

Untersuchungen über die Gallen einiger Polartiere.

II. Über die Galle des Moschusochsen.

Von

Olof Hammarsten.

(Der Redaktion zugegangen am 27. August 1904.)

Die untersuchten Gallen stammten von zwei verschiedenen Expeditionen, nämlich von der schwedischen Expedition mit «Antarctic» 1899 und der schwedischen Grönlandexpedition unter Kolthoff im Jahre 1900. In beiden Fällen war die Galle, welche von mehreren Individuen stammte, unmittelbar nach dem Töten der Tiere, um jede Veränderung durch Fäulnis auszuschließen, in viel Alkohol aufgesammelt worden. Bezüglich der näheren Details des Aufsammelns kann ich auf das in einem vorigen Aufsätze (in dieser Zeitschrift, Bd. XXXII S. 436) Gesagte hinweisen.

Die Farbe der, von dem aus Gallenschleim und Zellresten bestehenden Bodensatz durch Filtration getrennten alkoholischen Lösung war, infolge der starken Verdünnung mit Alkohol, verhältnismäßig schwach, grünlich gelb mit überwiegend grüner Nuance.

Der aus sog. Gallenschleim bestehende Bodensatz war, selbst nachdem er mehrere Monate unter Alkohol aufbewahrt worden war, noch in Wasser stark quellbar und zum Teil löslich. Er war gräulich weiß gefärbt und enthielt nach sorgfältigem Auswaschen mit Alkohol keinen Gallenfarbstoff. Der in Wasser lösliche Teil konnte mit Essigsäure gefällt werden und der Niederschlag war in überschüssiger Essigsäure löslich. Der in Wasser nicht lösliche Anteil konnte in sehr schwach alkalihaltigem Wasser zum allergrößten Teil gelöst werden, und die filtrierte Lösung verhielt sich zu Essigsäure wie das Wasserextrakt. Der mit Essigsäure gewonnene Niederschlag

gab beim Sieden mit verdünnter Salzsäure (von 2⁰/₁₀) so schwache Reaktion auf reduzierende Substanz, daß sie nur durch die Babo-Meißnersche Probe nachgewiesen werden konnte. In Salzsäure von 0,2% löste sich die mit Essigsäure gefällte Substanz leicht, und nach Zusatz von Pepsin schied sich bei der Verdauung eine Pseudonucleinfällung aus. Der sog. Schleim der Blasengalle des Moschusochsen bestand also wie der aus Rindergalle aus einem Nucleoalbumin, dem höchstens sehr unbedeutende Mengen von Mucin beigemischt waren.

Die obengenannte, gelblichgrün gefärbte alkoholische Lösung zeigte bei der spektroskopischen Untersuchung direkt keinen Absorptionsstreifen. Nach Zusatz von $ZnCl_2$, sei es allein oder mit NH_3 , zeigte sie weder merkbare Fluorescenz noch das Spektrum des Urobilins. Ebensowenig wurden hierbei die bei Gegenwart von Bilirubin auftretenden charakteristischen Spektralerscheinungen beobachtet. Die Gmelinsche Reaktion fiel negativ aus. Mit dem von mir angegebenen Säuregemenge (Salpetersäure und Salzsäure 1 : 19), der alkoholischen Lösung direkt zugesetzt, wurde die Lösung grün oder richtiger blaugrün gefärbt. Das violette oder violettrote Stadium der Reaktion kam dagegen nicht deutlich oder schön zum Vorschein. Es konnte also kein Urobilin und höchstens sehr geringfügige Mengen von Bilirubin nachgewiesen werden.

Da dieses Mißlingen der Reaktion zum Teil vielleicht an der großen Verdünnung liegen konnte, wurde die alkoholische Lösung bei 40—50° C. rasch von dem Alkohol befreit. Hierbei änderte sich aber die Farbe wesentlich. Da der Rückstand von neuem in Alkohol gelöst wurde, nahm die Lösung nämlich eine im auffallenden Lichte grüne und im durchfallenden Lichte schöne rote Farbe an. Die Reaktionen auf Urobilin und Bilirubin, sei es in alkoholischer oder wässriger Lösung, fielen jetzt ebenso schlecht wie früher aus; bei der spektroskopischen Untersuchung zeigte aber die alkoholische Lösung nunmehr sehr schön das Spektrum des Cholehämamins, wie es von Mac Munn¹⁾ beschrieben worden ist. Der Streifen bei C war aller-

¹⁾ Proceedings of the Royal Society 1883, Nr. 226, und Journal of Physiology, Bd. 6.

dings sehr schwach, die drei übrigen Streifen waren aber sehr deutlich zu sehen.

Die untersuchte Galle enthielt also fast kein Bilirubin, was, in Anbetracht ihrer mehrmonatlichen Aufbewahrung in Alkohol, natürlich nicht die Möglichkeit ausschließt, daß sie von Anfang an viel reicher an diesem Stoff gewesen sei. Dagegen ähnelte die Galle des Moschusochsen sehr der Rinder- und der Schafsgalle darin, daß sie einen Stoff enthält, welcher beim Verdunsten der Galle an der Luft in Cholehämatin (welches wohl in allernächster Beziehung zu dem von Loebisch und Fischler¹⁾ isolierten Bilipurpurin stehen dürfte) übergeht. Besonders schön fand sich das Cholehämatin, wie bei der Verarbeitung von Rinder- und Schafsgalle, in einigen bei den weiteren Untersuchungen erhaltenen Ätherextrakten vor.

