

# Untersuchungen über die Gallen einiger Polartiere.

## IV. Mitteilung.

### Über die Gallen einiger Seehunde.

Von

**Olof Hammarsten.**

(Der Redaktion zugegangen am 3. August 1910.)

Die untersuchten Gallen stammten von folgenden Tierarten her: *Phoca barbata* (O. F. Müller), *Phoca groenlandica* (O. F. Müller), *Phoca foetida* (O. F. Müller) und *Cystophora cristata* (Erxleben). Die Gallen waren, wie gewöhnlich, direkt in Alkohol aufgesammelt worden und ihre Verarbeitung geschah in wesentlicher Übereinstimmung mit der der Walldroßgalle.<sup>1)</sup> Dies gilt auch hinsichtlich der quantitativen Analysen, und ich dürfte wohl also hier, unter Hinweis auf meine früheren Arbeiten auf diesem Gebiete, die erhaltenen Zahlen ohne weiteres anführen können.

#### I. Quantitative Zusammensetzung der untersuchten Gallen.

##### A. Galle von *Phoca barbata* (Mischgalle von mehreren Individuen).

Von den in absolutem Alkohol löslichen Stoffen waren:

Ätherfällbar 96,5%

Nicht ätherfällbar 3,5%

100 Teile in absolutem Alkohol lösliche Stoffe enthielten:

Taurocholate 90,84

Glykocholat und Seifen 5,66

Phosphatide Spuren

Cholesterin, Fett, Farbstoff 3,50.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXI.

**B. Galle von Phoca groenlandica (Mischgalle von mehreren Individuen).**

Von den in absolutem Alkohol löslichen Stoffen waren:

Ätherfällbar 98,07%

Nicht ätherfällbar 1,93%.

100 Teile in absolutem Alkohol lösliche Stoffe enthielten:

Taurocholate 89,67

Glykocholat und Seifen 4,10

Phosphatide (als Lecithin berechnet) 4,30

Cholesterin, Fett, Farbstoff 1,93.

**C Galle von Phoca foetida (Mischgalle von 2 Individuen).**

Von den in absolutem Alkohol löslichen Stoffen waren:

Ätherfällbar 96,79%

Nicht ätherfällbar 3,21%.

100 Teile in absolutem Alkohol lösliche Stoffe enthielten:

Taurocholate 88,64

Glykocholat und Seifen 6,51

Phosphatide (als Lecithin berechnet) 1,64

Cholesterin, Fett, Farbstoff 3,21.

**D. Gallen von Cystophora cristata (von 2 verschiedenen Individuen, *a* und *b*).**

Von den in absolutem Alkohol löslichen Stoffen waren:

	<i>a</i>	<i>b</i>	Mittel
Ätherfällbar	88%	89,37%	88,69%
Nicht ätherfällbar	12%	10,63%	11,31%.

100 Teile in absolutem Alkohol lösliche Stoffe enthielten:

	<i>a</i>	<i>b</i>	Mittel
Taurocholate	70,24	74,55	72,40
Glykocholat und Seifen	9,63	4,69	7,16
Phosphatide (als Lecithin berechnet)	12,98	15,18	14,08
Cholesterin, Fett, Farbstoff	7,15	5,58	6,36.

Folgende Zusammenstellung gibt eine Vergleichsübersicht von der Zusammensetzung der Gallen, wie oben mit *A*, *B*, *C* und *D* bezeichnet.

	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>
	%	%	%	%
Taurocholate	90,84	89,67	88,64	72,40
Glykocholat und Seifen	5,66	4,10	6,51	7,16
Phosphatide (als Lecithin berechnet)	Spuren	4,30	1,64	14,08
Cholesterin, Fett, Farbstoff	3,50	1,93	3,21	6,36

Sämtliche untersuchten Gallen sind also reich an Taurocholat und arm an Glykocholat. Dementsprechend wurden die Lösungen der schleimfreien Gallen in Wasser nicht von Bleizucker, Kupfersulfat, Alaun, Chlorcalcium oder Chlorbaryum, Zinkchlorid, Quecksilberchlorid oder Silbernitrat gefällt. Eisenchlorid gab eine Fällung, welche neben einer reichlichen Menge Farbstoff auch einen kleinen Teil der Gallensäuren enthielt. Bleiessig und in noch höherem Grade Bleiessig mit Ammoniak erzeugte eine reichliche, sehr voluminöse Fällung.

