

Mittheilungen

aus dem

analytischen Laboratorium in Zürich. 1863.

I. Ueber die Farbstoffe der Galle.

Von

G. Städeler.

Obwohl die Gallenpigmente wiederholt Gegenstand chemischer Untersuchungen gewesen sind, so sind wir doch über die Zusammensetzung und die chemische Natur dieser Stoffe wenig aufgeklärt. Wir besitzen zahlreiche Analysen von Scherer¹⁾, Hein²⁾ und Heintz³⁾, aber die erhaltenen Resultate zeigen keine Uebereinstimmung, und Scherer und Hein versuchten es deshalb auch nicht, Formeln für die analysirten Körper zu berechnen. Heintz extrahirte die von Cholesterin, Fett und Erden möglichst befreiten Gallensteine mit kohlensaurem Natron und fällte aus der Lösung das Gallenpigment mit Salzsäure. Auf diese Weise wurde ein dunkel grünlich brauner Körper erhalten, das Biliphäin, dessen Zusammensetzung am nächsten mit der Formel $C_{31} H_{18} N_2 O_9$ übereinstimmte. Heintz analysirte auch den durch freiwillige Oxydation aus dem Biliphäin entstehenden

¹⁾ Annalen der Chem. u. Pharm. LIII. 377.

²⁾ Erdmann's Journal. XL. 47.

³⁾ Poggendorff's Annalen. LXXXIV. 106.

grünen Farbstoff, das Biliverdin, und da er dieses der Formel $C_{16} H_9 NO_5$ entsprechend zusammengesetzt fand, so hielt er es für wahrscheinlich, dass das Biliphäin 1 Aeq. Kohlenstoff mehr enthalte, als sich aus der Analyse ergeben hatte, also nach der Formel $C_{32} H_{18} N_2 O_9$ zusammengesetzt sei.

Aber auch gegen diese Formel lässt sich ein Einwand erheben, nämlich der, dass wir keinen organischen Körper kennen, welcher eine ungerade Zahl von Sauerstoffäquivalenten enthält, und es wurde daher mehr als wahrscheinlich, dass das von Heintz analysirte Biliphäin ein Gemenge von verschiedenen Farbstoffen gewesen sei. Diese Ansicht erhielt schliesslich ihre Bestätigung durch eine Untersuchung von Valentiner¹⁾, welchem es gelang aus Galle und aus Gallensteinen mit Chloroform einen Farbstoff auszuziehen, der in rothen Krystallen anschoss und in ausgezeichneter Weise die bekannte Gmelin'sche Gallenpigmentreaction gab. Valentiner glaubte in dem Gallenroth, das er für identisch mit dem Hämatoidin hielt, die einzige Ursache dieser Reaction zu erkennen, während Brücke²⁾ nachwies, dass das Gallenroth in alkalischer Lösung durch Sauerstoffaufnahme in Biliverdin übergehe, dass dieses auch in der mit Chloroform extrahirten menschlichen Galle enthalten sei, und mit Salpetersäure, wie schon Heintz beobachtet, ebenfalls ein lebhaftes Farbenspiel zeige. Eine Analyse des Gallenrothes ist nicht gemacht worden, und vergleicht man die Formel, welche sich aus Robin's Analysen für das Häma-

1) Günzburg's Zeitschrift. 1858. S. 46.

2) Wiener Sitzungsber. d. Acad. d. W. XXXV. 13.

toidin¹⁾ berechnet: $C_{30} H_{18} N_2 O_6$ mit der Formel des Biliverdins: $C_{16} H_9 N O_5$ oder $C_{32} H_{18} N_2 O_{10}$, so ergibt sich, dass das letztere im Verhältniss zum Stickstoff mehr Kohlenstoff enthält, als das Hämatoidin, dass also, wenn Robin's Analysen richtig sind, das Biliverdin nicht durch Oxydation aus dem Hämatoidin entstehen kann.

Vor etwa 8 Jahren habe ich²⁾ gemeinschaftlich mit Frerichs darauf aufmerksam gemacht, dass die Gallensäuren durch ein sehr einfaches Verfahren in Farbstoffe verwandelt werden können, und dass diese Körper in ihrem Verhalten gegen Salpetersäure viel Aehnlichkeit mit den natürlich vorkommenden Gallenpigmenten zeigen. Es lag die Ansicht nahe, dass die Gallenpigmente ihr Entstehen der aus dem Darmkanal resorbirten, oder bei Icterus der aus der Leber in die Blutbahn gelangten Galle zu verdanken hätten, und wir wurden in dieser Ansicht bestärkt, da wir fanden; dass nach der Injection von gallensauren Salzen der Harn von Hunden, wenn nicht regelmässig, doch in den meisten Fällen beträchtliche Mengen von wirklichem Gallenpigment enthielt. — Unsere Versuche sind theils von unseren Schülern, theils von anderen Forschern mit gleichem Resultat oft wiederholt worden und Niemand läugnet die Richtigkeit der von uns beobachteten Thatsache. Meinungsverschiedenheiten herrschen nur darüber, ob die Gallensäuren in der Blutbahn direct in Pigmente verwandelt werden, oder ob die Pigmentbildung der auflösenden Wirkung dieser Säuren auf das Blutroth zuge-

1) Annal. der Chem. u. Pharm. CXVI. 89.

2) Mittheil. d. naturf. Gesellsch. in Zürich. IV. 100.

schrieben werden müsse. Durch blossen Injectionsversuche, wie es bisher geschehen ist, liess sich die Frage offenbar nicht genügend beantworten, während von einer vergleichenden chemischen Untersuchung der künstlichen und der natürlich vorkommenden Gallenpigmente bestimmte Aufschlüsse zu erwarten standen.

Um diese Vergleichung vornehmen zu können, habe ich mich zunächst mit einer Untersuchung der natürlichen Gallenpigmente beschäftigt. — Indem ich die erhaltenen Resultate mittheile, benutze ich zugleich die Gelegenheit, allen Freunden und Collegen, die mich durch Zusendung von Material bei dieser Untersuchung unterstützt haben, meinen Dank hiemit auszusprechen.

Farbstoffe der menschlichen Gallensteine.

Stark pigmentirte Gallensteine, von denen einige rothbraun waren und fast ganz aus Pigment bestanden, wurden zerrieben und durch Behandlung mit Aether von Cholesterin und Fett befreit. Der Rückstand wurde zur Entfernung von etwa beigemengter Galle mit heissem Wasser extrahirt und dann nach dem Trocknen wiederholt mit Chloroform ausgekocht. Die Auszüge enthielten nur wenig Farbstoff; beim Verdunsten blieb ein geringer grünlichbrauner klebender Rückstand, in welchem man mit dem Mikroskop die von Valentin beschriebenen elliptischen gelben Blättchen des Gallenroths in spärlicher Menge beobachtete.