Der obengenannte, nach Verdunsten der alkoholischen Lösung bei 40—50° C. erhaltene Rückstand löste sich leicht in Wasser zu einer ganz klaren Lösung, die von verdünnten Säuren und von Bleizuckerlösung, nicht aber von löslichen Baryum- und Calciumsalzen gefällt wurde. Die Galle des Moschusochsen verhielt sich also wie eine glykocholsäurereiche Galle.

Behufs weiterer Analyse der alkohollöslichen Stoffe wurde ein Teil des obigen Rückstandes in der für die Eisbärengalle angegebenen Weise²⁾ verarbeitet. Es wurde hierbei in erster Linie die Menge der in absolutem Alkohol unlöslichen Stoffe bestimmt, und es kam hierbei sogleich ein wesentlicher Unterschied zwischen den zwei Gallen zum Vorschein. Bei dem Eintrocknen der Eisbärengalle und Auflösen des Rückstandes in absolutem Alkohol blieb immer ein ungelöster Teil zurück, selbst wenn man die Operation mehrmals wiederholte, und sogar nach 24maligem Eintrocknen und Wiederauflösen war ich nicht ganz zu Ende gekommen. Ganz anders verhielt sich die Galle des Moschusochsen, indem sie nämlich schon nach 4—5maligem Eintrocknen und Wiederauflösen ohne Rückstand ganz klar in absolutem Alkohol löslich war.

¹⁾ Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch. in Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXII, 1903.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 441 u. folg.

Die Menge der bei dieser Behandlung zurückbleibenden, in Alkohol unlöslichen Substanz betrug für die Eisbärengalle 10,5% der ursprünglichen, alkohollöslichen Stoffe und von ihnen waren 77,5% organische Stoffe. Für die Galle des Moschusochsen (von der Grönlandexpedition 1900 herrührend) waren dagegen die Verhältnisse ganz andere. 2,004 g feste Stoffe lieferten nach 5maligem Eintrocknen einen alkoholunlöslichen Rückstand von im ganzen 0,0955 g = 4,26% der gesamten in Alkohol von 95% löslichen Stoffe. Von den Bestandteilen dieses Rückstandes waren 0,0805 g Salze, und nur 0,015 g = 15,7% bestanden aus organischer Substanz. Von den organischen Bestandteilen der schleimfreien Galle waren also in der Eisbärengalle rund 8% und in der Moschusochsengalle rund 0,7% in absolutem Alkohol unlöslich. Die Asche der alkoholunlöslichen Stoffe in der letztgenannten Galle bestand zum allergrößten Teil aus Chloriden mit nur Spuren von Sulfaten und Phosphaten; die entsprechende Asche aus der Eisbärengalle enthielt dagegen 50% Sulfat (als Na_2SO_4 berechnet).

Unter den in Alkohol unlöslichen organischen Stoffen der Eisbärengalle konnte ich eine reduzierende, schwefelhaltige, jecorinähnliche Substanz nachweisen. Da die Menge der in absolutem Alkohol unlöslichen organischen Bestandteile der Moschusochsengalle nur eine geringfügige und die Menge des mir zu Gebote stehenden Materiales überhaupt sehr gering war, schien es mir ziemlich aussichtslos zu sein, in dieser Galle nach einer Jecorin-substanz zu suchen. Das Vorkommen einer solchen dürfte jedoch auf Grund der folgenden Beobachtung sehr wahrscheinlich sein.

Die Hauptmenge der bei 40—50° C. eingetrockneten Galle wurde in wenig Alkohol (von 95%) gelöst und mit einer größeren Menge absoluten Alkohols versetzt, und diese Lösung blieb dann einige Monate bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit hatte am Boden und auf der Innenseite der Flasche ein spärlicher Niederschlag sich abgesetzt. Dieser Niederschlag war in Wasser löslich und die Lösung reduzierte Kupferoxyd in alkalischer Lösung. Die Substanz, welche bei qualitativer Prüfung als phosphorhaltig sich erwies, konnte mit CdCl_2 und

aus der wässerigen Lösung durch Säurezusatz gefällt werden. Sie verhielt sich also wie die Jecorinsubstanz der Eisbäregalle, und wenn auch ihre sehr geringe Menge keine mehr eingehende Untersuchung gestattete, machen doch die nun mitgeteilten Beobachtungen es recht wahrscheinlich, daß es auch in diesem Falle um eine jecorinartige Substanz sich gehandelt hat. Es ist jedoch ebenso gut möglich, daß hier nur eine Lecithinzucker-Verbindung vorlag.

Die weitere Verarbeitung der in absolutem Alkohol löslichen Gallenbestandteile geschah ebenfalls nach dem für die Eisbäregalle angegebenen Verfahren. Nach dem Eintrocknen der Lösung auf dem Wasserbade konnte der Rückstand leicht gepulvert und dann durch Trocknen im Exsikkator auf konstantes Gewicht gebracht werden. Erhitzen des Pulvers auf 105°C . während mehrerer Stunden änderte dann das Gewicht nicht. Die Bestimmung von Stickstoff, Schwefel und Phosphor in der so getrockneten Substanz ergab folgendes:

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

a) 0,3445 g Substanz erforderten 7,47 ccm $\frac{n}{10}$ Säure
= 0,01046 g Stickstoff = 3,035% N.

b) 0,4195 g Substanz erforderten 9,00 ccm $\frac{n}{10}$ Säure
= 0,0126 g Stickstoff = 3,003% N.

Mittelwert: 3,019% N.

