

Über Isolierung von Desoxycholsäure und Cholalsäure aus frischer Rindergalle und über Oxydationsproducte dieser Säuren

von

Dr. Fritz Pregl,

Privatdocenten und Assistenten am physiologischen Institute.

Aus dem physiologischen Institute der Universität Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 9. October 1902.)

Im nachstehenden will ich über eine Reihe von Untersuchungen berichten, die mich mit mehrfachen längeren Unterbrechungen während der verflossenen Jahre beschäftigt haben.

Dabei hat es sich zuerst ergeben, dass in den sogenannten nicht krystallisierenden Mutterlaugen der Cholalsäure große Mengen von Desoxycholsäure enthalten sind und sich daraus in reinem Zustande isolieren lassen. Von der Desoxycholsäure wird gezeigt, dass sie sowohl mit einem Molecül Krystalleisessig ($F = 144$ bis 145°), als auch mit Krystalläther krystallisiert ($F = 153$ bis 155°) und dass sie bei der Oxydation dieselben Producte liefert wie die Choleinsäure Latschinoff's, nämlich Dehydrocholeinsäure und Cholansäure ($F = 294$ bis 295°) und nicht Dehydrocholsäure und Biliansäure wie die Cholalsäure.

Weiters wurde ein sehr einfaches Verfahren zur Gewinnung von reiner Cholalsäure aus frischer Rindergalle und zur Verarbeitung der dabei abfallenden Mutterlaugen auf Cholalsäure und Desoxycholsäure ausgearbeitet, mit dessen Hilfe das regelmäßige Vorkommen von Desoxycholsäure als Bestandtheil der sogenannten Rohcholalsäure aus Grazer Rindergalle erkannt wird. Der scheinbare Widerspruch, der darin liegt, dass

trotz vorhergehender Barytfällung in der Rohcholalsäure doch noch die ein fast unlösliches Barytsalz bildende Desoxycholalsäure enthalten ist, wird mit dem eigenthümlichen Umstand befriedigend erklärt, dass cholalsaures Baryum große Mengen von desoxycholsaurem Baryum in Lösung zu halten vermag.

COOH-Bestimmungen in Rohcholalsäure, Cholalsäuremutterlaugen und anderen amorphen Abfallproducten ergaben, dass unterhalb von 10 Procent COOH keine Krystallisation erwartet werden kann und dass die die Krystallisation behindernden Substanzen entweder überhaupt keine Säuren mehr sind, oder im Verhältnis zu ihrer Basizität ein viel größeres Moleculargewicht haben müssen als Cholalsäure und Desoxycholalsäure. Die thatsächliche Auffindung eines Körpers von den Eigenschaften eines Dyslysins führt zu einer theilweisen Erklärung der Krystallisationsbehinderung infolge von Anhydridbildung und zum Verständnis der rein empirisch aufgefundenen Verarbeitungsmethoden.

Es hat sich gezeigt, dass reine, krystallisierte Biliansäure nicht nur durch Oxydation von reiner Cholalsäure, sondern auch bei der Oxydation von roher Cholalsäure neben Cholansäure zu erhalten ist, woraus sich ein außerordentlich abgekürzter Weg für die Darstellung von Biliansäure ergeben hat.

Für die Darstellung von Cholansäure in größeren Mengen ließen sich zwei Methoden finden, die auf einer der Oxydation vorhergehenden Reduction von Rohcholalsäure beruhen.

Durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Biliansäure war ein krystallisierter Körper zu erhalten, der bei 249 bis 250° schmilzt und eine Dichlormonodesoxybiliansäure darstellt.

Bei der Oxydation von Cholalsäure entsteht neben Biliansäure ($F=274$ bis 275°) auch die isomere Isobiliansäure ($F=244$ bis 245°), die sich von ersterer außer durch den Schmelzpunkt auch durch das Drehungsvermögen und durch das Verhalten des Barytsalzes unterscheidet. Ihre beiden außerhalb der COOH-Gruppen stehenden, wahrscheinlich Ketongruppen angehörenden O-Atome reagieren ebenso, wie dies für die Biliansäure schon bekannt war, mit Phenylhydrazin und Hydroxylamin. Die aus beiden isomeren Säuren erhaltenen Hydrazone und Isonitrosoverbindungen zeigen in ihrem gesammten Verhalten

eine so große Übereinstimmung, dass ihre Identität vermuthet werden muss.

Durch sorgfältige Untersuchung der von Lassar-Cohn zuerst beschriebenen Ciliansäure wird ermittelt, dass diesem Körper keine der beiden von Lassar-Cohn aufgestellten Formeln $C_{20}H_{30}O_{10}$ und $C_{20}H_{28}O_9$, sondern nur die Formel $C_{20}H_{28}O_8$ zukommen kann. Die sichere Entscheidung zwischen dieser und der anfänglich auch noch in Betracht gezogenen Formel $C_{17}H_{24}O_7$ brachten COOH-Bestimmungen und die Untersuchung des Barytsalzes.

Vom reinen Ciliansäuretrimethylester wird gezeigt, dass seine Zusammensetzung übereinstimmend mit der freien Säure der Formel $C_{20}H_{25}O_8(CH_3)_3$ entspricht.

Endlich wird unter genauer Einhaltung der von Senkowski angegebenen Vorschrift gezeigt, dass die dabei isolierten Krystalle nicht, wie er behauptet hat, Phtalsäureanhydrid sind, sondern es wird Bullenheim Recht gegeben, der, obwohl er von Senkowski's Vorschrift etwas abgewichen ist, sie schon als Oxalsäure erkannt hat.

I. Verarbeitung von Cholalsäuremutterlaugen, Desoxycholsäure und ihre Oxydationsproducte.

Mylius¹ bemerkt in seiner Mittheilung über die Darstellung von reiner, krystallisierter Cholalsäure aus Rindergalle ausdrücklich, dass er die beim Umkrystallisieren erhaltenen Mutterlaugen nicht weiter auf Cholalsäure verarbeitet habe, obwohl sie noch eine große Menge des Rohproductes enthielten. Nach ihm hat sich nur Lassar-Cohn² mit diesen nicht krystallisierenden Mutterlaugen, wie er sie nennt, näher beschäftigt und angegeben, dass ihr mangelhaftes Krystallisationsvermögen auf eine beim heißen Umkrystallisieren der rohen Cholalsäure aus Alkohol stattfindende Esterificierung derselben zurückzuführen sei, und stützt diese Anschauung insbesondere darauf, dass er bei Oxydation dieser Mutterlaugen nach den Angaben

¹ Zeitschrift für physiol. Chemie, 12, 1888, S. 262.

² Ber., 25, 807.

von Hammarsten¹ mit Chromsäure in Eisessiglösung den Äthylester der Dehydrocholsäure erhalten habe.

Ich habe in den Jahren 1898 bis 1899 die Mutterlaugen einer Reihe von Cholalsäuredarstellungen in zwei Gefäßen (*A*, *B*) aufgesammelt. Sie ließen im Verlaufe von mehr denn einem halben Jahre nichts mehr auskrystallisieren. In der Absicht, mir daraus reine Cholalsäure darzustellen, und ausgehend von der Anschauung Lassar-Cohn's, dass der Äthylester der Cholalsäure das Auskrystallisieren hindert, was in meinem Falle noch durch die Beobachtung gestützt zu sein schien, dass meine Mutterlaugen in gewöhnlicher Natronlauge in der Kälte nur zum geringsten Theile löslich waren, wurden sie in nachstehender Weise verarbeitet. Beide Portionen wurden mit überschüssiger Natronlauge in je 8 l Wasser durch zwei Tage gekocht, um die Verseifung eines etwa vorhandenen Esters sicher herbeizuführen.

Aus diesen Lösungen fällte Salzsäure spröde harzige Kuchen, die sich sehr leicht zerreiben und rasch trocknen ließen. Die eine (*A*) dieser beiden Portionen krystallisierte nach dem Anreiben mit verdünntem Alkohol, von dem es sich nachträglich herausgestellt hat, dass er zufällig ätherhaltig war, zu einem steifen Krystallbrei, der durch Absaugen über evacuierten und luftdicht verschlossenen Kolben nach mehreren Tagen von der Mutterlauge getrennt werden konnte. Diese Mutterlauge konnte noch dreimal dadurch zum Krystallisieren gebracht werden, dass sie in bedeckten Schalen, mit ätherhaltigem Alkohol überschichtet, längere Zeit stehen blieb. In dieser Weise konnte fast die Hälfte der Mutterlauge aus *A* in den krystallisierten Zustand übergeführt werden.

Die Mutterlaugeportion aus *B* war hingegen in dieser Weise nicht zum Krystallisieren zu bringen, wohl aber durch Anreiben mit Eisessig. Auch nach sehr langem Stehen blieb die Ausbeute gegenüber *A* merklich zurück.

Sämmtliche in dieser Art gewonnenen Krystallisationen zeigten die Eigenthümlichkeit, dass ihre ammoniakalischen Lösungen mit Chlorbaryum eine teigige Fällung lieferten, das

¹ Hammarsten, Ber. der Deutschen chem. Ges., 14, 71.

in Wasser fast unlösliche Barytsalz der zuerst von Mylius¹ beschriebenen Desoxycholsäure, wie die weitere Untersuchung es ergeben hat. Daneben blieb insbesondere in *A* das Barytsalz der Cholalsäure in Lösung, die daraus durch Salzsäure gefällt wurde. Nach öfterem Umkrystallisieren aus Alkohol wurden tetraedrische Krystalle vom constanten Schmelzpunkt 195° erhalten, die überdies noch durch die Jodcholsäurereaction von Mylius² als Cholalsäure sicher identifiziert werden konnten.

Die durch Chlorbaryum erzeugten teigigen Fällungen erwiesen sich als in heißem, verdünnten Alkohol löslich und konnten daraus beim Erkalten in Form strahlig angeordneter Nadeln erhalten werden, die das Glas so reichlich erfüllten, dass es umgekehrt werden konnte, ohne dass etwas ausfloss. Nach dreimaligem Umkrystallisieren, Waschen mit Alkohol, Absaugen und Trocknen bei 100° wurden sie analysiert.

A. 0·2584 *g* verloren bei 110° 0·0208 *g* an Gewicht und lieferten beim Abrauchen mit Schwefelsäure 0·0609 *g* BaSO₄.

A. 0·3203 *g* = 0·0258 *g* = 0·0753 *g* BaSO₄.

B. 0·4101 *g* = 0·0327 *g* = 0·0969 *g* BaSO₄.

B. 0·2477 *g* = 0·0240 *g* = 0·0624 *g* BaSO₄.

In 100 Theilen:

	Gefunden in der trockenen Substanz: Ba	Berechnet für (C ₂₄ H ₃₉ O ₄) ₂ Ba: Ba
<i>A</i>	15·06	14·90
	15·03	—
<i>B</i>	15·04	—
	14·81	—

Nach dem Trocknen im Schiffchen wurden 0·1770 *g* mit Kaliumdichromat und Bleichromat überschichtet und lieferten beim Verbrennen 0·1350 *g* H₂O und 0·4061 *g* CO₂.

¹ Ber., 19, 375.

² Ber., 20 (1887), 683; Zeitschrift für physiol. Chemie, 11, 314.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $(C_{24}H_{39}O_4)_2Ba$
C	62·58	62·64
H	8·54	8·55

Aus beiden Barytsalzen (*A*, *B*) wurde durch Kochen mit Natriumcarbonat und Fällen des Filtrates vom ausgeschiedenen Baryumcarbonat mit Salzsäure die freie Säure dargestellt, welche die schon seit Mylius¹ für die Desoxycholsäure bekannte Eigenschaft zeigte, in zehnpromcentiger Natronlauge, wie sie gewöhnlich benützt wird, unlöslich zu sein. Daraus erklärt sich dasselbe Verhalten der rohen Mutterlauge völlig.

Die amorph gefällte Säure aus *A* konnte weder aus starkem, noch aus schwachem Alkohol zum Krystallisieren gebracht werden, sondern aus letzterem erst nach Zusatz einer entsprechenden Menge Äthers. Nach mehrmaligem heißen Umkrystallisieren aus diesem Lösungsgemenge änderte sich ihr Schmelzpunkt von 153 bis 155°² nicht. Dieser Schmelzpunkt ist nur den luft- oder vacuumtrockenen Krystallen eigenthümlich; trocknet man sie aber bei erhöhter Temperatur im Vacuum,³ so erleiden sie darin einen Gewichtsverlust, erreichen constantes Gewicht und schmelzen nach den ersten Krystallisationen zwischen 160 und 170°, und nach häufigerem Umkrystallisieren tritt das Sintern immer später ein, bis endlich der Schmelzpunkt 172 bis 173° erreicht wird, der sich bei weiterem Umkrystallisieren nicht änderte.

Nach dem Trocknen bei 120° im Vacuum lieferten beim Verbrennen 0·2255 g 0·2080 g H₂O und 0·6040 g CO₂; ferner 0·1819 g 0·1710 g H₂O und 0·4890 g CO₂.

¹ Ber., 19, 373.

² Alle in dieser Arbeit beobachteten Schmelzpunkte sind uncorrectirt mitgetheilt.

³ Zum Trocknen im Vacuum bei erhöhter Temperatur bediente ich mich des von mir beschriebenen einfachen Apparates. Fresenius' Zeitschrift für analyt. Chemie, 40. Jahrg., 12. Heft, S. 781 bis 785.

In 100 Theilen:

	Gefunden		Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4$
	I	II	
C	73·10	73·33	73·41
H	10·32	10·52	10·28

Mylius gibt für seine Desoxycholsäure als Schmelzpunkt 160 bis 170° an, und Vahlen¹ spricht außerdem auch noch von Krystallen mit dem Schmelzpunkt von 153 bis 155°, ohne jedoch über die Beziehung beider Körper zueinander Angaben zu machen.

