

worden. Philips hat auf die Chinolinaminsäure Natriumhypobromit einwirken lassen und so die α -Amidonicotinsäure und aus dieser das α -Amidopyridin gewonnen. H. Meyer hat aus Picolin säureamid ebenfalls durch die Hofmann'sche Reaction direct α -Amidopyridin erhalten. Die Verfasser stellen Versuche zur Darstellung des β -Amidopyridins auf ähnlichem Wege in Aussicht, und habe ich daher zunächst auf die nabeliegenden Versuche, das β -Amidopyridin aus der vorbeschriebenen Nitrooxynicotinsäure zu gewinnen, verzichtet, da der andere Weg bequemer zum Ziele führen dürfte. Dagegen vermag ich der Ansicht von H. Meyer, dass seiner »Gewinnungsmethode des α -Amidopyridins unbedingt der Vorzug vor der Marckwald'schen eingeräumt werden muss«, für die Darstellung gerade dieser Verbindung nicht zuzustimmen. Der genannte Autor ist übrigens irrthümlich der Ansicht, dass das Amidopyridin von mir durch Destillation der Amidonicotinsäure mit Kalk dargestellt worden ist.

Berlin, im Mai 1894.

248. Lassar-Cohn: Die krystallisirbaren Säuren der menschlichen Galle.

(Eingegangen am 10. Mai.)

Die Säuren, welche nach Abspaltung des Taurins und Glycocolis in der Menschengalle vorhanden sind — sei es, dass diese Abspaltung durch Fäulniss oder durch Kochen mit Alkalien bewirkt war — haben lange Zeit für unkrystallisirbar und in Folge dessen für unentwirrbar gegolten.

Die ersten ernstlichen Versuche, wenigstens die der Cholalsäure der Rindergalle, welche nicht schwer krystallisirt¹⁾ zu erhalten ist, entsprechende Säure aus der Menschengalle abzuscheiden, hat Bayer unternommen, der bei der Gelegenheit auch alle bis dahin über die chemische Zusammensetzung der Galle der verschiedenen Thiere bekannt gewordenen Untersuchungen²⁾ zusammengestellt hat. Seine

¹⁾ Anmerkung: Sehr grosse Mengen roher Cholalsäure verschwinden bekanntlich, wenn man sie zu ihrer Reinigung aus absolutem Alkohol umkrystallisirt. Wie ich (diese Berichte 26, 149) gezeigt habe, gehen sie dabei in den nicht mehr auskrystallisirenden Ester der Säure über. Reibt man aber die harzige Rohsäure mit einigen Tropfen Ammoniak durch und stumpft so die letzten Reste der von ihr eingeschlossenen Salzsäure ab, so erhält man aus ihr durch Umkrystallisiren sofort sehr reichlich prachtvolle Octaëder neben verhältnissmässig wenig Mutterlauge.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 358 und 3, 293.

Analysen führten zu einer Formel $C_{18}H_{28}O_4 + 2H_2O$, und da diese von der der Cholalsäure des Rindes abweicht, glaubte er es mit einer neuen Säure zu thun zu haben, die er Anthrocholalsäure betitelte. Schotten¹⁾ zeigte dann, dass das, was Bayer analysirt hat, ein Gemisch zweier Substanzen gewesen ist, nämlich aus gewöhnlicher Cholalsäure und einer zweiten, von ihm entdeckten und Fellinsäure genannten Verbindung, der er die Formel $C_{23}H_{40}O_4$ gab, bestanden hat.

Die Uebertragung der Methode, nach welcher es mir²⁾ gelang, die sämtlichen in der Rindergalle vorkommenden Säuren zu identificiren, hat bei ihrer Anwendung auf die Menschengalle Folgendes ergeben:

Hr. Prof. Nauwerck, dem es gestattet sei auch an dieser Stelle meinen Dank dafür auszudrücken, hat längere Zeit hindurch für mich sämtliche bei den hiesigen pathologischen Sectionen erhaltbare Galle, die also verhältnissmässig frisch war, sammeln lassen.