Schwefel- und Phosphorbestimmung nach Verbrennen mit Kalihydrat und Salpeter.

a) 1,1346 g Substanz lieferten 0,1695 g BaSO_4
= 0,023279 g Schwefel = 2,05% S.

Sie lieferten ferner 0,0135 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 0,00377 g Phosphor = 0,332% P.

b) 1,028 g Substanz lieferten 0,1572 g BaSO_4
= 0,0216 g Schwefel = 2,10% S.

Die in Alkohol (von 95 Vol.-Proz.) löslichen Stoffe (aus der Galle von 1899) enthielten also als Mittel 3,02% N, 2,075% S und 0,332% P. Wird der Phosphor in Lecithin (mit einem mittleren Gehalte von 3,94% P) umgerechnet, so würde also der Gehalt an Lecithin 8,43% betragen.

Um die Relation zwischen den durch Äther aus alkoholischer Lösung fällbaren und den durch Äther nicht fällbaren Stoffen zu ermitteln, wurden 2,691 g aus alkoholischer Lösung,

wie für die Eisbärengalle angegeben wurde, mit Äther gefällt. Die Menge der durch Äther fällbaren Stoffe war 2,505 g und die der nicht fällbaren 0,186 g. Es waren also:

Durch Äther	fällbar	93,12%
„	nicht	6,88%

Die mit Äther nicht fällbaren wurden zur Bestimmung des Phosphorgehaltes verwendet.

0,184 g Substanz lieferten 0,0045 g $Mg_2P_2O_7$
 = 0,00125 g Phosphor = 0,682% P.

Aus dem Gehalt an Phosphor, 0,682%, berechnet sich ein Gehalt von 0,031 g Lecithin in den durch Äther nicht fällbaren Stoffen. Da die in Arbeit genommene Substanzmenge (2,691 g) nach der oben mitgeteilten Bestimmung 8,43% Lecithin, entsprechend 0,186 g Lecithin, enthielt, muß also ein bedeutender Teil des Phosphors (83% desselben), entsprechend 0,155 g Lecithin, in den durch Äther gefällten Stoffen sich vorgefunden haben. Ähnlich verhielt sich, wie aus dem später Mitgeteilten hervorgehen wird, auch die von der zweiten Expedition (1900) stammende Galle. Die Galle des Moschusochsen verhält sich also wie die Eisbären- und Menschengalle (und wahrscheinlich viele andere Gallen), indem nämlich der aus gallensauren Salzen und Seifen bestehende, durch Äther erzeugte Niederschlag phosphorhaltig ist.

Die mit Äther gefällten Stoffe kristallisierten leicht unter Äther wie gewöhnliche kristallisierte Galle und sie konnten leicht zu konstantem Gewicht getrocknet werden. Die Schwefel- und Stickstoffbestimmung ergab folgendes:

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

0,480 g Substanz erforderten 9,85 cm n_{10} Säure
 = 0,01379 g Stickstoff = 2,87% N.

Schwefelbestimmung.

0,957 g Substanz lieferten 0,153 g $BaSO_4$
 = 0,021 g Schwefel = 2,197% S.

Unter der Voraussetzung, daß aller Schwefel als Taurocholat in der Galle enthalten war (Ätherschwefelsäuren habe ich nicht nachweisen können), würden also die mit Äther gefällten Stoffe folgende Zusammensetzung gehabt haben.

Taurocholat 37,3⁰/₁₀₀

Glykocholat (+ Seifen, Lecithin etc.) 62,7⁰/₁₀₀

Für ein solches Gemenge berechnet sich ein Gehalt von 2,78⁰/₁₀₀ N (gefunden 2,87⁰/₁₀₀).

Diese, von der «Antarctic»-Expedition 1899 stammende Galle, welche Mischgalle von mehreren Individuen war, gehörte also wie die Rindergalle zu den glykocholsäurereichen Gallen. Bemerkenswert ist ferner die kleine Menge der in Alkohol-äther löslichen Stoffe. Sie betrug nämlich nur 6,88⁰/₁₀₀ sämtlicher alkohollöslichen Stoffe, während die entsprechende Menge in der Eisbäregalle zwischen 28,4⁰/₁₀₀ und 46,34⁰/₁₀₀ schwankte.

Für die aus der Grönlandexpedition 1900 stammende Galle, die ebenfalls Mischgalle war, habe ich für die durch Äther fällbaren und nicht fällbaren Stoffe Werte erhalten, die den oben für andere Moschusochsengalle mitgeteilten sehr nahe stehen.

Bei Verarbeitung von 1,907 g alkohollöslichen Stoffen aus dieser Galle wurden von Äther gefällt 1,746 g, während 0,160 g in Lösung blieben. Es waren also:

Durch Äther fällbar 91,61⁰/₁₀₀

« « nicht « 8,39⁰/₁₀₀

Die in Alkoholäther löslichen Stoffe, welche nach dem Eintrocknen und Auflösen in wenig absolutem Alkohol nicht im geringsten von Äther gefällt wurden, dienten nur zu einer Phosphorbestimmung. Diese ergab einen Gehalt von 1,48⁰/₁₀₀ Phosphor, welches einem Gehalte von etwa 38⁰/₁₀₀ Lecithin entspricht.

0,160 g Substanz lieferten 0,0085 g $Mg_2P_2O_7$
= 0,00237 g Phosphor = 1,48⁰/₁₀₀ P.

