

## Ueber die Säuren der Schweinegalle.

Von

**Prof. Dr. Severin Jolin.**

(Der Redaction zugegangen am 24. April 1888.)

Während die physiologisch-chemische Litteratur der letzten Jahre an Arbeiten sowohl über die Säuren in der Galle des Menschen, welche von Hammarsten, Bayer, Schotten u. a. untersucht worden sind, sowie auch, und dies in einem noch höhern Grade, über die in der Ochsen-galle auftretende Cholalsäure und deren Oxydationsproducte, wovon unsere Kenntniss durch Tappeiner, Cleve, Hammarsten, Latschinow, vor Allen aber durch Mylius in wesentlichem Grade erweitert worden ist, einen grossen Reichthum zeigt, findet man die Schweinegalle mit ihren Säuren nur wenig beachtet, was um so mehr Wunder nehmen muss, wenn man einerseits das eigenthümliche und interessante Verhältniss in Betracht zieht, dass diese Galle, wie man längst weiss, in ihren Eigenschaften sich deutlich von allen andern der bisher studirten Gallen unterscheidet, sowie andererseits, dass das Material sich ohne besondere Schwierigkeit in beliebiger Menge beschaffen lässt. Ohne Zweifel ist die Ursache zu dieser Nichtbeachtung der Schweinegalle theils darin zu sehen, dass man auf Grund der grossen Auctorität Strecker's geglaubt hat, der von ihm (und Gundelach) publicirten Untersuchung der Schweinegalle und deren Bestandtheile nicht mehr hinzufügen zu können, theils auch, und vielleicht vorzugsweise, darin, dass man sich durch die von den genannten beiden Verfassern hervorgehobene Schwierigkeit, die Schweine-

gallensäure und deren Derivat in krystallisirtem Zustand zu erhalten, von einer Untersuchung dieser Säure hat abschrecken lassen. Da dahingegen die gewöhnliche Cholalsäure aus der Ochsen-galle, wie bekannt, leicht und gut krystallisirt, so ist es nicht zu verwundern, wenn man für die Versuche zur Erforschung der Constitution der Gallensäuren lieber diese als die schwer oder gar nicht krystallisirende Hyocholalsäure zum Ausgangspunkt erwählt hat. Aber auf der andern Seite fordern gerade die in den letzten Jahren hinsichtlich der Säuren der Ochsen-galle gemachten wichtigen Entdeckungen, dass auch die Untersuchungen der von diesen Säuren abweichenden Gallensäuren einer Revision unterzogen werden, und die neuesten Verfasser (Schotten, Mylius) heben auch das Gewicht eines erneuten Studiums besonders der Schweine- und der Gänsegalle hervor.

Schon Thénard<sup>1)</sup> hatte die Schweinegalle untersucht und gefunden, dass sie von Essigsäure gefällt wird. Von den beiden Stoffen «Gallenharz» und «Pikromel», welche Thénard als die charakteristischen und hauptsächlichsten Bestandtheile der Galle betrachtete, fand er in der Schweinegalle nur den erstgenannten. Gorup-Besanez<sup>2)</sup> beschäftigte sich ebenfalls etwas mit der Schweinegalle und war der Ansicht, dass dieselbe eine Säure enthalte, welche, wie er glaubte, dieselbe Zusammensetzung wie Demarçay's Choloidinsäure habe, also stickstoff- und schwefelfrei sei. Dieses unerwartete Ergebniss veranlasste Liebig, Gundelach und Strecker aufzufordern, eine neue und gründlichere Untersuchung der Schweinegalle vorzunehmen. Es ist von der in diesem Jahre, 1847, veröffentlichten Arbeit<sup>3)</sup> nebst ein paar andern, von Strecker später publicirten Untersuchungen<sup>4)</sup>, wo unser Kenntniss von den Bestandtheilen der Schweinegalle sich beinahe ausschliesslich herleitet. Nach Strecker besteht die

1) Mém. d. Phys. et de Chim. de la soc. d'Arcueil. Bd. I. S. 23 (1806).

2) Ann. d. Chem., Bd. 59, S. 156.

3) Ann. d. Chem., Bd. 62, S. 205.

4) Ann. d. Chem., Bd. 70, S. 179 und Bd. 123, S. 353. Vergl. auch Bd. 65, S. 37.

Schweinegalle hauptsächlich aus einer Lösung von Natrium- (in sehr geringer Menge auch Kalium- und Ammonium-) Salz von einer eigenthümlichen Säure, der er den Namen Hyocholinsäure gegeben hat, welcher Name aber später, in Uebereinstimmung mit dem der entsprechenden Säure in der Ochsen-galle, in Hyoglykocholsäure umgeändert worden ist. Die Formel dieser Säure ist (mit neueren Atomgewichten)  $C_{27}H_{43}NO_5$ , und dieselbe würde also möglicherweise mit der von Mulder<sup>1)</sup> und Strecker dargestellten (Glyko)cholonsäure, welche ein Zersetzungsproduct der Glykocholsäure ist und nach Strecker die Formel  $C_{26}H_{41}NO_5$  haben muss, homolog sein. Die Hyoglykocholsäure bildet eine in Wasser beinahe unlösliche, amorphe, harzartige weisse Masse, welche in feuchtem Zustande in heissem Wasser schmilzt und dabei in seidglänzende Fäden ausgezogen werden kann, in trockenem Zustande hinwiederum leicht pulverisirbar ist und nicht einmal bei  $+120^\circ$  schmilzt. Die Säure ist einbasisch; die Salze derselben mit Natron, Kali, Ammoniak, Baryt, Kalk, Blei- und Silberoxyd wurden von Gundelach und Strecker dargestellt und analysirt. Charakteristisch für die Hyoglykocholsäure ist theils, dass die Alkalisalze derselben, welche sich mit Leichtigkeit in reinem Wasser lösen, bei Zusatz von concentrirten Lösungen von kaustischen Alkalien und neutralen Alkalisalzen (Carbonaten, Sulfaten etc.) wieder ausgefällt, d. h. gleichwie Seife ausgesalzen werden können, theils dass die Säure mit Kalk, Baryt und Magnesia in kaltem Wasser beinahe unlösliche Vereinigungen giebt. Hierdurch sowie auch durch ihre Zusammensetzung unterscheidet sie sich bestimmt von den Säuren der Ochsen-galle.

Bei langwierigem (24stündigem) Kochen mit Kalilauge geht die Hyoglykocholsäure in Hyocholalsäure über, welche sich von der gewöhnlichen Cholalsäure dadurch unterscheidet, dass sie nur mit grosser Schwierigkeit zum Krystallisiren gebracht werden kann. Durch die Analyse der Säure selbst sowie deren Bariumsalz erhielt Strecker für dieselbe die

1) Scheik. Onderz., Bd. V. S. 1.

Formel  $C_{25}H_{40}O_4$ , und er nahm deshalb an, dass sie, in Analogie mit dem, was er bei der Ueberführung der Glykocholsäure in Cholalsäure gefunden, nach der Formel  $C_{27}H_{43}NO_5 + H_2O = C_{25}H_{40}O_4 + C_2H_5NO_2$  gebildet worden ist.

Da die Hyoglykocholsäure schwefelfrei befunden worden ist, so entstand, nachdem Strecker das Vorhandensein einer schwefelfreien und einer schwefelhaltigen Säure in der Ochsen-galle nachgewiesen, ganz natürlich die Frage: findet sich eine schwefelhaltige Säure auch in der Schweinegalle? Strecker und Gundelach fanden in der mit Aether aus alkoholischer Lösung gefällten Schweinegalle nur 0,47% Schwefel und glaubten, dass dieser Schwefel ausschliesslich von Sulfaten herrühre, konnten aber für die Richtigkeit dieser Annahme keine bindenden Beweise anführen. Nach der Entdeckung der Taurocholsäure kam Strecker<sup>1)</sup> aber zu einer anderen Ansicht, und er suchte dann glaublich zu machen, dass sich in der Schweinegalle in sehr geringer Menge eine dieser Säure entsprechende, schwefelhaltige Säure finde. Seine Versuche<sup>2)</sup>, aus dieser Galle Taurin darzustellen, glückten aber nicht; er erhielt zwar aus der Mutterlauge von auskrystallisiertem Glykokoll Krystalle, welche, obschon fortfahrend von salzsaurem Glykokoll verunreinigt, dem Taurin ähnelten und nach Verbrennung von Salpeter bei Zusatz von Chlorbarium Fällung von Bariumsulfat gaben, einen bestimmten Beweis aber für die Möglichkeit, aus der Schweinegalle Taurin darzustellen, konnte er nicht geben. Natürlicherweise konnte die Menge der schwefelhaltigen Säure in der Schweinegalle, da der Schwefelgehalt der Galle ein so unbedeutender war, auf alle Fälle nur eine äusserst geringe sein. Bensch<sup>3)</sup> fand bei seinen Versuchen in der Schweinegalle nur 0,3% Schwefel, van Heijningen und Scharlée<sup>4)</sup> aber in der rohen

1) Ann. d. Chem., Bd. 65, S. 36.

2) Vergl. Handwörterbuch der Chemie, Bd. III, S. 250, und Ann. d. Chem., Bd. 70, S. 183.

3) Ann. d. Chem., Bd. 65, S. 194.

4) Scheik. Onderz., Bd. V, S. 105.

Schweinegalle einen Schwefelgehalt, welcher zwischen 0,81 und 1,93% wechselte. Strecker glaubte die Ursache hierzu darin sehen zu müssen, dass bei der Behandlung der Schweinegalle mit Alkohol und Aether aus derselben ein schwefelreicher Stoff entfernt werde, denn dass das Verhältniss zwischen der schwefelfreien und der schwefelhaltigen Säure in nennenswerthem Grade variire, wäre nach ihm nicht wahrscheinlich. van Heijningen und Scharlée stellten aus der Schweinegalle auch ein Bleisalz dar, aus dessen Analyse sie schlossen, dass die von Gundelach und Strecker aufgestellte Formel unrichtig und der Fellonsäure, wie sie die Säure der Schweinegalle benannten, die Formel  $C_{34}H_{42}NO_{11}$  (Aequivalent-Formel) zu geben sei. Hierbei aber berücksichtigten sie nicht, dass dieses Bleisalz nach ihrer Analyse 0,31% Schwefel enthielt und daher nicht ganz rein sein konnte. Als die aus dem Bleisalz dargestellte Säure in Alkohol gelöst und die Lösung sodann über Wasserbad abgedunstet wurde, sonderten sich ausser einem Harz (= Gallensäure) auch weisse Nadeln ab, welche Taurin ähnelten und bei der Analyse einen Schwefelgehalt von 24% zeigten. Zu bemerken ist jedoch, dass die zur Analyse angewandte Substanz nur 8 Milligramm (!) gewogen hat, woraus natürlicherweise folgt, dass die Bestimmung nicht hat besonders genau sein können. Strecker ist jedoch der Ansicht, dass es van Heijningen und Scharlée wirklich gelungen ist, aus der Schweinegalle Taurin darzustellen, und er schliesst daraus, dass sich in der Schweinegalle auch eine schwefelhaltige Säure findet, deren Formel er ex analogia zu  $C_{27}H_{45}NSO_6$  annimmt und welche er Hyocholeinsäure benennt. Der Schwefelgehalt des letztgenannten Bleisalzes rührte nach Strecker davon her, dass die beiden holländischen Chemiker mit einer Mischung von circa 19 Aequiv. hyoglykocholsaurem und 1 Aequiv. hyocholeinsaurem Bleioxyd gearbeitet haben.

Die Hyocholeinsäure, deren Name später, in Analogie mit demjenigen der Hyoglykocholsäure, in Hyotaurocholsäure umgeändert worden ist, hat also, Dank sei Strecker's Auctorität, die Anerkennung der Wissenschaft und einen Platz

in den Lehrbüchern der physiologischen Chemie auf ziemlich schwache Gründe hin erhalten. Denn weder die Säure selbst, noch eine ihrer Verbindungen ist jemals nicht einmal in unreinem Zustande dargestellt und analysirt worden, und die Entstehung von Taurin als eines ihrer Zersetzungsproducte kann wohl kaum als hinreichend bewiesen gelten. Das Einzige, was in dieser Hinsicht die ausgeführten Untersuchungen, mit einiger Sicherheit ergeben haben, ist der Gehalt der Schweinegalle an Schwefel auch in anderer Form als wie Sulfat.

Ausser gallensauren Salzen, welche ungefähr  $\frac{3}{4}$  des Gewichtes der eingetrockneten Galle ausmachten, fanden Strecker und Gundelach in der Schweinegalle Farbstoffe, Fett, Cholesterin und Chlornatrium, sowie eine geringe Menge von Sulfaten und Phosphaten von Calcium, Magnesium, Mangan und Kalium; ebenso fand Strecker bei einer spätern, allein ausgeführten Untersuchung<sup>1)</sup> der Schweinegalle auch Cholin, Fleischmilchsäure und Lecithin. Popp<sup>2)</sup> wies nach, dass der Harnstoff einen constanten Bestandtheil sowohl der Ochsen- als auch der Schweinegalle bildet, in welcher letztern er in einer relativ grössern Menge vorzukommen scheint als in der erstern.

Die Untersuchung der Säuren der Schweinegalle, über welche ich in dem Folgenden berichten werde, ist zunächst durch eine Beobachtung veranlasst, die ich vor ein paar Jahren machte, als ich reines Natriumhyoglykocolat aus der von Schleim befreiten Schweinegalle durch Ausfällung mittelst einer gesättigten Lösung von Natriumsulfat zu erhalten suchte. Ich fand damals, dass die Fällung, welche entstand, wenn die Galle in gesättigte Natriumsulfatlösung gebracht wurde, unter verschiedenen Umständen ein ziemlich verschiedenes Aussehen zeigen konnte. Während der zuerst entstehende Niederschlag in der Regel sehr voluminös und von

1) Ann. d. Chem., Bd. 123, S. 353.

