

Einige Bemerkungen über Glykocholsäure und Paraglykocholsäure.

Von
E. Letsche.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen.)
(Der Redaktion zugegangen am 8. Juni 1909.)

Während einer Reihe von Versuchen, zu welchen mir als Ausgangsmaterial Cholalsäure diente — über einige Resultate dieser Versuche hoffe ich nächst dem berichten zu können —, hatte ich reichlich Gelegenheit, mich mit den Eigenschaften der Glykocholsäure, deren einen Paarling die Cholalsäure darstellt, vertraut zu machen; dabei zeigte es sich, daß meine Beobachtungen von den in der Literatur sich findenden Angaben über die Eigenschaften der Glykocholsäure in einigen Punkten differierten. Die Aufklärung dieser Differenzen war nicht Selbstzweck, vielmehr hoffte ich dabei vor allem Aufschluß über eine nicht uninteressante Frage, das Wesen der Paraglykocholsäure betreffend, zu erhalten.

Die Frage nach der Art der Isomerie von Glykocholsäure und Paraglykocholsäure ist bis jetzt offen geblieben. Strecker, der die Parasäure anscheinend als erster beschrieben hat,¹⁾ berührt diese Frage nicht näher und auch Emich²⁾ hat sich über diesen Punkt nicht ausgesprochen, so interessant auch diese Frage allein schon von chemischen Gesichtspunkten aus sein mußte. Ließ sich aber noch die Annahme von Strecker, daß die Parasäure schon in der Galle vorhanden sei, als richtig erweisen, so hätte damit die Frage noch erhöhtes Interesse beanspruchen dürfen. Es mag deshalb schon hier erwähnt sein, daß irgend welche Gründe, die diese Auffassung stützen könnten, sich nicht haben finden lassen, daß vielmehr nach meinen Be-

¹⁾ Annalen d. Chemie, Bd. LXV, S. 12.

²⁾ Monatsheft f. Chemie, Bd. III (1882), S. 335.

obachtungen als erwiesen gelten darf, daß die Parasäure erst während der Reindarstellung der Glykocholsäure aus dieser sich bildet.

1. Isolierung der Glykocholsäure.

Ich gewann die Glykocholsäure nach dem von Hüfner¹⁾ beschriebenen Verfahren, das darin besteht, daß man möglichst frische Rindergalle in einem Zylinder mit Äther überschichtet, konzentrierte Salzsäure zugibt und den Zylinderinhalt sofort kräftig durchschüttelt. Läßt man hierauf ruhig stehen, so erstarrt die anfänglich milchig getrübe Flüssigkeit nach einiger Zeit zu einem festen Brei feinsten Nadelchen, die an der Glaswand meist zu natrolithähnlichen Rosetten zusammengeordnet sind.

Da diese Art der Glykocholsäuregewinnung bisher fast überall,²⁾ außer hier in Tübingen, versagte, hat man wohl geglaubt, die eben erwähnte Eigenschaft vieler Gallen auf lokale Einflüsse zurückführen zu müssen.

Ich habe nun im Laufe von 2 Sommersemestern im ganzen gegen 400 l Galle verschiedener Herkunft auf Glykocholsäure nach dem Hüfnerschen Verfahren verarbeitet und dabei die Beobachtung machen können, daß in etwas weniger als der Hälfte der beobachteten Fälle die Krystallbildung allerdings nicht sofort spontan erfolgt, aber meist sehr leicht eintritt, sobald man die angesäuerte Flüssigkeit impft — wobei übrigens, eine immerhin bemerkenswerte Tatsache, Krystalle von einer früheren Gewinnung, die noch nicht vollständig trocken waren, sich als wirksamer erwiesen als solche, die schon getrocknet oder gar noch umkrystallisiert waren — und daß nur in einer ganz kleinen Anzahl von Fällen — etwa 3—4% — die Krystallbildung überhaupt ausbleibt.

Von der in Arbeit genommenen Galle stammten nur etwa 3,5% von in Tübingen geschlachteten Tieren; rund 16% erhielt

¹⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. X, S. 267.

²⁾ Bulnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 304.

Medwedew, Centralbl. f. Physiologie, Bd. XIV, S. 289.

