

## Über den Befund von gepaarter Glukuronsäure in der Galle.

Von

Dr. **Manfred Bial**, Arzt in Kissingen.

---

(Aus der speziell-physiologischen Abteilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Mai 1905.)

---

Durch eine im Zentralblatt für Physiologie 1904 veröffentlichte Untersuchung habe ich den Übergang von gepaarter Glukuronsäure in die Galle wahrscheinlich gemacht. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß nach subkutaner Einverleibung von Menthol die Galle der einige Stunden später getöteten Hunde folgende Erscheinungen aufwies: Die native Galle hatte keinen Geruch, beim Kochen mit einigen Tropfen starker Schwefelsäure entwickelte sich rasch der charakteristische, stechende Mentholgeruch. Die native Galle zeigte keine Reduktionskraft gegenüber Fehlingscher Lösung, wogegen die mit Schwefelsäure gekochte Galle deutliches Reduktionsvermögen erkennen ließ. Die auch den Glukuronsäuren zukommende Orcinreaktion war bei derartigen Gallenflüssigkeiten stets in kräftigem Maße vorhanden. Damit war nachgewiesen, daß in der Galle solcher mit Mentholinjektion behandelter Tiere Menthol in gebundener Form auftritt; andererseits wies das Eintreten der Reduktionskraft nach dem Kochen mit Säure und die starke Orcinreaktion darauf hin, daß es sich um Mentholglukuronsäure bei dieser Mentholverbindung handeln dürfte; eine andere Mentholpaarung im Körper ist ja auch nicht bekannt. Der sichere Nachweis der Glukuronsäure in der Galle erforderte aber die Darstellung eines charakteristischen Derivates. Dieses durfte man nicht erwarten aus den geringen Mengen Galle darstellen zu können, welche sich in der Gallenblase getöteter Hunde vorfinden. Und so erwies es sich als nötig, um größere Mengen Galle zu ge-

winnen, einen Gallenfistelhund zu benutzen. Mit der Galle eines derartigen Tieres, welches mir durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Prof. Schultz zur Verfügung gestellt war, gelang es, das noch fehlende Beweisstück für die Anwesenheit von Mentholglukuronsäure in der Galle nach Mentholinjektion zu erbringen.

Ich verfuhr folgendermaßen:

Dem mittelgroßen Hunde, welcher eine Kanüle in seiner nach Dastrescher Methode (in zwei Zeiten) angelegten Gallenfistel trug, wurden abends um 8 Uhr und morgens um 8 Uhr und 10 Uhr subkutane Einspritzungen von Menthol, gelöst in Olivenöl (15 g zu 70 g), gemacht: und zwar abends 10 g dieser Lösung, morgens um 8 Uhr 5 g, und morgens um 10 Uhr 10 g, so daß das Tier pro Versuch ca. 5 g Menthol beigebracht erhielt. Des öfteren wurde auch die Abendinjektion weggelassen. Von 9 Uhr morgens bis etwa 3 Uhr nachmittags stand der Hund in einem Hängeapparat, wobei die Galle aus der Kanüle abtropfte und in einem zweckmäßig aufgestellten Schälchen bequem aufgefangen wurde. Es wurden an den Versuchstagen auf diese Weise größere oder geringere Mengen Galle, zwischen 15 und über 60 ccm schwankend, gewonnen: das Aussehen der Galle war wechselnd zwischen grünlicher, gelblicher und gelbbrauner Farbe. Die Portionen der einzelnen Versuche wurden vereinigt, bis 280 ccm erhalten waren. Die Konservierung geschah durch sofortiges Versetzen der jeweils gewonnenen Portionen mit dem gleichen Volumen 20%iger Bleizuckerlösung: von der Bleifällung wurde abfiltriert. Nun wurde die gesamte Flüssigkeitsmenge, welche nach dem Nachwaschen des Bleiniederschlages ca. 600 ccm betrug, so lange mit Bleiessig versetzt, bis das Filtrat hiervon mit Bleiessig keine neue Fällung mehr ergab. Die so gewonnene Fällung mußte die Mentholglukuronsäure als Bleisalz enthalten: nach dem genügenden Waschen dieser Fällung mit destilliertem Wasser wurde dieselbe in eine Porzellanschale gebracht und mit 100 ccm 4%iger Schwefelsäure gründlich verrührt, um vom Blei zu befreien, darauf wurde abfiltriert, der Filterrückstand noch mit einigen Kubikzentimetern 4%iger Schwefelsäure nachgespült, und