2) Ann. d. Chem., Bd. 156, S. 88.

einer weissen, mehr oder weniger in gelbgrün ziehenden Farbe war, zeigte sich derselbe nach ein paar Stunden bedeutend zusammengesunken und oft mit grösseren und kleineren Tropfen einer braungelben bis schwarzbraunen, ölähnlichen Masse untermischt, die sich aber leicht in reinem Wasser löste. Und in einem noch höhern Grade war dieses mit den später ausgefallten Fractionen der Fall. Unter dem Mikroskop zeigte sich besonders ein sehr deutlicher Unterschied zwischen den grossen, aber äusserst dünnen, eigenthümlich gefalteten Häuten oder Lamellen, in welcher Form die erstgenannte Fällung auftrat, und den vollständig runden, klaren, an Fettkügelchen erinnernden, obschon farbigen Tropfen, aus denen die letztere Fällung bestand. Von Einfluss auf die Beschaffenheit des Niederschlags schien die Temperatur zu sein, insbesondere aber das Verhältniss zwischen den angewandten Mengen Gallenlösung und Natriumsulfatlösung, ebenso die Concentration der erstern. Wenn z. B. einer concentrirten Lösung von Galle das doppelte und dreifache Volumen gesättigter Glaubersalzlösung zugesetzt wurde, so entstand ein dunkelfarbiger, kleberiger, von dem braunen «Oel» durchsetzter Niederschlag, wohingegen, wenn eine mehr verdünnte Galle in eine grosse Menge (ungefähr 20 Volumen) gesättigter Natriumsulfatlösung gegossen wurde, die Fällung flockig und nur ganz unbedeutend gefärbt erschien, so dass sie sich von der dunkel gefärbten Flüssigkeit stark unterschied. Als diese Flüssigkeit sodann eingekocht wurde, schied das in ihr aufgelöste gallensaure Salz in der Form eines schwarzgrünen oder schwarzbraunen Oeles aus, das bei Abkühlung zu zähen Massen erstarrte. Dieses Verhältniss hatten schon Gundelach und Streckler beobachtet, denn dieselben äussern unter Anderem: «Dampft man eine bei gewöhnlicher Temperatur mit Glaubersalz gesättigte Galle ab, nachdem man durch Filtration das ausgeschiedene hyocholinsaure Natron getrennt, so bildet sich, wenn die Lösung auf weniger als die Hälfte reducirt ist, eine stark braun gefärbte Haut, und bei fortgesetztem Abdampfen scheidet sich beinahe sämtliches hyocholinsaures Natron, vermengt mit dem Farbstoff und Fetten, aus, so dass die

kochend concentrirte Glaubersalzlösung nur schwach gefärbt und beinahe frei von organischen Substanzen ist »<sup>1)</sup>). Dieses ist wohl insofern vollständig richtig, als die Glaubersalzlösung bei einer derartigen Verfahrungsweise sofort so gut wie frei von gallensauren Salzen und nur durch einen rothbraunen Farbstoff verunreinigt erhalten wird, der sich durch eine oder zwei Umkrystallisierungen entfernen lässt, so dass dann das Natriumsulfat wieder ganz weiss und rein ist. Dahingegen kann « die stark braun gefärbte Haut » aber keine gallensauren Salze von der Beschaffenheit der zuerst ausgefällten flockigen Fällung enthalten, denn wenn diese « braune Haut », welche in Allem der oben erwähnten ölartigen Fällung gleicht, in Wasser aufgelöst und die Lösung sodann mit einer gesättigten Glaubersalzlösung vermischt wird, so erhält man von dem flockigen Niederschlage nichts (oder nur sehr wenig), die Mischung aber erscheint emulsionsartig getrübt und setzt ein schweres dunkelbraunes « Oel » von dem oben beschriebenen Aussehen ab, oder auch bleibt sie ganz klar, was ganz von der Concentration und Temperatur der angewandten Lösung abhängt.

Hier schienen also zwei verschiedene gallensaure Salze vorzuliegen. In dieser Vermuthung wurde ich um so mehr bestärkt, als ich bald noch eine Verschiedenheit zwischen dem flockigen und dem tropfenförmigen Niederschlage entdeckte. Wenn nämlich die erstere, welche in ihren Eigenschaften vollständig mit Gundelach's und Strecker's hyocholinsaurem Natron übereinstimmte, in Wasser aufgelöst und die warme, klare, concentrirte Lösung dann abgekühlt wurde, so erstarrte dieselbe vollständig zu einer dünnen, breiartigen Masse, bestehend aus den voraus erwähnten, gefälteten Häuten, wohingegen die Wasserlösung der letztern (die im Gegensatz zu der der erstern stets stark gefärbt war) bis zur Syrupsdicke eingedampft werden konnte, ohne dass eine derartige « Krystallisation » sich hätte beobachten lassen.

Da es sich also gezeigt hatte, dass die Schweinegalle, und dies in bedeutender Menge, ein gallensaures Salz enthält,

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem., Bd. 62, S. 217.



welches der Aufmerksamkeit Gundelach's und Strecker's entgangen war, so glaubte ich, diesem Salze eine nähere Untersuchung widmen zu müssen. Es stellte sich inzwischen aber bald heraus, dass das neue Salz, im Gegensatz zu dem schon bekannten, nur mit grosser Schwierigkeit in reinem Zustand zu erhalten war. Die grosse Leichtlöslichkeit desselben, seine Abgeneigtheit zu krystallisiren und die Hartnäckigkeit, mit der es mitfolgende Farbstoffe festhält, legten seiner Isolirung grosse Hindernisse in den Weg, und dies in einem um so höheren Grade, als es mit den andern, schon lange bekannten Salzen die grösste Aehnlichkeit an den Tag legte. Es würde nur wenig Interesse darbieten, wollte ich über alle mehr oder weniger misslungenen Versuche, die ich in dieser Richtung ausgeführt, näher berichten, und ich werde mich daher darauf beschränken, ausführlicher nur die ziemlich umständliche Methode zu beschreiben, welche ich für die Trennung der beiden gallensauren Säuren der Schweinegalle als die beste befunden habe, und über welche in dieser Zeitschrift, wenn auch nur ganz kurz, schon früher berichtet worden ist<sup>1)</sup>.

Zuerst jedoch einige Worte über das Material. Durch freundliches Entgegenkommen der Schlachthaus-Aktiengesellschaft in Stockholm wurden die Gallenblasen sämmtlicher an einigen auf einander folgenden Tagen im Schlachthause der Gesellschaft geschlachteten Schweine gesammelt und unterbunden. Die ausgeschnittenen Blasen wurden auf Eis oder in kaltem Wasser aufbewahrt, bis ihre Zahl auf 70—100 gestiegen war, worauf man sie mir übersandte. Von mir wurden dieselben sodann so bald als möglich in Arbeit genommen. Die Galle war also bei ihrer Verarbeitung nicht mehr ganz frisch, doch zeigte der Inhalt der Blasen, so viel ich erkennen konnte, niemals Spuren von Fäulniss, selbst dann nicht, als ich, was einmal der Fall gewesen, die Galle mitten im Hochsommer erhielt (alle die übrigen Gallensendungen habe ich im Winter, im Januar, entgegen ge-

<sup>1)</sup> Siehe Bd. XI, S. 417.

nommen und verarbeitet, was, wie später gezeigt werden wird, unleugbar das Zweckmässigste ist). Uebrigens dürfte auch, nach dem zu urtheilen, was von Gundelach und Strecker nachgewiesen worden<sup>1)</sup>, selbst eine ziemlich weit vorgeschrittene Fäulniss keine nennenswerthe Zersetzung der gallensauren Salze in der Galle zur Folge gehabt haben. Inwiefern aber der Umstand, dass die Galle nicht mehr ganz frisch war, auf das Vermögen der Galle zu krystallisiren hat einwirken können, darüber vermag ich mich natürlicherweise nicht mit Bestimmtheit zu äussern. Wohl krystallisirt, wie Hammarsten gezeigt, die ganz frische Menschengalle sehr leicht, während dieses mit der bei Sectionen gewonnenen Galle durchaus nicht der Fall ist; aber daraus, dass die Menschengalle innerhalb des todtten Körpers eine derartige Veränderung erleidet, dürfte man jedoch nicht den Schluss ziehen können, dass auch die Schweinegalle, wenn sie ausserhalb des Thierkörpers einige Zeit aufbewahrt wird, eine ähnliche Verwandlung erfährt. Um hierüber in das Klare zu kommen, sind vergleichende Versuche mit vollständig frischer Schweinegalle erforderlich, doch ist die Ausführung dieser Versuche aus leicht einzusehenden Ursachen mit verschiedenen Schwierigkeiten verbunden. Vergleicht man hinwiederum die Schweinegalle mit der Ochsehgalle, welche im Allgemeinen wohl ebenfalls nicht in vollständig frischem Zustande verarbeitet wird, so ist der von allen Verfassern angemerkte Unterschied im Krystallisationsvermögen schlagend. Es ist mir indessen, wie weiter unten näher gezeigt werden wird, gelungen, die schweinegallensauren Natronsalze, wenn auch mit Schwierigkeiten, in unzweifelhaft krystallisirtem Zustand zu erhalten, was mir dahingegen mit den freien Säuren nur ausnahmsweise geglückt ist.

Die Grösse der Gallenblasen variirte ganz bedeutend. Im Mittel enthielt jede Blase circa 30 cbcm. Galle. Hierbei ist jedoch zu bemerken, dass einige Blasen in Folge fehlerhafter Unterbindung sich zusammengefallen und beinahe ent-

<sup>1)</sup> L. c., S. 226.

leert, andere dagegen, welche in Wasser aufbewahrt worden, sich durch Diffusion stark ausgedelint zeigten, und dass aus diesen Ursachen gallensaure Salze in das Wasser ausgetreten waren, welches deshalb zuweilen auf dieselbe Weise wie die Galle verarbeitet wurde. Das Aussehen der Galle variierte in den verschiedenen Blasen sehr. In den einen zeigte sie sich dickflüssig und fadenziehend, und dann war sie hell (weissgelb) gefärbt, in den andern klar und dünnflüssig, und dann hatte sie oft eine dunkle, braungelbe oder braunrothe Farbe. Die Reaction war schwach alkalisch, der Geschmack intensiv bitter<sup>1)</sup>.

Sämmtliche von mir bei verschiedenen Gelegenheiten bearbeiteten Gallenportionen zeigten bei Zusatz von Glaubersalzlösungen ein gleichartiges Verhalten.

Die aus den Blasen entleerte Galle wurde bei fleissigem Umrühren mit einem ungefähr doppelt so grossen Volumen Alkohol vermischt. Hierbei entstand eine reichliche, gelbbraune Fällung, welche hauptsächlich Gallenschleim, ausserdem aber auch Fett, Cholesterin, Farbstoffe und auch kleine Mengen gallensaurer Salze, die mechanisch mitgerissen worden, enthielt. Nachdem die Fällung sich abgesetzt hatte, wurde die alkoholische Lösung, deren Färbung mittlerweile bedeutend dunkler geworden war, abfiltrirt und durch Destillation und Abdunstung von Alkohol befreit. Die übrig gebliebene, concentrirte Wasserlösung bildete eine dunkelbraune, nahezu schwarze Flüssigkeit, welche in Wärme dünnflüssig war, bei Abkühlung sich aber in eine dickflüssige, in der Consistenz dem Syrup ähnelnde Masse verwandelte. Unter dem Mikroskop zeigte diese Masse sich von langen, platten, gleichbreiten, gegen die Enden hin aber zugespitzten, farblosen Nadeln durchsetzt, welche Krystallen zum Verwechseln glichen, bei näherer Untersuchung sich aber von derselben Beschaffenheit wie die oben erwähnten gefalteten Häute erwiesen. Bei Zu-

<sup>1)</sup> Es dürfte vielleicht verdienen bemerkt zu werden, dass in keiner einzigen der ungefähr 450 von mir verarbeiteten Gallenblasen Concremente angetroffen worden sind.

satz von etwas mehr Wasser lösten diese Pseudo-Krystalle sich auf, und die schwarzbraune Flüssigkeit erhielt sich dann leichtfliessend auch bei gewöhnlicher Temperatur.

Wenn diese Flüssigkeit mit einer bei Zimmertemperatur gesättigten Lösung von Natriumsulfat vermischt wurde, so entstand ein reichlicher Niederschlag, dessen Aussehen und Eigenschaften nach den Umständen in der oben beschriebenen Weise variierten. Wurde indessen ein grosser Ueberschuss von Natriumsulfatlösung angewendet, so war die Färbung und Verunreinigung der Lösung durch die braunen Tropfen nur eine höchst unbedeutende, und dies besonders, wenn die Mischung eine niedrige Temperatur hatte. In dem letztgenannten Umstand liegt ohne Zweifel die Erklärung dafür, weshalb die Trennung der beiden Salze in der warmen Jahreszeit viel schwerer war und viel langsamer geschah als im Winter, wo die Lösungen sich mit Leichtigkeit bis zu 0° und darunter abkühlen liessen. Von grösster Bedeutung ist hierbei jedoch sicherlich der Umstand, dass der Salzgehalt der eiskalten Lösung natürlicherweise ein viel geringerer ist als derjenige der bei Zimmertemperatur gesättigten. Der Niederschlag, welcher gewöhnlich von heller gelbbrauner Farbe, also viel heller als die sehr dunkle Flüssigkeit war, wurde ein paar Stunden ruhig stehen gelassen, um sich absetzen zu können, sodann aber, nachdem von ihm die Flüssigkeit abgossen worden, in ein Sehtuch genommen. Auf diese Weise liess sich ausser der Wasserlösung auch eine grössere oder geringere Menge des braunen Oeles entfernen, welches bei dieser Operation stets in der Fällung angetroffen wurde, selbst wenn dieselbe vorher homogen flockig ausgesehen hätte. Inzwischen wurden die Poren des Sehtuches sehr bald durch die sich zusammenbackende Fällung verstopft, und ausserdem trat das auskrystallisirende Natriumsulfat einem vollständigen Abtropfen der Lösung hindernd entgegen. An ein Auspressen der Fällung war nicht zu denken, denn dieselbe war von so loser Beschaffenheit, dass sie dabei vollständig durch das Sehtuch gedrängt worden wäre. Dieses wurde mit seinem Inhalt deshalb in heisses Wasser gebracht, in dem die Fäl-