W. Osborne, Journ. of Physiol., Bd. XXV, 1900.

Emich, Monatsh. f. Chemie, Bd. III, 1882, S. 335 ff.

Marshall, Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 234.

ich aus Hechingen und das Hauptquantum wurde mir aus dem Stuttgarter Schlachthause geliefert.

Nach meinen Erfahrungen wird man erwarten dürfen, daß diese «Reaktion» auch anderwärts mit gleicher Häufigkeit gelingt, wofern man nur die Bedingungen einhält, wie wir sie für zweckmäßig gefunden haben.

Wie schon Hüfner angab, wendet man auf 100 ccm Galle zweckmäßig (3—)4 ccm HCl (D 1,165) an und gibt die Säure aber erst nach dem Äther zu. Die Menge des Äthers bemißt man so, daß auch nach kräftigem Schütteln noch eine Ätherschicht über der wässrigen Flüssigkeit sich findet. Sofort nach dem Ansäuern wird die Flüssigkeit einige Minuten kräftig durchgeschüttelt¹⁾ und dann sich selbst überlassen.

Ein Überschuß von HCl ist, wie ich mehrfach zu beobachten Gelegenheit hatte, von Nachteil für den Ausfall der Reaktion, und es ist deshalb ratsam, die geeignete Quantität Säure vorher durch einige Versuche im kleinen (mit ca. 10 ccm Galle) auszuprobieren.

Weiter ist zu beachten — eine übrigens ganz selbstverständliche Tatsache —, daß auch die Temperatur der Galle den Ausfall der Reaktion beeinflusst, und es empfiehlt sich daher in zweifelhaften Fällen vor der Zugabe der Säure die Galle erst einige Zeit bei niederer Temperatur (2—3°) stehen zu lassen.

Dagegen ist es nicht notwendig, die ganze Manipulation in einem engen Zylinder, wie Hüfner angab, vorzunehmen: ich habe vielmehr große Rollgläser für diesen Zweck verwendet und dabei gewöhnlich 2—3 l, vielfach auch 4 l Galle in einem Gefäß nach dem angegebenen Verfahren behandelt.

Worin der Grund zu suchen ist, daß aus der einen Galle die Glykocholsäure sich leicht in Krystallen ausscheidet, aus einer andern dagegen nicht oder nur schwer, ist bis jetzt noch nicht bekannt. Hüfner²⁾ sowohl wie Marshall³⁾ und Emich⁴⁾

¹⁾ Unterläßt man das Schütteln, so bleibt die Krystallbildung unter Umständen selbst in Gallen, die beim Schütteln die Reaktion leicht geben, aus.

²⁾ Z. f. pr. Ch., 1881, S. 97.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 233.

⁴⁾ Monatsh. f. Chemie, Bd. III, S. 335.

haben festgestellt, daß in den nicht «krystallisierenden» Gallen — wenn ich mich der Kürze halber so ausdrücken darf — der Gehalt an Taurocholsäure höher ist als in den krystallisierenden Gallen und daß der Gehalt an Glykocholsäure im ersteren Fall entsprechend geringer ist.

Hüfner fand für krystallisierende Gallen das Verhältnis Taurocholsäure : Glykocholsäure wie 1 : 5; für nicht krystallisierende wie 1 : 1.

Marshall fand das Verhältnis 3 : 4 bezw. 33 : 1.

Nun ist Taurocholsäure bekanntlich in H_2O sehr leicht löslich, während Glykocholsäure in Wasser sich nur schwer löst. Außerdem besitzen Taurocholsäurelösungen ein hohes Lösungsvermögen für Glykocholsäure und es war naheliegend, diese beiden Tatsachen zur Erklärung der in Rede stehenden Erscheinung heranzuziehen. Doch zeigen Versuche von Hüfner,¹⁾ bei welchen Lösungen von reinem glykocholsauren Natrium und taurocholsauren Natrium — beide je ca. 8%ig — in verschiedenen Verhältnissen gemischt und dann in gleicher Weise wie Galle weiterbehandelt wurden, daß diese Tatsachen für die Erklärung des negativen Ausfalls der Reaktion nicht in Frage kommen können, denn es trat, und zwar sehr reichliche, Krystallisation noch ein, als von obigen Lösungen 7 Teile taurocholsaures Natrium und 1 Teil glykocholsaures Natrium gemischt wurden, und selbst dann noch, als zu einer Mischung von 3 Teilen einer Lösung taurocholsauren und 2 Teilen glykocholsauren Natriums 15 Teile Wasser gesetzt und diese Lösung dann angesäuert wurde. Es müssen somit wohl andere Faktoren, welche gleichzeitig das Verhältnis von Glykocholsäure und Taurocholsäure beeinflussen, hierbei im Spiel sein und es soll Sache erneuter Versuche sein, hierüber Klarheit zu schaffen. Inwieweit auf solche Faktoren Alter, Geschlecht und Rasse der Tiere bestimmend einwirken, darüber besitzt man bis jetzt nur dürftige Kenntnisse.²⁾

