

40980. -

Ueber die  
**Anwesenheit der Gallensäuren**  
im physiologischen Harne.

---

**Inaugural-Dissertation**

mit Genehmigung

Einer Hochverordneten Medicinischen Fakultät

der Kaiserlichen Universität zu Dorpat

zur Erlangung des Grades eines

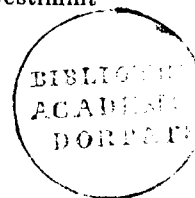
**Doctors der Medicin**

für die öffentliche Vertheidigung bestimmt

von

**Johannes Hoene.**

---



**Ordentliche Opponenten:**

Dr. L. Senff. — Prof. Dr. A. Vogel. — Prof. Dr. Dragendorff.

---

**Dorpat.**

Druck von C. Mattiesen.

1873.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Decan Boettcher.

Dorpat, den 27. März 1873.

N<sup>o</sup> 79.

D 42652

Das vorliegende Thema verdanke ich dem Herrn Prof. *Vogel*. Man unterscheidet bekanntlich, in Betreff der Pathogenese, zwei Formen der Gelbsucht, eine hepatogene und eine hämatogene. Bei dem hämatogenen Icterus entsteht die gelbe Hautfärbung durch eine Veränderung des Blutfarbstoffes innerhalb der Blutbahn bei völlig normaler Lebersecretion, während der hepatogene durch eine Texturstörung der Leber, welche eine abnorme Secretion verursacht, bedingt wird. Diese allgemein angenommene Unterscheidung gründet sich hauptsächlich auf die Versuche von *Kühne* und *Leyden*, welche nach Injectionen von gallensauren Salzen in die Blutbahn, das Auftreten von Gallenfarbstoffen im Harn beobachteten. Auch andere Substanzen, die ähnlich den Gallensäuren, die Blutkörperchen zerstören, sollen die Umwandlung des Blutfarbstoffes in den Gallenfarbstoff, und so das Zustandekommen der icterischen Hautfärbung bewirken.

Diese Experimente genügten zu der Annahme, dass in allen denjenigen Fällen, wo bei icterischer Hautfärbung, keine anatomische Ursache in dem Verhalten der Leber vermuthet werden konnte, der Icterus ein hämatogener sei. Ferner wurde von *Leyden* als diagnostisches Merkmal des hämatogenen Icterus die Abwesenheit der Gallensäuren im Harn angegeben, welche auch im physiologi-

schen Zustände in demselben nicht vorkommen sollen. Beim hepatogenen Icterus sind dieselben constante Harnbestandtheile, wie die schönen Untersuchungen von *Hoppe* es nachgewiesen haben.

Diese so einfach sich darstellende Pathogenese des Icterus wurde in neuerer Zeit angezweifelt. Die von vielen Autoren behauptete Identität des Hämatoidins mit dem Bilirubin hat sich nicht bestätigt, wodurch einer von den am meisten beweisenden Gründen dem hämatogenen Icterus entzogen wurde. Ferner beobachtete *Naunyn*, bei seinen Untersuchungen über das Auftreten der Gallenfarbstoffe im Harne gelegentlich, dass im physiologischen Hunde- und Menschenharn, die Gallensäuren anzutreffen sind. Proff. *Vogel* und *Dragendorff* prüften darauf den physiologischen Menschenharn, und fanden in demselben stets die Gallensäuren. Durch diese Umstände ist natürlich die Richtigkeit der *Kühne-Leydenschen* Angaben sehr in Frage gestellt, und der ganzen Lehre vom hämatogenen Icterus sind die Hauptargumente entzogen.

Da die zum Nachweis der Gallensäuren benutzte *Pettenkofer'sche* Reaction mit concentrirter Schwefelsäure und Zucker, auch andere Deutungen zulässt, so musste zur Feststellung des constanten Vorkommens der Gallensäuren im normalem Harne, eine andere, mehr beweisende Untersuchung, vorgenommen werden. Die unten beschriebenen Untersuchungen hatten zum Zweck, den betreffenden Nachweis zu liefern.

Manche interessante Fragen, die sich dem vorliegenden Thema anschliessen, musste ich leider wegen der kurz bemessenen Zeit unberücksichtigt lassen. Ich habe mir jedoch vorgenommen, sobald sich mir die Gelegenheit

darbieten wird, die Frage über den hepatogenen und hämatogenen Icterus eingehender zu bearbeiten.

Den Herren Proff. *Dragendorff* und *A. Vogel*, unter deren Leitung ich die vorliegende Arbeit verfasst habe, sage ich herzlichen Dank für die unermüdliche Hülfe, die sie mir in Rath und That bei Bearbeitung des vorliegenden Themas, stets bewiesen haben. Zu besonderem Dank fühle ich mich noch dem Herrn Prof. *Dragendorff*, für die mir freundlich zur Benutzung gestatteten Ergebnisse seiner Untersuchungen in der betreffenden Frage, verpflichtet.

## I.

Zu den von der Physiologie in weniger befriedigender Weise beantworteten Fragen gehört auch die Frage von den Lebersecreten. Abgesehen davon, dass bis jetzt die Physiologen noch keineswegs im Einklang sind in Betreff der Bedeutung der Galle beim Verdauungsprocess, sind hauptsächlich die Schicksale der in den Darm ergossenen Galle fast in völliges Dunkel gehüllt. Namentlich sind es die Gallensäuren, welche als differente Bestandtheile der Galle zu vielfachen und sich widersprechenden Angaben Veranlassung gegeben haben. Die Menge der in 24 Stunden secernirten Galle beträgt nach der *Bischoff'schen* Berechnung<sup>1)</sup> 17 Grm. feste Galle, in welchen 11 Grm. Gallensäuren enthalten sein sollen. Im Kothe konnten nur im Mittel circa 5 Grm. Gallenbestandtheile aufgefunden werden, woraus ersichtlich ist, dass von der in den Darm ergossenen Galle kaum  $\frac{1}{3}$  im Kothe wiedererscheint. Auch die Untersuchungen von *Hoppe*<sup>2)</sup> haben ähnliche Resultate geliefert. Die von ihm vorgenommene directe Bestimmung des Cholsäuregehaltes der Excremente zeigt, dass bei einem Hunde im Laufe von 24 Stunden nur 0,36 Grm.

1) *E. Bischoff*, Ueber den Nachweis der Gallensäuren u. s. w. Zeitschrift für rationelle Medicin, Bd. XXI.

2) *Hoppe-Seyler*, Ueber die Schicksale der Galle im Darmkanale. Virchows Archiv Bd. XXVI.

Cholsäure, entsprechend 0,45 Grm. Taurocholsäure, mit den Faeces entleert wurden, während in dieser Zeit etwa 4 Grm. Taurocholsäure abgesondert werden müssten. Gesetzt auch, dass ein Theil der ergossenen Gallensäuren noch innerhalb des Darmes zerlegt wurde, so sind doch die Unterschiede in den Zahlen zu gross, als dass man das Vermisste auf Rechnung der Zersetzung eintragen könnte, um so mehr als die Gallensäuren ausserhalb des Körpers mehrere Tage lang mit Koth gemischt nicht zersetzt werden. Was ist nun mit dem im Kothe nicht aufgefundenen Theile geworden? Unwillkürlich fast drängt sich hier die Annahme einer theilweisen Resorption der Galle auf. Allein wenn man die nachtheilige Wirkung der Gallensäuren auf die Blutkörperchen in Betracht zieht, ferner wenn man die vielfachen Angaben von der Abwesenheit der Gallenbestandtheile, respective der Gallensäuren im Blute festhält, so entstehen Bedenken gegen die Richtigkeit einer derartigen Annahme, deren Beseitigung keine leichte Aufgabe ist.

Dieselben Verwirrungen, die in dieser Beziehung in der Physiologie herrschen, finden ihre volle Geltung auch in der Pathologie. Namentlich ist es die Lehre vom Icterus, welche in directer Beziehung mit den oben angedeuteten Fragen stehend, manches Hypothetische noch darbietet, dessen Erörterung nicht nur vom wissenschaftlichen sondern auch vom practischen Standpunkte sehr wünschenswerth erscheint. Es würde mich zu weit führen, die über die Theorie des Icterus aufgestellten Ansichten hier aufzuzählen, ich beschränke mich daher auf die Angabe nur derjenigen Ansichten, die sich einer allgemeineren Verbreitung erfreuen, und die in die Lehrbücher übergegangen sind.

Sämmtliche Autoren stimmen darin überein, dass die häufigste Form der Gelbsucht, der Resorptionsicterus ist. Dieser kommt zu Stande durch eine behinderte Entleerung der Galle, welche durch einen mehr oder weniger vollkommenen Verschluss des Ductus choledochus verursacht wird. Dass unter solchen Umständen eine Resorption der fertig gebildeten Galle thatsächlich stattfindet, beweisen die directen Experimente von *Saunders*<sup>3)</sup>, *Tiedemann* und *Gmelin*<sup>4)</sup> und die Krankheitserscheinungen. Den Streitpunct bilden aber diejenigen Icterusformen, bei welchen die gelbe Hautfärbung, ohne dass sich eine gehinderte Entleerung der Galle nachweisen liesse, zu Stande kommt. *Bamberger's*<sup>5)</sup> Ansichten, welcher die in Rede stehenden Icterusformen aus einer gehinderten Ausscheidung der im Blute präformirten Gallenbestandtheile herleitet, werden durch die Experimente von *Moleschott*<sup>6)</sup> und *Kunde*<sup>7)</sup>, durch die chemischen Untersuchungen von *Lehmann*<sup>8)</sup> in hohem Grade unwahrscheinlich. Nach Exstirpation der Leber an Fröschen konnte sowohl *Moleschott* als auch *Kunde* keine Spur von Gallensäuren im Blute auffinden, ebenso konnte auch *Lehmann* im Blute aus verschiedenen Venen dieselben nicht nachweisen, so dass die Annahme, Gallenbestandtheile seien im Blute präformirt, als unerwiesen, fast allgemein verlassen wurde. Bei solcher Sachlage blieb nichts übrig als auch die in Frage stehenden Icterus-

3) Abhandlung über die Structur u. s. w. der Leber. Leipzig 1795.

4) Angeführt von *Henoch* und *Frerichs*.

5) Krankheiten des chylopoetischen Systems in *Virchow's* Handbuch der speciellen Pathol. und Therapie, Bd. VI 1855, pag. 520.

6) Archiv für physiologische Heilkunde, Bd. XI.

7) Dissertatio inauguralis. Berol 1850.

8) Lehrbuch der physiol. Chemie, Bd. II 1850.

formen auf eine Resorption der Galle zu beziehen<sup>9)</sup>, oder auch anzunehmen, die gelbe Hautfärbung komme durch veränderten Blutfarbstoff zu Stande<sup>10)</sup>.

Es war das Verdienst von *Frerichs*<sup>11)</sup>, die Frage von der Gallenfarbstoffbildung aufs Neue anzuregen, und dadurch die Lehre vom Icterus in neue Bahnen zu lenken. *Frerichs* verwirft die den physiologisch-chemischen That-sachen widersprechende Annahme von präformirten Gallenbestandtheilen im Blute und erklärt die Lehre von der Umwandlung des Blutfarbstoffes als für die Icterustheorie nicht verwendbar. Trotz der Untersuchungen von *Virchow*<sup>12)</sup>, *Zenker* und *Funke*<sup>13)</sup>, welche die Verwandtschaft des Bilirubins mit dem Blutfarbstoffe beweisen sollen, fehlen diesen Ansichten bestimmte Anhaltspuncte, welche die Möglichkeit der Ueberführung des Hämatins in Bilirubin im lebenden Organismus zur Genüge beweisen könnten. Als Ausgangspunct aller Icterusformen muss der Resorptionsicterus angenommen werden, welcher durch Spannungsdifferenzen zwischen dem Inhalte der Leberzellen und der Blutcapillaren zu Stande kommt. Diese Spannungsdifferenz kann durch gestörte Entleerung der Gallenwege, durch welche der Druck in denselben beträchtlich vermehrt werden muss, oder auch durch Störungen in der Blutzufuhr, die eine Verminderung des Seitendrucks in den Gefäßen verursacht, bedingt werden. Beide Formen setzen voraus eine Aufnahme von fertig gebildetem Gallenpigment ins Blut, es giebt aber nach *Frerichs* auch eine andere Quelle des

9) cf. *Henoch*, Klinik d. Unterleibskrankheiten, Bd. I 1855, p. 283 et seq.

10) cf. *Frerichs*, Klinik der Leberkrankheiten, 1858 Bd. I, pag. 80 et seq. 11) l. c.

12) *Virchow's* Archiv, Bd. I. Die pathologischen Pigmente, pag. 421.

13) *Funke*, Lehrbuch der Physiologie, 1869, pag. 169.

Gallenpigmentes, welche einen Icterus hervorzurufen vermag, ohne dass eine gestörte Ausleerung der Galle zu beschuldigen wäre. Diese Quelle sind die Gallensäuren selbst, welche das Vermögen besitzen, sich durch Sauerstoffaufnahme in Farbstoffe umzuwandeln<sup>14)</sup>. Im Normalzustande erleiden die vom Darne und von der Leber aus resorbirten Gallensäuren dieselben Veränderungen, es kommt aber nicht zum Icterus, weil die fortschreitende Umwandlung des Farbstoffes auch das gebildete Gallenpigment so verändert, dass es die Eigenschaften des letzteren verliert. Diesem Umstande muss auch der nicht gelungene Nachweis der Gallenbestandtheile im Blute zugeschrieben werden. Sobald aber die Assimilationsvorgänge im Blute derart gestört sind, dass die resorbirten Gallensäuren nur unvollkommene Metamorphosen erleiden, entsteht die Gelbsucht.

Die Frerichs'schen Angaben wurden jedoch von anderen Experimentatoren nicht bestätigt. Es war zunächst *Hoppe*<sup>15)</sup>, welcher durch eine neue Darstellungsmethode der Gallensäuren aus 890 CC. icterischen Harnes 0,04 Grm. Cholidinsäure gewinnen konnte, und somit den Beweis der Anwesenheit der Gallensäuren im icterischen Harn und ihrer Unveränderlichkeit im Blute lieferte. Bald darauf folgte eine eingehendere Arbeit von *Kühne*<sup>16)</sup>, welcher durch das Hoppesche Verfahren der Cholidinsäuredarstellung, die Gallensäuren als constante Bestandtheile des icterischen Harnes nachweisen konnte. Eine Wiederholung

14) *Frerichs* u. *Städeler*, Ueber die Umwandlung der Gallensäuren in Farbstoff im Archiv für Anat. u. Pathologie von *J. Müller* 1856 u. *Frerichs*' Klinik der Leberkrankheiten. Bd. I pag. 94.

15) *Virchow*'s Archiv, Bd. XIII.

16) *Virchow*'s Archiv, Bd. XIV.

der *Frerichs*'schen Injectionsversuche von reiner Galle und Lösungen gallensaurer Salze zeigte, dass neben dem Gallenfarbstoffe auch Gallensäuren in dem nach der Injection gelassenen Harn nachzuweisen seien. *Kühne* schliesst daraus auf die Unveränderlichkeit der Gallensäuren im Blute und bezieht das constante Auftreten von Gallenfarbstoffen im Harn nach Injectionen von gallensauren Salzen auf das Vermögen derselben, die Blutkörperchen aufzulösen. Der im Blutserum freidiffundirte Blutfarbstoff verwandelt sich in den Gallenfarbstoff, und diese Umwandlung des freien Blutfarbstoffes geschehe unter dem Einflusse der Gallensäuren, welche selbst dabei keine Veränderungen erleiden. Diese Genese des Gallenfarbstoffes, und namentlich des Bilirubins, soll bewiesen werden durch die von *Virchow* behauptete Identität des Hämatoidins mit dem Bilirubin, und ferner durch den Umstand, dass Mittel, welche einen Uebertritt des Haemoglobins in das Plasma des kreisenden Blutes hervorrufen, Icterus erzeugen, wenigstens in dem Grade, dass der Harn icterisch wird<sup>17)</sup>. Vom Darne aus würden keine Gallensäuren resorbirt, weil sonst dieselben, bei dem durch die Injectionsversuche nachgewiesenen unveränderten Uebergange aus dem Blute, im Harn aufgefunden werden müssten, was, nach den *Kühne*'schen Untersuchungen, nicht der Fall sei. Den widersprechenden Angaben von *Bidder* und *Schmidt*<sup>18)</sup>, die, nach dem Schwefelgehalt der Faeces urtheilend, eine Resorption der Gallensäuren annehmen, setzt *Kühne* den Umstand entgegen, dass die genannten Säuren im Darne

17) *Kühne*, Lehrbuch der physiol. Chemie, 1868 pag. 89.