Bemerkenswert ist der verschiedene Gehalt an Phosphatiden. Im allgemeinen ist er klein, in der Galle *A* sind nur Spuren vorhanden, in der Galle *D* (von *Cystophora*) beträgt er aber rund 14%. Dementsprechend ist auch in dieser Galle die Menge der ätherfällbaren Stoffe kleiner als in den anderen. Während in diesen letzteren sämtliche Phosphatide so vollständig von dem Äther mit den Gallensalzen ausgefällt wurden, daß die ätherlöslichen Stoffe bis auf Spuren von Phosphatiden nur aus Cholesterin, Fett und Farbstoff bestanden, blieb in der *Cystophoragalle* ein bedeutender Teil der Phosphatide neben etwas gallensaurem Salz in der Alkohol-Ätherlösung zurück. Da die Gesamtmenge der *Cystophoragalle* nur eine geringe war, und da die drei übrigen Gallen nur wenig Phosphatide enthielten, konnte eine nähere Untersuchung über die Art der letzteren nicht ausgeführt werden. Die Menge der Phosphatide wurde einfach aus dem Phosphorgehalte der alkohollöslichen Stoffe als Lecithin berechnet. Das Cholesterin wurde ebenfalls nicht direkt bestimmt; sein Vorkommen in allen 4 Gallen war aber leicht zu konstatieren.

Bilirubin kam in ziemlich reichlicher Menge in den 3 erstgenannten Gallen vor; in der nur schwach gefärbten alkoholischen Lösung der Galle *D* gelang aber sein Nachweis nicht

und dasselbe gilt bezüglich dieser Galle auch für den Nachweis von Urobilin. Dieser Farbstoff fehlte in der Galle *B*, kam in geringer Menge in der Galle *C* und in reichlicher Menge in der Galle *A* vor. In den 3 Gallen *A*, *B* und *D* konnte auch eine reduzierende, jekorinähnliche Substanz in geringer Menge nachgewiesen werden.

## II. Die Gallensäuren der untersuchten Gallen.

Die Hauptuntersuchung wurde auf das Studium der Gallensäuren eingerichtet und das Verfahren war hierbei im wesentlichen dasselbe wie bei der Untersuchung der Wallroßgalle. Es wurde also erst durch Fällung mit Eisenchlorid eine Fraktion 1 und dann aus dem Filtrate eine aus der schwerlöslichen  $\alpha$ -Taurocholsäure bestehende Fraktion 2 gewonnen. Dagegen wurden nicht zwei besondere Fraktionen 3 und 4 hergestellt, sondern der nach Ausscheidung von Fraktion 2 zurückgebliebene Rest der Gallensäuren wurde, ohne weitere Trennungsversuche, zur Darstellung der entsprechenden Cholalsäuren verwendet. Bezüglich der näheren Details der Untersuchungsmethoden kann ich auf meine Arbeit über die Wallroßgalle<sup>1)</sup> hinweisen, und ich beschränke mich also hier auf eine Darlegung der Versuchsergebnisse. Es soll hierbei jede Art von Galle gesondert besprochen werden.

### A. Galle von *Phoca barbata*.

Aus der Eisenfraktion I konnte ich in kleiner Menge eine Glykocholsäure isolieren, die einen intensiv bitteren Geschmack hatte. Sie war jedenfalls nicht gewöhnliche Glykocholsäure, indem ihr Alkalisalz von Lösungen von Chlorbaryum, Chlorcalcium oder Chlormagnesium reichlich gefällt wurde. Sie verhielt sich also wie Glykcholeinsäure. In der Eisenfraktion kam auch eine schwefelhaltige, intensiv bitter schmeckende Säure vor, die vielleicht Taurocholeinsäure war.

Aus der Fraktion 2, welche lange nicht so reichlich wie aus der Wallroßgalle zu erhalten war, erhielt ich eine in Wasser

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXI.

schwerlösliche Taurocholsäure, deren Identität mit  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure wohl unzweifelhaft ist. Sie hatte nämlich dieselbe Krystallform, gab dieselben Farbenreaktionen und lieferte ein Natriumsalz, dessen Lösung in Wasser bei der Konzentration 4,18% die spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20} = +40,3^\circ$  zeigte.

Die spezifische Drehung des reinen Salzes aus Wallroßgalle zeigte bei den Konzentrationen 3,98—5,45% die spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20} = +40,55-41,54^\circ$ .