Der mit Chloroform extrahirte Rückstand der Gallensteine wurde nun mit verdünnter Salzsäure be-

handelt. Es entwickelte sich Kohlensäure und das violette Filtrat, das übrigens mit Salpetersäure nur eine undeutliche Pigmentreaction gab, enthielt eine grosse Menge von Kalk neben etwas Magnesia, zum Theil an Phosphorsäure gebunden. Auch ohne quantitativen Versuch war leicht zu erkennen, dass die entwickelte Kohlensäure und die vorhandene Phosphorsäure in keinem Verhältniss standen zu den aufgefundenen Basen; diese mussten also zum Theil an die organischen Körper gebunden gewesen sein.

Nach dem Auswaschen und Trocknen war der Rückstand dunkel braungrün. Siedendes Chloroform nahm jetzt eine sehr beträchtliche Menge des Farbstoffs auf. Die Auszüge waren anfangs dunkel gefärbt und hinterliess bei Verdunsten einen sehr dunkeln Rückstand, der bei der Hitze des Wasserbades schmolz und beim Erkalten krystallinisch erstarrte. Bei der Behandlung dieser Masse mit absolutem Weingeist wurde neben anderen Stoffen ein braunes Pigment ausgezogen, das ich Bilifuscin nennen werde, während eine ansehnliche Menge von Gallenroth, Bilirubin, aber in sehr unreinem Zustande zurückblieb.

Als der Gallenstein-Rückstand an Chloroform kein braunes Pigment mehr abgab, hatte er eine helle Olivenfarbe angenommen. Er enthielt noch viel Gallenroth und daneben einen grünen Farbstoff, Biliprasin, das sich in Weingeist mit schön grüner Farbe löste. Dieses wurde zunächst durch wiederholte Behandlung mit Weingeist entfernt und dann das Gallenroth vollends mit siedendem Chloroform extrahirt.

Nach den angegebenen Behandlungen blieb endlich

ein in Wasser, Weingeist, Aether, Chloroform und verdünnten Säuren unlöslicher Rückstand, ein dunkler huminähnlicher Körper, für den der Name Bilihumin passend sein dürfte.

1. Bilirubin.

Um diesen Farbstoff, der in vorwiegender Menge in den menschlichen Gallensteinen vorkommt, zu reinigen, wurde er einige Male in Chloroform gelöst, die filtrirte Lösung verdunstet und der Rückstand mit Aether und Weingeist gewaschen. Der abfliessende Weingeist zeigt sich immer mehr oder minder grün bis grünlichbraun gefärbt, während das Bilirubin als ein lebhaft rothes bis orangerotes, körnig-krystallinisches Pulver zurückblieb.

Bei der Analyse des so gereinigten Farbstoffes wurden Zahlen erhalten, die mit keiner annehmbaren Formel genügend übereinstimmten, woraus auf eine Verunreinigung geschlossen werden musste. Diese zu beseitigen gelang mir dadurch, dass ich die Chloroformlösung nur bis zur beginnenden Abscheidung von Bilirubin verdunsten liess und sie dann durch Zusatz von Weingeist fällte. Auf diese Weise wurde das Bilirubin als amorphes orangefarbenes Pulver erhalten; ein ziemlich bedeutender Verlust war dabei nicht zu vermeiden.

Der erhaltene Farbstoff verbrannte auf Platinblech ohne einen Rückstand zu hinterlassen. Nach mehrtägigem Stehen über Schwefelsäure verlor er bei 100° nahezu 1 Proc. an Gewicht. Bei weiterem Erhitzen auf 120—130° blieb das Gewicht constant. Beim Erhitzen im Glasrohr schmolz das Bilirubin, es blähte sich auf und entwickelte gelbe übelriechende Dämpfe,

welche Bleipapier schwärzten. Dagegen wurde beim Verbrennen von 0,176 Grm. Substanz mit Kalk und Salpeter, Auflösen der geglühten Masse in verdünnter Salzsäure und Zusatz von Chlorbarium keine Trübung wahrgenommen. — Die durch Bleipapier angezeigte Spur von Schwefel war auch in allen übrigen Pigmenten der Gallensteine nachzuweisen.

Das zu den folgenden Analysen benutzte Bilirubin war bei zwei Darstellungen erhalten worden.

I. 0,3765 Grm., bei 120° getrocknet, gaben 0,927 Grm. Kohlensäure und 0,2125 Grm. Wasser.

0,2563 Grm., bei derselben Temperatur getrocknet, lieferten bei der Verbrennung mit Natronkalk eine Quantität Salmiak, aus welcher mit salpetersaurem Silber 0,252 Grm. Chlorsilber gefällt wurden.

II. 0,3105 Grm., bei 130° getrocknet, gaben 0,764 Grm. Kohlensäure und 0,171 Grm. Wasser.

Aus diesen Daten berechnet sich für das Bilirubin die Formel $C_{32} H_{18} N_2 O_6$.

		berechnet.		I.	II.
32 Aeq.	Kohlenstoff	192	67,13	67,15	67,11
18 „	Wasserstoff	18	6,29	6,27	6,12
2 „	Stickstoff	28	9,79	9,59	
6 „	Sauerstoff	48	16,79	16,99	
		286	100,00	100,00	

Ich habe schon angeführt, dass die Farbe des Bilirubins verschieden ausfallen kann. Im amorphen Zustande ist es orangefarben, etwa wie Schwefelantimon, in krystallinischer Form hat es die lebhaft dunkelrothe Farbe der Chromsäure. Gut ausgebildete oder gar messbare Krystalle habe ich aus der reinen Chloroformlösung niemals erhalten. Bessere Krystalle er-

hält man direct aus der Galle; die krystallinische Ausscheidung wird in diesem Falle durch das gleichzeitige Vorkommen von Fett und Cholesterin in der Lösung vermittelt.

In Wasser ist das Bilirubin ganz unlöslich, spurweise löst es sich in Aether und wenig mehr in Weingeist. Die heiss bereitete weingeistige Lösung ist rein goldgelb, beim Abkühlen wird sie heller und bei der Filtration bleibt die grösste Menge des Farbstoffes an der Papierfaser haften, so dass das Filtrat nur noch einen Stich in's Gelbe zeigt.