lung sich mit Leichtigkeit bis auf eine sehr geringe Menge eines feinen rothbraunen Pulvers (Bilirubin?) löste. Die filtrirte Lösung wurde hierauf im Wasserbad abgedampft, bis dass ein aus ihr herausgenommener Tropfen bei Abkühlung zu einer grauweissen, gelatinösen Masse erstarrte. Unter dem Mikroskop zeigte sich diese Masse aus ebensolchen eigenthümlich gefalteten Häutchen bestehend, welche den Hauptbestandtheil der ursprünglichen Fällung bildeten. Nachdem die ganze Lösung auf diese Weise durch Abkühlung in einen dünnen Brei verwandelt worden war, wurde dieser wieder auf das Sehtuch genommen und das, was dann auf demselben liegen blieb, von Neuem der soeben beschriebenen Behandlung unterworfen u. s. w. Die zuerst erhaltenen, dunkelgrünen Mutterlaugen, welche eine Mischung beider Salze enthielten, wurden apart genommen, aus den letztern, heller gefärbten aber durch Abdampfung neue Portionen des sich in Häuten abscheidenden Salzes gewonnen. Dieses wurde schliesslich einer neuen Umfällung mit Natriumsulfat unterworfen und dann vollständig weiss und, wie man mit dem Mikroskop leicht controlliren konnte, gänzlich frei von eingemischtem «Oel»-Tropfen erhalten. Dieses Salz, das ohne Zweifel dasselbe ist, welches Gundelach und Strecker dargestellt und hyocholinsaures Natron benannt haben, werde ich in dem Folgenden als  $\alpha$ -hyoglykocholsaures Natrium oder kurz als  $\alpha$ -Natriumsalz bezeichnen. Nach der Ausfällung mit Natriumsulfat wurde die weisse Fällung auf mehrere mittelgrosse Filter genommen und mit diesen sodann getrocknet und mit kochendem 96procentigen oder absolutem Alkohol behandelt, welcher das gallensaure Salz mit Zurücklassung des Natriumsulfats und Filtrirpapiers auslöste. Die alkoholische Lösung, welche eine mehr oder weniger gelbliche Farbe hatte, wurde filtrirt und abgedampft; der Rest gab nach langwährenden Trocknen und Pulverisiren ein rein weisses Pulver.

Die sehr dunkelfarbige Lösung, aus welcher erst das  $\alpha$ -Natriumsalz ausgefällt worden, wurde durch Erhitzen concentrirt, wobei sich an der Oberfläche der Flüssigkeit eine schwarzbraune, ölähnliche Schicht bildete, die warm dick-

flüssig war, bei Abkühlung sich aber verdickte und dann zäh erschien. Die unterhalb dieser Schicht befindliche, sehr concentrirte Natriumsulfatlösung war jetzt verhältnissmässig wenig gefärbt und konnte nun, wie bereits erwähnt worden, durch erneutes Erhitzen und durch Umkrystallisiren des Glaubersalzes von organischen Stoffen befreit werden. Durch Abkühlung der heissen Lösung so weit, dass die Oberflächenschicht angefangen, etwas dickflüssig zu werden, ohne dass die Natriumsulfatlösung zu krystallisiren begonnen hatte, war es möglich, die letztgenannte Lösung beinahe vollständig abzuheben und dieselbe in grosse Bechergläser zu bringen, in denen dann das Oel, welches bei dem Abheben mitgefolgt war, aufschwamm und an der Oberfläche eine dicke Schicht bildete. Das gesammelte «Oel» löste sich in Wasser mit Leichtigkeit zu einer sehr dunkelfarbigem Lösung von einem intensiv bitterm Geschmack auf. Diese Lösung enthielt noch nicht wenig  $\alpha$ -Salz, wovon man sich leicht durch eine mikroskopische Untersuchung der Fällung überzeugen konnte, welche eine gesättigte Natriumsulfatlösung in ihr verursachte. Um das  $\alpha$ -Salz aus der Lösung zu entfernen, wurde dieselbe mit beinahe gesättigter Glaubersalzlösung so lange versetzt, bis eine anhaltende emulsionsartige Trübung entstanden war, und sonach bis auf  $0^{\circ}$  und darunter abgekühlt. Hierbei krystallisirte ein Theil des Natriumsulfats aus, und gleichzeitig setzte sich auch  $\alpha$ -Salz, mit einer grösseren oder geringeren Menge braunen «Oeles» vermischt, ab, während die überstehende, gesättigte Natriumsulfatlösung, die vollkommen klar und von einer mehr oder weniger rothbraunen Farbe war, noch eine bedeutende Menge gallensauren Salzes aufgelöst enthielt. Durch Concentration der Lösung in Wärme wurde dieses Salz auf die schon beschriebene Weise abgeschieden und dann durch Alkoholbehandlung sowohl von eingemischtem Natriumsulfat, als auch von einer geringeren Menge des mitfolgenden schwarzbraunen Farbstoffes gereinigt, welcher sich leicht löslich in Wasser und daraus durch Säuren fällbar, aber unbedeutend löslich in Alkohol erwies, sofern nicht eine grössere Menge gallensaures

Salz gleichzeitig einwirkte. Die Alkohollösung war jedoch noch immer stark dunkelgelbbraun gefärbt und zeigte eine grünliche Fluorescenz. Bei Abdampfung im Wasserbade gab sie einen zähen Rest, der selbst nach mehrtägigem Trocknen nicht vollständig pulverisirbar war; dahingegen glückte dieses ziemlich schnell bei Erhitzung im Trockenschrank bis zu 100°. Von den dabei sich entwickelnden Alkoholdämpfen wurde der Rest zu einer sehr voluminösen, knitternden Masse aufgelockert, die leicht zu pulverisiren war und ein gelbbraunes Pulver gab. Ich werde im Folgenden dieses neue gallensaure Salz als  $\beta$ -hyoglykocholsaures Natrium oder kurz  $\beta$ -Natriumsalz bezeichnen.

Aus dem oben Gesagten ersieht man leicht, dass man bei dieser Trennung der beiden Salze oft Fractionen erhält, die aus einer Mischung beider in wechselnden Verhältnissen bestehen. Dadurch, dass man auf systematische Weise mit diesen Fractionen ganz ebenso verfährt, wie mit der ursprünglichen Galle, kann man die beiden Salze, wenn auch mit grossem Zeitverlust und grosser Mühe, schliesslich so gut wie vollständig von einander trennen. Ich habe mich bei der Bearbeitung einer grösseren Menge Galle dieser Beschwerde unterzogen, um von dem Verhältniss zwischen den Mengen dieser beiden gallensauren Salze in der ursprünglichen Schweinegalle wenigstens eine ungefähre Kenntniss zu erhalten. Es zeigte sich dann, dass aus dem Inhalt von 203 Gallenblasen, welcher mehr als 6 Liter betrug, 365 gr.  $\beta$ -Natriumsalz, zwar noch unrein und gefärbt, aber doch beinahe vollständig in absolutem Alkohol löslich, und ungefähr 100 gr. wenig gefärbtes  $\alpha$ -Salz dargestellt werden konnten. Ausserdem wurden ungefähr 4 gr. von dem erwähnten schwarzbraunen, in Alkohol beinahe unlöslichen Stoffe erhalten. Da die dargestellten gallensauren Salze der bei der ferneren Reinigung unvermeidlichen Verluste wegen in unreinem Zustande abgewogen worden sind, ist den oben angeführten Zahlen zwar keine allzu grosse Bedeutung beizulegen, so viel aber scheint aus ihnen doch unzweifelhaft hervorzugehen, dass die bisher nicht näher beachtete Gallensäure einen der Menge nach bedeu-

tenderen Bestandtheil der Schweinegalle bildet, als die alte Säure, die Gundelach und Strecker beschrieben haben.

Um, wenn möglich, die von einander getrennten Salze in reinem Zustande zu erhalten, wurde folgendes Verfahren angewendet. Das, nach seiner Farbe und seinem Aussehen unter dem Mikroskop zu urtheilen, schon ziemlich reine  $\alpha$ -Salz wurde (beinahe vollständig) in absolutem Alkohol aufgelöst. Die heiss filtrirte, concentrirte alkoholische Lösung erstarrte bei Abkühlung allmählich vollständig zu einer gelbweissen, durchscheinenden, vollkommen transparenter Seife ähnelnden Masse von einer, je nach der Menge des Alkohols, mehr oder weniger festen Consistenz. Ein Zusatz von einigen Tropfen Wasser bei gewöhnlicher Temperatur machte diese gelatinöse Masse bald wieder vollständig flüssig. Auch liess sich niemals ein derartiges Erstarren beobachten, wenn nicht absoluter Alkohol als Lösungsmittel angewandt wurde<sup>1)</sup>. Die gelatinöse Masse trocknete bald zu erst zähen, nachher spröden gummiähnlichen Klumpen ein. Diese wurden in warmem Wasser gelöst und die Lösung mit Chlorbarium gefällt. Die weisse körnige Fällung wurde abfiltrirt und dann mit Leichtigkeit in kochendem, ungefähr 40 procentigen Spiritus gelöst. Hiermit wurde bezweckt, möglicherweise gegenwärtige höhere Fettsäuren zu entfernen, deren Barytsalze bekanntlich in verdünntem Weingeist nicht löslich sind. Bei Abkühlung der filtrirten Spirituslösung fiel eine grosse Menge Barytsalz aus, welches sich unter dem Mikroskop als theils amorphen Häutchen, theils kleinen runden Ballen undeutlicher Nadeln, sehr selten aber aus Aggregaten radiär angeordneter Prismen bestehend zeigte. Aus dem Filtrat und dem Waschwasser wurde ebenfalls eine nicht unbedeutende

1) Ein derartiges Verhältniss beobachtete ich nie bei Lösung des  $\beta$ -Salzes in absolutem Alkohol. Nur ein einziges Mal kam es vor, dass eine übrigens nicht sehr concentrirte Wasser-Lösung von (unreinem)  $\beta$ -Salz bei gewöhnlicher Temperatur und unter Umrühren gleich einer Seifenlösung zu einer gelatinösen Masse erstarrte. Eine Erklärung hierfür vermag ich nicht zu geben, und das Phänomen ein zweites Mal hervorzurufen ist mir nicht gelungen.



Menge Bariumsalz erhalten, das theilweise zu deutlichen, obschon äusserst feinen Nadeln krystallisirte, die sich unter dem Mikroskop aus verfilzten, weichen, flachen Prismen bestehend zeigten, die bei Eintrocknung leicht in amorphe Formen, als Tropfen, Häutchen u. s. w. übergingen. Das gereinigte Bariumsalz wurde durch Erwärmung mit Soda-lösung leicht wieder in Natriumsalz verwandelt und dieses dann durch Filtrirung, Abdampfung, Auflösung in Spiritus, erneute Filtrirung, vollständige Eintrocknung und Behandlung des Pulvers mit absolutem Alkohol von fremden Salzen befreit. Die Lösung wurde partiell mit Aether gefällt, und die gefärbteren Fractionen durch erneute Ausfällung mit Natriumsulfat (mit darauf folgender Spiritusbehandlung u. s. w.), « Umkrystallisirung » aus Wasser u. s. w. gereinigt.

Weit beschwerlicher war es, das  $\beta$ -Natriumsalz zu reinigen. Nach verschiedenen misslungenen Versuchen, den dunkelbraunen Farbstoff, den dieses Salz so hartnäckig festhielt, zu entfernen, gelang mir dieses schliesslich durch partielle Fällungen mit Aether. Wenn nämlich das erwähnte gelbbraune Pulver in Alkohol (absolutem oder 96 procentigem) gelöst und zu der klaren dunkelbraunen Lösung vorsichtig Aether zugesetzt wurde, so entstand eine Fällung, die anfangs bei Schüttelung wieder verschwand, bald aber eine beständige Trübung bildete, welche, wenn die Mischung in Ruhe stehen blieb, sich allmählich als eine sehr dunkel gefärbte, syrupöse Masse zu Boden setzte, worauf die überstehende Flüssigkeit eine viel hellere Farbe zeigte. Diese Flüssigkeit wurde abgossen und wieder mit etwas Aether versetzt, wo dann eine neue, diesmal weniger stark gefärbte Fällung entstand u. s. w. Die erhaltenen Fällungen wurden, eine jede für sich, in Alkohol gelöst und mit Aether gefällt, und durch eine systematische Wiederholung dieses Verfahrens gelang es, eine sehr dunkelfarbige, in Alkohol beinahe unlösliche Fraction abzuscheiden, die in Allem dem voraus beschriebenen, bei der Trennung der gallensauren Salze erhaltenen Stoffe gleich. In dem Verhältniss, in welchem dieser Stoff entfernt wurde, zeigten die Aetherfällungen eine immer

hellere Farbe, bis sie schliesslich schneeweiss und von einer mehr käseähnlichen Consistenz waren; beim Verbleiben in der Flüssigkeit schmolzen sie jedoch zu einem hellgelben Bodensatz zusammen. Wurden sie dahingegen auf das Filtrum genommen, so konnten sie mit Leichtigkeit abfiltrirt werden, begannen auf demselben aber sofort zu einer schwach gelb gefärbten Masse zu verschmelzen, während gleichzeitig eine bedeutende Menge Aether und Alkohol, gleichsam herausgepresst, abranm, wodurch das Volumen der Fällung sich sehr verminderte.