Die Relation der zwei Gallensäuren zu einander war aber in dieser Galle eine andere, als in der vorigen. Die Bestimmung von Stickstoff, Schwefel und Phosphor in den äthergefällten Stoffen ergab nämlich folgendes:

Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

0,3935 g Substanz erforderten 8,5 ccm ⁿ/₁₀₀ Säure
= 0,0119 g Stickstoff = 2,99⁰/₁₀₀ N.

Schwefel- und Phosphorbestimmung.

1,0115 g Substanz lieferten 0,243 g $BaSO_4$ = 0,334 g Schwefel = 3,302⁰/₁₀₀ S.
Sie lieferten ferner: 0,006 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,00169 g Phosphor = 0,16⁰/₁₀₀ P.

Die mit Äther gefällten Stoffe enthielten also 3,302% S, 2,99% N und 0,16% P. Der Phosphor, in Lecithin umgerechnet, gibt einen Gehalt an Lecithin von 0,0429 g, entsprechend 4,24%. Aus dem Schwefelgehalte berechnet sich eine Menge von 0,5587 g Taurocholat, entsprechend 57,70%.

Die ätherfällbaren Stoffe enthielten also:

Taurocholat	57,70%
Glykocholat (+ Seifen etc.)	38,06%
Lecithin	4,24%

Für ein solches Gemenge berechnet sich ein Stickstoffgehalt von 2,80% N (gefunden 2,99%). Sowohl in diesem wie in dem vorigen Falle (S. 115) ist die gefundene Stickstoffmenge etwas größer als die berechnete. Der Unterschied liegt wohl innerhalb der Fehlergrenzen der Bestimmung, könnte aber vielleicht auf die Anwesenheit kleiner Mengen einer beigemengten stickstoffreichen Substanz hindeuten.

Die von der zweiten Expedition stammende Moschusochsengalle war also viel reicher an Taurocholat als die von der ersten stammende. Auch hier wurde jedoch der unverhältnismäßig größte Teil der alkohollöslichen Stoffe, gegen 92%, durch Äther gefällt, und der hauptsächlich aus gallensauren Salzen bestehende Niederschlag enthielt auch in diesem Falle eine phosphorhaltige Substanz.

Ich habe auch Gelegenheit gehabt, Moschusochsengalle von einem Kalbe zu untersuchen.

Diese Galle, deren kleine Menge keine hinreichend ausführliche Analyse gestattete, enthielt in der ursprünglichen, von Gallenschleim abfiltrierten Lösung 0,234 g in absolutem Alkohol (nach wiederholtem Eintrocknen) unlösliche und 1,311 g in absolutem Alkohol lösliche Stoffe. Es waren also 15% der gesamten Stoffe in absolutem Alkohol unlöslich, gegen 4,26% bei den erwachsenen Tieren. Die alkoholunlöslichen Stoffe bestanden hier zu 47%, gegen nur 15% bei den erwachsenen Tieren, aus organischer Substanz. Die Asche des alkoholunlöslichen Rückstandes bestand auch hier hauptsächlich aus Chloriden, war aber, dem Augenmaße nach, bedeutend reicher an Sulfat und Phosphat.

Von den in absolutem Alkohol löslichen Stoffen waren:

Durch Äther fällbar 1,258 g = 95,9%

» nicht » 0,047 » = 4,1%

Die Schwefelbestimmung ergab folgendes: 0,801 g Substanz lieferten 0,036 g BaSO₄ = 0,00494 g Schwefel = 0,618% S.

Aus dem Schwefelgehalte 0,618% kann man berechnen, daß diese Galle in den ätherfällbaren Stoffen enthielt:

Taurocholat 10,36%

Glykocholat (+ Seifen etc.) 89,64%

Diese Galle war also bedeutend reicher an Glykocholat, als die von erwachsenen Tieren, und wie bei Menschen, Rindern und wahrscheinlich auch anderen Tieren schwankt auch beim Moschusochsen die Relation der zwei Gallensäuren zu einander recht bedeutend. Dies geht am deutlichsten aus der folgenden Übersicht hervor.

Gallen vom Moschusochsen.

	Taurocholat	Glykocholat (+ Seifen etc.)
Erwachsene Tiere	a) 37,30%	62,70%
	b) 57,70%	42,30%
Kalb	10,36%	89,64%

Die nach diesen Untersuchungen noch übrig gebliebenen Reste der aus den zwei Expeditionen stammenden Gallen wurden behufs weiterer Untersuchung zusammengemischt. Die Gesamtmenge der so gewonnenen alkohollöslichen Stoffe betrug gegen 24 g, die indessen noch die Mineralstoffe, viel Farbstoff und überhaupt die in absolutem Alkohol unlöslichen Stoffe enthielten. Aus dieser Portion wurden 1,528 g durch Äther aus alkoholischer Lösung nicht fällbare Stoffe gewonnen.

Es wurden nun diese 1,528 g mit wasserfreiem Äther erschöpft, und die Menge der hierbei gewonnenen, in Äther allein löslichen Stoffe war 0,314 g. Der nach dem Erschöpfen mit Äther zurückgebliebene ungelöste Rückstand wurde in Alkohol gelöst und diese Lösung konnte nunmehr mit Äther gefällt werden. Die neue alkoholisch-ätherische Lösung wurde eingetrocknet, der ganz unbedeutende Rückstand wurde in wenig Alkohol gelöst und mit Äther versetzt. Es entstand hierbei wieder eine kleine Fällung und die hiervon getrennte alkoholisch-

ätherische Lösung lieferte beim Verdunsten fast keinen Rückstand. Es wiederholte sich also hier die von mir schon früher an der Eisbären-galle gemachte Beobachtung, daß die durch Äther aus alkoholischer Lösung nicht fällbaren Stoffe nach Entfernung des in Äther allein löslichen Anteiles nunmehr aus alkoholischer Lösung durch Äther gefällt werden können.

