

Die Darstellung dieses Körpers geschieht der des vorigen völlig analog. Das Reactionsproduct wurde zur Entfernung von Spuren unangegriffen gebliebenen Harnstoffchlorids mit wenig Aether gewaschen.

Analyse: Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung.

0.1347 g Substanz gaben 0.0399 g Wasser und 0.2078 g Kohlensäure, entsprechend 0.0044 g Wasserstoff und 0.0567 g Kohlenstoff, oder in Procenten Kohlenstoff = 42.09 pCt. und Wasserstoff = 3.28 pCt.

Silberbestimmung.

0.0842 g Substanz gaben 0.0352 g Silber, entsprechend 41.8 pCt.

Das *p*-Ditolylcyanokohlensäureamid-2-Silbercyanid krystallisirt in kleinen prismatischen Nadeln, die bei 103° zu schmelzen beginnen und sich bei höherem Erhitzen allmählich zersetzen. Am Licht schwärzt sich die Verbindung nach und nach.

|    | Gefunden | Berechnet |
|----|----------|-----------|
| C  | 42.09    | 41.7 pCt. |
| H  | 3.28     | 2.7 „     |
| Ag | 41.8     | 41.7 „    |

Bemerkenswerth erscheint es, dass der Körper nur bedingungsweise zu entstehen scheint; denn trotzdem der Versuch ca. 6 Mal wiederholt worden ist, gelang es doch nicht, die Doppelverbindung zum zweiten Mal zu erhalten.

Die analoge Verbindung des isomeren Benzyl-*p*-tolylharnstoffchlorides konnte nicht erhalten werden.

## 270. Lassar-Cohn: Vorkommen der Myristinsäure in der Rindergalle.

(Eingegangen am 30. Mai.)

Bei der Darstellung der Cholalsäure nach Mylius<sup>1)</sup> werden fremde Säuren derart entfernt, dass sie, die neben cholalsaurem Baryum in einer 20 pCt. Alkohol enthaltenden Lösung vorhanden sind, mit Baryumchlorid, welches die Cholalsäure nicht beeinflusst, ausgefällt werden.

Die so erhaltene Menge von Baryumsalzen ist nicht bedeutend. Bei der Verarbeitung von 100 Liter Galle war aber doch allmählich

<sup>1)</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie 12, 262, und diese Berichte XXV, 803.

eine grössere Menge zusammengekommen. Zur Gewinnung der in ihnen enthaltenen Säuren wurden die Filter, an denen die Salze fest hafteten, mit einer Lösung von Natriumcarbonat — 400<sup>g</sup> Carbonat in 6 Liter Wasser — in einem eisernen Gefäss längere Zeit gekocht.

Filtrat und Waschwasser des so erhaltenen Magmas wurden auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft und der Rückstand mit Alkohol extrahirt.

In diesen mussten die organisch sauren Natrium-Salze übergehen, während das überschüssig verwendete Natriumcarbonat zurückblieb. Die alkoholische Lösung dieser Salze verwandelte sich beim Erkalten in eine seifenähnliche Masse, die sich nicht aus den Gefässen ausgiessen liess. Zur Verjagung des Alkohols wurde sie auf dem Wasserbade längere Zeit erwärmt.

Eine Gehaltsbestimmung an Trockensubstanz in einem aliquoten Theile des nunmehr alkoholfreien Rückstandes ergab, dass im Ganzen aus den 100 Litern Galle 480 g rohes Natriumsalz erhalten waren.

Zu ihrer Weiterverarbeitung konnte sich nur das Verfahren der fractionirten Fällung eignen, weil dieses allein zur Auffindung aller vorhandenen Säuren führen musste. Zur Ausführung kam es in folgender Art.