Was den Einfluß der Fütterung auf den Ausfall der Reaktion anlangt, so ist die Annahme, daß vielleicht Grummetfütterung, wie Hüfner meint, den positiven Ausfall begünstige,

¹⁾ J. f. prakt. Ch., 1881, S. 101.

²⁾ J. f. prakt. Ch., 1879, S. 303.

wohl nicht zutreffend, denn ich habe die Reaktion wiederholt schon Mitte April an einer Reihe von Proben in ganz typischer Weise erhalten, zu einer Zeit, da die Tiere sicher noch kein grünes Futter erhalten hatten.

Ist die Glykocholsäuremenge, die man nach diesem Verfahren erhält, auch etwas klein — die Ausbeute schwankt zwischen 0,8 und 1,5 g für 100 ccm Galle —, so ist die Säure, die man nach nur einmaligem Umkrystallisieren erhält, doch einheitlich und so gut wie rein. Außerdem ist die Gewinnungsweise außerordentlich einfach und gelingt es daher bei Verarbeitung größerer Quantitäten Galle ziemlich leicht, rasch reichliche Mengen Glykocholsäure zu erhalten.

2. Über Paraglykocholsäure.

Sucht man die Glykocholsäure, die man durch Umkrystallisieren der durch Salzsäure und Äther erhaltenen krystallisierten Fällung aus heißem Wasser in feinen weißen Nadeln erhält, durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Wasser zu reinigen, so macht man die auffallende Beobachtung, daß ein Teil der Säure, die beim Abkühlen der ersten Lösung erhalten wurde, nachher sich nicht mehr löst.¹⁾

Dieser ungelöste Teil unterscheidet sich von Glykocholsäure nach dem Trocknen schon makroskopisch durch seinen Perlmutterglanz. Bei der Betrachtung des ungelösten Teils unter dem Mikroskop erkennt man kleine rhombische Täfelchen, die aber nur selten ganz ausgebildet sind; vielmehr stellt das Ganze meist ein Haufwerk von kleinen Krystallfragmenten dar, während Glykocholsäure stets in langen feinen Nadeln sich ausscheidet.

Schon Strecker²⁾ gibt an, daß die aus dem Natriumglykocholat durch H_2SO_4 gefällte Säure sich in Wasser nur mehr teilweise löse, und hat auch festgestellt, daß der in Wasser unlösliche Teil dieselbe Zusammensetzung aufweist, wie der in Wasser lösliche Teil. Die Beschreibung seiner «Parachol-

¹⁾ Cfr. z. B. Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 565.

²⁾ Annalen d. Chemie, Bd. LXV, S. 12.

säure» stimmt auf die auch von Emich und Wahlgren u. a. beobachtete und jetzt «Paraglykocholsäure» genannte Verbindung. Emich¹⁾ gibt als Schmelzpunkt 183/84°, Wahlgren²⁾ 185/88° an; ich fand bei wiederholten Bestimmungen 193/95° (unkorr.). Die Analyse der im Vakuum getrockneten Substanz ergab:

0,1450 g Substanz geben 0,3563 g CO₂ und 0,1218 g H₂O.

Gefunden: 67,01% C, 9,40% H.

Für C₂₆H₁₃O₆N berechnet: 67,04% C, 9,31% H.

Molekulargewichtsbestimmung nach der Gefriermethode in Eisessig:

0.4032 g Substanz geben in 23,017 g Lösungsmittel $\Delta = 0,194^\circ$.

Gefunden: 360,4³⁾

Berechnet: 465,4.