Dieser durch Äther nunmehr fällbare Teil war in Wasser klar löslich, hatte den Geschmack der Galle, gab die Pettenkofersche Gallensäureprobe und wurde von verdünnter Säure gefällt.

Die Schwefel- und Phosphorbestimmung ergab folgendes:

0,937 g Substanz lieferten 0,076 g $\text{BaSO}_4 = 0,0104$ g Schwefel = 1,11% S.

Sie lieferten ferner:

0,079 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,022$ g Phosphor = 2,35% P.

Wird aus den obigen Zahlen, 2,35% P und 1,11% S, der Gehalt an Lecithin und Taurocholat berechnet, so findet man für die in Alkoholäther gelösten, in Äther allein nicht löslichen Stoffe folgende Zusammensetzung:

Lecithin	59,77%
Taurocholat	18,88%
Glykocholat (+ Seifen etc.)	21,35%

Es blieb also hier, wie bei Verarbeitung der Eisbären-galle, ein Teil der gallensauren Alkalien in der alkoholisch-ätherischen Lösung zurück und sie konnten nur nach Entfernung der ätherlöslichen Stoffe ausgefällt werden. Der Umstand, daß hier, wie bei der ersten Ausfällung der gallensauren Salze, immer etwas Lecithin (oder eine andere phosphorhaltige Substanz) mit ausgefällt wird, dürfte bei quantitativen Analysen der Galle nicht außer acht gelassen werden.

Die in Äther allein löslichen Stoffe (deren Menge, wie oben bemerkt, 0,314 g betrug) stellten eine amorphe Masse dar, in welcher keine Cholesterinkristalle zu sehen waren. Zur Prüfung auf Cholesterin wurde mit alkoholischer Kalilauge verseift. Die Menge der nach dieser Verseifung gewonnenen ätherlöslichen Stoffe war nur 0,023 g. Sie stellten eine amorphe, wachsähnliche Masse dar, die in keiner Weise zur Kristallisation gebracht werden konnte und die keine Cholesterinreaktionen

gab. Es war mir also nicht möglich, etwas Cholesterin nachzuweisen: aber selbst wenn die ganze Masse (0,023 g) aus unreinem Cholesterin bestanden hätte, würde dies, auf das gesamte verarbeitete Material (gegen 24 g) berechnet, weniger als 0,1% der festen Gallenbestandteile betragen. Die von mir untersuchten Gallen des Moschusochsen waren also als cholesterinfrei anzusehen.

In den nach Verseifung der ätherlöslichen Stoffe mit alkoholischer Kalilösung erhaltenen Seifen konnte ich leicht und sicher Ölsäure nachweisen. Außerdem erhielt ich auch ein Gemenge von festen Säuren, deren Natur ich indessen, infolge des unzureichenden Materiales, nicht habe näher feststellen können.

Die Hauptmasse der mit Äther aus alkoholischer Lösung gefällten Stoffe, welche hauptsächlich aus gallensauren Alkalien bestand, wurde mit den aus anderen Versuchen zurückgebliebenen Resten von gallensauren Salzen vereinigt, so daß mir im ganzen 25 g gallensaure Salze (von Seifen, Farbstoff und Lecithin verunreinigt) zur Verfügung standen. Diese Portion würde zur näheren Untersuchung der gepaarten Gallensäuren verwendet.

Diese Untersuchungen sind schon vor mehreren Jahren, bevor ich noch das Verhalten der Galle zu Blei- und Eisensalzen mehr eingehend studiert hatte, ausgeführt worden, und ich versuchte damals das fraktionierte Fällen nach einander mit Bleizucker, Bleiessig und ammoniakalischem Bleiessig. Die verschiedenen Fraktionen wurden dann mit Natriumkarbonat zersetzt, die gallensauren Alkalien durch wiederholtes Eintrocknen und Lösen in Alkohol gereinigt und als Alkalisalze gewogen. Die Mengen der durch a) Bleizucker, b) Bleiessig und c) Bleiessig und Ammoniak erhaltenen Fraktionen waren: a) = 5 g, b) = 8,7 g und c) = 6,4 g oder im ganzen 20,1 g. Das Endfiltrat enthielt hier, wie es bei Verarbeitung der Rindergalle immer der Fall war, einen Rest von Gallensalzen, die aus der verdünnten Lösung nicht durch abwechselnden Zusatz von Bleiessig und Ammoniak gefällt werden könnten. Um auch diesen Rest wieder gewinnen zu können, behandelte ich das Filtrat mit überschüssigem Natriumkarbonat, filtrierte vom Blei-

karbonat ab, neutralisierte den größten Teil des Alkalikarbonates mit Schwefelsäure, konzentrierte stark im Wasserbade, fällte mit Alkohol, filtrierte, konzentrierte von neuem und behandelte die beim Abkühlen kristallinisch erstarrende Masse (Acetat) mit kaltem Alkohol. Die alkoholische Lösung wurde von neuem eingetrocknet und mit kaltem Alkohol behandelt. Da man in dieser Weise nicht das Acetat vollständig entfernen kann, wurde zuletzt, nach dem Verjagen des Alkohols, in Wasser gelöst und mit ammoniakalischem Bleiessig gefällt. Diese Fraktion d, mit Soda zersetzt und als Alkalisalz gewogen, betrug 1,26 g. Es wurden also im ganzen 21,36 g wiedergewonnen.