18) *Bidder* u. *Schmidt*, Die Verdauungssäfte u. der Stoffwechsel, 1852.

Spaltungen eingehen, wonach die Paarlinge, das Glycin und Taurin, als leicht löslich in den allgemeinen Kreislauf übergehen, und deswegen auch entspräche nicht die in den Faeces gefundene Schwefelmenge der aus der Taurocholsäure berechneten. Ein Beweis, dass solche Spaltungen in der That erfolgen, sei das Auftreten unveränderter Benzoessäure im icterischen Harne und die Abwesenheit des Glycins und Taurins in demselben. Durch diese Untersuchungen werde der Lehre von der Umwandlung der Gallensäuren in Farbstoffe jede Stütze entnommen. Nur einzelne Stimmen erhoben sich als Vertheidiger der Frerichs'schen Hypothese. Es waren *Folwarczny*<sup>19)</sup> und *Neukomm*<sup>20)</sup>, welche auf das Frerichs-Städelersche Experiment sich beriefen und das constante Auftreten der Gallensäuren im icterischem Harne in Abrede stellten. Im Falle dass dieselben dort zu finden seien, kämen sie nur in minimalen Quantitäten vor. Aus allen diesen Gründen sei die Behauptung von *Kühne* über den unveränderten Uebertritt der Gallensäuren aus dem Blute in den Harn unzulässig.

Allein diese Beweisführungen müssen vor den entscheidenden Untersuchungen von *Hoppe*<sup>21)</sup> zurücktreten. Durch zahlreiche Experimente hat *Hoppe* nachgewiesen, dass sich aus jedem icterischen Harne die Cholonsäure, ein stickstoffhaltiges Zersetzungsproduct der Glycocholsäure darstellen lässt. In Betreff der Gallenfarbstoffbildung neigt sich *Hoppe* der Kühneschen Annahme zu, dass der

19) Zeitschrift der Gesellschaft der Aerzte zu Wien, 1859 *N* 15.

20) Archiv für Anat. und Pathologie von *Reichert* und *Du Bois-Reymond* J. 1860 und Annalen der Chemie u. Pathologie, Bd. CXVI.

21) *Virchows* Archiv, Bd. XXIV.

Gallenfarbstoff Derivat des Blutfarbstoffes sei, und führt als Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme die Untersuchung einer Cystenflüssigkeit aus der Mamma an, wo er neben gelöstem Blutfarbstoff und verkümmerten Blutzellen auch Bilirubin nachweisen konnte, ohne dass eine Spur von Gallensäuren vorhanden war. Das Frerichs'sche Experiment der Umwandlung der Gallensäuren in Farbstoffe, erklärt *Hoppe* als nicht stichhaltig, da auch die stickstofffreie Cholsäure mit concentrirten Säuren den Farbenwechsel der Gallenfarbstoffe zeige. Es sei doch nicht anzunehmen, dass der stickstoffhaltige Gallenfarbstoff ein Derivat der stickstofflosen Cholsäure wäre. *Hoppe* geht noch weiter als *Kühne*, indem er schliesslich aussagt, dass bei krankhaften Vorgängen, welche eine Blutzersetzung hervorrufen, ein Icterus durch die Umwandlung des freien Blutfarbstoffes entstehen könne, ohne alle Betheiligung der Leber. Seine Untersuchungen<sup>22)</sup> in Betreff der Resorption der Galle haben negative Resultate gezeigt. Es erscheint zwar in den Excrementen nur der geringste Theil der in den Darm ergossenen Gallensäuren, allein da weder im physiologischen Harne, noch in der Chylus- und Lymphflüssigkeit der Nachweis der Gallensäuren gelang, so kann auch von einer Resorption grösserer Mengen unveränderter Gallensäuren keine Rede sein.

Die *Kühne-Hoppe*'schen Angaben wurden nur zum Theil bestätigt. *E. Bischoff*<sup>23)</sup> constatirte die Anwesenheit der Gallensäuren im icterischen Harne, indem er

22) *Virchows* Archiv, Bd. XXVI.

23) Zeitschrift für rationelle Medicin, Bd. XXI.

durch das *Frerichs-Städeler*'schen Verfahren zum Nachweis der Gallensäuren immer positive Resultate bekam. Die von ihm und *Lossen* vorgenommenen quantitativen Bestimmungen ergaben als höchste Zahl der durch die Nieren beim Icterus ausgeschiedenen Gallensäuren 0,3 Gramm pro 24 Stunden, entsprechend 0,5 Gramm fester Galle. Es ergibt sich aus diesen Zahlen, dass von den im Normalzustande pro Tag gebildeten 17 Gramm fester Galle, nur der 34. Theil im ictericischen Harne wiedererscheint. Da es sich um sicher constatirte Fälle von catarrhalischem Icterus und Verschluss des ductus choledochus durch Carcinoma hepatis handelte, so konnten mit den Excrementen keine Gallensäuren entleert werden. Wenn auch im Icterus die Gallenmenge geringer ist als im Normalzustande, so sei es doch nicht wahrscheinlich, dass nur  $\frac{1}{34}$  der normal secernirten Galle gebildet werde. Die allerdings nur approximativen quantitativen Bestimmungen des Gallensäuregehaltes im menschlichen Kothe unter normalen Verhältnissen, ergaben die bedeutende Differenz von 8 Gramm Gallensäuren zwischen der normal secernirten und der im Kothe erscheinenden Galle. Aus diesen Zahlen schliesst *Bischoff* auf eine Resorption der Gallensäuren im Normalzustande, und da sie im Harne nicht anzutreffen seien, so müssten sie im Blute verbrennen. Beim Icterus müsse ebenfalls eine theilweise Verbrennung der Gallensäuren stattfinden, da nur sehr geringe Mengen mit dem Harne entleert werden, und eine Anhäufung der Gallensäuren in den Organen sich nicht nachweisen lässt. Weshalb nun beim Icterus nur eine theilweise Verbrennung stattfindet, während im Normalzustande die ganze ins Blut übertretende Menge der Gallensäuren zersetzt

werde, erklärt *Bischoff* aus dem Unterschiede der in beiden Zuständen resorbirten Quantitäten. Auch in anderer Beziehung hat man die Angaben von *Kühne* bezweifelt. Durch Darstellung von Hippursäure aus ictericischem Harn, haben *Folwarczny*<sup>24)</sup>, *Neukomm*<sup>25)</sup> und *O. Schultzen*<sup>26)</sup> gezeigt, dass die Theorie von der Sistirung der Glycin- und Glycocholsäurebildung beim Icterus zu verwerfen ist. Den Einwand, dass in dem Harne kein Glycin nachzuweisen sei, beseitigt *Schultzen*, indem er auf die Schwierigkeiten der Darstellung dieses so indifferenten Körpers hindeutet. In Betreff des Taurins haben erst Untersuchungen der letzten Zeit Einiges aufgeklärt. Da im Kothe sich nur minimale Mengen des Taurins nachweisen liessen, so war die Annahme, dass das Taurin ins Blut aufgenommen, dort zersetzt werde und die Quelle der im Harne erscheinenden  $\text{SH}_2\text{O}_4$  repräsentire, sehr nahe liegend, um so mehr als im normalen Harne ausser der Schwefelsäure und unterschwefligen Säure<sup>27)</sup> keine S-haltige organische Substanz mit Bestimmtheit nachgewiesen werden konnte. Indessen waren schon seit längerer Zeit vereinzelt Beobachtungen vorhanden, nach welchen der  $\text{SO}_4\text{H}_2$  gehalt des Harnes einen Unterschied zeigt, wenn man eine Portion frischen Harnes mit  $\text{ClBa}$  direct ausfällt, und eine andere Portion vor der Barytfällung mit Kalisalpeter verpufft<sup>28)</sup>. Auch beobachtete *Ranke*<sup>29)</sup>, dass der normale

24) Wochenschrift der Gesellschaft der Wiener Aerzte, 1859 № 15.

25) *Frerichs*, Klinik der Leberkrankheiten, 1859 Bd. II.

26) Archiv für Anat. u. Physiologie von *Reichert* u. *Du Bois-Reymond*, 1863.

27) *O. Schmiedeberg*, Ueber das Vorkommen von unterschwefliger Säure im Harn von Hunden und Katzen. Archiv der Heilkunde 1867.

28) cf. die schon citirte *Bischoff*'sche Arbeit, pag. 149.

29) Grundzüge der Physiologie des Menschen, 1872 pag. 534.

Harn SH liefert, wenn man denselben mit Zinkspänen und schwachen Säuren zusammenbringt. Diese Beobachtungen mussten so lange unberücksichtigt bleiben, bis sich ein S-haltiger Körper im Harne bestimmen lässt, und die Angaben, dass der S auch in anderer Form als  $\text{SO}_4\text{H}_2$  im Harne auftritt, wurden auf zufällige oder krankhafte Beimischungen zurückgeführt. Nach *Bischoff* wird constant im icterischen Harne ein Theil des S in der Form einer organischen Substanz ausgeschieden. Da seine Bemühungen, das Taurin und Glycin in demselben nachzuweisen, missglückten, so nimmt er an, die S-haltige organische Substanz sei ein Zersetzungsproduct der ins Blut reichlicher aufgenommenen Taurocholsäure, respective des Taurins. *Salkowski*<sup>30)</sup>, der vor kurzem die Frage von der  $\text{SO}_4\text{H}_2$ -Bildung untersuchte, kam dabei zu Resultaten, die er vorläufig in Kürze mittheilt. Seine Versuche ergaben, dass bei Menschen und Hunden das mit der Nahrung eingeführte Taurin zum allergrössten Theil resorbirt und durch den Harn wieder ausgeschieden wird, dass demnach die  $\text{SO}_4\text{H}_2$  im Harne eine andere Quelle haben muss als das ins Blut aufgenommene Taurin. Aus dieser Angabe geht ferner hervor, dass auch die Behauptung *Kühne's*, das Taurin wäre beim Icterus nicht gebildet, nicht richtig ist. Da ich in dem zweiten Theil dieser Arbeit auf den S-Gehalt des Harnes zurückkommen werde, so verlasse ich jetzt diese Frage, um mich einer weiteren Schilderung der Icterustheorie zuzuwenden.

Die *Bischoff'schen* Betrachtungen über die Veränderungen der Gallensäuren erhielten durch die *Huppert'schen*

30) Berichte d. deutschen chemisch. Gesellschaft zu Berlin, 1872 № 13.

Untersuchungen<sup>31)</sup> eine wesentliche Stütze. Diese Versuche ergaben, dass von den ins Blut injicirten Gallensäuren nur ein geringer Theil mit den Secreten, namentlich Harn und Galle ausgeschieden wird. Der grösste Theil der injicirten Menge verbleibe im Körper, und zwar müsse ein Theil in die Gewebsflüssigkeiten transsudiren, ein anderer Theil aber Zersetzungen eingehen. Nur diese Annahme, welche auch die Verhältnisse im Icterus bestätigen sollen, könne die bedeutenden Unterschiede in der ausgeschiedenen und der dem Organismus zugeführten Menge erklären.

Durch diese Untersuchungen von *Kühne*, *Hoppe*, *Bischoff* und *Huppert* wurden die in der Lehre vom Icterus herrschenden Widersprüche nur scheinbar gelöst. Nach denselben würde sich die Gelbsuchttheorie so gestalten, dass die im Normalzustande resorbirten Gallensäuren nur innerhalb bestimmter Grenzen der Zersetzung im Blute anheimfallen. Sobald diese Grenzen überschritten werden, muss die Zersetzung wenigstens eines Theiles ausbleiben, wodurch nun die die Blutkörperchen zerstörende Eigenschaft der Gallensäuren ihre volle Wirkung erlangt. Die in der Haut abgelagerten Farbstoffe würden also zum Theil von der Galle, zum Theil aber auch aus dem Blute abstammen, und unter besonderen Umständen könne das Blut allein die Quelle der Gallenfarbstoffe sein.

Die sich widersprechenden Prämissen dieser Lehre veranlassten *Leyden*<sup>32)</sup>, eine eingehende Untersuchung der betreffenden Frage vorzunehmen. Seine ausgedehnten pa-

31) Archiv der Heilkunde, 1864. Ueber das Schicksal der Gallensäuren im Icterus.

32) Beiträge zur Pathologie des Icterus, 1866.

thologisch-physiologischen Untersuchungen führten ihn zur Aufstellung und Begründung einer neuen Icterustheorie, welche, da sie durch vielfache Experimente gestützt war, sich fast einer allgemeinen Aufnahme erfreute. Durch Anlegen von Gallen fisteln an Hunden und Aufsammeln der täglich secernirten Gallenmenge, wobei Vorrichtungen getroffen wurden, damit nichts verloren gehe, gelangte *Leyden* zu dem Schlusse, dass die älteren Angaben über die täglich producirten Gallenmengen viel zu hoch sind. Nach ihm secernire ein erwachsener Mensch etwa 2 bis 4 Gramm Gallensäuren täglich, und da dieses Quantum, mit der von *Bischoff* im Kothe gefundenen Cholsäuremenge nahezu übereinstimmt, so sei man garnicht berechtigt, eine Resorption der Gallensäuren anzunehmen. Eine Zusammenstellung der in's Blut vorgenommenen Injectionsversuche von gallensauren Salzen von *Buisson*<sup>33)</sup>, von *Dusch*<sup>34)</sup>, *Röhrig*<sup>35)</sup>, *Kühne*<sup>36)</sup>, *Traube*<sup>37)</sup> und der von *Leyden* selbst gemachten Injectionen und Unterbindungsversuche des ductus choledochus lehrt, dass die Gallensäuren eine stark giftige Wirkung auf den Organismus äussern. Dieselbe besteht theils in dem Auflösungsvermögen der Blutkörperchen, theils in der Einwirkung auf die Muskeln, namentlich die Herzmuskeln. Durch die Einwirkung auf die Blutkörperchen treten Störungen in den Assimilationsvorgängen ein, die in der fettigen Degeneration verschiedener Gewebe und Organe sich kundgeben.

33) De la bile. Paris 1843.

34) Untersuchungen u. Experimente als Beitrag zur Pathogenese des Icterus. Leipzig 1854.

35) Ueber den Einfluss der Galle auf die Herzthätigkeit, 1863.

36) *Virchows* Archiv, Bd. XIV.

37) Gesammelte Beiträge zur Pathologie u. Physiologie. Berlin 1871. Bd. I, pag. 366.

Durch diese Wirkung der Gallensäuren lassen sich auch leicht die verschiedenen Symptome, die beim Icterus auftreten, erklären. Nicht nur das physiologische Experiment, sondern auch pathologische Facta seien Beweise für die giftige Wirkung der ins Blut aufgenommenen Gallensäuren. Die Analogie der Symptome des Icterus gravis mit der acuten Phosphorvergiftung, welche nach *Leydens* und *Munks*<sup>38)</sup>, Untersuchungen durch die, die Blutkörperchen auflösende Wirkung des Phosphors bewirkt werden soll, sprechen auch für eine solche Genese der beim Icterus beobachteten Erscheinungen. Die *Frerichs'sche*<sup>39)</sup> Annahme einer Acholie, welche sich hauptsächlich auf die Ergebnisse seiner Injectionsversuche, die keine schädliche Einwirkung der Gallenbestandtheile aufweisen, stützt, sei zu verwerfen. Sowohl die oben angeführten Injectionsversuche von gallensauren Salzen, als auch Beobachtungen am Krankenbette, widersprechen einer solchen Annahme. *Leyden* macht nämlich darauf aufmerksam, dass der so genannte Icterus gravis niemals primär auftritt, sondern nur immer Individuen befällt, deren Organismus, theils durch Krankheiten, theils durch längere Einwirkung schädlicher Einflüsse, seine Resistenzfähigkeit eingebüsst hat. Die *Frerichs'sche* Behauptung, dass in solchen Fällen bei Sectionen sehr oft eine Absperrung der Galle nicht nachzuweisen sei, ist nicht stichhaltig, im Gegentheil ist für viele Fälle ein Resorptionsicterus mit Bestimmtheit nachzuweisen, und *Leyden* selbst konnte im Harne vieler solcher Kranken Gallensäuren nachweisen.

38) Die acute Phosphorvergiftung, 1865.

39) Klinik der Leberkrankheiten, Bd. I, pag. 240.

Durch diese Untersuchungen wurden nun neue Belege für das factische Bestehen des Resorptionsicterus beigebracht. Durch das Verhalten der Gallensäuren, welche nur im krankhaften Zustande in das Blut gelangen, wurden die Widersprüche gelöst. Da sie aber Zersetzungen im Blute nicht eingehen, so müssen die Gallensäuren im icterischen Harn stets nachzuweisen sein und *Leyden* giebt auch an, dass in allen durch gestörte Gallensecretion veranlassten Icterusfällen, dieselben constante Harnbestandtheile sind. Wie soll man aber diejenigen Fälle erklären, wo eine Absperrung der Galle durchaus nicht nachzuweisen ist, wo vielmehr alle Erscheinungen für eine ungehinderte Secretion sprechen und wo auch die chemische Untersuchung keine Spuren von Gallensäuren im Harne zeigt?

