herren auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank auszusprechen. Schrötter.

und einigen Tropfen Hg versetzt und langsam in einem Metallbad erwärmt.

Das Cholesterin löst sich bei zirka 100° vollständig auf, wobei sich die Flüssigkeit dunkel färbt und schweflige Säure entweicht. Da nun bald starkes Schäumen auftritt, muß das weitere Erhitzen sehr vorsichtig vorgenommen werden. Ist die Temperatur langsam auf 300° gestiegen, so wird die Flüssigkeit leicht beweglich und die abgeschiedene Kohle ist größtenteils verbrannt. Es wurde nun bei herausgezogenem Thermometer weiter erhitzt, bis Schwefelsäure überdestilliert und weiße Dämpfe von Anhydrid entweichen. Im ungefärbten Destillat ist kein organischer Körper enthalten. Nach dem Erkalten wird dann die dunkel gefärbte Lösung in gleiches Volumen Wasser gegossen, wobei sich sowohl Quecksilbersulfat wie auch eine ziemliche Menge eines dunkel gefärbten organischen Körpers abschied, von dem abfiltriert wurde. Die Untersuchung dieses Reaktionsproduktes wurde zurückgestellt und nur der lösliche Teil weiter untersucht.

Die verdünnte wässrige Lösung wurde nun in der Wärme in einem seinerzeit von Schacherl beschriebenen Apparat mit Äther extrahiert, was beinahe zwei Wochen in Anspruch nahm. Die Ätherlösung hinterließ nach dem Abdestillieren und Eindunsten einen dicken, braunen Sirup, der die Eigenschaften einer organischen Säure zeigte, aber trotzdem er in Salze übergeführt und daraus wieder abgeschieden wurde, nicht zu reinigen war. Da wir darin auch Oxalsäure nachweisen konnten, wurde er zur Zerstörung derselben mit der 10- bis 15fachen Menge starker Salpetersäure in der Wärme behandelt, wobei eine deutliche Einwirkung unter Entwicklung roter Dämpfe bemerkbar war, während die Lösung selbst immer farbloser wird. Nachdem die Salpetersäure durch oftmaliges Eindampfen auf dem Wasserbad und Wiederauflösen in Wasser verjagt war, hinterblieb ein schwach gelb gefärbter kristallisierter Rückstand. Derselbe wurde nun anfangs mit Essigäther behandelt, worin sich der gefärbtere Teil löste, während ein weißer Kristallkuchen zurückblieb. Als sich aber herausstellte, daß beide Fraktionen identisch und nur im Grade der Reinheit unterschieden waren, wurde der ganze Rückstand im Wasser gelöst, mit Tierkohle

entfärbt und stark eingedampft. Der zurückbleibende Sirup erstarrte dann nach längerem Stehen oder augenblicklich beim Einimpfen mit etwas kristallisierter Substanz zu einem weißen Kristallkuchen, der aus zu strahligen Drusen vereinigten feinen Nadelchen besteht. Der Schmelzpunkt der auf Ton gestrichenen lufttrockenen Säure lag bei 229 bis 230° konstant. Die Ausbeute betreffend, wurden aus 50 g Cholesterin 2 bis 2·5 g reiner Säure erhalten. Die Analysenergebnisse wie auch Beschreibung der Eigenschaften und Salze folgt in der Zusammenfassung der Resultate.

Einwirkung von konzentrierter H_2SO_4 und Hg auf Cholalsäure.

Bei der Darstellung der Cholalsäure haben wir uns im großen und ganzen an die von F. Pregl¹ gemachten Angaben gehalten. Es wurden demgemäß Rindergalle mit Kalilauge durch 24 Stunden gekocht, dann mit Kohlensäure neutralisiert, eingedampft und mit Alkohol behandelt. Die alkoholische Lösung wurde hierauf verdünnt, mit Chlorbaryum gefällt, die Lösung vom Niederschlage getrennt und die rohe Cholalsäure mit Salzsäure gefällt. Die weitere Reinigung durch Umkristallisieren aus Alkohol nach Pregl's Angabe, die wegen der sehr großen Löslichkeit der Rohsäure in Alkohol mit großen Verlusten verbunden ist, haben wir nicht angewendet, da wir im Essigäther ein viel geeigneteres Lösungsmittel gefunden hatten, in welchem Lösungsmittel sich die Cholalsäure in der Kälte schwer, in der Hitze leicht löst. Man geht dabei auch der Gefahr einer allfälligen Veresterung aus dem Wege, die nach Mylius schon beim Erwärmen mit Alkohol eintreten soll. Schon nach zweimaligem Umkristallisieren aus Essigäther erhält man die Cholalsäure in schönen, glänzend weißen Nadeln vom Schmelzpunkte 193° (unkorr.), der konstant bleibt. Als sehr zweckmäßig erwies es sich, mit den Mutterlaugen der ersten Kristallisation die Rohsäure mehreremal in der Kälte auszulaugen, wodurch der größte Teil des braunen Farbstoffes