Chloroform ¹⁾ löst das Bilirubin schon in der Kälte mit rein gelber bis blass orangerother Farbe. Je krystallinischer es ist, um so schwerer erfolgt die Lösung;

¹⁾ Im Handel kommt jetzt ziemlich häufig ein in beständiger Zersetzung begriffenes Chloroform vor. Frisch über etwas Alkali rectificirt, hat es den Geruch des reinen Chloroforms, es wird aber rasch sauer und nimmt den erstickenden Geruch des Phosgengases an. Ein solches in Zersetzung begriffenes Chloroform löst das Bilirubin mit grüner Farbe, ebenfalls werden die gelben Chloroformlösungen dadurch grün gefärbt.

Da weniger als 1 Milligr. Bilirubin zu dieser Reaction ausreichend ist, und dieselbe schon dann eintritt, wenn die Zersetzung des Chloroforms eben beginnt und der Geruch des Phosgengases noch nicht deutlich wahrzunehmen ist, so halte ich das Bilirubin für ein ausgezeichnetes Reagens, um Chloroform auf seine medicinische Anwendbarkeit zu prüfen. Bei gutem, aus Weingeist dargestelltem Chloroform habe ich die angeführte Zersetzung und die angeführte Reaction mit dem Bilirubin niemals beobachtet.

Aehnlich wie das in Zersetzung begriffene Chloroform wirkt auch freies Chlor. Alkalische Lösungen des Bilirubins werden dadurch zwar ohne weiteren Farbenwechsel gebleicht, setzt man dagegen zu einer gelben Chloroformlösung ganz wenig Chlorwasser, so tritt prachttvolle grüne Färbung ein. Ueberschuss von Chlor wirkt auch hier bleichend.

es ist dann anhaltendes Kochen nöthig. Die bei Siedhitze völlig gesättigte Lösung ist dunkel bräunlich-roth.

Schwefelkohlenstoff und Benzol sind ebenfalls gute Lösungsmittel für das Bilirubin. Terpentinöl und fette Oele (Mandelöl) lösen es in der Wärme mit gelber Farbe.

In alkalischen Flüssigkeiten löst sich das Bilirubin mit tief orangerother Farbe und bei starker Verdünnung werden die Lösungen gelb. Eine 15 Millim. dicke Schicht der alkalischen Lösung ist bei 15000facher Verdünnung noch deutlich orangefarbig, bei 20000facher Verdünnung tief goldgelb, bei 25000 bis 100,000facher Verdünnung rein gelb, wie Lösungen von neutralem chromsaurem Kali. Gelbliche Färbung ist in 15 Millim. dicker Schicht noch bei 500,000facher und in einer zweizölligen Schicht bei 1,000,000facher Verdünnung wahrzunehmen. — 30 bis 40000fach verdünnte Lösungen färben die Haut noch deutlich gelb. — Bei so ausserordentlichem Farbvermögen ist das mitunter so rasche Eintreten von Gelbsucht, die gelbe Färbung des Auges und der Haut, leicht erklärlich. Aus der Farbe des Auges bei intensivem Icterus darf man auf etwa 20—25000fache Verdünnung des Pigmentes schliessen.

Die mitgetheilten Bestimmungen der Farbenintensität wurden mit ammoniakalischen Bilirubinlösungen gemacht; solche Lösungen bleichen, wenn auch nicht vollständig, ziemlich rasch im directen Sonnenlicht, während sie sich im zerstreuten Licht nur langsam zersetzen. Sie werden allmähig hellbräunlich gelb und verlieren die Eigenschaft durch Salzsäure gefällt zu werden, während sich aus der unzersetzten Lö-

sung, auch bei grosser Verdünnung, auf Zusatz von Salzsäure sogleich Bilirubin in orangefarbigen Flecken abscheidet.

Lösungen von Bilirubin in natronhaltigem Wasser haben dieselbe Farbe wie ammoniakalische Lösungen; überschüssiges Natron verändert die Farbe etwas, besonders bei Siedhitze, wobei eine tief greifende Zersetzung eintritt (s. Biliverdin). Auch ist die Natronverbindung des Bilirubins in Natronlauge weniger löslich als in reinem Wasser. Setzt man zu der dunkel orangefarbigen Lösung einen hinreichenden Ueberschuss von 6 procentiger Natronlauge, so scheidet sich die Verbindung in voluminösen bräunlichen Flecken ab. — In kohlensaurem Natron ist das Bilirubin weit weniger löslich als in reinem Natron.

Von Chloroform werden die Alkaliverbindungen nicht aufgelöst. Schüttelt man eine Chloroformlösung des Bilirubins mit ammoniakalischem oder mit natronhaltigem Wasser, so wird das Chloroform entfärbt, indem aller Farbstoff in die alkalische Lösung geht.

Die Verbindungen, welche das Bilirubin mit den Erden und schweren Metalloxyden eingeht, sind in Wasser unlöslich oder nur spurweise löslich.

Vermischt man eine schwach ammoniakalische Farbstofflösung mit Chlorcalcium, so scheidet sich die Kalkverbindung in voluminösen rostfarbenen Flocken ab. Im luftleeren Raum über Schwefelsäure getrocknet, ist die Verbindung prächtig dunkelgrün mit metallischem Reflex, zerrieben stellt sie ein dunkelbraunes Pulver dar von der Farbe der pigmentreichen menschlichen Gallensteine, die auch zum grössten Theil aus dieser Verbindung bestehen. Die über Schwefel-

säure getrocknete Kalkverbindung verändert ihr Gewicht nicht bei 100°.

0,2549 Grm. hinterliessen beim Verbrennen, Anfeuchten der Asche mit kohlensaurem Ammoniak und Trocknen bei 130° 0,0414 Grm. kohlensauren Kalk, übereinstimmend mit der Formel:



Die Rechnung verlangt 9,18 Proc. Kalk; gefunden wurden 9,10 Proc.

In Aether, Weingeist und Chloroform ist der Bilirubin-Kalk so gut wie unlöslich. Die beiden letzten Lösungsmittel, anhaltend mit der frisch gefällten Verbindung gekocht, färben sich nur schwach gelb.

Auf gleiche Weise wie die Kalkverbindung habe ich bei Anwendung von Chlorbarium, Bleizucker, Bleiessig und Silbersalpeter die Baryt-, Blei- und Silberverbindungen dargestellt. Die beiden ersten sind der Kalkverbindung ganz ähnlich, die Silberverbindung fällt in brännlich violetten Flocken nieder, die ohne Reduction von Silber mit der Flüssigkeit gekocht werden können.