Nachdem der Farbstoff auf diese zwar ziemlich zeitraubende Weise zum grössten Theil entfernt war, wurden sämtliche Fractionen vereinigt und, um das gallensaure Salz so vollständig wie möglich abzutrennen, mit einem grossen Ueberschuss von Aether versetzt. Ein Theil des Salzes verbleibt zwar immer in Lösung, denn bei dem Abdestilliren der abgesonderten Lösung wurde nachher ein nicht unbedeutender Rest erhalten, der zwar nicht näher untersucht worden ist, ausser gallensaurem Salz aber wahrscheinlich auch Fett und Cholesterin enthielt<sup>1)</sup>. Das mit Aether ausgefällte Salz wurde in Wasser gelöst und mit Chlorbarium gefällt. Der hierbei entstehende Niederschlag von  $\beta$ -Bariumsalz wurde im Anfange bei dem Umrühren wieder von dem im Ueberschuss vorhandenen Natriumsalz gelöst. Bei Zusatz von mehr Chlorbarium entstand eine bleibende Fällung. Bisweilen (ehe ich angefangen, zur Trennung der beiden gallen-

1) Dass Cholesterin in dem rohen  $\beta$ -Salz vorhanden ist, konnte ich in einem Falle, wo ich vergebens versucht hatte, die  $\beta$ -Säure durch partielle Ausfällung mit Schwefelsäure von Farbstoff zu befreien, direct nachweisen. Ich fand nämlich, dass bei Zusatz von verdünnter Schwefelsäure zu einer Lösung der  $\beta$ -Säure in Natronlauge und dem Abfiltriren ausgefällter Säure sich eine braune, stark sauer reagirende Lösung erhalten liess, und dass, wenn zu dieser sehr vorsichtig 0.1proc. Schwefelsäure gegeben wurde, die Flüssigkeit nach einer Weile Massen von silberglänzenden, sehr kleinen Krystallen enthielt, die unter dem Mikroskop sich als deutliche rhombische Täfelchen erwiesen und nach Abfiltriren und Trocknen eine schneeweisse Masse bildeten, welche sehr schöne und unzweideutige Cholesterinreactionen gab.

sauren Salze eiskalte, gesättigte Glaubersalzlösungen anzuwenden) zeigte sich die zuerst ausgefällte Portion flockiger und weniger zusammengebacken, sowie auch leichter filtrirbar, als die später abgesonderte Hauptmasse der Fällung. Es zeigte sich dann, dass, wenn diese erste Portion für sich durch Behandlung mit Sodalösung wieder in Natriumsalz umgewandelt wurde, dieses bei einer näheren Untersuchung einen Gehalt von  $\alpha$ -Natriumsalz aufwies, welches an seinem Verhalten zu Natriumsulfat kenntlich war und von einer unvollständigen Trennung der beiden Salze herrührte. Etwas Derartiges traf nicht ein, wenn zur Trennung der beiden Salze die voraus beschriebene Methode angewandt worden war. Wahrscheinlich lässt sich auf das verschiedene Verhalten der Bariumsalze auch eine Methode für die Trennung der beiden gallensauren Salze gründen; doch habe ich in dieser Richtung keine näheren Untersuchungen ausgeführt.

Der Niederschlag, welcher durch einen Ueberschuss von Chlorbarium in einer Lösung von  $\beta$ -Natriumsalz erzeugt wird, ist in Aussehen und Eigenschaften dem entsprechenden von  $\alpha$ -Bariumsalz sehr unähnlich. Sie ist nämlich nicht körnig, sondern entweder dick, käsig oder (bei grösserer Verdünnung) emulsionsartig, in beiden Fällen aber geht sie bald in eine geschmolzene Masse von zäher, pflasterartiger Consistenz über, welche sich am Boden des Gefässes sammelt. Diese Fällung löst sich sehr schwer in absolutem Alkohol, selbst kochendem, sehr leicht aber in warmem, verdünntem Spiritus (spec. Gew. = 0,95). Bei Abkühlung der Lösung fällt wieder ein Theil des Salzes in Form von fein zertheilten Tropfen aus, welche zu einer zähen Flüssigkeit zusammenfliessen. Sowohl in der ursprünglichen Wasserlösung, wie auch, und dies in noch höherem Grade, in der Spirituslösung verbleibt eine nicht unbedeutende Menge des Bariumsalzes in Lösung und kann daraus durch Abdampfen wieder erhalten werden. Dasselbe setzt sich aus den concentrirten Lösungen in der Form von klaren, zähen Tropfen und gewöhnlich ohne jede Spur von Krystallbildung ab. Nur ein einziges Mal bemerkte ich in einer kleineren Quantität derartiger farbloser Tropfen, welche

sich aus einer weingeistigen Lösung abgesetzt hatten, nach ruhigem Stehen während einiger Zeit in gewöhnlicher Zimmertemperatur Krystallisationen, indem in jedem Tropfen radiär angeordnete kleine Prismen von dem zuweilen bei dem  $\alpha$ -Bariumsalz beobachteten Aussehen entstanden; nach einer kurzen Eintrocknung waren diese Krystallisationen jedoch wieder vollständig verschwunden, und das Ganze bildete nun eine firnissartige, von unzähligen Rissen durchzogene Masse.

Das pflasterartige  $\beta$ -Bariumsalz liess sich leicht eintrocknen und pulverisiren. Nachdem dieses geschehen, wurde es, um es wieder in Natriumsalz überzuführen, mit Sodalösung erwärmt, die Lösung von ausgefälltem Bariumcarbonat abfiltrirt und zur Trockne eingedampft, der Rest mit Alkohol behandelt, die Lösung von fremden Salzen abfiltrirt, vollständig eingetrocknet und pulverisirt, wieder in absolutem Alkohol gelöst und diese Lösung dann mit Aether in der voraus beschriebenen Weise partiell gefällt. Durch diese Behandlung wurde eine fernere kleine Quantität Farbstoff, Kochsalz u. s. w. entfernt. Die hernach mit Aether ausgefällten Fractionen waren bei der Ausfällung alle rein weiss, schmolzen dann aber zu schwach gelb gefärbten Massen zusammen, deren concentrirte Lösungen in Wasser oder Alkohol eine schwache, gelbe Färbung zeigten, während die verdünnten Lösungen beinahe farblos waren. Da diese schwache, gelbe Farbe sich trotz wiederholter Behandlung mit Aether unverändert erhielt, so dürfte sie vielleicht dem reinen  $\beta$ -Natriumsalz selbst angehören. Sämmtliche erhaltene Fractionen, auch die, welche bei Eindampfung der letzten ätherhaltigen Mutterlaugen zur Trockne gewonnen wurden und sich jetzt von den andern nicht mehr unterschieden, gaben bei Eintrocknung (im Trockenschrank bei circa 100°) und Pulverisirung des voluminösen, aufgeblättern Restes ein beinahe rein weisses Pulver. Dieses hatte anfangs einen schwachen, doch deutlich süssen Geschmack, welcher aber bald verschwand, um einem intensiv bittern Platz zu machen. Ein derartiger süsser Vorgeschnack war bei dem  $\alpha$ -Natriumsalz nie wahrzunehmen, dahingegen aber erschien sein bitterer Geschmack noch intensiver.

Wenn eine Wasserlösung des  $\beta$ -Natriumsalzes freiwillig bis zu gewöhnlicher Temperatur abdünsten durfte, entstand, wie schon erwähnt worden, nie eine solche Pseudokrystallisation, wie sie das  $\alpha$ -Salz zeigte. Beim Eindampfen der Lösung aber bis zu einem dicken Syrup erhielt sie nach und nach ein trüberes Aussehen, und bei mikroskopischer Untersuchung zeigte es sich sodann, dass der syrupöse Rest Massen von platten, spitzigen, sehr kleinen und weichen Krystallnadeln enthielt, deren Menge immer mehr wuchs, welche aber von der zähen Mutterlauge nicht zu isoliren waren, weshalb alles bald zu einer glänzenden, gummi- oder firnissähnlichen Masse zusammentrocknete. Da es mir auch auf keine andere Weise gelang, das  $\beta$ -Natriumsalz oder eine andere  $\beta$ -Verbindung zum Krystallisiren zu bringen, so dass die Eigenschaft dieses Salzes als chemisches Individuum hätte dargethan werden können, so blieb mir nichts Anderes übrig, als auf analytischen Wege zur Klarheit darüber zu kommen zu suchen, ob die neue Gallensäure eine chemische Verbindung oder eine Mischung verschiedener Stoffe ist.

In Betreff der analytischen Methoden mag nur erwähnt werden: die Bestimmungen von Kohlenstoff und Wasserstoff wurden durch Verbrennung mit Bleichromat in geschlossener Röhre auf gewöhnliche Weise ausgeführt, jedoch gewöhnlich mit Abschluss der Verbrennung in einem langdauernden Sauerstoffstrom, indem die Erfahrung zu zeigen schien, dass eine vollständige Verbrennung des Kohlenstoffs auf andere Weise schwerlich zu erreichen war.

Der Stickstoff wurde stets nach Kjeldahl's jetzt so allgemein angewendeter Methode in der von ihm ursprünglich angegebenen Weise<sup>1)</sup> bestimmt, nur mit dem Unterschied, dass die entwickelte Ammoniakmenge durch Wiedertitrirung des Destillats mit verdünnter Barytlösung<sup>2)</sup> und Rosolsäure

1) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 22, S. 366.

2) Ein Cubikcentimeter derselben entsprach 0,00123 gr. Stickstoff. Ihr Titre veränderte sich kaum, selbst bei jahrelanger Verwahrung. Die Säure, in welche der bei der Analyse entwickelte Ammoniak aufgenommen wurde, hatte denselben Titre wie die Barytlösung.

als Indicator ermittelt wurde, welches Verfahren mir viel sicherer und vortheilhafter als die von Kjeldahl anempfohlene Titirungsweise zu sein schien. Zur Decomposition wurde zuweilen concentrirte Schwefelsäure allein, öfter aber mit rauchender Schwefelsäure oder Phosphorsäureanhydrid untermischt angewendet und sodann Oxydation mit Kaliumpermanganat vorgenommen. Gewöhnlich musste jedoch mit der Erhitzung mehrere Stunden fortgesetzt werden, bevor die Lösung anfang, eine hellere Farbe anzunehmen; gleichwohl schien dieser letztere Umstand, nach mehreren vergleichenden Versuchen zu urtheilen, für die Gewinnung richtiger Ergebnisse nicht von Nöthen zu sein. Bei der Destillation war die Anordnung getroffen, dass das eine abgemessene Menge verdünnter Schwefelsäure enthaltende Gefäss, in welches das Destillat aufgenommen werden sollte, verschlossen und mit einer Ableitungsröhre versehen war, die in einen kleinen Becher mit Wasser hinabging. Der Zweck dieser Anordnung war der, das Ammoniakgas aufzunehmen, das möglicherweise von der Schwefelsäure, in welche die Röhre, durch die das Destillat abrinnt, wie bekannt nicht hinabreichen darf, nicht gebunden würde. Das Wasser in dem kleinen Becher wurde deshalb mit dem Destillat stets vor der Titirung vereinigt<sup>1)</sup>. Die Destillation geschah in einem mit Zinnröhre versehenen Apparat, wodurch aller Gefahr, dass die warmen Dämpfe aus dem Glas Alkali auslösen könnten, vorgebeugt war.

Der Schwetel wurde als Bariumsulfat nach Verbrennung mit Soda und Salpeter bestimmt. Hierbei wurde eine Correction für den Schwefelsäuregehalt der angewandten Reagentien angebracht, weil es mir trotz wiederholter Versuche nicht gelungen war, absolut schwefelfreie Soda zu erhalten. Bei einer Anzahl Versuche kam anstatt Soda Natriumhydrat (aus Natriummetall bereitet) zur Anwendung, welches sich vollständig frei von Schwefelsäure zeigte, was auch der Salpeter war,

<sup>1)</sup> Dieses dürfte in den meisten Fällen zwar nicht von Nöthen gewesen sein, das eine oder andere Mal aber (z. B. bei Analysen von Glykokoll) hatte das Wasser in dem kleinen Becher jedoch alkalische Reaction.

so dass eine Correction sich dann nicht als nöthig erwies. Das geglühte Bariumsulfat wurde vor der Abwägung stets durch eine Behandlung mit verdünnter Salzsäure gereinigt.

Die übrigen Stoffe wurden nach den gewöhnlichen, allgemein bekannten Methoden bestimmt. Bei den Alkalibestimmungen wurde gewöhnlich nach Kämmerer's Methode verfahren<sup>1)</sup>).

Das auf die oben beschriebene Weise gereinigte  $\beta$ -Natriumsalz war bei der letzten partiellen Fällung mit Aether in sieben, hinsichtlich der Menge ziemlich ungleiche Fractionen getheilt worden, die besonders getrocknet und pulverisirt wurden. Proben wurden von ihnen allen mit folgenden Ergebnissen analysirt:

- I. = 46,6 gr. 0,3334 gr., getrocknet bei ca. 150°, gaben 0,7896 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2799 gr. H<sub>2</sub>O. 0,5546 gr. gaben 0,085 gr. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 4,96% Na.
- II. = 10,3 gr. 0,3808 gr., getrocknet bei 140—150°, gaben 0,9062 gr. CO<sub>2</sub> und 0,3138 gr. H<sub>2</sub>O.  
0,5998 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 13,36 chem. Säure = 0,016433 gr. N oder 2,74%.
- III. = 28,9 gr. 0,3317 gr., getrocknet bei 120—140°, gaben 0,7996 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2878 gr. H<sub>2</sub>O.
- IV. = 8,2 gr. 0,2540 gr., getrocknet bei 140—150°, gaben 0,6146 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2168 gr. H<sub>2</sub>O.
- V. = 20,2 gr. 0,3992 gr., getrocknet bei 120—140°, gaben 0,9621 gr. CO<sub>2</sub> und 0,3260 gr. H<sub>2</sub>O.
- VI. = 7,6 gr. 0,3885 gr., getrocknet bei 130—153° (halb geschmolzen), gaben 0,9227 gr. CO<sub>2</sub> und 0,3157 gr. H<sub>2</sub>O.
- VII. = 30,4 gr. 0,4428 gr., getrocknet bei 150—160°, wobei die Substanz zu einem gelben Glase zusammenschmolz, danach pulverisirt wurde, gaben 1,0422 gr. CO<sub>2</sub> und 0,3633 gr. H<sub>2</sub>O.

Werden diese Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen zusammengestellt, so erhält man für die sieben Fractionen, in Procenten berechnet:

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
Kohlenstoff . . .	64,59	64,90	65,75	65,99	65,73	64,77	64,19.
Wasserstoff . . .	9,33	9,16	9,64	9,48	9,07	9,03	9,12.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 7, S. 221.