Da die beim Trocknen im Vacuum bei 100 bis 110° bis zur Gewichtsconstanz beobachteten Gewichtsverluste keinen Schluss über die Natur des mitkrystallisierten Lösungsmittels zuließen, wählte ich folgenden directen Weg: In ein einerseits geschlossenes Glasrohr brachte ich etwa 0·4 g der bei 153 bis 155° schmelzenden Krystalle, evacuierete es und schmolz das leere Ende ab. Das mit den Krystallen beschickte Ende erhitze ich hierauf im Trockenschrank auf 100 bis 110°, während das herausragende Ende mit Eis gekühlt wurde. Sehr bald sammelten sich dort Tröpfchen, die sich zu größeren Tropfen vereinigten und nach dem Öffnen der Röhre an ihrem Geruche sicher als Äther erkannt wurden. Die bei 153 bis 155° schmelzenden Krystalle sind demnach Krystalläther enthaltende Desoxycholsäure.

Die auf dem Wege über das Barytsalz aus der Mutterlauge *B* isolierte freie Säure wurde nun wie zuvor aus Eisessig umkrystallisiert. Die erhaltenen Krystalle schmolzen anfänglich bei 140 bis 145°, einer Temperatur, die auch schon Vahlen bei Gelegenheit des Umkrystallisierens von Desoxycholsäure aus Eisessig zu beobachten Gelegenheit hatte, aber auch ohne die Beziehungen dieser zu der Desoxycholsäure angegeben zu haben. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren und Waschen mit Eisessig wurde für die im Vacuum über Kalk getrockneten Krystalle der constante Schmelzpunkt von 144 bis 145° erreicht.

¹ Zeitschrift für physiol. Chemie, 21, 253 bis 273 und 23, 99 bis 108.

Meine Vermuthung, dass diese Krystalle Krystalleisessig enthalten, fand ich in erster Linie bestätigt durch die volumetrische Carboxylbestimmung und weiters durch die Bestimmung des Gewichtsverlustes beim Trocknen dieser Krystalle im Vacuum bei 120°, aus denen hervorgeht, dass in den bei 144 bis 145° schmelzenden Krystallen auf ein Molecül Desoxycholsäure ein Molecül Krystalleisessig enthalten ist.

0·2875 g der bei 144 bis 145° schmelzenden Krystalle verbrauchten 12·6 cm^3 $n/_{10}$ KOH bei Verwendung von Phenolphthaleïn als Indicator.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{21}H_{40}O_4 + C_3H_4O_2$
COOH	19·72	19·90

0·8888 g verloren beim Trocknen im Vacuum bei 100°
0·1167 g.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4 + C_3H_4O_2$
$C_2H_4O_2$. . .	13·13	13·27

Der Trockenrückstand schmolz bei 173°, und es verbrauchten
0·1755 g davon 4·6 cm^3 0·1 normale KOH.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4$
COOH	11·79	11·47

Überdies wurden später noch in meinem automatischen Verbrennungsofen¹ gleichzeitig zwei Verbrennungen ausgeführt. Hiebei lieferten:

I. 0·1657 g 0·1550 g H_2O und 0·4457 g CO_2 .

II. 0·1691 g 0·1602 g H_2O und 0·4548 g CO_2 .

¹ Die Beschreibung dieses Apparates soll demnächst erfolgen.

In 100 Theilen:

	Gefunden		Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4$
	I	II	
C	73·36	73·35	73·41
H	10·47	10·60	10·28

Überdies wurden nun noch die aus *A* erhaltenen, bei 153 bis 155° schmelzenden Krystalle aus Eisessig umkrystallisiert, die hernach bei 144 bis 145° schmolzen, sowie die aus *B* erhaltenen Krystalle nach dem Lösen in Ammoniak, Fällen mit Salzsäure und Umkrystallisieren aus verdünntem, ätherhaltigen Alkohol bei 153 bis 155° schmolzen.

Daraus ergibt es sich, dass die reine Desoxycholsäure bei 172 bis 173° schmilzt, die mit 1 Molecül Krystalleisessig krystallisierte bei 144 bis 145° und die aus verdünntem, ätherhaltigen Alkohol krystallisierte bei 153 bis 155°. Bei den letzteren lässt sich das mitkrystallisierte Lösungsmittel durch Trocknen im Vacuum bei 110 bis 120° entziehen.

Die beiden Präparate von Desoxycholsäure zeigten nun folgendes Verhalten: Ihre ammoniakalischen Lösungen lieferten bei Zusatz von Chlorbaryum nicht mehr teigige Fällungen, sondern einen sofort krystallisierten Niederschlag, und die öligen Tropfen, welche in der ammoniakalischen Lösung durch überschüssige, zehnpcentige Natronlauge erzeugt werden, verwandeln sich nach einigem Stehen in lange, büschelförmige Krystalle.

Die Jodcholsäurereaction von Mylius fiel stets negativ aus. Es ist demnach gelungen, aus den Mutterlaugen, die bei der Darstellung von krystallisierter Cholalsäure abfallen, beträchtliche Mengen von Desoxycholsäure zu gewinnen. Dieser Befund ist deshalb im höchsten Grade auffällig, weil schon bei der Darstellung der rohen Cholalsäure ihre alkalische Lösung mit Chlorbaryum ausgefällt wird, nicht nur um die Fettsäuren, sondern auch in der Absicht, die von Latschinoff entdeckte Choleinsäure zu entfernen, und man somit auch glauben sollte, dass dabei auch die ein schwerlösliches Barytsalz bildende Desoxycholsäure mit ausfällt. Die Erklärung dieses scheinbaren Widerspruches habe ich darin gefunden, dass cholalsäures

Baryum große Mengen von desoxycholsaurem Baryum in Lösung zu bringen imstande ist, was sich sehr leicht mit folgendem Eprovettenversuch zeigen lässt. Man löst reine Desoxycholsäure in Ammoniak und fügt Chlorbaryum im Überschuss zu. Trägt man nun in die Flüssigkeit, welche desoxycholsaures Baryum als unlöslichen, fein vertheilten Niederschlag enthält, portionenweise reine Cholsäure ein, die sich im überschüssig vorhandenen Ammoniak löst, so sieht man beim Schütteln den Niederschlag vollkommen verschwinden. Das früher unlöslich gewesene desoxycholsaure Baryum ist völlig in Lösung gegangen.

Bekanntlich wurde über die Identität oder Nichtidentität der Desoxycholsäure mit Choleinsäure ein Streit zwischen Mylius¹ und Latschinoff² geführt, in welchem letzterer für die Identität beider Körper eintrat, weil es ihm angeblich gelungen sei, die eine Säure in die andere überzuführen, und weil er bei der Oxydation von Desoxycholsäure zu denselben Producten gelangt ist, wie sie die Choleinsäure liefert, nämlich zur Dehydrochleinsäure und Cholansäure. Dem gegenüber hat später Vahlen³ die Erwartung ausgesprochen, dass bei der Oxydation der Desoxycholsäure nicht etwa die beiden letztgenannten Säuren, sondern Dehydrocholsäure und Biliansäure zu erhalten sein dürften. Da seither niemand über derartige Versuche berichtet hat und da mir, wie aus dem Vorhergehenden folgt, typische Desoxycholsäure in reinstem Zustande zur Verfügung stand, habe ich es unternommen, die Oxydationsproducte der Desoxycholsäure nochmals einer genaueren Untersuchung zu unterziehen.

2 g Desoxycholsäure wurden in 20 cm^3 Eisessig gelöst und dazu cubikcentimeterweise eine Lösung von 2 g Chromsäure in 20 cm^3 Eisessig aus einer Bürette zufließen gelassen. Der weitere Zusatz wurde so geregelt, dass die Temperatur der Lösung 45° nicht überschreitet. Nach Zusatz des sechzehnten Cubikcentimeters trat keine Temperaturerhöhung mehr ein. Die

¹ Ber., 19, 369 bis 379; 19, 1968 bis 1989.

² Ber., 20, 1043 bis 1053.

³ Zeitschrift für physiol. Chemie, 23, S. 108.

grünlichbraune Lösung wurde hierauf in 400 cm^3 Wasser gegossen, wobei sich das Reactionsproduct so fein ausschied, dass es unmöglich war, es abzufiltrieren. Nach kurzdauerndem Erwärmen auf dem Wasserbade schied es sich in Krystallnadeln ab und konnte nach dem Erkalten abgesaugt werden. Die Krystalle von mehreren solchen Darstellungen wurden nun mehrmals in der Art umkrystallisiert, dass ihre heiße alkoholische Lösung nach dem Filtrieren mit Wasser bis zur Trübung versetzt wurde, und diese durch nachträgliches Hinzufügen von Alkohol wieder in Lösung gebracht. Nach dem vierten, sowie nach dem fünften Umkrystallisieren lag der Schmelzpunkt bei 183 bis 184° .

Nach dem Trocknen im Vacuum über Schwefelsäure lieferten:

- I. $0\cdot1530\text{ g}$ $0\cdot1267\text{ g}$ H_2O und $0\cdot4161\text{ g}$ CO_2 .
 II. $0\cdot1703\text{ g}$ $0\cdot1460\text{ g}$ H_2O und $0\cdot4652\text{ g}$ CO_2 .

In 100 Theilen:

	Gefunden		Berechnet für
	I	II	$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_7$
C.....	74·17	74·32	74·17
H.....	9·26	9·50	9·34

Der erhaltene Körper ist demnach sowohl, was die Art seiner Darstellung, als auch den Schmelzpunkt und die elementare Zusammensetzung anlangt, mit der von Latschinoff zuerst beschriebenen Dehydrocholeinsäure¹ identisch.

Erwärmt man hingegen Desoxycholsäure mit der doppelten Menge Chromsäure in Eisessig auf dem Wasserbade durch längere Zeit, so erhält man nach dem Eingießen in Wasser ein Reactionsproduct, welches, aus Eisessig heiß umkrystallisiert, anfänglich bei 285 bis 287° und nach wiederholtem Umkrystallisieren constant bei 294 bis 295° schmilzt.

Denselben Körper erhält man auch bei der Oxydation von Desoxycholsäure mit Kaliumpermanganat. 10 g reine Desoxycholsäure wurden mit Kaliumcarbonat in Lösung gebracht und mit 20 g Permanganat, gelöst in 500 cm^3 Wasser, versetzt. Nach

¹ Ber., 18, 3040; 20, 1043 bis 1053.

vier Tagen fiel auf Zusatz von Natriumbisulfit und Schwefelsäure das amorphe Reactionsproduct aus. Es wurde in etwas überschüssigem Barytwasser gelöst und kochend heiß filtriert. Nach dem Einleiten von Kohlensäure in dieses Filtrat schied sich neben wenig Baryumcarbonat das in siedendem Wasser schwerlösliche Barytsalz ab; nachdem es heiß abgesaugt worden war, konnte durch weiteres Eindampfen der Mutterlauge noch eine Ausscheidung dieses Salzes erhalten werden. Diese Ausscheidungen waren in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich; ihre Lösungen, sowie die Mutterlauge von der zweiten Ausscheidung wurden mit Salzsäure gefällt, das Ausgefällene in 70procentigem Alkohol heiß gelöst und nach dem Filtrieren mit Wasser bis zur ersten bleibenden Trübung versetzt, worauf nach kurzer Zeit die Ausscheidung sehr feiner Nadelchen erfolgte. Auch diese zeigten anfänglich den Schmelzpunkt von 285 bis 287°, erreichten aber nach wiederholtem Umkrystallisieren den constanten Schmelzpunkt von 294 bis 295°, ohne dabei Schwärzung zu erleiden.

0·1826 g verloren beim Trocknen nichts an Gewicht und lieferten beim Verbrennen 0·1352 g H₂O und 0·4406 g CO₂.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₂₄ H ₃₆ O ₇
C.....	65·81	66·01
H.....	8·28	8·31

Endlich gelingt es, desselben Körpers habhaft zu werden durch Oxydation von Desoxycholsäure mit concentrirter Salpetersäure ($d = 1·42$).

2 g Desoxycholsäure wurden mit 20 cm³ Salpetersäure gekocht, bis die Entwicklung von salpetrigsauren Dämpfen aufgehört hat. Nach dem Verdünnen mit Wasser bis zum Entstehen einer bleibenden Trübung und darauffolgendem Abkühlen kommt es zur Abscheidung von feinen, anfangs durchsichtigen, später weißlichen Tröpfchen, die bei der Untersuchung mit dem Mikroskope eine radiäre Structur zeigen und im dunklen Gesichtsfeld des Polarisationsmikroskopes helleuchtend mit einem regelmäßig gestellten dunklen Kreuz erscheinen.

Dieses Bild ist so charakteristisch, dass ich es geradezu als Erkennungsmittel für Desoxycholsäure benutzen konnte, weil Cholsäure und ihre Derivate niemals dies Bild liefern. Durch Behandlung dieser Ausscheidung mit Barytwasser und durch weiteres Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol in der zuvor geschilderten Weise wurden wieder feine Nadelchen vom constanten Schmelzpunkt 294 bis 295° erhalten.

0·1477 g lieferten beim Verbrennen 0·1115 g H₂O und 0·3564 g CO₂.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₂₄ H ₃₆ O ₇
C	65·81	66·01
H	8·44	8·31

Überblicken wir die Ergebnisse der eingreifenderen Oxydationen von Desoxycholsäure mit Chromsäure, Kaliumpermanganat und Salpetersäure, so sehen wir in allen drei Fällen der Hauptmenge nach denselben Körper entstehen, die Cholsäure,¹ von welcher Latschinoff den Schmelzpunkt mit 285° angegeben hat, während unsere Versuche für die sorgfältig gereinigte Säure den constanten Schmelzpunkt von 294 bis 295° ergeben haben. Aus den Analysenzahlen ist auch zu ersehen, dass der Cholsäure ebenso wie anderen aus Galle isolierten Säuren 24 Kohlenstoffatome zukommen und nicht, wie Latschinoff meinte, 25, was übrigens schon aus dem Grunde ausgeschlossen erscheint, als auch die Desoxycholsäure ihrer nur 24 besitzt.