Das Rohsalz wurde zu 3 Liter wässriger Flüssigkeit gelöst, und die Lösung sollte nunmehr mit je 20 g Baryumacetat (als 10 procentige Lösung) vollständig ausgefällt werden. Die in der Wärme erhaltenen Fällungen wurden an der Pumpe gut abgesogen. Nachdem 3 Fällungen vorgenommen waren, fiel aber auf Zusatz weiterer 20 g Baryumacetat so wenig aus, dass erst nach nochmaliger Zugabe des gleichen Quantum's lohnenswerthe Mengen Niederschlag erhalten wurden. Um zu einer fünften Fällung zu kommen, wurden 60 g zugegeben, und um schliesslich alles so Fällbare sicher zu entfernen dann noch 100 g gelöstes Baryumacetat zugefügt, was zu einer geringen sechsten Fraction führte.

Zur Gewinnung der in diesen 6 Niederschlägen enthaltenen Säuren wurden die Baryumsalze in warmem Wasser aufgeschwemmt und darauf Salzsäure hinzugefügt; die hierdurch frei gewordenen Säuren schwammen alsdann ölig auf der Flüssigkeit und erstarrten beim Erkalten dieser zu leicht abhebbaren Kuchen.

#### Säuren aus Fraction I.

Sie wurden unter Thierkohlezusatz aus 70 procentigem Alkohol wiederholt umkrystallisirt. Die erste Krystallisation war noch hellbraun, die weiteren rein weiss. Von ihnen wurden die Schmelzpunkte bestimmt zu 55.8 — 56.0 — 56.6<sup>0</sup> 1)

1) siehe Heintz, Poggendorffs Annalen 168, 589.

Der Mutterlaugenrückstand dieser letzten Krystallisation schmolz bei 52.3°.

Es lag also ein Gemisch von Fettsäuren vor, das durch Umkrystallisiren zu trennen aussichtslos war. Zur Identificirung musste wiederum das fractionirte Fällen dienen. Die zur Verfügung stehende Säuremenge betrug 28 g. Sie wurde in 96procentigem Alkohol gelöst und nach Zugabe von etwas Ammoniak fractionirt mit je 15 ccm einer 10procentigen Lösung von essigsäurem Magnesium gefällt. Die Magnesiumsalze wurden durch wässrige Salzsäure zerlegt und der erhaltene Säurekuchen nach oberflächlichem Trocknen gewogen und aus 70procentigem Alkohol umkrystallisirt.

|             | Gewicht | Schmelzpunkt<br>nach dem<br>Umkrystallis. | Schmelzpunkt<br>nach Wiederholung<br>d. Umkrystallis. | Schmelzpunkt<br>des Mutterlaugen-<br>rückstandes. |
|-------------|---------|---|---|---|
| Fraction I. | 1.6     | 61.0                                      | 62.0  | 57.1 <sup>1)</sup>                                |
| › 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  | 68.9  |

Die abgeschiedene Menge an Magnesiumsalz variierte so sehr in Folge der längeren oder kürzeren Zeit, welche ihm zu seiner Abscheidung gelassen war.

Aus den angegebenen Schmelzpunkten folgt, dass im Baryumsalz I ein Gemenge von palmitinsäurem und stearinsäurem Baryum vorgelegen hat.

Die Mutterlauge der Fraction V liess, nachdem sie etwa auf ein Fünftel eingedampft war, noch etwas Magnesiumsalz fallen. Die aus dieser freigemachte und umkrystallisirte Säure zeigte den ausserordentlich niedrigen Schmelzpunkt 54.0—54.1° und der Mutterlaugenrückstand dieser zweiten Krystallisation schmolz bei 49.3°.

Da ich bei Bestimmung dieser Schmelzpunkte noch nicht an die Gegenwart von Myristinsäure dachte, liess ich sie, so auffallend niedrig sie waren, unbeachtet, und erst, als ich die Resultate der Arbeit zusammenstellte, wurde ich wieder an dieselben erinnert und nahm die weitere Untersuchung der Portion gegen Schluss der Arbeit wieder auf, an welcher Stelle ich weiteres über dieselbe mittheilen werde.