Die  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure kommt jedoch in der Galle von *Phoca barbata* in viel geringerer Menge als in der des Wallrosses vor. Sie wurde nach demselben Prinzip wie die Säure der Wallroßgalle, unter Impfen mit ein wenig der krystallisierten Säure, bestimmt und ihre Menge war 6,78% der gesamten Gallensäuren. Dieser Wert ist allerdings nur ein ungefährer, zeigt aber, daß diese Galle bedeutend ärmer an  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure als die Wallroßgalle ist, in welcher ihre Menge reichlich 50% von den gesamten Gallensäuren betrug.

Die in der Galle von *Phoca barbata* in größter Menge vorkommende Gallensäure ist die in der Wallroßgalle gefundene, als  $\beta$ -Phocaetaurocholsäure bezeichnete Taurocholsäure. Diese Säure wurde nicht als solche isoliert; aber ihr Vorkommen wurde durch den Nachweis der entsprechenden Cholalsäure, welche über das Baryumsalz dargestellt und gereinigt wurde, bewiesen. Die zweimal aus Aceton umkrystallisierte Säure hatte den Schmelzpunkt  $+218^\circ$  C. Für die aus Wallroßgalle dargestellte reine  $\beta$ -Phocacholalsäure wurde der Schmelzpunkt  $220-222^\circ$  C. gefunden.

Die C- und H-Bestimmung ergab folgende Zahlen:

0,2638 g lieferten 0,230 g  $H_2O = 9,68\%$  H  
 und 0,684 g  $CO_2 = 70,71\%$  C.

Dies stimmt hinreichend genau mit der geforderten Formel der  $\beta$ -Phocaecholalsäure (= Isocholsäure)  $C_{21}H_{40}O_5$ .

$C_{21}H_{40}O_5$	Berechnet:	Gefunden:
C	70,59%	70,71%
H	9,80%	9,68%

Außer den nun genannten Säuren konnte auch gewöhn-



liche Taurocholsäure — als Cholsäure — nachgewiesen werden. Ihre Menge war aber, wie in der Wallroßgalle, nur eine geringe.

Die Galle dieser Seehundart enthielt also dieselben Säuren wie die Wallroßgalle. In quantitativer Hinsicht bestand aber der Unterschied, daß die Menge der  $\alpha$ -Säure bedeutend kleiner und die der  $\beta$ -Säure bedeutend größer als in der Wallroßgalle war.

### B. Galle von *Phoca groenlandica*.

Diese Galle enthielt ebenfalls eine Glykocholsäure, welche bezüglich des Geschmackes und ihres Verhaltens zu den löslichen Erdalkalisalzen wie eine Glykcholeinsäure sich verhielt. Das unzureichende Material gestattete jedoch leider keine mehr eingehende Untersuchung. Die  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure mit allen ihren typischen Eigenschaften war leicht zu isolieren. Ganz rein wurde sie jedoch nicht erhalten, denn das Natriumsalz zeigte die spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{20} = + 39,41^\circ$  statt  $40,5-41,5^\circ$ . Diese Galle war reich an  $\alpha$ -Säure, denn ihre Menge betrug  $44,52\%$  von der Gesamtgallensäuremenge. In dieser Hinsicht stand also die Galle des Grönlandseehundes der Wallroßgalle nahe. Die  $\beta$ -Phocaetaurocholsäure kam auch in reichlicher Menge vor und wurde als die entsprechende  $\beta$ -Cholalsäure isoliert. Sie wurde aus Aceton umkrystallisiert und an dem Schmelzpunkte und dem negativen Ausfalle sowohl der Myliusschen Jodcholsäurereaktion wie der Salzsäurereaktion erkannt. Gewöhnliche Cholsäure, erkennbar durch Schmelzpunkt, Farbenreaktionen und Krystallform, konnte ebenfalls, obzwar in nur geringer Menge, isoliert werden. Diese Galle enthielt also dieselben Säuren wie die Wallroßgalle und stand ihr durch den hohen Gehalt an  $\alpha$ -Säure nahe.

