

## Ueber eine neue Gruppe gepaarter Gallensäuren.

Von

**Olof Hammarsten.**

(Der Redaction zugegangen am 15. November 1897.)

Im Herbste 1890 überlieferte mir Herr Dr. Jägerskiöld, Docent der Zoologie an der hiesigen Universität, zur Untersuchung eine Portion Galle von dem grossen Haisische *Scymnus borealis*, Scoresby (*Somniosus microcephalus*, Schneider). Die orientirende Untersuchung dieser Galle lieferte so unerwartete und schwerverständliche Resultate, dass eine fortgesetzte Untersuchung mir in hohem Grade wünschenswerth erschien. Durch das sehr lebenswürdige Entgegenkommen des Herrn Prof. Torup in Christiania und des Herrn Sparre-Schneider in Tromsö ist mir eine solche Untersuchung auch später möglich geworden, indem ich nämlich, ihren Bemühungen zu Folge, noch zweimal, nämlich in den Jahren 1891 und 1892, solche Galle zur Untersuchung erhielt. Ich benütze diese Gelegenheit, um den genannten drei Herren hiermit meinen ergebensten und besten Dank abzustatten.

Die unerwarteten Resultate, die ich bei der Untersuchung dieser Galle erhielt und die zu einer Verarbeitung derselben nach anderen als den bisher üblichen Methoden nöthigten, wie auch die überraschend grossen Schwierigkeiten, die einer Trennung und Reindarstellung der verschiedenen Gallensäuren im Wege standen, führten allmählich zu einem fast vollständigen Verbrauch des gesammten Materials, ohne dass ich die Arbeit zu einem befriedigenden Abschluss bringen konnte. Da diese Arbeit also sehr lückenhaft ist, habe ich viele Jahre mit der Veröffentlichung derselben gezögert, und ich war mehrere Male sogar fast entschlossen, von einer solchen gänzlich Abstand

zu nehmen. Da ich indessen kaum das zum Abschluss der Arbeit nöthige Material erhalten werde, und da ferner wenigstens einige Hauptresultate meiner Untersuchung nicht ohne Interesse sein dürften, habe ich — dem Rathe einiger Collegen folgend — zu dieser Publication mich entschlossen.

Das Aufsammeln der Galle geschah in der Weise, dass man sie, möglichst rasch nach dem Einfangen und Tödten des Thieres, aus der Blase direct in zu dem Zwecke auf dem Schiffe in Bereitschaft gehaltene, zum grössten Theile mit Alkohol gefüllte Flaschen aus Eisenblech einfliessen liess. In dieser Weise konnte ich also eine ganz frische und für die qualitative Untersuchung vollkommen brauchbare Galle erhalten.

Die alkoholische Gallenlösung war schwach gelbbraun gefärbt und diese Farbe rührte weder von Bilirubin noch von Urobilin her. Vielleicht handelte es sich um ein während der Aufbewahrung der Galle entstandenes Umwandlungsprodukt des normalen Gallenfarbstoffes.

Der Alkohol wurde abdestillirt und der syrupöse Rückstand mit Alkohol von 95% behandelt. Es blieb hierbei eine reichliche Menge von Salzen neben ein wenig organischer Substanz (Gallenschleim) zurück. Die wasserlöslichen Salze bestanden fast ausschliesslich aus Chlornatrium mit ein wenig Sulfat. Kaliumsalze waren nicht vorhanden.

Die von den Salzen abfiltrirte alkoholische Lösung wurde wiederum durch Destillation von dem Alkohol befreit und zu einem in der Wärme dickflüssigen Syrup verdunstet. Es war hierbei auffallend, dass dieser Syrup beim Erkalten sich stark trübte, was, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, von einer reichlichen Ausscheidung von Krystallnadeln herrührte. Eine fortgesetzte Untersuchung lehrte, dass diese Krystalle aus Harnstoff bestanden, der in reichlichen Mengen in dieser Haifischgalle vorkommt. Ich habe den Harnstoff in ganz reinem Zustande aus der Galle isolirt und die Identität der Krystalle sowohl durch qualitative Reactionen wie durch Stickstoffbestimmung festgestellt.

Das reichliche Vorkommen von Harnstoff in der Haifischgalle hat nichts Auffallendes, indem nämlich schon die älteren

Untersuchungen von Staedeler und Frerichs<sup>1)</sup> das reichliche Vorkommen von Harnstoff in den verschiedenen Organen dieser Thiere dargethan hatten. Spätere Untersuchungen von v. Schröder<sup>2)</sup> bestätigten diesen Befund und zeigten zudem, dass das Blut eines Haifisches (*Scyllium catulus*) sogar 2.61% Harnstoff enthielt.

Eine andere Eigenthümlichkeit dieser Galle war die, dass sie gar kein Cholesterin enthielt.

Zur Prüfung auf Cholesterin wurde die Galle auf die gewöhnliche Weise verarbeitet, wobei es indessen sehr schwer und kostspielig war, die gallensauren Salze und den Harnstoff durch wiederholte Fällungen mit Aether zu entfernen. Die zuletzt erhaltenen ätherlöslichen Stoffe stellten eine amorphe, thranähnlich riechende Masse dar, die keinen Harnstoff mehr enthielt und die aus in dem Aether nicht ganz unlöslichen gallensauren Alkalien und etwas Fett bestand. Nach dem Verseifen mit alkoholischer Kalilauge ergab die Prüfung auf Cholesterin nach dem üblichen Verfahren ein ganz negatives Resultat. Dieser Versuch wurde mit einer grossen Portion Galle, die etwa 90 gr. gallensauren Alkalien entsprach, wiederholt, und zwar mit demselben Erfolge. Es konnte keine Spur Cholesterin nachgewiesen werden. Die Menge der ätherlöslichen Stoffe war übrigens eine sehr kleine und sie betrug in diesem letzten Falle nur etwa 1 gr., von dem ein grosser Theil aus gallensauren Alkalien bestand.

Die von anorganischen Salzen mittelst Alkohols gereinigte, eingetrocknete und dann in Wasser gelöste Galle wurde von verdünnten Säuren, sei es anorganischen oder organischen, nicht gefällt. Ebenso wenig wurde sie gefällt von den Salzen der alkalischen Erden oder der gewöhnlichen Schwermetalle. Nur Eisenchlorid oder basisches Bleiacetat erzeugte einen Niederschlag.

Der grosse Harnstoffgehalt der Galle wie auch die nicht unbedeutende Löslichkeit der gallensauren Alkalien in Alkohol-

<sup>1)</sup> Journal f. prakt. Chem. Bd. 73.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14.

ther machte eine Trennung der letzteren von anderen Gallenbestandtheilen durch Fällung der alkoholischen Lösung mit Aether zu schwierig und kostspielig. Aus diesem Grunde schlug ich die gallensauren Salze aus wässriger Lösung erst mit basischem Bleiacetat so vollständig wie möglich nieder. Das Filtrat gab mit Bleiessig und Ammoniak einen zweiten, sehr reichlichen Niederschlag: und das hiervon getrennte Filtrat enthielt nunmehr nur sehr unbedeutende Mengen von gallensauren Salzen. Die Bleiniederschläge wurden gesondert aufgesammelt und verarbeitet.

Nachdem die Bleiniederschläge in der Kälte hinreichend hart und spröde geworden, wurden sie mit Wasser fein zerrieben und ausgewaschen. Darauf wurden sie durch Behandlung mit Wasser und Natriumcarbonat in gelinder Wärme in die Alkalisalze zurückverwandelt. Die Filtrate von dem Bleicarbonat wurden concentrirt und durch Zusatz von Alkohol zum Theil von überschüssigem Carbonat befreit. Das neue Filtrat wurde zum dicken Syrup verdunstet und mit absolutem Alkohol behandelt. Nach der Filtration wurde zur Trockne verdunstet, in Alkohol gelöst und dieses Verfahren noch ein paar Mal wiederholt. Die in dieser Weise von Natriumcarbonat vollständig befreiten Salze wurden zuletzt aus alkoholischer Lösung mit Aether gefällt.

Die so erhaltenen Salze der Gallensäuren erwiesen sich später als ein Gemenge von mindestens drei verschiedenen Salzen, die alle in schönster Weise die Pettenkofer'sche Gallensäurereaction wie auch die Fluorescenzprobe gaben.

Bevor diese Verhältnisse mir bekannt waren und bevor ich also einige Versuche zur Trennung der verschiedenen Gallensäuren gemacht hatte, stellte ich einige Vorversuche mit der Galle an.