Von dieser Fraktion d, in welcher man wohl ausschließlich Taurocholat zu erwarten hätte, wurde ein Teil zu einer Schwefelbestimmung verwendet.

0.702 g Substanz lieferten 0.261 g BaSO_4
 — 0.03585 g Schwefel = 5,11% S.

Nach dem Gehalte an Schwefel, 5,11%, zu urteilen, würde also diese Fraktion nur 85,7% Taurocholat enthalten haben. Welcher Art die anderen Stoffe gewesen sind, kann ich nicht sagen. Bei der Verarbeitung von Rindergalle habe ich wiederholt beobachtet, daß das Endfiltrat nach der Fällung mit ammoniakalischem Bleiessig auffallenderweise noch Seifen enthalten kann. Die Fraktion d konnte also vielleicht auch Seifen enthalten haben, doch ist eine Beimengung von 14,3% Seifen nicht anzunehmen. Allem Anscheine nach enthielt also diese Fraktion auch eine schwefelfreie Gallensäure, und hierin liegt ein neuer Beweis für die Unbrauchbarkeit der Bleisalze zur Trennung und Reingewinnung der verschiedenen Gallensäuren.

Da die Fraktion d nicht aus Taurocholat allein bestand, hätte man in den Fraktionen b und c eine nicht unbedeutende Beimengung von Glykocholat zu erwarten, während die Fraktion a überwiegend Glykocholat enthalten dürfte. Um eine Trennung der zwei Säuren wenn möglich zu bewirken, wurden die Fraktionen b und c zusammen in Wasser gelöst und diese Lösung mit Eisenchlorid gefällt. Das Filtrat von der reichlichen Eisenfällung wurde mit Soda von überschüssigem Eisen befreit, fast neutralisiert, eingetrocknet und der Rückstand dann

mit Alkohol erschöpft. Das alkoholische Filtrat wurde eingetrocknet, der Rückstand in Wasser gelöst und diese Lösung wieder mit Eisenchlorid gefällt. Das neue Filtrat wurde wie oben behandelt und die obigen Prozeduren wiederholt, bis im ganzen 3 mal mit Eisenchlorid gefällt worden war.

Die Eisenfällungen wurden durch Zersetzung mit Na_2CO_3 in die entsprechenden Alkaliverbindungen übergeführt. Da die erste sehr reichliche Eisenfraktion allem Anscheine nach die Hauptmasse der Glykochol- (und Glykocholein-)säure enthielt, wurde diese Fraktion (als Alkalisalz) mit der obigen Fraktion vereinigt und zur Verarbeitung auf Glykocholsäuren verwendet. Die zwei anderen Eisenfraktionen wurden bis auf weiteres aufbewahrt, und das Filtrat von der letzten Eisenfällung wurde auf Taurocholsäure verarbeitet.

Zur Darstellung der Glykocholsäuren wurde die wässrige Lösung mit Salzsäure und Äther versetzt. Es wurde hierbei eine reichliche Kristallisation von fast ungefärbter Säure erhalten, während der Äther fast allen Farbstoff aufnahm. Die mit Wasser, behufs Entfernung aller Salzsäure, genau ausgewaschene Kristallmasse wurde ausgepresst und wiederholt mit Wasser ausgekocht. In den Filtraten schieden sich beim Erkalten reichliche Mengen von rein weißer Glykocholsäure aus. Dieselbe wurde umkristallisiert und ihre Identität mit gewöhnlicher Glykocholsäure durch die Eigenschaften sowohl der gepaarten Säure wie der aus ihr dargestellten Cholsäure konstatiert. Bei dem Umkristallisieren der Säure wurde auch ziemlich viel Paraglykocholsäure erhalten.

Bei dem Auskochen der obengenannten, aus Rohsäuren bestehenden Kristallmasse mit Wasser blieb ein sehr schwerlöslicher Teil als ungelöste Masse zurück, die nach dem von Wahlgren¹⁾ angegebenen Verfahren auf Glykocholeinsäure verarbeitet wurde. Es wurde also zur Trennung dieser Säure von der beigemengten Paraglykocholsäure die Masse in Wasser mit Hilfe von etwas Alkali gelöst und die neutrale Lösung mit BaCl_2 -Lösung versetzt. Hierbei trat eine Fällung auf, die als eine zähe Masse am Boden sich sammelte. Das hiervon

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI.

getrennte Filtrat gab mit Salzsäure und Äther eine neue Kristallisation, die größtenteils aus Glykocholsäure bestand, die aber beim Auskochen mit Wasser ebenfalls einen unlöslichen Rest lieferte. Dieser Rest, als Alkalisalz in neutraler wässriger Lösung, gab mit BaCl_2 einen neuen Niederschlag, der mit dem obigen vereinigt und auf Glykcholeinsäure verarbeitet wurde. Durch abwechselndes Ausfällen der freien Säure mit Äther und Salzsäure, Auskochen mit Wasser und Überführen in das Baryumsalz erhielt ich zuletzt das letztere kristallisiert. Das Baryumsalz wurde in das Alkalisalz übergeführt und aus der wässrigen Lösung des letzteren die freie Säure durch Zusatz von Äther und Salzsäure in farblosen Kristallen erhalten.

