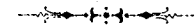


101463 - 4

Untersuchungen  
über das  
Vorkommen von Gallensäuren und Hippursäure  
in den Nebennieren.



Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades

eines

**Doctors der Medicin**

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität

zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

**Carl Beier,**

aus Curland.

Ordentliche Opponenten:

Dr. V. Schmidt. — Doc. Dr. E. Stadelmann. — Prof. Dr. R. Kobert.



**Dorpat.**

Schnakenburg's Buchdruckerei.

1891.

Gedruckt mit Genehmigung der Medicinischen Facultät.

Referent: Prof. Dr. H. Unverricht.

Dorpat, den 22. November 1891.

No. 653.

Decan: Dragendorff.

*D109363*

MEINEN ELTERN.

Bei meinem Scheiden von der hiesigen Hochschule sage ich allen meinen hochverehrten Lehrern für die mir zu Theil gewordene wissenschaftliche Ausbildung meinen besten Dank.

Insbesondere gilt derselbe Herrn Doc. Dr. E. Stadelmann, dem ich das Thema der Arbeit verdanke und der mich bei derselben auf das Liebenswertigste mit Rath und That unterstützte.

---

Die über die Nebennieren angestellten physiologischen Experimente sind wie auch die anatomischen Beobachtungen an denselben bisher ohnmächtig gewesen, die Rolle zu erklären, welche diese kleinen Organe be- rufen sind, in der Oeconomie des Thierkörpers zu spielen.

Die Nebennieren, welche bei allen Wirbelthieren gefunden werden, und die Harngeschlechtsorgane sind räumlich sehr nahe gelagert und stehen auch entwick- lungsgeschichtlich in sehr naher Beziehung; — viel- leicht sind gerade embryologische Untersuchungen ge- eignet, ihre noch immer räthselhafte Function zu er- schliessen <sup>1)</sup>).

Nach Janosik <sup>2)</sup> und Mihalkovics <sup>3)</sup> ist es das Keimepithel im vordersten Abschnitt der Geschlechts- leiste, welches durch seine Wucherung das Baumaterial für die Nebennieren liefert, ja sie wird von den genann- ten Autoren als „abgetrennter Theil der geschlechtlich undifferenzirten, also auf einem niedrigen Stadium der Entwicklung stehenden Geschlechtsdrüse“ bezeichnet.

---

1) Hertwig, Lehrb. der Entwicklungsgesch. 1890, pag. 339.

2) Archiv für mikroskop. Anatomie, Bd. 22, 1883.

3) Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Histol., Bd. II, 1885: Untersuch. über d. Entwicklung d. Harn- u. Geschlechtsapp. der Amnioten.

Ich halte diese entwicklungsgeschichtlichen Thatsachen für wichtig, da sie uns den Ursprung dieser Organe lehren und somit auch möglicherweise die Stoffe, welche von ihnen producirt werden könnten.

Auch die experimentelle Physiologie hat sich an die Erforschung der Nebennieren gemacht; es sind jedoch die Resultate mit Vorsicht aufzunehmen. Vor längerer Zeit veröffentlichte Brown-Sequard<sup>1)</sup> seine Untersuchungen, die er an Thieren anstellte, denen er die Nebennieren exstirpirte. Sehr bald erfolgte bei seinen Versuchsthiereu der Tod und er fand als Todesursache: „cause principale de mort, après la perte des ces petites glandes, consiste dans une accumulation de pigment.“ Etwas Verlockendes hatten seine Experimente, wenn man dabei an die Hautpigmentation bei morbus Addisonii dachte, Beweisendes enthalten sie jedoch nicht.

In neuester Zeit wurde von Jacoby eine Arbeit<sup>2)</sup> veröffentlicht, in welcher er der Nebenniere eine bis jetzt vollständig unbekante Funktion zuertheilt. Er hält die Nebennieren für hauptsächlich nervöse Organe, welche die Peristaltik des Darms beeinflussen und zwar eine, welche dieselbe hemmt, indem nach ihrer Exstirpation durch Vagusreizung stürmische Darmbewegungen ausgelöst werden, welche bei Vagusreizung allein, ohne Entfernung der Nebennieren, ausbleiben. Die Reizung der Nebenniere oder der Nerven, welche von ihr zum Gangl. coeliac. ziehen, setzt den in Bewegung befindlichen Darm unmittelbar zur Ruhe. Ferner fand Jacoby, dass ihre

1) Compt. rend. 1857 Th. II, pag. 1036.

2) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXIX, pag. 171.

Reizung die Secretionsgeschwindigkeit der Niere bedeutend herabsetzt. Die Wirkung von Giften, welche die Peristaltik stark anregen, wird durch Nebennierenreizung aufgehoben.

Die Nebennieren wurden nun auch vielfach chemisch untersucht und die darüber erschienenen Publikationen berichten von mehreren Körpern, welche in ihnen zu finden seien.

Zuerst hat man in ihrer Marksubstanz neben Eiweisskörpern ein oder mehrere Chromogene gefunden. Cloëz, Vulpian, Krukenberg, Virchow u. A. beschreiben uns die Reactionen dieses Körpers; er besitzt die Eigenschaft, sich unter dem Einfluss verschiedener Agentien charakteristisch zu färben. So macht wässrige Jodlösung, Chlor- und Bromwasser, eine carminrothe Färbung; dasselbe bewirkt die Mehrzahl der oxydirenden Stoffe, ferner der Sauerstoff der Luft und das Sonnenlicht, wenn es auf den Wasserauszug der Medullarsubstanz einwirkt. Extrahirt man die Nebennieren mit verdünnter Salzsäure, so färbt sich dieser Auszug bei Zusatz von überschüssigem Ammoniak schön roth. Die Substanz, welche diese Färbungen bewirkt, ist in sehr verdünnten Säuren löslich, so auch in Essigsäure und zwar sind die Säurelösungen gelb, bei Zusatz von Ammoniak scheidet sich die ganze Menge des Farbstoffes in violetten Flocken ab, was auf eine basische Natur des Farbstoffes hinweist (Holm<sup>1)</sup>). Unlöslich ist dieser Farbstoff nach Holm und Hoppe-Seyler in Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol; Alkalien nehmen nur wenig von ihm auf.

1) Journal f. prakt. Chemie. Bd. C, pag. 152.

Isolirt und rein dargestellt, hat man diesen Körper noch nicht; nach Virchow<sup>1)</sup> sind nicht die morphologischen Elemente Träger der Farbe, sondern der Farbstoff ist in der Interzellularflüssigkeit enthalten, was er an mikroskopischen Präparaten durch die Jodreaction bewiesen hat.

Ich führe diesen Farbstoff mit seinen Eigenschaften hier an, weil ich bei meinen Arbeiten mit Gallensäuren mich einer Farbenreaction bediente, welche ebenfalls roth gefärbte Produkte lieferte. Bei der Untersuchung der Nebennieren auf Hippursäure, werde ich noch einmal auf dieses Chromogen zu sprechen kommen.

