

## Zur Kenntniss der Säuren der Rindergalle.

Von

Lassar-Cohn.

(III. Mittheilung.)

(Der Redaction zugegangen am 18. Januar 1893.)

Die Untersuchung der in der zweiten Mittheilung erwähnten, als Nebenproduct bei der Cholalsäuredarstellung erhaltenen Baryumsalze<sup>1)</sup> ist nunmehr beendigt. Es folgt aus ihr, dass weitere krystallisirte Säuren, deren Vorkommen in der Galle nicht bekannt war, sich in ihr nicht finden. Sie ermöglicht aber, wie wir sehen werden, eine ziemlich quantitative Schätzung dieser.

Die Baryumsalze waren, wie seiner Zeit mitgetheilt wurde, in Natriumsalze übergeführt und deren Lösung wiederum mit Baryumacetat fractionirt gefällt worden, was zur Auffindung der Myristinsäure geführt hatte. Doch war auf diese Art nur ein geringer Theil der Säuren wieder ausfällbar gewesen, fortgesetzter Baryumacetatzusatz rief neue Fällungen nicht mehr hervor, und da auch kein passendes Mittel zur weiteren Fractionirung sich finden liess, wurden die noch in der Lösung vorhandenen Säuren mittelst Salzsäure ausgefällt. Der Niederschlag stellte ein hellbraunes Harz dar, das sich in nichts äusserlich von roher Cholalsäure unterschied.

Zwecks Reinigung wurde es unter Thierkohlenzatz aus Eisessig, in dem es sich als leicht löslich erwies, umkrystallisirt. Die erste Ausscheidung wog 40 gr. und war kaum gefärbt. Darauf wurde die Mutterlauge auf freiem Feuer ziemlich stark

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 67.

eingedampft, und nach 14 Tagen konnten aus ihr durch Absaugen an der Pumpe 22 gr. von den gleichen Krystallen gewonnen werden. Die jetzt noch vorhandene Mutterlauge lieferte auch bei langem Stehen nach weiterem Eindampfen keine Krystalle mehr.

Das so erhaltene Product liess sich sehr gut aus Aceton umkrystallisiren, während es in Chloroform, Essigester, Petroläther, Schwefelkohlenstoff so gut wie unlöslich war, und Phenol es zwar massenhaft löste, ohne es indess beim Abkühlen und längerem Stehen in krystallisirter Form wieder abzuschneiden. Auch Aceton lieferte es nur in Krusten, während, wenn man diese Lösung mit Toluol versetzt, es in Einzelkrystallen anschießt, die, wenn die Lösung viele Monate gestanden hat, eine Grösse von etwa 0,5 cm. erreichen und grosse quadratisch ausgebildete Flächen zeigen.

Das ganze Verhalten der Substanz erinnerte durchaus an die von Latschinoff in der Galle aufgefundene Choleinsäure<sup>1)</sup>, mit der sie sich denn auch identisch erwies. Da Latschinoff gezeigt hat, dass die Säure sicher nur wasserfrei erhalten wird, wenn man sie aus Eisessig umkrystallisirt und die erhaltenen Krystalle von ihm bei etwa 100° im luftleeren Raume befreit, wurden die aus Aceton und Toluol gewonnenen Krystalle noch dreimal aus diesem umkrystallisirt, und dann in der angegebenen Art bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Aus Eisessig krystallisirt die Säure in einem Haufwerk von Nadeln. In kaltem Eisessig ist sie nicht sehr löslich, kaltes Aceton löst 2,152 Proc., ein Gemisch gleicher Theile Aceton und Toluol nur 0,06 Proc. von ihr.

0,2587 gr. Substanz gaben 0,6988 gr. Kohlensäure und 0,2336 gr. Wasser.

	Berechnet für	Gefunden:
	$C_{24}H_{40}O_4$ :	
C	73,47	73,67.
H	10,21	10,00.

Latschinoff hat der von ihm entdeckten Choleinsäure seiner Zeit die Formel  $C_{23}H_{42}O_4$ <sup>2)</sup> gegeben, indem er sich

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 3041.