das so erhaltene Filtrat wurde darauf  $1\frac{1}{2}$  Stunden am Rückflußkühler gekocht. Danach zeigte eine Probe der Flüssigkeit nach dem Neutralisieren eine kräftige, vor dem Kochen schon eintretende, einer  $\frac{1}{2}\%$ igen Zuckerlösung etwa entsprechende Reduktionskraft gegenüber Fehlingscher Lösung. Außerdem zeigte sich ein höchst intensiver Mentholgeruch. Die Spaltung der Mentholglukuronsäure wurde nun als genügend reichlich erfolgt angenommen. Die ganze Flüssigkeit wurde nach dem Erkalten mit konzentrierter Natronlauge neutralisiert und von den öligen Ausscheidungen abfiltriert. Es resultierte eine hellgelbliche, klare Lösung, dieselbe wurde mit einer Lösung von 0,5 g Bromphenylhydrazin in 2 ccm Eisessig versetzt und auf dem Wasserbade gekocht. Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunde begann die Ausscheidung gelblicher Kristalle. Die völlige Ausscheidung der Verbindung nahm etwa  $1\frac{1}{2}$  Stunden Kochzeit in Anspruch, indem die ersten Ausscheidungen auf dem Filter gesammelt, das Filtrat von neuem gekocht, die weiteren dadurch erhaltenen Kristallmengen mit den ersten vereinigt und so weiter verfahren wurde, bis sich nichts mehr ausschied. Der so erhaltene Niederschlag zeigte schon seinem äußeren Verhalten nach die von Neuberg als charakteristisch für die Bromphenylhydrazinverbindung der Glukuronsäure angegebenen Eigenschaften. Er erwies sich als unlöslich in heißem Wasser, in kaltem und auch in heißem Alkohol. (Die Bromosazone des Traubenzuckers sowie der Xylose und Arabinose sind nach Neuberg schon in kaltem Alkohol leicht löslich.)<sup>1)</sup> Nach der Behandlung des Präparates auf solche Weise resultierten schön hellgelbe, glänzende Kristalle, welche auf dem Filter getrocknet wurden; die Menge derselben betrug 0,105 g.

Von einer Umkristallisation wurde, um Verluste zu verhüten, Abstand genommen. Die N-Bestimmung nach Dumas ergab aus 0,0849 g

Gefunden:  
7,98%

Berechnet:  
7,35%

(Die Bromosazone des Traubenzuckers sowie der Xylose und Arabinose enthalten nach Neuberg 10,85% N, sowie 11,81% N.)<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Neuberg, Chemische Berichte, Bd. XXXII, Heft 17, 1899.

Damit ist der Nachweis der Glukuronsäure in der Galle nach jeder Richtung hin befestigt.

Ich teile noch einen zweiten Versuch an demselben Hunde mit, welcher folgendermaßen verlief:

Dem Tier war nach einiger Zeit die Kanüle herausgefallen, und die Galle wurde aus der Gallenblase durch Katheterisieren derselben mittelst Einführung eines kleinen Metallkatheters in den zur Gallenblase führenden Gang gewonnen. Es wurden dem Tiere die Mentholinjektionen in der oben beschriebenen Weise gemacht und abends um 6 Uhr die Einführung des Metallkatheters in die Gallenblase vorgenommen, darauf entleerten sich größere Mengen goldgelber, klarer Galle, an einem Tage 35 ccm: an dem darauf folgenden Tage 45 ccm. Aus den gesammelten 80 ccm Galle wurde der Bleizucker- und der Bleiessigniederschlag, wie oben beschrieben, hergestellt. Da sich nun schon im oben beschriebenen Versuche ergeben hatte, daß die Bleizuckerfällung ebenfalls gebundenes Menthol enthielt — offenbar wird durch die massige Fällung von gallensaurem Blei auch Mentholglukuronsäure in die Bleizuckerfällung mitgerissen —, so wurde im zweiten Versuch auch die Bleizuckerfällung verarbeitet. Sie wurde nach dem Waschen mit destilliertem Wasser auf dem Filter getrocknet und nach feinem Pulverisieren mit 50 ccm 4%iger Schwefelsäure verrührt, das Ganze darauf 1½ Stunden am Rückflußkühler gekocht. Das Filtrat vom Niederschlag zeigte starken Mentholgeruch und deutliche Reduktion an einer Probe. Darauf wurde die Flüssigkeit wie oben beschrieben weiter behandelt, und es resultierten schließlich 0,02 g Bromphenylhydrazinverbindung, welche sich durch ihre Unlöslichkeit in kaltem und heißem Alkohol als diejenige der Glukuronsäure erwies.

Somit ist der Übergang von Mentholglukuronsäure in die Galle nach subkutaner Mentholdarreichung festgestellt. Es wird also ein Teil der im Stoffwechsel gebildeten Glukuronsäure nach der Bindung an den Paarling durch die Galle in den Darm transportiert, und damit eröffnete sich die neue Frage, welchen Schicksalen dieser Anteil unterliegt. Ich habe hierbei zunächst die Veränderungen untersucht, welche durch das Zusammentreffen der Mentholglukuronsäure mit Darminhalt

möglich waren. Über die Umwandlung gepaarter Glukuronsäure durch Fäulnisprozesse liegt eigentlich bis jetzt nur eine einzige, kurze Mitteilung von Hildebrandt vor, welcher gelegentlich anderer Untersuchungen berichtet, daß eine Zersetzung von einer anderen, gepaarten Glukuronsäure durch eine Fäulnismischung in acht Tagen derart erfolgt sei, daß von dem zugesetzten Quantum nichts wiedergefunden werden konnte. Die Versuche über die vorliegende Frage stellte ich folgendermaßen an:

#### Versuch 1.

100 ccm einer Mentholglukuronsäurelösung, welche aus Kaninchenharn (nach Mentholinjektion) über das Bleisalz bereitet war, wurde mit 25 ccm einer wässerigen Aufschwemmung frischer, menschlicher Faeces versetzt.