Ferner fand man in den Nebennieren: Eiweiss, Substanzen des Bindegewebes, Salze, von denen Cloëz und Vulpian besonders reichlich Chlorkalium fanden, dann auch Chlornatrium und Phosphate. Ferner Fette, welche in grosser Menge vorhanden sind. Man sieht beim Erwärmen einer zerriebenen Masse von Nebennieren auf der Flüssigkeit sehr grosse, intensiv gelbe Tropfen sich abscheiden, die bei gewöhnlicher Temperatur erstarren. Dieses Fett geht nach Virchow<sup>2)</sup> durch Einwirkung von Schwefelsäure, Farbenveränderungen ein, welche den, bei der später zu beschreibenden Furfurolreaction in Verbindung mit Gallensäuren auftretenden, sehr ähnlich sind. Die gelbe Farbe des Fettes geht dabei in roth und weiterhin in dunkelblau über.

Ferner fand man in den Nebennieren Lecithin, Neurin, Glycerinphosphorsäure und Leucin, welche

1) Virchow's Archiv. Bd. XII, pag. 482.

2) Ibidem, pag. 104.

letzteres von Hammarsten<sup>1)</sup> für ein Zersetzungsprodukt gehalten wird. Virchow<sup>2)</sup> dagegen spricht von sehr reichlichen Leucinmengen; er sagt: „Schon die schön violette Lösung, welche man in dem ausgezogenen Saft durch Kali und Kupfersulfat erhält, deutet darauf hin“. Es fand jedoch Holm<sup>3)</sup> nur sehr wenig Leucin, Seligsohn<sup>4)</sup> gar keins.

1857 veröffentlichten Cloëz und Vulpian<sup>5)</sup> eine Arbeit, in welchem sie die Anwesenheit von Tauricholsäure, Taurin und Hippursäure in den Nebennieren des Hammels nachgewiesen haben wollten. Ich gebe hiermit ihre Methode kurz an: „Die Nebennieren werden mit 85 %-igem Alkohol extrahirt; die der spontanen Eindampfung überlassene alkoholische Lösung hinterlässt als Rückstand eine syrupöse Flüssigkeit, welche braun ist und blaues Lakmuspapier röthet. Die Lösung fällt basisch essigsäures Blei, nicht aber neutrales. Wird sie mit Bleioxydhydrat erhitzt, so verschwindet die saure Reaction; wieder mit 65 %-igem Alkohol ausgekocht, setzt sie ein krystallinisches Bleisalz in Form kleiner seidenartiger, farbloser Nadeln ab. Anstatt die alkoholische, das Bleisalz enthaltende Flüssigkeit dem Eindampfen zu unterwerfen, ist es vorzuziehen, das Metall mit Schwefelsäure zu fällen; das Bleisulfat wird abfiltrirt, das Filtrat ist beinahe farblos. Es bilden sich dabei transparente prismatische Krystalle

1) Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Ch.

2) Virchow's Archiv XII, pag. 483.

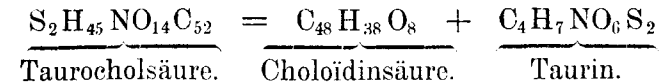
3) Journal für prakt. Chem. Bd. C, pag. 151.

4) De pigment. patholog. ac morbo Addison., adjecta chemica glandul. supraren. Dissert., Berlin 1858.

5) Compt. rend. T. II. Note sur l'existence des acides hippurique et choleïque dans les capsules surrénales des animaux herbivores.

einer stickstoffhaltigen Säure, die in heissem Alkohol löslich, in kaltem Wasser wenig löslich und in Aether vollständig unlöslich sind.“ Diese Säure halten diese Forscher für Hippursäure, weil sie „beim Erhitzen mit concentrirter Salzsäure sich in einen krystallisirbaren, in Aether löslichen, flüchtigen und wie Benzoesäure sublimirbaren Körper und in einen anderen Stoff spaltete, welcher ebenfalls krystallisationsfähig ist, in Aether unlöslich, in Wasser wie Glycocoll löslich ist.

Der syrupdicke, von Hippursäure befreite Rest, lässt leicht die Anwesenheit von Kalium und Natrium erkennen, und wenn ein kleiner Theil dieses Körpers in einer Röhre erhitzt wird, bemerkt man ein reichliches Entweichen von Schwefelwasserstoff, wie es bei der Zersetzung eines schwefelhaltigen, mit Natrium oder Kalium vermengten Körpers geschieht. Die syrupsöse Flüssigkeit konnte nicht zur Krystallisation gebracht werden, ob sie langsam oder rasch, in freier Luft oder im Vacuum verdampft wurde, die unkrystallisirbare Substanz kann jedoch Krystalle verschiedener Arten liefern, wenn man sie mit heisser concentrirter Salzsäure behandelt. Sie zersetzt sich in diesem Falle in eine ölige, im Wasser unlösliche, harzähnliche Masse, wie es die Choloïdinsäure ist; die saure, abgegossene Flüssigkeit lässt beim Verdampfen kubische Krystalle von Chlorkalium und Chlornatrium nach, welche mit durchsichtigen, farblosen Prismen vermengt sind, die alle Eigenschaften des Taurins besitzen.“ Aus dieser Zersetzung durch kochende Salzsäure, folgert Vulpian, dass hier Taurochalsäure, gebunden an Natrium und Kalium, vorliegt, und zwar erfolge die Umsetzung nach folgender Gleichung:



Auch Virchow ist geneigt, die Existenz von Gallensäuren in den Nebennieren anzunehmen. Er sagt<sup>1)</sup>: „Die Anwesenheit von Gallenstoffen in den Nebennieren muss insofern mit einiger Vorsicht aufgenommen werden, als die unmittelbare Nähe der Leber und der Gallenblase für die rechte Nebenniere wenigstens die Imbibition sehr begünstigt.“ Auch Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> macht den Einwurf, dass Hippursäure und Benzoesäure von den Nieren, Taurocholsäure von der Gallenblase oder Leber her durch Imbibition ins Nebennierengewebe eingedrungen sein könnten. Was meine Versuche anbetrifft, so kann ich diesen Einwand wohl zurückweisen, da ich die Nebennieren dem eben getödteten, noch warmen Thier entnahm, wo von einer stattgehabten Imbibition wol schwer die Rede sein kann.

Virchow fährt dann weiter fort: „Indess war es mir auch schon aufgefallen, dass ich durch Digestion menschlicher, mit aller Vorsicht gesammelter und präparirter Nebennieren eine Flüssigkeit erhielt, die nach dem Filtriren eine eigenthümliche, bald gelbe, bald röthlich-braune Farbe zeigte und bei dem Verdampfen sich mit dunkelviolettblauen Häuten überzog. Dieselbe gab, nachdem sie etwas eingeengt war, die Pettenkofer'sche Probe sehr schön und nahm mit Mineralsäuren, besonders mit Salpetersäure eine grünliche Färbung an.“

1) Virchow's Archiv XII, pag. 481.

2) Lehrb. d. physiol. Chemie 1881, pag.

Virchow hat hier nichts von der Entfernung der Eiweissstoffe und Fette aus der Macerationsflüssigkeit gesagt, und daher ist bei ihm der positive Ausfall der Pettenkofer'schen Reaction, der die Anwesenheit von Gallensäuren darthun sollte, nicht beweisend.