#### Säuren aus Fraction II.

Das aus der II. Fraction der Baryumsalze gewonnene Säuregemisch zeigte beim wiederholten Umkrystallisiren die Schmelzpunkte 54.2—54.2—54.3°. Der Mutterlaugenrückstand der letzten Krystallisation schmolz bei 53.5°.

<sup>1)</sup> siehe Heintz, Poggendorffs Annalen (1854) 168, 589.

Da die Einheitlichkeit von Fettsäuren, selbst wenn sich der Schmelzpunkt so wenig ändert, nicht erwiesen ist, wurde auch hier zur fractionirten Fällung und Trennung des 16 g wiegenden Säuregemisches mittelst der Magnesiumsalze geschritten.

|             | Gewicht | Schmelzpunkt<br>nach dem<br>Umkrystallis. | Schmelzpunkt<br>nach Wiederholung<br>d. Umkrystallis. | Schmelzpunkt<br>des Mutterlaugen-<br>rückstandes. |
|-------------|---------|---|---|---|
| Fraction I. | 2.2     | 54.2                                      | 56.8  | 54.0  |
| › II.       | 5.4     | 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  |

Die Schmelzpunkte sind also meist sehr viel niedriger, als jene aus Fraction I gewesen waren, ja manche sind niedriger als Gemische von Stearin- und Palmitinsäure überhaupt schmelzen. Die nach dem Umkrystallisiren noch vorhandenen einzelnen Säuremengen waren zur weiteren Fractionirung zu gering. Ein aus Portion V gewonnenes Magnesiumsalz ergab einen Magnesiumgehalt von 5.00 pCt., während myristinsaures Magnesium 5.02 pCt. verlangt. So wahrscheinlich hiernach auch das Vorhandensein der Myristinsäure geworden, so wurde natürlich versucht, sie in sicherer Weise zu identificiren. Der Versuch, sie mittels wässrigen Ammoniaks bei hoher Temperatur direct in ihr Amid<sup>1)</sup> überzuführen, führte nur zum Verlust der Substanz.

Darauf wurden die Portionen I bis V zusammen — die einzelnen waren zu gering dazu — durch in ihre alkoholische Lösung geleitete Salzsäure verestert.

Der Ester der Stearinsäure schmilzt bei 32.9°, der der Palmitinsäure schmilzt bei 24.2°, der der Myristinsäure schmilzt bei 11° und siedet bei 295° unzersetzt. So wurden etwa 5 g Ester erhalten, aus denen schliesslich durch fractionirte Destillation aus dem Metallbade Fractionen vom Siedepunkt 290 bis 300° — 300 bis 315° und 315 bis 350° erhalten wurden. Beim Abkühlen erstarrten alle drei. 1 schmolz alsdann bei 16°, 2 bei 20.3°, 3 bei 20.8°. Also alle drei Portionen schmelzen weit niedriger als Palmitinsäureester, wodurch das Vorhandensein einer niedriger als Palmitinsäure schmelzenden Säure im Ausgangsmaterial sehr wahrscheinlich wird.

Zur gesonderten Weiterverarbeitung war die Menge der einzelnen Destillate zu gering, sie wurden deshalb zusammen verseift und das aus ihnen wiedergewonnene Säuregemenge fractionirt zerlegt. An den auf diesem Wege erhaltenen Säuren wurden folgende Schmelzpunkte beobachtet:

<sup>1)</sup> Diese Berichte XVIII, 2016.

|             | Schmelzpunkt<br>der krystallisirten<br>Säure. | Schmelzpunkt<br>des Mutterlaugen-<br>rückstandes. | Schmelzpunkt<br>nach nochmaliger<br>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  | —   | —  |

Die Schmelzpunkte dieser Säureportionen lassen schon keinen Zweifel mehr daran, dass man es mit Myristinsäure (Schmelzpunkt  $53.8^{\circ}$ ) zu thun hat. Es war nur auffallend, dass so ausserordentlich wenig von ihr vorhanden sein sollte.