Ich ging dabei von der Voraussetzung aus, dass in der Haifischgalle wahrscheinlich, wie in der Galle anderer Thiere, gepaarte Gallensäuren der Glykochol- und Taurocholsäuregruppe vorhanden sein würden. Ursprünglich hatte ich auch eigentlich kein anderes Resultat der ganzen Untersuchung als etwa den Fund einer neuen Cholalsäure erwartet, und mein erstes

Unternehmen bestand deshalb auch darin, eine ziemlich grosse Portion der Galle 24 Stunden bei etwas über 100° C. mit Barythydrat zu kochen. Das Filtrat nach beendetem Kochen und Erkalten wurde durch Säurezusatz nicht gefällt, es wurde nur schwach opalisirend, und es erwies sich bei genauerer Untersuchung als fast ganz frei von gallensaurem Salz. Das cholalsäure Baryum musste also jedenfalls in kaltem Wasser sehr schwer löslich sein und aus dem Grunde wurde der Rückstand wiederholt mit Wasser ausgekocht und heiss filtrirt. Beim Erkalten schieden sich aus dem Filtrate rein weisse Flöckchen aus, die allmählich einen aus lauter feinen Krystallnadeln bestehenden Bodensatz bildeten. Die Krystalle, die auch in warmem Wasser schwer löslich waren, lösten sich dagegen sehr leicht in kaltem Alkohol. Durch Zusatz von siedend heissem Wasser zu der alkoholischen Lösung, bis zu beginnender Opalescenz, schied sich die Substanz nach dem Erkalten wieder in Ballen oder Flöckchen von weissen Nadeln aus. Ich glaubte also hier das Baryumsalz der Cholalsäure in den Händen zu haben und unternahm deshalb eine Baryumbestimmung desselben. Zu meiner grossen Ueberraschung enthielt aber die Substanz gar kein Baryum — sie war absolut aschefrei — und es konnte sich also offenbar nicht um cholalsäures Baryum handeln.

Der mit siedendem Wasser erschöpfte Rückstand des Bodensatzes in dem Gefässe nach dem Kochen mit Barythydrat löste sich leicht in Alkohol bis auf einen aus Baryumcarbonat und anderen Salzen ( $BaSO_4$ ) bestehenden Rest. Aus dieser alkoholischen Lösung konnte ich durch Zusatz von Wasser eine harzige Masse ausfällen, die ich jedoch in keiner Weise krystallisirt erhalten konnte. Sie wurde durch wiederholtes Auflösen in Alkohol und Ausfällen mit Wasser gereinigt und dann über Schwefelsäure getrocknet. Sie stellte eine blassgelbe Masse dar, die beim Zerreiben elektrisch wurde und ein fast weisses Pulver lieferte. Nach dem Trocknen bis zum constanten Gewicht wollte ich den Barytgehalt desselben bestimmen, bekam aber auch hier wieder dasselbe Resultat — die Substanz war aschefrei. Auch hier lag also kein cholalsäures Baryum vor.

Eine Erklärung dieser Verhältnisse konnte ich damals nicht geben. Sowohl die krystallisirende wie die amorphe Substanz gab eine sehr schöne Pettenkofer'sche Reaction und ebenso die Fluorescenzprobe mit Schwefelsäure. Sie hatten beide den bitter-süssen Geschmack der Galle, und ich konnte also keine tiefgreifendere Spaltung durch das Kochen mit Barythydrat annehmen. Die Entstehung von Anhydriden der Gallensäuren konnte ich ebenfalls kaum annehmen, da die Dyslysine bekanntlich durch Sieden mit Basen in die Gallensäuren zurückverwandelt werden.

Es schien mir indessen wichtig zu sein, den Versuch in der Weise zu wiederholen, dass ich die gallensauren Salze kürzere Zeit mit verdünnter Kalilauge erhitzte. Zu dem Ende kochte ich eine neue Portion Galle mit 10procentiger Kalilauge in einem gewöhnlichen Glaskolben. Nach Verlauf von etwa einer Stunde wurde die Flüssigkeit trübe und nach noch einiger Zeit schied sich eine ölige Masse ab, die beim Erkalten harzähnlich erstarrte. Durch Auskochen mit Wasser erhielt ich aus ihr sowohl die krystallisirende wie die amorphe Substanz, die beide aschefrei waren und anscheinend wie die entsprechenden, nach dem Erhitzen mit Barythydrat erhaltenen Substanzen sich verhielten. Zu einer Analyse waren die Mengen in diesem Falle zu klein.

Da die bisher gewonnenen Resultate etwas schwerverständlich waren, fand ich es nöthig, bevor ich etwas grössere Mengen zur Darstellung der obigen Produkte verwendete, auch in anderen Richtungen orientirende Untersuchungen zu machen. Namentlich schien es mir wichtig zu sein, über den Schwefelgehalt wie auch über den Gehalt an Taurocholsäure in den gallensauren Salzen Auskunft zu erhalten.

Zu dem Ende bestimmte ich den Gehalt an Schwefel und Stickstoff in folgenden 5 Fractionen der gallensauren Alkalien. Diese Fractionen waren durch Fällung theils mit Bleiessig allein (1 und 2) und theils mit Bleiessig und Ammoniak (3—5) erhalten. Nähere Angaben über deren Darstellung dürften kaum nothwendig sein, da diese Fractionen, wie sich später herausstellte, nicht aus einheitlichen Substanzen

bestanden. Die Bleisalze wurden, wie oben angegeben, in die Natriumsalze zurückverwandelt. Die Fractionen enthielten:

	S	N
Fraction 1	5.460 %	0.67 %
.. 2	5.392 ..	—
.. 3	4.896 ..	0.45 ..
.. 4	5.230 ..	0.36 ..
.. 5	5.421 ..	0.79 ..

Der Gehalt an Schwefel war also in den verschiedenen Präparaten ein wenig schwankend, aber jedenfalls ein ziemlich hoher, oder als Mittel 5,28<sup>o</sup> o. Der Gehalt an Schwefel in dem gewöhnlichen Natriumtaurocholate ist bekanntlich gleich 5,96<sup>o</sup> o, und die Analyse würde also für einen hohen Taurocholsäuregehalt der Haifischgalle sprechen, wenn nicht der unerwartet niedrige Stickstoffgehalt mit einer solchen Annahme im Widerspruche sich befände. Das gewöhnliche Natriumtaurocholat enthält nämlich 2,60<sup>o</sup> o Stickstoff, die Salze der Haifischgalle im Mittel dagegen nur 0,568<sup>o</sup> o. Die Relation S:N ist also in jenem Falle gleich 100:43,6, in diesem dagegen gleich 100:10,8. Es müssten also in der Haifischgalle ganz andere Verhältnisse sich vorfinden, und ich bemühte mich deshalb, durch Sieden mit Chlorwasserstoffsäure aus der Galle Taurin oder andere in ihr etwa vorkommende schwefelhaltige Paarlänge darzustellen.

Diese meine Bemühungen waren indessen ohne Erfolg. Nach dem Entfernen der beim Sieden entstandenen harzähnlichen Massen (Dyslysin) erhielt ich nur eine sehr geringe Menge humusähnlicher Substanz und im Uebrigen, wie es schien, nur Alkalichloride und Sulfate. Da die Gegenwart dieser Salze die Reindarstellung des Taurins einigermaßen erschwerte, machte ich einen neuen Versuch mit einer etwas grösseren Menge Galle nach einem anderen Verfahren.

Ich schlug die Lösung einer grösseren Portion der gallensauren Alkalien in Wasser mit Bleiessig und Ammoniak nieder, zertheilte den gewaschenen Niederschlag möglichst fein in Alkohol und behandelte ihn mit Schwefelwasserstoff bis zur vollständigen Zersetzung. Das alkoholische Filtrat wurde durch

stehen in flachen Schalen von dem Schwefelwasserstoff befreit, wobei es binnen 24 Stunden ohne Weiteres zu einem dicken Syrup eintrocknete. Ich löste den letzteren in Wasser (klare Lösung), setzte verdünnte Schwefelsäure hinzu und kochte, bis keine harzigen Massen sich mehr abschieden. Aus dem Filtrate wurde die Schwefelsäure mit Barythydrat in geringem Ueberschuss entfernt, die Flüssigkeit abfiltrirt und der Rückstand ( $\text{BaSO}_4$ ) mit Wasser ausgekocht. Filtrat und Wasser wurden vereinigt, etwas concentrirt, mit  $\text{CO}_2$  von überschüssigem Baryt befreit und nach der Filtration eingetrocknet. Der Rückstand, dessen Gewicht 0,2128 gr. betrug, wurde mit Wasser behandelt. Die Hauptmasse ( $\text{BaCO}_3$ ) blieb hierbei ungelöst und es gingen nur geringe Mengen Substanz in die wässrige Lösung über. Das Gelöste stellte nach dem Eintrocknen eine amorphe, gelbliche Masse dar, die nicht mehr als 0,029 gr. wog. Diese Masse, in der kein Taurin nachzuweisen war, hatte einen bitteren Geschmack, gab die Pettenkofer'sche Reaction und bestand also aus einem geringfügigen Reste zersetzter Gallensäuren.

Die beim Sieden mit Schwefelsäure abgeschiedenen harzähnlichen Produkte wurden gesammelt und gewogen. Ihr Gewicht war 3,6 gr., und auf Grund der später gewonnenen Erfahrungen konnte ich hieraus berechnen, dass etwas mehr als 5 gr. Gallensäuren zersetzt worden waren, ohne dass ich etwas Taurin hatte nachweisen können. Ich musste hieraus also den Schluss ziehen, dass unter den verarbeiteten Gallensäuren keine Taurocholsäure sich vorfand.