Die gesammten Ergebnisse dieser Oxydationsversuche zeigen, dass nicht, wie Vahlen erwartet hat, die Desoxycholsäure bei der Oxydation Dehydrocholsäure und Biliensäure, sondern zuerst Dehydrocholsäure und dann Cholsäure liefert, also jene Körper, die Latschinoff bei der Oxydation der Cholsäure aufgefunden hat.

¹ Tappeiner, *Liebig's Ann.*, 194, 231; Latschinoff, *Ber.*, 15, 414; 18, 3045; 19, 474; Clève, *Bull. soc. chim.*, 35, 432; 38, 133.

So wahrscheinlich es auch ist, so möchte ich aus meinen Versuchen doch nicht den sicheren Schluss gezogen wissen, dass Desoxycholsäure und Choleinsäure identische Körper sind, sondern immer noch die Möglichkeit einer Isomerie im Auge behalten, solange es mir nicht gelingt, den einen Körper in den anderen überzuführen oder die großen Unterschiede beider in Schmelzpunkt und Löslichkeit befriedigend zu erklären. Leider macht Lassar-Cohn,¹ der nach Verarbeitung der bei der Cholalsäuredarstellung abfallenden Barytsalze typische Choleinsäure isoliert hat, keine Angaben über die Löslichkeit in Alkohol und den Schmelzpunkt seines Präparates; er hält die Identität von Desoxycholsäure und Choleinsäure durch Latschinoff für bewiesen.

II. Weitere Darstellungen von Cholalsäure.

Im Sommer 1900 wurde fünfmal aus je 10 kg Rinder- galle Rohcholalsäure dargestellt. Zu diesem Ende wurde die erwähnte Menge Blasengalle im hiesigen Schlachthause w- möglich im Verlaufe eines halben oder eines Tages gesammelt und noch an demselben Tage mit Kaliumhydroxyd zu kochen begonnen. Während ich früher² zu einer solchen Darstellung 500 g Ätzkali verwendete, setzte ich diesmal nur 150 g Kalium- hydroxyd zu, weil ich mich im vorhergehenden Winter davon überzeugt hatte, dass diese Menge vollkommen genügt. Im übrigen verfuhr ich so wie zuvor. Die nach der Fällung mit Chlorbaryum mit Salzsäure niedergeschlagene Sommerrohsäure, wie ich sie fortan nennen will, hatte die große Eigenthümlichkeit, nicht etwa wie sonst ziemlich feste Kuchen zu bilden, sondern weich zu bleiben und mit Wasser leicht Emulsionen zu bilden und weder nach dem Anreiben mit Alkohol in feuchtem, noch in getrocknetem und gepulvertem Zustande, noch aus Eisessig zu krystallisieren, kurz: sie verhielt sich von Anfang an so wie eine nicht krystallisierende Mutterlauge von Cholalsäure. Die gesammte Menge wurde getrocknet und gepulvert. Bei diesen

¹ Zeitschrift für physiol. Chemie, 17, 609 und 610.

² Pflüger's Archiv für die ges. Phys., Bd. 71, S. 303 bis 317.

fünf Darstellungen wurden erhalten 2027 g Rohcholalsäure und 736 g rohe Barytsalze als Nebenproduct.

Nachdem alle directen Krystallisationsversuche misslungen sind, führte folgendes empirisch aufgefundenes Verfahren zum Ziele. Die ammoniakalische Lösung dieser Sommerrohsäure, die schon bei ihrer Darstellung mit Chlorbaryum ausgefällt worden war, gab jetzt auch noch eine solche Fällung, wenn die Lösung entsprechend verdünnt war, in der concentrirten Lösung rief hingegen Chlorbaryum keine oder kaum eine Fällung hervor. Durch Ausprobieren wurde ermittelt, dass die ammoniakalische Lösung höchstens 1% der Sommerrohsäure enthalten dürfe, wenn mit Chlorbaryum ein reichlicher Niederschlag erzielt werden soll. Dementsprechend wurden immer je 100 g Sommerrohsäure in verdünntem Ammoniak heiß gelöst, auf 10 l Lösung mit Wasser verdünnt und mit zwanzigprocentiger Chlorbaryumlösung solange versetzt, als noch reichliche Trübung eintrat. Der entstandene Niederschlag setzte sich im Verlaufe von 24 Stunden meist in Form eines schmutzigen, harzartigen Niederschlages auf dem Boden des Gefäßes ab. Die dadurch viel klarer und heller gewordene Lösung wurde mittels eines Hebers, der mit Kautschukschlauch und Schraubenquetschhahn versehen war, auf ein Faltenfilter in derselben Geschwindigkeit auftropfen gelassen, als das Filtrat abließ. In dieser Weise gieng die sonst sehr lästige Filtration großer Flüssigkeitsmengen ganz automatisch vor sich. Das klare Filtrat lieferte nach dem Ausfällen mit verdünnter Salzsäure eine harzige Fällung von den Qualitäten einer guten Rohsäure, denn sie erstarrte nach dem Anreiben mit wenig Alkohol zu einem steifen Brei von meist tetraedrischen Krystallen, die nach dem Absaugen über evacuierten und luftdicht verschlossenen Kolben von der zähen Mutterlauge getrennt und durch neuerliches Anreiben mit wenig Alkohol zu einem zähflüssigen Brei, Absaugen und schließlichem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol vollkommen reine, krystallisierte Cholalsäure darstellte, $F = 195^\circ$. Die von diesen Krystallen getrennte Mutterlauge ließ beim Stehen nur vereinzelte Krystalle fallen; sie wurde daher nach dem Auflösen in Ammoniak in etwa einprocentiger Lösung einer erneuten Fällung

mit Chlorbaryum unterzogen und krystallisierte nach dem Ausfällen des Filtrates mit verdünnter Salzsäure und Anreiben dieser Fällung mit Alkohol ebenfalls, obwohl schon etwas träger. Die hiebei abgefallenen Mutterlaugen konnten in keiner Weise mehr zum Krystallisieren gebracht werden. Die gewonnenen Krystalle bestanden aus Cholalsäure und großen Mengen von Desoxycholsäure, deren Trennung nach einem später ausführlich zu besprechenden Verfahren vorgenommen wurde. Es soll auch später gezeigt werden, dass die aus den Barytfällungen regenerierte freie Säure, die ebenfalls allen Krystallisationsversuchen Widerstand geleistet hat, sowie die letzte Mutterlauge der Hauptmenge nach aus Desoxycholsäure bestanden.

Im darauffolgenden Winter 1900/1901 wurden in 15 Darstellungen 150 kg Rindergalle auf Rohcholalsäure nach einem außerordentlich einfachen und sehr billigen Verfahren verarbeitet. Die Vereinfachung und Verbilligung beruht darauf, dass statt des kostspieligen Kaliumhydroxydes rohes Natron verwendet wurde und dass, statt Kohlensäure einzuleiten, abzudampfen und mit Alkohol zu extrahieren, die gekochte Galle mit Salzsäure gefällt und der gewonnene Kuchen sofort wieder in Ammoniak gelöst wurde.

Die Einzelheiten des Verfahrens sind folgende: 10 kg Galle versetzt man mit 180 g rohem Natron des Handels und kocht sie in einem eisernen Topfe mit einsitzendem Deckel, der gewissermaßen als Rückflusskühler wirkt, durch mindestens 24 Stunden, indem man zeitweise das verdampfte Wasser ersetzt. Die erkaltete Flüssigkeit fällt man mit verdünnter (1:2) roher Salzsäure vollständig aus, gießt die überstehende Flüssigkeit nach dem Absitzen ab, knetet mit etwas Brunnenwasser durch und löst nach Entfernung des letzteren unter vorsichtigem Erwärmen in dem ursprünglichen Gefäße unter Zugabe der nöthigen Menge von Ammoniak und wenig Wasser. Die erhaltene Lösung bringt man in einen 4 l-Kolben, versetzt mit $\frac{3}{4}$ l Alkohol und bringt durch Spülwasser das Volumen der gesammten Lösung auf ungefähr 3 l. Diese fällt man mit Chlorbaryum vollständig aus, wozu stets 50 g, gelöst in 250 cm³ Wasser vollauf genügen. Tags darauf wird filtriert und das

nachher verdünnte Filtrat mit verdünnter roher Salzsäure bis zur vollständigen Ausfällung der Rohcholalsäure versetzt. Nach dem Absitzen und Abgießen der Flüssigkeit wird der Kuchen wiederholt mit Brunnenwasser abgeknetet und dann zum freiwilligen Auspressen der eingeschlossenen Flüssigkeit auf mehrere Stunden hingestellt.

Um aus Rohcholalsäure reine krystallisierte Cholalsäure zu gewinnen, knetet man den Rohsäurekuchen, ohne ihn vorher getrocknet und gepulvert zu haben, was auch eine sehr vortheilhafte Vereinfachung, auch gegenüber meinem früheren Verfahren bedeutet, in der Kälte in einem starken Batterieglass mit einem starken Eisenspatel unter Zugabe von kleinen Portionen absoluten Alkohols zu einem dickflüssigen Brei tüchtig ab. Das heiße Umkrystallisieren aus Alkohol, wie es andere Autoren geübt haben, ist zu verwerfen, weil dadurch gegenüber diesem die Ausbeute an Krystallen wesentlich herabgedrückt wird. Lassar-Cohn¹ führt diese Erscheinung auf eine unter dem Einflusse von in der Rohsäure zurückgebliebener Salzsäure dabei stattfindende Esterificierung der Cholalsäure zurück und empfiehlt daher, die Ausfällung der rohen Cholalsäure nicht mit Salzsäure, sondern mit Essigsäure vorzunehmen. Ich habe letzteres außer der Kostspieligkeit wegen, die bei der Darstellung großer Mengen eines Körpers Berücksichtigung verdient, auch aus dem Grunde unterlassen, weil, wie ich mich früher schon in zwei diesbezüglichen Versuchen überzeugen konnte, die Ausbeuten mindestens ebensogut ausfallen, auch wenn man zur Fällung Salzsäure nimmt, wenn man nur, statt heiß aus Alkohol umzukrystallisieren, den Rohsäurekuchen in der Kälte mit Alkohol zu einem dickflüssigen Brei abknetet. Da diese Arbeit stets in denselben Gläsern, ohne dass sie zuvor gereinigt worden wären, vorgenommen wurde, also stets eine Impfung mit Krystallen der vorhergehenden Darstellung stattfand, krystallisierte oft schon während des Knetens der gesammte Inhalt des Glases, und nach 24stündigem Stehen in der Winterkälte war

¹ Ber., 25, I, 807. — Die Säure der Rindergalle und die Säuren der Menschengalle. Habilitationsschrift. Hamburg und Leipzig, 1898, S. 44 bis 45 und S. 52.

die Krystallisation fast immer beendet. Da die Cholalsäure mit einem Molecül Krystallalkohol krystallisiert, findet dabei stets ein Dickerwerden des Breies statt, so dass man oft tags darauf genöthigt ist, den Inhalt des Glases mit erneuten Mengen von Alkohol durchzukneten.

Durch Absaugen über evacuierten Kolben, die luftdicht verschlossen stehen bleiben, trennt man meist im Verlaufe eines Tages die Krystalle von der zähen Mutterlauge. Ohne sie gewaschen zu haben, bringt man sie in das Batterieglas zurück und reibt sie wieder mit Alkohol zu einem steifen Brei an, lässt einen oder mehrere Tage stehen, wobei etwas größere Krystalle entstehen, die dann leichter abzusaugen sind und dann ziemlich weiß erscheinen. Sollte dies noch nicht der Fall sein, so wiederholt man dieses Anreiben mit Alkohol noch einmal und löst endlich die erhaltenen Krystalle in heißem Alkohol und filtriert rasch durch Baumwolle, welche gröbere, in Alkohol unlösliche Verunreinigungen zurückhält. Das Filtrat rührt man während des Erkaltens mehrmals um, weil sonst die Krystalle besonders leicht in Form zusammenhängender Krusten ausfallen, die das Absaugen und Waschen wesentlich erschweren. Diese Krystallisation ist reine Cholalsäure, $F = 195^\circ$, die sich zu allen weiteren Verarbeitungen eignet, obwohl sie noch eine minimale Menge eines außerordentlich fein vertheilten braunen Körpers enthält, der nur durch Filtration der heißen alkoholischen Lösung im Heißwassertrichter über Filtrierpapier zu entfernen ist. Aber gerade dies ist sehr umständlich, weil dabei die Filter sehr leicht verstopft werden und infolge Auskrystallisierens an den Außenflächen der Faltenfilter die Filtration bald gänzlich aufhört. Viel besser ist es, sich glatter Filter zu bedienen, über die man einen zweiten Trichter umgekehrt aufsetzt. Darin werden die Alkoholdämpfe condensiert und fließen zum Rande des Filters zurück, das auf diese Weise beständig gewaschen wird. Die Mutterlauge, die nach dem heißen Umkrystallisieren erhalten wurde, lieferte, nachdem soviel Alkohol abdestilliert worden war, als auf dem Wasserbade leicht abzutreiben war, eine zweite Krystallisation, deren Mutterlauge ebensowenig wie die erstgewonnene Krystallisation zeigte.

