

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Greifswald.)

Vorläufige Mittheilung über eine neue Methode zur Darstellung der Glykocholsäure aus Rindergalle.

Von

Max Bleibtren.

Die bahnbrechenden Arbeiten Pflüger's über die Bedeutung der Galle für die Resorption der Fette, durch welche die Aufmerksamkeit der Forscher auf eine neue Eigenschaft der Gallenbestandtheile hingelenkt worden ist, liessen es mir als erwünscht erscheinen, über sicherere und bequemere Methoden zur Isolirung der einzelnen Gallensubstanzen zu verfügen, als wir sie bislang besitzen. Von diesem Wunsche ausgehend, habe ich mich bemüht, zunächst zur Darstellung der Glykocholsäure aus Rindergalle einen bequemeren Weg als den bisher üblichen ausfindig zu machen, was mir, wie ich glaube, auch gelungen ist. Das Verfahren, welches vielleicht auch zur Darstellung der Gallenfarbstoffe und der Taurocholsäure neue Mittel an die Hand geben dürfte, soll im Folgenden kurz beschrieben werden:

Frische Rindergalle wird mit einer hinreichenden Menge Uranacetatlösung versetzt. Man erhält dabei eine sehr starke Ausfällung, hauptsächlich aus Gallenfarbstoffen bestehend, die durch dieses Mittel fast ganz aus der Galle entfernt werden, während die gallensauren Salze in Lösung bleiben. Man erhält bald ein klares, vom überschüssigen Uransalz gelb gefärbtes Filtrat. Legt man Werth darauf, die Gallensäuren möglichst vollständig zu erhalten, so kann man den auf dem Filter befindlichen Uranniederschlag noch mit heissem Wasser auswaschen; dabei schrumpft die Fällung auf dem Filter zu einem harten dunkelbraunrothen Kuchen zusammen. Der Zuwachs an Ausbeute, den man dadurch erhält, ist aber nicht sehr beträchtlich.

Ich habe zuerst im erhaltenen Filtrat das überschüssige Uranacetat durch Ausfällen mit Natriumphosphat unter Zusatz von etwas Essigsäure beseitigt: das erhaltene Filtrat ist dann nur noch schwach grünlich gefärbt. Doch habe ich mich nachher davon überzeugt, dass dieser Schritt nicht nöthig ist. Das klare Filtrat vom Uranniederschlag wird vielmehr, so wie es ist, weiter behandelt, indem man es mit Eisenchloridlösung ausfällt¹⁾. Dadurch fällt die Glykocholsäure, während die Taurocholsäure in Lösung bleibt. Der starke Niederschlag des Eisenglykocholats wird auf dem Filter gesammelt und mit destillirtem Wasser gewaschen. (Da der Niederschlag sich sehr schnell absetzt, kann die Waschung mit destillirtem Wasser auch sehr gut durch Decantiren bewerkstelligt werden.)

Das Filtrat, welches die Taurocholsäure enthält, habe ich vorläufig unbeachtet gelassen. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wird in destillirtem Wasser zertheilt, zur Zersetzung des Eisensalzes Ammoniak zugesetzt und auf dem Wasserbad oder auch unter Umrühren auf freier Flamme einige Zeit erhitzt, wobei man zweckmässiger Weise für mechanische Zerkleinerung dickerer und härterer Brocken des Eisensalzes mittelst Glasstabes Sorge trägt. Alsdann wird vom entstehenden Eisenoxydhydrat abfiltrirt, wobei man die Glykocholsäure als Ammoniumsalz im Filtrat erhält. Die Lösung ist immer noch schwach grünlich gefärbt.

Schon in diesem Zustande geht die Lösung, wenn sie mit Salzsäure versetzt und (nach dem bekannten Hüfner'schen Kunstgriff) mit etwas Aether geschüttelt wird, meist nach kurzer Zeit in einen Brei von Glykocholsäurekrystallen über. Doch habe ich zum Zweck weiterer Reinigung noch folgendes Verfahren eingeschlagen: Es wird die ammoniakalisch reagirende Lösung in eine Porzellanschale gebracht, durch Essigsäure neutral bis schwach sauer gemacht und dann mit Urannitratlösung gefällt. Man erhält eine sehr starke Fällung einer Uranverbindung der Glykocholsäure. Diese Erscheinung ist sehr überraschend. Nachdem man vorher das Uran zur Ausfällung der Gallenfarbstoffe benutzt hat, während die gallensauren Salze in Lösung blieben, kann man das Uran nunmehr zur Ausfällung der Gallensäure benutzen.