*Leyden* sucht sich hier einen Ausweg zu schaffen, indem er, ähnlich wie *Kühne* und *Hoppe*, einen Bluticterus annimmt, einen Icterus, der ohne Betheiligung der Leber durch Umwandlung des Blutfarbstoffes in den Gallenfarbstoff, sich bilden soll. Die theoretischen Principien, welche einen solchen Icterus practisch beweisen sollen, seien die von *Virchow* und anderen Autoren behauptete Identität des Hämatoidins mit dem Gallenfarbstoffe und ferner die Beobachtungen von *Kühne*, *M. Herman*, *Leyden* und *Munk* vom regelmässigen Auftreten des Gallenfarbstoffes im Harne, theils nach Injectionen seiner Hämoglobinlösungen, theils nach Injectionen solcher Substanzen, welche einen Uebertritt des Blutfarbstoffes in das plasma bewirken. Die zuweilen nach Chloroform und Aethernarkose auftretende Gelbsucht, sowie der die Hydrämie complicirende Icterus, lasse sich leicht

auf Grund „experimenteller Thatsachen“ als hämatogene auffassen. Weiterhin betrachtet *Leyden* als hämatogene diejenigen Icterusformen, welche das gelbe Fieber begleiten, den pyämischen Icterus, den die Herzkrankheiten complicirenden Icterus und den Icterus neonatorum. Er giebt wohl zu, dass einzelne Fälle von den genannten Icterusformen als Resorptionsicterus gedeutet werden müssen, aber in einer grossen Reihe anderer Fälle lasse sich durchaus ein gehinderter Abfluss der Galle nicht nachweisen. Klinisch charakterisirt *Leyden* den Bluticterus durch folgende Merkmale:

- 1) Abwesenheit der Gallensäuren im Harne solcher Kranken, welchen Umstand er als wichtigstes und sicherstes differentiell - diagnostisches Zeichen betrachtet;
- 2) das Auftreten der gelben Hautfärbung vor dem Erscheinen der Gallenfarbstoffe im Harne, während beim Resorptionsicterus das Umgekehrte stattfinden soll;
- 3) das Auftreten des Icterus bei Zuständen, welche auf eine Auflösung der Blutkörperchen hindeuten;
- 4) die unverkennbare Aehnlichkeit der Symptome, welche nach Einwirkung von Substanzen, welche die Blutkörperchen auflösen, auftreten, mit den den Bluticterus begleitenden Symptomen;
- 5) den Leichenbefund, welcher beim Bluticterus keine Anhaltspuncte für eine Gallenstauung giebt;
- 6) die normale Färbung des Darminhaltes bei ausgesprochenen icterischen Erscheinungen, u. schliesslich
- 7) den Umstand, dass man bei Leichen eine fettige

Degeneration der Leberzellen, der Nierenepithelien und des Herzfleisches vorfindet, ähnlich wie in denjenigen Fällen, wo eine Zerstörung der rothen Blutkörperchen nachgewiesen worden ist.

Was zunächst die von *Leyden* angegebene Quantität der täglich secernirten Galle anbetrifft, so steht dieselbe, wie gesagt, im Widerspruch mit den von anderen Autoren angegebenen Zahlen. *Gorup-Besanez* <sup>40)</sup> Zusammenstellung von sechs mit Menschengalle ausgeführten Analysen, die theils von ihm, theils von *Frerichs* besorgt wurden, ergaben einen Gehalt der Galle an gallensauren Alkalien von 56,5 bis 107,9 pro Mille. Eine directe Bestimmung der täglichen Gallenausscheidung bei einem mit Gallenblasenfistel behafteten Manne, die von *J. Ranke* <sup>41)</sup> ausgeführt wurde, ergab im Mittel 652 Gramm flüssiger Galle, in welcher sich 11 Gramm Gallensäuren befanden. Diese Zahlen stimmen mit der von *Bidder* u. *C. Schmidt* <sup>42)</sup>, *Th. L. W. Bischoff* und *C. Voit* <sup>43)</sup>, *Funke* <sup>44)</sup>, *Ludwig* <sup>45)</sup> und *E. Bischoff* <sup>46)</sup>, nach verschiedenen Berechnungsprincipien angegebenen Menge der täglichen Gallensecretion ziemlich überein. Jedenfalls lässt sich aus diesen Berechnungen schliessen, dass die von *E. Bischoff* angenommene

40) Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1807 pag. 471.

41) Grundzüge der Physiologie des Menschen, 1872 pag. 287 et seq.

42) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel, 1852.

43) *E. Bischoff*, Ueber den Nachweis der Gallensäure u. s. w. in Zeitschrift für rationelle Medicin, Bd. XXI.

44) Lehrbuch der Physiologie, 1863.

45) Lehrbuch der Physiologie, Bd. II.

46) l. c.

Zahl von 11 Grammen im Mittel täglich secernirter Gallensäuren keineswegs eine zu grosse ist, ja es ist vielmehr wahrscheinlich, dass sogar grössere Quantitäten täglich secernirt werden. Die Bestimmungen der Gallenmenge aus der direct durch die Gallenblasenfistel entleerten Galle können niemals genaue Aufschlüsse über die Gallenquantität geben. Es müssen die Zahlen immer viel zu gering ausfallen. Es sind ja offenbar bei mit Gallenfisteln behafteten Thieren ganz andere Verhältnisse, als im Normalzustande. Wie die Anfüllung der Gallenblase zu Stande kommt, darüber giebt uns die Physiologie keine Aufschlüsse, es lässt sich jedenfalls annehmen, dass die Galle auch in den Darm gelangen könne, ohne den Weg durch die Gallenblase zu machen. Bei künstlich angelegten Gallenfisteln, wo ein Stück des ductus choledochus excidirt wird, ist gerade dieser Ausweg der Galle unmöglich gemacht, alle Galle muss durch den feinen ductus cysticus in die Gallenblase passiren. Es ist nun leicht möglich, dass unter solchen Umständen ein erhöhter Druck in den Gallengängen zu Stande kommt und dadurch auch die Secretionsverhältnisse ganz anders gestaltet werden. Dass eine solche Stauung thatsächlich stattfindet, beweist der von *Leyden* angegebene Befund bei dem, mit der Gallenfistel behafteten, getödteten Hunde, wo der ductus cysticus stark erweitert mit entzündlicher Schwellung der Schleimhaut gefunden wurde.

Sobald die Menge der täglich secernirten Galle beträchtlich grösser ist als die im Kothe aufgefundenen, so müssen die Gallenbestandtheile, da sie im Darne, wie sich aus den *Hoppe'schen* Untersuchungen ergibt, nicht vollständig zersetzt werden können, unter normalen Ver-

hältnissen in den Kreislauf aufgenommen werden. Aus dem II. Theile dieser Arbeit ergibt sich, wie leicht die Gallensäuren der chemischen Untersuchung entgehen, und wie ungerechtfertigt die Schlüsse auf die Abwesenheit der Gallensäuren aus dem negativen Erfolge der darauf bezüglichen Untersuchung sind. Eine vielfach wiederholte Prüfung des normalen menschlichen Harnes hat mich belehrt, dass die Gallensäuren, trotz der widersprechenden Angaben sämtlicher Hand- und Lehrbücher der physiologischen Chemie und der Harnanalyse, constante physiologische Harnbestandtheile sind. Wenn also die Gallensäuren, unter normalen Verhältnissen, im Harne auftreten, so müssen sie auch im Kreislaufe beständig vorkommen. Die vergeblichen Bemühungen vieler Physiologen und Chemiker dieselben im Blute nachzuweisen, haben ihren Grund in den Mängeln der chemischen Untersuchungsmethode und in den minimalen Quantitäten, die in der gegebenen Zeiteinheit, in den Kreislauf gelangen. Sehr passend sind in dieser Beziehung die Worte von *Liebig*<sup>47)</sup>. „Denken wir uns in der That, dass in einer Minute 10 Pfund Blut durch die Leber gehen, von diesem Blute 2 Tropfen Galle abgesondert würden, so macht dies  $\frac{1}{9600}$  von dem Gewichte der Blutmasse aus, ein Gehalt, der durch die Analyse nicht mehr festgesetzt werden kann“.

Es wurde bereits schon von *Naunyn*<sup>48)</sup> angegeben, dass die Gallensäuren in spurenhafte Mengen im physiologischen Hundeharn und auch im Menschenharn stets

47) Die organische Chemie und ihre Anwendung auf Physiologie u. Pathologie, 1842 pag. 172.

48) Beiträge zur Lehre vom Icterus in *Reicherts* u. *Du Bois-Reymonds* Archiv, 1868 u. 1869.

nachzuweisen sind. In Folge dieser Angaben nahm *A. Vogel*<sup>49)</sup> eine Prüfung des menschlichen Harnes auf etwaige Gallenbestandtheile vor. Die von *Dragendorff*<sup>50)</sup> angegebene Ausschüttelungsmethode mit Chloroform oder Amylalkohol, hat sich als sehr geeignet erwiesen, um die Gallensäuren zur Anstellung der *Pettenkofer*'schen Reaction zu isoliren. Bekanntlich ist eine directe Benutzung der *Pettenkofer*'schen Reaction nicht zulässig, da die violettrothe Färbung, die nach Anwendung von concentrirter Schwefelsäure und Zucker bei Gegenwart der Gallensäuren eintritt, durch die Verkohlung anderer organischer Harnbestandtheile leicht verdeckt wird. Durch die Ausschüttelungsmethode haben wir nun ein sehr bequemes Mittel, die im Harne befindlichen Gallensäuren in viel reinerem und concentrirterem Zustande zu erhalten, und somit das Gelingen der *Pettenkofer*'schen Reaction zu sichern. *A. Vogel* benutzte sie in der Weise, dass er 4—5 Unzen mit ClH angesäuerten Harnes mit einer Unze Chloroform 20 bis 30 Minuten lang ausschüttelte. Bei ruhigem Stehen setzt sich das mit dem Harn vermischte Chloroform am Boden des Gefässes ab, und kann dann leicht nach Abgiessen der übrigen Flüssigkeit durch Alkoholzusatz geklärt und dann filtrirt werden. Auf dem Filter entstehende dicke Gallerte, welche das Chloroform einschliesst und nichts abfließen lässt, wird durch Rühren des Filterinhaltes mit einem Glasstäbchen gehoben. Die durchfiltrirte Lösung giebt beim Verdampfen und Anwenden der *Pettenkofer*'schen Reagentien die befriedigende Reaction. Ich

49) Deutsche Klinik, 1872 № 41, Bericht aus dem in der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Leipzig gehaltenen Vortrage.

50) Untersuchungen aus dem pharmaceutischen Institut in Dorpat 1868.

habe öfters dasselbe Verfahren mit dem brilliantesten Erfolge eingeschlagen, nur mit dem Unterschiede, dass ich das gewöhnlich nach der Ausschüttelung klar sich absetzende Chloroform, direct, ohne es zu filtriren, zur Reaction benutzte.

Einen Einfluss von Nahrung, Alter, Tageszeit, auf die Intensität der Reaction konnten *Dragendorff* und *Vogel* nicht auffinden. Zu denselben Resultaten kam ich auch bei sechs angestellten Versuchen. Fernerhin hat *Vogel* bei verschiedenen Kranken die Ausschüttelungen gemacht und überall eine schöne Reaction erhalten. Am deutlichsten war sie natürlich in Icterusfällen (3 Icterus catarrhalis, 1 Carcinoma hepatis, 1 Cirrhosis) und nach Theereinreibungen (Phenol). In einem Fall von Icterus bei einem Herzfehler, welcher sonst alle Eigenschaften des *Leyden'schen* hämatogenen Icterus darbot, konnten auch die Gallensäuren im Harne nachgewiesen werden.

Nach dem hier Gesagten muss also eine physiologische Resorption der Gallensäuren als feststehend betrachtet werden.

Wie soll man aber die Anwesenheit der Gallensäuren im circulirenden Blute mit der giftigen Wirkung derselben in Einklang bringen? Die von so vielen Experimentatoren beobachteten Störungen in den verschiedensten Functionen nach Gallensäureinjectionen sprechen entschieden für eine solche giftige Wirkung. Ich möchte jedoch auf den Umstand aufmerksam machen, dass in allen denjenigen Versuchen, bei welchen die eintretenden Störungen sich notorisch auf die gemachten Injectionen zurückführen lassen, offenbar viel zu grosse Mengen der Gallensäuren den betreffenden Thieren zugeführt wurden.

Aus der *Leyden'schen* Zusammenstellung der von verschiedenen Autoren angestellten Versuche entnehme ich, dass die geringsten Mengen, die Fröschen injicirt wurden, 0,1 Gramm betragen, Kaninchen 0,1—0,6 Gramm, Hunden noch bedeutendere Quantitäten. So bedeutende Mengen werden aber niemals auf einmal dem Kreislaufe zugeführt, die fortwährende Ausscheidung durch Harn und Galle sorgt dafür, dass eine grössere Anhäufung nicht zu Stande kommt. Eine andere Reihe von Injectionsversuchen beweist auch, dass sehr oft dieselben von Thieren, namentlich Hunden, ohne Nachtheil vertragen werden und gerade zu diesen Versuchen wurde filtrirte Ochsen-galle benutzt, deren Gehalt an Gallensäuren bekanntlich sehr schwankend ist. Aus dem Gesagten lässt sich leicht der Schluss ziehen, dass geringe Mengen gallensaurer Salze, wie sie im Organismus in Betracht kommen, keine schädliche Einwirkung entfalten.

Die quantitative Bestimmung der im Harne vorhandenen Gallensäuren ergibt nun, dass die Gallensäuren im Harne nur in sehr geringen Quantitäten aufzufinden sind. *Dragendorff* schätzt die in 100 Litre Harn enthaltene Gallensäuremenge auf 0,8 Gramm. *Naunyn* giebt ebenfalls an, dass nur Spuren derselben sich im Harn auffinden lassen. Bei der von mir angestellten Untersuchung des normalen menschlichen Harnes, konnte ich leider eine quantitative Bestimmung nicht vornehmen, da die dazu erforderliche Isolirung der Gallensäuren mir nicht genügend gelingen wollte. Jedenfalls waren die Mengen der Gallensäuren in dem betreffenden Harne quantitativ nicht wesentlich verschieden von denjenigen, welche *Dragendorff* bei seinen Versuchen fand. Durch die Untersuchungen

von *Hoppe* und *Bischoff* wurde es nachgewiesen, dass von den täglich secernirten Gallensäuren nur ein kleiner Theil in den Excrementen sich auffinden lässt, es müssen also die Gallensäuren grösstentheils resorbirt werden. Es fragt sich nun, was mit den resorbirten Gallensäuren geschieht? Sie müssen entweder Zersetzungen im Blute erleiden, oder noch auf anderen Wegen als durch die Nieren ausgeschieden werden. Eine weitgehende Zersetzung im Blute ist nicht wahrscheinlich, wir haben wenigstens keine Anhaltspunkte, welche für eine solche Annahme sprechen würden. Im Gegentheil muss den Gallensäuren dem chemischen Verhalten nach eine gewisse Beständigkeit zugeschrieben werden. Die betreffenden Versuche<sup>51)</sup>, wo Gallensäuren mit verschiedenen Fermenten tagelang sich ohne Veränderung erhielten, das Auftreten unveränderter Glycocholsäure in den Excrementen der Kühe, sprechen vielmehr entschieden gegen die Annahme einer weitgehenden Zersetzung, wie sie im Blute stattfinden müsste. Es müssen also die ins Blut übergegangenen Gallensäuren auch auf anderen Wegen ausgeschieden werden.

Am wahrscheinlichsten ist es, dass die Leber selbst für die Wegschaffung der von ihr producirten und aus dem Darne ins Blut wiederaufgenommenen Substanzen sorgt. Den Angaben von *Hyrtl*<sup>52)</sup> zufolge, geht die Pfortader, ehe sie in die Pforte eintritt, constant mit den anderen Körperven Venen Verbindungen ein. Die Venen des serösen Leberüberzuges,

51) cf. *Virchows Archiv*, Bd. XXVI, Ueber die Schicksale der Galle im Darmkanal von *F. Hoppe-Seyler*.