Diese nicht krystallisierenden Mutterlaugen mehrerer Einzeldarstellungen wurden nun wieder mit überschüssigem rohen Natron 2 bis 3 Tage lang gekocht, nach dem Erkalten mit Salzsäure ausgefällt, und, ohne sie einer Barytfällung zu unterziehen, mit Alkohol zu einem Brei abgeknetet und hierauf mit etwas Äther versetzt. Der erhaltene Krystallbrei erschien nach mehrmaligem Anreiben mit Alkoholäther und nachfolgendem Absaugen rein weiß (dritte Krystallisation) und bestand aus zweierlei Krystallen aus Tetraedern von Cholalsäure und feinen Prismen von Desoxycholsäure.

Die geringen Mengen von Mutterlaugen, die von den dritten Krystallisationen sämtlicher 15 Darstellungen abfielen, konnten auf einmal dem Kochen mit rohem Natron unterworfen werden, und nach dem Ausfällen mit roher Salzsäure konnten sie nicht mehr durch Anreiben mit Alkoholäther zum Krystallisieren gebracht werden, sondern erst nach Anwendung des Mittels, welches bei der »Sommerrohsäure« zum Ziele geführt hat. Die etwa einprocentige wässerige, ammoniakalische Lösung dieser harzigen, tief dunklen Fällung ließ auf Zusatz von Chlorbaryum einen reichlichen Niederschlag fallen, und im Filtrat davon erzeugte Salzsäure einen harzigen Niederschlag, der nach dem Anreiben mit Alkohol, nachträglichem Versetzen mit Äther und längerem Stehen in der Kälte noch eine beträchtliche Menge von Krystallen anschießen ließ (vierte Krystallisation), die fast nur aus Desoxycholsäure mit geringen Beimengungen von Cholalsäure bestand. Die allerletzte Mutterlauge, sowie die aus den Barytfällungen durch Kochen mit Soda regenerierte Masse konnten in keiner Weise zum Krystallisieren gebracht werden, aber auch dafür werden wir den Nachweis erbringen können, dass sie der Hauptmenge nach aus Desoxycholsäure bestanden.

Das bisherige Ergebnis sind also vier Krystallisationen, von denen die erste reine Cholalsäure, die vierte hauptsächlich Desoxycholsäure und die zweite und dritte wechselnde Gemenge beider sind. Wenn auch die Desoxycholsäure ein nahezu unlösliches, die Cholalsäure ein leicht lösliches Barytsalz bilden, so gelingt diese Trennung dennoch nicht aus dem Grunde, den ich schon angeführt: weil cholalsaures Baryum

beträchtliche Mengen von desoxycholsaurem Baryum in Lösung zu halten vermag. Wohl aber gelingt es, Cholalsäure und Desoxycholsäure durch fractionierte Krystallisation zu trennen, weil Desoxycholsäure weit leichter in Alkohol löslich ist als Cholalsäure. Es wurde so vorgegangen, dass z. B. die nach dem heißen Umkrystallisieren der zweiten Krystallisation erhaltene Mutterlauge zum heißen Lösen der dritten Krystallisation benützt wurde, allenfalls unter Zugabe neuer Mengen von Alkohol. Die beim Erkalten ausgefallenen Krystalle bestanden der Hauptmenge nach aus Cholalsäure, während die Desoxycholsäure in der neuen Mutterlauge blieb und daraus nach dem Abdestillieren und Versetzen mit Äther in der Kälte zum reichlichen Auskrystallisieren gebracht werden konnte. Um das ganze vorhandene Materiale einerseits in reine Cholalsäure, andererseits in eine wenigstens der beiweitem größten Menge nach aus Desoxycholsäure bestehende Portion zu scheiden, dürften wohl über dreißig Einzeloperationen nöthig gewesen sein.

Zur Untersuchung der sich beim fractionierten Umkrystallisieren ergebenden Zwischenfractionen bediente ich mich entweder der unmittelbaren Betrachtung mit dem Mikroskop, am besten im dunklen Gesichtsfelde zwischen gekreuzten Nicols, um zu entscheiden, ob die Tetraeder der Cholalsäure oder die Prismen der Desoxycholsäure überwiegen, oder aber ich bediente mich mit großem Vortheile der vorhergehenden Oxydation mit concentrirter Salpetersäure, die, wie schon erwähnt, Desoxycholsäure in Cholansäure überführt. Bei Verwendung reiner Desoxycholsäure gelingt es ohneweiters, beim Kochen mit Salpetersäure und nach entsprechendem Verdünnen die doppelbrechenden Kügelchen von Cholansäure mit radiärer Structur, die im dunklen Gesichtsfelde des Polarisationsmikroskopes helleuchtend mit einem regelmäßig gestellten dunklen Kreuze erscheinen, zu erhalten. Bei gleichzeitigem Vorhandensein von Cholalsäure und Desoxycholsäure, insbesondere wenn Letztere in nicht krystallisiertem Zustande vorliegt, wie in den allerletzten Mutterlaugen und in den mit Chlorbaryum erzeugten, schmierigen Fällungen, kann jedoch das ausfallende Reactionsproduct amorph bleiben, wenn man nicht

für eine tiefgreifende Zerstörung der minder widerstandsfähigen Cholalsäure und der Schmieren sorgt. Als geeignetes Mittel dazu erwies sich Kaliumpermanganat. Die Ausführung der Reaction war folgende: Ein etwa bohnen großes Stück der zu untersuchenden Krystallisation oder aber eines amorphen Productes wird mit 3 bis 5 cm^3 concentrirter Salpetersäure solange gekocht, bis die Entwicklung salpetrigsaurer Dämpfe aufgehört hat, und in das siedende Gemisch tropfenweise solange von einer vierprocentigen Kaliumpermanganatlösung zugetropft, als noch augenblickliche Entfärbung eintritt. Darauf wird unter Schütteln rasch abgekühlt, bis zur Lösung der Hauptmenge wieder erhitzt und endlich unter anhaltendem Schütteln abgekühlt. Waren in dem untersuchten Materiale irgendwennennenswerte Mengen von Desoxycholsäure vorhanden, so zeigt das erhaltene Reactionsproduct entweder sofort oder aber nach längerem Stehen das schon geschilderte höchst charakteristische Bild im Polarisationsmikroskop. Mit dieser Verfahren ist es mir z. B. mit Leichtigkeit gelungen, nachzuweisen, dass in den amorphen Abfallsproducten, wie den allerletzten Mutterlaugen und in den mit Chlorbaryum aus der Sommerrohsäure und aus den Mutterlaugen der Wintersäure ausgefällten Massen der Hauptmenge nach Desoxycholsäure enthalten ist.

Während aus den Krystallisationen, in denen Cholalsäure vorherrschte, letztere durch bloßes Umkrystallisieren leicht vollkommen rein zu erhalten war, musste die Reinigung der mit Desoxycholsäure angereicherten Fractionen von Cholalsäure auf Grund des Löslichkeitsunterschiedes ihrer Barytsalze erfolgen. Dazu eigneten sich aber aus dem schon bekannten Grunde nur jene Krystallisationen, in welchen die Cholalsäuremenge so gering war, dass nur unbedeutende Mengen von desoxycholsaurem Baryum davon in Lösung gehalten werden konnten. Es wurden daher zur Darstellung reiner Desoxycholsäure nur jene Fractionen verwendet, deren ammoniakalische Lösung mit Chlorbaryum einen reichlichen Niederschlag ausfallen ließ. Diese wurden dann vereinigt, in verdünntem Ammoniak gelöst und mit überschüssigem Chlorbaryum versetzt. Nach dem Stehen über Nacht war der

entstandene Niederschlag durchwegs in zu Rosetten vereinigten kleinen Prismen krystallisiert; er wurde nach dem Absaugen und Waschen mit Wasser noch einmal aus Alkohol heiß umkrystallisiert. Alles löslich Gebliebene wurde nach dem Überführen in die freie Säure einer weiteren fractionierten Krystallisation unterzogen und daraus noch weitere Mengen von Cholalsäure und Desoxycholsäure gewonnen.

Auf diese Weise ist es mir gelungen, Mengen von reiner Cholalsäure und Desoxycholsäure zu gewinnen, wie sie noch selten oder kaum jemals zusammen vorhanden gewesen sein dürften. Leider bin ich nicht in der Lage, genauere Aufschlüsse über den Gehalt der Rohsäure an Desoxycholsäure zu machen, erstens, weil ich öfters, wahrscheinlich infolge der großen Nachfrage, zweifellos verdünnte Galle erhalten habe, wie die plötzlich schlechten Ausbeuten an Rohsäure bewiesen, und weil das Verfahren der fractionierten Krystallisation mit unvermeidlichen Verlusten verbunden ist und endlich, weil sich die in den allerletzten Mutterlaugen und in den mit Chlorbaryum bei der Reinigung der Mutterlaugen verbliebenen Mengen von Desoxycholsäure der Beurtheilung entziehen. Nach einer approximativen Schätzung möchte ich den Gehalt der sogenannten Rohcholalsäure an Desoxycholsäure auf mindestens 5 bis 10% veranschlagen, und ich halte es dabei für wahrscheinlich, dass ich damit noch weit unter dem wahren Werte geblieben bin.

Überblicken wir die gesammten bisherigen Untersuchungsergebnisse, so folgt daraus als Thatsache gegenüber den herrschenden bisherigen Anschauungen, dass sich auch aus der frischen, höchstens ein oder zwei Tage alten Rindergalle des Grazer Schlachthauses regelmäßig Desoxycholsäure isolieren lässt, und zwar nicht nur im Sommer, sondern auch im Winter, wo eine irgendwie beträchtliche Reduction von Cholalsäure zu Desoxycholsäure durch Fäulnis in der überdies so kurzen Zeit auszuschließen ist, dass also Desoxycholsäure mit Cholalsäure zusammen die Hauptmenge der sogenannten Rohcholalsäure ausmacht und erstere daher bei einer quantitativen Cholalsäurebestimmung nach Lassar-Cohn¹ fälschlich als Cholalsäure in Rechnung gesetzt werden würde.

¹ Lassar-Cohn, Habilitationsschrift, S. 70; Ber., 26, 149.

Hier muss erwähnt werden, dass Vahlen¹ aus Rohcholalsäure beträchtliche Mengen von Choleinsäure isoliert hat, von der er bestimmt annimmt, dass sie nicht identisch ist mit Desoxycholsäure, da er von letzterer dieselben Oxydationsproducte, wie sie die Cholsäure liefert, erwartet hat, während ich gerade gezeigt habe, dass Choleinsäure und Desoxycholsäure identische Oxydationsproducte liefern.

Endlich habe ich noch über Bemühungen zu berichten, die darauf gerichtet waren, einen zahlenmäßigen Ausdruck für die Krystallisationsfähigkeit der verschiedenen reinen und amorphen Producte aufzufinden. Als brauchbar erwies sich dabei die Methode der volumetrischen Carboxylbestimmung, die stets in der Weise zur Ausführung gelangte, dass die bei 100° im Vacuum getrocknete Probe mit 0·1 normaler Kalilauge unter Benützung von Phenolphthaleïn als Indicator titriert wurde und in einer zweiten Probe der übrigens ganz minimale Aschengehalt bestimmt wurde. Der Übersichtlichkeit wegen stelle ich dieser Reihe Bestimmungen an reiner Desoxycholsäure und reiner Cholsäure voraus und theile die Ergebnisse nur in ihren Resultaten mit.

In 100 Theilen:

	Gefunden für reine Desoxycholsäure	Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4$
COOH	11·79	11·47
	Gefunden für reine Cholsäure	Berechnet für $C_{24}H_{40}O_5$
COOH	10·95 10·96	11·03

Dritte Krystallisation der Winter-

darstellung	11·30,	11·08%	COOH.
Winterrohsäure	10·92,	11·04%	COOH.
Wintermutterlaugen nach vorher-			
gehender Barytreinigung	10·39,	10·45%	COOH.
Nicht gereinigte Wintermutterlauge .	10·29,	10·15%	COOH.
Sommerrohsäure	8·39,	8·46%	COOH.

¹ Zeitschrift für physiol. Chemie, 21, S. 264, und 23, S. 108.

Aus den Barytfällungen wieder-
gewonnene amorphe, schmierige

Säure 7·50, 7·54% COOH.

Wir sehen aus dieser Zusammenstellung, dass mit abnehmendem COOH-Gehalt auch die Krystallisationstendenz abnimmt und dass unterhalb von etwa 10% COOH überhaupt keine Krystallisation zu erwarten ist.

Wir haben also in der COOH-Bestimmung ein einfaches Mittel in der Hand, um die Güte und Krystallisationsfähigkeit z. B. von Rohsäuren rasch zu bestimmen; ich verweise nur auf den großen Unterschied zwischen Sommerrohsäure mit 8·39 und 8·46% und Winterrohsäure mit 10·92 und 11·04% COOH hin. Wir erfahren aber daraus weiter noch, dass die Krystallisationsbehinderung durch Körper hervorgerufen wird, die entweder überhaupt keine Säuren mehr sind oder die im Verhältniss zu ihrer Basicität ein viel größeres Moleculargewicht haben als Cholalsäure und Desoxycholsäure, denn diese Körper lassen sich durch Fällung mit Chlorbaryum entfernen, wie des öfteren erwähnt, und weil gerade die Massen, die man erhält, wenn man diese Barytfällungen durch Kochen mit Soda zerlegt, vom entstandenen Baryumcarbonat abfiltriert und die opalisierenden Filtrate mit Salzsäure ausfällt, in dieser Reihe die allerniedrigsten Werte mit 7·50 und 7·54% zeigen. Da wir aus den schon mitgetheilten Oxydationsversuchen mit Salpetersäure und auch später mitzutheilenden Versuchen wissen, dass in diesen mit Chlorbaryum niedergeschlagenen Massen große Mengen von Desoxycholsäure enthalten sind, von welcher man nicht annehmen kann, dass sie als solche die Krystallisation hindert, da wir gerade bei der vorhin beschriebenen Fractionierung Gemenge von Cholalsäure und Desoxycholsäure miteinander gut krystallisieren gesehen haben, so kann von dem gefundenen niedrigen Carboxylgehalte auf die neben Desoxycholsäure darin vorkommenden Körper nicht mehr viel entfallen.