<sup>2)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 1052.

namentlich auf die analytischen Ergebnisse, zu denen Hammarsten<sup>1)</sup> bei der Untersuchung der Dehydrocholsäure gekommen war, stützend in dieser und damit auch in der Cholsäure 25 Kohlenstoffatome annahm. Aus den vom Verfasser<sup>2)</sup> dargelegten Gründen mussten aber die Analysen der aus Alkohol umkrystallisirten Dehydrocholsäure, weil diese, wenn sie aus diesem Medium umkrystallisirt wird, theilweise in ihren Aethylester übergeht, — und zu den Analysen war ein auf diesem Wege gereinigtes Material verwendet worden —, einen zu hohen Kohlenstoffgehalt ergeben. Damit fällt denn die Hauptstütze, die Latschinoff für die Berechnung seiner Formel aus den Analysenzahlen anführt, fort. Bei der hochmolecularen Zusammensetzung der Säure weichen die Zahlen auch nicht viel von den für seine Formel geforderten ab. Die Elementaranalyse allein vermag eben in solchen Fällen nicht zur Aufstellung einer unanfechtbaren Formel zu führen, wie es die reichlich vorliegenden Analysen in diesem Falle wieder beweisen.

Die Choleinsäure ist nämlich, wie Latschinoff in ausgezeichneter und unanfechtbarer Weise<sup>3)</sup> bewiesen hat, identisch mit einem der Cholsäure noch sehr nahestehenden Reductionsproducte dieser. Mylius<sup>4)</sup> hat nämlich aus letzterer, indem er sie mit Pancreas faulen liess, eine von ihm als Desoxycholsäure bezeichnete Säure erhalten, welche um ein Atom Sauerstoff ärmer ist als das Ausgangsmaterial. Da nun diesem jetzt ohne allen Zweifel die Formel  $C_{24}H_{40}O_5$  zukommt, kann die Formel des Reductionsproducts nur  $C_{24}H_{40}O_4$  sein, und weil es identisch mit der Choleinsäure ist, kann die letztere ebenfalls nur diese Formel haben.

Die Choleinsäure<sup>5)</sup>, welche Bezeichnung wohl der der Desoxycholsäure vorzuziehen ist, und die daher passend auf

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 14, S. 72.

2) » » » » » Bd. 25, S. 805.

3) » » » » » Bd. 20, S. 1046.

4) » » » » » Bd. 19, S. 376.

5) Man hat in älterer Zeit mit diesem Namen die jetzt Taurocholsäure genannte Verbindung belegt. Nachdem dies aber so gut wie gänz-

diese übertragen wird, um zwei identische Körper auch mit demselben Namen zu belegen, ist von Latschinoff bereits in die zugehörige Dehydrocholeinsäure übergeführt worden, indem er sie, ganz wie Hammarsten die Cholalsäure, mit einer Lösung von Chromsäure in Eisessig oxydirte. Eine Wiederholung des Versuches führte zu denselben Resultaten und ist den Angaben Latschinoff's nichts hinzuzufügen, nur ist aus den vorhin angegebenen Gründen die Formel dieser Säure  $C_{24}H_{34}O_4$ . Im Gegensatz zur Dehydrocholsäure verestert diese Verbindung auch bei tagelangem Kochen mit Alkohol nicht.

In den Petersburger Gallen finden sich nach Latschinoff's Angaben bis 33 Proc. von ihr vom Gewichte der Gallensäuren. Ich habe von ihr, wie erwähnt, nur ca. 60 gr. erhalten, zu denen später aus den Mutterlaugen noch etwa 25 gr. hinzukamen (siehe weiterhin). Da das Ausgangsmaterial 100 Liter Galle betragen hatte, macht das nur 0,085 Proc. aus, während in den Latschinoff zur Verfügung stehenden Gallen zu Folge der weiterhin zu gebenden Berechnung ca. 1,6 Proc. von ihr, also etwa die 19fache Menge, enthalten gewesen ist, wonach es nicht auffallend erscheinen kann, dass sie von anderen, denen in Bezug auf sie so hochprocentige Gallen nicht zur Verfügung standen, bisher nicht aufgefunden worden ist.

In älteren Zeiten, in denen man die Zerlegung der gepaarten Gallensäuren mittelst Fäulniss bewirkte, mag sie allerdings mancher für sich oder mit Cholalsäure gemengt in Händen gehabt, aber mit dieser verwechselt haben.