Da ich aber ebensowenig irgend welche andere organische, schwefelhaltige Substanz als Spaltungsprodukt hatte nachweisen können, blieb mir kaum etwas anderes übrig, als die Annahme, dass der Schwefel als Schwefelsäure — wie aus einer Aetherschwefelsäure — sich abgespaltet hätte. Diese Annahme erwies sich auch als richtig. Ich löste eine kleine Portion gallensaure Salze in Wasser, setzte verdünnte Salzsäure, bis zu 10%  $\text{HCl}$ , hinzu und erhitze zum Sieden. Nach 7 Minuten trat eine starke Trübung auf, und es schieden sich ölige Tropfen ab. Die Lösung, die vor dem Sieden gar keine Reaction auf Schwefel-

säure gab, trübte sich nunmehr stark mit  $\text{BaCl}_2$  und setzte einen aus  $\text{BaSO}_4$  bestehenden Niederschlag ab.

Ich suchte nun demnächst zu ermitteln, wie gross der als Schwefelsäure sich abspaltende Theil des Schwefels in den gallensauren Alkalien war, und zu dem Zwecke verfuhr ich in folgender Weise. Ich löste eine genau abgewogene Menge der bis zum constanten Gewichte getrockneten Gallensalze in Wasser und setzte  $\text{BaCl}_2$  hinzu. Nachdem im Laufe von 24 Stunden keine Trübung entstanden war, setzte ich Chlorwasserstoffsäure bis zu 10% hinzu und erhitzte im Wasserbade<sup>1)</sup> mehrere Stunden. Dann wurde in demselben Becherglase eingetrocknet, der Rückstand vollständig mit Alkohol und Aether erschöpft und durch ein kleines Filtrum filtrirt. Der Rückstand im Becherglase wurde nun mit siedendem Wasser, dann mit verdünnter, warmer Salzsäure und darauf wiederum mit Wasser, Alkohol und Aether behandelt, wobei natürlich durch dasselbe Filtrum immer filtrirt wurde. Nachdem alles auf dem Filtrum gesammelt war, wurde wiederum mit Alkohol und Aether behandelt, getrocknet, verbrannt und das Baryumsulfat wie gewöhnlich bestimmt.

Ich machte derartige Schwefelbestimmungen in denselben 5 Fractionen, in denen vorher die Gesammtmenge des Schwefels bestimmt worden war, und des Vergleiches halber stelle ich hier die beiden Bestimmungsreihen nebeneinander:

	Gesamtschwefel.	Schwefel als Schwefelsäure abspaltbar.	Differenz.
Fraction 1. . .	5,460 ‰	4,45 ‰	1,010 ‰
.. 2. . .	5,392 ‰	4,905 ‰	0,487 ‰
.. 3. . .	4,896 ‰	4,30 ‰	0,596 ‰
.. 4. . .	5,230 ‰	4,79 ‰	0,440 ‰
.. 5. . .	5,421 ‰	4,42 ‰	1,001 ‰

Diese Zahlen zeigen ganz unzweideutig, dass die Hauptmenge des Schwefels als Schwefelsäure sich abspalten lässt.

<sup>1)</sup> Beim Sieden über freiem Feuer trat bald nach der begonnenen Zersetzung ein so starkes Stossen auf, dass das fortgesetzte Erhitzen unmöglich wurde.

Daneben machen sie es aber auch sehr wahrscheinlich, dass die obigen 5 Fractionen nicht eine einheitliche Substanz enthalten, sondern aus Gemengen von mehreren bestanden. Dem ist in der That auch so.

Schon in dem Vorigen habe ich angedeutet, dass in der untersuchten Haifischgalle mindestens drei Gallensäuren vorhanden sind. Von diesen kommt die eine, die ich als die Säure  $\gamma$  bezeichnen will, in so geringer Menge vor, dass sie keiner eingehenden Untersuchung mehr unterworfen werden konnte. Diese Säure unterscheidet sich von den anderen dadurch, dass sie in Wasser schwer löslich ist, dass sie dementsprechend aus ihrem Alkalisalz in wässriger Lösung durch Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure gefällt wird und dass ihr Alkalisalz mit Kupfersulfat, Bleiacetat oder Chlorbaryum Niederschläge gibt.

Die in grösseren Mengen vorhandenen anderen gallensauren Salze und vielleicht in noch höherem Grade andere Bestandtheile der Rohgalle scheinen die Ausfällung der Gallensäure  $\gamma$  durch Metallsalze, wie z. B. Kupfersulfat, zu verhindern: und dies dürfte der Grund sein, warum die Lösungen der mehr unreinen gallensauren Alkalien von Metallsalzen nicht gefällt werden. Prüft man aber eine Lösung der gereinigten Salze mit Kupfersulfatlösung, so entsteht zuerst eine schwache Opalescenz und dann nach einiger Zeit eine geringfügige Fällung. Diese Fällung enthält das Kupfersalz der Säure  $\gamma$ .

Das aus mehreren Portionen gesammelte Kupfersalz der Säure  $\gamma$  wurde mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  unter gelindem Erwärmen zersetzt. Das Filtrat, durch Zusatz von Schwefelsäure beinahe neutralisirt, wurde eingetrocknet und der Rückstand in warmem, absolutem Alkohol gelöst. Dann wurde filtrirt, eingetrocknet, in Alkohol wieder gelöst, filtrirt und noch ein Mal in derselben Weise verfahren. Die Lösung in Alkohol wurde zuletzt vorsichtig mit Aether versetzt, wobei das Alkalisalz nach kurzer Zeit ganz wie andere gallensaure Alkalien in schneeweissen schönen Ballen von Nadeln krystallisirte.

Dieses Alkalisalz verhält sich Säuren und Metallsalzen gegenüber, wie oben beschrieben. Es gibt eine sehr schöne

Pettenkofer'sche Reaction und ebenso eine starke Fluorescenzreaction. Es hat einen bitter-süssen Geschmack.

Die Säure  $\gamma$  kommt in der Haifischgalle in so kleiner Menge vor, dass die ganze Menge des übrig gebliebenen Natriumsalzes, nachdem ich die qualitativen Reactionen ausgeführt hatte, weniger als 0,2 gr. betrug. Es war also klar, dass von einer Schwefelbestimmung nicht die Rede sein konnte. Da es, nach den qualitativen Reactionen zu urtheilen, am nächsten lag, in dem Salze ein Glykocholat anzunehmen, schien es mir vor Allem wichtig zu sein, eine Stickstoffbestimmung zu machen. Zu einer solchen Bestimmung war in diesem Falle, in Anbetracht der geringen Menge des Materiales, die Frankland-Klingemann'sche Methode besonders geeignet, indem sie nämlich eine sehr genaue gleichzeitige Kohlen- und Stickstoffbestimmung selbst sehr kleiner Substanzmengen gestattet. Mein verehrter Freund und Kollege, Herr Professor K. Mörner in Stockholm, der mit dieser Methode ganz besonders vertraut ist und in seinem Institute alle zu ihrer Ausführung nöthigen Apparate besitzt, hat auch die Güte gehabt, diese Bestimmungen auszuführen.

Als Mittel aus zwei Bestimmungen, die eine mit 0,0668 und die andere mit 0,0584 gr., bei 105° C. getrockneter Substanz, erhielt Mörner 61,93% C und 0,24% N.

Die geringfügige Stickstoffmenge rührt sicher nicht von einem Analysenfehler, sondern wohl eher von einer Verunreinigung her. Die Analysen zeigen jedenfalls, dass die Gallensäure  $\gamma$  keine Glykocholsäure sein kann: vielleicht handelte es sich hier um eine infolge der Reinigungsproceduren entstandene, ein wenig verunreinigte Cholalsäure. Wegen Mangels an Material habe ich jedoch über die Gallensäure  $\gamma$  keine weiteren Untersuchungen machen können.

Von den zwei anderen Gallensäuren, die beide schwefelreich sind, kommt wiederum die eine, die ich aus später anzuführenden Gründen  *$\alpha$ -Scymnolschwefelsäure* nenne, in viel grösserer Menge als die andere, die  *$\beta$ -Scymnolschwefelsäure*, vor. Beide Säuren sind einander so ähnlich in Bezug auf Löslichkeits- und Fällbarkeitsverhältnisse, dass ihre Trennung ausserordentlich

schwer ist. Ich habe fractionirte Fällung der alkoholischen oder methylalkoholischen Lösung der beiden Alkalisalze mit Aether, Chloroform und Benzol versucht, ich habe auch andere Lösungsmittel geprüft, und ich habe ferner auch fractionirte Fällung der Bleisalze sowohl in Wasser wie in alkoholischer Lösung unternommen und gegen 30 verschiedene Fractionen auf den Gehalt des Gesamtschwefels und Schwefelsäureschwefels untersucht, ohne zu befriedigenden Resultaten zu gelangen. Ich habe keinen Grund, über diese nicht gelungenen Versuche, die leider einen grossen Theil des Materials gekostet haben, hier zu berichten, und ich will nur diejenige Methode beschreiben, die, wie es scheint, wenigstens für die Reindarstellung der  $\alpha$ -Säure einigermaßen brauchbare Resultate gegeben hat. Bevor ich zu dieser Aufgabe übergehe, muss ich jedoch erst einer besonderen Farbenreaction Erwähnung thun, die bei der Beurtheilung der Reinheit der Präparate mir nicht unwesentliche Dienste geleistet hat.