52) *Hyrtl*, *Descriptive Anatomie*, 1870.

die VV. diaphragmaticae und oesophageae, die directen Communicationen mit der V. cava inferior, sind die Wege, durch welche sich das Blut der Pfortader mit dem Blute anderer Körperven vermischt. Es werden nun die vom Darne aus durch die Pfortaderwurzeln resorbirten Gallensäuren der Leber grösstentheils wieder zurückgeführt, und mit der von der Leber producirten Galle wieder ausgeschieden. Nur ein kleiner Theil der resorbirten Galle gelangt durch die Anastomosen der Pfortader in den grossen Kreislauf und wird nun weiter durch die Nieren ausgeschieden. Für einen solchen Kreislauf der Galle sprechen nicht nur theoretische Voraussetzungen, sondern auch die directen von *Schiff*<sup>53)</sup> angestellten Experimente. *Schiff* beobachtete nach Injectionen von Galle in den Darm eine beträchtliche Vermehrung des Gallenausflusses aus Gallen fisteln, die bei Hunden angelegt wurden. Dass es sich in der That um eine Ausscheidung der vom Darne aus resorbirten Galle handelte, beweist der Umstand, dass bei Meerschweinchen, deren Galle keine *Pettenkofer'sche* Reaction zeigen soll, nach Injectionen von Ochsgalle in den Darm, die betreffende Reaction sich sehr deutlich in der ausgeschiedenen Galle zeigte. Die Annahme eines solchen Kreislaufes scheint mir um so mehr berechtigt, als durch dieselbe die dunkelen Verhältnisse der Gallenfarbstoffbildung und die sich widersprechenden Versuche über die Betheiligung des Pfortaderblutes und des Blutes der Art. hepatica bei der Gallenbereitung möglicherweise aufgeklärt würden. Fernerhin liesse sich auch dadurch die geringe Quantität der im icterischen Harne aufgefundenen

53) *Funke*, *Lehrbuch der Physiologie*, 1870 pag. 197.

denen Gallensäuren erklären. Darüber müssen aber noch weitere Forschungen angestellt werden.

Aus dem constanten Vorkommen der Gallensäuren im Harne erweist sich nun das von *Leyden* angegebene Unterscheidungsmerkmal zwischen dem hämatogenen und hepato-genen Icterus als hinfällig. Die wesentlichste und ich möchte sagen die einzige Stütze des hämatogenen Icterus würde nur noch die Identität des Gallenfarbstoffes mit dem Hämatoidin sein. Indessen ist diese Identität durch die Untersuchungen von *Holms*<sup>54)</sup> stark angezeifwelt worden. Ferner hat *Naunyn* in seinem schon citirten Aufsätze, welcher einen werthvollen Beitrag zur Lehre vom Icterus bildet, gezeigt, dass Injectionen von Hämoglobinlösungen das Auftreten des Gallenfarbstoffes im Harne nicht verursachen. Nur ausnahmsweise konnte *Naunyn* den Gallenfarbstoff im Harne auffinden, derselbe lässt sich aber auch zuweilen im völlig normalem Harne nachweisen. Die Untersuchungen von *Jaffe*<sup>55)</sup> über die Harnfarbstoffe haben ergeben, dass im normalen Harne stets ein Farbstoff, das Urobilin, vorkommt, oder wenigstens ein Chromogen, aus welchem sich leicht durch Oxydation das Urobilin bildet. Derselbe Farbstoff wurde auch in der Galle gefunden. Die dadurch wahrscheinlich gemachte Abstammung der Harnfarbstoffe von den Gallenfarbstoffen wurde durch *Maly*<sup>56)</sup> bestätigt, welcher aus dem Bilirubin durch starke Reductionsmittel das *Jaffe*'sche Urobilin darstellte. Weiter haben die *Maly*'schen Untersuchungen ergeben, dass auch andere Harnfarbstoffe (Urochrom von *Tudichum*, Harnfarbstoff von

54) cf. *Naunyn*, Beiträge zur Lehre vom Icterus, Th. I pag. 408.

55) *Neubauer* u. *Vogel*, Anleitung zur Analyse des Harnes, 1872 pag. 45.

56) *Annalen der Chemie u. Pharmacie*, Bd. CLXIII.

*Scherer*), wenn nicht identisch, so doch in sehr naher Beziehung mit dem Hydrobilirubin, mit welchem Namen er den aus Bilirubin durch Einwirkung von Reductionsmitteln dargestellten mit dem Urobilin identischen Farbstoff bezeichnet, stehe. Da in den Excrementen keine unveränderten Gallenfarbstoffe, wie sich aus dem negativen Erfolg der *Gmelin*'schen Reaction ergibt, nachzuweisen sind, so müssen die Gallenfarbstoffe schon im Darne die Umwandlungen eingehen und in der That haben *Vauclair* und *Masius*<sup>57)</sup> einen dem Urobilin sehr nahe verwandten Farbstoff in dem Darminhalte aufgefunden. Auch hat *Maly* im Serum von Ochsenblut einen sich im Spectrum den Hydrobilirubin ähnlich verhaltenden Farbstoff gefunden.

Wenn man die Ergebnisse dieser Untersuchungen mit dem *Naunyn*'schen Befund, dass auch im physiologischen Harne, besonders in solchen Fällen, wo eine Herabsetzung der vegetativen Functionen sich vermuthen liess, Gallenfarbstoffe zuweilen vorkommen, in Zusammenhang bringt, so lässt sich auch leicht das Auftreten von Gallenfarbstoffen im Harne nach Injectionen von Substanzen, die die Blutkörperchen auflösen sollen, erklären, ohne dass man auf eine Ueberführung des Blutfarbstoffes in den Gallenfarbstoff in den Blutbahnen recurriren müsste. Die Ursache des Auftretens des Gallenfarbstoffes im Harne muss vielmehr gesucht werden in einer mangelhaften Umsetzung des resorbirten Gallenfarbstoffes oder auch, wie *Naunyn* es gezeigt hat, in einem reichlicheren Uebertreten desselben ins Blut in Folge des erniedrigten Druckes in der Pfortader. Diese letzte Form bezeichnet *Naunyn* als „physio-

57) *Centralblatt für die med. Wiss.*, 1871 № 14.

logischen Icterus.“ Derselbe wird constant bei Thieren beobachtet, die einem längeren Fasten ausgesetzt waren, wodurch der Seitendruck in der Pfortader sinkt und durch die Spannungsdifferenz zwischen den Gallen- und Blutcapillaren, ein Uebertritt der Galle in die letztere bewirkt wird.

Die Annahmen, auf welche sich die Anhänger der Lehre vom hämatogenen Icterus berufen, sind somit nicht erwiesen. Es lässt sich kein Punct anführen, welcher noch dem hämatogenen Icterus zur Stütze dienen könnte. In wie weit die hier angedeuteten Verhältnisse die verschiedenen Icterusformen verursachen, muss erst eine genaue klinische Beobachtung entscheiden. Leider konnte ich mich nicht auf diesen interessanten Punkt einlassen, da mir die nöthige Zeit und das erforderliche Material fehlten. Auch müssen derartige Beobachtungen vielfach wiederholt und von verschiedener Seite gemacht werden, um bestimmte Schlüsse zuzulassen. Jedenfalls kann, den bisherigen Untersuchungen zufolge, die Gelbsucht nur durch den nicht genügenden Umsatz der ins Blut aufgenommenen Galle, zu Stande kommen. Dieser mangelhafte Umsatz kann entweder dadurch bedingt sein, dass zu grosse Mengen sich im Blute anhäufen (Resorptionsicterus), oder dass die vegetativen Functionen nicht die Energie entfalten, welche zur Umsetzung des normal aufgenommenen Gallenfarbstoffes erforderlich ist. (Icterus bei fieberhaften Krankheiten, Kachexie, Herzfehlern, Hydrämie). Dass auf diesen verminderten Umsatz auch die in grösseren Mengen im Blute

circulirenden Gallensäuren durch die von *Traube*<sup>58)</sup> bewiesene Einwirkung auf die Herzmusculatur und die Auflösung von Blutkörperchen<sup>59)</sup> von Einfluss ist, will ich gar nicht in Abrede stellen. Ferner möchte ich noch auf eine Möglichkeit der Entstehung des Icterus hindeuten, welche in der neueren Zeit vollständig verlassen wurde, und die dennoch durch die bewiesene Resorption der Galle berechtigt zu sein scheint. Es ist namentlich der Suppressionsicterus, welchen nur noch die englischen Autoren zu vertheidigen suchen.

Durch die Pfluegerschen Untersuchungen<sup>60)</sup> wurde es sehr wahrscheinlich gemacht, dass in der Leber selbstständige Innervationscentra sein müssen, welche die Lebersecretion reguliren. Nach Durchschneidung der Nv. vagi, phrenici, splanchnici, sympathici, nach Zerstörung des Plexus coeliacus, nach Umschnürung aller Gebilde, welche in die Porta hepatis eintreten und dadurch bedingter Zerquetschung der Nerven, dauerte die Secretion der Galle mit einer Intensität fort, die den Schluss rechtfertigt, dass die Leber ihr eigenes Innervationscentrum besitze. Auch die electriche Reizung zeigte sich nicht ohne Einfluss auf die Gallensecretion, indem dieselbe dadurch sistirt wurde. Solcher Stillstand in der Secretion dauerte so lange, dass es aus einer Contraction der Gefässe oder Gallengänge nicht erklärt werden konnte. Das plötzliche Auftreten der Gelbsucht, die zuweilen nach Gemüthsaffecten beob-

58) Gesammelte Beiträge zur Pathologie u. Physiologie, 1871, Bd. I.

59) Für eine thatsächliche Auflösung der Blutkörperchen durch die Gallensäuren im lebenden Organismus sprächen die nach Injectionen vielfach beobachtete Hämaturie, und die Hämaturie beim Icterus gravis.

60) Archiv für ges. Physiologie von *Pflueger*, 1869.

achtet wurde, konnte auch durch diesen Einfluss der Nerven auf die Lebersecretion erklärt werden.

Ausser diesem Einflusse der Nerven sprechen noch für die Möglichkeit des Entstehens des Suppressionsicterus, die schon von *Bamberger* hervorgehobenen Gründe, dass bei Obliteration der Pfortader Icterus sich häufig zeige und der Umstand, dass die normal secernirte Galle höchst wahrscheinlich durch die Leber wieder ausgeschieden werde. Deshalb möchte ich also den Suppressionsicterus in dem Sinne, dass einerseits durch den Einfluss der Nervencentra der Leber und der vasomotorischen Nerven der Pfortader, andererseits durch anatomisch - pathologische Veränderungen der Leber und Pfortader, die resorbirte Galle sich anhäufen kann, zulassen. Weitere klinische experimentell-pathologische Beobachtungen müssen natürlich über die Berechtigung dieser Icterusform Aufschlüsse geben.

## II.

Bevor ich an die Beschreibung der angestellten Harn - Untersuchungen gehe, schicke ich noch kurz eine Beschreibung der üblichen Darstellungsmethoden der Gallensäuren voraus. Die am meisten angewandten Methoden sind das *Frerichs-Städeler'sche* und das *Hoppe'sche* Verfahren<sup>61)</sup>.

Das erste Verfahren beruht darauf, dass man den zur Trockene verdampften Harn mit gewöhnlichem Alkohol auszieht, dieses Extract verdunstet, den Rückstand mit absolutem Alkohol behandelt und den trockenen Rückstand dieses zweiten Extractes in Wasser auflöst. Die wässrige Lösung wird mit Bleiessig gefällt, der Niederschlag mit kochendem Alkohol extrahirt, das Bleisalz der Gallensäuren im Alcoholextracte durch kohlen-saures Natron in Natronsalz übergeführt, das Filtrat verdampft und der Rückstand wiederum mit absolutem Alkohol extrahirt. Aus dieser alcoholischen Lösung werden die Gallensäuren durch Aether theils krystallinisch, theils amorph ausgeschieden.

Nach *Hoppe* wird der frische Harn mit Kalkmilch im Ueberschusse erhitzt, dann filtrirt, das Filtrat eingedampft, mit Cl H im Ueberschusse versetzt und so 24 Stunden stehen gelassen. Die Flüssigkeit wird von den am

61) *Vogel u. Neubauer*, Anleitung zur Analyse des Harnes. 1872.

Boden sich ausscheidenden Krystallen abfiltrirt und das Filtrat mit einem starken Ueberschusse von Salzsäure  $\frac{1}{2}$  Stunde lang gekocht, dann im Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedampft, mit vielem Wasser versetzt und filtrirt. Die auf dem Filter nachbleibende schwarze Masse wird mit kaltem Alcohol extrahirt, das Alcoholtract mit Thierkohle entfärbt und zur Trockene verdunstet. Der Verdunstungsrückstand besteht hauptsächlich aus Cholidinsäure.

Es werden demnach bei dem *Frerichs-Städeler'schen* Verfahren unveränderte Gallensäuren erhalten, während bei dem von *Hoppe* angegebenen, zunächst die Glyco- und Taurocholsäure in ihre nächsten Spaltungsproducte zerlegt und als Cholidinsäure constatirt werden.

Der langdauernde Streit über die An- oder Abwesenheit der Gallensäuren im icterischen Harne, welcher zuletzt durch den von *Hoppe* geführten Nachweis entschieden wurde, spricht, beim Vergleich der Genauigkeit beider Methoden, für das von *Hoppe* angegebene Verfahren. Indessen haben directe Bestimmungen von *E. Bischoff*<sup>62)</sup> und *Neukomm*<sup>63)</sup> dargethan, dass man durch die Fällung mit Blei noch geringere Mengen von Gallensäuren nachweisen kann. Die genannten Untersuchungen über die Genauigkeit beider Methoden beschränkten sich nur auf den qualitativen Nachweis der gefällten Gallensäuren, da mir aber auch die quantitativen Verhältnisse von Interesse zu sein schienen, so habe ich in dieser Beziehung einige Controllversuche ausgeführt.

62) Zeitschrift für ration. Med. Bd. XXI.

63) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. CXVI, und *Reichert's* u. *Du Bois-Reymond's* Archiv. 1860.

0,1 Grm. glycocholsaures Natron<sup>64)</sup> in 100 Cc. Wasser gelöst, werden mit Bleizucker gefällt. Der Niederschlag auf tarirtem Filter gesammelt, getrocknet und gewogen, ergab nur 0,0056 Grm. glycocholsaures Bleioxyd.

0,1 Grm. glycocholsaures Natron mit 2 Grm. Harnstoff in 100 Cc. Wasser gelöst, mit Bleizucker versetzt, ergaben 0,0101 Grm. Niederschlag. Ob hier Harnstoff mitgefällt wurde, habe ich weiter nicht verfolgt, da mir die Zahlen zu ungünstig ausfielen.

In der Voraussetzung, dass günstigere Resultate erzielt werden, wenn statt des neutralen das basische Bleisalz zur Fällung benutzt wird, habe ich folgende Versuche angestellt.

0,1 Grm. glycocholsaures Natron = 0,09548 Grm. Glycocholsäure werden in 100 Cc. Wasser gelöst (1 : 1000), die Lösung mit Bleiessig gefällt, der Niederschlag auf einem tarirten Filter gesammelt, getrocknet und gewogen, ergab 0,1159 Grm.

0,1 Grm. glycocholsaures Natron werden in 200 Cc. Wasser gelöst (1 : 2000) und mit Bleiessig gefällt. Es zeigt sich kaum eine merkliche Trübung.

Der Unterschied in der gefällten Menge bei den letzten Versuchen liess mich vermuthen, dass die zuerst erhaltene Zahl nicht vollkommen richtig sei, indem neben dem gefällten gallensauren Salze auch kohlensaures Bleioxyd, durch Aufnahme von Kohlensäure aus der Luft, in dem Niederschlage enthalten sein konnte. Desshalb habe ich den Niederschlag, welcher aus der Fällung einer Lö-

64) Das Aequivalent der Glycocholsäure = 465, des glycocholsauren Natrons = 487, des Bleisalzes = 568, der Cholidinsäure = 000, des Dyslisin = 372, nach *Gmelin's* Handbuch der Chemie, 1870, Bd. 7.

sung von 0,1 Grm. glycocholsauren Natrons in 100 Cc. Wasser mit Bleiessig erhalten wurde, mit kochendem Alcohol behandelt, und das alcoholische Extract, welches sich beim Erkalten trübte, verdunstet. Der Verdunstungsrückstand betrug 0,1136 Grm. glycocholsaures Bleioxyd = 0,093 Grm. Glycocholsäure. Dieses Verhalten der Glycocholsäure gegen das neutrale und basische Bleisalz erklärt folgenden Versuch, welchen Prof. *Dragendorff* mit normalem Menschenharn ausführte. Es wurden 1500 Cc. Harn ausgetrocknet, der Rückstand mit 85-procentigem, dann mit absolutem Alcohol extrahirt und der Verdunstungsrückstand des zweiten Extractes in Wasser aufgenommen. Die filtrirte wässerige Flüssigkeit wurde mit der zur Fällung erforderlichen Menge neutralen Bleiacetats versetzt und der entstehende, mit Wasser ausgewaschene Niederschlag in 90-procentigem Alcohol ausgekocht und kochend heiss filtrirt. Das Bleiglycocholat wurde in Natronsalz übergeführt und das Natronsalz enthaltende Filtrat verdampft. Dieser Rückstand in Wasser gelöst und mit Chloroform ausgeschüttelt, gab eine schöne Pettenkofersche Reaction. Die Fällung mit Bleizucker war also nicht vollständig, wie sich durch Ausschüttelung des Filtrates mit Chloroform erwiesen hat.