Dies ist die zweite Bestätigung der Thatsache, dass Rindergallen verschiedenen Ursprungs sehr verschieden zusammengesetzt sein können. So hat bekanntlich Hüfner zuerst gefunden, dass die Galle der Tübinger Gegend nach dem Ansäuern mit Salzsäure und Ueberschichten mit Aether sehr bald ohne weiteres grosse Mengen krystallisirter Glycocholsäure liefert, welches Verhalten nur der Galle jener Gegend

lich in Vergessenheit gerathen ist, kann man, wie ich glaube, diesen Namen für die zuerst von Latschinoff dargestellte und von ihm so benannte Säure aus der Galle beibehalten.

eigenthümlich ist. Emich<sup>1)</sup> constatirte dann, dass man anderwärts die Hüfner'sche Reaction ganz einfach aus dem Grunde nicht erhält, weil die Gallen entweder keine oder nur wenig mehr Glycocholsäure enthalten, als wie durch den Zusatz von Taurocholsäure zu lösen ist, welche das einzig auffindbare Agens ist, das die Abscheidung der Glycocholsäure eimigermassen zu hindern vermag.

Es ward nunmehr zur Untersuchung der Mutterlauge der Choleinsäure übergegangen, in der noch etwaige weitere unbekannte Säuren enthalten sein mussten. Sie wurde nach starkem Verdünnen mit Natronlauge neutralisirt, und die erhaltene wässrige Lösung fractionirt mit Salzsäure ausgefällt. Die erhaltenen 6 Fällungen wurden aus Eisessig umzukrystallisiren versucht. 1 und 2 blieben ganz harzig, 3—6 gaben in Harz eingebettete Spuren von Krystallen. 1 und 2 wurden darauf wiederum in Natronlauge gelöst, und nach dem Einleiten von Kohlensäure auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft. Alkohol extrahirte nunmehr das organisch saure Natriumsalz. Ein geringer Zusatz von alkoholischer Bleizuckerlösung entfärbte die Lösung bedeutend, aus der die Säure darauf mit Salpetersäure wieder ausgefällt wurde. Versuche, das erhaltene Harz aus Aceton umzukrystallisiren, führten wiederum nicht zum Ziele; darauf wurde es mit Barytwasser ausgekocht. Aus der nach dem Entfernen des überschüssigen Baryts eingedampften Lösung krystallisirte ein Salz, welches sich als cholalsaures Baryum erwies. Gefunden 14,19 Proc. Ba statt 14,40 Proc. Es verdankte seine Anwesenheit in der Mutterlauge jedenfalls dem Umstande, dass es nicht möglich gewesen war, jene grossen Faltenfilter, auf denen einst die fremden Baryumsalze gesammelt worden waren, auszuwaschen. Die aus dem Salz freigemachte Säure gab mit einer Lösung von Jod in Jodkalium die für Cholalsäure charakteristische Blaufärbung.

Das neben dem cholalsauren Baryum entstandene wasserunlösliche Baryumsalz lieferte bei seiner Wiederzerlegung 3,5 gr. eines nicht zum Krystallisiren zu bringenden Harzes.

<sup>1)</sup> Monatshefte für Chemie, Bd. 3, S. 335.

Portion 3—6 wurden schliesslich zusammen in der gleichen Art verarbeitet. Die erhaltene alkoholische Lösung der Natriumsalze erwies sich als durch die meisten üblichen Fällungsmittel nicht fällbar. Nur mittelst alkoholischer Kupferchloridlösung konnten vier fractionirte Fällungen erhalten werden. Die aus ihnen wieder in Freiheit gesetzten Säuren erwiesen sich als durchaus unkrystallisirbar. Das Gesamtgewicht dieser Harze betrug ca. 90 gr.