Ueber das Vorkommen schwefelhaltiger Stoffe in den Nebennieren, sagt Virchow weiterhin: „Die rosige Farbe, welche das Jod erzeugt, erinnert etwas an das freilich brillantere Violett, welche Jod in Schwefelkohlenstoff hervorbringt und auch die intensiv grüne Farbe der Eisensalze könnte auf eine Schwefelverbindung hindeuten. Indess deuteten andere Reactionen weder Schwefelkohlenstoff noch Schwefelwasserstoff als solche in dem Saft an und obwohl sich die Substanz ziemlich lange erhält, so ist doch die Reaction um so zuverlässiger, je frischer die Organe sind. Ich lasse es daher dahingestellt, ob diese Reactionen irgend etwas mit dem Taurin zu thun haben.“

Die Existenz von Taurin und Benzoësaure in den Nebennieren wurde noch weiterhin von einigen Untersuchern behauptet; so von Seligson<sup>1)</sup>. Taurin allein fanden Holm<sup>2)</sup> und Külz<sup>3)</sup>.

Es war nun meine Aufgabe, durch Versuche die Anwesenheit der von den Beobachtern behaupteten Gallensäuren, Hippursäure und Benzoësaure zu prüfen. Bevor ich jedoch über diese berichte, möchte ich mich zuerst zu den Reactionen der Gallensäuren und der Untersuchungsmethode, welche ich befolgte, wenden.

1) S. o. „De pigment. pathol. Diss.

2) S. o.

3) Sitzungsber. d. Marsburg. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturwiss. 1876, Nr. 4.

## Reactionen der Gallensäuren.

Schon seit längerer Zeit ist die Pettenkofer'sche Reaction zum Nachweise von Gallensäuren bekannt; ich stellte dieselbe so an, dass ich in einem Porzellanschälchen, das auf dem Wasserbade vorsichtig erwärmt wurde, zu einer geringen Menge der filtrirten, auf Gallensäuren zu untersuchenden Flüssigkeit, eine Spur Rohrzucker und dann etwas verdünnte Schwefelsäure setzte: bei Anwesenheit von Gallensäuren entstand die bekannte kirschrothe Färbung, welche bald heller, bald dunkler ausfiel. Dieselbe oder wenigstens eine sehr ähnliche Reaction geben aber noch einige andere Körper, von denen besonders die Eiweissstoffe wichtig sind, ferner auch Oele, verschiedene Harze, Cholestearin, Amylalkohol, Harnstoff, höhere Fettsäuren etc.<sup>1)</sup> Es sind daher solche Stoffe vor Anstellung der Reaction aus der zu untersuchenden Flüssigkeit zu entfernen.

Diese Pettenkofer'sche Reaction beruht nach den Untersuchungen von Mylius<sup>2)</sup> und Udransky<sup>3)</sup> auf der Einwirkung des Furfurols. Dasselbe wird nach Döbereiner aus Zucker, Schwefelsäure und Braunstein gebildet, nach Emmet<sup>4)</sup> auch aus Zucker und Schwefelsäure allein. Es wird demnach bei der Pettenkofer'schen Reaction aus dem Rohrzucker und der Schwefelsäure Furfurol abgespalten, welches mit Gallensäuren Farbprodukte giebt. Löst man einen Tropfen Furfurol

1) Kunde, Inauguraldiss. Berlin 1850; E. Bischoff, Zeitschr. f. ration. Medicin. Bd. XXI, pag. 125.

2) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XI, pag. 492.

3) Ibidem, Bd. XII, pag. 355: über Furfurolreactionen.

4) Journal f. prakt. Chemie. Bd. XII, pag. 120.

in 10 Cbcm. Wasser, so genügt ein Tropfen der Lösung, um eine Mischung von Cholsäure, Wasser und Schwefelsäure blutroth zu färben. Dieses Roth hat oft einen verschiedenen Farbenton, geht dann später in Violett und zuletzt in Blau über; diese Blaufärbung wird von einigen Autoren als entscheidend für Gallensäuren angesehen. Es gelang mir auch, die blaue Farbe sofort entstehen zu lassen, wenn ich Furfurolwasser im Ueberschuss auf eine weingeistige Lösung von Glycolsäure und concentrirter Schwefelsäure einwirken liess. Das Furfurol wird nach Udransky's Angabe<sup>1)</sup> am besten in einer 0,5%-igen Wasserlösung zur Reaction verwandt, da eine zu concentrirte wässrige Furfurolösung mit concentrirter Schwefelsäure auch ohne Gallensäurezusatz eine Rothfärbung giebt. Durch die Arbeit Udransky's haben wir eine äusserst empfindliche Reaction auf Gallensäuren kennen gelernt; nach ihm schwankt die geringste Menge von Cholsäure, die mit ihrer Hülfe noch nachgewiesen werden kann, zwischen 0,000033 und 0,00005.

Diese Farbenreaction wurde von Bogomoloff und Schenk<sup>2)</sup> spektroskopisch untersucht, und dieselben fanden 2 charakteristische Absorptionsstreifen, einen in F, an der Grenze zwischen Grün und Blau und einen zweiten, bedeutend schwächeren bei D. Udransky fand weiter, dass die geringste Menge von Gallensäuren, welche noch die Streifen liefern, 0,00005 beträgt. Es ist dabei hier zu bemerken, dass Udransky bei seinen Versuchen reine weingeistige Cholsäurelösung anwandte,

1) l. c.

2) Maly's Jahresber. über d. Fortschritte d. Thierchemie. Bd. II, pag. 282.

und die Gallensäuren nicht erst, wie ich, aus thierischen Geweben isoliren musste. Dass dabei ein, wenn auch geringer Verlust an Gallensäuren eintreten musste, ist leicht verständlich, wie ich es weiter unten bei meinen Vorversuchen beschreiben werde.

Die spektroskopische Untersuchung ist wichtig, da sie nach Schenk<sup>1)</sup> die Gallensäuren von manchen anderen Körpern unterscheiden lässt, besonders von Eiweissstoffen, welche unter den gleichen Verhältnissen sehr ähnliche Färbungen liefern können. Sie tritt jedoch an Empfindlichkeit gegen die gewöhnliche Furfurolreaction, wie ich sie anstellte, zurück, indem nur bei einer etwas stärkeren Concentration die Absorptionsstreifen hervortreten. Anfangs ist nur der breite Streifen in F sichtbar, bei zunehmender Concentration tritt auch der Streifen bei D hervor. Bei noch stärkerer Concentration ist nur noch der Streifen in D sichtbar, da von F an alles verdunkelt ist. Dasselbe fand ich auch, nachdem die rothgefärbte Flüssigkeit, welche nur den Streifen in F gab, einige Zeit gestanden und dabei nachgedunkelt war. Die spektroskop. Untersuchung ist mit Erfolg nur an rothgefärbten Reactionslösungen anzustellen, ist sie vollständig violett oder blau geworden, so sind keine Streifen mehr aufzufinden. Ich werde bei meinen Vorversuchen über die Resultate berichten, die ich beim Experimentiren mit verschiedenen Quantitäten von Gallensäuren erhielt und dabei auf die Spektralprobe zurückkommen.

