

Vorkommen von Myristinsäure in der Rindergalle.

Von

Lassar-Cohn.

(Mittheilung aus dem Königsberger Institut für medicinische Chemie und Pharmakologie.)
(Der Redaction zugegangen am 25. Mai 1892.)

Stellt man Cholalsäure nach der Mylius'schen¹⁾, jedenfalls bequemsten aller bisherigen Methoden dar, so extrahirt man bekanntlich die nach vierundzwanzigstündigem Kochen mit Natronlauge und späterem Einleiten von Kohlensäure zur Trockene gedampfte Galle mit Alkohol, verdünnt das Filtrat mit vier Theilen Wasser und setzt nun, so lange die Flüssigkeit dadurch noch gefällt wird, eine Lösung von Bariumchlorid zu. Da cholalsaures Barium im verdünnten Alkohol leicht löslich ist, fallen hierbei nur die Bariumsalze fremder Säuren aus.

Ihre Quantität ist nicht allzu bedeutend. Die im Laufe der Zeit aus 100 Litern Galle erhaltene Menge von ihnen befand sich auf vielen Faltenfiltern zerstreut, und um zu den in denselben vorhandenen Säuren zu kommen, wurden die Filter in einem eisernen Gefäss mit einer Lösung von 400 gr. Natriumcarbonat in sechs Litern Wasser längere Zeit gekocht. Diese Menge Natriumcarbonat genügte sicher zur Ueberführung aller Barium- in Natriumverbindungen.

Nachdem das Magma durch Decantiren in einem hohen Gefäss möglichst ausgewaschen war, ward der Rückstand schliesslich an der Pumpe abgesogen.

Die gesammten Auszüge wurden hierauf auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht und ihr Rückstand mit 90pro-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 12, Bd. 262.

centigem Alkohol extrahirt. Auf dem Filter hinterbleibt nunmehr der Ueberschuss des Natriumcarbonats.

Die alkoholische Lösung dieser organisch-sauren Natriumsalze erstarrt sehr rasch zu einer so festen Gallerte, dass sie nicht mehr aus dem betreffenden Gefässe ausgegossen werden kann. Nachdem der Alkohol auf dem Wasserbade verjagt war, wurde ein aliquoter Theil des Rückstandes bei 120° getrocknet, dessen Trockengehalt sich zu $69,8\%$ ergab. Daraus berechnete sich weiter, dass aus den hundert Litern Galle 480 gr. von diesem rohen Natriumsalz, entsprechend $0,48\%$, erhalten waren.

Eine ausführliche Untersuchung dieser Salze muss zur Kenntniss aller in der Galle nach deren Kochen mit Natronlauge vorhandenen Säuren führen, wenn sich zeigen lässt, dass nach Entfernung der «fremden» Bariumsalze in der ursprünglichen Lösung nur noch cholalsaures Salz vorhanden ist.

Zur Untersuchung der Salze schien sich als einzig brauchbare Methode die fractionirte Fällung darzubieten, und von dem bisher auf diesem Wege Erreichten soll im Folgenden Mittheilung gemacht werden.

Um nicht zu unhandlichen Mengen an Lösung zu kommen, wurden jene 480 gr. Natriumsalze nur zu drei Litern Flüssigkeit gelöst und sollten nun heiss mit je 20 gr. einer 10procentigen Lösung von Bariumacetat ausgefällt werden.

Fällung I und II fielen reichlich aus, Fällung III ergab sehr wenig Bariumsalz. Eine vierte Fällung konnte nur mittelst 40 gr. Bariumacetat erhalten werden. Eine sehr geringe fünfte Portion wurde mittelst weiterer 60 gr. abgeschieden, und dann nochmals 100 gr. (immer als 10procentige Lösung) zugesetzt, was zu einer sechsten ebenfalls wenig belangreichen Abscheidung führte. Der bei Weitem grösste Theil der «fremden Säuren» erwies sich als auf diesem Wege überhaupt nicht fällbar, woraus folgt, dass sich die Bariumsalze in dieser rein wässerigen Lösung ganz anders verhalten, als in jener ursprünglichen, aus der sie gewonnen waren, welche 20% Alkohol enthalten hatte.