Um zu sehen, in wie fern das Natriumcarbonat die Fällung beeinflusst, machte ich folgenden Versuch: 0,2 Grm. glycocholsaures Natron = 0,19096 Grm. Glycocholsäure wurden in 100 Cc. Wasser gelöst (1 : 500). Die Lösung mit etwas kohlensaurem Natron versetzt und mit Bleiessig gefällt. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag, welcher kohlensaures und glycocholsaures Bleioxyd enthält, wurde mehrmals mit kochendem Alcohol extrahirt, das Extract in tarirter Flasche verdampft, getrocknet und ge-

wogen, ergab den Gehalt an Glycocholsäure 0,0622 Grm. Vorausgesetzt, dass der Alcohol alles glycocholsaure Bleioxyd aus dem Niederschlage extrahirte, wurden 0,12876 Grm. Glycocholsäure nicht gefällt.

Die in diesen Versuchen erhaltenen Zahlen geben noch keine Einsicht in die quantitativen Verhältnisse der aus dem Harn gefällten Glycocholsäure, da die Gegenwart anderer Substanzen die Fällung beeinflussen kann, was um so wahrscheinlicher ist, als in dem Harn sich Substanzen, namentlich Harnstoff, befinden, deren Bleiverbindungen ebenfalls schwer löslich sind. Ich löste daher 0,1 Grm. glycocholsaures Natron und 2 Grm. Harnstoff in 100 Cc. Wasser und fällte die Lösung mit Bleiessig. Der auf einem tarirten Filter gesammelte, getrocknete und gewogene Niederschlag ergab 0,3448 Grm. Da die mit dem Filtrate vorgenommene Chloroformausschüttelung keine Aufnahme der Glycocholsäure erwies, und da ferner die mit 2 Cc. des Filtrates vorgenommene Pettenkofersche Reaction nur eine äusserst schwache Färbung zeigte, so schliesse ich daraus, dass nur ein sehr geringer Theil der Glycocholsäure aus der Lösung nicht gefällt wurde.

Ob die Ueberführung in Cholidinsäure, respective Dyslisin, genauere Resultate giebt, versuchte ich in folgender Weise:

Eine Lösung von 0,2 Grm. glycocholsaurem Natron in 100 Cc. Wasser (1 : 500) wird bis zum Kochen erwärmt und während des Kochens mit verdünnter  $\text{SO}_4\text{H}_2$  versetzt, dadurch wird die Glycocholsäure in Cholidinsäure, letztere in Dyslisin übergeführt. Es entsteht eine Trübung, die sich zu einem flockigen deutlichen Niederschlage ausbildet. Das Kochen wurde so lange fortgesetzt,

bis keine Zunahme des Niederschlages bemerkbar war. Erst in der Kälte vermehrte sich der Niederschlag noch etwas. Auf einen tarirten Filter gesammelt, getrocknet und gewogen, ergab sich 0,0183 Grm. Dyslisin = 0,02278 Grm. Glycocholsäure.

Eine auf ganz dieselbe Weise behandelte Lösung von 0,1 Grm. glycocholsaurem Natron in 200 Cc. Wasser (1 : 2000) ergab eine kaum merkliche Trübung; von einem deutlichen Niederschlage liess sich nichts wahrnehmen.

Ausser diesen beiden Methoden, die Gallensäuren darzustellen, giebt es noch eine dritte, von Prof. *Dragendorff* angegebene, die bereits schon früher erwähnte Ausschüttelungsmethode der betreffenden Lösungen mit Amylalcohol oder Chloroform, welche den grossen Vorzug der Bequemlichkeit und Zeitersparniss darbietet und die sich zum Nachweis der Gallensäuren im normalen Harne so vortrefflich bewährt hat. Ich habe auch mit dieser einige Versuche angestellt, deren Ergebnisse hier folgen.

Zunächst fragte es sich, ob die Gallensäuren unzersetzt in das Chloroform übergehen, oder ob sie vor dem Uebergange in die Chloroformlösung eine Spaltung in ihre nächsten Zersetzungsproducte, das Taurin, respective Glycin, und die Cholsäure erleiden. Eine Lösung von 0,5 Gramm taurocholsaurem Natron in 100 Cc. Wasser wurde, nach vorheriger Ansäuerung mit Essigsäure, mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Trennung des Chloroformes von der übrigen Flüssigkeit verdampfte ich die Chloroformlösung, und durch Verpuffen des Rückstandes mit Kalisalpeter, Auflösen der geschmolzenen Masse in Wasser, Versetzen mit einigen Tropfen Salzsäure, Erwärmen so lange sich noch die gelben Dämpfe entwickelten und

schliesslich durch Versetzen der so bereiteten Lösung mit einer Chlorbariumsolution, konnte ich mich überzeugen, dass die Chloroformausschüttelung schwefelhaltig war, somit auch Taurocholsäure in unverändertem Zustande in das Chloroform übergegangen war. Dasselbe lässt sich auch durch diesen Versuch von der Glycocholsäure behaupten, da dieselbe in dem chemischen Verhalten der Taurocholsäure ähnlich ist und ausserdem eine noch viel grössere Beständigkeit als die leichter zersetzbare Taurocholsäure zeigt.

Eine fernere Frage war, wie grosse Mengen der Gallensäuren von dem Chloroform aufgenommen werden. Zu diesen Versuchen benutzte ich die Filtrate der zu den vorigen Versuchen angewandten Lösungen, indem ich die bleihaltigen Lösungen durch  $\text{SO}_4 \text{H}_2$  von dem überschüssigen Blei befreite und jede Lösung mit 1  $\bar{3}$  Chloroform eine  $\frac{1}{2}$  Stunde lang ausschüttelte. Die Ausschüttelungen wurden mit neuen Portionen Chloroform nochmals wiederholt. Das am Boden des Gefässes sich klar absetzende Chloroform wurde nun durch einen Scheidetrichter von der übrigen Flüssigkeit getrennt, in tarirten Flaschen verdampft, und die getrockneten Flaschen gewogen. Auf diese Weise erhielt ich:

Aus einer Lösung von					
0,1287	Grm.	Glycocholsaurem	Natron	wurden ausgeschüttelt	0,0032 Grm.
0,0898	"	"	"	"	0,0093 "
0,0872	"	"	"	"	0,0012 "
0,1680	"	"	"	"	0,0027 "

Diese Zahlen sprechen für eine langsame Aufnahme in das Chloroform, ich machte daher noch einen Versuch um zu sehen ob bei consequenter Wiederholung der Ausschüttelungen sich bessere Resultate erzielen lassen.

0,2655 Grm. wasserfreien glycocholsauren Natrons in 100 Cc. Wasser gelöst, mit Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction versetzt, werden mit Chloroform ausgeschüttelt. Zu jeder Ausschüttelung werden circa 1  $\frac{3}{4}$  Chloroform genommen und jede Ausschüttelung dauerte eine  $\frac{1}{2}$  Stunde lang. Das abgehobene Chloroform wurde jedesmal mit destillirtem Wasser gewaschen, das Waschwasser wieder der ursprünglichen Lösung des Gallensalzes zugesetzt.

I. Ausschüttelung 0,0753 Grm. Glycocholsäure.

II. Ausschüttelung 0,0497 „ „

III. Ausschüttelung 0,0180 „ „

In der Ueberzeugung, dass die Concentration der Lösung von Einfluss auf die ausgeschüttelte Quantität sei, wurde die, durch das Waschwasser stark verdünnte wässrige Flüssigkeit vorsichtig mit kohlsaurem Natron neutralisirt um eine Zersetzung der Glycocholsäure zu vermeiden, und dann auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens allmählig verdampft, worauf nach Aussäuern mit Essigsäure die Chloroformausschüttelungen vorgenommen wurden.

IV. Ausschüttelung 0,0204 Grm. Glycocholsäure.

V. Ausschüttelung 0,0076 „ „

Es wurden also durch diese fünf Ausschüttelungen aus einer Lösung von 0,2655 Grm. glycocholsaurem Natron 0,171 Grm. Glycocholsäure = 0,179 Grm. glycocholsauren Natrons wiedergewonnen, eine Zahl die zu Gunsten der Ausschüttelungsmethode spricht.

Aus diesen Versuchen ergibt sich:

Zur Darstellung der Gallensäuren ist die Fällung mit Bleiessig am meisten vortheilhaft.

Der Bleizucker lässt sich zu diesem Zwecke nicht verwenden, ebenso ist die Ueberführung der Gallensäuren in die Cholidinsäure unzweckmässig.

Eine genaue quantitative Bestimmung des Gehaltes der betreffenden Flüssigkeiten an Gallensäuren durch die üblichen Darstellungsmethoden lässt sich nicht machen.

Die Chloroformausschüttelung eignet sich vorzugsweise zum qualitativen Nachweis ganz geringer Mengen Gallensäuren, weil sie diese relativ rein abscheidet.

Es wurde schon bereits oben erwähnt, dass die Gallensäuren im physiologischen Harn nur in spurenhafte Mengen vorkommen, ich entschloss mich daher eine grössere Harnportion zu verarbeiten, um eine grössere Quantität der gesuchten Substanzen darstellen zu können. Ich lasse hier eine genaue Beschreibung der mit dem Harn vorgenommenen Manipulationen folgen, da dieselben einiges Licht über die bis jetzt grösstentheils mit negativem Erfolge vorgenommenen Blut- und Harnuntersuchungen auf Gallensäuren werfen. Die zur Untersuchung benutzten 100 Litres stammten von gesunden Individuen männlichen Geschlechts im Alter von 17 bis 30 Jahren, nur wenige Litres wurden mir von älteren Personen beiderlei Geschlechtes und Kindern geliefert. Die 100 Litres Harn wurden, um a priori die Farbstoffe des Harnes, welche möglicherweise Irrthümer bedingen konnten, zu entfernen, portionsweise mit Thierkohle entfärbt (15 Grm. pro Litre) darauf eingedampft bis zur Syrupconsistenz. Der eingedampfte

Rückstand mit 85%tigem Alcohol übergossen, der Aufguss 3 Tage lang unter häufigem Schütteln bei einer Temperatur von circa  $+40^{\circ}$  C., endlich eine Nacht in der Kälte aufbewahrt. Das Extract ward filtrirt, von dem Filtrate der Alcohol abdestillirt. — Der im Alcohol unlösliche Theil wurde in Wasser gelöst, mit Chloroform ausgeschüttelt und auf Gallensäuren mit negativem Erfolg geprüft. Das harzige dunkelbraune vom Alcohol befreite Extract wurde mit absolutem Alcohol übergossen und mehrere Tage lang in Zimmertemperatur aufbewahrt, darauf filtrirt. Der Filterrückstand wurde so lange mit absolutem Alcohol ausgewaschen, bis das Abfließende ungefärbt war, der absolute Alcohol abdestillirt, der Rückstand eingedampft. Nach mehreren Stunden schieden sich in der Zimmertemperatur Harnstoffkrystalle aus, die von der Mutterlauge abgetrennt und in etwas Wasser gelöst, in einem besonderen Gefässe aufbewahrt wurden. Die Manipulation der Harnstoffeliminirung wurde auf dieselbe Weise drei Mal wiederholt, um wo möglich einen Theil dieses Körpers, welcher bekanntlich durch basische Bleisalze gefällt wird, zu beseitigen. Die Mutterlauge (Syrupconsistenz) wurde darauf mit 6 Litres Wasser verdünnt und, in der Hoffnung durch fractionirte Fällung die Gallensäuren gewinnen zu können, nach und nach mit Bleiessig gefällt. Der anfangs flockige, gelblich-weiße, reichliche Niederschlag wird pflasterartig und zieht sich zusammen. Die Flüssigkeit wird filtrirt und die Filtrate so oft mit Bleiessig gefällt als noch ein Niederschlag entsteht. Da das letzte Filtrat, wie sich durch eine Ausschüttelungsprobe nachweisen lässt, noch Gallensäuren enthält, so werden die letzten Fällungen unter Zusatz von kohlen-saurem Natron vorge-

nommen. Dennoch gelang es nicht die letzten Spuren der Gallensäurenreaction aus dem Filtrate zu vertreiben. Auf diese Weise wurden acht Fractionen gemacht, wobei die anfangs rothbraune Flüssigkeit allmählich hellgelb wurde. Die erst erwähnte Lösung des krystallisirten Harnstoffs zeigte gleichfalls nach Behandlung mit Chloroform deutlich die Pettenkofersche Reaction, sie wurde deshalb auf dieselbe Weise verarbeitet.

Die die Bleifällung enthaltenden Filter wurden 3—4 mal mit 85%tig. Alcohol ausgekocht (wenigstens  $\frac{1}{2}$  Stunde lang), das Alcoholextract filtrirt. Die gesammten Filtrate wurden durch Destillation vom Alcohol befreit, der Retorteninhalt heiss entleert und eingedampft. Trotzdem bleibt an den Wänden der Retorte eine braune amorphe Masse haften. In der Meinung, dass dieser Rückstand keine Gallensäuren enthalte, wurde derselbe vorläufig nicht berücksichtigt. Der bis zur Trockene eingedampfte Rückstand des Alcoholextractes wurde mit absolutem Alcohol ausgekocht, die Abkochung heiss filtrirt, das Filtrat mit kohlen-saurem Natron gefällt, wobei ein Ueberschuss an letzterem möglichst vermieden wurde. Der entstandene Niederschlag von kohlen-saurem Bleioxyd wurde abfiltrirt, und das das Natronsalz der Gallensäuren enthaltende Filtrat zur Trockene verdampft.

Der Verdampfungsrückstand wurde mit 85%tig. Alcohol ausgekocht, siedend heiss filtrirt und nach dem Erkalten mit Aether versetzt. Es bildete sich bald ein harziger Niederschlag, worauf die Mischung drei Tage lang in der Kälte ( $-3$  bis  $5^{\circ}$  R.) aufbewahrt wurde. Da der Niederschlag durchweg die harzige Beschaffenheit beibehielt, so wurde der Alkoholaether abgezogen, die harzige Masse

ausgetrocknet, der Rückstand wieder in 92%tig. Alcohol aufgelöst und mit Aether gefällt. Die in Alcohol unlöslichen Theile zeigten keine Gallensäurereaction. Der durch Aether bewirkte Niederschlag zeigte nach 24 Stunden dieselbe harzige Beschaffenheit.

Der Alcoholaether wurde abgezogen, die nachgebliebene harzige Masse wiederum getrocknet, in 1½ Litre Wasser aufgelöst und mehrmals mit Bleiessig und kohlen-saurem Natron gefällt (4mal). Die Filtrate auf Gallensäuren geprüft, gaben wohl die violette Färbung, jedoch viel weniger intensiv als bei der ersten Bleifällung.

Die Bleiniederschläge wurden wiederum in 85 % tigem Alcohol mehrmals ausgekocht, die Extracte heiss filtrirt. Nach Entfernung des Alcohols wurde das Extract zur Trockene verdampft, der Rückstand in absolutem Alcohol ausgekocht und heiss filtrirt. Einige Tropfen des Filtrates auf Gallensäuren geprüft, zeigten keine gute Reaction.

Die vordem so deutlich erhaltene *Pettenkofer'sche* Reaction, ferner die täglichen Erfahrungen mit den Chloroformausschüttelungen des normalen Harnes sprechen mit solcher Entschiedenheit für die Anwesenheit der Gallensäuren in normalem Harn, dass der negative Erfolg der *Pettenkofer'schen* Reaction in dem letzten Alcoholextracte nicht als Beweis der Abwesenheit der Gallensäuren angesehen werden konnte. Es lagen zwei Annahmen vor, entweder erlitten die Gallensäuren eine Zersetzung oder sie waren bei den verschiedenen Manipulationen irgendwo verloren worden. Eine, wenigstens theilweise, Zersetzung kann hier, trotz der Beständigkeit der Gallensäuren, wohl angenommen werden. Dieselbe konnte durch den  $\text{NH}_3$ -

gehalt der Flüssigkeit, welcher aus der Zersetzung des Harnstoffes entstanden war und sich durch den Geruch leicht nachweisen liess, und ausserdem noch durch einen möglicherweise zu reichen Zusatz von Natriumcarbonat bei der ersten Bleifällung, bewirkt werden. Um nun die Gallensäuren aufzufinden, wurde folgendermassen mit den aufbewahrten Ueberresten verfahren:

1) Das letztgenannte Filtrat (Alcoholisches - Extract) wurde vom Alcohol befreit, der Rückstand löste sich vollständig in  $\frac{3}{4}$  Litre Wasser. Einige Unzen der Lösung, nach Entfernung des Bleies, mit Chloroform eine halbe Stunde lang ausgeschüttelt, zeigt nur Spuren der Gallensäurenreaction (Schwefelsäure färbte tief braun).