Wenigstens eines dieser die Krystallisation behindernden Körper konnte ich habhaft werden und gelangte dadurch zu einer theilweisen Erklärung der Krystallisationsbehinderung in

meinen Mutterlaugen. Lassar-Cohn hat für das schlechte Krystallisationsvermögen seiner Mutterlaugen bekanntlich die Bildung des Äthylesters der Cholalsäure beim heißen Umkrystallisieren der Rohsäure aus Alkohol als Erklärung in Anspruch genommen. Da ich, wie aus dem Voranstehenden deutlich hervorgeht, das heiße Umkrystallisieren der Rohsäure grundsätzlich vermieden habe, fallen bei mir die von Lassar-Cohn behaupteten Bedingungen für die Bildung eines Äthylesters der Cholalsäure vollkommen weg. Ich füge überdies noch hinzu, dass es mir ferne liegt, seine Erklärung für seine Mutterlaugen, insbesondere nachdem er bei der Oxydation derselben nicht freie Dehydrocholsäure, sondern ihren Äthylester erhalten hat, in Zweifel zu ziehen, sondern gebe für meine Mutterlaugen, die nach der Art, wie sie zustande gekommen sind, anders sind als die seinen, auch eine andere Erklärung ihrer schlechten Krystallisierbarkeit, ohne damit auszuschließen, dass auch noch andere Ursachen daran betheiligt sein können.

Jene opalisierenden Filtrate, die ich insbesondere nach dem Zerlegen der Barytfällungen aus Sommerrohsäure erhielt, trübten sich bei zunehmender Verdünnung immer stärker, und bei genauerem Zusehen konnte man wahrnehmen, dass diese Trübung von sehr feinen, in der alkalischen Flüssigkeit aufgeschwemmten Tröpfchen herrührt. Durch wiederholtes Filtrieren durch dasselbe Filter blieb darauf eine ganz beträchtliche Menge eines grauen Niederschlages zurück, der sich nach dem Waschen und Trocknen als in allen gebräuchlichen Lösungsmitteln unlöslich erwies und sogar nach eintägiger Digestion mit starker überschüssiger Natronlauge auf dem Wasserbade seiner Hauptmenge nach ungelöst blieb. Beim Kochen mit alkoholischem Kali, sowie mit einer concentrirten alkoholischen Cholalsäurelösung, als auch mit wässrigem Kali, dem große Mengen reiner Cholalsäure zugesetzt worden waren, gieng die Hauptmenge in Lösung. Auf Grund dieser Eigenschaften halte ich diesen Körper für ein Dyslysin¹ und nehme mit einiger Berechtigung an, dass er kein genuiner Gallenbestandtheil ist, sondern erst im Verlaufe der späteren

¹ Mylius, Ber., 20, 1977 bis 1979.

Operationen in der Rohcholalsäure als Endproduct eines Anhydrierungsprocesses entstanden ist, dessen Ursache z. B. Spuren von Salzsäure oder auch andere Einflüsse sein können. Wir wissen ferner seit Hoppe-Seyler,¹ dass Gemenge von Dyslysinen und Cholalsäure (sogenannte Choloidinsäure) sehr schlecht oder auch gar nicht krystallisieren, und begreifen nun, warum die Krystallisationsfähigkeit eines solchen Gemenges nach dem Kochen mit starken Alkalien zunehmen muss. Wenn wir weiters in Betracht ziehen, dass die in Alkalien noch löslichen Dyslysine eine Fällung bei Zusatz von Chlorbaryum erleiden, was ebenfalls schon bekannt ist² und wovon ich mich an einem Präparate, das ich mir durch Erwärmen von reiner, krystallalkoholfreier Cholalsäure mit concentrirter Salzsäure hergestellt habe, überzeugen konnte, so liegt auch darin eine befriedigende Erklärung der von mir ursprünglich rein empirisch aufgefundenen Reinigungsmethode durch Fällen der verdünnten ammoniakalischen Lösung mit Chlorbaryum.

III. Oxydation von reiner Cholalsäure und ihrer amorphen Abfallsproducte mit Kaliumpermanganat.

a) Von reiner Cholalsäure.

Clève³ war der erste, dem es gelungen ist, durch Einwirkung von Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung auf Cholalsäure einen krystallisierten Körper, die Biliansäure, zu erhalten. Er bemerkt ausdrücklich, dass dabei fast die doppelte Menge Permanganat verbraucht wird.

Dieses Verfahren hat in jüngerer Zeit eine wesentliche Verbesserung durch Lassar-Cohn⁴ insoferne erfahren, als er das Natriumbisulfit zur Lösung der Manganniederschläge und Barytwasser zur Trennung von Biliansäure und Isobiliansäure in Anwendung gezogen hat.

Ich habe für meine Zwecke dieses Verfahren insoferne etwas modificiert, als ich in etwas kleineren Flüssigkeitsmengen

¹ Journal für prakt. Chemie, 89, S. 87 und 257.

² Mylius, Ber., 20, 1978.

³ Bull. Soc. Chim., 35, 373 bis 379, 429 bis 433 (1881), 38, 131 bis 136.

⁴ Ber., 32, 683 bis 687.

arbeitete, die nothwendige Kaliumpermanganatmenge nicht auf einmal, sondern portionenweise zusetzte und endlich in weit geringerem Überschusse. Demzufolge wurden in den mir zur Verfügung stehenden großen Präparatencylindern von 12 bis 14 l Inhalt je 100 bis 150, manchmal sogar 200 g krystallalkoholfreie Cholalsäure nach dem Lösen in Ammoniak auf etwa 8 l Lösung mit Brunnenwasser verdünnt und mit einer am Wasserbade frisch bereiteten Lösung von 100 g Permanganat in 700 cm³ Wasser versetzt. Nach 24 Stunden war längst schon Entfärbung eingetreten und es erfolgte ein neuerlicher, gleich großer Zusatz von Permanganat, der bei Verarbeitung von 100 g Cholalsäure nach 24 Stunden in der Regel nicht vollständig verbraucht worden ist. Bei Verarbeitung von mehr als 100 g Cholalsäure wurde mit diesen täglichen Zusätzen von je 100 g Permanganat solange fortgefahren, bis doppelt soviel Permanganat als Cholalsäure in Reaction gebracht worden ist. Meist nahm ich beim letzten Zusatz überdies noch einen Überschuss von 10 bis 20 g Permanganat. Nachdem Letzteres verbraucht ist, also frühestens nach 2 bis 4 Tagen versetzt man das Reaktionsgemisch mit Natriumbisulfidlösung,¹ bis sich eine herausgenommene Probe mit Schwefelsäure vollständig entfärbt, und fällt das Ganze mit Schwefelsäure. Nach weiteren 24 Stunden wurde die über dem blendend weißen Reactionsproduct stehende klare Flüssigkeit abgehebert und der Rest abgesaugt. Die noch feuchte rohe Biliensäure löst man in der erforderlichen Menge kalt gesättigten Barytwassers (vorheriges Trocknen des Reactionsproductes empfiehlt sich aus dem Grunde nicht, weil sonst die Lösung zu schwer erfolgt), erhitzt zum Kochen, wobei das in der Hitze schwerlösliche Barytsalz der Isobiliensäure ausfällt, wie schon Mylius² ausdrücklich hervorhebt, und filtriert heiß am Heiß-

¹ Die Natriumbisulfidlösung bereitete ich mir selbst durch Einleiten von schwefeliger Säure, die durch Erhitzen von Holzkohle mit concentrirter Schwefelsäure erzeugt wurde, in eine heiße Lösung von 1 kg roher Soda zu 2 l. Leitet man hingegen in die kalte Lösung ein, so hat man Schwierigkeiten mit dem sich ausscheidenden Bicarbonat, während das Einleiten in die heiße Lösung keiner Beaufsichtigung bedarf.

² Ber., 20, 1986.

wassertrichter. Aus dem erkalteten Filtrate fällt auf Salzsäure-zusatz Biliansäure in feinen Flocken aus. Diese werden ab-gesaugt und noch feucht in siedendem Alkohol gelöst und mit Wasser bis zur entstehenden Trübung versetzt. Beim Erkalten fällt anfangs die Säure nur amorph aus, und nach mehrstündigem Stehen, insbesondere in der Kälte, entstehen reichlich Krystalle.

Nach weiterem derartigen Umkrystallisieren sind die Krystalle nach vorhergehendem Sintern bei 269° geschmolzen (Lassar-Cohn¹). Krystallisiert man noch weiter um, so erhebt sich der Schmelzpunkt bis zu 274 bis 275° und bleibt constant, und auch der Abdampfungsrückstand der letzten Mutterlauge schmilzt bei der zuletzt angegebenen Temperatur.

In einem später zu besprechenden Versuche handelte es sich mir darum, absolut reine, insbesondere von Cholansäure vollkommen freie Biliansäure zu verwenden. Zu diesem Zwecke wurden 300g meiner reinen Cholalsäure noch zweimal aus Alkohol umkrystallisiert. Sie schmolz danach ebenfalls bei 195° und gab bei der Verbrennung folgende Werte:

I. Nach dem Trocknen im Vacuum bei 105° lieferten $0\cdot2409\text{g}$ $0\cdot2144\text{g}$ H_2O und $0\cdot6233\text{g}$ CO_2 .

Später wurden noch von demselben Präparate gleichzeitig zwei Verbrennungen in meinem automatischen Verbrennungs-ofen ausgeführt:

II. $0\cdot2454\text{g}$ dieser Krystalle verloren beim Trocknen im Vacuum bei 100° $0\cdot0255\text{g}$ an Gewicht und lieferten $0\cdot1975\text{g}$ H_2O und $0\cdot5678\text{g}$ CO_2 .

III. $0\cdot1886\text{g}$ verloren $0\cdot0195\text{g}$ und lieferten $0\cdot1500\text{g}$ H_2O und $0\cdot4364\text{g}$ CO_2 .

In 100 Theilen:

	Gefunden			Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_5 + \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
	I	II	III	
$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	—	10·39	10·34	10·13
C	70·56	70·42	70·38	70·58
H	9·96	10·05	9·92	9·88

¹ Ber., 32, 684.

Von diesem reinsten Cholalsäurepräparat wurden 100g mit Permanganat nach dem vorher geschilderten Verfahren oxydiert und auf Biliansäure verarbeitet. Nach oftmaligem luxuriösen Umkrystallisieren blieb der Schmelzpunkt von 274 bis 275° constant. Ich lege darauf deshalb einigen Wert, weil alle bisherigen Beobachter niedrigere Schmelzpunkte für die reine Biliansäure angegeben haben, wohl deshalb, weil sie, um Materialverluste zu vermeiden, nicht genügend oft umkrystallisiert haben.

0·2722 g dieser krystallisierten Biliansäure verloren beim Trocknen im Vacuum bei 100° 0·0203 g an Gewicht und lieferten beim Verbrennen 0·1716 g H₂O und 0·5920 g CO₂.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{24}H_{34}O_8 + 2H_2O$
H ₂ O	7·46	7·48
C	64·09	63·96
H	7·62	7·61

b) Oxydation von roher Cholalsäure.

Eine wesentliche Vereinfachung hat die Darstellung von Biliansäure dadurch erfahren, dass es mir gelungen ist, auch bei der Oxydation von roher, nicht krystallisierter Cholalsäure ebenso leicht reine Biliansäure zu erhalten wie aus reinsten Cholalsäure. Dazu ist es wie ich mich später überzeugt habe, und es seither ausschließlich übe, nicht einmal notwendig, nach dem Zerkochen der Galle mit rohem Natron die Fällung mit Chlorbaryum vorzunehmen. Das Verfahren ist genau dasselbe, wie für reine Cholalsäure bereits angegeben; man erhält danach ein ebenso schneeweißes Reactionsproduct wie aus reiner Cholalsäure. Eine kleine Abweichung tritt nur insoferne ein, als man hier im rohen Reactionsproduct außer Biliansäure und Isobiliansäure auch noch Cholansäure und Isocholansäure, die beiden Oxydationsproducte der Desoxycholsäure und die unveränderten Fettsäuren der Galle vorfindet. Durch Lösen des Reactionsproductes in kaltem überschüssigen Barytwasser geht alles bis auf die Fettsäuren in Lösung, durch Aufkochen

des Filtrates und siedend heißes Filtrieren entfernt man die Barytsalze der beiden Isosäuren, so dass schließlich nur biliansaures und cholansaures Baryum in Lösung bleiben. Zur Trennung dieser beiden habe ich anfangs die Eigenschaft des cholansuren Baryums, beim Aufkochen der mit Kohlensäure gesättigten Lösung auszufallen, zu benützen versucht, es zeigte sich aber, dass dabei nicht alles ausfällt, auch wenn man die Lösung durch Abdampfen stark einengt. Leicht hingegen gelingt die Trennung dieser beiden Säuren durch fractionierte Krystallisation, da Cholansäure in Alkohol etwas schwerer löslich ist als Biliansäure. Die besten Resultate habe ich erhalten durch Anreiben der nach dem Absaugen noch feuchten, aus dem letzten Filtrate mit Salzsäure niedergeschlagenen amorphen freien Säuren mit wenig Alkohol zu einem Brei und mehrtägiges Stehenlassen in der Kälte. Durch Absaugen werden fast alle Verunreinigungen, insbesondere Farbstoffe entfernt, und man erhält eine Masse von großer Krystallisationsfähigkeit. Nun löst man heiß in viel Alkohol und setzt nur wenig Wasser zu. Es scheiden sich in kürzester Zeit feine Nadelchen von Cholansäure aus, während die Hauptmenge der Biliansäure in Lösung bleibt. Durch weiteres Umkrystallisieren in der schon bekannten Weise erhält man reine Cholansäure vom Schmelzpunkt 294 bis 295°. Durch Einengen der Mutterlaugen und weiteres Umkrystallisieren derselben erhält man reine Biliansäure, die bei 274 bis 275° schmilzt.