Untersuchung der Fällungen.

Fällung I. Das Bariumsalz wurde in viel heissem Wasser aufgeschwemmt und durch Salzsäurezusatz die in ihm enthaltene Säuremenge in Freiheit gesetzt. Sie schwamm ölig obenauf, erstarrte bald beim Abkühlen und wurde alsdann unter Thierkohlezusatz aus 70procentigem Alkohol umkrystallisirt. Die erste Krystallisation war noch hellbraun, die weiteren waren schneeweiss. Die Schmelzpunkte ergaben: 2. Krystallisation $55,8^{\circ}$, 3. Krystallisation $56,0^{\circ}$, 4. Krystallisation $56,6^{\circ}$ ¹⁾. Der Mutterlaugenrückstand dieser vierten Krystallisation schmolz bei $52,3^{\circ}$.

Dass ein Gemisch von Fettsäuren vorlag, ist offenbar, und zu deren Trennung konnte nur ein erneutes fractionirtes Fällern führen.

Das Gemenge wog nach dem viermaligen Umkrystallisiren noch 28 gr. Es wurde, wie das schon Chevreul empfohlen hat, in Alkohol gelöst, dann etwas Ammoniak zugegeben, und nunmehr mit essigsaurem Magnesium versetzt. Dieses kam als 10procentige alkoholische Lösung zur Verwendung, und zwar jedesmal in einer Menge von 20 ccm. Die in der Wärme klar bleibende Lösung lässt beim Erkalten dann die Magnesiumsalze ausfallen, und je nach der ihr hierzu gelassenen Zeit schwankt deren Menge. Die Magnesiumverbindungen wurden in Wasser wieder aufgeschwemmt, durch Zugabe von Salzsäure zerlegt, und die so wieder abgeschiedene Säure nach oberflächlichem Trocknen auf Fliesspapier gewogen. Alsdann wurden die Portionen aus 70% Alkohol, und etwas von den erhaltenen Krystallen nochmals aus 90% Alkohol umkrystallisirt, damit der Mutterlaugenrückstand eine zur Schmelzpunktsbestimmung genügende Menge als Verdampfungsrückstand hinterliess.

¹⁾ Alle Schmelzpunktsbestimmungen wurden mit einem gewöhnlichen Thermometer ausgeführt, von dem durch Vergleich mit einem Geissler'schen Normalthermometer festgestellt war, dass es zwischen 40 und 60° $0,8^{\circ}$ zu niedrig zeigte.

	Gewicht.	Schmelzpunkt nach dem Um- krystallisiren.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.	Schmelzpunkt des Mutterlaugen- rückstandes.
Fraction I . .	1,6 gr.	61,0	62,0	57,1 ¹⁾
» II . .	5,2 »	61,2	62,0	53,5
» III . .	7,4 »	60,1	60,6	52,0
» IV . .	3,8 »	58,9	59,4	56,3
» V . .	10,2 »	69,2	69,3	69,9

Aus diesen Daten folgt, dass wir es mit Palmitin- und Stearinsäure zu thun haben.

Die Mutterlauge, die nach dem Abfiltriren von Fraction V hinterblieb, wurde auf etwa ein Fünftel eingedampft, und schied nach dem Erkalten ein Salz aus, aus dem ebenfalls die Säure frei gemacht wurde.

	Gewicht.	Schmelzpunkt nach dem Um- krystallisiren.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.	Schmelzpunkt des Mutterlaugen- rückstandes.
Fraction (?) VI .	1,5 gr.	54,0	54,1	49,3

Dieser Schmelzpunkt ist der niedrigste, den überhaupt Gemische von Stearin- und Palmitinsäure zeigen können. Nach dem, was wir gleich bei dem Verhalten der Fällung II sehen werden, ist es aber viel wahrscheinlicher, dass in dieser Fraction schon etwas von einer niedriger schmelzenden Säure vorhanden ist (siehe weiterhin Seite 76).