### C. Galle von *Phoca foetida*.

Die Gesamtmenge der zu verarbeitenden Galle war so klein, daß ich sie nur auf die Anwesenheit der zwei spezifischen Säuren prüfen konnte. Die  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure konnte ich isolieren und ihre Identität durch Schwerlöslichkeit in Wasser, Krystallform und Farbenreaktion konstatieren. Dagegen konnte

ich sie nicht in reinem Zustande, in einer zur Bestimmung der spezifischen Drehung des Natriumsalzes genügenden Menge erhalten. Ihre Menge, in gewöhnlicher Weise (unter Impfung) bestimmt, war 20,3% von den gesamten Gallensäuren. Die auskrystallisierte Säure war jedoch gelb gefärbt und unrein, so daß der obige Wert nur ein ungefährer ist. Er berechtigt aber immerhin zu dem Schlusse, daß diese Galle ziemlich reich an der fraglichen Säure war.

Die  $\beta$ -Säure wurde, wie gewöhnlich, als die entsprechende Cholalsäure nachgewiesen. Die letztere konnte indessen infolge der geringen Menge des Untersuchungsmateriales nicht in genügend reinem Zustande isoliert werden. Durch das negative Verhalten der Säure zu der Myliusschen Jodprobe und der Salzsäureprobe konnte indessen gezeigt werden, daß hier eine andere Säure als Cholsäure und  $\alpha$ -Phocaecholsäure vorlag. Für ihre Identität mit  $\beta$ -Cholalsäure sprach der Schmelzpunkt, welcher zwar nicht konstant war, aber immer über 200° lag. Das Aussehen des krystallisierenden Baryumsalzes und dessen sehr große Schwerlöslichkeit in Wasser sprachen ebenfalls zugunsten einer solchen Identität. Gewöhnliche Taurocholsäure, als typische Cholsäure aus dem Taurocholatgemenge erhalten, kam auch in dieser Galle in geringer Menge vor.

#### D. Galle von *Cystophora cristata*.

Wie in der Wallroßgalle und den Gallen der zwei erstgenannten Seehunde konnte ich auch in dieser Galle eine Glykocholsäure nachweisen, welche durch die Schwerlöslichkeit ihrer Erdalkalisalze wie auch durch ihren intensiv bitteren Geschmack wie die Glykcholeinsäure sich verhielt.

Der Nachweis und die Isolierung von  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure in dieser Galle war mit gewissen Schwierigkeiten verknüpft. Nach Zusatz von gegen 3% CHl zu der 15—20%igen Lösung der vorher durch Fällung mit Eisensalz gereinigten gallensauren Salze schied sich, selbst nach Impfung mit ein wenig krystallisierter Säure, keine  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure aus, während dies in den anderen Gallen der Fall war. Selbst in einer Konzentration von 25% wurde die Lösung nach Zusatz

von Salzsäure nur nach einiger Zeit schillernd von feinen Nadeln, die nicht abgesaugt werden konnten. Es wurde deshalb die Lösung in dünner Schicht bei gegen  $0^{\circ}$  der freiwilligen Verdunstung überlassen. Hierbei setzten sich nach einiger Zeit am oberen Flüssigkeitsrande Drusen von Krystallnadeln ab, die in die Flüssigkeit verteilt wurden. Ihre Menge vermehrte sich nun, und nachdem die Flüssigkeit zu einem Sirup sich konzentriert hatte, enthielt sie eine so reichliche Menge von Krystallnadeln, meistens zu Büscheln oder Ballen gruppiert, daß ich sie absaugen konnte.

Die so gewonnene Masse war fast weiß. Sie wurde in das Natriumsalz übergeführt, dieses in Wasser zu einer ziemlich konzentrierten Lösung gelöst und mit Salzsäure versetzt. Auffallenderweise war die Menge der hierbei sich ausscheidenden, krystallisierten Säure viel kleiner als man aus der Menge des gelösten Natriumsalzes zu erwarten hätte. Der Grund hierzu lag, wie ich bei einer mehr eingehenden Untersuchung fand, darin, daß die Hauptmasse der aus der sirupösen Lösung auskrystallisierten Säure gewöhnliche Taurocholsäure war. Eine Kontrollprobe mit Taurocholat zeigte auch, daß gewöhnliche Taurocholsäure bei genügender Konzentration unter den oben genannten Bedingungen aus Wasser krystallisieren kann.