Anlässlich dieser Ergebnisse wurden einerseits die Fractionen I, II, VI und VII, andererseits die Fractionen III, IV und V zu je einer grossen Portion vereinigt, welche beiden Portionen wir mit A und B bezeichnen. Der Kohlenstoffgehalt in A würde nach dem Obigen ungefähr 1% weniger betragen als der in B. Beide Portionen wurden in absolutem Alkohol gelöst, die Lösung fractionirt mit Aether gefällt und die übrig gebliebene Mutterlauge eingetrocknet. Auf diese Weise wurde eine jede der beiden Portionen in drei neue Fractionen getheilt, von denen die erste die unvergleichlich grösste war und die dritte aus dem Eindampfungsrest der Aetherlösung bestand. Sämmtliche auf diese Weise erhaltenen sechs Fractionen wurden mit folgenden Resultaten analysirt:

- A. 1. 0,2497 gr., getrocknet bei ca. 120°, gaben 0,5914 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2111 gr. H<sub>2</sub>O.
- A. 2. 0,4061 gr. (von einer Substanz, die erst zu ca. 150° erhitzt, wobei sie schmolz, dann abgekühlt, pulverisirt und sodann wieder zu 100° erhitzt worden war), gaben 0,9693 gr. CO<sub>2</sub> und 0,3367 gr. H<sub>2</sub>O.
- A. 3. Da diese Fraction schon bei 100° schmolz, so wurde bei der Analyse folgendes Verfahren angewandt: Die Substanz wurde zu 145—150° erhitzt, bis dass ihr Gewicht constant wurde, die geschmolzene Masse sodann abgekühlt und pulverisirt, hierauf von ihr zu zwei Proben genommen und von diesen die eine analysirt, die andere aber wieder zu constantem Gewicht eingetrocknet, wobei ein Verlust von 0,86% entstand, der von der Feuchtigkeit herrührte, welche die stark hygroskopische Substanz bei der Pulverisirung, Abwägung u. s. w. in sich aufgenommen hatte. In Uebereinstimmung mit dieser Feuchtigkeitsbestimmung wurden dann die bei der Verbrennung erhaltenen analytischen Zahlen corrigirt. Diese waren: 0,2248 gr. gaben 0,5417 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1955 gr. H<sub>2</sub>O.
- B. 1. 0,2620 gr. (getrocknet bei ca. 120°) gaben 0,6245 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2196 gr. H<sub>2</sub>O.  
 0,2532 gr. (ebenfalls bei ca. 120° getrocknet) gaben 0,5927 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2099 gr. H<sub>2</sub>O.  
 0,3016 gr. (bis zu ca. 160° erhitzt, wobei die Substanz schmolz, hierauf abgekühlt, pulverisirt und bei ca. 115° zu constantem Gewicht getrocknet) gaben 0,7248 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2521 gr. H<sub>2</sub>O.
- B. 2. 0,2430 gr. (getrocknet bei ca. 115°) gaben 0,5765 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2056 gr. H<sub>2</sub>O.



B. 3. Die Substanz wurde bei 125–135° getrocknet und schmolz dabei. Nach Abkühlung und Pulverisirung wurde sie wieder bei 100° eingetrocknet, wobei Zeichen einer beginnenden Schmelzung auftraten. 0,2718 gr. gaben 0,6544 gr. CO<sub>2</sub> und 0,2345 gr. H<sub>2</sub>O.

Werden diese Analysen, mit Eintragen der corrigirten Zahlen für A. 3 und der Mittelzahl für die Analysen von B. 1, zusammengestellt, so erhält man in Procenten berechnet, für die verschiedenen Fractionen folgende Werthe:

	A. 1.	A. 2.	A. 3 <sup>1)</sup> .	B. 1.	B. 2.	B. 3.
Kohlenstoff . . .	64,60	65,09	66,31	64,80	64,69	65,66.
Wasserstoff . . .	9,39	9,21	9,65	9,27	9,40	9,58.

Wie man sieht, sind es nur die Fractionen No. 3, welche hinsichtlich der Zusammensetzung einen bemerkenswerthen Unterschied zeigen, ebenso wie sie auch bei einer bedeutend niedrigeren Temperatur schmolzen als die andern. Zum Theil konnte dieses wohl (aus Gründen, welche ich gleich nennen werde) auf der Einmischung von etwas freier Gallensäure beruhen, doch zeigte es sich, dass diese Fractionen auch einen fremden Stoff enthielten, indem sie sich nicht, gleich den andern, in absolutem Alkohol von der Temperatur des Zimmers klar lösten. Besonders war dieses mit A. 3 der Fall. Als nämlich diese Fraction in kochendem, absolutem Alkohol gelöst wurde, setzte die Lösung bei Abkühlung einen weissen Niederschlag ab. Dieser wurde durch erneute Behandlung mit kochendem absoluten Alkohol gereinigt. Bei Abkühlung der farblosen Lösung setzte sich sodann eine beinahe gelatinöse Masse ab, die unter dem Mikroskop sich aus kleinen runden, stark lichtbrechenden Kugeln mit undeutlich concentrischer Zeichnung bestehend zeigte. Nach Abfiltrirung trocknet diese Masse bald zu weissen, leichten Stücken zusammen, die sich leicht pulverisiren liessen und folgende Eigenschaften hatten. Bei Erhitzung schmolz die Substanz, sodann zersetzte sie sich und verbrannte darauf mit einer leuchtenden Flamme, unter Zurücklassung einer ziemlich grossen Menge Asche, deren Wasserlösung eine stark alkalische

1) Ohne die angeführten Correctionen sind die Zahlen für A. 3 = 65,72<sup>0</sup>/<sub>0</sub> C und 9,66<sup>0</sup>/<sub>0</sub> H.

Reaction zeigte. Von Aether wurde die Substanz kaum, von Aether + Alkohol etwas besser gelöst; mit Wasser gab sie eine äusserst fein getrübe, opalisirende Flüssigkeit, die sich nicht klar filtriren liess und aus welcher sich bei längerem Stehen ein schimmernder Bodensatz abschied, der unter dem Mikroskop undeutlichen Cholesterintäfelchen glich. Salkowsky's Cholesterinreaction gab indessen einen negativen Ausschlag. Dieser Stoff war offenbar keine Gallensäurenverbindung, denn er zeigte sich vollständig geschmacklos und gab auch keine Pettenkofer'sche Reaction. Er enthielt Stickstoff, dahingegen aber keinen Schwefel, denn ein quantitativer Versuch (wozu jedoch nur 0,0488 gr. genommen werden konnten) zeigte, dass von ihm keine grössere Menge  $\text{BaSO}_4$  erhalten werden konnte, als beweislich von dem angewendeten Reagens herrührte. Die Asche enthielt keine Phosphorsäure. Die Hauptmenge der Substanz wurde in einem Platinschiffchen im Sauerstoffstrom verbrannt und dabei folgendes Resultat erhalten: 0,1052 gr. gaben 0,1753 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,0693 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ . Im Platinschiffchen blieben 0,0203 gr. (= 19,29%) einer weissen, in Wasser löslichen Asche zurück. Für aschenfreie Substanz berechnet, enthielt der Stoff also 56,31% Kohlen- und 9,07% Wasserstoff. Aus Mangel an Material konnten leider nicht mehrere analytische Bestimmungen ausgeführt werden.

Aber wenn auch die chemische Natur dieses eigenthümlichen Stoffes nicht näher bestimmt werden konnte, so war derselbe doch offenbar als eine Verunreinigung der  $\beta$ -Hyo-glykocholsäure aufzufassen, und um, wenn möglich, jede Spur davon, welche sich vielleicht noch vorfand, zu entfernen, wurden daher die Fractionen A. 1, A. 2, B. 1 und B. 2, die bei den Analysen eine gleichartige Zusammensetzung gezeigt hatten, in absolutem Alkohol gelöst und nach Verlauf von 24 Stunden von der minimalen Trübung abfiltrirt, welche sich dann abgesetzt hatte. Die concentrirte, hellgelbe Alkohol-lösung wurde mit kleinen Portionen Aether versetzt. Der dabei entstehende käsige Niederschlag, welcher sich im Anfange wieder löste, war rein weiss. Bei Zusatz von etwas

Aether löste der Niederschlag sich viel langsamer, schmolz aber in der Flüssigkeit und bildete dann eine durchsichtige Bodenschicht von einer hellen, gelben Farbe, welche nicht das Geringste dunkler war, als die überstehende Flüssigkeit. Der oben erwähnte dunkle Farbstoff schien also durch die vorhergehende Behandlung vollständig entfernt worden zu sein.

Nachdem Alles wieder gelöst worden war, wurde die Lösung vorsichtig in einen grossen Ueberschuss von Aether gebracht, wobei das Natriumsalz als ein körniger, rein weisser Niederschlag ausschied. Bei zu schnellem Zusatz der Alkohol-lösung geschah es leicht, dass dieser Niederschlag zu gelblichen Klumpen zusammenschmolz, welche jedoch, der Einwirkung von Aether ausgesetzt, in den eben erwähnten körnigen amorphen Niederschlag bald zerfielen. Dieser wurde ohne Schwierigkeit abfiltrirt und dann mit Aether gewaschen, bis das im Anfange wasserhelle Filtrat sich opalescent zeigte, was wahrscheinlich darauf beruhte, dass das gallensaure Salz sich in reinem Aether etwas weniger schwer löste als in alkoholhaltigem. Wie bereits erwähnt worden ist, verändert der Niederschlag, sobald er den Aether verliert, gleichviel ob dieses durch Auspressung, freiwillige Verdampfung oder sanfte Erhitzung geschieht, seine Beschaffenheit, indem er sich aus einer körnigen, leicht filtrirbaren und schneeweissen in eine klebrige und gelbliche Masse verwandelt. Als der von Aether befreite Niederschlag, um den Alkohol und die Feuchtigkeit (die sich bei der Abdampfung des Aethers condensirt hatte) zu entfernen, bei  $100^{\circ}$  getrocknet wurde, blätterte die zähe Substanz sich durch die entweichenden Dämpfe auf, so dass sie nach vollständiger Trocknung eine sehr voluminöse, poröse, knitternde Masse bildete, welche nach Pulverisirung und wiederholtem Trocknen ein feines, lockeres Pulver von einer weissen, kaum merklich in das Gelbe spielenden Farbe gab. Von diesem gereinigten Salz wurden im Ganzen ungefähr 104 gr. erhalten. Bei der Analyse gaben:

0,3065 gr.  $0,7293$  gr.  $\text{CO}_2$  und  $0,2636$  gr.  $\text{H}_2\text{O}$ , was  $64,89\%$  Kohlenstoff und  $9,55\%$  Wasserstoff entspricht.

Bei dem Abdestilliren der grossen Mengen Aether, welche zu dem soeben beschriebenen Reinigungsprocess angewandt worden waren, wurde ein alkoholischer Rest erhalten, der nach Abdampfen und Trocknen eine gelbbraune Masse gab, die einem weniger reinen  $\beta$ -Natriumsalz ähnelte. Dieser Rest löste sich nicht klar in Wasser; die Lösung hatte saure Reaction und zeigte eine ausserordentlich feine, schimmernde Trübung, welche sich nicht abfiltriren liess und unter dem Mikroskop sich als aus äussert kleinen Stäbchen oder Schüppchen bestehend zeigte. Bei Zusatz von etwas Alkali klärte sich die Lösung sofort, worauf sie sich wie gewöhnliches  $\beta$ -Salz verhielt. Die Ursache zu der sauren Reaction und dem andern, auf der Gegenwart von etwas freier Gallensäure beruhenden, abweichenden Verhalten lag ohne Zweifel darin, dass der Aether Spuren von Schwefelsäure enthielt, die bei dem Abdestilliren sich concentrirt und dann auf das im Aether gelöste gallensaure Salz eingewirkt hatten. In der That liessen sich auch in der Lösung, nachdem alle Gallensäure mit Salzsäure ausgefällt worden, Spuren von Schwefelsäure mit  $\text{BaCl}_2$  nachweisen, und als eine grössere Menge des trocknen Rückstandes mit absolutem Alkohol behandelt wurde, löste derselbe sich (bei schwach saurer Reaction der Lösung) unter Zurücklassung eines geringen weissen Restes, welcher sich im Allgemeinen auf ganz dieselbe Weise wie die vorher beschriebene Substanz verhielt, bei Behandlung mit Wasser aber theilweise gelöst wurde; in dieser Lösung erzeugte Chlorbarium nach Zusatz von Salzsäure und Abfiltriren ausgefallter Gallensäure eine schwache, doch deutliche Trübung. Hierdurch dürfte sich auch der etwas hohe Kohlenstoffgehalt der vorerwähnten Fractionen A. 3 und B. 3 erklären lassen.

Ausser den in dem Obigen angeführten Analysen des  $\beta$ -Natriumsalzes habe ich auch während früheren Stadien der Arbeit verschiedene Fractionen dieses Stoffes analysirt. Da indessen das analysirte Material in diesen Fällen gewöhnlich keiner so sorgfältigen Reinigung wie die oben beschriebene unterworfen gewesen ist und es sich deshalb auch von einer etwas wechselnden Zusammensetzung gezeigt hat, so dürfte

den Analysen kein so grosser Werth beizulegen sein, daher ich hier auch nicht ihre detaillirte Beschreibung geben, sondern nur ihre Ergebnisse anführen werde. Neun Elementaranalysen gaben, in Procenten berechnet:

Kohlenstoff	64.17	64.60	66.75	62.52	62.35	62.89	64.67	64.76	63.41
Wasserstoff	9.58	9.83	9.34	9.23	8.84	8.71	8.93	9.15	9.19

oder im Mittel 64,01% Kohlenstoff und 9,20% Wasserstoff. Drei Stickstoffbestimmungen gaben resp. 2,74, 2,75 und 2,73% Stickstoff, also im Mittel 2,74% oder genau eben so viel, wie die Bestimmung des Stickstoffs in der gereinigten Substanz ergab. Das Mittel der Elementaranalysen dieser Substanz (die Analysen der eine abweichende Zusammensetzung zeigenden Fractionen A. 3 und B. 3 jedoch ausgenommen) beträgt dahingegen 65,00% Kohlenstoff und 9,30% Wasserstoff, beläuft sich also für den Kohlenstoff auf 1% mehr, als im Mittel die Analysen der weniger sorgfältig gereinigten Substanz gegeben haben.