Ich stellte die Furfurolreaction in der Weise an dass ich eine geringe Menge der zu untersuchenden

1) Anat. physiol. Untersuchungen. Wien 1872, pag. 47.

filtrirten alkoholischen Lösung, mit einem Tropfen Furfurolwasser versetzt, ein wenig concentrirte Schwefelsäure hinzufügte und die Mischung auf dem Wasserbade ganz wenig erwärmte. Einen anderen Theil der zu untersuchenden alkoholischen Lösung schüttete ich in ein Reagenzgläschen, fügte einen Tropfen Furfurolwasser und ebensoviel concentrirte Schwefelsäure hinzu, als alkoholische Lösung genommen war. Bei Anwesenheit von Gallensäuren bildete sich an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein rother Ring und beim Umschütteln nahm die ganze Mischung die rothe Farbe an. In ein Gläschen mit parallelen Wänden gebracht, wurde die farbige Lösung dann spektroskopirt.

In dem nun Folgenden gehe ich zur Beschreibung der Methode über, nach welcher ich bei diesen meinen Untersuchungen gearbeitet habe.

## Untersuchungsmethode.

Es war zunächst meine Aufgabe, einen Gang der Untersuchung zu finden, mit Hilfe dessen die kleinsten Quantitäten Gallensäuren, die einem thierischen Gewebe beigemischt waren, mit Sicherheit nachgewiesen werden konnten. Um die gleich näher zu beschreibende Methode auf die Genauigkeit zu prüfen, stellte ich eine Reihe von Vorversuchen an. Ich benutzte dazu die Milz, ein Organ, von welchem man voraussetzen konnte, dass es keine gallensauren Salze enthält. Ich habe jedoch in dieser Beziehung noch einen Controlversuch gemacht, der die Abwesenheit von Gallensäuren in der Milz constatirte.

Die Methode war folgende:

Die Milz wurde mit Scheere und Messer möglichst zerkleinert, ein gewisses Quantum des Milzbreies abgewogen und mit einer genau gewogenen Menge eines gallensauren Salzes durch Verreiben in einer Reibschale gründlich vermengt. Darauf wurde das Gemisch mit warmem Wasser übergossen, nochmals verrieben und dann durch ein zusammengefaltetes Mousselintuch in eine Porcellanabdampfschale durchgepresst. Die im Mousselintuche gebliebenen Organreste wurden wieder

in die Reibschale gebracht, von neuem mit heissem Wasser übergossen, mit dem Mörser zerrieben und die Macerationsflüssigkeit durchgepresst. Dieses Verfahren wiederholte ich 5 Mal. Die auf diese Weise gewonnene Extraction war röthlich trübe, reagirte neutral, resp. amphoter, und es galt nun, aus derselben die Eiweisskörper herauszubekommen, deren Anwesenheit das Anstellen der Reaction illusorisch gemacht hätten. Das eiweisshaltige Wasserextract wurde deshalb zum Kochen erhitzt, wobei es seine röthliche Farbe verlor und sich dicke Flocken geronnenen Eiweisses ausschieden. Es wurde darauf vom Feuer entfernt und vorsichtig verdünnte Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction zugesetzt, wobei das Eiweisseoagulum stets dichter wurde. Eine kleine Probe wurde abfiltrirt und auf etwa noch vorhandenes Eiweiss untersucht. Dieses Enteiweissen machte oft grosse Mühe, da die abfiltrirten Proben oft noch nach langer Behandlung Spuren von Eiweiss aufwiesen. Nachdem das Eiweiss vollständig entfernt war, wurde heiss durch ein Faltenfilter filtrirt. Das Filtriren ging, falls kein Eiweiss mehr in Lösung war, rasch von statten; das Filtrat war eine hellgelbe klare Flüssigkeit. Diese wurde nun mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaction versetzt und mit einer Lösung von basisch essigsaurem Blei gefällt. Es entstand ein leicht gelblich gefärbter, feinflockiger Niederschlag, der sich langsam absetzte. Die überstehende Flüssigkeit wurde decantirt und ihr Ammoniak und bas. essigsaures Blei zugesetzt, um noch eine etwaige Bleifällung zu erlangen, die dann dem ersten Bleiniederschlag zugefügt wurde. Die abfiltrirten Niederschläge wurden dann mehrmals auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen,

zur Beseitigung vorhandener Farbstoffe. Der auf dem Filter trocken gewordene Bleiniederschlag wurde mit einem Spatel abgekratzt, in ein Becherglas gethan und ihm das in kleine Stücke zerrissene Filter mit den noch anhaftenden Ueberresten des Niederschlags hinzugefügt. Mit 95%-igem Alkohol übergossen, wurden Filter und Niederschlag auf dem Wasserbade erwärmt, bis der Alkohol kochte. Derselbe wurde in eine Abdampfschale filtrirt, der Niederschlag noch einmal mit 95%-igem Alkohol ausgekocht, im Ganzen 4 Mal. Der vom ausgekochten Bleiniederschlag klar abfiltrirte Alkohol wurde in einer Schale auf dem Wasserbade unter Zusatz einiger Tropfen einer Lösung von Natrium carbonicum zur Trockne verdampft. War der Bleiniederschlag nicht sehr gut mit Wasser ausgewaschen worden, so schieden sich beim Verdampfen des Alkohols an den Rändern der Schale bräunliche Ringe ab, die jedoch, wie ich mich bei den Versuchen mit der Milz ohne jeden Gallensäurenzusatz, überzeugte, keinen Einfluss auf die Furfurolreaction haben. Der Verdampfungsrückstand wurde mit absolutem Alkohol übergossen und derselbe unter Umrühren mit einem Glasstabe zum Kochen erhitzt, auf ein kleineres Volumen eingedampft, in ein reines trockenes Gläschen filtrirt und Schwefeläther im Ueberschuss zugesetzt. Nach dem Zusatz des Aethers wurde die Flüssigkeit milchig-trübe und nach 24 Stunden hatten sich die Gallensäuren, wenn sie in grösserer Menge zugesetzt waren, als harziger, gelber Niederschlag auf dem Boden des Glases gesammelt. Waren gallensaure Salze dem Milzgewebe in geringer Menge zugesetzt, so resultirte am Boden eine weisse Fällung, einen harzigen Niederschlag habe ich in diesen

Fällen nicht bemerken können. Der überstehende Aetheralkohol wurde abfiltrirt und die in demselben oftmals flottirenden Flöckchen entfernt. Der Aetheralkohol wurde zum Verdunsten gestellt, der dabei nachbleibende Rückstand mit heissem Alkohol aufgenommen, filtrirt und mit ihm die Pettenkoffer'sche und die Furfurolreaction angestellt. Hierbei will ich bemerken, dass ich in jedem Falle beide Reactionen, die mit Furfurolwasser und die Pettenkoffer'sche, angestellt habe. Das Hauptaugenmerk wurde auf die durch Aether hervorgebrachte Fällung gerichtet, da hauptsächlich in ihm die Gallensäuren sich finden. Derselbe wurde, zugleich mit den abfiltrirten im Aetheralkohol flottirenden Flocken, die sich manchmal darin fanden, mit warmem 95 %-igem Alkohol aufgenommen, filtrirt, zur Trockne verdampft, mit absolutem Alkohol aufgenommen und nun die Reactionen angestellt.