Die Bestimmung der spezifischen Drehung im Landolt-schen Halbschattenapparat lieferte folgende Zahlen:

0,7696 g Substanz zu 20,18 ccm in 96%igem Alkohol gelöst drehten in einer Schicht von 1 dem 1,053° nach rechts. $t = 7^\circ$.

Somit $[\alpha]_D^{25} = + 32,25^\circ$.

Die Löslichkeit dieser Paraglykocholsäure in den gebräuchlichen Lösungsmitteln ist, abgesehen vom Wasser, dieselbe wie bei der gewöhnlichen Glykocholsäure; Alkohol löst kalt sehr leicht, Eisessig ebenfalls, verdünnte (25%ige) Essigsäure löst in gelinder Wärme ziemlich leicht, Aceton löst schwer, Benzol und Chloroform lösen nichts. Kaltes Wasser löst kaum merklich; in heißem Wasser ist die Löslichkeit ziemlich beträchtlich.

Bei 96° waren in 30 ccm (= 28,9995 g) gelöst 0,0568 g.

Also in 100 ccm 0,195 g.

Strecker, der wie erwähnt diese Paraglykocholsäure zuerst beobachtet hat, glaubt, daß sie schon in der Galle vorhanden sei. Emich⁴⁾ hat sie erhalten, indem er eine heißgesättigte wässrige Glykocholsäurelösung 24 Stunden unter Luftdurchleiten am Rückflußkühler kochte; dabei stellte er fest,

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 565.

³⁾ Vgl. die Bemerkung S. 471.

⁴⁾ M. f. Ch., Bd. III, S. 335.

daß rund 22% der angewandten Glykocholsäure in die Parafom übergegangen waren. Diese Beobachtung hat Wahlgren¹⁾ bestätigt; er kommt zu dem Schluß: «die Menge der Paraglykocholsäure wächst mit Dauer und Intensität des Kochens».

Diese Beobachtungen beweisen die Möglichkeit des Übergangs der einen Form in die andere, und es interessierte mich, zu erfahren, wodurch diese Umwandlung bewerkstelligt würde und in welchem Verhältnis die beiden Isomeren zueinander stehen.

Erhitzt man Glykocholsäure, die man beliebig oft aus Wasser umkrystallisiert haben kann, mit einer zur vollständigen Lösung nicht hinreichenden Menge Wasser auf dem kochenden Wasserbade, bis das Ungelöstbleibende sich zu Boden setzt,²⁾ so besteht dies Ungelöste — das beweisen der Schmelzpunkt und die Untersuchung unter dem Mikroskop — vollkommen aus Paraglykocholsäure. Filtriert man heiß vom Ungelösten ab, läßt das Filtrat erkalten, bis die gelöste Glykocholsäure sich ausgeschieden hat und erhitzt man jetzt von neuem, so bleibt, ohne daß eine nennenswerte Menge Wasser verdunstet wäre, wieder ein Teil ungelöst; dasselbe Spiel kann man noch 2—3 mal wiederholen, jedesmal mit demselben Erfolg, nur nimmt die Quantität des ungelöst bleibenden Teils bei jeder Wiederholung ab. Der Grund für diese allmähliche Abnahme des ungelöst bleibenden Teils ist leicht einzusehen: Je kleiner die Glykocholsäuremenge im Verhältnis zum vorhandenen Wasser ist, desto rascher wird sie sich auflösen bei einer Temperatur, die unterhalb des Umwandlungspunktes liegt, und desto kleiner wird demzufolge die Menge der Glykocholsäure sein, die in festem Zustande — und nur in festem Zustande ist nach meinen Beobachtungen die Umwandlung von Glykocholsäure in Paraglykocholsäure möglich³⁾ — einer erhöhten

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 565.

²⁾ Solange zu erhitzen ist wesentlich, andernfalls erfolgt nur teilweise Umwandlung; Dauer je nach der angewandten Menge Glykocholsäure 1—3 Stunden.

³⁾ Ist die Säure einmal gelöst, so wird entgegen den Angaben von Emich u. Wahlgren keine Paraglykocholsäure mehr gebildet, wenn man das Verdampfen von H₂O verhindert.

Temperatur ausgesetzt und in die Paraform übergeführt wird. Dazu kommt noch, daß, wie oben erwähnt, die Paraform in heißem Wasser sich ganz beträchtlich löst.