Wenn man die gallensauren Alkalien der Haifischgalle in Salzsäure von 25% bei Zimmertemperatur löst, so nimmt die Flüssigkeit meistens innerhalb einiger Minuten eine prachtvoll indigblaue oder, in anderen Fällen, eine grünlichblaue oder bräunlichgrüne Farbe an. Bei der spektroskopischen Untersuchung zeigt die blaue Flüssigkeit zuerst einen starken Streifen ( $\beta$ ) zwischen C und E, um die Linie D herum und daneben einen zweiten, schwachen Streifen ( $\alpha$ ) zwischen B und C. Nach einiger Zeit wird die Farbe mehr grünlich und in dem Maasse, wie dies geschieht, nimmt der Streifen  $\alpha$  an Intensität zu und der Streifen  $\beta$  ab. Die Flüssigkeit trübt sich: nach 24 Stunden sieht man einen ziemlich reichlichen, dunkelgefärbten Bodensatz und die darüber stehende, nunmehr wiederum blaue Flüssigkeit zeigt nur einen Streifen um D herum, etwas mehr nach Violett verschoben, als der ursprüngliche Streifen  $\beta$ .

Ich habe nun ferner gefunden, dass die verschiedenen Fractionen hierbei nicht ganz gleich sich verhalten, indem nämlich die einen eine prachtvolle blaue, die anderen dagegen schon von Anfang an eine grünliche oder grünlichbraune Lösung geben. Dies rührt von einer verschiedenen Reinheit her, indem

nämlich die schöne blaue Farbe dem  $\alpha$ -scymnolschwefelsauren Salze zukommt, während eine grünliche oder bräunlichgrüne Farbe von einer Beimengung des  $\beta$ -Salzes herrührt. Aus diesem Verhalten, wie auch aus den Analysenzahlen konnte ich den Schluss ziehen, dass sämtliche von mir früher untersuchten Fractionen nur Gemenge waren.

In dem Vorigen habe ich bemerkt, dass die gallensauren Salze beim Sieden mit Barythydrat oder Alkali zwei Spaltungsprodukte liefern, von denen das eine krystallisirte, das andere nur amorph erhalten wurde. Diese zwei Produkte, die ich unten näher besprechen werde, habe ich nach dem Namen des Thieres *Scymnole* genannt. Die krystallisirte Substanz nenne ich  $\alpha$ -*Scymnol* und die amorphe  $\beta$ -*Scymnol*. Es ist nun von Interesse, dass das  $\alpha$ -Scymnol mit Salzsäure eine prachtvoll blaue Flüssigkeit gibt, während das  $\beta$ -Scymnol eine erst ungefärbte, nur allmählich grünlichbraun werdende Lösung gibt. Das Verhalten zu Salzsäure gab mir also ein Mittel in die Hände, zu entscheiden, inwieweit die Trennung der beiden Säuren gelungen sei.

Nach dieser vorausgeschickten Bemerkung kann ich zu der Beschreibung der von mir zur Trennung der zwei Säuren benutzten Methode übergehen. Diese Methode basirt auf dem verschiedenen Verhalten der Alkalisalze beider Säuren zu starker Kalilauge, indem nämlich das  $\alpha$ -Salz von 20% KOH gefällt wird, während das  $\beta$ -Salz dabei in Lösung bleibt.

Versetzt man eine wässrige Lösung der gallensauren Salze mit dem gleichen Volumen Kalilauge von 40%, so tritt rasch eine reichliche, weisse Fällung auf. Erwärmt man, so löst sich der Niederschlag klar und beim Erkalten scheidet er sich wieder als eine Masse von mikroskopisch kleinen, aus Krystallnadeln bestehenden Kügelchen aus. Bei erneutem Erwärmen löst sich der Niederschlag wieder klar auf, wenn keine Zersetzung stattgefunden hat: sobald aber eine solche eingetreten ist, erhält man beim Erwärmen eine nicht mehr klare, sondern von abgespaltenem Scymnol trübe Flüssigkeit. Bei Zimmertemperatur findet eine solche Zersetzung nur sehr allmählich statt, und man kann den Niederschlag 2—3 Tage mit der Lauge in Be-

rührung lassen, ohne dass die Spur einer Zersetzung stattgefunden hat. Auch bei einmaligem, vorsichtigem Erwärmen findet keine Zersetzung statt, wie die folgende Analyse zeigt. Eine 3procentige Lösung, mit dem gleichen Volumen Kalilauge von 40% versetzt, blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurde darauf in mehrere kleinere Portionen getheilt, die gesondert bis zur eintretenden Lösung erwärmt wurden. Der beim Erkalten sich ausscheidende Niederschlag, nach der unten zu beschreibenden Methode weiter behandelt, gab bei der Analyse folgende Zahlen:

Gesamtschwefel . . . . .	5,36%
Schwefelsäureschwefel . . . . .	5,29%

Es hatte also infolge der Alkalieinwirkung keine Abspaltung von Schwefelsäure stattgefunden.

*Darstellung der  $\alpha$ -Scymnolschwefelsäure als Alkalisalz.* Die Methode gestaltet sich folgendermassen: Eine etwa 3procentige Lösung der gallensauren Alkalien wird bei Zimmertemperatur mit dem gleichen Volumen Kalilauge<sup>1)</sup> von 40% gemischt. Nach etwa zweistündigem Stehen im Keller oder im Eisschranke trennt man den rein weissen Niederschlag durch Centrifugiren von der Flüssigkeit, welche das  $\beta$ -Salz nebst ein wenig von dem  $\alpha$ -Salze enthält und zur Darstellung jenes Salzes benutzt wird.

Der abcentrifugirte Niederschlag wird durch Zusatz von kaltem Wasser bis zu dem ursprünglichen Volumen gelöst, wiederum mit dem gleichen Volumen Kalilauge gefällt und durch Centrifugiren von der Flüssigkeit (die nunmehr höchstens sehr winzige Mengen des  $\beta$ -Salzes enthält) getrennt. Dieses Verfahren wird, wenn nöthig, noch ein bis zwei Mal wiederholt. Zuletzt löst man den Niederschlag in Wasser, neutralisirt unter Abkühlung fast vollständig mit verdünnter Schwefelsäure, übersättigt dann mit Kohlensäure, scheidet die Hauptmenge des sulfates mit Alkohol aus, centrifugirt, verdunstet die klare Lösung bis zum Syrup, löst ihn in Alkohol auf, filtrirt von dem Sulfate und Carbonate ab und verdunstet zur Trockne. Man reinigt dann weiter durch wiederholtes Eintrocknen und Auflösung in absolutem Alkohol, bis alles Sulfat und Carbonat ganz vollständig entfernt worden ist. Zuletzt löst man in Methyl- oder Aethylalkohol und scheidet das Salz der Scymnolschwefelsäure mit Aether aus.

<sup>1)</sup> Natronlauge lässt sich nicht brauchen, weil sie die gallensauren Alkalien nicht als eine flockige Fällung, sondern wie eine harzige Masse ausscheidet.

*Darstellung der  $\beta$ -Scymnolschwefelsäure als Alkalisalz.* Die nach der ersten Ausfällung des  $\alpha$ -Salzes durch Centrifugiren gewonnene Lauge, die das  $\beta$ -Salz enthält, wird unter starkem Abkühlen vorsichtig mit Schwefelsäure neutralisirt und mit Alkohol von der Hauptmenge des Sulfates befreit. Aus dem Filtrate wird das Salz nach demselben Principe wie das  $\alpha$ -Salz von dem Sulfate annähernd befreit. Das so gewonnene Salz ist indessen von ein wenig  $\alpha$ -Salz verunreinigt; es wird deshalb in Wasser (etwa  $\frac{1}{5}$  von dem ursprünglichen Volumen) gelöst und mit dem gleichen Volumen Kalilauge versetzt. Das hierbei sich ausscheidende  $\alpha$ -Salz wird abcentrifugirt und aus der Lauge das  $\beta$ -Salz wie oben gewonnen. Wenn das Salz trotzdem nicht ganz frei von  $\alpha$ -Salz ist, muss man noch ein Mal mit so viel Kalihydrat fällen, dass das Gemenge 30% KOH enthält. Hierbei scheidet sich im günstigen Falle der Rest des  $\alpha$ -Salzes mit einem Theil des  $\beta$ -Salzes aus, und die hiervon abcentrifugirte Lauge enthält nunmehr den Rest des  $\beta$ -Salzes, aber kein  $\alpha$ -Salz. Die Lauge wird, wie oben angegeben, mit Schwefelsäure und Kohlensäure neutralisirt und dann weiter, wie bei der Darstellung des  $\alpha$ -Salzes angegeben wurde, das  $\beta$ -Salz aus ihr gewonnen und gereinigt. In dieser Weise ist es mir indessen nur einmal gelungen, ein von dem  $\alpha$ -Salze ganz freies Präparat zu erhalten, während dies ein zweites Mal nicht ganz vollständig gelang. Immer ist die Darstellung mit sehr grossen Verlusten an Material verbunden, und da leider das eine  $\beta$ -Präparat durch einen Zufall verloren ging, habe ich nur ein Präparat des  $\beta$ -Salzes näher untersuchen können. Dies war leider die von dem  $\alpha$ -Salze nicht absolut freie Portion. Von dem  $\alpha$ -Salze, für dessen Darstellung die Methode eigentlich sich eignet, habe ich dagegen 4 verschiedene Präparate dargestellt.