1) Nachdem ich die Methode bereits mehrfach angewandt, habe ich nachträglich gesehen, dass die Fällung mit Eisenchlorid — aber ohne vorherige Beseitigung der Farbstoffe — schon von Richter zur Trennung von Glykocholsäure und Taurocholsäure angewandt worden ist. (D. med. Wochenschr. 1895 Nr. 1.)

Die Erscheinung hat höchst wahrscheinlich ihren Grund darin, dass bei der ersten Ausfällung mit Uran ausser Glykocholat auch noch Taurocholat vorhanden war; die viel löslichere Taurocholsäure hält ja oft die Glykocholsäure mit in Lösung unter Bedingungen, unter denen man eigentlich ein Ausfallen derselben erwarten sollte. Allerdings verwende ich zum Ausfällen der Farbstoffe das Uranacetat, bei der zweiten Uranfällung das Urannitrat. Indessen gibt auch das Uranacetat, in diesem Stadium des Verfahrens angewandt, zwar keine eigentliche Fällung, aber doch eine sehr starke milchige Trübung. (Auf Lösung von reinem Natriumglykocholat angewandt, wirkt sowohl Urannitrat als auch Uranacetat fällend.)

Der Niederschlag von Uranglykocholat setzt sich, sobald die Ausfällung vollständig geworden ist, sehr schnell ab und bildet dann am Boden der Schale eine grün gefärbte, zähe, dem Boden bald sehr fest anhaftende harzartige Masse (dieses ist der Grund, wesshalb ich diese Fällung in einer Porzellanschale vornehme). Die überstehende Flüssigkeit lässt sich bald rein abgiessen, während der Niederschlag am Boden der Schale verbleibt und in derselben gleich weiter verarbeitet wird. Nach Zusatz von destillirtem Wasser bringe ich die Schale auf das Wasserbad (oder auch auf freie Flamme), versetze mit Natriumphosphatlösung unter Zusatz weniger Tropfen Essigsäure, worauf der Niederschlag sich bald mit dem Glasstab vom Boden der Schale ablösen lässt, seine zähe Beschaffenheit verliert und zu einem schlammigen Pulver zerfällt, indem die Uranverbindung der Glykocholsäure sich mit dem Natriumphosphat in der Art umsetzt, dass das Uran als Phosphorsäureverbindung ausfällt und die Glykocholsäure als Natriumsalz in Lösung geht.

Der abfiltrirten Lösung haftet nun immer noch als hartnäckiger Begleiter der Glykocholsäure ein Theil des grünen Farbstoffs an; doch gelingt es leicht, diesen durch die nun noch folgenden Operationen zu beseitigen. Es wird nämlich jetzt das letzt erhaltene Filtrat mit Salzsäure versetzt, etwas Aether hinzugefügt und mit demselben durchgeschüttelt: entweder schon sehr bald oder doch nach einigen Stunden verwandelt sich der ganze Inhalt des Gefässes in einen Krystallbrei, so dass man meistens das Glas umkehren kann, ohne dass (ausser dem Aether) der Inhalt ausläuft. Der Aether färbt sich dabei, indem er einen Theil des Farbstoffes aufnimmt, röthlich. Ich habe es zweckmässig gefunden, den Krystallbrei alsdann noch mehrmals mit neuen nicht zu geringen Aetherportionen

gehörig auszuschütteln, wobei der meiste Farbstoff an den Aether abgegeben wird.

Oft erhält man schon so, sicher aber beim Umkrystallisiren aus heissem Wasser, eine schneeweisse, aus kleinen, seidenglänzenden Nadelchen bestehende Krystallmasse.

Das Verfahren geht sehr schnell. Bei grösseren Gallenmengen erfordert nur das Filtriren von der ersten Uranfällung etwas längere Zeit, da die Flüssigkeit zuerst zwar schnell, aber trübe, dann ganz klar, aber langsam filtrirt. Ein Quantum von nur einigen Hundert ccm Galle kann man aber leicht innerhalb weniger Stunden bis zum Erscheinen des Krystallbreies von Glykocholsäure verarbeiten.

Vielleicht kann man auch in den meisten Fällen der zweiten Uranfällung entrathen und würde dann das Verfahren noch bedeutend abgekürzt werden.

Ich habe Herrn cand. med. Bontemps ersucht, die Methode im hiesigen Institut weiter auszuarbeiten; derselbe wird hoffentlich binnen Kurzem in der Lage sein, Näheres darüber zu berichten.