Concentrirte Mineralsäuren wirken zersetzend auf das Bilirubin ein, während es von kochender concentrirter Essigsäure nicht verändert wird und sich nur spurweise darin auflöst.

Uebergiesst man Bilirubin mit einer verdünnten Salpetersäure, welche 20 Proc. Hydrat enthält, so bemerkt man in der Kälte keine wesentliche Einwirkung, beim Erwärmen damit verwandelt es sich dagegen in dunkelviolette Harzflocken, die bei weiterer Einwirkung hellbrännlich werden und sich beim Aufkochen mit gelber Farbe lösen. Eine Säure mit 30 Proc.

Hydrat bildet die Harzflocken schon in der Kälte und färbt sich röthlich; beim Erwärmen verschwinden die Flocken und die Lösung wird gelb. Wendet man reines Salpetersäurehydrat an, so löst sich das Bilirubin schon in der Kälte mit tief rother Farbe, und nach einiger Zeit oder beim Erhitzen wird die Lösung heller, behält aber selbst bei mehrtägigem Stehen eine lebhaft kirschrothe Farbe.

Vermischt man Lösungen des Bilirubins mit käuflicher concentrirter Salpetersäure, der man zweckmässig etwas rothe rauchende Säure zusetzt, so erhält man die bekannte Gallenpigmentreaction in ausgezeichnetem Grade. Am besten wendet man alkalische Lösungen an und vermischt dieselben vor dem Säurezusatz mit ungefähr dem gleichen Volumen Weingeist. Bei Weingeistzusatz erhält man eine prachtvolle Reaction auch dann, wenn die anzuwendende Säure keine Untersalpetersäure enthält und die Probe wird durch ausgeschiedene Pigmentflocken nicht getrübt. Die gelbe Farbe geht zuerst in grün über, wird dann blau, violett, rubinroth und endlich schmutzig gelb. Wird nicht geschüttelt, so zeigen sich alle diese Farben gleichzeitig schichtenweise über einander. $\frac{1}{4}$ Milligr. Bilirubin in 4 CC Lösung bringt noch ein prächtiges Farbenspiel hervor. Die Grenze der Reaction tritt erst bei 70—80000facher Verdünnung ein.

Das bei der angegebenen Reaction entstehende blaue Pigment lässt sich ohne Schwierigkeit isoliren. Vermischt man eine nicht zu verdünnte ammoniakalische Bilirubinlösung tropfenweise mit der oben angegebenen Säuremischung, und beseitigt von Zeit zu Zeit einen zu grossen Ueberschuss von Salpetersäure durch annähernde Neutralisation mit Ammoniak, so

erhält man zuerst einen grünen flockigen Niederschlag, der allmählig blau wird. Nach dem Auswaschen mit Wasser kann ihm beigemengtes grünes Pigment durch Weingeist entzogen werden und es bleibt dann ein tief schwarzblaues Pulver zurück. Die Ansicht liegt nahe, dass dieses blaue Pigment in Beziehung steht zu dem Indiggehalt des Harns. Leider besass ich nicht genug Material, um Versuche in dieser Richtung anstellen zu können.

Ein prachtvolles Blau kann man auch bei Anwendung von Chloroform erhalten. Wird eine gelbe Chloroformlösung des Bilirubins mit einem oder zwei Tropfen Salpetersäure vermischt und geschüttelt, so wird die Flüssigkeit sehr dunkel, bald in's Violette übergehend und dann rubinroth werdend. — Setzt man, sobald der violette Farbenton eingetreten ist, Weingeist hinzu, so erfolgt Mischung, die Lösung wird tief blau und verändert nur langsam ihre Farbe.

In kalter concentrirter Schwefelsäure löst sich das Bilirubin zu einer bräunlichen Flüssigkeit, die allmählig violett-grün wird. Auf Zusatz von Wasser scheiden sich dann dunkelgrüne, fast schwarze Flocken ab, die sich mit prachtvoll violetter Farbe in Weingeist lösen. Salpetersäure giebt damit ein schönes Farbenspiel, wobei das Roth besonders schön und lebhaft ist.

Wird Bilirubin mit rauchender Salzsäure erhitzt, so wird es dunkelbraun, vielleicht durch Bildung von Bilifuscin. Die Zersetzung scheint aber bis zur Huminbildung fortschreiten zu können, indem der durch längeres Kochen entstehende braune Körper sich nicht mehr in verdünntem Ammoniak auflöst.

Reducirende Materien wirken sehr energisch auf

das Bilirubin ein. Vermischt man die tiefrothbraune alkalische Lösung des Farbstoffs mit Natriumamalgam, so nimmt die Farbe rasch ab und die Lösung wird blassgelb; auch beim Erwärmen verschwindet dieser Farbenton nicht. Ich habe den hierbei entstehenden Körper, der wahrscheinlich in demselben Verhältniss zum Bilirubin steht, wie das Indigweiss zum Indigblau, nicht näher untersuchen können. Ist das ange-deutete Verhältniss richtig, so würde dieser gelbe Körper der Formel $C_{32} H_{20} N_2 O_6$ entsprechend zusammengesetzt sein.

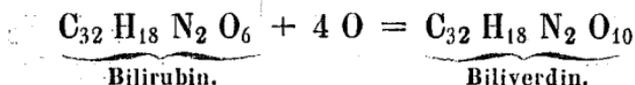
2. Biliverdin.

Wird eine Lösung von Bilirubin in überschüssiger Natronlauge auf flachen Tellern der Einwirkung der Luft ausgesetzt oder anhaltend mit Luft geschüttelt, so nimmt sie ziemlich rasch Sauerstoff auf und die Lösung wird grün. Hat diese Farbe ihre grösste Intensität erreicht, so entsteht auf Zusatz von Salzsäure ein lebhaft grüner Niederschlag, der in Aether und in Chloroform unlöslich ist, während er sich in Weingeist sehr leicht mit prachtvoll grüner Farbe auflöst. Etwa beigemengtes unzersetztes Bilirubin bleibt dabei in orangefarbenen Flocken zurück. Salpetersäure färbt die grüne Lösung zuerst blau, dann violett, roth und schliesslich schmutzig gelb.

Dieses grüne Pigment ist ohne allen Zweifel das von Heintz¹⁾ analysirte Biliverdin, wofür er die Formel $C_{16} H_9 N O_5$ oder $C_{32} H_{18} N_2 O_{10}$ aufgestellt hat.