2) Der von den Aetherfällungen des Natronsalzes abgezogene Alcoholaether wurde verdunstet, der Rückstand in  $\frac{3}{4}$  Litre Wasser gelöst und einige Unzen der Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt, die schönste Gallensäurenreaction trat in der Chloroformausschüttelung ein.

3) Ein Theil des im Alcohol unlöslich gebliebenen Bleiniederschlages wurde mit einer Lösung von kohlen-saurem Natron, 4—5 Stunden lang an einer warmen Stelle digerirt. Die Flüssigkeit wurde filtrirt, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Ausschüttelung gab eine sehr schöne *Pettenkofer'sche* Reaction.

Der beim letzteren Verfahren unlösliche Theil wurde mit etwas 85%tigem Alcohol übergossen und an einem warmen Orte aufgestellt. Nach 20 Stunden gaben einige Tropfen des Filtrates eine ziemlich deutliche violette Färbung.

4) Schliesslich war noch nachzusehen, ob in dem

beim Destilliren des Alcoholextractes aus dem Bleiniederschläge nachgebliebenen, an der Retortenwand haftenden Rückstände, Gallensäuren ausfindig gemacht werden konnten. Zu diesem Zwecke wurde etwas 85%tiger Alcohol in die Retorte gegossen, die gut verschlossene Retorte warm gestellt ( $40-50^{\circ}$  C.) und nach mehreren Stunden die Probe mit dem schönsten Erfolge vorgenommen. Diese sub 3 und 4 geschilderten Resultate bin ich geneigt aus modificirenden Einflüssen der Harnstoff-Bleiverbindung auf das glycocholsaure Blei herzuleiten. Somit war das Verlorene wieder aufgefunden. Die nächste Aufgabe war, das Aufgefundene streng zu überwachen und in möglichst reinem Zustande darzustellen. Um Wiederholungen zu vermeiden, werden das Alcoholextract mit *a*, die Aetheralcohollösung mit *b*, die Bleiniederschläge mit *c*, und der Retortenrückstand mit *d* bezeichnet.

a) Die *a*-Lösung zeigte nach mehreren Tagen eine spontan entstandene Trübung. Da das in derselben enthaltene gallensaure Bleioxyd in Wasser sehr schwer löslich ist, so war voranzusetzen, dass die Trübung durch das genannte Bleisalz bewirkt wurde, indessen zeigte die mit der auf einen Filter gesammelten Ausscheidung vorgenommene Pettenkofersche Probe keine violette Färbung, zum Beweise, dass der genannte Niederschlag keine Gallensäuren enthielt. Das Filtrat wurde nun auf  $\frac{1}{8}$  eingedampft, es entsteht ein Niederschlag, der auf dem Filter gesammelt Spuren der Pettenkoferschen Reaction zeigte. Von der Verarbeitung dieses Niederschlages, welcher mit *a* bezeichnet wird, wird später die Rede sein. Das noch in der Lösung enthaltene Bleisalz wurde nun durch kohlen-saures Natron in Natronsalz übergeführt. Das überschüs-

sige kohlen-saure Natron durch Essigsäure zersetzt, das unlösliche kohlen-saure Blei abfiltrirt, der Filter mehrere Mal ausgewaschen und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Filtrerrückstand enthält keine Gallensäuren, wie die mit einem alcoholischen Aufguss desselben vorgenommene Probe bewies. Der trockene Rückstand des Filtrates wurde nun in 95%tigem Alcohol gelöst, die Lösung gab keine Pettenkofersche Reaction. Das in Alcohol Unlösliche liess keine Gallensäuren isoliren.

b. Die in der *b*-Lösung enthaltenen Gallensäuren sind als in Wasser leicht lösliches Natronsalz vorhanden; um sie zu isoliren, wurden dieselben mit Bleiessig gefällt. Der Zusatz des Fällungsmittels wurde, da eine fractionirte Fällung keine befriedigenden Resultate gab, so lange vorgenommen, bis sich kein Niederschlag mehr bildete, dann wurde der letztere mittelst kohlen-sauren Natrons zersetzt und die Fällung mit Bleiessig wiederholt. Der auf dem Filter zuletzt erhaltene Bleiniederschlag wurde mit 95%tigem Alcohol mehrere Mal ausgekocht, die alcoholischen Extracte heiss filtrirt (*e*). Beim Erkalten trübten sich die Filtrate. Ich wurde hiebei von der Hoffnung geleitet, dass bei diesen wiederholten Fällungen und Zersetzungen des Bleisalzes allmählig der Harnstoff gänzlich ausgeschlossen werden könne. Die in Alcohol, trotz des wiederholten Auskochens unlöslich gebliebenen soeben erwähnten Bleiniederschläge enthielten noch Gallensäuren, deshalb wurden sie mit Natriumcarbonat warm digerirt und so in das lösliche Natronsalz übergeführt (*b'*).

Die von den Bleifällungen abfiltrirte *b*-Lösung enthielt noch Gallensäuren, wie dies eine mit Chloroform ausgeschüttelte Probe, die die schönste Gallensäurenrea-

ction zeigte, beweist. Bleiessig war nicht im Ueberschusse angewendet, denn kohlen-saures Natron bewirkte keine Fällung. Die Lösung wurde nun eingedampft, dabei entstand ein Sediment, welches, auf dem Filter aus schwedischem Filtrirpapier gesammelt, mit concentrirter Schwefelsäure und Zucker sich violet-roth färbte. Das Filtrat zeigte noch die *Pettenkofer'sche* Reaction, das darin enthaltene gallensaure Bleioxyd wurde durch kohlen-saures Natron in Natronsalz übergeführt, das Bleicarbonat abfiltrirt und das überschüssige kohlen-saure Natron durch Essigsäure neutralisirt (a'). Das auf dem Filter gesammelte Bleicarbonat zeigte keine Gallensäurenreaction.

Die beim Eindampfen der *a*- und *b*-Lösung entstandenen Niederschläge ( $\alpha$  und  $\beta$ ) wurden, wie schon erwähnt, auf Filtern gesammelt, gewaschen, und da sie die *Pettenkofer'sche* Reaction zeigten, so wurden sie mit 95-procentigem Alcohol kochend extrahirt, das Alcohol-extract filtrirt, im Filtrate das Natronsalz hergestellt und dieses sammt den anderen (a' und b') das Natronsalz enthaltenden Lösungen verdampft (B). Die bei diesen letzten Operationen in Alcohol unlöslich gebliebenen Theile, auf Gallensäuren geprüft, zeigten keine *Pettenkofer'sche* Reaction. Das Alcohol-extract der Bleiniederschläge (e) trübte sich, wie schon oben erwähnt wurde, beim Erkalten, die abfiltrirte und mit Alcohol gewaschene Trübung enthielt keine Gallensäuren. Das Filtrat wurde auf  $\frac{1}{4}$  eingedampft, und in der Voraussetzung, dass das gallensaure Bleioxyd leichter und vollständiger durch Aether gefällt werde als das Natronsalz, wurde das eingedampfte Filtrat mit Aether versetzt. Es entstand aber keine Trübung, das klare Filtrat wurde nun durch Destillation vom

Alcohol-aether befreit, wobei der Retorteninhalt sich trübte, ohne jedoch gallensaure Salze auszuscheiden. Das eingedampfte Filtrat wurde nun in der üblichen Weise in das Natronsalz übergeführt, und zur Trockene verdampft (C). Der das kohlen-saure Bleioxyd enthaltende Filter zeigte keine Gallensäurenreaction.

c. Die Bleiniederschläge (c) wurden mit einer Lösung von kohlen-saurem Natron warm digerirt (circa 20 Stunden lang), das Bleicarbonat abfiltrirt, das Filtrat war braunschwarz gefärbt. Der Filter wurde so lange mit Wasser ausgewaschen, bis ein Alcohol-extract desselben keine Gallensäurenreaction zeigte. Da die Filtrate viele Farbstoffe enthielten, so wäre die Entfernung der letzteren sehr wünschenswerth gewesen. Dieses liess sich jedoch nicht ausführen, da etwas von der Lösung mit Thierkohle entfärbt, eine weniger intensive violetrothe Färbung als das unentfärbte Filtrat zeigte, was eine Absorption der Gallensäuren neben den Farbstoffen durch die Thierkohle beweist. Die Entfärbung mit anderen Mitteln war auch nicht rathsam, da durch dieselben die Gallensäuren zersetzt werden können. Das unentfärbte Filtrat, welches stark alkalisch reagirte und einen intensiven  $\text{NH}_3$ -geruch entwickelte, wurde nun mit Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction angesäuert und zur Trockene verdampft (A).

d. Der Retortenrückstand *d* wurde mit 95-procentigem Alcohol übergossen und dieser Aufguss bei einer Temperatur von 40—60° C. aufgestellt. Dieses abgossene Extract zeigte eine sehr schöne und intensive Gallensäurenreaction. Ein neuer Aufguss des Retortenrückstandes unter denselben Verhältnissen zeigte keine *Petten-*

*kofer'sche* Reaction, ebenso die ungelöst gebliebenen Theile. Das in der Zimmertemperatur aufgestellte gallensaures Bleioxyd enthaltende Extract trübte sich am anderen Tage und gleichzeitig bildete sich an den Wänden des Gefässes eine krystallinische Ausscheidung, die jedoch auf Gallensäuren geprüft, keine *Pettenkofer'sche* Reaction zeigte. Vom Extract wurde nun der grösste Theil des Alcohols abdestillirt ( $\frac{9}{10}$ ), der Rückstand ( $\frac{1}{10}$  des ursprünglichen Volumens) heiss aus der Retorte ausgegossen und einer Temperatur von  $-4$  bis  $-8^{\circ}$  R. ausgesetzt. Nach  $2 \times 24$  Stunden bildete sich ein theils krystallinischer, theils amorpher Niederschlag, der abfiltrirt keine deutliche *Pettenkofer'sche* Reaction zeigte. Das Filtrat (D) wurde nun mit kohlensaurem Natron versetzt, um das Bleisalz in Natronsalz überzuführen und der entstandene Niederschlag von Bleicarbonat, welcher keine Gallensäuren enthält, abfiltrirt.

Es sind demnach zur weiteren Verarbeitung folgende Extracte nachgeblieben:

- A. Das aus den Bleiniederschlägen (c) erhaltene Natronsalzextract.
- B. Das Alcoholextract des Natronsalzes aus 1) dem Alcoholextracte des Bleisalzes, welches sich beim Eindampfen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Lösung ausgeschieden hatte ( $\alpha$  und  $\beta$ ); 2) dem Filtrate der mit Natriumcarbonat digerirten in Alcohol unlöslichen Theile der Bleifällung der  $\beta$ -Lösung ( $\beta'$ ) und 3) aus dem Natronsalze der durch Bleiessig nicht gefällten  $\beta$ -Lösung ( $\alpha'$ ).
- C. Das Extract des Natronsalzes der Bleifällung der  $\beta$ -Lösung (e).

D. Das Alcoholextract des Retortenrückstandes (d).

Die gesammten Natronsalzextracte wurden nun jedes für sich zur Trockene verdampft, der trockene Rückstand in möglichst wenig Alcohol kalt gelöst, das Unge löste abfiltrirt. Die auf den Filtern gesammelten unlöslichen Theile mit Alcohol übergossen und mehrere Stunden warm aufgestellt, lösten sich grösstentheils auf, und ein Tropfen der Lösung zeigte eine sehr deutliche Reaction, die jedoch längere Zeit auf sich warten liess. Da diese Lösungen noch eine deutliche Gallensäurenreaction zeigten, so wurden sie sammt den Filtraten mit Aether versetzt, es entstand ein Niederschlag, der kalt aufgestellt ( $-17^{\circ}$  R.) eine krystallinische Beschaffenheit annahm. Die Prüfung auf Gallensäuren zeigte jedoch, dass dieser krystallinische Niederschlag hauptsächlich aus essigsäurem Natron bestand und von den gewünschten Säuren gar nichts enthielt.

Durch diesen neuen Misserfolg noch nicht entmutigt, da mir das Filtrat noch deutlich die *Pettenkofer'sche* Reaction zeigte, blieb noch übrig nachzuforschen, auf welche Weise wenigstens ein Theil der Gallensäuren in möglichst reinem Zustande zu erhalten wäre. Die mit so glänzenden Erfolgen gekrönten Bemühungen von *Hoppe*, die Gallensäuren aus icterischem Harne darzustellen, veranlassten mich die von ihm benutzte Methode anzuwenden und auf diese Weise wenigstens reine Cholidinsäure zu erhalten. Der Einwand, dass so nur sehr geringe Mengen der genannten Säure sich darstellen lassen, kann keinen Platz finden, da hier eine quantitative Bestimmung werthlos erscheint, indem die im Harne enthaltenen Gallensäuren sich wahrscheinlich schon zum Theil zersetzt

hatten. Es wurde nun die Aetheralcohollösung zur Trockene verdampft und versuchsweise wurde ein geringer Theil des Rückstandes in etwas Wasser und einigen Tropfen einer Lösung von kohlen saurem Natron gelöst, mit etwas verdünnter Schwefelsäure (1 : 7)  $\frac{1}{4}$  Stunde lang gekocht, es entstand eine Trübung und nach mehreren Stunden in der Kälte sammelte sich am Boden des Gefässes ein dunkelgraubrauner, theils krystallinischer, theils amorpher Niederschlag. Die Prüfung mit dem Mikroskop, ob in diesem Niederschlage Cholidinsäurekrystalle enthalten seien, zeigte nur Andeutungen von Krystallformen, welche jedoch so verkümmert und mit Farbstoffen impraegnirt waren, dass sie zur weiteren Untersuchung nicht verwendet werden konnten. Die kleine auf dem Objectglas befindliche Menge der Säuren zeigte mit den *Pettenkofer'schen* Reagentien geprüft eine deutliche violette Färbung.

Es wurden also noch diesmal unsere Erwartungen über den Haufen geworfen. Ehe man diese Methode benutzen konnte, mussten vorher Reinigungsversuche angestellt werden. Die Aufgabe war um so schwieriger zu lösen, als, wie schon erwähnt, die Thierkohle aus concentrirteren Lösungen Gallensäuren mitabsorbirt, und die anderen Methoden, die auf Fällung der Gallensäuren mit starken Basen und Zersetzung der gebildeten Verbindungen durch Kochen mit mineralischen Säuren, wobei zugleich die Cholidinsäure gebildet wird, beruhen, die ganze Arbeit zu vernichten drohten. Die Gallensäuren können nämlich durch Einwirkung starker Basen sehr leicht zersetzt werden und an diesem Umstande müsste auch der Versuch des positiven Nachweises scheitern. Ich wandte mich daher zu der Ausschüttelungsmethode, die, wie schon

früher angegeben, bei consequenter Anwendung derselben, im Ganzen ziemlich befriedigende Resultate giebt. Ich löste nun den Aetherniederschlag in Wasser auf, ebenso den Verdampfungsrückstand der ätheralcoholischen Lösung, welcher in reinem Wasser unlöslich war und erst nach Zusatz von etwas kohlen saurem Natron sich vollständig löste. Diese Lösungen wurden, nach vorheriger Ansäuerung mit Essigsäure, mit Chloroform ausgeschüttelt. Jede Ausschüttelung dauerte  $\frac{1}{2}$  Stunde und wurde so lange wiederholt, bis einige Tropfen des letzten Chloroformauszuges keine *Pettenkofer'sche* Reaction zeigten. Es wurden auf diese Weise circa 10 Ausschüttelungen gemacht, das Chloroform dann abdestillirt, der Retorteninhalte zur Trockene eingedampft und der trockene harzartige, hellgelblich braune Rückstand in 30 Cc. 95procentigen Alcohols vollständig wieder gelöst. Diese alcoholische Lösung enthielt ausser den Gallensäuren noch Farbstoffe, Natronsalze und Zersetzungsproducte. Die Aufgabe der Isolirung war immer noch nicht gelöst. Ich wandte mich wiederum zu dem Versuche, die gelösten Gallensäuren durch Aether zu fällen, in der Hoffnung, dass jetzt, wo die Lösung viel reiner war, dies mir besser gelingen werde. Vordem machte ich jedoch einen Controllversuch, um zu sehen, unter welchen Verhältnissen die Aetherfällung am besten gelinge.