Die so gewonnene Säure, welche stickstoffhaltig und also eine gepaarte Säure war, hatte dieselbe Kristallform wie die von Wahlgren isolierte Glykcholeinsäure. Sie war auch in siedendem Wasser äußerst schwer löslich, ihr Alkalisalz hatte einen intensiv bitteren Geschmack und es gab mit BaCl_2 -Lösung ein schwerlösliches, aus heißer wässriger Lösung beim Abkühlen, wie das Baryumsalz der Glykcholeinsäure, kristallisierendes Salz. Die Säure verhielt sich in allen Beziehungen wie Glykcholeinsäure und nur in einem Punkte, nämlich bezüglich des Schmelzpunktes, wich sie ein wenig von der letzteren ab. Die Glykcholeinsäure schmilzt nämlich nach Wahlgren bei $175-176^\circ \text{C}$., während die von mir isolierte gepaarte Säure den Schmelzpunkt $180-182^\circ \text{C}$. hatte. In diesem Punkte ähnelte sie also der ebenfalls schwerlöslichen Paraglykocholsäure, deren Schmelzpunkt nach Emich¹⁾ bei $183-184^\circ$ und nach Wahlgren bei $185-188^\circ \text{C}$. liegt.

Daß die Säure indessen nicht Paraglykocholsäure sein konnte, ging schon aus dem rein bitteren Geschmacke des Alkalisalzes und der Schwerlöslichkeit des Baryumsalzes hervor. Ganz sicher wird dies aber dadurch bewiesen, daß die Paraglykocholsäure durch Umkristallisieren aus Alkohol in gewöhnliche Glykocholsäure von dem Schmelzpunkte $138-140^\circ \text{C}$. übergeführt wird. Die von mir isolierte Säure hatte dagegen nach dem Umkristallisieren aus Alkohol den Schmelzpunkt 180°C .

¹⁾ Monatshefte für Chemie, Bd. 3, 1882.

Die Säure konnte also nicht Paraglykocholsäure sein; und da sie nur bezüglich des Schmelzpunktes ein wenig von der Glykcholeinsäure abwich, während sie in allen anderen Hinsichten wie diese Säure sich verhielt, dürfte wohl diese Abweichung am einfachsten ihre Erklärung durch die Annahme finden, daß ich die Säure nicht ganz rein erhalten habe. Die Reindarstellung der Glykcholeinsäure ist nämlich, selbst bei Verarbeitung von großen Mengen Rindergalle, eine recht schwierige Aufgabe, die, wenigstens nach der bisher bekannten Methode, nur unter großen Verlusten an Material gelingt.

Zur endgültigen Entscheidung, ob hier eine Glykcholeinsäure vorlag oder nicht, war es indessen notwendig, die entsprechende Cholalsäure darzustellen. Zur Lösung dieser Aufgabe verwendete ich alles nach Ausführung sämtlicher qualitativen Proben noch rückständige Material, dessen Menge rund 0.2 g betrug. Diese Menge, in 10 cem Natronlauge von 10% gelöst, wurde in einem Rohre im Autoklaven 24 Stunden bei etwa 100° C. gekocht. Die Cholalsäure wurde aus der mit Wasser verdünnten Lösung mit Salzsäure gefällt, auf einem kleinen Filter mit Wasser ausgewaschen und im Exsikkator getrocknet. Ein wenig dieser Säure in Alkohol gelöst, gab mit Jod keine Spur der Jodcholsäurereaktion und sie konnte also nicht Cholalsäure sein. Die übrige, getrocknete Säure wurde in möglichst wenig heißem absolutem Alkohol gelöst und war am folgenden Tag recht schön kristallisiert. Bei der Untersuchung mit einer Lupe erwiesen sich die Kristalle als 6seitige, zugespitzte Prismen, welche genau die von Latschinoff¹⁾ für die Choleinsäure beschriebene Form hatten. Infolge ihrer geringen Menge konnten sie nicht von dem Alkohol getrennt werden und ich konnte also keine Schmelzpunktbestimmung machen. Ich löste deshalb die Kristalle durch Erwärmen unter Zusatz von noch ein wenig Alkohol, fügte dann Äther hinzu und verdünnte mit Wasser, bis der Äther als eine besondere Schicht sich ansammelte. Der Äther wurde von der Flüssigkeit getrennt und in einem Becherglase der spontanen

¹⁾ Ber. der deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 18.

Verdunstung überlassen. Die Säure schied sich nun in Drusen von feinen Nadeln aus, die jedoch leider in einer amorphen Haut, von der ich sie nicht trennen konnte, lagen. Ich konnte also auch jetzt keine Schmelzpunktbestimmung ausführen, wogegen ich konstatieren konnte, daß die Kristalle den widerlich bitteren Geschmack der Choleinsäure hatten.

Da die erhaltene Cholalsäure keine Jodreaktion gab, so folgt hieraus, daß sie nicht Cholsäure sein konnte. Da sie aber den stark bitteren Geschmack und die Kristallform der Choleinsäure hatte, wird es also höchst wahrscheinlich, daß die letztgenannte Säure hier vorlag. Da hierzu noch kommt, daß die gepaarte Säure, bis auf eine kleine Abweichung bezüglich des Schmelzpunktes, alle Eigenschaften der Glykocholeinsäure hatte, dürfte es wohl berechtigt sein, zu behaupten, daß die untersuchte Galle von Moschusochsen neben der gewöhnlichen Glykocholsäure auch Glykocholeinsäure enthielt.