Nimmt man diese Formel als richtig an, so würde die Bildung des Biliverdins aus dem Bilirubin auf einfacher Oxydation beruhen:

¹⁾ Poggendorff's Annalen. LXXXIV. 117.



Aber ich habe einige Beobachtungen gemacht, welche die Richtigkeit dieser Formel bezweifeln lassen.

Natronlauge löst nämlich das Bilirubin in der Kälte ohne Veränderung auf; wird die Lösung mit Salzsäure übersättigt, so scheidet es sich in orangefarbenen Flocken wieder ab. Ebenso verhält sich eine Lösung des Bilirubins in Ammoniak und es ist dabei gleichgültig, ob die Lösung kalt bereitet oder zuvor gekocht worden ist. Kocht man dagegen eine Natronlösung, so beobachtet man, auch bei völligem Abschluss der Luft, eine auffallende Farbenveränderung, die rothe Lösung wird dunkelbraun bis grünbraun, und übersättigt man dann mit Salzsäure, so erhält man keinen orangefarbenen, sondern einen dunkelgrünen Niederschlag. Bei der Behandlung desselben mit Weingeist bleibt eine schmutzig gelbe Materie auf dem Filtrum zurück, während der Farbstoff, welcher sich in dem prachtvoll grünen Filtrat befindet, alle Eigenschaften des Biliverdins besitzt. Namentlich gibt es mit den Alkalien eine grüne Lösung, wodurch sich das Biliverdin am leichtesten vom Biliprasin unterscheiden lässt, das sich in den Alkalien mit brauner Farbe auflöst.

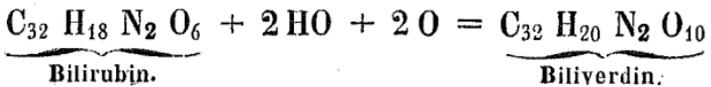
Die Bildung des Biliverdins durch einfaches Kochen der natronhaltigen Bilirubinlösung scheint gegen die Annahme der von Heintz aufgestellten Formel zu sprechen, und vergleicht man die von ihm erhaltenen analytischen Resultate mit der Formel, so zeigt sich auch keineswegs eine so genügende Uebereinstimmung, dass man dieselbe als unzweifelhaft feststehend betrachten müsste. Der gefundene Kohlenstoff- und Stick-

stoffgehalt stimmt besser mit der Formel $C_{32} H_{20} N_2 O_{10}$ überein, während der gefundene Wasserstoff in der Mitte zwischen beiden Formeln liegt.

	$C_{32} H_{20} N_2 O_{10}$	gefunden:	$C_{32} H_{18} N_2 O_{10}$
Kohlenstoff	60,00	60,04	60,38
Wasserstoff	6,25	5,84	5,66
Stickstoff	8,75	8,53	8,80
Sauerstoff	25,00	25,59	25,16
	100,00	100,00	100,00

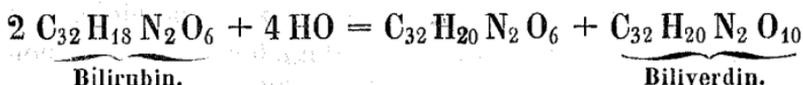
Wahrscheinlich war das von Heintz analysirte Biliverdin nicht vollkommen rein, da es aus einem Farbstoffgemenge, aus dem s. g. Biliphain durch Auflösen in kohlensaurem Natron und freiwillige Oxydation erhalten wurde. Ich bedaure daher um so mehr gegenwärtig nicht im Besitze einer genügenden Menge von reinem Bilirubin zu sein, um das Biliverdin einer neuen Analyse unterwerfen zu können.

Nimmt man die Formel $C_{32} H_{20} N_2 O_{10}$ für diesen Körper an, so steht er in demselben Verhältniss zum Bilirubin, wie das Biliprasin zum Bilifuscin und seine Bildung durch freiwillige Oxydation des Bilirubins ergibt sich aus folgender Gleichung:

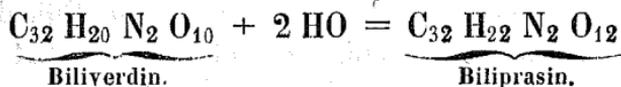


Ebenso ungezwungen würde sich dann auch seine Bildung durch Kochen des Bilirubins mit Natron erklären lassen. Die Zersetzung muss sich in diesem Falle nothwendig auf 2 Aeq. Bilirubin erstrecken; es muss also neben dem Biliverdin ein zweiter Körper entstehen, wahrscheinlich derselbe, der sich auch bei der Einwirkung von Natriumamalgam auf Bilirubin

bildet. Die Zersetzungsgleichung würde folgende sein :



Ein anderer Grund, der für die aufgestellte Formel des Biliverdins spricht, ist der, dass es sich in alkalischer Lösung allmähig noch weiter verändert. Die grüne Farbe der Lösung geht in ein tiefes Braun über, und Salzsäure fällt dann einen dunkelgrünen Niederschlag, der sich in Weingeist mit grüner Farbe löst, durch Zusatz von Alkali aber wieder braun wird, und mit Salpetersäure ein schönes Farbenspiel zeigt, wobei indess der beim Bilirubin und Biliverdin so ausgezeichnete blaue Farbenton bedeutend zurücktritt. Dieses sind die Eigenschaften des Biliprasins, dessen Bildung aus dem Biliverdin sich bei Annahme der obigen Formel durch blosse Wasseraufnahme erklären lässt.



Ich bemerke noch, dass ich das Biliverdin nicht fertig gebildet in den Gallensteinen angetroffen habe. Kommt es überhaupt darin vor, so kann es nur spurweise darin vorhanden sein. Wahrscheinlich verwandelt es sich in der alkalischen Galle durch Wasseraufnahme in Biliprasin.

3. Bilifuscin.

Um diesen braunen Farbstoff aus der früher erwähnten weingeistigen Lösung zu erhalten, wurde dieselbe zur Trockne verdunstet und der schwarzbraune krystallinische, bei mässiger Erhitzung schmel-

zende Rückstand mit absolutem Aether behandelt. Die krystallinische Beschaffenheit und Schmelzbarkeit rührte von Palmitinsäure und ähnlichen fetten Säuren her, die gleichzeitig mit einem Theil des braunen Pigmentes in die ätherische Lösung gingen. Eine genügende Trennung dieser Körper gelang nicht; das in Aether gelöste braune Pigment ging daher verloren. Die fetten Säuren waren offenbar ursprünglich als Kalkverbindungen in den Gallensteinen enthalten, wären sie frei gewesen, so hätten sie bei der ersten Behandlung der rohen Gallensteine mit Aether gleichzeitig mit dem Cholesterin in Lösung gehen müssen.