Da die zur fractionirten Fällung verwendete aus dem Baryumsalz II abgeschiedene Säure erst viermal umkrystallisirt war, bevor sie diesem Verfahren unterworfen war, konnte es möglich sein, dass in diesen 4 Mutterlaugen sich vielleicht Myristinsäure angehäuft hatte.

Sie wurden deshalb zusammen zur Trockne gedampft und unter Thierkohlezusatz in 96procentigem Alkohol gelöst. Die erhaltene Lösung von hellgelber Farbe wurde direct nach Zusatz von etwas Ammoniak mit je einem ccm zehnprocentiger Magnesiumacetatlösung fractionirt gefällt.

So konnten 2 Fractionen erhalten werden, während ein drittes Magnesiumsalz erst nach starkem Eindampfen der Mutterlauge vom zweiten ausfiel. Die Schmelzpunktsbestimmungen der aus ihnen wieder regenerirten Säuren ergaben:

Säure I schmolz bei wiederholtem Umkrystallisiren bei  $53.7^{\circ}$  (Mutterlaugenrückstand bei  $49.8^{\circ}$ ), dann bei  $54.0$  und bei  $54.1^{\circ}$  (Mutterlaugenrückstand bei  $53.8^{\circ}$ ). Dies entspricht also dem Schmelzpunkt der Myristinsäure. Das von ihr nach diesem wiederholten Umkrystallisiren noch Vorhandene wurde in das Bleisalz verwandelt, dessen Metallgehalt analytisch bestimmt wurde.

0.3031 g Substanz lieferten 0.1400 g Bleisulfat entsprechend 0.0956 g Blei.

| Berechnet für myristinsaures Blei<br>( $C_{14}H_{27}O_2$ ) <sub>2</sub> Pb | Gefunden   |
|--|------------|
| Pb 31.31   | 31.54 pCt. |

Säure II, deren Menge sehr gering war, zeigte beim Umkrystallisiren die Schmelzpunkte  $53.7^{\circ}$ — $53.8^{\circ}$ .

Die aus dem durch Eindampfen der Mutterlauge erhaltenen Magnesiumsalz wieder gewonnene Säure zeigte beim Umkrystallisiren die Schmelzpunkte  $57.2^{\circ}$ — $57.8^{\circ}$ — $61.1^{\circ}$ , welche wohl auf  $62^{\circ}$  gestiegen wären, wenn nicht Substanzmangel ein weiteres Umkrystallisiren gehindert hätte. Es war jedenfalls Palmitinsäure.

Als ich Hrn. Prof. Lossen von der Auffindung der Myristinsäure in der Rindergalle Mittheilung machte, überliess er mir zum Vergleich etwas Myristinsäure, die er einst von Heintz, der sie vor etwa 40 Jahren aus dem Wallrath dargestellt hatte, erhalten hatte. Diese Säure schmolz an dem von mir benutzten Thermometer bei  $54.4^{\circ}$ , und nach dem Umkrystallisiren aus 70procentigem Alkohol unterschied sie sich in nichts von der aus der Galle erhaltenen. Es sei mir gestattet Hrn. Prof. Lossen für sein freundliches Entgegenkommen auch an dieser Stelle meinen besten Dank zu sagen.

Bisher war es nicht gelungen, die für eine Elementaranalyse genügende Menge an reiner Myristinsäure zusammenzubekommen. Als ich dann die Arbeit für den Druck zusammenstellte, fiel mir, wie schon erwähnt, der sehr niedrige Schmelzpunkt auf, den die aus der Mutterlauge der Magnesiumsalze der I. Fraction der Baryumsalze wieder abgeschiedene Säure gezeigt hatte.

Nochmals umkrystallisirt, zeigte diese Säure den Schmelzpunkt  $53.8^{\circ}$ , also den von Heintz für ganz reine Myristinsäure angegebenen, und eine mit ihr ausgeführte Elementaranalyse gab folgende Zahlen.