Das  $\beta$ -Salz habe ich nie rein weiss, sondern stets gelbbraun erhalten und es lieferte stets eine gelbliche Lösung. Es ist also ganz sicher, dass dieses Salz von anderen Stoffen, die ebenfalls in der Lauge gelöst zurückgeblieben sind, verunreinigt gewesen ist. Das  $\alpha$ -Salz dagegen war schneeweiss und lieferte immer ganz wasserklare, ungefärbte Lösungen.

Ich versuchte wiederholt die gallensauren Salze aus methyl- oder äthylalkoholischer Lösung durch Zusatz von Aether in Krystallen zu erhalten; aber selbst bei dem allervorsichtigsten Zusätze von Aether gelang dies nicht. Ich erhielt nur amorphe Massen. Ich versuchte auch in der Weise zum Ziele zu gelangen, dass ich den Aether aus einem Sack von Pergamentpapier in die alkoholische Lösung der Gallensalze hineindiffundiren liess; aber ohne Erfolg. Zu besseren Resultaten kam ich durch folgendes Verfahren. Ich goss die alkoholische Lösung

in einen grossen Glastopf mit eingeschliffenem Glasstopfen und hing dann in den Topf ein Becherglas mit Aether hinein. Der aus dem Becherglase verdunstende Aether, der von Zeit zu Zeit nachgefüllt wurde, mischte sich in dieser Weise nur äusserst langsam mit dem Alkohol; und das  $\alpha$ -Salz schied sich allmählich als ein feinkörniges, sandiges Pulver aus, welches aus lauter runden, radiär gestreiften Kügelchen bestand. Das  $\beta$ -Salz dagegen erhielt ich selbst nach diesem Verfahren nur als eine amorphe, harte, harzige, aber leicht zerreibliche Masse.

Wie oben bemerkt, habe ich im Ganzen vier Präparate des  $\alpha$ -Salzes nach der obigen Methode mit Lauge dargestellt. Präparat 1 war nur einmal mit Lauge gefällt und durch Zusatz von Aether zu der alkoholischen Lösung amorph erhalten worden. Die Präparate 2 und 3 waren zweimal und das Präparat 4 dreimal mit Lauge gefällt. Nr. 2 hatte ich aus Aethyl-, Nr. 3 und 4 dagegen aus Methylalkohol durch Aetherzusatz wie oben krystallinisch erhalten.

Alle vier Präparate (des  $\alpha$ -Salzes) gaben in schönster Weise die Farbenreaction mit Salzsäure. Ihre Lösungen in Wasser waren absolut farblos, von neutraler Reaction und gaben mit  $\text{BaCl}_2$  im Laufe von 24 Stunden keine Spur einer Sulfatreaction, während eine absichtliche Verunreinigung der Lösung mit einer Spur Sulfat augenblicklich sich kund gab. Sie wurden weder von Säuren noch von den gewöhnlichen Metallsalzen — mit Ausnahme von Eisenchlorid und Bleiessig — gefällt. In Aethyl- und Methylalkohol ist das Salz bei gewöhnlicher Temperatur leicht löslich. In warmem Amylalkohol löst es sich ziemlich leicht, scheidet sich aber beim Erkalten als eine gallertige Masse wieder aus. Von Aceton wird es in der Wärme schwer gelöst, Benzol löst es nicht. Nach dem Trocknen über Schwefelsäure bis zu constantem Gewicht kann das Salz ohne sichtbare Veränderung und ohne Gewichtsverlust bei  $120\text{--}125^\circ\text{C}$  getrocknet werden. Bei etwa  $130^\circ\text{C}$  findet beginnende Zersetzung unter Gelb- oder Braunwerden statt. Das Salz war, trotzdem es mit Kalilauge ausgesalzen worden, das Natriumsalz, und es enthielt nur ganz zu vernachlässigende Spuren von Kalium.

In erster Linie lag es mir ob, den Gehalt dieser 4 Präparate

an Gesamtschwefel und Schwefelsäureschwefel festzustellen. Der Gesamtschwefel wurde nach dem Schmelzen mit Kalihydrat und Salpeter als Baryumsulfat bestimmt. Den Schwefelsäureschwefel bestimmte ich durch Lösen des Salzes in verdünnter Salzsäure (25% HCl) und Erwärmen im Wasserbade bei Gegenwart von  $\text{BaCl}_2$  einige Stunden, wie schon oben S. 330 angegeben worden ist. Zu dem dort Gesagten habe ich jedoch hier noch Folgendes hinzuzufügen. Trotz wiederholtem Behandeln des Baryumsulfates mit siedendem Alkohol, Aether und Chloroform ist es mir nie gelungen, sämmtliche organische Substanz zu entfernen. Der Lege Artis behandelte, zuletzt auf dem Filtrum gesammelte Baryumsulfatniederschlag enthielt immer organische Substanz, die ich nicht entfernen konnte, und die eine Bildung von Schwefelbaryum durch Reduction bei dem Glühen veranlasste. Den hierdurch bei der üblichen weiteren Reinigung des Sulfates entstehenden Verlust an Schwefel habe ich in den oben S. 330 besprochenen Analysen nicht berücksichtigt. In den hier unten mitgetheilten Analysen habe ich dagegen das Schwefelbaryum in kalter, verdünnter Salzsäure gelöst und darauf als Baryumsulfat bestimmt. Die hier unten folgenden Zahlen sind also nach einer solchen Correction erhalten worden. Ganz exact kann eine solche Correction allerdings nicht sein und aus dem Grunde bemerke ich, dass man die Zahlen für den Schwefelsäureschwefel um 0,2% zu vermindern hat, wenn man diese Correction weglassen will.

Ich habe auch versucht, den Schwefelsäureschwefel durch Spaltung mit Alkali statt mit Salzsäure zu bestimmen. Durch Sieden mit Alkali gelingt das nicht gut, weil das abgespaltene Scymmol das fortgesetzte Sieden durch starkes Stossen unmöglich macht. Dagegen geht die Spaltung mittelst Kalihydrat in alkoholischer Lösung im Wasserbade gut von statten. Aber selbst in diesem Falle gelingt es nicht, ein von organischer Substanz freies Baryumsulfat zu erhalten, und die obige Correction ist auch in diesem Falle nöthig. Wegen Mangels an Material habe ich nur eine solche Spaltung mit alkoholischer Kalilauge ausgeführt und zwar an dem Präparat Nr. 2. Des Vergleiches halber führe ich auch diese Analyse in der folgenden Tabelle auf.

Die Resultate der Analysen waren folgende:

**Präparat 1.**

Gesamtschwefelbestimmung: 1,361 gr. Substanz lieferten 0,531 gr.

$\text{Ba SO}_4 = 5,36\% \text{ S.}$

Schwefelsäureschwefel: 0,9035 gr. Substanz lieferten 0,3475 gr.

$\text{Ba SO}_4 = 5,29\% \text{ S.}$

**Präparat 2.**

Gesamtschwefel: 0,9555 gr. Substanz lieferten 0,3695 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,318\% \text{ S.}$

Schwefelsäureschwefel (Spaltung mit Salzsäure) 1,086 gr. Substanz lieferten: 0,420 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,328\% \text{ S.}$

Schwefelsäureschwefel (Spaltung mit alkoholischer Kalilauge) 1,024 gr. Substanz lieferten: 0,382 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,13\% \text{ S.}$

**Präparat 3.**

Gesamtschwefel: 0,887 gr. Substanz lieferten: 0,3485 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,403\% \text{ S.}$

Schwefelsäureschwefel: 1,196 gr. Substanz lieferten: 0,4665 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,364\% \text{ S.}$

**Präparat 4.**

Gesamtschwefel: 1,0528 gr. Substanz lieferten: 0,406 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,303\% \text{ S.}$

Schwefelsäureschwefel: 1,2112 gr. Substanz lieferten: 0,473 gr.  $\text{Ba SO}_4 = 5,370\% \text{ S.}$

Ich stelle hier die Resultate tabellarisch zusammen.

Präp. Nr.	Gesamtschwefel	Schwefelsäureschwefel	Differenz
1	5,360	5,290	-0,070
2	5,318	5,328 a	+0,010
3	5,403	5,130 b	-0,188
4	5,303	5,364	+0,039
		5,370	+0,067
Mittel	5,346	5,296	-0,050

Die Analysen zeigen also, wenn man die obige Correction als richtig anerkennt, dass in dem Salze sämtlicher und (unter allen Umständen) jedenfalls fast aller Schwefel als Schwefelsäure abspaltbar ist. Es spricht dies also entschieden für die Annahme, dass die  $\alpha$ -Scymnolsäure eine Aetherschwefelsäure ist, die in Schwefelsäure und eine andere Substanz (das Scymnol) sich spaltet.

Beim Sieden mit einer Säure werden die Scymnole, wie die Cholalsäuren, in Dyslysine oder ähnliche Substanzen umgesetzt, die zwar noch eine schöne Pettenkofer'sche Reaction geben, die aber einer näheren Untersuchung nicht gut zugänglich sind. Es konnte also für die Darstellung des Scymnols nur die Spaltung mit Alkalien in Frage kommen. Da ich nun ferner gefunden hatte, dass das krystallisirende Scymnol die charakteristische Farbenreaction des  $\alpha$ -Salzes gibt, fand ich es natürlicher Weise nicht nothwendig, das nur sehr schwer und nur mit ziemlich grossen Verlusten darstellbare reine  $\alpha$ -Salz zur Darstellung des krystallisirten Scymnols zu verwenden. Nachdem ich mich davon überzeugt hatte, dass das Spaltungsprodukt des  $\alpha$ -Salzes mit dem krystallisirenden Scymnol identisch war, habe ich die letztere Substanz ausschliesslich aus dem nicht reinen Gemenge der beiden Salze dargestellt.