Nachdem aus der mit Kupferchlorid versetzten Lösung auf weiteren Zusatz nichts mehr ausfiel, wurde sie mit Natriumcarbonat zur Trockne gedampft, und Wasser zog jetzt wieder die löslichen Natriumsalze aus. Auf Säurezusatz fielen 64 gr. Harz aus. 120 ccm. Normalnatronlauge brachten das Harz in Lösung, und die viermalige Zugabe von je 30 ccm. Normalschwefelsäure lieferte 4 Niederschläge, die nicht krystallisiert zu erhalten waren. Sie wurden darauf in eisessigsaurer Lösung mit Chromsäure oxydirt. Hierbei lieferten 1 und 2 fast reine Dehydrocholsäure. Diese wurde identifizirt: a) durch den Schmelzpunkt, b) durch ihre Veresterung beim Kochen mit Alkohol und c) durch Analyse des bei 100° getrockneten Baryumsalzes. (Berechnet 14,59 Ba gefunden 14,51 Ba).

Portion 3 ergab Dehydrocholeinsäure, deren Baryumsalz ebenfalls analysirt wurde.

0,1823 gr. Substanz gaben 0,0100 Wasser und 0,0427 BaSO<sub>4</sub>.

Berechnet für		Gefunden:
(C <sub>21</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Ba + 3H <sub>2</sub> O:		
Ba	14,26%	13,77%
H <sub>2</sub> O	5,61 »	5,48 »

Das Oxydationsproduct der Portion 4 war nicht zum krystallisiren zu bringen.

Man kann hieraus schliessen, dass die erwähnten 64 gr. Säure zu ca. 40 gr. aus Cholalsäure und Choleinsäure bestanden, während der Rest unkrystallisirbares Harz war. Aus den Kupfersalzen waren 90 gr. Harz wieder abgeschieden worden, vorher erwähnt wurden 3,5 gr. Harz, im Ganzen erwiesen sich also etwa 120 gr. als unkrystallisirbar, was 0,12 Proc. des Rohmaterials entspricht.

Man ist auf Grund der bisherigen Mittheilungen im Stande den Durchschnittsgehalt der Galle an den in ihr vorkommenden Säuren mit genügender Genauigkeit festzustellen, wenn es gelingt, deren Gehalt an Cholalsäure selbst wenigstens bis auf Zehntel Procente genau zu bestimmen, denn eine directe Wägung der im krystallisirten Zustande erhaltenen Gesamtmenge dieser ist wegen der grossen Menge, die von ihr in den Mutterlaugen stecken bleibt, ganz werthlos.

Seiner Zeit<sup>1)</sup> zeigte sich, dass wenn man diese Mutterlaugen mit Chromsäure in Eisessig nach Hammarsten's Verfahren oxydirt, man aus ihnen Dehydrocholsäureäthylester erhält, und zwar in solchen Mengen, dass neben Cholalsäureester kaum noch etwas anderes in ihnen vorhanden sein kann. Der sichere Beweis hierfür ist jetzt in folgender Art erbracht.

25 gr. der alkoholischen Mutterlauge wurden auf dem Wasserbade völlig von Alkohol befreit, und dann durch Kochen mit Natronlauge in Lösung gebracht. Aus der Lösung wurden die in ihr vorhandenen Säuren in 6 Portionen nach einander ausgefällt. Alle sechs verhielten sich wie Cholalsäure, gaben die Jodreaction u. s. w. Um ganz sicher zu gehen, wurde Portion 6 noch zur Dehydrocholsäure oxydirt, und diese an ihrem Schmelzpunkt und der Eigenschaft, beim Kochen mit Alkohol theilweise zu verestern, identificirt, womit die Nichtanwesenheit sonstiger Säuren festgestellt ist.

Daraufhin wurden die Versuche zur quantitativen Bestimmung der Cholalsäure in der Galle folgender Art ausgeführt. 20 ccm. Galle wurden mit 2 gr. festem Aetznatron 24 Stunden am Rückflusskühler im Sieden gehalten, dann wurde durch Kohlensäure das Aetznatron in Carbonat verwandelt und die so erhaltene Lösung auf dem Wasserbade möglichst zur Trockne gedampft. Zugabe von 96 Proc. Alkohol führt den Rückstand in ein leicht auswaschbares Pulver, das hauptsächlich aus Natriumcarbonat besteht, über. Es wird an der Pumpe so lange mit siedendem Alkohol gewaschen, bis dieser nach dem Verdünnen mit Wasser und Säurezusatz sich nicht mehr trübt. Die Untersuchung des im Wasser ge-