Nach diesem Verfahren habe ich z. B. neben Biliansäure große Mengen von Cholansäure aus »Sommerrohsäure« erhalten.

Bemerken möchte ich auch noch, dass es mir hingegen nicht gelungen ist, aus den Barytniederschlägen die beiden Isosäuren, Isobiliansäure und Isocholansäure, zu isolieren oder zu trennen, während die Darstellung der Isobiliansäure aus reinem Materiale sehr leicht gelingt.

c) Oxydation von Mutterlaugen und anderen Abfallproducten der Cholalsäure.

Eine weitere Quelle für die Gewinnung von Cholansäure sind mir jene ältesten Mutterlaugen geworden, aus denen ich

zuerst Desoxycholsäure zu isolieren Gelegenheit hatte, ferner die Mutterlaugen, die von den Krystallisationen aus der »Sommerrohsäure« abfielen, die letzten, nicht krystallisierenden Mutterlaugen von den Winterdarstellungen, und endlich jene Massen, die sowohl beim Reinigen der Sommerrohsäure, sowie der übrigen Mutterlaugen durch Fällung der einprocentigen Lösungen mit Chlorbaryum niedergerissen worden sind. Auch hier war das Verfahren genau wie bei *b*, nur möchte ich hier erwähnen, dass die in heißem Barytwasser unlöslichen Theile des Reactionsproductes nach dem Zersetzen mit siedender Sodalösung im Gegensatze zu den aus reinem Materiale gewonnenen außerordentlich schlecht filtrieren, weil den Baryumcarbonatniederschlag eine amorphe, gequollene Masse einhüllt. Dyslysin?

Das Ergebnis dieser Oxydation war durchgehends Cholansäure, denn es war nicht möglich, neben viel Cholansäure eventuell auch noch geringe Mengen von Biliansäure mit Sicherheit nachzuweisen, was man nach den Löslichkeitsverhältnissen dieser beiden Säuren begreiflich findet.

d) Darstellung größerer Mengen von Cholansäure.

An dieser Stelle möchte ich über meine Bemühungen berichten, ein einfaches Verfahren zu ermitteln, welches ermöglicht, große Mengen von Cholansäure darzustellen.

Zu diesem Ende versuchte ich zuerst, ob es nicht gelingt, durch Reduction von Biliansäure zu der um ein O-Atom ärmeren Cholansäure zu gelangen. 1 g reine Biliansäure, gelöst in 20 cm^3 Eisessig, wurde mit 0.5 g Zinkstaub unter Rückfluss 7 Stunden lang gekocht. Nach dem Eingießen in Wasser und Umkrystallisieren wurde reine Biliansäure unverändert wiedergewonnen.

Es wurde daher versucht, aus roher Cholalsäure rohe Desoxycholsäure und durch Oxydation letzterer Cholansäure zu gewinnen. Schon Mylius¹ hat die Anschauung ausgesprochen, dass die Desoxycholsäure, die er zuerst in faulender Galle aufgefunden hat, als ein Reductionsproduct der Cholalsäure

¹ Ber., 19, 373.

aufzufassen ist, und theilt mit, dass es ihm auch gelungen ist, reine Cholalsäure durch Fäulnis in Desoxycholsäure überzuführen. Später hat Vahlen¹ sogar zwei Methoden angegeben, um im kleinen mit anorganischen Mitteln Cholalsäure zu Desoxycholsäure zu reducieren. Eine dieser Methoden besteht darin, dass man Cholalsäure mit Zinkstaub in Eisessiglösung kocht. Sie war für mich aus dem Grunde ausgeschlossen, weil sie für eine Darstellung im Großen zu umständlich und zu kostspielig ist.

Weiters führt Vahlen die Reduction der ammoniakalischen Lösung von Cholalsäure mit Zinkstaub an und meint, dass dieser hiebei sehr viel energischer einwirke als in essigsaurer Lösung, weil selbst mäßiges Erhitzen auf dem Wasserbade die Reaction bald so weit führt, dass in der vom überschüssigen Zinkpulver abfiltrierten Flüssigkeit mit Salzsäure keine harzigen Fällungen mehr zu bekommen sind. Ich habe derartige Versuche öfter angestellt, in der Meinung, dass es dabei zu wasserlöslichen Säuren kommt, und gefunden, dass keine solchen entstehen, wohl aber, dass bei längerem Erwärmen oder Kochen der ammoniakalischen Lösung von Cholalsäure mit Zinkstaub das sogar krystallisierte Zinksalz der organischen Säure ausfällt infolge Ammoniakverlustes der Lösung, denn durch einen neuerlichen Ammoniakzusatz vermag man das Ausgefallene wieder in Lösung zu bringen, worauf neuerliches Kochen wieder Fällung bewirkt.

Ich habe eine Reduction von roher Cholalsäure in der Weise herbeizuführen versucht, dass ich den feuchten Rohsäurekuchen mit dem halben Gewichte Zinkstaub tüchtig durchgeknetet und in verschlossenen Gläsern einige Monate stehen ließ. Auch dabei bildete sich das Zinksalz, in dem reichlich Gasblasen eingeschlossen waren. Die schon besprochene Salpetersäurepermanganatprobe zeigte mir eine reichliche Menge von Desoxycholsäure an.

Das allereinfachste und daher empfehlenswerteste Verfahren zur Reduction roher Cholalsäure zu Desoxycholsäure ist das von Mylius zuerst geübte Faulenlassen der Galle. Ich

¹ Zeitschrift für physiol. Chemie, 23, 99 bis 108.

habe 50 kg Galle mit Pankreas versetzt und in nicht ganz luftdicht schließenden Gefäßen vom Frühjahr bis zum Herbst an einem warmen Orte faulen lassen. Danach wurde diese Galle wie zum Zwecke der Darstellung von Cholalsäure mit überschüssigem rohen Natron 2 bis 3 Tage lang gekocht und nach dem Erkalten mit Salzsäure ausgefällt. Der erhaltene Rohsäurekuchen, aus welchem man die Fettsäuren gar nicht zu entfernen braucht, eignet sich ohneweiters zu dem unter *b* beschriebenen Verfahren und liefert dabei die größten Mengen von Cholansäure.

Dadurch habe ich mich in den Besitz eines Ausgangsmateriales für das Studium der noch strittigen Körper, die bei der Oxydation von Cholansäure mit concentrirter Salpetersäure entstehen, gesetzt, ohne den mühsamen und kostspieligen Weg über reine Desoxycholsäure gemacht haben zu müssen.

IV. Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Biliansäure.

Schon Lassar-Cohn¹ theilt mit, dass es ihm gelungen ist, dabei einen krystallisierten Körper zu erhalten, bemerkt aber ausdrücklich, dass er ihn nicht näher untersucht hat. Da mir genügend Biliansäure zur Verfügung gestanden ist und seither nichts weiter über diesen Körper verlautet hat, habe ich es unternommen, ihn zu untersuchen.

Schon in einem Vorversuche konnte ich Krystalle erhalten, die einen Gehalt von 12·84% Cl aufwiesen, was auf eine Biliansäure hindeutet, in welcher ein O-Atom gegen zwei Cl-Atome ausgetauscht ist und die 14·03% Cl verlangt.

Weitere Versuche haben ergeben, dass die beste Ausbeute an krystallisiertem Materiale bei einem bestimmten Überschuss über die berechnete Menge von Phosphorpentachlorid zu erhalten ist. 5·4g krystallisierte Biliansäure wurden in eine Eprouvette gefüllt, eine Rinne geklopft und im Vacuum bei 100° getrocknet. Nach $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunden war die Säure trocken und wog rund 5g. Sie wurde in einem Kölbchen mit 20 cm³

¹ Ber., 32, 683 bis 687.

trockenen und reinen Chloroform übergossen und zuerst mit 7 g, nach dem Aufhören der stürmischen Reaction mit 8 g Phosphorpentachlorid versetzt und, mit Steigrohr versehen, auf dem Wasserbade noch $\frac{1}{2}$ Stunde erwärmt. Durch öfteres Waschen mit Wasser in einer sehr flachen Schale und schließliches Abdunsten des Chloroforms wurde ein braunes Harz gewonnen, welches nach dem Trocknen zerrieben und in 12 cm³ Eisessig heiß gelöst wurde. Die Lösung begann sofort zu krystallisieren. Es wurden meist ziemlich genau 2 g dieser Krystalle als erste Krystallisation erhalten. Bei weiterem Umkrystallisieren aus Eisessig änderte sich die Löslichkeit dieses Körpers in Eisessig insoferne auffällig, als er sich immer schwerer löste, und erreichte schließlich den constanten Schmelzpunkt von 249 bis 250°. Während es vorher nicht gelingen wollte, ihn aus Alkohol krystallisiert zu erhalten, war es jetzt ebenso leicht, ihn aus Eisessig, wie aus Alkohol umzukrystallisieren. Feine Prismen.

0·2028 g dieser Krystalle verloren beim Trocknen nichts an Gewicht und lieferten nach dem Glühen mit Kalk 0·1145 g AgCl.

0·1826 g lieferten 0·1144 g H₂O und 0·3815 g CO₂.

0·1909 g verbrauchten beim Titrieren in alkoholischer Lösung unter Anwendung von Phenolphthaleïn als Indicator 11·4 cm³ 0·1normale KOH.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₂₄ H ₃₄ O ₇ Cl ₂
C	56·99	57·00
H	7·01	6·78
Cl	13·96	14·03
COOH	26·87	26·72

Bei der Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Biliansäure entsteht demnach eine ebenfalls dreibasische Säure, die als eine Dichlormonodesoxybiliansäure aufzufassen ist, weil in ihr zwei Cl-Atome an Stelle eines O-Atomes der Biliansäure getreten sind.

Die ebenfalls krystallisierten Mutterlaugen von dem beschriebenen einheitlichen Körper sind ärmer an Chlor, es wurden in einer solchen Fraction nur $10 \cdot 63\%$ Cl bestimmt.

V. Isobiliansäure.

Zu ihrer Darstellung haben sich nur die in der Hitze unlöslichen Barytniederschläge¹ geeignet, die bei der Reinigung des aus reiner Cholalsäure erhaltenen Oxydationsproductes erhalten wurden, hingegen ist es bisher nicht gelungen, aus jenen Barytniederschlägen reine Isobiliansäure darzustellen, die bei der Reinigung von cholansäure- und isocholansäurehaltigem Materiale erhalten wurden. Durch Erwärmen mit überschüssiger Sodalösung auf dem Wasserbade, Abfiltrieren vom ausgeschiedenen Baryumcarbonat und Fällen des verdünnten Filtrates mit Salzsäure wurde die amorphe Säure erhalten. Um sie zu reinigen, wurde sie nochmals mit überschüssigem Barytwasser ausgekocht und aus dem heiß abfiltrierten Niederschlage wieder auf dem Wege über das Natronsalz die freie Säure regeneriert. Sie war aus Alkohol sehr leicht zum Krystallisieren zu bringen, wenn man ihre heiße alkoholische Lösung nach dem Filtrieren mit etwas Wasser versetzte. Schon nach dreimaligem derartigen Umkrystallisieren schmolz sie bei 243 bis 244° , und nach dem fünften Umkrystallisieren blieb der Schmelzpunkt constant 244 bis 245° , ohne dass dabei Bräunung oder Aufschäumen eingetreten wäre. Latschinoff² gibt den Schmelzpunkt der Isobiliansäure zu 234 bis 237° unter Bräunung und Zersetzung an. Im Polarisationsmikroskop untersucht, stellt die Isobiliansäure flache Prismen und Tafeln mit außergewöhnlich starker Doppelbrechung dar, so dass an jedem einzelnen Krystall die prächtige Erscheinung der Farben dünner Plättchen sehr deutlich zu sehen ist. Zum Zwecke der besseren Unterscheidung dieser beiden Isomeren, der Biliansäure und der Isobiliansäure, wurde von beiden das spezifische Drehungsvermögen in alkoholischer Lösung bei Na-Licht bestimmt.

¹ Mylius, Ber., 19, 2000 bis 2009.

² Ber., 19, 1529 bis 1532.

Als Drehungswinkel α ist das Mittel aus etwa zehn Ablesungen angegeben.

Biliansäure, lufttrocken	Isobiliansäure, bei 100° im Vacuum getrocknet	
	Präparat I	Präparat II
$c = 3 \cdot 1966$	$c = 2 \cdot 5020$	$c = 1 \cdot 73266$
$\alpha = +3 \cdot 069$	$\alpha = +3 \cdot 3887$	$\alpha = +2 \cdot 3333$
$l = 200 \text{ mm}$	$l = 200 \text{ mm}$	$l = 200 \text{ mm}$
$[\alpha_D] = +48 \cdot 003$	$[\alpha_D] = +67 \cdot 72$	$[\alpha_D] = +67 \cdot 33$

Während bisher über das spezifische Drehungsvermögen der Isobiliansäure keine Bestimmungen vorgelegen sind, wurde für dasselbe von Cleves Mitarbeiter, Angström, für die Biliansäure mit $+47 \cdot 4$, und von Bullenheim, der allerdings eine außerordentlich verdünnte Lösung untersuchte, $+45 \cdot 93^\circ$ angegeben.