Sie wurde zu dem Zwecke in eine Flasche, in der sich eine abgemessene reichliche Menge von 10 proc. Kalilauge befand, gegossen. Im Ganzen standen mir 2580 ccm Galle zu Gebote, die in zwei Portionen, einmal 1580 ccm und das andere Mal 1000 ccm verarbeitet wurden.

Durch Zugabe von Wasser wurde das Gemisch auf einen Gehalt von etwa 6 pCt. Kalihydrat gebracht und dann in einem eisernen, mit Deckel versehenen Gefäss unter zeitweiligem Ersatz des verdampfenen Wassers 24 Stunden im Sieden erhalten. Nachdem hierauf Kohlensäure bis zur völligen Sättigung des freien Alkalis eingeleitet war, wurde die Flüssigkeit auf dem Wasserbade möglichst weit eingedampft und im Scheidetrichter mit Alkohol extrahirt. Die Pottaschelösung setzt sich bald ab, und dreimaliges Ausschütteln genügt zur quantitativen Entziehung der in ihr vorhandenen organisch-sauren Kaliumsalze.

Mylius³⁾, von dem diese Methode zur Zerlegung der gepaarten Gallensäuren herrührt, hat seiner Zeit Natronlauge empfohlen. Es ist aber bequemer, schliesslich die organisch-sauren Alkalisalze aus der Pottaschelösung auszuschütteln, als sie dem festen Natriumcarbonat durch Auskochen mit Alkohol zu entziehen.

Die alkoholische Lösung ward hierauf mit vier Theilen Wasser verdünnt und mit einer Lösung von Barymchlorid so lange versetzt, als dieselbe noch einen Niederschlag hervorbrachte, von dem alsdann abfiltrirt wurde.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 175 und 11, 268.

2) Diese Berichte 25, 805, 1829 und 26, 146.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. 12, 262.

Aus dem Filtrat fiel auf Salzsäurezusatz ein schwarzes Harz, das herausgenommen und mit ein wenig Alkohol auf dem Wasserbade durchknetet wurde. Während die auf dem gleichen Wege aus Rindergalle dargestellte Cholalsäure, der auf diese Weise ein letzter Rest von Wasser entzogen wird, alsdann sehr bald hart wird, ging umgekehrt dies Säuregemisch dabei in einen nicht mehr erstarrenden schwarzen Theer über.

Nun giebt die Cholalsäure, wie Mylius mitgetheilt hat, eine Blaufärbung mit einer Lösung von Jod in Jodkalium. Ich stelle die Reaction so an, dass ich zu einem Wenig der Säure in einem Schälchen einige Tropfen absoluten Alkohols füge, diesen verdunste und dann eine nicht sehr starke Lösung von Jod in Jodkalium ins Schälchen giesse, worauf sich die Stelle, an der sich die eingetrocknete Cholalsäure befindet, prachtvoll blau färbt.

Diese Reaction giebt auch, wie ein besonderer Versuch lehrte, die rohe Cholalsäure aus der Rindergalle. Im Gegensatz dazu ist sie mit der erwähnten Rohsäure aus der menschlichen Galle nicht zu erhalten. Sie tritt aber ein, wenn man dieser auch nur die geringste Spur von Cholalsäure aus Rindergalle zufügt. Dies letztere war Veranlassung, dass ich lange Zeit annahm, dass in der Menschengalle keine mit der Cholalsäure identische Säure vorkomme, obgleich nach den sehr genauen Angaben Schotten's¹⁾, der die Identität dieser Säuren auch auf krystallographischem Wege feststellen liess, eigentlich kein Zweifel mehr herrschen konnte.

Da für Säuren von der angegebenen theerähnlichen Beschaffenheit Eisessig wohl das beste Krystallisationsmittel ist, wurde sie in möglichst wenig von diesem unter Thierkohlezusatz gelöst. Das trotzdem fast schwarze Filtrat setzte im Laufe von 6 Tagen Krystalle ab, deren Menge nicht weiter zuzunehmen schien, und die deshalb abfiltrirt und beim Nachwaschen mit Eisessig fast weiss erhalten wurden.