Die Darstellungsmethode des Scymnols, sei es durch Kochen mit Baryhydrat oder mit Kalilauge von 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, ist schon in dem Vorigen in ihren Hauptzügen angegeben worden. Das Rohprodukt krystallisirte ich in einigen Fällen wiederholt aus siedendem Wasser um, in welchem das Scymnol schwer löslich ist und aus dem es beim Erkalten nach einiger Zeit in Flöckchen von feinen Nadeln sich ausscheidet. In anderen Fällen löste ich es in kaltem Alkohol und setzte dann warmes Wasser bis zu bleibender, starker Opalescenz hinzu, wobei das Scymnol nach einigen Tagen in aus Krystallnadeln bestehenden Kugeln sich ausschied. Ich habe auch seine Lösung in Alkohol-Aether vorsichtig in einem passenden Gefässe auf Wasser geschichtet, wobei das Scymnol bei dem allmählichen Verdunsten des Aethers und dem Vermischen des Alkohols mit dem Wasser in Drusen von ziemlich grossen Nadeln oder Prismen herauskrystallisirte.

Gleichgültig ob man das  $\alpha$ -Scymnol in der einen oder anderen Weise krystallisirt erhalten hat, stellt es immer ein schneeweisses Pulver dar, welches beim Erhitzen bei 100° oder 101° C. ohne Gewichtsverlust und ohne Zersetzung zu einer glasigen, durchsichtigen Masse schmilzt. Diese glasige Masse nach dem Erkalten fein zerrieben, schmilzt von neuem bei 100°—101° C., und dies kann mehrmals wiederholt werden.

ohne dass eine Zersetzung stattfindet. Das  $\alpha$ -Scymnol enthält weder Krystallwasser noch Krystallalkohol und es kann ohne Gewichtsverlust auf  $130^{\circ}$  C. erhitzt werden. Erst beim Erhitzen über  $135^{\circ}$  C. findet unter gleichzeitiger Zersetzung ein Gewichtsverlust statt.

Das  $\alpha$ -Scymnol ist sehr schwer löslich in kaltem Wasser, etwas leichter löslich in siedendem. In Alkohol, Aether und Aceton ist es leicht löslich. In kaltem Benzol löst es sich sehr schwer, in warmem etwas leichter. Von warmem Chloroform wird es sehr leicht, von kaltem etwas schwerer gelöst. Von Eisessig wird es leicht gelöst und scheidet sich aus der mit Wasser verdünnten Säure krystallinisch aus. Von verdünnten Säuren oder Alkalien wird es nicht gelöst. Mit concentrirter Schwefelsäure gibt es die Fluorescenzprobe, ganz wie gewöhnliche Cholalsäure, und es gibt eine sehr schöne Pettenkofer'sche Reaction. Bei der Salzsäureprobe, wobei man es am besten erst in ein wenig Alkohol löst und dann starke Salzsäure im Ueberschuss zufügt, gibt es dieselbe prachtvoll blaue Farbe wie das  $\alpha$ -Salz. Bemerkenswerth dürfte es übrigens sein, dass das  $\alpha$ -Scymnol in einigen Reactionen dem Cholesterin recht ähnlich ist. Es gibt zwar nicht die Reaction von Salkowski, aber dagegen gibt es die Liebermann-Burchard'sche Reaction, mit dem Unterschied nur, dass ich die grüne Farbe nicht erhalten habe. Es gibt ebenfalls die Reaction von Schiff mit Salzsäure und Eisenchlorid.

Das  $\alpha$ -Scymnol ist ganz frei von Stickstoff und Schwefel. Im Ganzen habe ich 6 Scymnolpräparate verschiedener Darstellung analysirt. Die Präparate 1 und 2 stellte ich durch Sieden mit Barythydrat, die 4 übrigen durch Sieden mit Kalilauge dar. Das Präparat 1 war aus warmem Wasser, die Präparate 2, 3 und 4 aus Alkohol, durch Verdünnen mit Wasser, und die Präparate 5 und 6 aus Alkohol-Aether durch Zusatz von Wasser krystallisirt erhalten worden. Sämmtliche Präparate waren über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht getrocknet. Beim Erhitzen auf  $130^{\circ}$  C. änderten sie ihr Gewicht nicht. Die Verbrennung geschah mit Bleichromat und vorgelegtem CuO im Sauerstoffstrome.

Analysen von  $\alpha$ -Scymnol:

**Präparat 1.**

0,3004 gr. lieferten 0,2817 gr.  $H_2O$  und 0,7902 gr.  $CO_2 = 71,74\%$  C und  $10,41\%$  H.

**Präparat 2.**

0,3165 gr. lieferten 0,2945 gr.  $H_2O$  und 0,8322 gr.  $CO_2 = 71,71\%$  C und  $10,34\%$  H.

**Präparat 3.**

0,3324 gr. lieferten 0,313 gr.  $H_2O$  und 0,8768 gr.  $CO_2 = 71,94\%$  C und  $10,46\%$  H.

**Präparat 4.**

0,2882 gr. lieferten 0,2706 gr.  $H_2O$  und 0,7615 gr.  $CO_2 = 72,06\%$  C und  $10,43\%$  H.

**Präparat 5.**

0,3412 gr. lieferten 0,319 gr.  $H_2O$  und 0,8975 gr.  $CO_2 = 71,74\%$  C und  $10,39\%$  H.

**Präparat 6.**

0,3397 gr. lieferten 0,3165 gr.  $H_2O$  und 0,891 gr.  $CO_2 = 71,53\%$  C und  $10,32\%$  H.

Zusammenstellung der Analysendaten:

	1	2	3	4	5	6	Mittel
C	71,74	71,71	71,94	72,06	71,74	71,53	71,79%
H	10,41	10,34	10,46	10,43	10,39	10,32	10,39%
O	17,85	17,95	17,60	17,51	17,87	18,15	17,82%

Unter den verschiedenen Formeln, die man aus diesen Zahlen ableiten kann, kommen zunächst nur folgende zwei in Betracht, nämlich  $C_{27}H_{46}O_5$  und  $C_{32}H_{54}O_6$

	Berechnet	Gefunden
$C_{27} = 324$	72,00	71,79
$H_{46} = 46$	10,22	10,39
$O_5 = 80$	17,77	17,82
450		
	Berechnet	Gefunden
$C_{32} = 384$	71,91	71,79
$H_{54} = 54$	10,11	10,39
$O_6 = 96$	17,98	17,82
534		

Zwischen diesen zwei Formeln kann nicht die Zusammensetzung der Salze entscheiden, denn es hat sich herausgestellt,

das  $\alpha$ -Salz, wenn es auch von dem  $\beta$ -Salze frei ist, eine andere, stickstoffhaltige Substanz als Verunreinigung enthält. Nach der Kjeldahl'schen Methode habe ich nämlich in allen untersuchten Präparaten des  $\alpha$ -Salzes Stickstoff gefunden und zwar in einer Menge von 0,171—0,30%. Dass dieser Stickstoff nicht von den angewandten Reagentien herrührt, davon habe ich mich natürlich besonders überzeugt, und ausserdem habe ich meinem Collegen, Herrn Professor Mörner in Stockholm, ein Präparat zur Untersuchung nach der Frankland-Klingemann'schen Methode überliefert. Er fand darin 0,2501% Stickstoff.

Da das  $\alpha$ -Scymmol ganz stickstofffrei ist, bleiben hier nur zwei Möglichkeiten offen. Entweder handelte es sich um eine mehr complicirte, stickstoffhaltige Substanz, die bei der Spaltung mit Alkali oder Baryt neben stickstofffreiem Scymmol ein stickstoffhaltiges, unbekanntes Produkt lieferte, oder das  $\alpha$ -Salz enthielt als Verunreinigung irgend eine stickstoffhaltige Substanz. Da das  $\alpha$ -Salz, wenn es im Molekül 0,25% N enthält, ein Molekulargewicht von etwa 5000 haben würde, ist die erstere Möglichkeit wohl kaum anzunehmen, und es bleibt also die Annahme von der Verunreinigung mit einer stickstoffhaltigen Substanz die wahrscheinlichere.

Dieser Annahme entsprechend stimmen die für das Alkalisalz gefundenen Zahlen mit keiner der berechneten Formeln gut überein. Der Gehalt an Natrium ist zu hoch und der Gehalt an Kohlenstoff zu niedrig. Der Gehalt an Schwefel ist zu hoch für ein Salz von der Formel  $C_{32}$  und zu niedrig für die Formel  $C_{27}$ . Die Zusammensetzung des Alkalisalzes stimmt jedoch besser zu der Formel eines Salzes mit  $C_{27}$ , wie die folgende Zusammenstellung zeigt.