Noch rascher und leichter erhält man die Paraform, wenn man trockene, reine Glykocholsäure einige Zeit auf 115° erhitzt. Die Umwandlung gibt sich durch Aussehen, Schmelzpunkt und Löslichkeit zu erkennen. Über die durch das Erwärmen bewirkte Änderung der Löslichkeit geben folgende vergleichenden Versuche Auskunft.

In Rundkolben von 500 ccm wurden 0,5 g Säure und 200 ccm Wasser auf dem kochenden Wasserbade¹⁾ etwa drei Stunden erwärmt. Nach dieser Zeit waren ungelöst geblieben von Glykocholsäure (im Vakuum getrocknet) 0,02 g, von Paraglykocholsäure erhalten durch Erhitzen der normalen auf 115° 0,26 g.

Durch Kochen einer heißgesättigten Lösung von Glykocholsäure wird, vorausgesetzt, daß man dem Verdampfen von Wasser vorbeugt, keine Umwandlung herbeigeführt,²⁾ vielmehr stellt, wie aus dem Folgenden zu ersehen ist, in Lösung Glykocholsäure gegenüber Paraglykocholsäure die begünstigte Form dar.

Löst man die Paraform z. B. in kaltem Alkohol und gießt man diese in Lösung in viel H_2O , so geht die anfänglich die Flüssigkeit ganz gleichmäßig durchsetzende Trübung je nach Umständen bald in kürzerer, bald in längerer Frist (12 Stunden) in feine Nadeln über, die nach Aussehen, Löslichkeitsverhältnissen und Zersetzungspunkt die gewöhnliche Glykocholsäure darstellen.

Ebenso erhält man aus einer Lösung in verdünnter, warmer Essigsäure beim Abkühlen und schließlich auch aus Wasser die typischen Nadeln von Glykocholsäure.

Die Rückverwandlung der Paraform in die normale Säure erfolgt jedoch nicht bloß beim Lösen, vielmehr läßt sich ein wenn auch nur sehr langsamer Übergang der labilen Form in

¹⁾ Temperatur in der Flüssigkeit $85-90^{\circ}$.

²⁾ Hält man eine gesättigte Lösung von Glykocholsäure 7 Stunden im wallenden Sieden am Rückflußkühler, so tritt nur eine ganz minimale Opaleszenz der Lösung ein.

die stabile Glykocholsäure beobachten, wenn man die feste Parasäure mit Wasser übergießt.

Reine, vollkommen trockene Parasäure bleibt, soweit meine Beobachtungen bis jetzt reichen, monatelang unverändert. Wenn man sie aber mit nur soviel Wasser übergießt, daß die Krystalle eben davon bedeckt sind, und wenn man dann einige Zeit (14 Tage — 3 Wochen) stehen läßt, so findet allmählich eine Umwandlung statt; leichter tritt diese ein, wenn man nicht reines Wasser verwendet, sondern die Mutterlauge von Glykocholsäure, die indes nur so wenig Glykocholsäure zu enthalten braucht, daß auch bei längerem Stehen eine Ausscheidung von Glykocholsäurekrystallen nicht mehr eintritt.

Diese leicht ausführbare Umwandlung der einen Form in die andere gestattet nun auch, einigermaßen sichere Schlüsse über die Art der Isomerie der beiden Verbindungen zu ziehen.

Ausgeschlossen ist zunächst optische Isomerie in dem Sinne, daß die Parasäure die racemische Form der natürlich vorkommenden Glykocholsäure darstellt, eine Vermutung, die ja ziemlich nahe liegt, kennt man doch eine ganze Reihe optisch aktiver Substanzen, die infolge Temperaturerhöhung in racemische Mischungen bzw. Racemverbindungen übergehen.¹⁾ Es spricht dagegen die Tatsache, daß aus der Parasäure stets die natürliche rechtsdrehende Verbindung und stets nur diese erhalten wird; weiter ist ja, wie oben gezeigt, die Parasäure selbst optisch aktiv, und zwar entsprechen Sinn und Größe der Drehung vollkommen dem bei gewöhnlicher Glykocholsäure (s. S. 473) beobachteten.