Eine einfache Ueberlegung sagte es, dass sich in dem Aetherniederschlage nicht die ganze Menge der zugesetzten Gallensäuren hätte finden können. Das Aufnehmen des mit Gallensäuren versetzten Organs mit Wasser und das Auspressen mit den Händen konnten unmöglich alle Mengen der zugesetzten Gallensäure extrahiren. Es mussten daher noch untersucht werden:

- 1) der Organrückstand, welcher im Mousselintuch geblieben war;
- 2) das auf dem Faltenfilter gesammelte Eiweisscoagulum, welches nach dem Enteiweissen des durchgepressten Wasserauszugs des Organs nachgeblieben war;
- 3) das Mousselintuch, das eventuell beim Durchpressen noch einige Spuren von Gallensäuren zu-

rückbehalten haben könnte. Zu diesem Zwecke extrahirte ich die betreffenden Objekte mit Alkohol. An dieser Stelle muss ich einer Beobachtung Udransky's Erwähnung thun, die hier wichtig ist. Es muss der bei der Extraction verwendete Alkohol vollständig rein sein und keinen Amylalkohol enthalten, da dieser die Furfurolreaction giebt, wie denn überhaupt Rohspirituosen Furfurol enthalten und daher mit concentrirter Schwefelsäure Farbprodukte geben. Es kam ferner darauf an, zu untersuchen, wie viel Mal das betreffende Objekt mit Alkohol auszukochen ist, bis die Intensität der Furfurolreaction abnimmt, resp. vollständig verschwindet.

Der Organrückstand wurde vom Mousselintuche abgeschabt, in ein Becherglas gethan, mit 95 %-igem Alkohol übergossen, im Wasserbade zum Kochen erhitzt, abfiltrirt und mehrmals so behandelt, wie ich weiter unten beschreiben werde. Der vom ausgekochten Organ abfiltrirte Alkohol ging klar durch das Filter, wird aber später durch sich in der Kälte ausscheidendes Fett trübe. Diese Filtrate wurden bis auf Weiteres aufbewahrt und mit A bezeichnet.

Das Eiweisscoagulum wurde genau in derselben Weise behandelt, wie der Organrückstand, und die Alkoholfiltrate, die sich auch in der Kälte ein wenig trübten sub B aufbewahrt. Es wurden nun dann die Filtrate A und B zusammen in eine Abdampfschale gethan und im Wasserbade zur Trockne verdampft, wobei eine dicke, klebrige, dunkelbräunliche Masse zurückblieb. Diese wurde, um Fett und Eiweiss nicht aufzunehmen mit heissem Wasser behandelt, filtrirt,

mit Ammoniak versetzt und mit bas. essigsauerm Blei gefällt. Dann wurde, wie früher, der Bleiniederschlag abfiltrirt, derselbe mit Alkohol ausgekocht, der abfiltrirte Alkohol mit etwas kohlelsaurem Natron zur Trockne verdampft, mit absolutem Alkohol aufgenommen, dieser abfiltrirt, und durch Aether gefällt.

Das Mousselintuch wurde nicht mit Alkohol, sondern mit Wasser mehrmals ausgekocht und das Eiweiss aus der Abkochung, wie oben beschrieben, entfernt; das enteweisste Filtrat nach Zusatz von Ammoniak mit Bleiessig gefällt und wie oben behandelt. Das hierbei resultirende Eiweissecoagulum wurde ebenfalls mit Alkohol ausgekocht, filtrirt und den Alkoholfiltraten A und B hinzugefügt. Ich erhielt somit bei jedem Versuche 2 Aetherfällungen: vom mit Alkohol ausgekochten Bleiniederschlage aus der enteweissten wässrigen Extractionsflüssigkeit, vom Organrückstand und von den Eiweissecoagulis; ferner 2 Verdunstungsrückstände des von den Aetherniederschlägen abfiltrirten Aetheralkohols, ferner noch die ebenfalls abfiltrirten, im Aetheralkohol befindlichen Flocken, die sich manchmal vorfanden, obgleich es häufiger vorkam, dass die durch Aether bewirkte Fällung fest den Wänden des Glases anhaftete.

Es kam nun darauf an, die beschriebene Methode praktisch zu prüfen, namentlich in Beziehung auf die geringste noch nachweisbare Gallensäuremenge nach Zusatz derselben zu thierischem Gewebe.

Von meinem Vorversuch mit der Milz allein, ohne Gallensäurezusatz, habe ich schon gesprochen; bei Anstellung der Furfurolreaction ergab sich nur eine schwache bräunliche Färbung, aber keine Spur der rothen, cha-

rakteristischen Reaction und natürlich auch kein Spectrum der Gallensäuren.

Darauf versetzte ich eine Quantität zerkleinerter Rindermilz mit einer geringen Menge unreiner Gallensäuren vom Hunde und bekam in der Aetherfällung einen harzigen, gelben Niederschlag, welcher alle Reactionen der Gallensäuren darbot.

Jetzt ging ich zu genaueren Versuchen über, indem ich mit gewogenen Quantitäten Milzbrei und ebenso genau gewogenen Quantitäten gallensaurer Salze experimentirte. Die angewendeten Salze waren glycocholsaures und taurocholsaures Natron und ich begann zunächst mit dem

#### Natrium glycocholicum.

Ich untersuchte zuerst ein Gemisch, dessen Procentgehalt an N. glycochol, 0,5 betrug: Es waren 50,0 Milz und 0,25 N. glycochol. Es wurde ganz in der beschriebenen Weise vorgegangen; der Organrückstand und das Eiweissecoagulum wurden mit Alkohol mehrmals ausgekocht und jede einzelne Auskochung auf ihren Gehalt an Gallensäuren geprüft. Es kam mir darauf an, herauszubekommen, wie viele Male mit Alkohol ausgekocht werden müsste, damit die Furfurolreaction zuletzt negativ ausfalle.

Was das Mousselintuch anbetrifft, so bin ich nach 2maligem Auskochen desselben mit Wasser, weder in diesem, noch in einem der anderen Versuche im Stande gewesen, noch weiter Gallensäuren in der Auskochung zu finden.

Der Organrückstand und die Eiweissecoagula machten mir jedoch bedeutend mehr Schwierigkeiten; ich

kochte beide getrennt 5 bis 6 Mal aus und erhielt noch immer eine Rothfärbung durch Furfurol, wenn auch die letzten Auskochungen eine geringere Farbenintensität aufwiesen, als die ersten. Da bekannt ist, dass die Gallensäuren sich sehr leicht in kochendem Alkohol lösen, und dennoch nach vielen Auskochungen noch Furfurolreaction bestand, so glaubte ich Anfangs, dass die Organ- und Eiweisspartikelehen die Gallensäuren mit besonderer Zähigkeit festhielten und dieselben dem Alkohol nur spurenweise abgaben. Es hätte jedoch auch sein können, dass durch das fortgesetzte Kochen Spuren von Eiweiss oder anderer Stoffe sich lösten, welche die Reaction hervorzubringen im Stande wären. Um darauf zu prüfen, verdampfte ich die letzte Alkoholauskochung zur Trockne, nahm den Rückstand in heissem Wasser auf, filtrirte, fällte mit Bleiessig, kochte den Niederschlag mit Alkohol aus, verdampfte zur Trockne, nahm mit Alkohol abs. auf und fällte mit Aether. Jetzt erhielt ich keine Gallensäurereaction mehr und somit glaube ich nicht, dass das Eiweisscoagulum mit besonderer Kraft die Gallensäuren zurückhalte, sondern, dass beim Kochen Stoffe gelöst werden, welche die Reaction geben. Da namentlich Eiweissstoffe und Fette das Störende gewesen sein werden, so änderte ich meine ursprüngliche Methode ein wenig. Ich kochte Organrückstand und Eiweisscoagula 2 Mal mit 95% Alkohol aus, filtrirte ihn ab, trocknete den Rückstand auf dem Wasserbade zum Pulver aus und behandelte dieses mit absolutem Alkohol. Späterhin vereinfachte ich die Behandlung des Organrückstandes und Eiweisscoagulums noch dadurch, dass ich dieselben trocknete und nun direkt