Die Analysen der verschiedenen Fractionen des am gründlichsten gereinigten  $\beta$ -Natriumsalzes zeigen meines Erachtens indessen eine so gute Uebereinstimmung, als man bei der Untersuchung eines solchen hygroskopischen und schwer zu handhabenden amorphen Stoffes nur erwarten kann. Auf Grund derselben dürfte man daher mit grosser Wahrscheinlichkeit die Gegenwart jedes sich in seiner Zusammensetzung von dem reinen gallensauren Salze wesentlich unterscheidenden verunreinigenden Stoffes ausschliessen können. Dahingegen aber erübrigt die Möglichkeit, dass die untersuchte Substanz einen hinsichtlich seiner chemischen Eigenschaften mit ihr nahe verwandten und dieselbe oder nur eine sehr wenig abweichende Zusammensetzung zeigenden Stoff eingemischt enthalten hat.

Und dieses war hier auch der Fall.

Bei der Untersuchung der Producte, welche bei der Einwirkung von kaustischen Alkalien oder Bariumhydrat auf die fragliche Gallensäure (über welche Untersuchung ich in dem Folgenden näher berichten werde) entstanden, fand ich

nämlich auch eine geringe Menge Taurin. Dieser Umstand deutete die Gegenwart einer Hyotaurocholsäure in dem angewandten Material an, welches in solchem Falle schwefelhaltig sein musste. Dieses war auch mit dem auf die oben beschriebene, umständliche Weise gereinigten  $\beta$ -Salz der Fall, und sein Schwefelgehalt konnte zufolge der bei seiner Darstellung (aus Bariumsalz) und seiner Reinigung angewandten Methoden schwerlich von eingemischtem Sulfat herrühren, sondern es musste der Schwefel in dasselbe in einer organischen Verbindung eingehen. Die Analysen gaben folgendes Resultat:

0,3172 gr., mit einer abgewogenen Menge Soda + Salpeter geschmolzen, gaben mit Correction für die in den Reagentien befindliche Schwefelsäure 0,0187 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,00257 gr. S oder 0,81% entspricht:  
 0,6336 gr. wurden mit Soda + Salpeter geschmolzen und gaben 0,0371 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,0051 gr. S oder 0,80% entspricht.

Dieser Schwefelgehalt von 0,8% entspricht einer in dem dargestellten Präparat enthaltenen Einnischung von ungefähr 13% Natriumhyotaurocholat. Wenn man nämlich annimmt, dass die neue Hyoglykocholsäure die Formel  $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_5$  habe — welche Formel mir am besten mit der Mehrzahl der analytischen Bestimmungen übereinzustimmen scheint — so muss die entsprechende Hyotaurocholsäure die Zusammensetzung  $\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NSO}_6$  haben, und die procentische Zusammensetzung ist dann für

	$\beta$ -Natriumhyoglykocholat, $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{NaNO}_5$ :	$\beta$ -Natriumhyotaurocholat, $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{NaNSO}_6$ :	Mischung von 87% Glykocholat, 13% Taurocholat:	Gefunden bei d. Analyse (im Mittel):
Kohlenstoff . . .	66,24	59,88	65,41	65,00
Wasserstoff . . .	8,92	8,44	8,85	9,30
Natrium . . .	4,88	4,41	4,82	4,96
Stickstoff . . .	2,97	2,69	2,93	2,74
Schwefel . . .	—	6,14	0,80	0,80
Sauerstoff . . .	16,99	18,44	17,19	(17,20)

Die Ergebnisse der Analysen stimmen also recht gut mit der Annahme einer Einnischung von ungefähr 13% Hyotaurocholat überein.

Ich versuchte jetzt mehrere Methoden, um die beiden Säuren von einander zu trennen, doch gelang mir dieses leider nur höchst unvollständig.

Am nächsten zur Hand lag es, die Methode zu versuchen, welche, ursprünglich von Strecker angegeben, zur Trennung der Säuren der Ochsen-galle angewendet wird, nämlich successive Fällung mit Bleizucker, Bleiessig und Bleizucker + Ammon.

Ein vorbereitender Versuch mit einer geringeren Menge  $\beta$ -Natriumsalz (doch nicht von dem reinsten Präparat) gab folgendes Resultat. Die Lösung des Salzes in Wasser gab mit Bleizucker einen reichlichen, voluminösen, weissen Niederschlag, der sich langsam absetzte. Die über demselben stehende Flüssigkeit war milchweiss und nur mit einiger Schwierigkeit klar zu filtriren. Das klare Filtrat, welches amphoter, aber mit einer überwiegend sauren Reaction reagirte, gab bei Zusatz von mehr Bleiacetat nur eine bei Erwärmung verschwindende Trübung, mit Bleiessig dahingegen einen flockigen Niederschlag, welcher bei Erhitzung in der Flüssigkeit zu braungelben Klumpen zusammenschmolz. Das Filtrat von diesem Niederschlag wurde nicht von Bleiessig allein gefällt, wohl aber bei Zusatz von einer klaren Mischung von Bleiessig und Ammoniak, wo dann eine starke Trübung entstand, die sich bald zu einem flockigen, hinsichtlich der Menge sehr geringen Niederschlag sammelte, von dem eine Probe Pettenkofer's Reaction gab. Aus dem Filtrat von diesem letzten Niederschlag wurden allmählich noch einige weisse, pulverförmige Niederschläge erhalten, welche jedoch aus basischem Bleiacetat und Carbonat bestanden und kaum eine Spur von Gallensäure enthielten.

Die drei Niederschläge, welche bei Zusatz von Bleizucker, Bleiessig und Bleiessig + Ammoniak erhalten worden und von denen der erstere der hinsichtlich der Menge unvergleichlich grösste war, wurden, ein jeder für sich, durch Behandlung mit Soda, in Natriumsalz umgewandelt. Die erhaltenen Lösungen wurden filtrirt und zur Trockne ein-

gedampft, der Rückstand in absolutem Alkohol gelöst, filtrirt (von einem Ueberschuss von Soda) und mit Aether gefällt, der Niederschlag in Alkohol gelöst, bei 100° eingetrocknet, pulverisirt, von Neuem getrocknet und analysirt, wo dann erhalten wurden aus:

0,5351 gr. (aus der Bleizuckerfällung) 0,01825 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,0025 gr. S oder 0,47% entspricht;

0,4730 gr. (aus der Bleiessigfällung) 0,0948 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,01302 gr. S oder 2,75% entspricht, und aus

0,0973 gr. (aus der Fällung mittelst Bleiessig + Ammoniak) 0,02474 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,0034 gr. S oder 3,49% entspricht.

Die aus den mit Bleiessig erhaltenen Niederschlägen dargestellten Präparate, welche in ihrem Aeussern vollständig gewöhnlichem  $\beta$ -Salz gleichen, unterschieden sich indessen auch in anderer Hinsicht als in Bezug auf ihren hohen Schwefelgehalt. Sie wurden nämlich nicht durch Salzsäure gefällt, oder auch gaben sie damit höchstens eine Trübung, die sich sofort in einem Ueberschuss von Säure löste. Das aus dem mittelst Bleiessig + Ammoniak erhaltenen Niederschlag dargestellte Natriumsalz wurde von gesättigter Natriumsulfatlösung, selbst in grossem Ueberschuss, nicht gefällt, gab dahingegen aber starke Trübung bei Zusatz von gesättigter Kochsalzlösung.

Durch die angewandte Behandlung schienen also die beiden in dem  $\beta$ -Salz vorkommenden Gallensäuren von einander getrennt worden zu sein, doch war dieses nur sehr unvollständig geschehen, denn in der ersten Fraction, wo der Schwefelgehalt bei vollständiger Trennung hätte = 0 sein müssen, fand sich noch ungefähr  $\frac{1}{2}\%$  Schwefel vor, und in der letzten, wo er sich, wie in reinem Natriumhyotaurocholat, auf 6% hätte belaufen müssen, betrug er nur  $3\frac{1}{2}\%$ . Durch eine Wiederholung der Behandlung schien jedoch nichts mehr zu gewinnen zu sein, denn als das aus dem Bleizucker-Niederschlag dargestellte Natriumsalz in Wasser gelöst, aus der verdünnten Lösung von Neuem mit Bleizucker gefällt, der Niederschlag in Natriumsalz umgewandelt wurde u. s. w., entstand ein Präparat, dessen Schwefelgehalt nicht



im Geringsten ab-, sondern eher zugenommen zu haben schien, denn

0,4932 gr. gaben (nach Schmelzung mit Soda + Salpeter ganz wie bei den früheren Analysen) 0,0195 gr.  $\text{BaSO}_4 = 0,00268$  gr. S oder 0,54<sup>o</sup>/<sub>o</sub>.

Da indessen bei dem jetzt beschriebenen Versuch durch die angewandte Methode wenigstens etwas gewonnen worden war, so zauderte ich nicht, die ganze Quantität des, auf die oben beschriebene Weise gereinigten und analysirten  $\beta$ -Salzes derselben Behandlung zu unterwerfen. Die Ergebnisse waren hierbei vollständig den soeben beschriebenen analog. Aus dem ausgepressten Bleizuckerniederschlag wurde ein Natriumsalz mit einem etwas verminderten Schwefelgehalt erhalten, denn 0,4321 gr. mit Soda + Salpeter geschmolzen, gaben 0,0203 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,0028 gr. S oder 0,64<sup>o</sup>/<sub>o</sub> entspricht.

Als aber ein Theil dieses Natriumsalzes in sehr verdünnter Lösung partiell von Neuem mit verdünnter Bleizuckerlösung gefällt wurde, entstand ein Niederschlag, welcher, in Natriumsalz umgewandelt und (gleich den früheren) bei 100<sup>o</sup> getrocknet, bei der Analyse, diesmal mit Natriumhydrat + Salpeter ausgeführt, folgendes Resultat gab:

0,2398 gr. gaben 0,0119 gr.  $\text{BaSO}_4 = 0,0016$  gr. S = 0,68<sup>o</sup>/<sub>o</sub>.

Also keine weitere Verminderung des Schwefelgehaltes.

Der mit Bleiessig allein erhaltene Niederschlag wurde in Natriumsalz umgewandelt und, zum Zwecke der Zerlegung in seine Bestandtheile, erneuter Fällung mit Bleizucker u. s. w. unterworfen. Der mit Bleiessig + Ammoniak erhaltene Niederschlag dagegen, welcher die meiste Hyotaurocholsäure enthalten sollte, wurde in Natriumsalz übergeführt und zeigte dann die oben erwähnten Eigenschaften. Eine kleine Quantität dieses Salzes wurde mit der 8fachen Menge  $\alpha$ -Natriumsalz vermischt und dann in Wasser zu einer 1procentigen Lösung aufgelöst. Die Absicht hierbei war, zu erforschen, ob die Gegenwart der Hyotaurocholsäure möglicherweise die Eigenschaften des  $\alpha$ -Salzes modificiren und dasselbe dem  $\beta$ -Salz ähnlich oder vielleicht gar mit ihm identisch machen könnte.

Die angestellten Versuche zeigten jedoch, dass die charakteristischen Reactionen des  $\alpha$ -Salzes sich mit grösster Leichtigkeit in der Mischung nachweisen lassen. Der Rest des hyotaurocholsauren Salzes wurde bei  $100^{\circ}$  getrocknet und dann mit folgendem Resultat analysirt:

0,2462 gr. gaben nach Schmelzung mit Salpeter + Soda 0,0805 gr.  $\text{BaSO}_4$ , was 0,01106 gr. S oder 4,49% entspricht;

0,1736 gr. gaben 0,3541 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,1333 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ , was 55,63% Kohlenstoff und 8,53% Wasserstoff gleichkommt.

Die Analyse zeigt, dass die Substanz auch andere Verunreinigungen als  $\beta$ -hyoglykocholsaures Natron enthielt, denn wenn sie nur eine Mischung von reinem Tauro- und Glykocolat (resp. 73 und 27%) gewesen wäre, die den gefundenen Schwefelgehalt gehabt hätte, würde die Elementaranalyse ungefähr 61,4% Kohlenstoff und 8,9% Wasserstoff gegeben haben. Wahrscheinlich fand sich auch etwas Natriumacetat vor, dessen Entstehen in der Darstellungsweise seinen Grund gehabt haben dürfte. Leider reichte das Material für weitere Versuche nicht aus. Die Analyse widerspricht indessen der Annahme nicht, dass  $\beta$ -Hyoglykocholsäure auch in dieser Fraction mitgefolgt ist.

Es ist bereits erwähnt worden, dass die hyotaurocholsäurereichen Fractionen von Säuren nur sehr unvollständig oder auch gar nicht gefällt wurden. Die Taurocholsäure der Schweinegalle ist demnach, gleich derjenigen der Ochsen-galle, leicht in Wasser zu lösen, auch scheint sie, gleich dieser, ausserdem eine gewisse Menge der ihr entsprechenden Glykocholsäure in Lösung halten zu können. Es dürfte daher die Möglichkeit vorhanden sein, durch Ausfällung eine schwefelfreie Hyoglykocholsäure zu erhalten, obschon man dabei, falls die Hyotaurocholsäure sich ebenso leicht zersetzt wie die gewöhnliche Taurocholsäure, risquirt, die ausgefällte Säure von Hyocholalsäure verunreinigt zu erhalten. Die Versuche zeigten indessen, dass die schwefelhaltige Säure bei der Ausfällung der schwefelfreien Gesellschaft leistet. Eine Lösung des aus dem Bleizuckerniederschlag dargestellten Natriumsalzes wurde mit Salzsäure gefällt; die Fällung wurde

sorgfältig gewaschen, bei 100° getrocknet und analysirt, wo dann

0,3828 gr.: mit Soda + Salpeter geschmolzen, 0,0178 gr. BaSO<sub>4</sub> gaben, was 0,0024 gr. S oder 0,63% entspricht.

Auch wenn die Säure in Alkohol gelöst und diese Lösung mit Wasser versetzt wurde, was eine milchweisse Flüssigkeit gab, aus welcher die ausgefällte Säure sich nur sehr langsam absetzte, erwies sich diese Säure bei der Prüfung noch schwefelhaltig.