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 806.

lösten Rückstandes zeigt dann, dass dessen Lösung ebenfalls durch Säurezusatz nicht mehr getrübt wird, das Auswaschen also wirklich quantitativ ist. Das alkoholische Filtrat, dessen Menge durchschnittlich 100 cbcm. beträgt, wird hierauf mit dem vierfachen Quantum Wasser verdünnt, und mit einer Lösung von 0,5 gr. Baryumchlorid in viel Wasser versetzt. Die hierdurch bewirkte Fällung wird abfiltrirt. Sie besteht aus fettsaurem und choleïnsaurem Baryum, sowie den Baryumsalzen der Harze. Das Filtrat hiervon wird mit Salzsäure angesäuert und die dadurch gefällte Cholalsäure mit Aether ausgeschüttelt. Während nämlich Cholalsäure in Aether kaum löslich ist, geht sie in Aetheralkohol leicht über. Abdampfen der Lösung und Trocknen des Rückstandes bis zur Gewichtskonstanz ergibt alsdann die Menge der Cholalsäure.

Die Methode soll später zu einer wirklich quantitativen ausgearbeitet werden, indem nicht die auf diesem Wege als Rückstand erhaltene Cholalsäure als solche gewogen, sondern sie vorher in ein möglichst unlösliches auswaschbares Salz von constanter Zusammensetzung, wozu eine genauere Untersuchung dieser nöthig ist, übergeführt werden soll.

Die Bestimmung des Cholalsäuregehalts einer Galle auf diesem Wege ergab 4,86 Proc., von einer anderen wurden zwei Bestimmungen neben einander gemacht, die 4,68 Proc. und 4,69 Proc. ergaben.

Die Berechnung des Gehalts der Galle an den verschiedenen Säuren ergibt nun Folgendes. Abgesehen von der Cholalsäure waren aus 100 Litern Galle 480 gr. röhre Natriumsalze<sup>1)</sup> erhalten worden. Da fettsaure Salze etwa 8 Proc., gallensaure etwa 6 Proc. Natrium enthalten, entspricht das ca. 445 gr. Säuren. Diese bestanden, wie im Vorhergehenden gezeigt, aus:

Choleïnsäure, kryst. . . . .	60 gr.
» in den Mutterlaugen . . . . .	25 »
Cholalsäure . . . . .	40 »
Fettsäuren . . . . .	150 »
Harzige Säuren . . . . .	120 »
Verlust . . . . .	50 »
	<hr/>
	445 gr.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 68.

Im Durchschnitt erhalten 100 Liter Galle 4790 gr. Cholalsäure, zu denen also noch 405 gr. sonstige Säuren kommen. Berechnet man nun procentualiter das Verhältniss der einzelnen Säuren zur Gesamtmenge von 5195 gr., so ergibt sich, dass jenes Harz, als welches man die Cholalsäure erhält, wenn man die mit Natronlauge gekochte Galle in der angegebenen Art durch Säuren ausfällt, sich für die Galle hiesiger Gegend zusammensetzt aus:

Cholalsäure . . . . .	92,204 ‰
Choleinsäure . . . . .	1,636 ‰
Stearinsäure	} . . . 2,811 ‰
Palmitinsäure	
Oelsäure	
Myristinsäure . . . . .	0,077 ‰
Harzige Säuren . . . . .	2,309 ‰
	<hr/>
	99,037 ‰
Verlust . . . . .	0,663 ‰
	<hr/>
	100,000 ‰

und der Procentgehalt der Galle an organischen durch Salzsäure fällbaren Säuren nach dem Kochen mit Natronlauge beträgt 5,195 Proc., die sich zusammensetzen aus:

Cholalsäure . . . . .	4,790 ‰
Choleinsäure . . . . .	0,085 ‰
Stearinsäure	} . . . 0,146 ‰
Palmitinsäure	
Oelsäure	
Myristinsäure . . . . .	0,004 ‰
Harzige Säure . . . . .	0,120 ‰
	<hr/>
	5,145 ‰
Verlust . . . . .	0,050 ‰

Königsberg. Institut für medicinische Chemie und Pharmakologie.