Die so erhaltene Säure wog 3.5 g; sie wurde aus Aceton umkrystallisirt und zeigte jetzt den Schmelzpunkt 166°. Nach mehrmaligem weiteren Umkrystallisiren aus Aceton unter Zusatz von Petroläther zeigte sie sowohl wie der Rückstand der letzten Mutterlauge den Schmelzpunkt 169°. Die nunmehr sicher reine Säure wurde unter Ueberleiten eines ganz schwachen Luftstromes im stark luftverdünnten Raume bei 80° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und analysirt, nachdem die Abwesenheit von Stickstoff und Schwefel nachgewiesen war.

Unter dem Mikroskop erscheint sie entweder in langen Einzelprismen krystallisirt oder erinnert, falls diese von einem Mittelpunkte strahlenförmig ausgehen, im Aussehen an Kreatininchlorzink. Zer-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 10, 184.

reibt man sie im Achatmörser, so springt sie, indem sie in Folge des Reibens stark elektrisch wird, theilweise aus der Schale. Sie hat absolut keinen Geschmack im Gegensatz zur gallig bitter schmeckenden Cholalsäure. Die Aeusserlichkeiten erinnern sehr an die Fellinsäure, $C_{23}H_{40}O_4$, Schotten's, nur giebt er deren Schmelzpunkt, den er allerdings an einer amorphen Portion bestimmte, zu 120^0 an.

Analyse: Ber. für $C_{23}H_{40}O_4$.

Procente: C 72.63, H 10.53,
Gef. » » 72.39, 72.98, » 10.10, 9.74.

Nimmt man für die Fellinsäure die Formel $C_{23}H_{38}O_4$ an, wonach dieselbe das nächstniedrigere Homologe der Choleinsäure, $C_{24}H_{40}O_4$, wäre, welche für Kohlenstoff 73.02 und Wasserstoff 10.05 pCt. verlangt, so stimmen meine Analysenzahlen besser auf diese Formel und wäre damit ein einfacher Zusammenhang zwischen den drei jetzt sicher bekannten specifischen Gallensäuren gegeben.

Cholalsäure, $C_{24}H_{40}O_5$,
Choleinsäure, $C_{24}H_{40}O_4$,
Fellinsäure, $C_{23}H_{38}O_4$.

Doch können natürlich die wenigen bisher von der letzten Säute vorliegenden Analysen, denen sich noch zwei anschliessen werden, diese Frage nicht entscheiden, und muss sie weiteren Untersuchungen, denen mehr Ausgangsmaterial und die nunmehrigen Ergebnisse zur Verfügung stehen, vorbehalten bleiben.

Die von den 3.5 g Krystallen abfiltrirte Lauge war auf keine Art zur Krystallisation mehr zu bringen. Als dann später die zweite Portion Galle zur Verarbeitung kam, gelang es in keiner Weise, aus der auf dem gleichen Wege hergestellten Eisessiglösung der Rohsäure trotz Monate langen Wartens überhaupt irgend welche Krystalle zu erzielen. Die Mylius'sche Reaction mit einer Lösung von Jod in Jodkalium hatte sie ebenfalls nicht gegeben, und so wurde denn die Mutterlauge der ersten mit dieser zweiten Portion zusammen verarbeitet. Sie wurden in Natronlauge gelöst, wieder mit Salzsäure gefällt, und nun fand sich, dass ein grosser Theil der Säure sich mit Aetheralkohol ausschütteln liess, während nur ein wenig Harz ungelöst blieb.

Dieses Harz wurde abfiltrirt, und, da es sich nicht vom Filter herunterbringen liess, ward es mit Baryhydrat ausgekocht, aus der Lösung der Ueberschuss an Alkali durch Kohlensäure gefällt und die nach dem Filtriren erhaltene Lösung eingedampft. Sie gab nach längerem Stehen im Exsiccator spurenweise Krystalle, deren Menge zur Untersuchung bei weitem zu gering war.