0,5 Gramm glycocholsauren Natrons in 15 Cc. 95procentigen Alcohols gelöst, wurden mit der vierfachen Menge Aether versetzt, die Lösung trübte sich milchig und nach 24stündigem Stehen bei einer Temperatur von  $-17^{\circ}$  R. fand ich an den Wänden des Gefässes sehr schöne Krystalle. Der klare Aetheralcohol wurde abgossen,

die Krystalle gesammelt und gewogen ergaben 0,4591 Gramm glycocholsauren Natrons es blieb also in der Lösung 0,0409 Gramm. Die ausgeschiedenen Krystalle (0,4591) wurden nun in 30 Cc. Alcohol (95 %) gelöst und mit der gleichen Menge Aether gefällt. Nach 24 Stunden schieden sich unter denselben Verhältnissen nur 0,1311 aus. Endlich löste ich die 0,1311 Gramm glycocholsauren Natron in 10 Cc. Alcohol und fällte die Lösung mit der 6fachen Menge Aether. Nach 24 Stunden fand ich fast die ganze Menge krystallinisch ausgeschieden.

Aus diesem Versuche geht deutlich hervor, dass in der That die Menge des zur Fällung benutzten Aethers von grossem Einflusse auf die Quantität des ausgeschiedenen Salzes ist und dass es am günstigsten ist, verhältnissmässig grosse Quantitäten von Aether zur Fällung zu benutzen. Ich setzte daher die 6fache Menge Aether zu der alcoholischen Lösung des Chloroformrückstandes und bekam an den Gefässwänden nach 24 Stunden bei einer Temperatur von  $-12^{\circ}$  R. einen reichlichen krystallinischen Beschlag, welcher, auf einem Filter gesammelt und mikroskopisch untersucht, aus mit Farbstoffen impraegnierten krystallinischen Nadeln und farblosen Säulen zum Theil aus essigsäurem Natron, bestand. Etwas von diesem Niederschlage auf Gallensäuren geprüft, gab nach einigen Minuten eine prachtvolle violetrothe Färbung. Eine viel schönere Reaction war jedoch in der Aetheralcoholischen Lösung, von welcher nur wenige Tropfen verdunstet wurden.

Um auch diesen Theil der Gallensäuren verwerthen zu können, versuchte ich durch Darstellung von Cholidinsäurekrystalle die in Aetheralcohol gelösten Gallensäuren

zu isoliren. Ich löste daher den Verdunstungsrückstand dieser Lösung in etwas Wasser auf (mit Zusatz von kohlen-saurem Natron). Einige Cubikcentimeter dieser wurden mit verdünnter  $\text{SO}_4\text{H}_2$  gekocht, wobei sich ein Niederschlag bildete, welcher nur zum Theil krystallinisch war, die Krystalle waren aber verkümmert und durch anhängende Farbstoffpartikelchen in ihrer Ausbildung gehemmt. Der auf einem Filter gesammelte Niederschlag wurde nach dem Trocknen bräunlich harzartig, erwies sich als in Alcohol löslich und gab eine sehr schöne *Pettenkofer'sche* Reaction. Aller Wahrscheinlichkeit nach besteht diese Masse aus Cholidinsäure mit beigemengten Farbstoffen.

Ich versuchte nun auf eine andere Weise Krystalle zu erhalten und zwar nach Angabe von *Gmelin* durch 36 Stunden langes Kochen der Lösung mit concentrirter Kalilauge, die Flüssigkeit trübte sich und an den Gefässwänden schieden sich Krystalle von cholsaurem Kali aus. Die Krystalle sammt dem beim langem Kochen in dem Glasgefässe gebildeten kieselsaurem Kali, wurden vorsichtig auf einem kleinen Filter gesammelt, in Wasser gelöst und aus der Lösung durch  $\text{ClH}$  gefällt. Die Fällung gelang mir jedoch nicht, was wahrscheinlich der geringen Menge der in der Lösung enthaltenen Gallensäuren zuzuschreiben ist. Die wässrige Lösung brauste nach Zugabe von  $\text{ClH}$  auf, nahm eine opalisirende grünlich gelbe Färbung an, von einem harzigen Niederschlage konnte man jedoch nichts wahrnehmen. Beim Eindampfen dieser Flüssigkeit bildete sich ein anfangs flockiger Niederschlag, der später krystallinisch wurde. Die Krystalle bestanden hauptsächlich aus Kali- und Natronsalzen, welchen auch Gallensäuren (Cholsäure) beigemengt waren, wie die *Petten-*

*kofer'sche* Reaction beweist. Die P. R. wurde hier in der Weise ausgeführt, dass die Krystalle auf einem aus schwedischem Filtrirpapier ausgeschnittenen Filter gesammelt wurden, worauf der Filter mit Wasser begossen, mit Zuckerswasser benetzt, getrocknet und mit concentrirter Schwefelsäure befeuchtet wurde. Eine deutliche violetrothe Färbung verbreitete sich bald in dem Filter. Bekanntlich färbt sich das gewöhnliche Papier wegen der in demselben enthaltenen Harze, schon auf Zusatz von  $\text{SO}_4 \text{H}_2$  violetroth, das schwedische Filterpapier, wie ich mich selbst überzeugen konnte, zeigt diese Färbung nicht. Das Auftreten der violetrothen Farbe in dem Filter konnte nur von der Anwesenheit der Gallensäuren herrühren. Ferner muss ich noch bemerken, dass in der dunkelgefärbten Mutterlauge, aus welcher die Cholsäure gefällt werden sollte, die P. R. ausblieb.

Da mir eine quantitative Bestimmung sehr wünschenswerth war, eine directe Wägung aber unter solchen Umständen sich nicht ausführen liess, so versuchte ich in dem Polarisationsapparate eine solche Bestimmung zu machen. Ich entfärbte die mir noch nachbleibende wässrige Lösung (30 Cc.) mit Thierkohle (10 Grm.) und machte die Bestimmung bei der Natronflamme. Leider war die möglichst entfärbte Lösung nicht vollkommen klar, so dass ein grosser Theil des Lichtes absorbirt wurde, ich konnte nur durch diesen Versuch mich qualitativ überzeugen, dass die Lösung rechts drehend war.

Da mich also alle bisherigen Verfahren der Reindarstellung der Gallensäuren im Stiche liessen, so entschloss ich mich noch einen letzten Versuch zu machen, um dieselben wenigstens theilweise krystallinisch zu erhalten. Ich ver-

dampfte desshalb die zuletzt erwähnte, entfärbte wässrige Lösung im Dampfbade, löste den Rückstand in möglichst wenig 92-procentigem Alcohol und liess die Lösung ganz allmählig verdunsten. Zu demselben Zweck löste ich auch den bei der letzten Fällung mit Aether erhaltenen Niederschlag, welcher eine sehr schöne P. Reaction zeigte, in etwas Wasser auf. Die Lösung war stark braun gefärbt, so dass noch viel Farbstoffe in derselben enthalten waren. Nach Entfärbung derselben mit 20 Grm. Thierkohle zeigte sich aber, dass in der entfärbten Flüssigkeit die Gallensäurenreaction ausblieb. Alle Gallensäuren mussten also von der Thierkohle absorbirt worden sein. Ich übergoss daher die abfiltrirte Thierkohle mit 92-procentigem Alcohol und nach 4—5stündigem Stehen bei einer Temperatur von circa  $40^\circ \text{C}$ . filtrirte ich den Alcohol von der Thierkohle ab. Eine prachtvolle violetrothe Färbung in dem Verdunstungsrückstande weniger Tropfen dieses Extractes überzeugte mich, dass in der That die Gallensäuren von der Thierkohle absorbirt waren. Das ganz klare alcoholische Extract wurde nun im Dampfbade verdunstet, der Rückstand in etwas 92-procentigem Alcohol gelöst und die Lösung der allmählichen Verdunstung ausgesetzt. Vom Alcohol wurde ein Theil des Verdampfungsrückstandes nicht gelöst, derselbe zeigte jedoch eine sehr deutliche P. R., es musste demnach in demselben Dyslisin enthalten sein. Aus der, der allmählichen Verdunstung ausgesetzten alcoholischen Lösung haben sich circa 0,2 Grm. krystallinisch ausgeschieden, ein anderer Theil des an den Wänden haftenden Rückstandes bestand aus mehr oder weniger grossen harzigen Tropfen.

Der Freundlichkeit des Herrn Prof. *Dragendorff* verdanke ich die Erlaubniss, die Ergebnisse seiner Untersuchungen, die unabhängig von der soeben beschriebenen Arbeit geführt wurden, hier zu publiciren und die den Schluss, die Glycocholsäure sei ein constanter Harnbestandtheil, vollkommen rechtfertigen.

100 Litre Harn von verschiedenen, aber durchaus gesunden Individuen wurden portionsweise verdunstet und der Rückstand in derselben Weise wie bei meinen Untersuchungen mit 85-procentigem und dann mit absolutem Alcohol extrahirt. Der Verdampfungsrückstand des letzten Extractes wurde dann in Wasser gelöst und mit neutralem Bleiacetat gefällt, die Niederschläge mit Alcohol ausgekocht, diese Alcoholextracte, unter Vermeidung des Ueberschusses, mit Soda versetzt und das in der Alcohollösung enthaltene unreine glycocholsaure Natron ausgetrocknet. Dieser Rückstand wurde nun in 96 procentigem Alcohol gelöst und mit soviel Aether versetzt, bis eine bleibende Trübung entstand, dann mehrere Tage lang auf Eis gestellt. Der sich ausscheidende Niederschlag war amorph. Er gab die Gallensäurenreaction sehr elegant, aber auch in der ätheralcoholischen Lösung war noch eine sehr reine Reaction zu erlangen. Sie wurde deshalb nochmals mit Aether versetzt, kalt gestellt und der aufs Neue gewonnene Niederschlag dem ersterhaltenen beigemischt. Diese Niederschläge wurden wiederum und zwar diesmal in 80-procentigem Alcohol gelöst, die Aetherfällung wiederholt. Der Theil des Niederschlages, welcher sogleich fiel, war amorph; nach mehrtägigem Stehen über Eis schieden sich aber noch weitere Antheile des Natronsalzes aus, die, als aus mikroskopisch kleinen Krystallnadeln bestehend er-

kannt wurden. Die Gesammtmenge des glycocholsauren Natrons, die *Dragendorff* so gewinnen konnte, betrug 0,51 Grm. Von dem Natrongehalt des Niederschlages hat sich *Dragendorff*, nachdem der Niederschlag mehrmals durch Lösen in absolutem Alcohol und Abdunsten der filtrirten Lösung (um etwa beigemischte Soda fortzuschaffen) gereinigt war, durch einen besondern Versuch überzeugt. Die Stickstoffbestimmung des so erhaltenen Salzes, von welcher noch unten die Rede sein wird, entspricht vollkommen der Zusammensetzung der Glycocholsäure. Ferner versuchte Prof. *Dragendorff* die Gesammtmenge der in 100 Litres vorhanden gewesenen Gallensäuren zu bestimmen. Nach dem soeben Gesagten wurde durch die Fällung mit neutralem Bleiacetat 0,51 Grm. glycocholsaures Natron erhalten. Es geht aber schon aus dem früher erwähnten Versuche mit 1500 Cc. Harn hervor, dass diese Fällung eine unvollständige ist. Wenn nun angenommen wird, dass das durch basisches Bleiacetat im Filtrate vom ersten Bleiniederschlage entstehende Präcipitat den Rest der Gallensäuren einschliessen müsse, so standen doch der Ausführung dieses Experimentes insofern Schwierigkeiten im Wege, als das Filtrat grosse Mengen von Harnstoff enthielt, welcher letztere gleichfalls vom basischen Bleiacetat niedergeschlagen wird. Desswegen wurde, nach Entfernung des überschüssigen Bleies durch Schwefelwasserstoff, durch mehrmals wiederholte Krystallisationen ein Theil des Harnstoffes (circa 800 Grm.) fortgeschafft. Die Mutterlauge wurde dann, nachdem sie durch Ammoniak neutralisirt worden, einer fractionirten Fällung mit Bleiessig unterworfen. Im Ganzen wurden drei Niederschläge erzeugt, aber auch hier in jedem derselben waren neben

grossen Harnstoffquantitäten Gallensäuren anzutreffen, und auch im Filtrate von der letzten Fällung war noch Gallensäure nachweisbar, wenn auch allerdings in geringer Menge. Die vereinigten Bleiniederschläge wurden nun in siedendem Alcohol soweit möglich gelöst, heiss filtrirt, die Filtrate mit kohlensaurem Natron zerlegt. Die so gewonnene Lösung von gallensaurem Natron wurde ausgetrocknet und ihr Rückstand nochmals in 85-procentigen Alcohol aufgenommen. Aether fällte aus dieser Lösung eine tiefbraune dickflüssige Masse, die nach dem Abwaschen mit Aetheralcohol in Wasser gelöst, mit  $\text{SO}_4\text{H}_2$  versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt wurde. Die Rückstände der Chloroformausschüttelungen betragen 0,063 Grm. Glycocholsäure, was mit dem erst gewonnenen 0,51 Grm. glycocholsaurem Natron = 0,477 Grm. Glycocholsäure, in Summa 0,54 Grm. Glycocholsäure ausmachte. Es wurde schon oben erwähnt, dass im Filtrate vom dritten Bleiniederschlage etwas Gallensäure zurückgeblieben sei, ebenso blieb, bei der Fällung des unreinen glycocholsauren Natrons aus Weingeistlösung mittelst Aether, im Aetheralcohol ein kleiner Antheil des Natronsalzes gelöst. Diese Mengen schätzt *Dragendorff* auf circa 0,2 Grm. Glycocholsäure, wonach in 100 Litres normalen Menschenharnes circa 0,7—0,8 Grm. Gallensäuren angenommen werden.

Da es mir also auf diese Weise einen directen, durch die vollständige Elementaranalyse bestätigten, Nachweis der Gallensäuren im normalen Harn zu liefern nicht gelang, so soll im Folgenden auf dem Wege der Ausschliessung versucht werden, zu beweisen, dass die von mir durch

die oben beschriebenen Manipulationen erhaltenen Substanzen zum grössten Theil aus Gallensäuren bestehen.

Aus den Untersuchungen von *Pettenkofer*<sup>65)</sup>, *Neukomm*<sup>66)</sup>, *M. S. Schultze*<sup>67)</sup>, *Bencke*<sup>68)</sup> und *E. Bischoff*<sup>69)</sup> geht hervor, dass ausser den Gallensäuren noch viele andere Substanzen eine den Gallensäuren ähnliche Reaction geben. So sind es namentlich Eiweissstoffe, Oelsäure, harzige Substanzen, Fette, Carbolsäure, welche die genannte Reaction geben. Wir können sogleich eine grosse Anzahl von diesen Stoffen ausschliessen, da dieselben entweder im Harn nicht vorkommen, oder bei den verschiedenen Manipulationen in die Endproducte der Untersuchung nicht übergehen können, so die Harze, Fette und Eiweissstoffe. Auch ist es nicht wahrscheinlich, dass die Phenylsäure, welche nach den Untersuchungen von *Buliginiski*<sup>70)</sup>, die in letzterer Zeit von *Hoppe*<sup>71)</sup> bestätigt wurden, als Zersetzungproduct eines noch unbekanntes Harnbestandtheils (nach *Hoppe* wahrscheinlich des Indican) auftritt, der in Alcohol löslich, durch Bleizucker und Bleiessig nicht fällbar ist, die violette Farbe mit Zucker und Schwefelsäure verursacht. Ausserdem habe ich einen directen Nachweis der Carbolsäure versucht, welcher mir, trotz der Empfindlichkeit der angewendeten Reaction, negativ ausgefallen ist und insofern auch beweist, dass die die Carbolsäure

65) *Annalen der Chemie und Pharmacie*. 1844. Bd. 52.

66) *Vierteljahrsschrift der naturf. Gesellsch. in Zürich*. 1860.

67) *Annalen der Chemie u. Pharmacie*. 1849. Bd. 71.

68) *Studien über das Vorkommen, Verbreitung und die Function von Gallenbestandtheilen in den thierischen und pflanzlichen Organismen*. Giessen 1862.

69) *Zeitschrift für rat. Medicin*. Bd. XXI.

70) *Vogel u. Neubauer*, *Anleitung zur Harnanalyse*. 1872.