0.1780 g Substanz gaben 0.4802 g Kohlensäure und 0.1985 g Wasser.

| Berechnet für Myristinsäure |       | Gefunden   |
|-----------------------------|-------|------------|
| $C_{14}H_{28}O_2$           |       |            |
| C                           | 73.69 | 73.54 pCt. |
| H                           | 12.28 | 12.39 »    |

Damit ist nun das Vorkommen von Myristinsäure in der Rindergalle ganz zweifellos bewiesen.

Die Menge, in der sie in ihr vorkommt, ist ausserordentlich gering. Ich schätze, eher zu hoch als zu niedrig, dass in allen Fractionen etwa 4 g von ihr enthalten gewesen sind. Da die ersten Baryumsalze ohne Rücksicht auf ihr Vorkommen und aus viel zu concentrirter Lösung ausgefällt waren, war sie in ihnen höchst ungünstig vertheilt, was ihre Darstellung noch besonders erschwerte. Im Wiederholungsfalle würde man die Lösung der rohen Natriumsalze — siehe den Anfang der Mittheilung — völlig mit Baryumacetatlösung ausfällen, aus dem so erhaltenen Baryumsalz die Säuren in Freiheit setzen und diese nun aus verdünnter alkoholischer Lösung nach Zusatz von Ammoniak sehr allmählich mit Magnesiumacetat fractionirt fällen. So würde man die Myristinsäure, obgleich sie also nur etwa 0.004 Procent der Galle ausmacht, gleich in ziemlich reinem Zustande als Magnesiumsalz erhalten.

Die Zerlegung des dritten der ursprünglich erhaltenen Baryumsalze mittels Salzsäure führte zu einem Säuregemisch, das beim Umkrystallisiren die Schmelzpunkte  $58.3^{\circ}$ — $58.5^{\circ}$ — $58.0^{\circ}$  zeigte. Die jetzt noch vorhandenen 0.7 g wurden in der bereits beschriebenen Art mit Magnesiumacetatlösung fractionirt gefällt. Die so erhaltene Säure I zeigte beim Umkrystallisiren die Schmelzpunkte  $54.0^{\circ}$ — $54.2^{\circ}$ — $54.2^{\circ}$ , Säure II  $58.5^{\circ}$ — $59.5^{\circ}$ — $60.2^{\circ}$ — $60.9^{\circ}$ — $61.1^{\circ}$ . Das Ausgangsmaterial war also ein Gemisch von myristinsäurem und stearinsäurem Baryum gewesen.

---

Die Zerlegung des vierten Baryumsalzes — in etwas ausführlicherer Form soll über die ganze Arbeit in der Zeitschrift für physiologische Chemie berichtet werden — ergab fast nur Palmitinsäure. Das fünfte Baryum Salz lieferte eine nicht mehr ordentlich zum Krystallisiren zu bringende Säure und wurde deshalb mit dem sechsten zusammen verarbeitet, aus dem eine ölige Säure gewonnen worden war.

Seine Nichtkrystallisirbarkeit, sowie die Löslichkeit des Bleisalzes in Aether, welche Eigenschaft zur Reindarstellung benutzt wurde, lassen keinen Zweifel, dass hier Oelsäure vorlag.

Die Untersuchung der Nebenproducte der Cholalsäure hat also bisher zur Gewinnung von Myristinsäure,  $C_{14}H_{28}O_2$ , Palmitinsäure,  $C_{16}H_{32}O_2$ , Stearinsäure,  $C_{18}H_{36}O_2$ , und Oelsäure geführt. Die erstere steht im gleichen Verhältniss zur Palmitinsäure wie diese zur Stearinsäure steht, und vom Wallrath abgesehen war ihr Vorkommen im Thierkörper bisher nicht constatirt.

Diese vier Säuren machen dem Gewicht nach nur einen geringen Theil der neben der Cholalsäure in der mit Alkali gekochten Galle noch vorhandenen Säuren aus. In einer späteren Mittheilung soll Weiteres hierüber berichtet werden.

K ö n i g s b e r g. Pharmakologisches Institut der Universität.

---