Die  $\beta$ -Hyotaurocholsäure, deren Existenz mir theils durch die Nachweisung von Taurin unter die Zersetzungsproducte bei Einwirkung von Baryt auf das  $\beta$ -Salz, theils durch die Möglichkeit, durch partielle Fällung dieses Salzes Fractionen mit einem so verschiedenen Schwefelgehalt wie 0,64 und 4,49% und auch mit im Uebrigen verschiedenen Eigenschaften zu erhalten, genügend erwiesen zu sein scheint, zeigt also so grosse Neigung, bei Reactionen mit der in einer vielfach grössern Menge gegenwärtigen  $\beta$ -Hyoglykocholsäure mitzuschleppen, dass es mir, wie gesagt, nicht gelungen ist, diese beiden Säuren vollständig zu trennen. Sollte eine vollständige Trennung derselben überhaupt möglich sein, so dürfte dieselbe mit Sicherheit sehr grosse Opfer an Zeit, Arbeit und vor Allem an Material fordern.

Die im Folgenden beschriebenen Eigenschaften der  $\beta$ -Säure und der Salze derselben gehören also eigentlich nicht der reinen, sondern der durch Hyotaurocholsäure und ohne Zweifel auch durch kleine Mengen von  $\alpha$ -Säure, welche mittelst der angewandten Trennungsmethode nicht zu entfernen waren, verunreinigten  $\beta$ -Säure an.

Bei der Beschreibung des Verfahrens, welches ich angewandt habe, um die  $\alpha$ - und die  $\beta$ -Säure von einander zu trennen, ist auch das Natriumsalz der letztern mit seinen Eigenschaften geschildert worden. Zur Vervollständigung dieser Schilderung mag indessen folgender Bericht über das Verhalten dieses Salzes zu gewöhnlichen Reagentien hier Platz finden.

Kali- und Natronlauge gaben mit einer verdünnten Lösung von  $\beta$ -Salz eine milchige Trübung, die bei grösserer Concentration sich zu einer schweren, syrupösen, mehr oder weniger stark gelb gefärbten, in Kälte zähen, in Wärme mehr leichtflüssigen Flüssigkeit sammelte. Gesättigte Soda-lösung verhält sich auf ungefähr dieselbe Weise. Ammoniak allein verursacht keinen Niederschlag, aber wenn sodann Salzsäure zugesetzt wird, jedoch in keiner grössern Menge, als dass die Reaction sich noch stark alkalisch zeigt, so entsteht eine starke, emulsionsartige Trübung, die sich allmählich zu klebrigen Tropfen sammelt. Directer Zusatz von Salmiaklösung hat dieselbe Wirkung.

Die Einwirkung gesättigter Alkalisalzlösungen werde ich weiter unten beschreiben.

Chlorbarium, Chlorcalcium und Magnesiumsulfat verhalten sich ziemlich gleichartig, indem ihre Lösungen bei vorsichtigem Zusatz einen dicken, weissen, käsigen Niederschlag geben, der sich anfangs wieder in einem Ueberschuss von gallensaurem Salze löst, nachher aber permanent wird und schnell zu einer klebrigen, syrupösen Masse zusammenschmilzt. Die Niederschläge lösen sich in Wasser, in warmem besser als in kaltem, ziemlich gut, so dass in sehr verdünnten Lösungen kein Niederschlag entsteht, selbst dann nicht, wenn das Reagens in grossem Ueberschuss zugesetzt wird.

Eisenchlorid erzeugt einen rostgelben, gelatinösen und voluminösen Niederschlag, welcher beim Kochen mehr pulverförmig und compact wird, aber nicht schmilzt.

Silbernitrat giebt einen weissen, sehr voluminösen Niederschlag, welcher sich im Anfange in Ueberschuss von gallensaurem Salze löst; bei dem Kochen wird der Niederschlag schwerer und mehr pulverförmig, schmilzt nicht, nimmt aber bald eine dunkle Farbe an.

Quecksilberchlorid giebt mit einer verdünnten Lösung von  $\beta$ -Salz eine schwache Opalescenz, welche bei mässiger Erwärmung bedeutend stärker wird, beim Kochen aber bei-

nahe verschwindet, um dann bei der Abkühlung wiederzukommen.

Andere Salze schwerer Metalle (Ferrosulfat, Zinksulfat, Mangansulfat, Kobaltnitrat, Nickelnitrat, Chromalaun, Mercuronitrat, Kupfersulfat, Bleiacetat, Zinnchlorür) geben reichliche, flockige, gelatinöse oder käsige Niederschläge von einer auf der Natur des Fällungsmittels und der Concentration der Lösung beruhenden Farbe und Beschaffenheit, welche alle bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmelzen.

Verdünnte Säuren, Mineralsäuren ebensowohl wie Essigsäure u. a., erzeugen einen reichen, flockigen, bald zusammenbackenden Niederschlag, aus freier  $\beta$ -Hyoglykocholsäure bestehend, welcher in einem Ueberschuss von concentrirter Säure löslich ist. Bei vorsichtigem Zusatz sehr verdünnter Säure (z. B. Zehntelnormal-Salzsäure) löst sich der im Anfange entstehende Niederschlag wieder, und dieses geschieht so lange, dass die  $\beta$ -Salzlösung, welche ursprünglich alkalische Reaction zeigt, schon längst eine stark saure Reaction angenommen hat, ehe noch eine permanente Trübung durch ausgefällte  $\beta$ -Säure bemerkbar geworden ist. Vermuthlich entsteht hierbei irgend ein saures lösliches Salz. — Das Entstehen sämtlicher oben genannter Niederschläge wird durch Alkohol verhindert.

Normaler, stark sauer reagirender Urin fällt eine Lösung von  $\beta$ -Salz nicht, und ganz dasselbe ist mit einer Lösung von Natriumphosphat der Fall, welcher so viel freie Phosphorsäure zugegeben ist, dass die Reaction schwach, aber deutlich sauer ist.

Eine Lösung von Pepton (Handelswaare) giebt mit einer Lösung von  $\beta$ -Salz eine feine, emulsionsartige Trübung, welche sich leicht und klar in einem Ueberschuss von gallensaurem Salze löst.

Lässt man eine klare, nicht allzu concentrirte Lösung von  $\beta$ -Salz in Wasser so stehen, dass die Luft zu ihr freien Zutritt hat, so wird sie in der Regel in einigen Tagen trübe, und es setzt sich dann ein Bodensatz ab, der sich unter

dem Mikroskop aus Hefepilzen und Bacterien wechselnder Formen bestehend zeigt. Wird die Lösung hinwiederum durch Aufkochen (wobei sie bedeutend schäumt) in einem mittelst eines Baumwollenpfropfens verschlossenen Kolben sterilisirt, so kann sie sich jede beliebige Zeit unverändert erhalten. Um zu sehen, ob die Entwicklung von Bacterien eine Zersetzung der  $\beta$ -Säure mit gleichzeitiger Bildung entsprechender Cholsäure herbeiführen könnte (was bei den Ochsen-gallensäuren der Fall ist), liess ich eine Lösung von  $\beta$ -Salz mehrere Monate hindurch stehen und bei gewöhnlicher Temperatur faulen. Hierbei entwickelten sich Massen von Bacterien, ein starker fauler Geruch machte sich bemerkbar und die Lösung erhielt eine dickflüssige, in hohem Grade schleimige und fadenziehende Beschaffenheit. Die aus dieser Lösung ausgefällte, nicht weiter gereinigte, über Schwefelsäure ausgetrocknete Säure gab bei der Analyse folgendes Resultat:

0.2828 gr. gaben 0.6939 gr.  $\text{CO}_2$  (= 66.9<sup>00</sup> C) und 0.2418 gr.  $\text{H}_2\text{O}$   
(= 9.5<sup>00</sup> H).

0.4227 gr. neutralisirten bei der N-Bestimmung 4.9 chem. Säure (= 1.42<sup>00</sup> N).

Die Analysen zeigen also, dass die Säure noch ungefähr die Hälfte ihres ursprünglichen Stickstoffgehaltes enthält und mithin noch lange nicht vollständig durch den langwierigen Fäulnissprocess zersetzt war.

In Uebereinstimmung mit den Salzen anderer Gallensäuren (mit Ausnahme derjenigen der  $\alpha$ -Hyoglykocholsäure) zeigt sich auch eine Wasserlösung des  $\beta$ -Natriumsalzes optisch activ. Dieselbe ist nämlich rechtsdrehend, obschon nur sehr schwach. Bei der Bestimmung der specifischen Rotation wurde der Werth  $(\alpha)_D = +3,66^\circ$  erhalten. Zu bemerken ist jedoch, dass diese Bestimmung, gleichwie die in dem Folgenden angeführten, mit Wild's kleinerem Polaristrobometer, also nur mit einer Röhrenlänge von 10 cm. ausgeführt ist.

Von den übrigen Salzen der  $\beta$ -Hyoglykocholsäure sind folgende näher untersucht worden:

Das Kaliumsalz. Bereitet durch Auflösung der  $\beta$ -Säure in einer Kaliumcarbonatlösung, Eindampfung zur Trockne,

Extraction des Rückstandes mit Alkohol, Fällung der alkoholischen Lösung mit Aether, Lösung des ausgefällten Salzes in Wasser, sowie Eindampfung der Lösung, zeigte dieses Salz im Grossen und Ganzen dieselben Eigenschaften wie das Natriumsalz. Die zu einem zähen Syrup verdichtete Wasserlösung wurde bei Abkühlung weisslich trübe, doch waren bei mikroskopischer Untersuchung in ihr keine deutlichen Krystalle, sondern nur eine undeutlich körnige Masse wahrzunehmen.

0,5690 gr. (getrocknet bei  $100^{\circ}$ ) neutralisirten bei der N-Bestimmung 12,35 chem. Säure, was 0,01519 gr. N oder 2,67% entspricht.

0,4422 gr. gaben 0,0820 gr.  $K_2SO_4$  oder 8,32% K.

0,8240 gr. gaben 0,0351 gr.  $BaSO_4$ , was 0,58% S entspricht.

Eine Mischung von 90%  $C_{26}H_{42}KNO_5$  und 10%  $C_{26}H_{44}KNSO_6$  würde 2,84% N, 7,96% K und 0,59% S enthalten.

Das Ammoniumsalz. Zuerst mit Salmiak ausgeschieden und dann mit Aether aus alkoholischer Lösung gefällt, bildete es einen weissen, käseähnlichen Niederschlag, der bald unter dem Aether zu einer gelblichen, syrupösen Masse zusammenschmolz, welche selbst nach Monaten noch keine Anzeichen einer Krystallisation zeigte.

Das Bariumsalz. Darstellung und Eigenschaften desselben sind bereits im Obigen beschrieben worden.

0,4394 gr. bei  $100^{\circ}$  getrockneten Salzes gaben 0,9112 gr. CO und 0,3061 gr.  $H_2O$ , was 56,56% C und 7,74% H entspricht.

0,6717 gr. aus Spiritus ausgefallenen, über Schwefelsäure getrockneten Salzes gaben 0,1183 gr.  $BaCO_3$  oder 12,25% Ba. Die Formel  $C_{26}H_{42}BaNO_5 + 2H_2O$  fordert 56,47% C, 8,32% H und 12,39% Ba<sup>1)</sup>.

Das Calciumsalz gleicht in allen Hinsichten dem Bariumsalz, scheint aber in Alkohol noch leichter löslich zu sein. Das mit Aether aus der Alkohollösung ausgefällte und bei  $100^{\circ}$  getrocknete Salz wurde analysirt, und so gaben dann:

0,4220 gr. 1,0384 gr.  $CO_2$  und 0,3565 gr.  $H_2O$ .

1) Selbstredend bestand auch dieses und die folgenden Salze aus Mischungen mit hyotaurocholsauren Salzen. Ich habe es jedoch nicht als nothwendig erachtet, in jedem einzelnen Fall den Schwefelgehalt zu bestimmen.

Dieses entspricht 67,31 % Kohlenstoff und 9,38 % Wasserstoff, während die Formel  $C_{26}H_{42}CaNO_5$  resp. 66,67 und 8,97 % fordert.

Das Magnesiumsalz. Wenn eine concentrirte Lösung von  $\beta$ -Natriumsalz tropfenweise mit einer concentrirten Magnesiumsulfatlösung versetzt wird, so entsteht ein dicker, weisser Niederschlag, der sich im Anfange bei dem Umrühren wieder löst, dann aber permanent wird und bald zu einem zähen Syrup am Boden des Gefässes zusammenschmilzt. Bei dem Decantiren der überstehenden Flüssigkeit und Behandlung der Fällung mit Wasser geht dieser Syrup zum grössern oder geringern Theil in weisse Flocken über, welche sich unter dem Mikroskop aus kleinen, platten, stumpfen, oft sternförmig zusammengewachsenen Krystallnadeln bestehend zeigen. Nach dem Abfiltriren trockneten diese Krystalle bald zu spröden, durchscheinenden Massen zusammen, die sich ohne Schwierigkeit pulverisiren liessen.

0,2107 gr. an der Luft getrockneten Salzes verloren bei 100—105° 0,0241 gr. oder 11,44 % an Gewicht. Dieses entspricht am nächsten der Zusammensetzung  $C_{26}H_{42}MgNO_5 + 3\frac{1}{2} H_2O$ , wo der Wassergehalt ist = 12,04 %.

Die Formel  $C_{26}H_{42}MgNO_5 + 3 H_2O$  fordert 10,51 % Wasser.

0,6482 gr. eines Präparates, welches durch Lösung des ausgefällten Salzes in Alkohol, Ausfällung mit Aether und Trocknung bei 100° bereitet worden, gaben bei dem Glühen 0,0300 gr. Mg O, was 2,77 % Mg entspricht.

Die Formel  $C_{26}H_{42}MgNO_5$  fordert 2,61 % Mg.

0,7658 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung 17,7 chem. Säure, was 0,02128 gr. N oder 2,78 % entspricht.

Die Formel fordert 3,04 %.