71) *Centralblatt der med. Wissensch.* № 47. 1872.

liefernde Substanz des Harnes hier nicht vorliegt. Eine Lösung des Verdunstungsrückstandes der letzten Aetherfällung wurde mit  $\text{SO}_4\text{H}_2$  versetzt und destillirt. Falls Carbolsäure darin vorhanden gewesen wäre, so hätte sie in das Destillat übergehen müssen und dort mit Bromwasser eine Trübung zeigen. Durch diese Reaction lässt sich die Carbolsäure bei einer Verdünnung von 1 : 40000 erkennen. In dem mit Bromwasser versetzten Destillate war keine Spur einer Trübung zu bemerken, so dass die Möglichkeit, dass die Reaction mit  $\text{SO}_4\text{H}_2$  und Zucker durch die Carbolsäure bedingt war, vollständig in Abrede gestellt werden muss. Zu demselben Schlusse gelangte auch Prof. *Dragendorff*. Wenn schon aus diesen Worten sich die Anwesenheit der Gallensäuren im normalen Harn ergibt, so wird diese Vermuthung zur Gewissheit erhoben durch folgendes chemische Verhalten der auf Zusatz von Schwefelsäure und Zucker sich violettroth färbenden Substanz :

- 1) Die Substanz ist fällbar durch Bleiessig, das Bleisalz ist in Wasser schwer löslich, dagegen löst es sich in siedendem Alcohol auf, aus welcher Lösung es in der Kälte zum Theil ausgeschieden wird.
- 2) Das Natronsalz der genannten Substanz ist in Wasser und Alcohol löslich. Diese Lösungen drehen die Polarisationsebene nach rechts.
- 3) Durch Kochen des Natronsalzes mit Schwefelsäure trübt sich die vordem klare Lösung und es bildet sich ein theils krystallinischer, theils amorpher Niederschlag, welcher die P. R. zeigt und in Alcohol löslich ist (Choloidinsäure).

- 4) Durch Kochen mit concentrirter Kalilauge scheidet sich aus der Lösung ein krystallinischer Niederschlag aus (cholsaures Kali), welcher in Wasser löslich ist, durch Salzsäure aber aus der Lösung ausgeschieden wird.
- 5) Die Substanz ist aus wässerigen Lösungen durch Chloroform auszuschütteln.

Dieses chemische Verhalten charakterisirt vollkommen die Gallensäuren. Die Bedenken, die man noch haben könnte, bei der Erklärung dieser Substanzen für gallensaure Salze, wären 1) der Umstand, dass der Bleiniederschlag trotz des wiederholten Auskochens mit Alcohol noch viel gallensaures Blei enthielt, was der Löslichkeit des genannten Salzes in siedendem Alcohol widerspricht, und 2) die negativen Erfolge der Aetherfällungen des das Natronsalz enthaltenden Alcoholextractes. Allein dieses Verhalten lässt sich wohl, wenn man die Verhältnisse, unter denen sich die gallensauren Salze in den Alcoholextracten befanden, berücksichtigt, erklären. Die Extracte enthielten ausser den gallensauren Salzen eine Masse anderer Substanzen, die offenbar die Löslichkeitsverhältnisse des Bleisalzes beeinflussten. Namentlich muss der Anwesenheit des Harnstoffs dieser Einfluss zugeschrieben werden, wie sich aus den folgenden Controllversuchen ergibt: 0,3 Gramm glycocholsauren Natrons und 2 Gramm Harnstoff in circa 20 Cc. 90procentigem Alcohol gelöst, wurden mit der achtfachen Menge Aether versetzt. Es entstand eine Trübung. Die Lösung wurde auf Eis gestellt, und nach 24 Stunden liess sich nichts von einem festen Niederschlage wahrnehmen. In der Flüssigkeit bemerkt man zwei Schichten, von welchen die untere kleinere gelblich gefärbt erscheint, und offenbar eine concentrirte

Lösung von Harnstoff mit glycocholsaurem Natron war. Die obere klare Schicht enthält noch glycocholsaures Natron und einen Theil des Harnstoffes. Sie wurde deshalb von der unteren abgegossen, verdampft, der krystallinische Rückstand in Wasser aufgenommen, und diese Lösung circa eine Stunde lang mit verdünnter  $\text{SO}_4 \text{H}_2$  gekocht. Es entstand eine Trübung (Dyslisin) welche auf einen tarirten Filter gesammelt und gewogen 0,0517 Grm. Dyslisin ergab.

Eine Lösung von 0,3 Grm. glycocholsaurem Natron in 20 Cc. Alcohol wurde mit einer Unze concentrirten essigsauren Ammons vermischt und diese Mischung so lange mit Aether versetzt, bis eine Trübung entstand. Die Mischung wurde auf Eis gestellt, und auch hier nach 24 Stunden liess sich kein Niederschlag wahrnehmen. Von der in zwei Schichten getrennten Flüssigkeit wurde die obere aus Aetheralcohol bestehende verdampft, wobei sich ein Essigsäuregeruch entwickelte. Der gewogene Rückstand 0,1622 Grm. enthält keine reine Glycocholsäure, indem dieselbe durch Essigsäure in Cholidinsäure (löslich in Alcohol, unlöslich in Wasser) übergeführt wurde. Aus diesen Versuchen ergibt sich also, dass in der That die Anwesenheit des Harnstoffes oder der Ammoniaksalze die Löslichkeitsverhältnisse der gallensauren Salze beträchtlich modificirt.

Aus diesem Verhalten ist es wohl ersichtlich, dass die im normalen Harn constant vorkommende mit Schwefelsäure und Zucker sich violetroth färbende Substanz, eine der Gallensäuren ist. Es fragt sich nun weiter, in welcher Form erscheinen die Gallensäuren im Harne, ob sie als Glyco- und Taurocholsäure oder ihren nächsten

Zersetzungsproducten in demselben enthalten sind. Schon aus dem Verhalten gegen verdünnte Schwefelsäure und concentrirte Kalilauge lässt sich annehmen, dass die Glycocholsäure im Harne vorhanden ist. Diese Annahme wird auch vollkommen bewiesen durch die oben erwähnten Untersuchungen von Prof. *Dragendorff*, welcher durch Bearbeitung von 100 Litres Harn nach der Frerichs-Städelerschen Methode, 0,51 Grm. reines krystallinisches glycocholsaures Natron erhielt, welches er in das Bleisalz überführte. 0,1 Grm. des aus alkoholischer Lösung krystallinisch ausgeschiedenen Bleisalzes, bei  $125^{\circ}$  getrocknet und nach der Einwirkung von Salpetersäure, längere Zeit im Porcellantiegel dem Gebläsefeuer ausgesetzt, gab 0,0202 Grm. Bleioxyd. Die Rechnung hätte 0,0197 Grm. verlangt, was genügend stimmt. Eine Stickstoffbestimmung desselben Salzes, welche leider nur mit 0,25 Grm. der Substanz ausgeführt werden konnte, ergab 0,0986 Grm Platinsalmiak = 0,00617 Grm. Stickstoff = 2,47%, während die Rechnung 2,45% für glycocholsaures Bleioxyd verlangt. Es unterliegt demnach keinem Zweifel, dass im normalen Harne Glycocholsäure enthalten ist.

Was die Taurocholsäure anbetrifft, so habe ich zwei darauf bezügliche Versuche angestellt, den einen mit icterischem Harne, den anderen mit normalem Harne. Der icterische Harn stammte von einem 16jährigen Handwerksburschen, welcher mit Unterleibsbeschwerden erkrankte, wonach sich bald ein schwaches gelbliches Colorit der Haut und der Sclera einstellte. Ich bekam von diesem Kranken  $3\frac{1}{2}$  Litre dunkelgelbrothen Harnes, dessen Schaum deutlich gelb gefärbt war, und welcher die Gmelinsche Gallenfarbstoffreaction deutlich zeigte. Ich verdampfte den

entfärbten Harn zur Syrupconsistenz, extrahirte den Rückstand mit 85%tigem Alcohol, destillirte den Alcohol ab, extrahirte den Rückstand mit absolutem Alcohol, befreite dieses Extract vom Alcohol und löste den Verdampfungsrückstand in 1 Litre Wasser auf. Darauf wurden die Gallensäuren als Bleisalz gefällt, die Bleifällung mit kochendem Alcohol extrahirt, das Extract zur Trockene verdampft und in Alcohol gelöst. Das Bleisalz wurde nun ins Natronsaltz übergeführt, die Lösung zur Trockene verdampft, der Rückstand in Alcohol gelöst und mit Aether gefällt. Es entstand eine Trübung und nach 3tägigem Stehen bei einer Temperatur von  $-5$  bis  $-8^{\circ}$  R. zeigte sich an den Wänden des Gefässes ein undeutlich krystallinischer Niederschlag, welcher auf einem Filter gesammelt nur eine sehr schwache P. R. zeigte. Das Filtrat dagegen zeigte eine deutliche und ziemlich reine Reaction. Ich entschloss mich daher nur die aetheralcoholische Lösung zur Schwefelbestimmung zu benutzen, verdampfte dieselbe und bekam als Verdampfungsrückstand eine hellgelbbraungefärbte harzige Masse, welche ausgetrocknet, mit gereinigtem Kalisalpete verpufft zu einer glasigen weissen Masse zusammenschmolz. Diese Masse in Wasser gelöst, die Lösung mit ClH bis zur deutlichen sauren Reaction versetzt, darauf, so lange sich noch rothe Dämpfe entwickelten, im Dampfbade erhitzt und nach der Erkal tung mit Chlorbarium versetzt, trübte sich deutlich, so dass an dem Schwefelgehalt derselben nicht gezweifelt werden konnte.

Von physiologischem Menschenharn nahm ich 10 Litres, welche auf folgende Weise behandelt wurden: Der entfärbte Harn wurde verdampft, der Rückstand mit 85%tig.

Alcohol extrahirt, dieses Extract verdampft, in absolutem Alcohol gelöst und der Verdampfungsrückstand dieses Extractes in  $\frac{1}{2}$  Litre Wasser gelöst. Diese Lösung wurde mit Essigsäure angesäuert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Ausschüttelungen werden so oft wiederholt, bis zuletzt vom Chloroform keine Gallensäuren, wie dies der negative Erfolg der P. R. zeigte, aufgenommen wurden, die gesammelten Chloroformausschüttelungen wiederholt mit destillirtem Wasser gewaschen und verdunstet. Der Verdunstungsrückstand war eine dunkelbraun gefärbte Masse von Syrupconsistenz, welche deutlich die P. R. zeigte, und getrocknet, wie beim icterischen Harn mit Salpeterkali verpufft, einen geringen aber deutlich erkennbaren Schwefelgehalt zeigte.

Prof. *Dragendorff* machte auch mehrere Mal die Schwefelbestimmung in dem Verdunstungsrückstande der Chloroformausschüttelungen, dieselbe hatte immer einen negativen Erfolg. Dieser lässt sich jedoch leicht erklären, indem die zur Untersuchung benutzten Harnmengen (100 bis 1500 Cc.) zu klein waren, um den Schwefelgehalt der Taurocholsäure in denselben nachweisen zu können.

Es wurde schon früher erwähnt, das *Salkowski* den unveränderten Uebertritt des Taurins aus dem Blute in den Harn bei Menschen und Hunden durch Bestimmung des Schwefelgehaltes des Harnes bewiesen hat. Im normalen Harn konnte kein Taurin aufgefunden werden, deshalb schliesst auch *Salkowski*, dass das vom Darne aus resorbirte Taurin der Leber zurückgeführt werde. Diese Behauptung stimmt mit dem im ersten Theile dieser Arbeit angegebenen Kreislaufe der Galle; da jedoch durch die Anastomosen der Pfortader die Gallensäuren in den

Kreislauf gelangen, so muss, falls nicht in der Blutbahn eine Zersetzung stattfindet, im Harne die Taurocholsäure enthalten sein. Die soeben beschriebenen Schwefelbestimmungen im icterischen und normalen Harne bestätigen vollkommen diese Voraussetzungen, indem die auf diese Weise demonstrierte Anwesenheit einer schwefelhaltigen organischen Substanz im Harne nur auf Taurocholsäure bezogen werden kann.

Die hier beschriebenen Untersuchungen berechtigen zu folgenden Schlüssen:

Die Gallensäuren sind constante Harnbestandtheile.

Im Harne findet sich sowohl Glyco- als Taurocholsäure.

Eine quantitative Bestimmung des Gallensäuregehaltes des Harnes lässt sich wegen der Unvollkommenheit der Methoden nicht durchführen.

Der Harn enthält nur sehr geringe Mengen von Gallensäuren.

Anhangsweise will ich hier noch einer neuen Reaction auf Gallensäuren, welche Hr. Prof. *Dragendorff* bei Gelegenheit dieser Untersuchungen entdeckte, erwähnen. Bringt man etwas von den Gallensäuren mit dem frisch bereiteten *Fröhde'schen* Reagens (Lösung von circa 0,05 Gramm molybdänsaurem Natron in 1 Cc.  $\text{SO}_4\text{H}_2$ ) zusammen, so färbt sich die Flüssigkeit anfangs schön tiefblau, und nach mehreren Stunden (3 bis 4) nimmt die

Lösung in der Mitte eine blaugüne Farbe an, während die Ränder unverändert blau gefärbt bleiben. Ich konnte noch nach 24 Stunden die blaue Farbe an den Rändern erkennen. Die Reaction tritt ein sowohl mit Taurocholsäure als auch mit Glyco- und Hyoglycocholsäure. Versuche in Betreff der Empfindlichkeit dieser Reaction zeigten, dass der Rückstand von 0,25 Cc. einer Lösung von glycocholsaurem Natron im Verhältniss von 1 : 1000 sich sehr deutlich mit dem *Fröhde'schen* Reagens am Rande blau färbte, der Rückstand von 0,15 Cc. derselben Lösung zeigte anfangs eine blaugüne Färbung am Rande, die erst allmähig in deutliches Blau sich umwandelte, der Rückstand von 0,1 Cc. der Lösung gab erst nach  $\frac{1}{4}$  Stunde eine blaugüne Färbung am Rande, die sehr allmähig in eine schwache blaue Färbung überging. 0,1 Cc. der Lösung mit  $\text{SO}_4\text{H}_2$  und Zucker geprüft gab erst nach 10 Minuten eine sehr schwache violetrothe Färbung. Ich versuchte weiter, ob auch andere Stoffe, die sich mit  $\text{SO}_4\text{H}_2$  und Zucker violetroth färben, die genannte Reaction zeigen. Aus diesen Versuchen ergab sich, dass Oelsäure sich Anfangs gelbgrünlich färbt und später eine hellgrüne Farbe annimmt. Getrocknetes reines Hühnereiweiss zeigte auch nur eine hellgrüne Farbe, die sich im Laufe von 24 Stunden nicht veränderte. Frisch coagulirtes Hühnereiweiss färbte sich anfangs hellgrün und allmähig trat am Rande die blaue Färbung ein; dieselbe verschwand aber sogleich, wenn man die Porcellanschaale, in welcher die Reaction angestellt wurde, etwas hin- und herbewegte. Die Gallensäuren zeigten die Reaction unverändert bei viel stärkerem Hin- und Herbewegen der Schaale. Nur die Carbonsäure zeigte eine den Gallensäuren ganz ähnliche Reaction.

Um zu sehen, ob die Gegenwart anderer Substanzen die Reaction stört, machte ich einige Chloroformausschüttelungen mit physiologischem Harn und bekam nach Verdampfung der Chloroformlösung regelmässig die blaue Farbe am Rande. Dieselbe war jedoch sehr schwach, so dass sie leicht übersehen werden konnte. Die practische Anwendung dieser Reaction ist demnach nur dann zulässig, wenn vorher die Carbonsäure aus der betreffenden Lösung eliminirt wurde, was durch fractionirte Destillation mit  $\text{SO}_4 \text{H}_2$  keine Schwierigkeiten darbietet. Ferner muss immer die Pettenkofersche Reaction als Parallelversuch angestellt werden. Schliesslich erwähne ich noch, dass mit der aus den 100 Litres Harn dargestellten Substanz eine sehr schöne und reine Reaction angestellt werden konnte.

## Thesen.

1. Jeder Icterus ist hämatogen.
2. Die myelogene Leukämie ist nicht erwiesen.
3. Das Quecksilber bei Syphilis darf nur in besonders indicirten Fällen angewendet werden.
4. Die Ovariectomie ist nur durch die Indicatio vitalis indicirt.
5. Bei höheren Graden der Beckenverengerung sollte die Ehe durch das Gesetz verboten werden.
6. Die allgemein antiphlogistische Behandlung der Diphtheritis ist zu verwerfen.
7. Die Beweiskraft eines physiologischen Experimentes kann erst dann als zweifellos betrachtet werden, wenn verschiedene Forscher, die entgegengesetzter Meinung sind, durch das betreffende Experiment zu demselben Resultate gelangen.
8. Die Hauptaufgabe des Arztes ist die Erforschung und Aufrechterhaltung der prophylactischen Momente.