	Berechnet für	Berechnet für	Gefunden
	$C_{32}H_{55}O_5SO_4Na$	$C_{27}H_{45}O_4SO_4Na$	
C	= 60,37	58,70	56,44
H	= 8,33	8,15	7,68
S	= 5,03	5,80	5,35
Na	= 3,61	4,17	4,98

Unter der Annahme, dass das  $\alpha$ -Salz von der Natrium-

verbindung einer stickstoffhaltigen, kohlen- und wasserstoffärmeren Substanz verunreinigt gewesen ist, stimmen, wie man sieht, die Zahlen besser zu der Formel mit  $C_{27}$  wie zu der mit  $C_{32}$ .

Da ich das Natriumsalz nicht rein darstellen konnte, ging ich zur Darstellung des Baryumsalzes über. Eine Lösung des (nicht von  $\beta$ -Salz ganz freien)  $\alpha$ -Salzes in Wasser fällte ich mit Bleiessig und Ammoniak. Der Niederschlag wurde unter Wasser möglichst fein zerrieben und wiederholt ausgewaschen, darauf in Alkohol möglichst fein zertheilt und mit Schwefelwasserstoff vollständig von Blei befreit. Das alkoholische Filtrat, durch einen Luftstrom von Schwefelwasserstoff befreit, liess ich darauf bei Zimmertemperatur in flachen Schalen bis zum Syrup verdunsten. Dann löste ich den Syrup in Barytwasser, entfernte den Ueberschuss an Baryt mit Kohlensäure, filtrirte, verdunstete das Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockne und löste in siedendem Alkohol. Das von dem Ungelösten getrennte Filtrat verdunstete ich wiederum zur Trockne und behandelte den Rückstand mit siedendem Alkohol. Hierbei blieb wiederum ein kleiner Theil ungelöst zurück (was auf eine Zersetzung oder Abscheidung von basischem Salz hindeutete). Die abfiltrirte Lösung, vorsichtig eingetrocknet, gab einen Rückstand, der zum Theil in kaltem Alkohol löslich war. Diese Lösung wurde mit Aether in oben beschriebener Weise (S. 337) gefällt. Der Niederschlag war rein weiss, sandigkörnig, aus lauter radiär gestreiften Kügelchen bestehend; er löste sich ganz klar in Wasser, gab aber bei der Salzsäureprobe nicht eine rein blaue, sondern eine erst schwachblaue und darauf andauernd grüne Lösung. Da dieses Salz also offenbar nicht das reine  $\alpha$ -Salz war, theile ich die bei der Analyse gefundenen Zahlen hier nicht mit, obwohl sie recht gut zu der Formel eines Baryumsalzes mit  $C_{27}$  stimmten.

Der in kaltem Alkohol nicht lösliche Theil des Baryumsalzgemenges wurde in siedendem Alkohol gelöst, wobei wiederum ein kleiner Theil ungelöst zurückblieb. Nach dem Erkalten schied sich ebenfalls ein wenig aus, von dem abfiltrirt wurde. Das Filtrat, mit Aether wie oben behandelt, gab ein schnee-

weisses, sandiges Pulver von radiär gestreiften Kügelchen. Dieses Präparat löste sich leicht und vollkommen klar in Wasser. Bei der Salzsäureprobe gab es eine sehr schöne blaue Lösung und wurde deshalb als reines  $\alpha$ -Salz betrachtet. Das Salz konnte nicht über  $100^{\circ}$  C. erhitzt werden, weil es dabei zusammensinterte (vielleicht von Krystallalkohol herrührend) und sich zu zersetzen anfing. Es wurde deshalb nach dem Trocknen über Schwefelsäure bis zu constantem Gewicht analysirt. Leider war die Menge so gering, dass sie nur zu einer Bestimmung des Baryums und des Schwefelsäureschwefels hinreichte.

Die Analysen gaben folgende Zahlen:

Baryumbestimmung: 0,499 gr. Substanz lieferten:

0,084 gr.  $\text{BaSO}_4 = 10,01\%$  Ba.

Schwefelsäureschwefelbestimmung: 0,717 gr. lieferten:

0,248 gr.  $\text{BaSO}_4 = 4,61\%$  S.

Unter der Annahme, dass dieses Salz 2 Mol. Alkohol enthielt, stimmen die Zahlen sehr gut zu einem Salze von der Formel  $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{O}_4\text{SO}_4\text{Ba}^{1/2} + 2\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ .

	Berechnet	Gefunden
Ba =	9,93%	10,01%
S =	4,64%	4,61%

Ich bemerke jedoch ausdrücklich, dass ich für diese Zusammensetzung des Präparates nicht einsehen kann, denn einerseits habe ich auf einen Alkoholgehalt — wegen Mangels an Material — nicht untersuchen können und andererseits stimmen die Zahlen ebenso gut mit einem alkoholfreien Salze von der Formel mit  $\text{C}_{32}$ .

	Berechnet für	Gefunden
	$\text{C}_{32}\text{H}_{53}\text{O}_5\text{SO}_4\text{Ba}^{1/2}$	
Ba =	10,05	10,01
S =	4,69	4,61

Das Einzige, was mit Sicherheit aus diesen Analysen, wie auch aus den Analysen des Natriumsalzes hervorgeht, ist, dass in den Salzen auf je 1 Atom Schwefel nur 1 Atom einwerthiges Metall kommt, was mit der Auffassung, dass die Scymnolschwefelsäure ein saurer Schwefelsäurester ist, übereinstimmt.

Andere Salze habe ich wegen Mangels an Material nicht darstellen können, was ich umsomehr bedaure, als ich also über die Formel des  $\alpha$ -Scymnols nichts Entscheidendes mittheilen kann. Ich habe auch einmal versucht, das Molekulargewicht des (in Eisessig gelösten) Scymnols nach der Gefriermethode zu bestimmen, erhielt aber keine entscheidenden Werthe. Ich muss also die Frage nach der Formel des  $\alpha$ -Scymnols offen lassen, was allerdings eine grosse Lücke dieser Arbeit ist.

Bei der Zersetzung der Scymnolschwefelsäure mit Salzsäure wird das Scymnol in harzähnliche, amorphe, gelbbraune Produkte umgewandelt, welche die Pettenkofer'sche Reaction geben. Es handelt sich hier also wahrscheinlich um Produkte, die den Dyslysinen analog sind. Es entstehen zwei solche Dyslysine bei der Zersetzung des Scymnols. Das eine löst sich leicht sowohl in Alkohol wie in Aether, das andere löst sich leicht in Aether, aber nur schwer in Alkohol. Da ich die beiden Substanzen nicht genau voneinander trennen konnte, hatte eine Elementaranalyse nur wenig Sinn, und deshalb habe ich auch nur einmal das in Aether lösliche Gemenge analysirt.

Die Analyse ergab 76,65% C und 9,65% H, was ziemlich gut zu der Formel  $C_{54}H_{86}O_7$  stimmt.

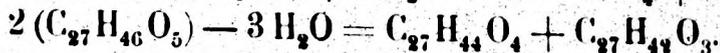
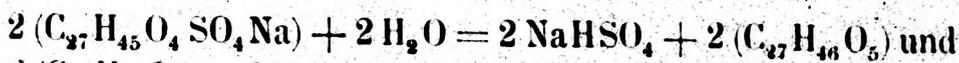
Berechnet		Gefunden
$C_{54} = 648$	76,59	76,65 = + 0,06
$H_{86} = 86$	10,17	9,65 = + 0,52
$O_7 = 112$	13,24	13,70 = + 0,46
<hr/>		
846		

Es könnte sich also hier vielleicht um ein Gemenge gleicher Molecüle von  $C_{27}H_{44}O_4$  und  $C_{27}H_{42}O_3 = C_{54}H_{86}O_7$  handeln. Die Analyse lässt sich aber auch mit der Annahme eines Gemenges von der Zusammensetzung  $C_{32}H_{50}O_4$  vereinbaren.

Berechnet		Gefunden
$C_{32} = 384$	77,10	76,65 = — 0,45
$H_{50} = 50$	10,04	9,65 = — 0,39
$O_4 = 64$	12,86	13,70 = + 0,84
<hr/>		
498		

Geht man von der Formel  $C_{54}H_{86}O_7$  aus, so lässt sich die ungefähre Menge des aus dem Natriumsalze der  $\alpha$ -Scymnol-

schwefelsäure zu erhaltenden Dyslysingemenges nach den folgenden Formeln berechnen:



1104 gr. Salz würden also 846 gr. Dyslysine = 76,63% liefern.

Geht man dagegen von der Formel  $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$  aus, so erhält man nach dem analogen Schema aus 636 gr. Salz 498 gr. Dyslysine = 78,3%.

Mit den so berechneten Zahlen ist es von Interesse, die thatsächlich gefundenen Dyslysinmengen zu vergleichen.

Ich habe in einigen Fällen, bei den Bestimmungen des Schwefelsäureschwefels, das als Nebenprodukt erhaltene Dyslysingemenge quantitativ zu bestimmen versucht. Das Dyslysingemenge wurde durch wiederholtes Auflösen der eingetrockneten Substanz in Aether und Chloroform von verunreinigenden Mineralstoffen befreit und darauf bei etwas über 100° C. getrocknet und gewogen. Ich erhielt in dieser Weise in den oben S. 339 erwähnten Präparaten Nr. 2, 3 und 4 folgende Dyslysinmengen.