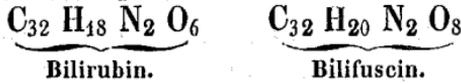
Das durch Aether von fetten Säuren befreite Bilifuscin war jetzt in Chloroform nicht merklich löslich; die frühere Löslichkeit war durch die fetten Säuren vermittelt worden, ebenso wie die Löslichkeit in Aether. Zur Reinigung wurde es einige Male mit Chloroform ausgezogen, um Spuren von Bilirubin zu entfernen, dann in wenig absolutem Weingeist gelöst und das Filtrat zur Trockne verdunstet.

So dargestellt bildet das Bilifuscin eine fast schwarze glänzende spröde Masse, die beim Zerreiben ein dunkelbraunes, etwas in's Olivenfarbene ziehendes Pulver gibt. Es ist frei von Aschenbestandtheilen, verhält sich beim Erhitzen ebenso wie das Bilirubin und gibt mit Salpetersäure eine ebenso schöne Pigmentreaction.

0,2655 Grm. der bei 120° getrockneten Substanz gaben bei der Verbrennung 0,614 Grm. Kohlensäure und 0,1575 Grm. Wasser; übereinstimmend mit der Formel: $C_{32}H_{20}N_2O_8$.

		berechnet		gefunden.
32 Aeq.	Kohlenstoff	192	63,16	63,07
20 "	Wasserstoff	20	6,58	6,59
2 "	Stickstoff	28	9,21	
8 "	Sauerstoff	64	21,05	
		304	100,00	

Der Analyse zufolge steht das Bilifuscin in sehr einfacher Beziehung zum Bilirubin; es unterscheidet sich davon in der Zusammensetzung nur durch die Elemente von 2 Aeq. Wasser, welche es mehr enthält:



Das Bilifuscin ist von allen Pigmenten in kleinster Menge in den Gallensteinen enthalten; ich erhielt davon nicht mehr, als zur Analyse und zur Feststellung der wichtigsten Eigenschaften nothwendig war.

Das reine Bilifuscin ist in Wasser, Aether und Chloroform nicht oder doch nur spurweise löslich, während es sich in Weingeist sehr leicht mit tiefbrauner Farbe auflöst. Bei starker Verdünnung zeigt die Lösung die Farbe des stark pigmentirten icterischen Harns; auf Zusatz von etwas Salzsäure verändert sich die Farbe nicht, durch Alkalien wird sie lebhafter, mehr röthlichbraun.

In ammoniakalischem und in natronhaltigem Wasser ist das Bilifuscin sehr leicht mit tiefbrauner Farbe löslich. Salzsäure scheidet es aus diesen Lösungen in braunen Flocken wieder ab.

Vermischt man die ammoniakalische Lösung mit Chlorcalcium, so fällt die Kalkverbindung in dunkelbraunen Flocken nieder, viel weniger voluminös wie die Kalkverbindung des Bilirubins.

Setzt man eine Natronlösung der Einwirkung der Luft aus, so tritt Zersetzung ein, ohne dass dabei eine wesentliche Veränderung der Farbe zu bemerken wäre. Wahrscheinlich wird dabei zunächst Biliprasin gebildet, schliesslich beobachtet man aber nur noch das Vorhandensein von huminähnlichen Stoffen.

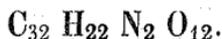
4. Biliprasin.

Die Gewinnung des Biliprasins ist früher angegeben worden. Um es aus der weingeistigen Lösung, die gleichzeitig eine sehr kleine Menge Bilirubin enthält, rein darzustellen, wird der gepulverte Verdampfungsrückstand zunächst mit Aether und Chloroform behandelt, dann in ganz wenig kaltem Weingeist gelöst, und die filtrirte tief grüne Lösung zur Trockne verdunstet. Das reine Biliprasin bleibt dabei als glänzende, fast schwarze, spröde Kruste zurück, ganz ähnlich dem Gallenbraun; im gepulverten Zustande hat es eine grünlichschwarze Farbe. Es schmilzt beim Erhitzen, bläht sich auf und entwickelt eigenthümlich riechende Dämpfe, die nur wenig gefärbt sind. Beim Verbrennen hinterliess es 0,6 Proc. ungeschmolzene Asche von schwach alkalischer Reaction, aber nicht mit Säuren brausend. — Bei den folgenden Angaben wurde der Aschegehalt in Abzug gebracht.

0,301 Grm. des bei 100° getrockneten Farbstoffes gaben bei der Verbrennung 0,627 Grm. Kohlensäure und 0,1765 Grm. Wasser.

Der Stickstoff wurde auf gleiche Weise bestimmt, wie beim Bilirubin. 0,096 Grm. gaben 0,073 Grm. Chlorsilber.

Diese Verhältnisse führen zu der Formel:



		berechnet.		gefunden.
32 Aeq.	Kohlenstoff	192	56,81	56,81
22 „	Wasserstoff	22	6,51	6,52
2 „	Stickstoff	28	8,28	7,42
12 „	Sauerstoff	96	28,40	29,25
		338	100,00	100,00

Die Abweichung im Stickstoffgehalt ist nicht auffallend, wenn man berücksichtigt, dass zu dem Versuch nur eine sehr kleine Menge des Farbstoffes zu Gebote stand.

Das Biliprasin kommt in den Gallensteinen in kaum grösserer Menge vor wie das Bilifuscin. In Wasser, Aether und Chloroform ist es unlöslich, während es sich in Weingeist sehr leicht mit rein grüner Farbe auflöst. Die Farbe der Lösung ist wesentlich verschieden von der des Biliverdins, dieses löst sich mit einer mehr blaugrünen Farbe. Auch sind beide Farbstoffe in weingeistiger Lösung leicht dadurch zu unterscheiden, dass die Biliprasinlösung auf Zusatz von Ammoniak braun wird, was beim Biliverdin nicht der Fall ist. Bleibt das Biliprasin einige Zeit an der Luft liegen, so zieht es etwas Ammoniak an und löst sich dann mit brauner Farbe in Weingeist. Man könnte diese Lösung mit einer Bilifuscinlösung verwechseln; aber die letzte verändert ihre Farbe nicht auf Zusatz von Salzsäure, während die braune Biliprasinlösung durch Salzsäure schön grün wird.