25 ccm dieser Mischung wurden abgenommen und mit pulverisiertem Bleizucker versetzt. Das Filtrat hiervon war nach mehrmaligem Durchpassieren des Filters genügend klar, um polarisiert zu werden, und ergab eine Drehung von  $-1,0^{\circ}$ .

Der Rest der Gesamtmischung wurde in zwei Hälften geteilt, die eine Hälfte wurde im Erlenmeyerschen Kölbchen sofort durch Aufkochen sterilisiert und in den Brutofen gebracht, die andere Hälfte wurde direkt ohne vorherige Sterilisation dem Versuche im Brutofen unterworfen.

Nach 24stündigem Verweilen daselbst bei  $40^{\circ}$  zeigte das nichtsterilisierte Kölbchen starken Mentholgeruch, das sterilisierte Kölbchen dagegen nicht. Eine Probe der Flüssigkeit des nichtsterilisierten Kölbchens zeigte nach der Bleizuckerbehandlung keine Drehung mehr und eine minimale Reduktion. Es war also eine Aufspaltung der Mentholglukuronsäure durch Einwirkung des Darminhaltes eingetreten, die freigewordene Glukuronsäure war offenbar, wie die geringe Reduktion ergab, weiter verändert worden.

#### Versuch 2.

100 ccm abgekochten, mentholglukuronsäurehaltigen Kaninchenharns wurden mit 25 ccm Faecesaufschwemmung ver-

setzt, eine Probe der Flüssigkeit ergab nach Bleizuckerbehandlung eine Polarisation von  $-0,5^{\circ}$ . Die Restflüssigkeit wurde wiederum in zwei Hälften geteilt, die eine Hälfte mit Chloroform im Überschuß versetzt und zur Auflösung des Chloroforms geschüttelt, die andere Hälfte wurde in ihrem Zustande belassen. Beide Flüssigkeiten wurden danach 24 Stunden im Brutofen gehalten. Die mit Chloroform versetzte Flüssigkeit zeigte nach Entfernung des Chloroforms vermittelt Luftdurchleitung keinen Mentholgeruch, die andere Flüssigkeit zeigte starken Mentholgeruch und nach Bleizuckerbehandlung eine Drehung von  $-0,1^{\circ}$ . Die Reduktionskraft der Flüssigkeit war gering.

### Versuch 3.

Bei einem gleichermaßen angestellten Versuch fand sich nach vier Stunden deutlicher Mentholgeruch durch Einwirkung von Faeces auf Mentholglukuronsäure: das Menthol wurde noch außerdem durch Ausschüttelung der Flüssigkeit mit Äther verifiziert: in einem weiteren Versuche zeigte sich die Abspaltung des Menthols schon nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden. Fernere Versuche mit faulendem Blut und faulenden, anderen Flüssigkeiten zeigten, daß auch durch diese eine Aufspaltung der Mentholglukuronsäure erfolgte.

Es ist damit die Möglichkeit und Wahrscheinlichkeit einer Zersetzung der mit der Galle in den Darm transportierten Mentholglukuronsäure erwiesen.

Die vorliegenden Versuche scheinen mir für einige allgemeinere Gesichtspunkte nicht ohne Interesse zu sein; denn sie illustrieren zuerst die Tatsache, daß der Organismus außer dem hauptsächlich von den Untersuchern in Betracht gezogenen Wege der Harnausscheidung noch über andere Wege der Ausscheidung gebietet.

Es möge erinnert werden, daß hier Erfahrungen hinsichtlich anderer Substanzen schon vorliegen, z. B. bezüglich der Harnsäure, für die Weintraud das Vorkommen im Darm nachgewiesen hat. Andererseits geht aus meinen Versuchen hervor, wie ungemein schwierig es ist, aus alleinigen Urinuntersuchungen, wie das ja zumeist zur Aufhellung von Stoffwechselproblemen

geschieht, eine wirkliche quantitative Übersicht über den Verbrauch von Substanzen im Körper zu gewinnen.

Bezüglich der Glukuronsäure würde es ja wohl die landläufige Meinung sein, daß die im Harn erscheinende Quantität dann der ganzen Menge der nicht im Säftestrom zersetzten Substanz entspräche, während doch die vorliegenden Versuche zeigen, daß ein nicht bestimmbarer, aliquoter Anteil durch Beschreiten des Gallendarmweges der Zerstörung durch andere als Stoffwechselprozesse unterliegt. Wenn man also allein aus quantitativen Urinuntersuchungen bindende Rückschlüsse auf die Vorgänge im Säftestrom, also auf die eigentlichen Stoffwechselprozesse ziehen will, so rechnet man, wie mir scheint, nicht mit einer durch die vorliegenden Versuche deutlich demonstrierten Fehlerquelle.