Der erwähnte ätherische Auszug wurde durch Schütteln mit Thierkohle fast völlig entfärbt und sodann mit Chlorcalcium getrocknet. Der Rückstand, der nach dem Abdestilliren des Aethers

hinterblieb, wurde in Aceton gelöst und mit Petroläther gefällt. Hierdurch fiel ein helles Oel aus, in dem einige Krystalle sich absetzten, welche sich als identisch mit den als Fellinsäure bezeichneten erwiesen. Nach 10 Tagen wurden die Krystalle durch Filtration entfernt und die ölige Säure auf dem Wasserbade bis zur Gewichtsconstanz getrocknet, sie wog jetzt 17 g. Da sie auf keine Weise zum Krystallisiren zu bringen war, wurde sie schliesslich in Ammoniak gelöst und aus dieser Lösung in Form ihres in Wasser so gut wie unlöslichen Baryumsalzes durch reichlichen Zusatz von Baryumchloridlösung wieder ausgefällt. Da die Fällung aber harzig war, wurde die ganze Flüssigkeit auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft und der jetzt zerreibliche Rückstand bis zum Verschwinden der Chlorreaction an der Pumpe gewaschen.

Das restirende Baryum Salz lässt sich am besten aus 40procentigem Alkohol umkrystallisiren. Hierbei ging leider ziemlich viel Material verloren.

Von den verschiedenen Krystallisationen des Baryumsalzes, die so erhalten wurden, wurden Baryumbestimmungen (die Zahlen folgen weiterhin) ausgeführt, doch erwiesen sich die gefundenen Baryumgehalte um reichlich 1 pCt. zu niedrig, wenn man von der Annahme ausging, dass man es mit fellinsaurem Baryum von der Schottenschen Formel $(C_{23}H_{39}O_4)_2Ba$, welches 15.25 pCt. Baryum erfordert, — die zur Analyse bestimmten Portionen waren bis zur Gewichtsconstanz getrocknet worden — zu thun habe. Deshalb wurde das noch vorhandene krystallisirte Salz, durch längeres Digeriren mit einer Natriumcarbonatlösung auf dem Wasserbade, ins Natriumsalz übergeführt und aus dessen Lösung durch Salzsäurezusatz die Säure ausgefällt. Schütteln mit Aetheralkohol führte sie in diesen über. Dessen Rückstand wurde in absolutem Alkohol gelöst und im Exsiccator verdunsten gelassen.

Hierbei schied sich nun ganz wider Erwarten eine Säure in wunderschönen Krystallen ab, die unter dem Mikroskop als prachtvolle Octaëder, ganz entsprechend der Abbildung, erscheinen, die Schotten¹⁾ von der von ihm aus menschlicher Galle erhaltenen Cholalsäure seinen Mittheilungen beigefügt hat. Diese so erhaltene Säure giebt nun auch die Blaufärbung mit einer Lösung von Jod in Jodkalium. Der Baryumgehalt der Salze stimmt ebenfalls auf cholal-saures Baryum. Ihre eigene Analyse stimmt darauf und ebenso ihr Gehalt von einem Molekül Krystallalkohol.

Analyse: Ber. für $C_{24}H_{40}O_5 + C_2H_6O$.

Procente: C_2H_6O 10.13, C 70.59, H 9.80.

Gef. » » 10.75, » 70.61, » 9.95.

¹⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 10. 185.

Analyse: Ber. für $(C_{24}H_{39}O_5)_2Ba$.

Procente: Ba 14.40.

Gef. » » 14.16, 14.17, 14.26.

Damit ist die Gegenwart von Cholalsäure in der menschlichen Galle, trotz des Fehlens der Jodreaction der Rohsäure, erwiesen.