mit Alkohol absol. auskochte, wobei ich sicher war, dass keine Eiweissstoffe in Lösung gingen. Die Fette eliminirte ich in der Weise, dass ich den abfiltrirten absoluten Alkohol zur Trockne verdampfte, den Rückstand mit heissem Wasser aufnahm und weiterhin wie oben beschrieben, verfuhr.

Bei diesem Versuche mit 0,5% N. glycochol. konnte ich in den Aetherniederschlägen die schönste Furfurolreaction nachweisen, ferner ergab auch die Spectraluntersuchung beide charakteristische Absorptionsstreifen. Ich will hier noch bemerken, dass mit Ausnahme der Versuche, bei welchen ich sehr geringe Mengen Natr. glycochol. und taurochol. anwandte, auch im Rückstande des vom Aetherniederschlage abgegossenen und verdunsteten Aetheralkohols sich eine schwache Furfurolreaction nachweisen liess, zum Beweise dafür, dass die Gallensäuren doch nicht ganz vollständig durch Aether ausgefällt werden.

Ich ging nun mit der Menge des zugesetzten Natr. glycoh. herab und machte Versuche mit gleichem Erfolge wie beim ersten bei folgenden Quantitäten:

$$50,0 \text{ Milz und } 0,125 = 0,25\%$$

$$50,0 \text{ „ „ } 0,062 = 0,12\%$$

$$50,0 \text{ „ „ } 0,03 = 0,06\%$$

$$50,0 \text{ „ „ } 0,015 = 0,03\%$$

Bei diesem Versuch will ich bemerken, dass ich von ihm an nicht sofort bei Anstellung der Furfurolreaction das charakteristische Spectrum erhielt; die Linie in F trat zwar deutlich hervor, jedoch nicht die in D. Es dauerte jedoch nur kurze Zeit, bis auch der zweite Streifen erschien, indem die Furfurolmischung bald nachdunkelte. Mehr Interesse haben meine letzten

Versuche mit Nat. glycoh., bei denen ich 3 Milligr. 1 Mgrm. und 0,5 Mgrm. zu 50,0 Milz hinzufügte.

50,0 Milz und 0,003 N. glyc. Auch hier erhielt ich eine deutliche Furfurolreaction; das Spectrum zeigte jedoch nur den Streifen in F und erst nach 24stündigem Stehen der zum Spectroscopiren verwendeten rothen Mischung trat ein schwacher Streifen in D auf. Ich muss hier nochmals betonen, dass der Zusatz des Furfurolwassers vorsichtig geschehen muss, da bei zuviel Furfurol bald vollständige Violettfärbung eintritt, bei welcher ein Spectrum nicht mehr zu finden ist. 50,0 Milz und 1 Mgrm. N. glycoh. = 0,002%. Auch hier ergab das Furfurol eine, wenn auch nicht intensive, so doch deutliche Reaction. Ein charakteristisches Spectrum habe ich jedoch bei diesem Versuche nicht mehr wahrnehmen können, was bei diesem Verdünnungsgrade auch nicht Wunder nehmen kann; auch Udransky hat bei sehr geringen Gallensäuremengen wohl noch die Reaction, aber kein Spectrum mehr erhalten; 0,00005 Grm. sind nach ihm die Grenze für den spectroscopischen Nachweis. — 50,0 Milz und 0,0005 N. glycoh. = 0,001%. Auch hier erhielt ich eine schwache aber deutliche Reaction, kein Spectrum.

Ich ging jetzt zu Versuchen mit Natr. taurocholicum über, da es mir gelungen war, das N. glycoh. mit einer Genauigkeit aufzufinden, die für physiologisch-chemische Zwecke genügend erschien.

#### Natr. taurocholicum.

Ganz wie früher verfuhr ich auch hier und auch hier gelang mir der Nachweis der der Milz zugesetzter Mengen des gallensauren Salzes sehr prompt. Einen Unterschied in der Reaction, sowohl der Pettenkofer-

schen, als auch der Furfurolreactionen, machen beide Gallensäuren nicht. Das taurochols. Natron lässt sich nach der beschriebenen Methode ebenso sicher dem Gemisch entziehen und nachweisen, wie das glycohols. Natron. Ich stellte die Versuche mit den gleichen Mengen Milz und N. tauroch. an, wie früher mit dem glycoh. Salz.

50,0 Milz und 0,125.

50,0 „ „ 0,062.

50,0 „ „ 0,03.

50,0 „ „ 0,015.

Auch hier fehlte gleich anfangs der 2. Streifen in D, er schien mir etwas rascher beim Nachdunkeln der Furfurolmischung aufzutreten, als beim Natr. glycohol., ich will jedoch dieses nicht strikt behaupten. Die übrigen Versuche mit 3, 1 und 0,5 Mgrm. zu 50,0 Milz fielen ganz so aus, wie die mit Natr. glycoh. und kann daher ihre Beschreibung hier übergangen werden. Anführen möchte ich noch, dass ich bei den Versuchen mit Natr. taurochol. die von Eiweiss befreite wässrige Extractionsflüssigkeit des Organs nach der Vorschrift Hoppe-Seylers<sup>1)</sup> viel stärker durch Ammoniak alkalisch machte, als bei den Experimenten mit Nat. glycohol., da die Taurocholsäure aus stark alkalischen Lösungen leichter durch Bleiessig gefällt wird.

Wie aus diesen Versuchen zu ersehen ist, besitzen wir in der Furfurolreaction ein sehr empfindliches Erkennungsmittel der Gallensäuren und zugleich zeigt die hier befolgte Methode, dass wir mit derselben noch sehr geringe Mengen von Gallensäuren thierischen

1) Phys. Chemie 1881.

Gewebe entziehen und deutlich nachweisen können. Wenn Mylius und Udransky als die geringste Menge noch nachweisbarer Gallens. 0,000033 nennen, so habe ich beim Nachweise von noch 0,0005 keine zu grossen Verluste gehabt, die bei einer immerhin umständlichen Isolirung wohl kaum zu vermeiden sind, während Udransky mit reinen weingeistigen Cholsäurelösungen experimentirte.

Nach Prüfung der Methode machte ich mich an die eigentliche Aufgabe meiner Untersuchungen.