Das Silbersalz. Gefällt mit Silbernitrat aus einer Lösung von  $\beta$ -Natriumsalz, bildet dasselbe einen sehr voluminösen, gelatinösen Niederschlag. Dieser wurde in Alkohol gelöst und mit Aether gefällt, abfiltrirt und dann bei gewöhnlicher Temperatur ohne Zutritt des Lichtes getrocknet. Derselbe wurde jedoch nicht unbedeutend dunkler, und als er sodann, nach Pulverisiren bei 100°, getrocknet wurde, zeigte er die Tendenz zu schmelzen und nahm dabei eine sehr dunkle, schwarzbraune Farbe an. Der Verlust an Gewicht



hierbei belief sich jedoch nur auf ungefähr 1%. Zwei Bestimmungen des Silbergehaltes des getrockneten, ohne Zweifel etwas veränderten Salzes gaben 19,44 und 19,76% Silber: die Formel  $C_{36}H_{42}AgNO_3$  fordert 19,42% Ag.

Das Bleisalz. Der weisse, voluminöse, bei Erhitzung in der Flüssigkeit schmelzende Niederschlag, der durch Bleizucker in einer Lösung von  $\beta$ -Natriumsalz hervorgerufen wird, ist, gleich dem ihm entsprechenden  $\alpha$ -Salz, kein neutrales, sondern ein basisches Salz, oder vielmehr eine Mischung von Bleihyoglykocolat und Bleioxydhydrat in wechselnden Verhältnissen. Die im Wasserbad ausgetrocknete Fällung wurde pulverisirt und sodann bei 95° noch mehr getrocknet, wobei das Salz bereits zu schmelzen begann.

0,5407 gr. gaben beim Glühen einen Rückstand von 0,1224 gr., welcher als PbO berechnet, 21,01% Pb entspricht.

0,2652 gr. gaben 0,0597 gr. Glühungsrückstand = 20,89% Pb.

Die Formel  $C_{26}H_{42}pbNO_3$  fordert nur 18,77% Blei.

Das Kupfersalz. Auch dieses hat eine wechselnde Zusammensetzung und scheint sich wie das entsprechende Salz der  $\alpha$ -Säure zu verhalten. Eine mässig verdünnte Lösung von  $\beta$ -Natriumsalz wird von Kupfersulfat so vollständig gefällt, dass das Filtrat bei Zusatz von Säure keine Trübung zeigt. Der Niederschlag wurde mit kaltem Wasser ausgewaschen (wobei er sich in geringer Menge löste), bis das Filtrat nicht mehr für Schwefelsäure reagierte, ausgepresst und bei 100° getrocknet.

0,5639 gr. gaben 0,0494 gr. Kupferoxyd, entsprechend 6,99% Cu.

Der Niederschlag schien also wenigstens hauptsächlich aus neutralem Salz (die Formel  $C_{26}H_{42}cuNO_3$  fordert 6,61% Kupfer) zu bestehen, aber als er in 96procentigem Alkohol gelöst wurde, schied bei Abkühlung ein Theil aus, der mit Weingeist eine sauer reagirende Lösung gab, aus deren Filtrat nach Fällung mit Aether und Auspressung der ausgefällten Substanz, Trocknen, Pulverisiren und erneutem Trocknen bei 100° ein Salz oder wahrscheinlicher eine Mischung von basischer Natur erhalten wurde, denn

0,3074 gr. gaben 0,0345 gr. CuO, entsprechend 8,96% Cu.

0,4414 gr. gaben 0,0501 gr. CuO, entsprechend 9,06% Cu.

Es hat also den Anschein, als ob das neutrale Kupfersalz sehr leicht zu Mischungen von saurer und basischer Beschaffenheit zersetzt würde.

Die freie  $\beta$ -Hyoglykocholsäure gleicht in den meisten Hinsichten sehr der vorher bekannten Schweinegallensäure. Ausgefällt mit einer hinreichenden Menge verdünnter Mineralsäure oder Essigsäure, bildet sie einen voluminösen, flockigen, weissen Niederschlag, welcher bald zu einer zähen, mehr oder weniger klebrigen, seidglänzenden Masse von einer in das Gelbe stossenden Farbe zusammenbäckt. Hat die Fällung bei gewöhnlicher Temperatur stattgefunden, so wird diese Masse bald ziemlich hart und fest, aber in diesem feuchten Zustand wird sie schon durch die Wärme der Hand erweicht und dann knetbar wie Wachs, um bei gelinder Abkühlung gleich wieder spröde zu werden. Ist die Säure dahingegen getrocknet worden, so kann sie in pulverisirtem Zustand in Wasserbadwärme erhitzt werden, ohne dass sich ein Zeichen von Schmelzung wahrnehmen lässt, bei einer Erhitzung (im Trockenschrank) bis zu  $100^{\circ}$  aber beginnt sie zusammenzusintern, und bei einer nur wenig höhern Temperatur schmilzt sie zu einer glasartigen Masse, welche auch bei Abkühlung vollständig klar bleibt. Der Schmelzpunkt lässt sich nicht exact bestimmen, denn die Säure erweicht bei Erhitzung und geht allmählich in den geschmolzenen Zustand über. Die Versuche, welche ich angestellt habe, scheinen indessen darzuthun, dass die Schmelztemperatur auf der Genauigkeit beruht, mit welcher die Säure ausgetrocknet worden ist. So schmolz pulverisirte Säure, welche lange im Exsiccator getrocknet worden war, aber noch  $1,4\%$  Feuchtigkeit enthielt, bei ungefähr  $132-137^{\circ}$ , während dieselbe Säure, bis zum Schmelzen erhitzt und unmittelbar nach der Abkühlung pulverisirt, nicht eher als bei  $150^{\circ}$  vollständig schmolz. Die geschmolzene Säure hatte eine gelbbraune Farbe, die um so dunkler war, je höher die Temperatur gesteigert gewesen. Nach Abkühlung giebt sie ein in hohem Grade electrisches Pulver. Bei stärkerer Erhitzung zersetzt sich die Säure unter Abgabe einer bedeutenden Menge theerähnlicher, mit stark

russender Flamme verbrennender und eigenthümlich — beinahe nicotinartig — riechender Destillationsproducte.

Die  $\beta$ -Hyoglykocholsäure löst sich etwas in Wasser. Wird die trockne Säure auf blaues Lackmuspapier gelegt und mit Wasser befeuchtet, so färbt sich das Papier da, wo die Säure liegt, intensiv roth. In Folge dieser Löslichkeit hat die Säure einen, wenn auch ziemlich langsam hervortretenden, ausgeprägt bitteren Geschmack. Von Alkohol wird die Säure sehr leicht gelöst und aus dieser Lösung bei Zusatz von Aether ausgefällt, doch verbleibt hierbei ein nicht unbedeutender Theil in der Alkohol-Aethermischung gelöst. Von concentrirter Essigsäure und auch von starken Mineralsäuren wird die  $\beta$ -Säure ziemlich leicht gelöst. Concentrirte Schwefelsäure giebt mit ihr, ebenso wie mit andern Gallensäuren, eine gelbrothe Lösung, die besonders nach mässiger Erwärmung eine starke grüne Fluorescenz zeigt. Von Ammoniak und verdünnten Lösungen von kohlen-sauren oder kaustischen Alkalien wird die Säure leicht gelöst. Wird dieselbe hinwiederum mit starker Alkalilauge begossen, so verändert sie sich nicht merkbar, doch löst sie sich, nachdem die Lauge abgegossen worden, leicht in Wasser und ist also in Alkalisalz übergeführt worden.

Alle Versuche, die Säure in krystallisirtem Zustand zu erhalten, sind gescheitert. Auch bei sehr langsamer Eindampfung, monatelanger Einwirkung von Aether u. s. w. setzte sie sich stets in der Form von grössern oder kleinern, harzartigen Tropfen ab. Bei Versuchen, die in Spiritus gelöste Säure mit schwacher Natronlauge von bekannter Stärke zu titriren, zeigte es sich, dass neutrale Reaction eintritt, noch ehe  $\frac{3}{4}$  der berechneten Alkalimenge zugesetzt sind. Auch hat ja, wie schon oben erwähnt worden ist, die Wasserlösung des  $\beta$ -Natriumsalzes deutlich alkalische Reaction.

Wenn die trockne, pulverisirte Säure mit Wasser befeuchtet wird, so nimmt sie dieses allmählich auf und bäckt zu einer, festen, zusammenhängenden, leicht schmelzenden Masse zusammen.

Die  $\beta$ -Säure, in Alkohol gelöst, ist rechtsdrehend. Ihre spezifische Rotation wurde bei ungefähr  $22^\circ$  bestimmt und ist  $(\alpha)_D = +8,2^\circ$ .

Die  $\beta$ -Säure giebt Pettenkofer's Reaction ebenso leicht und mit ungefähr denselben Farbennuancen wie die andern Gallensäuren. Die dabei entstehende rothviolette, grün fluorescirende Lösung zeigte im Spektroskop dasselbe Verhalten wie die andern Gallensäuren, indem sie ein einigermaßen deutliches Absorptionsband zwischen D und E, nahe an E, und ein sehr undeutliches, mehr nach dem Violett hin liegendes gab<sup>1)</sup>. Des Vergleiches wegen suchte ich die Lage der Mitte des ersten Bandes für mehrere aus verschiedenen Gallensäuren dargestellte Lösungen zu bestimmen. Das Band war jedoch so schwach und undeutlich begrenzt, dass scharfe Ablesungen nicht möglich waren; die angeführten Zahlen sind daher Durchschnittszahlen einer Menge von Ablesungen. Dieselben beziehen sich übrigens direct auf die Scala des angewandten Wrede'schen Instrumentes, auf welcher D von 22,31 E von 19,05 entsprechen wurde. Bei Versuchen mit einer Lösung, dargestellt:

aus $\beta$ -hyoglykocholsaurem Natrium, lag die Mitte des Bandes bei	19,70,
» $\beta$ -hyoglykocholsaurem Kalium, » » » » » » »	19,60,
» $\alpha$ -hyoglykocholsaurem Natrium, » » » » » » »	19,78,
» $\alpha$ -hyoglykocholsaurem Natrium (bei einer anderen Versuchsserie), lag die Mitte des Bandes bei . . . . .	19,74,
» einer Mischung von ochsengallensauren Natriumsalzen, lag die Mitte des Bandes bei . . . . .	19,97.

Die Differenzen zwischen den verschiedenen Zahlen sind geringer, als die Differenz zwischen den verschiedenen Ab-

1) Dieses war — in Uebereinstimmung mit der zuerst von Schenk gelieferten Beschreibung — der Fall, wenn die Reaction durch Zusatz conc. Schwefelsäure zu der Lösung von Gallensäure + Rohrzucker ausgeführt wurde, wo die dabei entstehende Wärmeentwicklung die Reaction vollendete. Wurde hinwiederum von Anfang an schwächere Säure (= concentrirte, mit ihrem halben Volumen Wasser verdünnte) angewendet, so dass die Mischung nachher erwärmt werden musste, so waren die oben genannten Bänder gewöhnlich durch eine diffuse Absorption im Grün und Blau ersetzt, während ein neues, starkes Band im Orange bei 22,9 auf der Scala auftrat.

lesungen für eine und dieselbe Lösung, mithin sicherlich ohne alle Bedeutung.

Bei der Analyse verschiedenartig bereiteter  $\beta$ -Säure wurden folgende Resultate erhalten:

A. Säure mit Wasser aus alkoholischer Lösung gefällt, wieder in Alkohol aufgelöst, eingedampft, bei  $100^\circ$  geschmolzen, pulverisirt und über Schwefelsäure getrocknet, gab aus:

0,4074 gr.  $1,0232$  gr.  $\text{CO}_2$  und  $0,3489$  gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .

B. Säure, pulverisirt und im Exsiccator mehrere Monate lang getrocknet, gab aus:

0,3799 gr.  $0,9617$  gr.  $\text{CO}_2$  und  $0,3427$  gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .

C. Säure, geschmolzen, pulverisirt und über Schwefelsäure getrocknet:

0,5837 gr. neutralisirten bei N-Bestimmung  $13,4$  chem. Säure =  $0,016528$  gr. N.

D. Säure, aus reinstem Natriumsalz gefällt und über Schwefelsäure getrocknet, welche Säure, gemäss besonderer Bestimmungen,  $1,43\%$  Feuchtigkeit und  $0,16-0,22$ , also im Mittel  $0,19\%$  Asche enthielt <sup>1)</sup>, gab:

aus  $0,3340$  gr.  $0,8319$  gr.  $\text{CO}_2$  und  $0,2926$  gr.  $\text{H}_2\text{O}$ ,

aus  $0,2333$  gr.  $0,5869$  gr.  $\text{CO}_2$  und  $0,2098$  gr.  $\text{H}_2\text{O}$ ;

$0,6853$  gr. neutralisirten bei N-Bestimmung  $16,4$  chem. Säure =  $0,02027$  gr. N und

$0,6637$  gr. gaben  $0,0254$  gr.  $\text{BaSO}_4$  =  $0,0035$  gr. S, entsprechend einem Gehalt von ungefähr  $8\%$   $\beta$ -Hyotaurocholsäure.

In Procenten:

		Berechnet		Gefunden:			
für $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_5$ :		für $92\%$ $\beta$ -Hyoglykocholsäure + $8\%$ $\beta$ -Hyotaurocholsäure:					
$\text{C}_{26}$	= 312	69,49	68,93	68,49	69,04	69,05	69,71
$\text{H}_{43}$	= 43	9,57	9,52	9,51	10,02	9,73	9,99
N	= 14	3,12	3,09	2,83	—	3,01	—
$\text{O}_5$	= 80	17,82	17,95	—	—	—	—
	449	100,00	S = 0,51	—	—	—	0,53

<sup>1)</sup> Die Procentzahlen sind nach Abzug für Feuchtigkeit und Asche berechnet.

Als eine Probe der Säure (D) zu circa  $140^{\circ}$  erhitzt wurde, zeigte sie, nachdem sie 6,08 oder, nach Abzug für die Feuchtigkeit, 4,65% an ihrem Gewicht verloren, ein nahezu constantes Gewicht. Vielleicht hatte sich hierbei eine Anhydrid  $C_{26}H_{41}NO_4$  — welche einen Gewichtsverlust von 4,01% bedingt — gebildet, aber schon bei  $160^{\circ}$  trat ein fernerer Gewichtsverlust ein, und die Säure schien im Zersetzen begriffen.

(Fortsetzung folgt.)