Diese Übereinstimmung in der spezifischen Drehung mit Glykocholsäure zeigt aber weiter, daß irgend eine Veränderung im Molekül, etwa in der Weise, daß wir der einen Form maleinoide, der andern fumaroide Struktur zuerkennen müßten, oder daß vielleicht eine Bindungsverschiebung stattgefunden hätte, nicht eingetreten sein kann; denn beiderlei Änderungen würden, nach dem, was wir bis jetzt über solche Fälle wissen, auch eine Änderung der spezifischen Drehung zur Folge haben.

Eine Entscheidung darüber, ob vielleicht in der Paraform

¹⁾ Z. B. Mandelsäure, Asparaginsäure, Kampfersäure.

ein Polymeres der andern, wofür u. a. der höhere Schmelzpunkt der ersteren sprechen könnte, vorliegt, ist mit den uns bis jetzt zur Verfügung stehenden Methoden nicht mit Sicherheit zu treffen. Jedenfalls kann man aus der Tatsache, daß 2 Verbindungen in Lösung die gleiche Molekulargröße aufweisen, nicht schließen, daß beide nun wirklich auch in festem Zustande das gleiche Molekulargewicht besitzen.

Wie oben — S. 467 — erwähnt, wurde für Paraglykocholsäure das Molekulargewicht 360 gefunden; unter gleichen Bedingungen lieferte die Glykocholsäure die Größe 384.¹⁾

0,3600 g Substanz in 22,546 g Lösungsmittel (Eisessig) geben eine Depression von $\Delta = 0,162^{\circ}$.

Als einzige Möglichkeit bleibt somit die Annahme, daß Glykocholsäure wie eine ganze Anzahl organischer Verbindungen, wie z. B. Benzophenon und Monochloressigsäure, polymorph ist.

Für diese Annahme spricht sowohl die Abhängigkeit der Bildung der Paraform von der Temperatur, als auch die Identität der Lösungen beider Formen, die im optischen und kryoskopischen Verhalten zutage tritt. Weitere Eigentümlichkeiten solcher polymorphen Formen sind u. a. die Differenz der Schmelzpunkte, die verschiedene Löslichkeit und schließlich auch die Möglichkeit des Übergangs einer Form in die andere — Eigentümlichkeiten, die, wie wir sehen, bei unseren beiden Säuren sehr leicht zu beobachten sind.

3. Schmelzpunkt der Glykocholsäure.

Bei den im Vorstehenden beschriebenen Versuchen über die Paraglykocholsäure sollte mir als einfachstes Mittel, die beiden Isomeren zu unterscheiden die Differenz in den Schmelzpunkten der beiden Säuren dienen.

Der Schmelzpunkt der Glykocholsäure ist vom Emich²⁾ zu $132/34^{\circ}$, von Wahlgren³⁾ zu $138/40^{\circ}$ und von Medwedew⁴⁾

¹⁾ Berechnet ist für $C_{30}H_{43}O_6N$ 465; Zahlen, die ebensoviel hinter den berechneten zurückbleiben, fand J. J. Abel (Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. Wien, Bd. XCIX. Abteil. IIb, 1890) für Cholesterin, Cholsäure und Hydrobilirubin.

²⁾ M. f. Ch., Bd. III, S. 335.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 565.

⁴⁾ C. f. Physiol., Bd. XIV, S. 289.

ebenfalls zu $138/40^{\circ}$ angegeben worden; dagegen sagen Bondi und Müller¹⁾: «Es ist uns weder bei der natürlichen noch bei der synthetischen Glykocholsäure gelungen, einen scharfen Schmelzpunkt festzustellen; die sorgfältigst gereinigten Präparate erweichten bei 133° und schmolzen bei 152° zu einer klaren Flüssigkeit.»

Der Schmelzpunkt der Paraform ist, wie oben erwähnt, $193/95^{\circ}$ (unkorr.).

Bei Krystallfraktionen, die nach Aussehen — lange, feine Nadeln — und Herstellungsweise aus gewöhnlicher Glykocholsäure bestehen mußten, fand ich als «Schmelzpunkt» einmal 165° , ein andermal 178° , bei einer 3. Probe 188° , bei einer 4. aus dem Natriumsalz gewonnenen Fraktion 130° ; alle Proben waren wiederholt umkrystallisiert, und die letzte solange ausgewaschen worden, bis im Waschwasser keine Salzsäure (von der Zersetzung des Natriumsalzes herrührend) mehr nachzuweisen war. Alle Proben wurden im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet.