### Versuche mit Nebennieren.

Benutzt habe ich zu diesen Untersuchungen die Nebennieren des Menschen, des Hundes und namentlich die des Rindes, da diese mir in grösserer Menge zugänglich waren. Da mir der Nachweis von Gallensäuren in denselben nicht gelungen ist, meine Resultate also negative sind, so will ich mich hier kurz fassen. Gearbeitet habe ich genau nach der früheren Methode, deren Ausführung bei den Nebennieren bedeutend leichter ist, als sie bei den Vorversuchen mit der Milz war, da die Eiweissmengen, die hier fortzuschaffen sind, viel geringer sind, als bei der blutreichen Milz.

Was die Versuche mit der Nebenniere des Menschen anbetrifft, so hatte ich leider wenig Material und konnte durch sie, gestützt auf den negativen Ausfall der Furfurolreaction noch nicht die Abwesenheit von Gallensäuren strikt in Abrede stellen.

Dagegen standen mir grössere Quantitäten Hunde- und Rindernebenieren zur Verfügung. Da ich zur Zeit nur wenige Nebennieren vom Hunde bekommen

konnte, so musste ich, um mehr Versuchsmaterial zu haben, dieselben in eine Form bringen, bei welcher Fäulniss und eventueller Gallensäureverlust unmöglich war. Deshalb sammelte ich die Bleiniederschläge, bewahrte Organrückstände und Eiweisscoagula in absolutem Alkohol auf, bis ich eine genügende Menge derselben hatte, um meine Versuche anzustellen. Wie gesagt, fielen dieselben negativ aus und somit kann ich die Anwesenheit von Gallensäuren in den Nebennieren der Carnivoren bestreiten.

Ich ging darauf zu den Nebennieren der Herbivoren über und verarbeitete 50,0 der betreffenden Organe vom Rinde. Auch hier erhielt ich keine Furfurolreaction, nur eine hellbräunliche Flüssigkeit, deren Farbe nur durch die Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure hervorgebracht sein konnte. Da ich die Quantität von 50,0 Nebennieren noch zu gering hielt, machte ich noch einen Versuch mit 100,0 und 200,0, jedoch mit dem früheren Erfolge.

Ich kann deshalb, in Anbetracht der Empfindlichkeit der Reaction und gestützt auf meine Vorversuche, die mir noch einen Gallensäurenachweis von 0,001 Procent ermöglichten, die Ansicht der genannten Autoren über das Vorkommen von Gallensäuren, nicht acceptiren und möchte daher behaupten, dass weder Carni- noch Herbivoren in ihren Nebennieren Gallensäuren enthalten.

Selbst wenn bei diesen Versuchen eine Rothfärbung aufgetreten wäre, die aber von mir nicht gefunden wurde, so könnte man daraus nicht ohne weiteres auf die Gegenwart von Gallensäuren schliessen, da auch das in den Nebennieren enthaltene Chromogen, welches rothe Farbprodukte liefert, die Reaction hätte vortäuschen können. Dieses können wir aber ausschliessen,

da der rothe Farbstoff des Chromogens in Alkohol unlöslich ist<sup>1)</sup>. Dass Virchow beim Eindampfen des wässrigen Extracts durch Zucker und Schwefelsäure ein positives Resultat erhielt, ist leicht verständlich, da er vom Eliminiren, von Fett und Eiweissstoffen nicht redet und somit diese die Reaction hervorgerufen haben, Cloëz und Vulpian geben uns keine Reaction der Gallensäuren an, die Pettenkofer'sche ist bei ihnen garnicht erwähnt; auch für das von ihnen gefundene Taurin geben sie uns keinen Beweis. Auch Holm sagt nur ganz kurz: „Das Filtrat lieferte Taurin“.

Ich will hier erwähnen, dass ich bei diesen Versuchen den schön roth gefärbten Farbstoff der Nebennieren erhielt; beim Alkalischemachen des enteweissten wässrigen Extracts, ging dessen hellgelbe Farbe in Roth über. Fällte ich nun mit Bleiessig und filtrirte den Niederschlag ab, so war das klare Filtrat schön roth gefärbt; im Spectralapparat betrachtet, zeigten sich jedoch keine Streifen und es hat somit diese Rothfärbung nichts Gemeinsames mit der Färbung der Gallensäuren durch Furfurol.

### Untersuchungen über Hippursäure.

Ich ging nun an den zweiten Theil meiner Arbeit, und suchte zu entscheiden, ob in den Nebennieren sich noch Hippursäure und daneben auch Benzoësäure finden. Bei dieser Untersuchung bin ich der von Schmiedeberg und Bunge<sup>2)</sup> angegebenen Methode gefolgt,

1) Hoppe-Seyler: Lehrbuch der phys. Chemie und Holm: Journal für prakt. Chemie. Bd. C.

2) Archiv für experim. Pathol. und Pharmakol. Bd. VI, p. 233.

welche bis jetzt als die sicherste und quantitativ genaueste angesehen wird.

Bevor ich an die Untersuchung der Nebennieren selbst ging, machte ich an der Hand der zu beschreibenden Methode einen Versuch mit frischem Rinderharn.

900 Cbcm. des Harns von alkalischer Reaction wurden mit einigen Tropfen einer Lösung von kohlensaurem Natron versetzt und auf dem Dampfbade nahezu bis zur Trockne verdampft. Ein Theil des rückständigen Breies wurde in einen Kolben gebracht und mit viel Alkohol absol. übergossen, dann stehen gelassen und nach einiger Zeit filtrirt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade eingedampft, dabei ab und zu kleine Mengen Wasser zugesetzt, bis die nachbleibende Flüssigkeit keinen Alkoholgeruch mehr zeigte. Diese vom Alkohol befreite, wässrige Lösung wurde stark mit Salzsäure angesäuert und trübte sich dabei nur ganz wenig. Die saure Flüssigkeit wurde in einen kleinen Glaskolben filtrirt und mit Essigäther ausgeschüttelt; der ganze Inhalt des Glaskolbens wurde in einen Scheidetrichter gegossen und gewartet bis beide Flüssigkeiten sich scharf von einander absetzten. Die unter dem Essigäther stehende, braune Lösung wurde wieder in den Glaskolben gebracht und von neuem mit Essigäther ausgeschüttelt, im Ganzen so 5 Mal. Der in einen Kolben gegossene Essigäther wurde einige Mal mit Wasser gewaschen und stellt eine leicht hellgelb gefärbte Flüssigkeit dar. Derselbe wurde nun in einer Abdampfschale auf dem Wasserbade über sehr mässigem Feuer verdunstet. Es blieb eine bräunlich gefärbte, ziemlich stark urinös riechende, klebrige Masse zurück. Diese wurde mit Petroleumäther übergossen,

um Fett und Benzoësäure zu entfernen. Der Petroleumäther wurde abgegossen und in einem Schälchen der Verdunstung überlassen. Der nach der Behandlung mit Petroleumäther zurückbleibende Rückstand wurde in einer geringen Menge warmen Wassers aufgenommen, filtrirt und unter einer Glasglocke der spontanen Verdunstung überlassen. Nach 24 Stunden schieden sich reichliche, etwas bräunliche Krystalldrüsen (da ich die wässrige Hippursäurelösung nicht entfärbt hatte) aus, welche unter dem Mikroskop die charakteristischen Formen der Hippursäure darboten.