Fällung II wurde ganz in derselben Art wie I behandelt. Die ölig erhaltene Säure wurde unter Thierkohlezusatz umkrystallisirt. Von der ersten bräunlichen Krystallisation wurde auch hier der Schmelzpunkt nicht bestimmt. Die zweite Krystallisation zeigte einen solchen von 54,2°, die dritte wiederum 54,2°, die vierte 54,3°. Deren Mutterlaugenrückstand schmolz bei 53,5°. Die ausserordentliche Gleichmässigkeit dieser Schmelzpunkte hätte, wo es sich nicht um Fettsäuren handelt,

¹⁾ Siehe Heintz, Poggendorff's Annalen, Bd. 168, S. 582.

gewiss die Meinung, dass man es mit einer einheitlichen Substanz zu thun habe, aufkommen lassen. Hier konnte das nur durch erneutes fractionirtes Fällen entschieden werden. Die für diesen Zweck zu Gebote stehende Säuremenge wog 16 gr.

	Gewicht.	Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisiren.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.	Schmelzpunkt des Mutterlaugenrückstandes.
Fraction I . .	2,2 gr.	54,2	56,8	54,0
» II . .	3,4 »	55,1	56,0	55,8
» III . .	1,9 »	55,1	56,3	54,0
» IV . .	2,5 »	55,5	56,1	55,2
» V . .	4,1 »	52,8	53,6	54,0
» VI . .	2,3 »	58,5	60,3	60,0

Wie man sieht, sind diese Schmelzpunkte ausserordentlich viel niedriger als die der aus Fällung I erhaltenen Säuren, ja der Schmelzpunkt der Fraction V liegt geradezu tiefer, als überhaupt Gemische von Palmitinsäure und Stearinsäure schmelzen können.

Leider sind die einzelnen Fractionen zu gering, als dass deren nochmalige Fractionirung sich in sicherer Weise ausführen liesse. Analysen vermögen wenig zu entscheiden. Es wurde z. B. ein Magnesiumsalz aus Fraction V dargestellt und dessen Metallgehalt zu 5,00 statt 5,02% gefunden, welches Letztere die sich für myristinsaures Magnesium berechnende Zahl ist.

Die Myristinsäure steht bekanntlich im gleichen Verhältniss zur Palmitin- wie diese zur Stearinsäure:

Myristinsäure	$C_{14}H_{28}O_2$	Schmelzpunkt	53,8°
Palmitinsäure	$C_{16}H_{32}O_2$	»	62,0°
Stearinsäure	$C_{18}H_{36}O_2$	»	69,2°

Ein Versuch, die Säure in ihr Amid durch Erhitzen im Einschlussrohr mit starkem Ammoniak überzuführen, um sie auf diese Weise zu identificiren¹⁾, führte durch Zerspringen des Rohres zum Materialverlust.

¹⁾ Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 18, S. 2016.

Hierauf wurden die Fractionen, abgesehen von der letzten, in Alkohol gelöst und durch Einleiten salzsauren Salzes verestert, und wurden so etwa 5 gr. Ester erhalten. Die Ester der genannten Säuren lassen sich bekanntlich bei gewöhnlichem Luftdruck unzersetzt destilliren, der der Myristinsäure siedet bei 295° und schmilzt bei 11° ¹⁾.

Bei der ersten Destillation, die in einer kleinen Retorte aus dem Metallbade vorgenommen wurde, stieg das Thermometer sehr bald über 360° , bei der Wiederholung nicht mehr ganz so hoch, und eine dritte Destillation führte dann zu einer Fraction vom Siedepunkte $290-300^{\circ}$, einer weiteren von $300-315^{\circ}$ und einer dritten von $315-350^{\circ}$. Alle drei erstarrten in kaltem Wasser, I schmolz hierauf bei 16° , II bei $20,3^{\circ}$ und III bei $20,8^{\circ}$.