Präparat I: $0 \cdot 2207 \text{ g}$ verloren $0 \cdot 0088 \text{ g}$ und lieferten $0 \cdot 1427 \text{ g}$ H_2O und $0 \cdot 4961 \text{ g}$ CO_2 .

Sodann wurden noch die beiden Präparate gleichzeitig in meinem automatischen Verbrennungsofen analysiert.

Präparat I: $0 \cdot 1928 \text{ g}$ verloren beim Trocknen im Vacuum bei 100° $0 \cdot 0074 \text{ g}$ und lieferten $0 \cdot 1298 \text{ g}$ H_2O und $0 \cdot 4341 \text{ g}$ CO_2 .

Präparat II: $0 \cdot 2458 \text{ g}$ verloren beim Trocknen im Vacuum bei 100° $0 \cdot 0098 \text{ g}$ und lieferten $0 \cdot 1654 \text{ g}$ H_2O und $0 \cdot 5531 \text{ g}$ CO_2 .

In 100 Theilen:

	Gefunden			Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_8 + \text{H}_2\text{O}$
	I	I	II	
H_2O	3·98	3·84	3·99	3·85
C.....	63·85	63·86	63·92	63·96
H	7·53	7·83	7·84	7·61

Wie man aus den Analysenzahlen sieht, stimmen sie auf die Formel mit 24 Kohlenstoffatomen sehr gut, und die von Latschinoff vertretene Anschauung, dass auch der Isobiliansäure 25 Kohlenstoffatome zugrunde liegen sollen, ist schon aus dem Grunde unannehmbar, weil wir heute seit Mylius und Lassar-Cohn sicher wissen, dass die Cholalsäure, aus

welcher bei der Oxydation auch Isobiliansäure entsteht, nur 24 und nicht 25 Kohlenstoffatome im Molecül enthält.

Seit Latschinoff, der eine Reihe von Salzen der Isobiliansäure untersucht hat, wissen wir, dass sie ebenso wie die Biliansäure dreibasisch ist.

Um etwas über die außerhalb der COOH-Gruppen stehenden O-Atome zu erfahren, habe ich auf Isobiliansäure Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung und Hydroxylamin in alkalischer Lösung einwirken lassen und gleichzeitig auch und in genau denselben Mengenverhältnissen und unter denselben Bedingungen diese Reactionen mit Biliansäure ausgeführt.

2 g Isobiliansäure, gelöst in 6 cm^3 , Eisessig wurden mit einer Lösung von 1.5 g Phenylhydrazin in 4 cm^3 Eisessig versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt. Genau so wurde mit reiner Biliansäure verfahren. In beiden Fällen erfolgte ganz gleichartig die Ausscheidung von langen, seidenglänzenden, dünnen Prismen, die abgesaugt, mit Eisessig gewaschen und im Vacuum über Kalk getrocknet, in beiden Fällen 2.6 g, wogen. Sie wurden noch einmal aus Eisessig heiß umkristallisiert und schmolzen, gleichzeitig im Capillarröhrchen erhitzt, gleichzeitig bei 262° unter Aufschäumen und Bildung einer rothbraunen Flüssigkeit.

0.1572 g Isobiliansäurediphenylhydrazon lieferten beim Verbrennen 0.1037 g H_2O und 0.3935 g CO_2 .

0.1785 g desselben Präparates lieferten bei $b = 736.5$ mm und $t = 15^\circ$ 14.1 cm^3 N, abgesperrt über 33procentiger Kalilauge.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{24}H_{34}O_6(N_2H.C_6H_5)_2$
C	68.27	68.51
H	7.38	7.35
N	8.98	8.91

Die Übereinstimmung der gefundenen mit den berechneten Werten ergibt, dass an Stelle der beiden außerhalb der COOH-

Gruppen stehenden O-Atome der Isobiliansäure zwei Phenylhydrazinreste eingetreten sind, genau so also, wie es Mylius¹ schon für die Biliansäure nachgewiesen hat.

2g Isobiliansäure, gelöst in einem Gemenge von 5cm³ Wasser und 5cm³ 15procentiger Natronlauge, wurden mit einer Lösung von 1g Hydroxylaminchlorhydrat in wenig Wasser versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt. Genau so verfuhr ich mit reiner Biliansäure. In beiden Fällen kommt es, wie es Mylius bei der Biliansäure beschrieben hat, bald zur Ausscheidung von glänzenden Krystallfitterchen, und nach dem Erkalten und Verdünnen wurden beide Reaktionsgemische mit verdünnter Salzsäure gefällt. Diese beiden Fällungen bestanden aus außerordentlich kleinen Prismen, für die der sichere Nachweis von Doppelbrechung erst bei der Untersuchung im Polarisationsmikroskop über einem Gipsplättchen, das Roth erster Ordnung zeigte, erbracht werden konnte. Beide Präparate erwiesen sich als sehr schwer löslich. Sie wurden aus etwa 60procentigem Alkohol heiß umkrystallisiert. Beide begannen sich bei gleichzeitigem Erhitzen bei 270° unter Bräunung zu zersetzen und waren gegen 300° vollkommen verkohlt, ohne zu schmelzen.

Beide Präparate wurden in meinem automatischen Verbrennungsofen gleichzeitig verbrannt.

0·1530 g Isonitrosobiliansäure lieferten dabei 0·1012 g H₂O und 0·3363 g CO₂.

0·1714 g Isonitrosoisobiliansäure lieferten 0·1154 g H₂O und 0·3771 g CO₂.

0·2071 g Isonitrosoisobiliansäure lieferten bei $b = 727 \text{ mm}$ und $t = 20^\circ$ 11·4 cm³ N.

In 100 Theilen:

	Gefunden für		Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_6(\text{NOH})_2$
	Isonitroso- biliansäure	Isonitroso- isobiliansäure	
C	59·95	60·00	59·96
H	7·40	7·53	7·55
N	—	5·98	5·85

¹ Ber. 20, 1984, 1985.

Es sind also an Stelle zweier O-Atome zwei Isonitrosogruppen in die Isobiliansäure eingetreten, ebenso wie dies auch bei der Biliansäure geschieht.

Aus allen diesen Ergebnissen ist nicht nur zu schließen, dass ebenso, wie es Mylius schon für die Biliansäure dargethan hat, auch die außerhalb der COOH-Gruppen der Isobiliansäure stehenden zwei O-Atome mit Phenylhydrazin und Hydroxylamin reagieren, also wahrscheinlich Ketongruppen angehören, sondern es ist mit Rücksicht auf das übereinstimmende Verhalten bei ihrer Bildung und die physikalischen Eigenschaften, wie Krystallform und Schmelzpunkt, die Vermuthung auszusprechen, dass die erhaltenen Hydrazone und Isonitrosoverbindungen der beiden untersuchten isomeren Säuren identisch sein könnten, was erst durch weitergehende Versuche entschieden werden soll.

VI. Ciliansäure.

Lassar-Cohn¹ gebürt das große Verdienst, im Jahre 1899 zum erstenmale den Weg gewiesen zu haben, wie man aus Biliansäure ein krystallisiertes Oxydationsproduct, das er Ciliansäure nennt, erhält, da es bis dahin außer Oxalsäure und niederen Fettsäuren nur möglich war, amorphe Producte zu gewinnen. Er gibt dafür folgende Vorschrift: »Man löst 5g Biliansäure in 40cm³ Natronlauge von 12% Gehalt, gibt 10g Permanganat in 250cm³ Wasser gelöst hinzu und kocht im Rundkolben so stark als möglich. In längstens 20 Minuten ist völlige Entfärbung eingetreten«. Nach dem Erkalten versetzt man mit Natriumbisulfit und überschüssiger Schwefelsäure. Aus der an Natriumsulfat sehr reichen Lösung setzt sich im Laufe von 24 Stunden die Ciliansäure in spitzen Platten, wie sich Lassar-Cohn ausdrückt, ab, während ich sie als haarfeine, biegsame Nadeln bezeichnen möchte. Sie ist sehr leicht löslich in Alkohol und kann aus der heißen Lösung durch Wasserzusatz umkrystallisiert werden. Der Schmelzpunkt der oftmals umkrystallisierten Säure liegt nach Lassar-Cohn bei

¹ Ber., 32, 683 bis 687.

242°. Dazu habe ich zu bemerken, dass sich die nicht umkrystallisierten, bloß lufttrockenen, also noch wasserhaltigen Krystalle zwischen 130 und 150° aufblähen und theilweise schäumen und in vollkommen getrocknetem Zustande geradezu typisch bei 224 bis 226° unter Aufschäumen schmelzen. Nach weiterem Umkrystallisieren erhebt sich allmählich der Schmelzpunkt und nach dem sechsten bis achten Umkrystallisieren ist das Verhalten erreicht, welches sich auch bei weiterem Umkrystallisieren nicht mehr änderte, nämlich: die vollständig getrockneten Krystalle beginnen bei 240° zu sintern und schmelzen unter stürmischem Aufschäumen bei 242° zu einer hellen Flüssigkeit. Ich habe dieses Verhalten auch mit größeren Mengen 0·5g geprüft und dabei beobachten können, dass das Schäumen infolge von Gasentwicklung beim Erhitzen auf 245 bis 250° in zehn Minuten kaum beendet war. Bisher ist es mir aber auf diesem Wege nicht gelungen, zu einem krystallisierten, im Molecül kohlenstoffärmeren Producte zu kommen.

Die vollkommen von der Mutterlauge getrennten, lufttrockenen Krystalle erleiden, bis sie Gewichtsconstanz erreicht haben, beim Trocknen sowohl im kalten, als auch im Vacuum bei erhöhter Temperatur stets einen oft sehr beträchtlichen Gewichtsverlust, und durch Stehenlassen derselben in einem mit Feuchtigkeit gesättigten Raume nehmen sie wieder an Gewicht zu, ohne deshalb feucht zu erscheinen. Ich halte es deshalb im Gegensatze zu Lassar-Cohn wohl für möglich, dass sie Krystallwasser enthalten, doch lassen die beobachteten Gewichtsverluste keinen eindeutigen Schluss über die Anzahl der darin enthaltenen Krystallwassermolecüle zu, weil die Abgabe (Verwitterung) desselben ebenso leicht als seine Wiederaufnahme erfolgt.

Untersucht wurden drei Präparate, und für die Analyse theils im kalten Vacuum über Schwefelsäure, theils im Vacuum bei 100° neben Schwefelsäure getrocknet, wozu im ersten Falle ungefähr zwei Tage, im zweiten etwa eine Stunde erforderlich ist. Danach war weder ein Unterschied im Schmelzpunkt, noch in den Resultaten zu bemerken.

Ich will schon hier hervorheben, dass alle weiteren Untersuchungen im Gegensatze zu Lassar-Cohn für die

Ciliansäure die Formel $C_{20}H_{28}O_8$ ergeben haben, also um ein O-Atom weniger, als Lassar-Cohn ihr in einer seiner beiden Formeln $C_{20}H_{30}O_{10}$ und $C_{20}H_{28}O_9$ zuschreibt. Da sich nun die Desoxycholsäure und ihre Oxydationsproducte von der Cholsäure und deren Oxydationsproducten ebenfalls durch einen Mindergehalt eines O-Atomes unterscheiden, habe ich zur Darstellung von Präparat 3 jene reinste Biliansäure, die ich aus meiner reinsten Cholsäure erhalten habe und deren Gewinnung und zugehörige Analysen schon früher (S. 28 u. 29) ausführlich angegeben wurden, verwendet. Das Verhalten von Präparat 3 war kein anderes als das der übrigen Ciliansäurepräparate.

Eine Bestimmung des spezifischen Drehungsvermögens von Präparat 3 ergab in alkoholischer Lösung nachfolgende Werte:

$$c = 1.7953$$

$$l = 200 \text{ mm}$$

$$\alpha = +3.2917^\circ$$

$$[\alpha_D] = +91.67^\circ$$

Es lieferten:

Präparat I: 0.2574 g 0.1695 g H_2O und 0.5670 g CO_2 .

0.1928 g 0.1236 g H_2O und 0.4274 g CO_2 .

Präparat II: 0.1750 g 0.1125 g H_2O und 0.3852 g CO_2 .

0.2049 g 0.1334 g H_2O und 0.4517 g CO_2 .

Präparat III: 0.2015 g 0.1308 g H_2O und 0.4441 g CO_2 .

0.1915 g 0.1257 g H_2O und 0.4232 g CO_2 .

In 100 Theilen:

Gefunden						Berechnet für	
I		II		III		$C_{20}H_{28}O_8$	$C_{17}H_{24}O_7$
60.08	60.46	60.03	60.12	60.11	60.27	60.57	59.97
7.36	7.17	7.19	7.28	7.21	7.34	7.12	7.12

Die gefundenen Werte stehen, wie man sieht, mitten zwischen den Zahlen, welche einerseits die Formel $C_{20}H_{28}O_8$ und andererseits die Formel $C_{17}H_{24}O_7$ verlangt. Da bei den geringen Unterschieden eine sichere Entscheidung durch die Elementaranalyse allein nicht zu erwarten ist, wurde sie

durch die Untersuchung des Barytsalzes und durch COOH-Bestimmungen eindeutig herbeigeführt.

Die Darstellung des Barytsalzes erfolgte durch Lösen der freien Säure in überschüssigem Barytwasser, Einleiten von Kohlensäure, Aufkochen, heißes Filtrieren, Einengen und Hineinfiltrieren der eingengten Lösung in Alkohol, worin das Barytsalz der Ciliansäure unlöslich ist. Nach dem Absaugen wurde es mit Alkohol und Äther gewaschen und im Vacuum getrocknet. Es blieb unter allen Umständen amorph.

Präparat I: 0·2147 g lieferten nach dem Abrauchen mit Schwefelsäure 0·1250 g BaSO₄.