Das Schälchen, in welchem der abgegossene Petroleumäther verdunstet war, zeigt einen geringen, gelblichen Bodensatz. Derselbe enthält nach Schmiedeberg nur Fett und Benzoësäure. Um letztere zu lösen, wurde in das Schälchen etwas warmes Wasser gethan, dasselbe abfiltrirt und zum Verdunsten gestellt. Es zeigten sich in diesem Versuche mit Rinderharn gar keine Krystalle; im Schälchen blieb ein wenig Fett nach.

Nachdem ich mich so über die Methode informirt hatte, ging ich darauf aus, die Nebenniere einer ähnlichen Untersuchung zu unterwerfen.

100 Grm. vollständig frische Nebennieren vom Rinde, zerkleinerte ich mit der Scheere und dem Hackmesser so fein als möglich, extrahirte sie mit Wasser von 45° C. mehrere Mal und presste sie durch ein Mousselintuch in eine Abdampfschale. Eine höhere Temperatur des Wassers vermied ich, um nicht durch Aufnahme leimartiger Substanzen gestört zu werden, vor denen Schmiedeberg und Bunge warnen. Das wässrige Extrakt dampfte ich auf dem Wasserbade auf

ein kleineres Volumen ein und setzte Salzsäure bis zur schwach sauren Reaction zu. Darauf erhitzte ich das Extrakt nochmals, um möglichst alles Eiweiss zu coaguliren. Dass dabei vorhandene Hippursäure nicht Zersetzungen erleidet, haben die genannten Autoren festgestellt. Das Eiweiss wurde dann abfiltrirt, das Filtrat, welches eine hellgelbe Farbe hatte, mit einer Lösung von Natr. carbonic. alkalisch gemacht. Auch hier trat durch das Alkali eine Rothfärbung der Flüssigkeit ein, wie ich es früher bei Untersuchung der Nebennieren auf Gallensäuren gesehen hatte, wenn ich zum enteweissten wässrigen Extrakt Ammoniak hinzusetzte.

Das alkalisch gemachte Filtrat wurde auf dem Dampfbade bis zur Syrupeconsistenz eingengt. Es wurde dann weiter verfahren, wie mit dem eingedampften Harn. Also Aufnahme des Syrups mit viel absolutem Alkohol, Abfiltriren desselben, Eindampfen des alkohol. Filtrats, wobei allmählig Wasser zugesetzt wurde, bis aller Alkohol entwichen war. Diese wässrige Lösung, welche auch hier, stark mit Salzsäure angesäuert, nur eine sehr geringe Trübung gab, wie beim Versuche mit Rinderharn, wurde dann filtrirt. Das saure Filtrat wurde wie oben angegeben, mit Essigäther behandelt, dieser verdunstet, der Rückstand mit Petroleumäther behandelt, dieser abgegossen und zum Verdunsten gestellt, der Rückstand mit etwas Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung, welche auf Hippursäure untersucht werden sollte, gab mir nach tagelangen Stehen im Exsiccator keine Krystalle, obgleich nur wenige Tropfen nachgeblieben waren. Deshalb schlug ich den Weg ein, auf welchem Bunge und

Schmiedeberg die kleinsten Hippursäuremengen gefunden hatten.

Die wenigen Tropfen, die unter dem Exsiccator keine Krystallisation zeigen wollten, wurden mit Wasser verdünnt, mit etwas Zinkoxyd versetzt, und auf dem Wasserbade erwärmt. Was sich von Zinksalzen gebildet und gelöst hatte, wurde abfiltrirt und das Filtrat beinahe bis zur Trockne eingedampft. Schmiedeberg und Bunge halten nämlich die Anwesenheit von Milchsäure, neben anderen organischen Säuren, als hauptsächlichstes Hinderniss für die Ausscheidung sehr kleiner Hippursäuremengen.

Es wurde deshalb das eingedampfte Filtrat mit Alkohol aufgenommen und filtrirt. Das in Alkohol unlösliche milchsaure Zink bleibt hierbei zurück, während das hippursäure Zink in Lösung geht.

Die alkoholische Lösung dampfte ich zur Trockne ein, löste den Rückstand in etwas Wasser, that dasselbe in ein kleines Kölbchen, säuerte mit Salzsäure an und schüttelte mit Essigäther aus. Den Essigäther trennte ich von der sauren Lösung und wusch ihn mit Wasser aus. Dann liess ich ihn verdunsten, wobei sich am Boden des Glasschälchens einige helle Ringe absetzten, fügte einige Tropfen warmen Wassers hinzu und stellte das Schälchen in den Exsiccator. Nach dem Verdunsten untersuchte ich den Rückstand unter dem Mikroskope. Ich fand jedoch keine Spur von Hippursäurekrystallen; in der Meinung, dass die Verdunstung unter dem Exsiccator eine zu rasche gewesen, setzte ich zum Rückstande einige Tropfen warmen Wassers und stellte nun das Gläschen unter einen Glasrichter und überliess den Inhalt der freiwilligen

Verdunstung bei Zimmertemperatur. Auch jetzt gelang es mir nicht Hippursäurekrystalle zu erhalten und somit sind meine Resultate auch hier negative.

Dass die Methode im Stande ist, auch sehr geringe Mengen Hippursäure, vermengt mit thierischen Geweben, nachzuweisen, zeigten uns Schmiederberg und Bunge, welche 0,01 Grm. Hippursäure zu einem Brei von 10 grossen, in kleine Stücke zertheilten Fröschen setzten; sie erhielten 0,0045 Grm. reine Hippursäurekrystalle wieder.

Ich bin daher berechtigt, aus meinen Versuchen zu folgern, dass die Nebennieren, im Gegensatz zu der Ansicht von Cloëz und Vulpian keine Hippursäure enthalten, da ich aus 100 Grm. auch nicht eine Spur Spur derselben erhielt; ein nochmaliger Versuch mit 200 Grm. Nebennieren war ebenso resultatlos.

Weiterhin untersuchte ich auf Benzoësäure. Wie ich oben beschrieben, trennt Petroleumäther Fett und Benzoësäure von Hippursäure. Ich verdunstete deshalb den Petroleumäther zur Trockne, mit welchem ich den Rückstand übergossen hatte, der nach Verdunstung des Essigäthers zurückgeblieben war, nahm den Rückstand mit Wasser auf, filtrirte das Fett ab und liess das wässrige Filtrat bei Zimmertemperatur verdunsten. Auch hier konnte ich im Rückstande keine Benzoësäure nachweisen. Das Ergebniss meiner Untersuchungen kann ich daher kurz in der Weise zusammenfassen:

Die Nebennieren enthalten weder Galensäuren noch Hippursäure, noch Benzoësäure.

## Thesen.

---

1. Die Nebennieren enthalten weder Gallensäuren noch Hippursäure.
  2. Die Furfuolreaction auf Gallensäuren kann nur nach möglichst genauer Isolirung derselben angestellt werden.
  3. Dem Tuberculin ist ein günstiger Einfluss auf die Lepra nicht abzusprechen.
  4. Das Antifebrin hat häufig mehr Schaden als Nutzen gestiftet.
  5. Auch bei sehr leichter Diphtheritis kann diphtheritische Nephritis mit consecutiver letaler Uraemie eintreten.
  6. Die erste Pflicht des Arztes bei schwereren Darmcatarrhen der Säuglinge ist ausser passender Anordnung der Diät, eine analeptische Medication.
-