Die alkoholische Mutterlauge der Baryumsalze der Cholalsäure, wurde mit einer Natriumcarbonatlösung auf dem Wasserbade abgedampft und der Rückstand mit Wasser extrahirt. Aus dieser wässrigen Lösung fällte Salzsäure eine Säure in Flocken, die in keiner Weise zum Krystallisiren zu bringen war. Bei ihrer geringen Menge und Leichtlöslichkeit in Eisessig konnte dieser nicht zur Anwendung gelangen. Schliesslich wurde sie aus einer trockenen Acetonlösung mit Petroläther als Harz gefällt, dieses Harz, das fast farblos war, bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und analysirt. Die Analysen ergaben, trotz des nicht krystallisirten Materials, dass wiederum Fellinsäure vorliegt.

Analyse: Ber. für $C_{23}H_{35}O_4$.

Procente: C 73.02, H 10.05,

Gef. » » 72.67, 72.49, » 10.05, 9.81.

Hiermit ist gezeigt, dass die aus der Galle erhaltene Rohsäure nur aus Fellinsäure und Cholalsäure ohne sonstige Beimengungen besteht, indem eine vollständige Aufarbeitung der Mutterlaugen stattgefunden hat, und zwar schätze ich, dass etwas mehr Fellinsäure als Cholalsäure vorhanden ist.

Die neben diesen beiden Säuren noch vorkommenden Säuren waren (siehe oben) aus der Rohlauge durch Baryumchloridlösung ausgefällt worden. Das so erhaltene Baryum Salz wurde sammt den Faltenfiltern mit 2 L. zweiprocentiger Natriumcarbonatlösung längere Zeit gekocht. Die durch Filtration gereinigte Lösung erstarrte beim Erkalten nach Art eines Seifenleims, der auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft und alsdann dreimal mit 80procentigem Alkohol extrahirt wurde. Die sehr dunkle Lösung liess beim Erkalten ziemlich reichlich Krystalle fallen, die sich als Cholesterin erwiesen.

Dadurch unterscheidet sich die menschliche Galle ebenfalls durchaus von der Rindergalle, indem man beim Verarbeiten der letzteren auf dem angegebenen Wege niemals auch nur Spuren von Cholesterinkrystallen erhält.

Zwecks Entfernung des Cholesterins wurde die alkoholische Lösung zur Trockne gedampft und dann mit Wasser wieder aufgenommen. Das in dieser Lösung jetzt noch vorhandene Cholesterin wurde durch häufiges Ausschütteln mit Aether quantitativ entfernt, nachdem Schütteln mit Chloroform zur Emulsionsbildung geführt hatte.

Die aufgekochte Lösung der Natriumsalze wurde auf 0.5 L. verdünnt und jetzt fractionirt mit je 5 ccm Normalbaryumchlorid wieder gefällt.

Die erste Fällung gab, nachdem sie durch Kochen mit verdünnter Salzsäure zerlegt war, eine ölige Abscheidung, die bald erstarrte und, aus Alkohol umkrystallisirt, bei 59.5° schmolz. Es lag also, wie erwartet, ein Gemisch von Fettsäuren vor, dessen Schmelzpunkt nach nochmaliger Fractionirung auf 62.5° stieg. Die aus der zweiten Fällung abgeschiedene Säure schmolz bei 57° , welcher Schmelzpunkt nach der Fractionirung auf 58.2° stieg.

Weitere 2.5 ccm brachten nur noch einen geringen Niederschlag hervor, dessen wieder abgeschiedene Säure nicht mehr erstarrte. Sie wurde deshalb in Natronlauge gelöst, mit Bleiacetatlösung wieder ausgefällt und der Bleiniederschlag mit Aether extrahirt. Einleiten von Schwefelwasserstoff in die getrocknete ätherische Lösung gab einen starken schwarzen Niederschlag von Schwefelblei, und das Filtrat von diesem hinterliess wieder eine ölige Säure, die damit als Oelsäure erwiesen ist.