Präparat II: 0·3636 g lieferten beim Veraschen 0·1793 g BaCO₃.

In 100 Theilen:

Gefunden		Berechnet für		
I	II	(C ₂₀ H ₂₅ O ₃) ₂ Ba ₃	(C ₁₇ H ₂₁ O ₇) ₂ Ba ₃	C ₁₇ H ₂₂ O ₇ Ba
Ba	34·27 34·33	34·40	37·94	28·90

Für die COOH-Bestimmungen wurden die bis zur Gewichtsconstanz getrockneten Präparate unter Anwendung von Phenolphthaleïn als Indicator mit 0·1 normaler Kalilauge titriert.

Es verbrauchten:

Präparat I: 0·1456 g 10·9 cm³ 0·1 normale KOH.

Präparat II. 0·2077 g 15·8 cm³ 0·1 normale KOH.

0·2333 g 17·8 cm³ 0·1 normale KOH.

Präparat III: 0·2149 g 17·2 cm³ 0·1 normale KOH.

In 100 Theilen:

Gefunden			
	I	II	III
COOH	33·70	34·24 34·34	34·41
Berechnet für			
	C ₂₀ H ₂₈ O ₃ 3-bas.	C ₁₇ H ₂₁ O ₇ 3-bas.	C ₁₇ H ₂₁ O ₇ 2-bas.
COOH	34·08	39·69	26·46

Die Baryumbestimmungen im Barytsalze der Ciliansäure, sowie die Carboxylbestimmungen entscheiden demnach eindeutig zu Gunsten der Formel $C_{20}H_{28}O_8$ für die freie Ciliansäure.

Auch auf die Frage nach den Ursachen, welche es veranlasst haben mochten, dass Lassar-Cohn von diesem Körper, der sich unter allen Cholalsäurederivaten vielleicht durch die größte Krystallisationsfähigkeit und leichte Gewinnbarkeit auszeichnet, einen um etwa fünf Procent zu niedrigen Kohlenstoffgehalt gefunden und daher eine unrichtige Formel angenommen hat, kann ich auf Grund von Zahlen, die ich beim Verbrennen von Ciliansäure mit grobem Kupferoxyd in verhältnismäßig kurzer Zeit erhalten habe, Aufschluss geben.

In 100 Theilen:

C	54·31	59·38	59·77	59·30	59·74
H	6·99	7·22	7·12	6·95	7·10
Dauer in Stunden.....	1	2	2	2	2

Diese Zahlen stammen von den Präparaten 1 und 2 her und nähern sich, insbesondere das erste Paar, den von Lassar-Cohn mitgetheilten auffallend. Hingegen sind meine vorher angeführten Zahlen, die erst zur Ableitung der richtigen Formel geführt haben, durchwegs nach der Methode von Lippmann und Fleissner¹ und einer Verbrennungsdauer von mindestens $2\frac{1}{2}$ Stunden ermittelt worden. Diese Thatsachen zeigen, dass die zu niedrigen Kohlenstoffzahlen von Lassar-Cohn auf eine unvollständige Verbrennung zurückzuführen sind, weil dabei wahrscheinlich Producte entstehen, die der vollständigen Oxydation besonders leicht entgehen,² was ich hier auch als Grund dafür in Anspruch nehmen möchte, dass auch meine besten Zahlen nicht jene Übereinstimmung mit den berechneten Werten zeigen, wie man sie sonst so leicht erhält. Weiters zeigen diese Thatsachen auch, dass für die quantitative Überführung von Kohlenstoff und

¹ Monatshefte für Chemie, 7, 9 bis 19.

² Vergl. S. Guareschi und E. Grandi: Atti R. Accad. Torino, 33; Chem. Centralblatt, 69, II, 61.

Wasserstoff in die höchsten Oxydationsstufen wohl die große Oberfläche und feine Vertheilung und nicht so sehr das Gewicht des verwendeten Kupferoxydes von maßgebendem Einflusse sind, worauf ich anderenorts zurückkommen werde.

Ciliansäuretrimethylester.

Schon Lassar-Cohn hat ihn dargestellt, doch war sein Präparat, wie aus dem Schmelzpunkt von 119° und den Analysenzahlen deutlich hervorgeht, bestimmt verunreinigt. Zu seiner Darstellung verfuhr ich ähnlich wie Lassar-Cohn, indem ich durch Fällung der Barytsalzlösung von Ciliansäure mit überschüssigem Silbernitrat das Silbersalz darstellte und dieses nach dem Trocknen in feinstgepulvertem Zustande mit überschüssigem Jodmethyl und Äther im zugeschmolzenen Rohre im Wasserbade durch zwei Stunden auf etwa 70° erhitze. Nach dem Erkalten wurde der Inhalt mit Äther extrahiert und vom Jodsilber abfiltriert. Der Abdampfungsrückstand der ätherischen Lösung krystallisierte aus verdünntem Alkohol und schmolz sehr unscharf bei 119° . Nach zwei weiteren Krystallisationen war der Schmelzpunkt auf 123 bis 124° gestiegen. Leider habe ich den Körper jetzt schon für genügend rein gehalten, um ihn zu verbrennen.

In 100 Theilen:

C	61 74	61·79
H	7·81	7·80

Schon diese Zahlen übertrafen die von Lassar-Cohn für seine Formel berechneten um 1% C, weshalb ich es nicht für überflüssig halte, sie auch anzuführen.

Bei weiterem Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol wurde dieses Präparat darin immer schwerer löslich und erreichte nach dem siebenten Umkrystallisieren den constanten Schmelzpunkt von 127 bis $127\cdot5^{\circ}$. Es krystallisiert in prächtig ausgebildeten, strahlig angeordneten, seidenglänzenden Nadeln.

- I. $0\cdot1724\text{ g}$ verloren beim Trocknen nichts an Gewicht und lieferten beim Verbrennen $0\cdot1228\text{ g H}_2\text{O}$ und $0\cdot3961\text{ g CO}_2$.
- II. $0\cdot2089\text{ g}$ lieferten $0\cdot1482\text{ g H}_2\text{O}$ und $0\cdot4792\text{ g CO}_2$.
- III. $0\cdot1342\text{ g}$ lieferten $0\cdot0949\text{ g H}_2\text{O}$ und $0\cdot03081\text{ g CO}_2$.

In 100 Theilen:

	Gefunden		
	I	II	III
C	62·66	62·56	62·61
H	7·97	7·93	7·91
	Berechnet für		
	$C_{20}H_{25}O_8 \cdot (CH_3)_3$	$C_{17}H_{21}O_7 \cdot (CH_3)_3$	$C_{17}H_{29}O_7 \cdot (CH_3)_2$
C	62·98	62·79	61·92
H	7·82	7·91	7·66

Dieses Präparat wurde mit überschüssiger Natronlauge auf dem Wasserbade verseift und das mit Schwefelsäure ausgefällte Verseifungsproduct aus Alkohol durch Wasserzusatz umkrystallisiert. Es schmolz, wie schon für die freie Säure angegeben, bei 240 bis 242° unter Aufschäumen.

0·2445 g dieses Verseifungsproductes lieferten 0·1590 g H₂O und 0·5399 g CO₂.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für $C_{20}H_{28}O_8$
C	60·22	60·57
H	7·27	7·12

Der Versuch, die Methylierung der Ciliansäure durch Einwirkung von Jodmethyl auf das Silbersalz, das man an der Pumpe mit Methylalkohol gewaschen und durch sofortiges Schütteln mit Methylalkohol in feinste Aufschwemmung gebracht hat, zu erzielen, ein Verfahren, das sonst sehr gute Resultate liefert und sehr bequem ist, hat bei der Ciliansäure nur zu sehr schlecht krystallisierenden Producten geführt, dafür aber bei den Bemühungen, sie zu reinigen, die Thatsache ergeben, dass regelmäßig neben dem Trimethylester noch andere Reactionsproducte, wahrscheinlich der Mono- und Dimethylester entstehen, die sich in Äther wesentlich schwerer lösen als der Trimethylester und der ätherischen Lösung durch Schütteln mit Sodalösung leicht entzogen werden können.

Darin liegt auch eine Erklärung für die von Lassar-Cohn beobachtete schlechte Ausbeute an Ester, denn die Hauptmenge der in Äther schwer löslichen Nebenproducte bleibt bei der Extraction ungelöst.

Demgemäß wurde aus Präparat 3, das aus dem sorgfältigst gereinigten Ausgangsmaterial hergestellt worden war, der Trimethylester nach dem schon geschilderten Verfahren durch Erhitzen des Silbersalzes mit Jodmethyl bei Gegenwart von Äther dargestellt, die ätherische Lösung mit Soda ausgeschüttelt und mit Wasser gewaschen. Der Rückstand dieser Lösung schmolz ohneweiters schon bei 124° und erreichte nach dreimaligem Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol den constanten Schmelzpunkt von 127 bis $127\cdot5^\circ$.

Davon wurden gleichzeitig zwei Verbrennungen in meinem automatischen Verbrennungssofen ausgeführt. Es lieferten hiebei:

- I. $0\cdot1884\text{ g } 0\cdot1362\text{ g H}_2\text{O}$ und $0\cdot4342\text{ g CO}_2$.
 II. $0\cdot1785\text{ g } 0\cdot1287\text{ g H}_2\text{O}$ und $0\cdot4108\text{ g CO}_2$.

In 100 Theilen:

	Gefunden		Berechnet für
	I	II	$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_8\cdot(\text{CH}_3)_3$
C	62·85	62·77	62·98
H	8·09	8·07	7·82

Auch beim Ester konnte eine sichere Entscheidung zu Gunsten der Formel $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_8$ für die Ciliansäure durch die Bestimmung der Methylgruppen nach Zeisel herbeigeführt werden. Dabei lieferten:

- I. $0\cdot1214\text{ g Ester } 0\cdot2017\text{ g AgJ}$.
 II. $0\cdot3050\text{ g Ester } 0\cdot5170\text{ g AgJ}$.

In 100 Theilen:

	Gefunden		Berechnet für	
	I	II	$\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_8\cdot(\text{CH}_3)_3$	$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_7\cdot(\text{CH}_3)_3$
CH_3	10·63	10·84	10·26	11·79

VII. Phtalsäure oder Oxalsäure?

Berechtigtes Aufsehen erregte es, als Senkowski¹ im Jahre 1895 die Mittheilung veröffentlichte, dass es ihm gelungen sei, durch Oxydation von Cholalsäure in alkalischer Lösung mit Permanganat Phtalsäureanhydrid zu erhalten. Zwei Jahre darauf berichtet Bullenheim² in seiner Inauguraldissertation aus dem Hufner'schen Laboratorium in Tübingen, dass er zwar keine Phtalsäure zu isolieren vermochte, wohl aber Oxalsäure, die nach dem Schmelzen mit Resorcin in alkalischer Lösung auch Fluorescenz zeigte.

Da sich hier zwei Behauptungen gegenüberstehen, erscheint es mir nicht überflüssig, mitzutheilen, dass ich genau nach den Angaben Senkowski's 25 g Cholalsäure mit Permanganat oxydierte und daraus Krystalle isoliert habe, welche trocken bei 182° schmolzen. Sie wurden unter Verlust durch Sublimation gereinigt und analysiert.

0·1627 g lieferten nach dem Trocknen bei 100° 0·0349 g H₂O und 0·1581 g CO₂.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₂ H ₂ O ₄	Senkowski »bestimmt«	Berechnet für C ₈ H ₄ O ₃
C	26·50	26·66	64·42	64·86
H	2·40	2·24	3·05	2·74

Nun wurden diese Krystalle sowohl, als reine Oxalsäure, als auch reines Phtalsäureanhydrid mit Resorcin unter ganz gleichen Bedingungen und in genau gleichen Mengen zusammengeschmolzen. Nur die dritte Schmelze zeigte in alkalischer Lösung auffallende, prachtvolle Fluorescenz, während die beiden ersten nur ganz geringe Fluorescenz und in genau gleicher Art zeigten.

¹ Monatshefte für Chemie, Wien 1896, Bd. 17, S. 1 und Wiener Akad., mathem.-naturw. Cl., 104. Bd., Abth. II b, 9. und 10. Heft, S. 803 bis 805.

² Beiträge zur Kenntnis der Gallensäuren. Inaugural-Dissertation, S. 20 bis 23.

Die wässrige Lösung der analysierten Krystalle ließ auf Zusatz von Chlorcalcium einen in Essigsäure unlöslichen, in Salzsäure leicht löslichen krystallinischen Niederschlag fallen. In der concentrirten alkoholischen Lösung unserer Krystalle veranlasst eine concentrirte alkoholische Lösung von Harnstoff Ausscheidung von krystallisiertem Harnstoffoxalat.

Die sirupöse Mutterlauge von den gewonnenen Krystallen erstarrte nach Zusatz von Ammoniak zu einem dicken Krystallbrei. Nach dem Absaugen waren sie noch etwas gefärbt und wurden ohne Rücksicht darauf verbrannt.

0·0958 g lieferten nach dem Trocknen bei 100° 0·0638 g H₂O und 0·0703 g C₂O.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₂ O ₄ (NH ₄) ₂
C	20·02	19·35
H	7·45	6·49

Es folgt daraus, dass Bullenheim Recht hat und dass der Versuch Senkowski's, auf seinem Wege das Vorhandensein eines cyclischen Kernes in der Cholalsäure glaubhaft machen zu wollen, vollkommen misslungen ist.

Endlich sei noch bemerkt, dass über das Vorkommen von Oxalsäure unter den Oxydationsproducten der Cholalsäure schon in der ältesten Literatur¹ berichtet wird.

¹ Destrem, Compt. rend., 87, 880; Clève, Compt. rend., 91, 1073.