Vermischt man die weingeistige Biliprasinlösung auf bekannte Weise mit Salpetersäure, so erhält man

eine sehr schöne Pigmentreaction, nur das Blau ist sehr zurücktretend oder undeutlich.

In den reinen Alkalien ist das Biliprasin leicht löslich, viel weniger in kohlensaurem Natron. Die stark verdünnten Lösungen haben dieselbe Farbe wie stark pigmentirter brauner icterischer Harn. Vermischt man die Lösung mit einer Säure, so tritt natürlich durch Entziehung des Alkalis wieder die grüne Farbe auf. Da der braune icterische Harn bei freiwilliger Säuerung, so wie auf Zusatz irgend einer Säure dieselbe Farbenveränderung zeigt, so muss man schließen, dass darin das Biliprasin in vorwiegender Menge vorhanden ist.

Wird die Natronlösung des Biliprasin längere Zeit der Einwirkung der Luft ausgesetzt, so geht es allmählig in Bilihumin über.

5. Bilihumin.

Es findet sich in ansehnlicher Menge in den Gallensteinen und bleibt zurück, wenn man dieselben nach einander mit Aether, Wasser, verdünnten Säuren, Chloroform und Weingeist behandelt. Um es vollständig von den besprochenen Pigmenten zu befreien, wurde es einige Male mit ammoniakalischem Wasser ausgezogen, worauf es als schwarzbraune pulverförmige Substanz zurückblieb. So dargestellt eignete sich das Bilihumin aber nicht für die Analyse, da es noch Epithel, Gallenblasenschleim und ähnliche Stoffe, welche den Kern der Gallensteine zu bilden pflegen, beigemischt enthalten musste.

Ich habe die Reinigung dadurch zu bewerkstelligen gesucht, dass ich es in noch feuchtem Zustande wiederholt und sehr anhaltend bei einer Temperatur von 50—60° mit ziemlich concentrirter Ammoniak-

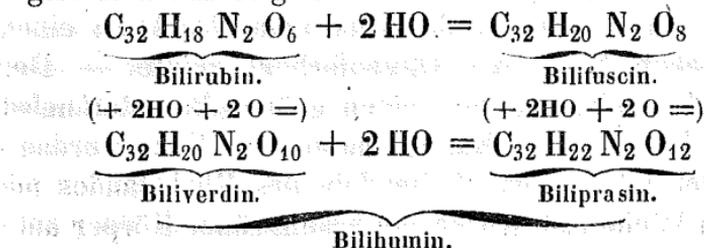
flüssigkeit digerirte. Die Auszüge hatten eine tief braune Farbe, und obwohl das Lösungsvermögen des Ammoniaks allmählig bedeutend abnahm, so zeigte sich doch auch der sechste Auszug noch ziemlich dunkel gefärbt. Der Rückstand war nun dunkelbraun und lieferte getrocknet und zerrieben ein rein schwarzes Pulver, das von Ammoniak und selbst von Natron nur wenig angegriffen wurde.

Die ammoniakalischen Auszüge wurden filtrirt und mit Salzsäure gefällt. Der voluminöse Niederschlag hatte eine schmutzig dunkelgrüne Farbe. Er wurde nach dem vollständigen Auswaschen wiederholt mit Weingeist gekocht, wodurch er zu einem schwarzen Pulver zusammenfiel, das nach dem Trocknen einen schwachen Stich in's Olivenfarbene zeigte. — Der siedende Weingeist hatte einen grünen Farbstoff nebst etwas huminartiger Materie aufgelöst. Beim Verdunsten der Lösung und Behandeln des Rückstandes mit kaltem Weingeist wurde ein braungrüner Körper aufgenommen, während Humin zurückblieb, das jetzt auch in siedendem Weingeist unlöslich war, und von dem früher erhaltenen nicht verschieden zu sein schien.

Das auf die angegebene Weise gereinigte Bilihumin war nicht ganz frei von unorganischen Bestandtheilen; es hinterliess beim Verbrennen auf Platinblech etwas leichte weisse Asche. Eine Elementaranalyse habe ich nicht gemacht, da ich nicht die Ueberzeugung gewinnen konnte, dass der Körper genügend rein sei, und da zu weiteren Reinigungsversuchen das vorhandene Material nicht ausreichend war. Ich bemerke nur, dass das gereinigte Bilihumin in Ammoniak nicht vollständig oder doch sehr langsam löslich ist, dass es sich dagegen in verdünnter Natronlauge beim Erwärmen ziemlich leicht löst, und

dass die tiefbraune Lösung, wenn sie mit Weingeist und dann mit NO_4 haltiger Salpetersäure vermischt wird, einen ganz hübschen Farbenwechsel zeigt. Namentlich ist das Roth sehr rein und intensiv, während die vorher auftretenden Farben in der tiefbraunen Lösung nicht deutlich zu erkennen sind.

Das Bilihumin nimmt unser Interesse hauptsächlich deshalb in Anspruch, weil es als schliessliches Zersetzungsproduct der sämtlichen Gallenfarbstoffe auftritt, wenn dieselben in natronhaltiger Lösung der Einwirkung der Luft ausgesetzt werden. Die einfache Relation, in welcher diese Stoffe zu einander stehen, ergibt sich aus folgendem Schema:



Ohne Zweifel steht die Formel des Bilihumins in einem ähnlichen Verhältniss zu der des Biliprasins, wie die Formeln der analysirten Körper unter einander. Für nicht unwahrscheinlich halte ich es auch, dass die im lebenden Organismus vorkommenden dunkelen unlöslichen Pigmentsubstanzen, das s. g. *Melanin*, sich dem Bilihumin anschliessen und vielleicht gleichen Ursprungs sind.

Die menschliche Galle.

Es bedarf keiner chemischen Beweisführung, um die Annahme zu rechtfertigen, dass in der menschlichen Galle dieselben Farbstoffe vorkommen, wie in den Concrementen, welche sich darin bilden. Die Versuche, welche ich mit menschlicher Galle ange-

stellt habe, hatten daher einen anderen Zweck. Wie bereits erwähnt, ist die krystallinische Form des Bilirubins um so mangelhafter, je reiner die Lösungen sind, aus welchen es anschießt, während unreine Chloroformlösungen ganz gewöhnlich krystallinisches Bilirubin liefern. Die krystallinische Ausscheidung scheint bedingt zu sein oder doch sehr befördert zu werden, durch die Gegenwart gewisser fremder Stoffe, ebenso wie zur krystallinischen Ausscheidung des Reichmann'schen Hämins aus essigsaurer Lösung die Gegenwart irgend welcher Chlormetalle erforderlich ist. Ich wählte daher die Galle, um das Bilirubin in messbarer Form darzustellen. War der darin vorkommende rothe Farbstoff wirklich identisch mit dem Hämatoidin, wie Valentiner annimmt, so musste er sich bei richtig gewählter Behandlung auch in der so regelmässig auftretenden Hämatoidinform gewinnen lassen.