Hiermit ist es möglich, wenn man als Mittelformel für die Berechnung die Formel der Palmitinsäure, $C_{16}H_{32}O_2$, zu Grunde legt, die Menge der Fettsäuren in der Galle zu berechnen. 1580 ccm Galle hatten so viel Fettsäuren geliefert, dass 12.5 ccm Normalbaryumchloridlösung zu deren Ueberführung in ihre Baryumverbindung nöthig waren, folglich enthielt die Galle 0.203 pCt. an ihnen.

Die auf die angegebene Art von den Fettsäuren befreite, sehr verdünnte Lösung wurde darauf, um sie auf die jetzt noch vorhandenen, der Galle entstammenden Säuren untersuchen zu können, wozu man diese am besten wieder ins Natriumsalz überführte, mit Soda-lösung zur Trockne gedampft und diese Lösung mit Alkohol extrahirt. Der alkoholische Extract wurde alsdann zur Trockne gedampft und sein in wenig Wasser gelöster Rückstand wiederum mittels Baryumchlorid in ein in dem wenigen Wasser kaum lösliches Baryumsalz übergeführt, welches sich durch Auskochen mit Alkohol in zwei verschiedene Salze zerlegen liess.

Aus dem ungelöst gebliebenen Baryumsalz gelang es nicht, eine krystallisirte Säure zu gewinnen. Die harzig erhaltene Säure wog 1.8 g.

Wohl aber gelang dies aus dem alkohollöslichen Baryumsalz, und zwar in folgender Weise. Es wurde wiederum ins Natriumsalz übergeführt und dessen verdünnte Lösung mit je 15 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-schwefelsäure fractionirt gefällt. Jede Fällung wurde der Lösung durch Ausschütteln mit alkoholhaltigem Aether entzogen und so 7

solche Lösungen erhalten. Nach dem Abdestilliren des Lösungsmittels hinterblieben 7 ölige Säureportionen. Diese wurden nach dem Abgessen des Wassers in Aceton gelöst, welche Lösungen durch Zugabe von Chlorcalcium getrocknet, von Thierkohle fast völlig entfärbt wurden. Die Filtrate hinterliessen nach dem Abdestilliren des Acetons wiederum 7 Harze, von denen aber im Laufe von 2 Stunden die Portionen 3, 4, 5 und 6 krystallisirten, während 1, 2 und 7 in keiner Weise dazu zu bringen gewesen sind.

Die theilweise noch mit Harz durchtränkten Krystalle wurden so lange durch Umkrystallisiren aus Aceton und Zugabe von Petroläther gereinigt, bis der Schmelzpunkt der Krystalle 149° und der des Rückstandes der letzten Mutterlauge kaum mehr verschieden waren. Die Menge derselben betrug jetzt nur noch 0.1192 g, die zur Analyse verwendet wurden.

Analyse: Ber. für $C_{24}H_{40}O_4$.

Procente: C 73.47, H 10.21.

Gef. » » 74.07, » 10.44.

$C_{24}H_{40}O_4$ ist die Formel der Choleinsäure, von welcher ich seiner Zeit grössere Mengen aus der Rindergalle¹⁾ dargestellt habe. Die Methode ihrer Darstellung ist beide Male dieselbe gewesen, und indem ihre Analyse und ihr ganzes äusseres Verhalten unter einander übereinstimmen, kann kein Zweifel sein, dass die Choleinsäure auch in der menschlichen Galle vorkommt.

Aus dem Mitgetheilten geht also hervor, dass in der menschlichen Galle eine Säure mehr als in der Rindergalle, nämlich die Fellinsäure, vorkommt, für die die Formel $C_{23}H_{38}O_4$ die richtigere zu sein scheint, und ausserdem also Cholalsäure und Choleinsäure sowie Fettsäuren, nebst wenigem, nicht zum Krystallisiren zu bringenden Harz.

Königsberg, Laboratorium für medicinische Chemie und Pharmakologie.

¹⁾ Diese Berichte 26, 146.