¹ Archiv f. d. ges. Phys., Bd. 71, p. 303.

in Lösung ging und kein Verlust an Cholalsäure eintreten kann, da die Lauge ja damit gesättigt ist.

20 g der auf diese Weise dargestellten Cholalsäure wurden nun in einem Fraktionskolben mit der zwanzigfachen Menge konzentrierter Schwefelsäure und drei Tropfen Quecksilber übergossen, wobei sie mit tief rotgelber Farbe und grüner Fluoreszenz in Lösung geht. Bereits in der Kälte tritt langsame Entwicklung von schwefliger Säure ein. Zweckmäßig läßt man nun einige Stunden auf dem Wasserbade stehen und erhitzt erst dann höher, weil dann die starke Reaktion glatter verläuft und kein Übersäumen eintritt. Es wird nun im Metallbade weiter erhitzt, bis die Schwefelsäure überdestilliert und die sich anfänglich abscheidende Kohle größtenteils verbrannt ist. Das Destillat enthält keine organische Substanz. Der Kolbeninhalt wurde dann mit der gleichen Menge Wasser verdünnt, von einem sich hierbei abscheidenden schwarzen pulverigen Körper, dessen Untersuchung zurückgestellt wurde, abfiltriert und die klare Lösung im Schacherl'schen Apparat ausgeäthert.

Die dunkelbraun gefärbte ätherische Lösung hinterließ nach dem Abdestillieren des Äthers einen braunen Sirup, der gleich mit starker Salpetersäure behandelt wurde, wobei ebenfalls heftige Einwirkung unter Entwicklung roter Dämpfe eintrat. Die wässrige Lösung wurde hierauf zur Vertreibung der Salpetersäure einigemal zur Trockene verdampft und hinterließ schließlich einen hellgelb gefärbten Kristallkuchen (F. 207). Die weitere Reinigung wurde diesmal durch Überführen in das Silbersalz und Zersetzen desselben vorgenommen. Es wurde deshalb die Säure genau mit NH_3 neutralisiert und dann Silbernitratlösung zugesetzt. Das sich abscheidende hellgelbe Silbersalz wurde abfiltriert, gewaschen, dann mit Salzsäure zersetzt und die wässrige Lösung der Säure stark eingedampft, wobei der Rückstand nach einiger Zeit zu einem dicken Brei feiner, sternförmig gruppirter Nadeln erstarrte. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Wasser waren sie rein weiß und schmolzen bei 228° (unscharf). Aus 20 g wurden erhalten wenig über 1 g Säure.

Zusammenfassung der Resultate.

Aus dem Mitgeteilten ergibt sich also, daß durch Einwirkung von H_2SO_4 und Hg und darauf folgende Behandlung mit HNO_3 auf das Cholesterin wie auf die Cholalsäure dieselbe Säure vom Schmelzpunkte 228 bis 230° entsteht, welche wir, um auszudrücken, daß sich die beiden Verbindungen von der Säure ableiten, Rhizocholalsäure nennen wollen.

Die Säure ist sehr leicht löslich in heißem Wasser, etwas weniger in kaltem Wasser und in Alkohol, schwer löslich in Äther und Essigäther, unlöslich in Benzol und Petroläther.

Bei der Analyse ergab sie folgende Zahlen:

0·1102 g im Vakuum und dann bei 105° getrocknete Säure aus Cholesterin gaben 0·1817 g CO_2 und 0·0236 g H_2O .

0·1090 g, bei 105° getrocknet, gaben 0·1802 g CO_2 und 0·0206 g H_2O (aus Cholesterin).