Daß die untersuchte Galle auch Taurocholsäure enthielt, geht schon aus den Schwefelbestimmungen hervor. Es konnte sich also nur darum handeln, ob sie gewöhnliche Taurocholsäure oder Taurocholeinsäure oder ein Gemenge von beiden enthielt, und aus dem Grunde wurde das von den Eisenfällungen getrennte Endfiltrat auf Taurocholate verarbeitet. Das Filtrat wurde durch Zusatz von Na_2CO_3 vom Eisen befreit: das neue Filtrat wurde fast neutralisiert, eingetrocknet und der Rückstand mit Alkohol behandelt. Das durch wiederholte Alkoholbehandlung gereinigte Gemenge von gallensauren Alkalien enthielt indessen nur 4,12% S, was einem Gehalt von etwa 69% Taurocholat entspricht. Der Gehalt an Glykocholat war also recht bedeutend. Da man indessen hoffen konnte, daß wenigstens der allergrößte Teil des durch Eisenchlorid leicht fällbaren Glykocholeinates durch die vorausgegangene Behandlung entfernt worden war, wurde die nach der Schwefelbestimmung rückständige Menge, die etwas mehr als 2 g betrug, durch Sieden mit gesättigter Baryumhydratlösung auf Cholalsäuren und Taurin verarbeitet.

Aus der Barytlösung und dem zum Auswaschen des unlöslichen Rückstandes benützten Waschwasser wurde die

Cholalsäure mit Salzsäure gefällt. Nachdem sie sandig-körnig geworden war, wurde sie abfiltriert, mit Wasser genau gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die trockene Säure, in möglichst wenig siedendem Alkohol gelöst, schied sich nach dem Abkühlen sehr bald als schöne typische Cholsäurekristalle aus.

Auf der anderen Seite wurde auch der ungelöst zurückgebliebene Baryrückstand, in welchem man etwa vorhandenes choleinsaures Baryum zu erwarten hatte, mit Salzsäure zersetzt, das Ungelöste gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die trockene Masse, deren Menge nur gering war, wurde in dem von den obenerwähnten Cholsäurekristallen getrennten Alkohol (welcher die leichtlöslichere Choleinsäure enthalten dürfte) unter Erwärmen gelöst. Nach dem Erkalten schied sich eine neue Portion typische Cholsäure in Kristallen aus. Sämtliche, aus diesen zwei Fraktionen gewonnene Cholsäure wurde noch einmal umkristallisiert. Die so gewonnene Säure war rein weiß, gab schöne Jodreaktion, hatte die typische Kristallform und den Schmelzpunkt 195° C. Die Menge dieser ganz reinen Cholsäure war 1,270 g.

Sämtliche, von auskristallisierter Cholsäure getrennten Alkoholfiltrate, in welchen also die Choleinsäure zu suchen war, wurden vereinigt, mit Alkali neutralisiert, von Alkohol befreit, in wenig Wasser gelöst und mit Säure gefällt. Nach der Auflösung der getrockneten Fällung in möglichst wenig siedendem Alkohol und Erkalten wurde noch eine geringe Menge kristallisierte Cholsäure gewonnen. Die von ihr getrennte alkoholische Lösung (nebst der zum Abspülen der Kristalle benutzten kleinen Alkoholmenge) wurde genau neutralisiert, von dem Alkohol befreit und in wässriger Lösung mit BaCl_2 gefällt. Aus dem Barytniederschlag konnte indessen gar keine Gallensäure, sondern nur Fettsäuren gewonnen werden, und dieser Niederschlag enthielt also keine Choleinsäure. Das von dem Barytniederschlag getrennte Filtrat (samt dem Waschwasser) wurde mit Salzsäure gefällt, der Niederschlag gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die Menge der so gewonnenen Säure betrug 0,0677 g. Die Säure war nicht rein weiß, sondern

blaßgelb, sie gab eine starke Jodreaktion und bestand also mindestens zu einem großen Teil aus Cholsäure. Die weiteren Versuche, diese kleine Menge auf Choleinsäure zu verarbeiten, führten zu keinem Resultate.

Aus dem von der Rohcholalsäure getrennten baryumhaltigen Filtrate wurde das Taurin isoliert. Es wurden im ganzen nur 0.160 g reines Taurin gewonnen, dessen Identität durch eine Schwefelbestimmung kontrolliert wurde. Die Ausbeute war im Verhältnis zu der berechneten Menge (rund 0,350 g) etwas klein, was durch die Schwierigkeit, das Taurin von den Mineralstoffen zu reinigen, bedingt war. Die Menge des gewonnenen Taurins (0.160 g) entspricht einer Menge von mehr als 0.5 g Cholsäure, bezw. Choleinsäure. Da aber die Menge der letzteren, wenn sie überhaupt vorhanden war, weniger als 0.0677 g betrug, folgt hieraus ganz sicher, daß die untersuchte Galle gewöhnliche Taurocholsäure und in dem Filtrate von den Eisenfällungen ausschließlich oder fast ausschließlich diese Taurocholsäure enthielt. Hiermit ist aber nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, daß die Galle des Moschusochsen auch Taurocholeinsäure enthält. Aus meinen an anderen Gallen ausgeführten, noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen scheint nämlich hervorzugehen, daß die Taurocholeinsäure in den Eisenniederschlägen sich vorfindet. Da dieses Verhalten zur Zeit der Ausführung der nun mitgeteilten Untersuchungen mir noch nicht bekannt war, wurden die Eisenfällungen leider nur auf Glykochol- und Glykocholeinsäure verarbeitet.

In den untersuchten Gallen des Moschusochsen konnten also Glykochol-, Glykocholeinsäure und gewöhnliche Taurocholsäure nachgewiesen werden.