Nun schmilzt Palmitinsäureester bei $24,2^{\circ}$ (Stearinsäureester bei $32,9^{\circ}$). Auch diese Destillate weisen also darauf hin, dass man es mit einem Ausgangsmaterial zu thun hat, welches niedriger als Palmitinsäure schmilzt.

Die einzelnen Fractionen waren zur gesonderten Weiterverarbeitung zu gering, sie wurden daher zusammen durch alkoholisches Kaliumhydroxyd verseift, und so die Säuren aus den Destillaten wiedergewonnen. Die Menge betrug jetzt 2 gr. Nach dem Lösen in 96procentigem Alkohol und Zugabe von etwas Ammoniak wurden mit je 1 cbcm. einer 10procentigen Lösung von Magnesiumacetat fractionirte Fällungen ausgeführt. Das Ergebniss war das folgende:

	Schmelzpunkt der um- krystallisirten Säure.	Schmelzpunkt des Mutterlaugen- rückstandes.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.
Fraction I	51,8	49,7	53,4
» II	53,0	52,4	53,4
» III	53,4	53,0	53,7
» IV	59,2	—	—

Dass hier Myristinsäure vorliegt, kann nach dem Schmelzpunkt der verschiedenen Fractionen keinem Zweifel unterliegen.

¹⁾ Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, S. 1434.

Es war nur auffallend, dass von ihr so ausserordentlich wenig vorhanden sein sollte, dass ihr Nachweis sich kaum erbringen liess.

Nun war die Rohsäure, welche aus dem Bariumsalz der Fraction II des ursprünglichen Rohmaterials erhalten war, wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich, 4mal umkrystallisirt, bis eine Säure erhalten wurde, aus der durch fractionirte Fällung dann sehr geringe Partien erhalten wurden, die sich als Myristinsäure erwiesen; konnte es da nicht möglich sein, dass ein grösserer Theil von dieser in den 4 Mutterlaugen stecken geblieben war? Diese wurden deshalb zusammen zur Trockne gedampft, in 96procentigem Alkohol gelöst und nach längerem Kochen mit Thierkohle ergab die Filtration eine schwach hellgelb gefärbte Lösung.

Auch diese wurde mit Ammoniak versetzt und fractionirt mit je 10 ccm. Magnesiumacetat gefällt.

Zwei Fractionen konnten erhalten werden, dann fiel auf erneuten Magnesiumzusatz nichts mehr aus; erst nach dem Eindampfen auf etwa den fünften Theil des Volumens schied sich im Laufe der Zeit wieder ein weiteres Quantum Magnesiumsalz aus.

Die aus Fraction I wieder abgeschiedene Säure schmolz nach dem Umkrystallisiren bei $53,7^{\circ}$ (Mutterlaugenrückstand bei $49,8^{\circ}$), bei Wiederholung des Verfahrens bei $54,0^{\circ}$ (Mutterlaugenrückstand bei $51,5^{\circ}$) und dann bei $54,1^{\circ}$ (Mutterlaugenrückstand bei $53,8^{\circ}$). Diesen Bestimmungen zufolge liegt sicher Myristinsäure vor. Die geringe noch vorhandene Menge an Säure wurde in's Bleisalz verwandelt und dieses analysirt:

0,3031 gr. Substanz lieferten 0,1400 PbSO_4 , entsprechend 0,0958 Pb.

	Berechnet für myristinsaures Blei	Gefunden:
	$\text{Pb}(\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{O}_2)_2$:	
Pb	31,31%	31,54%

Jene geringe Menge Säure, welche bei Wiederzerlegung des zweiten Magnesiumsalzes erhalten wurde, zeigte beim wiederholten Umkrystallisiren die Schmelzpunkte $53,7^{\circ}$ — $53,8^{\circ}$ — $53,8^{\circ}$.

Nach Beendigung der Arbeit erhielt ich von Herrn Prof. Lossen etwas Myristinsäure, die er von Heintz, der sie vor fast 40 Jahren aus Wallrath gewonnen, erhalten hatte. Durch dieses freundliche Entgegenkommen war eine Vergleichung der meinigen mit dieser ermöglicht. Heintz' Säure schmolz bei $54,4^{\circ}$ und unterschied sich nach dem Umkrystallisiren aus 70procentigem Alkohol in nichts von der aus Galle gewonnenen.