0·1097 g bei 105° getrocknete Säure aus Cholalsäure gaben 0·1809 g CO_2 und 0·0235 g H_2O .

In 100 Teilen:

	Gefunden			Berechnet für $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_7$
	I (aus Cholesterin)	II (aus Cholesterin)	III (aus Cholalsäure)	
C ...	44·97	45·09	44·97	44·87
H ...	2·39	2·02	2·39	2·83

Die Analysen stimmen also auf die Formel $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_7$. Die etwas zu niederen Wasserstoffzahlen sind leicht erklärlich, da 0·01 g H_2O schon beiläufig $10/10$ ausmacht. Die Säure ist, wie die Titration mit KOH und die Analyse der Silber- und Kalksalze zeigt, jedenfalls dreiwertig. Die stets etwas zu hoch gefundenen Metallzahlen finden wahrscheinlich darin ihre Erklärung, daß die OH-Gruppe bei der Salzbildung teilweise Metall bindet, welche Eigenschaft den Phenolcarbonsäuren ebenfalls zukommt.

0·5710 g Säure auf 100 cm^3 gelöst. Je 20 cm^3 der Lösung erforderten 16·4 cm^3 Lauge, von der 1 $\text{cm}^3 = 1·146 \frac{2}{10}$ KOH ist. Indikator Phenolphthaleïn.

Auf 100 Teile Säure verbrauchte KOH 88·27, ber. für $\text{C}_5\text{H}_3\text{O}(\text{COOH})_3$ 78·71.

Betreffs der Salze wäre zu erwähnen: Das Kaliumsalz ist leicht wasserlöslich, etwas schwerer in Alkohol. Die Kalk- und Barytsalze zeigen die Eigen tümlichkeit, daß sie in kaltem Wasser viel leichter löslich sind als im heißen,

weshalb die neutrale Lösung der Säure, mit Chlorcalcium versetzt, klar bleibt, beim Erhitzen aber das Kalksalz als dicke Gallerte abscheidet, die sich beim Erkalten wieder vollkommen löst. Nur wenn das Kochen längere Zeit fortgesetzt wird, wird das Salz pulverig und löst sich dann schwer oder nicht mehr auf.

Das Silbersalz, aus neutraler Lösung gefällt, ist im Wasser schwer löslich und beständig. Von den Analysen wollen wir nur die Prozentzahlen mitteilen.

Silbersalz.

	Gefunden			Berechnet für
	I.	II.	III.	$\text{Ag}_3\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_7$
C	17·59	15·93	—	17·96
H	0·47	0·45	—	0·56
Ag	60·66	63·24	63·63	60·5

Eine Molekulargewichtsbestimmung durch Siedepunktserhöhung nach Landsberger gab eigentümlicherweise in wässriger Lösung gar keine Erhöhung. Worin der Grund für dieses eigentümliche Verhalten liegt, können wir nicht angeben.

In alkoholischer Lösung ergaben 0·2658 g Säure in 20·584 g Alkohol eine Erhöhung von 0·11°.

In eisessigsaurer Lösung gaben 0·4399 g Säure in 23·065 g Eisessig eine Erhöhung von 0·296°.

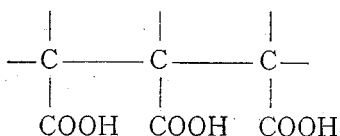
Molekulargewicht:

Gefunden		Berechnet für
in Alkohol	in Eisessig	$\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_7$
135	163	214

Obwohl die Zahlen nicht gut stimmen, sprechen sie doch jedenfalls gegen eine Verdopplung der Formel, die ja auch sonst mehr als unwahrscheinlich wäre.

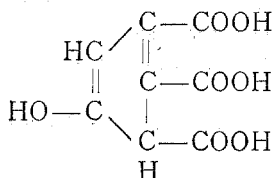
Aus den Analyseergebnissen ergibt sich also die Formel $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_7$ oder, da die Säure dreibasisch ist, $\text{C}_5\text{H}_3\text{O}(\text{COOH})_3$, wegen des Verhaltens der Kalk- und Silbersalze wahrscheinlich $\text{C}_5\text{H}_2(\text{OH})(\text{COOH})_3$. Da die Säure gegen konzentrierte Schwefelsäure und Salpetersäure so beständig ist, ist wohl anzunehmen, daß die drei Carboxyle an drei verschiedene