Diese auffallenden Differenzen verlangten eine Erklärung.

Reine 3 mal aus H_2O umkrystallisierte Glykocholsäure wird in das Natriumsalz übergeführt und die stark verdünnte Lösung dieses Salzes mit H_2SO_4 angesäuert. Ist die Lösung genügend verdünnt, so verwandelt sich die unmittelbar nach dem Ansäuern gleichförmig milchig trübe Flüssigkeit in einen dicken Brei feiner Glykocholsäurenädelchen. Die Krystalle werden abgesaugt, ausgewaschen und im Vakuum über H_2SO_4 bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0,1511 g Substanz geben 0,3697 g CO_2 und 0,1287 g H_2O .

Gefunden: 66,73 % C, 9,53 % H.

Ferner wird reine Glykocholsäure (3 mal umkrystallisiert) noch einmal aus H_2O umkrystallisiert und ebenfalls im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet.

0,1627 g Substanz geben 0,3999 g CO_2 u. 0,1387 g H_2O .

0,3438 » » » 9,1 ccm N ($14,5^{\circ}$, 726,5).

Gefunden: 67,03 % C, 9,54 % H, 2,96 % N.

Für $C_{26}H_{43}O_6N$ berechnet: 67,04 % » 9,31 % » 3,02 % »

Die Bestimmung der Zersetzungspunkte — beide Proben

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 499.

im gleichen Bad — ergab bei nicht allzu raschem Erhitzen für beide Proben ein deutliches Schrumpfen zwischen $130/34^{\circ}$ und ein Aufschäumen bei 160° .

Unter Verwendung derselben Substanzen wurde bei einer 2. Bestimmung, wobei die Temperatur des Bades langsamer gesteigert wurde, gefunden: bei 132° ein starkes Schrumpfen, und bei 178° ein Aufschäumen.

Schließlich beobachtete ich bei raschem Erhitzen des Bades für beide Proben bei 124° ein ganz leichtes Sintern und bei $133/34^{\circ}$ ein starkes Aufschäumen, bei weiterem Erhitzen war bei 180° noch ein ganz leichtes Schäumen zu beobachten.

Der Grund für dieses auffallende Verhalten ist zweifellos darin zu suchen, daß durch die Temperaturerhöhung die Glykocholsäure zum mindesten teilweise in die Paraform übergeführt wird und je nachdem die in die Paraform umgewandelte Quantität größer oder kleiner ist — dies hängt von der Art des Erhitzens ab —, wird der Zersetzungspunkt höher oder niedriger liegen.

4. Spezifische Drehung der Glykocholsäure.

Die oben angeführte Vermutung, es könnte in der Paraglykocholsäure die Racemform der natürlich vorkommenden d(+)-Glykocholsäure vorliegen, veranlaßte mich, neben der spezifischen Drehung der Paraform auch diejenige der gewöhnlichen Glykocholsäure festzustellen.

Hoppe-Seyler¹⁾ hat die spezifische Drehung der Glykocholsäure in Alkohol gelöst ($c = 9,5$) zu $[\alpha]_D = +29^{\circ}$ angegeben und zugleich gefunden, daß eine Änderung der Konzentration die spezifische Drehung nicht beeinflußt. Diese letztere Beobachtung konnte ich bestätigen. Dagegen fand ich bei wiederholten Bestimmungen die spezifische Drehung nicht unerheblich höher, nämlich zu $[\alpha]_D = +32,3$ (s. S. 467).

0,3647 g Substanz in 20 ccm Lösung drehen in der 2 dm-Röhre bei 18° und Na-Licht $1,178^{\circ}$

$$[\alpha]_D^{18} = +32,3.$$

¹⁾ J. f. pr. Ch., 1863, Bd. LXXXIX, S. 261.