Die Zerlegung des aus der eingedampften Mutterlauge erhaltenen Magnesiumsalzes führte zu einer Säure, die beim wiederholten Umkrystallisiren bei $57,2^{\circ}$ — $57,8^{\circ}$ — $61,1^{\circ}$ schmolz. Substanzmangel verhinderte die weitere Reinigung, doch kann kein Zweifel sein, dass es sich hier um Palmitinsäure handelte.

Zerlegung des dritten Bariumsalses.

Es wurde nunmehr zur fractionirten Fällung des aus dem Rohmaterial erhaltenen dritten Bariumsalses übergegangen.

Die Zerlegung des Materials mittelst Salzsäure führte zu einer Säure, die einmal umkrystallisirt noch gefärbt erschien. Die weiteren rein weissen Krystallisationen zeigten nach einander die Schmelzpunkte $58,3^{\circ}$ — $58,5^{\circ}$ — $58,0^{\circ}$. Der Rückstand der Mutterlauge der letzten Krystallisation schmolz bei $57,7^{\circ}$.

Das Gewicht der so erhaltenen Säure betrug 0,7 gr. Durch Zerlegen mittelst je 1 cbcm. Magnesiumacetatlösung in der schon erwähnten Art wurden zwei Fractionen erhalten, aus den die Säuren wieder in Freiheit gesetzt wurden.

Die Krystallisationen von Fraction I gaben nach einander die Schmelzpunkte $54,0^{\circ}$ — $54,2^{\circ}$ — $54,2^{\circ}$. Der Mutterlauge-rückstand der letzten schmolz bei $53,7^{\circ}$. Bei Fraction II wurden die Zahlen $58,5^{\circ}$ — $59,5^{\circ}$ — $60,2^{\circ}$ — $60,9^{\circ}$ — $61,1^{\circ}$ erhalten.

Auch dieses dritte Bariumsals war also ein Gemisch von myristinsaurem und palmitinsaurem Barium gewesen.

Das vierte Bariumsals aus dem Rohmaterial war, wie erwähnt, mit Hilfe von 40 gr. Bariumacetat erhalten worden.

Die aus ihm abgeschiedene Säure zeigt den Schmelzpunkt $57,0^{\circ}$, dann $57,8^{\circ}$. Der Mutterlaugenrückstand schmolz bei $55,2^{\circ}$.

Durch fractionirte Fällung wurden zwei Portionen erhalten, die die Schmelzpunkte $55,4^{\circ} - 57,0^{\circ} - 58,6^{\circ} - 60,4^{\circ}$ und $56,2^{\circ} - 57,2^{\circ} - 59,4^{\circ} - 61,1^{\circ}$ zeigten. Zur weiteren Krystallisation reichte das Material nicht, aber aus dem gleichmässigen Ansteigen des Schmelzpunktes folgt, dass das Bariumsalz hauptsächlich aus palmitinsaurem Salz bestanden hat.

Die aus dem fünften Bariumsalz erhaltene Säure war nicht mehr ordentlich zum Krystallisiren zu bringen. Aus dem sechsten schied sich beim Stehen erst eine wohlausgebildete Säure in harten Einzelkrystallen aus — wohl Choleinsäure, wie später gezeigt werden soll —, und die von dieser abgeessene Mutterlauge hinterliess ein Oel.

Hiernach schien es am richtigsten, die beiden Portionen zusammen zu verarbeiten, um aus ihnen etwa vorhandene Oelsäure zu gewinnen. Zu dem Zwecke wurden die Säuren in Alkohol gelöst und die Lösung mit alkoholischem Bleiacetat gefällt. Der getrocknete Niederschlag gab bei der Extraction mit Aether an dieses ein in ihm lösliches Bleisalz ab, welches in jeder Weise das Verhalten von ölsaurem Blei zeigte.