Kohlenstoffe gebunden sind. Wir kommen dadurch zu der wahrscheinlichsten Gruppierung

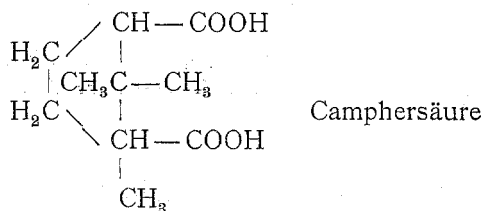


welche auch der Camphoronsäure, Tricarallylsäure, Zitronensäure und Aconitsäure eigentümlich ist. Auch das höchst charakteristische Verhalten der Kalksalze betreffs ihrer Löslichkeit, das ja auch die Zitronensäure zeigt, würde für eine Verwandtschaft mit diesen Körpern sprechen.¹ Nun wäre noch $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ einzufügen.

Es ist dafür nach unserer Ansicht folgende Formulierung die wahrscheinlichste, besonders wenn man die Beständigkeit der Säure in Betracht zieht:



Selbstverständlich ist die Stellung der Doppelbindungen und der OH-Gruppe zu den Carboxylgruppen ganz ungewiß. Wir kämen dadurch zu einem Cyclopentanderivat, zu einer Cyclopentadienoxytricarbonsäure, eine Gruppierung, die wir auch bei der Camphersäure finden:



und die Terpenen und Camphenen eigentümlich ist.

¹ Mauthner und Suida haben (Monatshefte für Chemie XXIV, 175) amorphe durch Oxydation des Cholesterins' entstehende Säuren beschrieben, die

Bei Durchsicht der Literatur des Cholesterins findet man verschiedene Angaben, daß dasselbe mit den Terpenen im genetischen Zusammenhange steht; es wurde aber noch nie ein Beweis für diese Behauptung erbracht. Auf Grund der Arbeiten von Mautner und Suida wie auch von Windaus waren im Cholesterinmolekül vorgebildete hydrierte Kerne wahrscheinlich gemacht, mehr aber nicht. Etwas anders liegt die Frage bei der Cholalsäure. Hier liegt eine Angabe von Senkowski (Monatshefte für Chemie, XVII, 1) vor, nach welcher derselbe durch Einwirkung von starken Oxydationsmitteln auf Cholalsäure Phtalsäureanhydrit erhalten hat. Dieses jedenfalls interessante Ergebnis ist aber von anderer Seite nicht bestätigt, ja sogar für unrichtig erklärt worden.¹

Wir glauben nun auf Grund der Ergebnisse unserer Untersuchung nicht nur den Beweis erbracht zu haben, daß dem Cholesterin wie der Cholalsäure eine analoge Konstitution zu Grunde liegt, sondern auch ein chemisches Argument für die Zusammengehörigkeit dieser Körper mit den Terpenen geliefert zu haben.

Schließlich möchten wir nur noch hervorheben, daß wir uns sehr wohl bewußt sind, daß sich in unserer Beweisführung noch manche Lücke findet und werden bestrebt sein, dieselbe in Bälde möglichst auszufüllen. Da aber von verschiedenen Seiten das Cholesterin bearbeitet wird und durch den Abgang des einen von uns (Witt) eine kurze Unterbrechung unserer Arbeiten eintritt, wollten wir mit der Veröffentlichung unserer noch nicht abgeschlossenen Untersuchung nicht länger zurückhalten. Da wir auch hoffen, bei der Untersuchung der anderen bei der Reaktion entstehenden Produkte Anhaltspunkte für den Aufbau des anderen Teiles des Moleküls zu

dasselbe Verhalten der Kalksalze zeigen. Es wäre jedenfalls von großem Interesse zu untersuchen, ob dieselben bei der Oxydation mit H_2SO_4 unsere Säure geben.

¹ Bullenheim wie F. Pregl (Monatshefte für Chemie XXIV, p. 65) behaupten, daß das vermeintliche Phtalsäureanhydrid nichts anderes als Oxalsäure ist.

erlangen, stellen wir an die Herren Fachgenossen die Bitte, uns das Studium des Cholesterins und der Cholalsäure in oben skizzierter Richtung noch einige Zeit zu überlassen.

Wir beabsichtigen auch, die Cholesterinsäure in unsere Untersuchung einzubeziehen.