0,6219 g wie oben bewirken eine Drehung von $\alpha = 1,967^\circ$ bei 13° .

$$[\alpha]_D^{13} = + 31,70.$$

0,1541 g wie oben bei 8° geben $\alpha = 0,502$

$$[\alpha]_D^8 = + 32,58.$$

Um die bei freier Glykocholsäure erhaltenen Zahlen zu kontrollieren, bestimmte ich auch noch die Drehung des glykocholsauren Natriums in wässriger und in alkoholischer Lösung. Das Salz war erhalten worden durch Lösen von Glykocholsäure (3 mal umkrystallisiert) in Soda, Eindampfen dieser Lösung bis zur Trockene und Ausziehen des Rückstandes mit absolutem Alkohol. Eindampfen und Ausziehen mit absolutem Alkohol wurden 2 mal wiederholt.

Das Salz wurde bei 105° getrocknet und gab bei der Na-Bestimmung:

0,4221 g Na-Glykocolat geben 0,0589 g Na_2SO_4 .

Gefunden: 4,52% Na.

Für $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_6\text{NNa}$ berechnet: 4,73% »

1,702 g Substanz in 20,16 ccm Lösung (Wasser) drehen bei 13° und Na-Licht $\alpha = 4,10^\circ$; somit

$$[\alpha]_D^{13} = + 24,3^\circ.$$

0,488 g Substanz (in 90%igem Alkohol) zu 20,18 ccm Lösung drehen $1,344^\circ$.

$$[\alpha]_D^{13} = + 27,8^\circ.$$

Hoppe-Seyler¹⁾ fand für $[\alpha]_D$ in Wasser $+ 20,8^\circ$, in Alkohol $+ 25,7^\circ$. Die Lösungen, die Hoppe-Seyler untersuchte, waren zweifellos nicht einheitlich; es geht dies mit Sicherheit aus den Angaben über die Konzentration der alkoholischen Lösung des Natriumsalzes hervor.

Seine Lösung enthielt «in 100 ccm 20,143 g bei 110° trockenes Salz».²⁾

Eine, nach einem vergeblichen Versuch, eine ähnlich konzentrierte Lösung herzustellen, ausgeführte Löslichkeitsbestimmung ergab bei $t = 15^\circ$.

20,2475 g Lösung = 25 ccm hinterlassen 0,6996 g Rück-

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Loc. cit., S. 261.

stand (bei 110°); somit sind in 100 ccm Lösung enthalten, 2.798 g Natriumsalz.

Eine zweite Bestimmung, bei der die Lösung jedoch nicht klar zu erhalten war, ergab eben infolge der Trübung eine etwas höhere Zahl, nämlich bei $t = 16^{\circ}$ 3,390 g Natriumsalz in 100 ccm.

Die Bestimmung geschah in der üblichen Weise, daß feinzerriebenes Natriumsalz mit einer zur Lösung nicht ausreichenden Menge Alkohol (96 %) 8 Stunden im Thermostaten geschüttelt und die Lösung nach dieser Zeit mit einer Pipette, die an der Spitze mit einem kleinen Filterchen versehen war, abgemessen wurde.

Zusammenfassung.

1. Das von Hüfner zur Gewinnung von Glykocholsäure aus Rindsgalle angegebene Verfahren dürfte bei richtiger Ausführung wohl bei den meisten Gallen befriedigende Resultate geben.

2. Paraglykocholsäure entsteht unter dem Einfluß erhöhter Temperatur aus gewöhnlicher Glykocholsäure sowohl bei Gegenwart als auch bei Abwesenheit von Wasser. Die Rückverwandlung der Paraform in die gewöhnliche Säure erfolgt — soweit meine Beobachtungen reichen — nur bei Gegenwart von Wasser; leicht gelingt die Rückverwandlung, wenn die Parasäure vollkommen gelöst ist (in H_2O , Essigsäure, Alkohol), schwieriger und langsamer, wenn man die Krystalle nur mit Wasser bedeckt.

3. Paraglykocholsäure und die gewöhnliche Glykocholsäure sind «physikalisch Isomere»; sie stehen zueinander im gleichen Verhältnis wie z. B. die verschiedenen Modifikationen des elementaren Schwefels.

4. Der «Schmelzpunkt» der Glykocholsäure ist abhängig von der Art des Erhitzens.

5. Die von Hoppe-Seyler für die spezifische Drehung der Glykocholsäure und ihres Natriumsalzes angegebenen Zahlen sind zu niedrig — zweifellos, weil Hoppe-Seyler keine einheitliche Substanz in Händen gehabt hat.

Tübingen, im Mai 1909.