Nr. 2 1,086 gr.  $\alpha$ -Salz lieferten 0,805 gr. Dyslysine = 74,1 %

„ 3 1,196 „ „ „ 0,856 „ „ = 71,6 %

„ 4 1,2112 „ „ „ 0,870 „ „ = 71,83 %

Als Mittel aus den 3 Bestimmungen erhielt ich also 72,5 %.

Im Vergleich zu den oben angeführten Zahlen, 76,63 bzw. 78,3%, erhielt ich also rund 4, bzw. 6% Dyslysin weniger, als berechnet war. Da aber das  $\alpha$ -Salz nicht ganz rein, sondern von einer stickstoffhaltigen Substanz verunreinigt war, und da ferner derartige quantitative Bestimmungen nicht ganz ohne Verluste auszuführen sind, dürfte man kaum eine bessere Uebereinstimmung erwarten können. Aus den Bestimmungen lässt sich indessen wenigstens der Schluss ziehen, dass jedenfalls der Hauptbestandtheil des  $\alpha$ -Salzes eine Aetherschwefelsäure ist, die in Schwefelsäure und Anhydride des Scymnols sich spaltet.

Die zweite Säure, die  $\beta$ -Scymnolschwefelsäure, habe ich, wie oben bemerkt, nicht rein erhalten, und da ich zudem wegen Mangels an Material nur ein Präparat derselben habe

analysiren können, hat es wenig Sinn, die Analyse mitzutheilen. Der Vollständigkeit halber theile ich indessen hier die Zahlen mit.

Gesamtschwefel: 0,794 gr. lieferten 0,2855 gr.  $\text{BaSO}_4 = 4,94\%$  S.

Schwefelsäureschwefel: 0,815 gr. Substanz lieferten 0,2795 gr.  $\text{BaSO}_4 = 4,47\%$  S.

Das Salz enthielt also  $4,94\%$  Gesamtschwefel und  $4,47\%$  Schwefelsäureschwefel. Es war auch stickstoffhaltig und enthielt  $0,73\%$  Stickstoff. Allem Anscheine nach war also das  $\beta$ -Salz in noch höherem Grade als das  $\alpha$ -Salz von einer stickstoffhaltigen Substanz verunreinigt. Der Unterschied zwischen Gesamtschwefel und Schwefelsäureschwefel, welcher  $0,47\%$  zu Gunsten des ersteren beträgt, dürfte kaum von einem Analysenfehler herrühren. Vielleicht deutet er darauf hin, wenn man ihn mit den bei den Analysen der Rohsalze (S. 330) gefundenen Differenzen zusammenhält, dass in der Haifischgalle auch eine andere schwefelhaltige Substanz vorkommt. Taurocholsäure dürfte diese andere Substanz jedenfalls nicht sein; denn ich habe, wie oben gezeigt wurde, kein Taurin in der Galle finden können. Da ich ebensowenig einen anderen schwefelhaltigen Stoff isoliren konnte, fand sich die fragliche Substanz — wenn es eine solche gibt — wahrscheinlich in den bei der Verarbeitung der Rohgallensäuren abgeschiedenen Dyslysinen.

Das Alkalisalz der  $\beta$ -Scymnolschwefelsäure löste sich sehr leicht in Wasser. Diese Lösung wurde von basischem Bleiacetat und Eisenchlorid, nicht aber von Chlorbaryum, Bleizucker, Kupfersulfat und Silbernitrat gefällt. Die Lösung schmeckte bittersüß, aber stärker und mehr anhaltend bitter als die des  $\alpha$ -Salzes. Das Salz gibt eine prachtvolle Pettenkofer'sche Reaction, gibt aber mit Salzsäure keine blaue, sondern eine erst allmählich grün und bräunlichgrün werdende Lösung.

Ich habe in dem Vorigen bemerkt, dass ich bei der Spaltung der Rohsalze neben krystallisirtem  $\alpha$ -Scymnol auch ein amorphes Produkt erhalten habe, welches zu Salzsäure wie das  $\beta$ -Salz sich verhält. Dieses Produkt, welches zu Lösungsmitteln wie das  $\alpha$ -Scymnol sich verhält, mit dem Unterschiede jedoch, dass es in siedendem Wasser viel schwerer löslich ist.

habe ich als  $\beta$ -Scymnol bezeichnet. Ich reinigte das  $\beta$ -Scymnol durch mehrmaliges Lösen in Alkohol und Ausfällen mit Wasser. Es stellte trocken eine blassgelbe Masse dar, die beim Zerreiben elektrisch wurde und ein fast weisses Pulver lieferte.

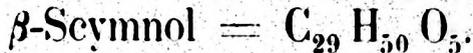
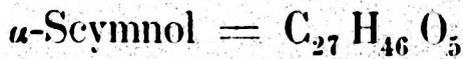
Ich habe eine Analyse des über Schwefelsäure zu constantem Gewicht getrockneten  $\beta$ -Scymnols ausgeführt und dabei folgende Zahlen erhalten.

0,327 gr. Substanz lieferten 0,303 gr.  $H_2O$  und 0,8728 gr.  $CO_2$   
= 10,29 % H und 72,79 % C.

Das  $\beta$ -Scymnol ist also reicher an Kohlenstoff als das  $\alpha$ -Scymnol und die Analysenzahlen stimmen gut zu der Formel  $C_{29}H_{50}O_5$ .

	Berechnet	Gefunden
$C_{29} = 348$	72,80	72,79
$H_{50} = 50$	10,46	10,29
$O_5 = 80$	16,74	16,92

Es ist klar, dass ich aus einer einzigen Analyse keine Schlüsse ziehen kann. Wenn aber die Formel  $C_{27}H_{46}O_5$  für das  $\alpha$ -Scymnol die richtige wäre, könnte man versucht sein, die beiden Scymnole als homologe Stoffe zu betrachten.



Da die Galle des Haifisches kein Cholesterin enthält und da das  $\alpha$ -Scymnol zu gewissen Reactionen wie (oder fast ganz wie) das Cholesterin sich verhält, könnte man ferner zu der Annahme geneigt sein, dass die Scymnole dem Cholesterin verwandte Stoffe seien, die als gepaarte Schwefelsäuren durch die Galle ausgeschieden werden. Solange als die Formeln der Scymnole nicht festgestellt sind und die Constitution derselben ganz unbekannt ist, muss eine solche Annahme natürlich als ganz unbegründet betrachtet werden; aber sie könnte vielleicht einen Ausgangspunkt für fortgesetzte Untersuchungen liefern.

Ich bin mir der vielen Lücken dieser Arbeit so wohl bewusst, dass ich, wie oben bemerkt, sehr lange mit der Veröffentlichung dieser Untersuchungen gezögert habe. Trotz dieser Lücken glaube ich jedoch durch meine Arbeit sicher bewiesen zu haben, dass in der Galle des fraglichen Haifisches eine ganz besondere Gruppe von schwefelhaltigen Gallensäuren,

den Scymnolschwefelsäuren, welche saure Schwefelsäureester sind, vorkommt. Ich kann hinzufügen, dass ich derartige Gallensäuren auch bei einer Roche, *Raja batis*, Lin., beobachtet habe. Ich habe zwar noch nicht die Galle von diesem Fische in so grosser Menge erhalten, dass ich die Analyse der reinen Gallensäuren habe unternehmen können; in den durch wiederholtes Auflösen in Alkohol und Ausfällung mit Aether gereinigten (von Harnstoff jedoch vielleicht noch nicht ganz freien) gallensauren Alkalien habe ich aber 4,03% Schwefelsäureschwefel gefunden.

Auffallend war es übrigens, dass die gallensauren Alkalien der Rochengalle ebenfalls mit Salzsäure eine sehr schöne Farbenreaction gaben. Die salzsaure Lösung war jedoch nicht ganz rein blau, sondern etwas mehr violett als die entsprechende Lösung der  $\alpha$ -Scymnolschwefelsäure.

Inwieweit auch bei anderen Fischen als den Plagiostomen oder bei anderen Thieren schwefelhaltige Gallensäuren dieser Art vorkommen, darüber habe ich keine Erfahrung. In der Galle der Makrele habe ich aber z. B. keine Spur von Aetherschwefelsäure finden können. In der Menschengalle konnte ich dagegen, worüber ich schon früher berichtet habe,<sup>1)</sup> mehrere Male Aetherschwefelsäuren nachweisen. Um Missverständnissen vorzubeugen, bemerke ich jedoch hier, dass ich in der Menschengalle zwar Aetherschwefelsäure nachgewiesen habe, dass ich aber weder gezeigt noch behauptet habe, dass die Aetherschwefelsäure in ihr als gepaarte Gallensäure sich vorfindet. Die Lebergalle des Menschen enthält übrigens nicht immer Aetherschwefelsäure, mir gelang wenigstens ein solcher Nachweis nicht immer.

Das Vorkommen von Schwefel in anderen Gallensäuren als der Taurocholsäure fordert unzweifelhaft zu fortgesetzten Untersuchungen, wie auch zu einer Revision der bisherigen Angaben über den Gehalt verschiedener Thiergallen an Taurocholsäure auf. Um anderen Forschern nicht hindernd im Wege zu stehen, bemerke ich deshalb zuletzt nur, dass ich fortgesetzte Untersuchungen auf diesem Gebiete mir nicht vorbehalte.

<sup>1)</sup> Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsal. Vol. 16.