Die obengenannte, zum zweiten Male ausgefällte, krystallisierte Säure, welche das Aussehen der  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure hatte, wurde zwischen Papier stark gepreßt und war nun rein weiß. Sie wurde in das Natriumsalz übergeführt und dessen spezifische Drehung bestimmt. Bei der Konzentration  $1,08^{\circ}$  wurde gefunden  $(\alpha)_{D}^{20} = + 39,3^{\circ}$ . Da die spezifische Drehung des reinen Salzes als Mittel  $+ 41,1^{\circ}$ , die des gewöhnlichen Taurocholates  $23-24^{\circ}$  und die des  $\beta$ -Phocaetaurocholates  $25,3^{\circ}$  ist, kann wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß hier das etwas unreine Salz der  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure vorlag. Dies wurde noch weiter dadurch bestätigt, daß die ausgefällte freie Säure in Wasser schwerlöslich war und bei der Salzsäureprobe die sehr schön violettblaue Farbe der  $\alpha$ -Säure und ihr Absorptionsspektrum gab.

Die Galle von *Cystophora* enthielt also unzweifelhaft wie



die anderen Seehundgallen die  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure. Die Menge dieser Säure war aber sehr klein und sie konnte nicht quantitativ bestimmt werden.

Dagegen enthielt diese Galle verhältnismäßig viel gewöhnliches Taurocholat und hierdurch wurden auch die Isolierung und der Nachweis der  $\beta$ -Phocoesäure etwas erschwert. Wie gewöhnlich wurde sie als die entsprechende Cholalsäure durch die Darstellung des Baryumsalzes isoliert. Nun ist allerdings dieses Baryumsalz sehr schwerlöslich in Wasser, während das gewöhnliche Baryumcholat darin verhältnismäßig leicht löslich ist: aber trotzdem ist es schwer, bei Anwesenheit von etwas größeren Mengen Cholsäure das Baryumsalz der  $\beta$ -Säure rein zu erhalten. Es sind hierzu wiederholte Umkrystallisationen, wobei das Baryumsalz jedesmal erst in das Natriumsalz umgewandelt werden muß, notwendig, und dies kann nicht ohne große Verluste an Material geschehen. Aus dem Grunde habe ich auch aus dieser Galle keine zur Elementaranalyse — sei es des Baryumsalzes oder der freien Säure — genügende Menge Material erhalten. Ich habe nur den Schmelzpunkt der Säure prüfen und ihre Farbenreaktionen studieren können.

Die Säure gab weder die Myliusche Jodprobe noch eine Farbenreaktion mit Salzsäure, und hierdurch wie auch durch den hohen Schmelzpunkt,  $218^{\circ}$  C., unterscheidet sie sich von gewöhnlicher Cholsäure und von  $\alpha$ -Phocaecholsäure. Durch den negativen Ausfall der Farbenreaktionen wie auch durch die große Schwerlöslichkeit des Baryumsalzes ähnelt sie der Choleinsäure und der Desoxycholsäure, unterscheidet sich aber von beiden durch den höheren Schmelzpunkt. Die wasserfreie Choleinsäure schmilzt bei  $185$ — $187^{\circ}$  C. und die Desoxycholsäure, wasserfrei aus Aceton krystallisiert, hat den Schmelzpunkt  $172$ — $173^{\circ}$  C. Aus diesen Gründen und da der Schmelzpunkt der in Rede stehenden Säure —  $218^{\circ}$  C. — dem Schmelzpunkte der reinen  $\beta$ -Phocaecholalsäure,  $220$ — $222^{\circ}$  C., nahe liegt, sehe ich mich berechtigt, diese Cholalsäure als  $\beta$ -Phocaecholalsäure zu betrachten.

Die Galle von *Cystophora cristata* enthielt also eine Glykcholeinsäure und drei Taurocholsäuren. Von den letzteren kam

die  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure nur in sehr geringer Menge vor. In ziemlich bedeutender Menge enthielt diese Galle gewöhnliche Taurocholsäure: die in größter Menge vorkommende Säure war aber die  $\beta$ -Phocaetaurocholsäure.

Die untersuchten vier Arten von Seehundgallen enthielten also dieselben Gallensäuren wie die Wallroßgalle. Das relative Mengenverhältnis war in der Galle des Grönlandseehundes auch ziemlich annähernd dasselbe, in den anderen Seehundgallen war es dagegen ein mehr abweichendes. Am meisten abweichend von allen übrigen war die Galle von *Cystophora*, indem sie sehr arm an  $\alpha$ -Phocaetaurocholsäure, aber reicher an Phosphatiden als die anderen war. Gemeinsam für alle von mir untersuchten Phocaceengallen ist es, daß sie zwei spezifische, bei anderen Tieren noch nicht beobachtete Cholalsäuren, die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phocæcholalsäuren, enthalten.

---