Nach dem Mitgetheilten kann es keinem Zweifel unterliegen, dass sich in der Rindergalle Myristinsäure findet. Leider schien es nicht gelingen zu sollen, die geringe Menge, welche schliesslich eine Elementaranalyse erfordert, in die Hand zu bekommen, deren Ausführung, wenn auch nicht unbedingt erforderlich, doch sehr wünschenswerth scheint.

Bei der Zusammenstellung der Arbeit für den Druck fiel mir dann der so sehr niedrige Schmelzpunkt auf, den die Säure aus der Mutterlauge bei der fractionirten Trennung der aus dem Bariumsalz I erhaltenen Magnesiumsalze ergeben hatte (siehe dort). Seiner Zeit hatte ich ihn, da ich an das Vorhandensein von Myristinsäure noch nicht dachte, nicht weiter beachtet.

Als ich mich nunmehr von Neuem mit dieser Portion beschäftigte, fand ich, dass sie nach nochmaliger Krystallisation bei $53,8^{\circ}$ schmolz und in ihr bereits reine Myristinsäure vorlag, was denn auch die Elementaranalyse bestätigte:

0,1780 gr. Substanz gaben 0,4802 gr. CO_2 und 0,1985 H_2O .

	Berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$:	Gefunden:
C	= 73,69	73,54,
H	= 12,28	12,39.

Bei einer Wiederholung der Versuche zur Gewinnung der Myristinsäure aus der Galle aus den in der erwähnten Art als Nebenproduct erhaltenen Bariumsalzen würde man jetzt, da ihr Vorkommen bekannt, etwa so verfahren, dass man die rohen Natriumsalze — siehe den Beginn der Arbeit — mit viel essigsauerm Barium ganz ausfällen würde und aus dem so erhaltenen Niederschlag die gesammten in ihm enthaltenen Fettsäuren mittelst Salzsäure wieder in Freiheit setzte. Auf die Art würde man die Gesammtmenge der vorhandenen Myristinsäure, indem man diese Fettsäuren mit essigsauerm Magnesium fractionirt fällt, nachdem die Stearinsäure völlig, die Palmitinsäure fast ganz ausgefällt ist, in wenigen Fractionen, theils noch mit etwas Palmitinsäure vermischt, theils ganz rein sogleich aus dem Rohsalz gewinnen. Ihre Menge ist, wohl eher zu hoch als zu niedrig, auf $0,004\%$ vom Gewicht der Galle zu schätzen, indem im Ganzen in den verschiedenen Fractionen etwa 4 gr. von ihr vorhanden gewesen sein werden, und zwar höchst ungünstig auf diese vertheilt, da sie ohne Kenntniss ihres Vorhandenseins und aus viel zu concentrirter Lösung ausgefällt worden waren.

Die Untersuchung der bei der Darstellung von Cholalsäure aus Galle als Nebenproduct erhaltenen Bariumsalze hat also bisher das Vorhandensein von Stearin-, Palmitin-, Myristin- und Oelsäure ergeben. Ausserdem ist aus ihnen, wie schon erwähnt, noch sehr reichlich, in weit grösserer Menge als diese Fettsäuren, Choleinsäure und vielleicht noch eine weitere krystallisirte Verbindung gewinnbar, worüber später berichtet werden soll. Myristinsäure ist bisher in

8 verschiedenen Pflanzenarten¹⁾ und im Wallrath²⁾ aufgefunden worden, dagegen war ihr Vorkommen sonst im thierischen Körper nicht bekannt. Da sie der Galle als solcher nicht entstammen kann, fragt sich, von wo aus sie in diese gelangt. Die Untersuchung, ob Myristinsäure vielleicht in Spuren — um mehr kann es sich kaum handeln — im gewöhnlichen Fett vorhanden ist, ist trotz der geringen Aussicht auf Erfolg bereits begonnen worden.

¹⁾ Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, S. 1434, und Bd. 22, S. 1743.

²⁾ Poggendorff's Annalen, Bd. 168, S. 440.