Schüttelt man Galle mit Chloroform, so beobachtet man, wie schon Valentiner gefunden hat, beim langsamen Verdunsten der Lösung die Bildung von orangefarbigem elliptischen Blättchen oder sehr kleiner, fast rechtwinkliger Tafeln, deren Winkelverhältnisse sehr wesentlich verschieden sind von denen des Hämatoidins. Bei wiederholten Versuchen war das Resultat immer nahezu dasselbe; immer wurden jene rhomboidischen Gestalten mit geringem Unterschiede der Seiten und Winkel wahrgenommen, bei denen die Diagonalen des Rhomboides durch abweichende Färbung markirt waren. Nur ausnahmsweise wurde mitunter mal eine vereinzelte Form beobachtet, die sich der gewöhnlichen Hämatoidinform näherte.

Nachdem ich gefunden hatte, dass das Bilirubin nicht nur in Chloroform, sondern auch in Benzol und in Schwefelkohlenstoff löslich ist, habe ich auch mit

diesen Lösungsmitteln Versuche angestellt. Völlige Reinheit des Benzols ist dabei überflüssig; ich habe den Theil des käuflichen Benzols benutzt, welcher unter 100° siedet. Auch der anzuwendende Schwefelkohlenstoff muss rectificirt werden, da der im Handel vorkommende häufig Schwefel aufgelöst enthält, der sich beim Verdunsten in Krystallen absetzt. — Die folgenden Versuche, da sie mit derselben Galle angestellt wurden, lassen am besten das Verhalten der Lösungsmittel beurtheilen.

Zwei menschliche Gallen wurden zur Trockne verdampft, gepulvert und das Pulver in drei Flaschen vertheilt. Die eine Portion wurde mit Chloroform, die andere mit Benzol, die dritte mit Schwefelkohlenstoff übergossen und geschüttelt, wodurch gelbe Lösungen erhalten wurden, von denen die Schwefelkohlenstofflösung am wenigsten lebhaft gefärbt war. Zu jeder Probe wurden nun 20 Tropfen einer 25procentigen Salzsäure gesetzt, anhaltend damit geschüttelt und nach 12stündigem Stehen filtrirt. Um das Durchfließen von Säure zu verhindern, wurden die Filtra zuvor mit den betreffenden Lösungsmitteln befeuchtet.

Die Chloroformlösung hatte eine intensiv grüne Farbe und hinterliess beim freiwilligen Verdunsten einen mehr violetten klebenden Rückstand. Bei der Behandlung mit Aether wurden Cholesterin und Fett ausgezogen, Weingeist nahm neben anderen Substanzen den grünen Farbstoff auf, der nach seinem Verhalten gegen Alkalien Biliverdin¹⁾ zu sein schien, und als Rückstand wurde Bilirubin erhalten, aber nicht in guten Krystallen, sondern in orangefarbigem

¹⁾ Die Löslichkeit desselben in Chloroform scheint in diesem Falle durch gleichzeitig vorhandenes Fett bedingt worden zu sein.

krystallinischen Körnern und Flocken, die mit den beschriebenen rhomboidischen Formen gemengt waren.

Die Schwefelkohlenstofflösung hatte eine rein goldgelbe Farbe. Beim freiwilligen Verdunsten hinterliess sie eine röthliche krystallinische Masse, aus der Aether und Weingeist, Cholesterin, Fett und wahrscheinlich auch etwas Gallensäure aufnahmen, während das Bilirubin in tiefrothen mikroskopischen Krystallen zurückblieb. Die Krystalle erschienen als klinorhombische Prismen mit der Basisfläche, woran der vordere Winkel sehr scharf und die Prismenflächen convex gebogen waren, so dass die Ansicht auf die Basisfläche Ellipsen zeigte. Auf den convexen Flächen aufliegende Krystalle zeigten rhomboidische Gestalten mit bedeutend grösserem Unterschiede der Seiten und Winkel als bei den aus Chloroform angeschossenen Krystallen. Die Diagonalen waren auf gleiche Weise markirt. — Die Winkelverhältnisse dieser Krystalle zeigten Aehnlichkeit mit denen des Hämatoidins; genaue Messungen und Vergleichen waren aber wegen der Convexität der Flächen und wegen der Kleinheit der mir zu Gebote stehenden Hämatoidinkrystalle leider nicht möglich.

Die Benzollösung hatte dieselbe Farbe wie die Schwefelkohlenstofflösung und hinterliess beim Verdunsten in einem schwach geheizten Wasserbade einen ganz ähnlichen Rückstand, bei dessen Behandlung mit Weingeist und Aether das Bilirubin zurückblieb. Die Formen waren dieselben wie die, welche ich aus der Schwefelkohlenstofflösung erhalten hatte, zum Theil aber weit grösser und dann unregelmässiger, indem die Krystalle reihenförmig nach der längeren Diagonale verwachsen waren und dadurch gezähnte Ränder erhielten.

Wenn nun auch das aus Benzol und Schwefelkohlenstoff anschliessende Bilirubin eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Hämatoidin zeigt, so scheint mir doch gegenwärtig kein genügender Grund vorzuliegen, um beide Körper für identisch zu erklären.

Zunächst sind beim Hämatoidin noch niemals convexe Flächen beobachtet worden, während dieselben beim Bilirubin so hervortretend sind, dass man dasselbe bei flüchtiger Betrachtung leicht für Harnsäure halten könnte. Das Hauptgewicht muss aber auf das Resultat der Analyse gelegt werden, und da ergibt sich, wie die folgende Zusammenstellung zeigt, eine so grosse Abweichung in der Zusammensetzung, dass man die Differenz unmöglich auf Rechnung geringer Verunreinigungen ¹⁾ oder der unvermeidlichen Analysefehler setzen kann.

	Bilirubin.		Hämatoidin.	
Kohlenstoff	67,15	67,11	65,85	65,05
Wasserstoff	6,27	6,12	6,47	6,37
Stickstoff	9,59		10,51	
Sauerstoff	16,99		17,17	
	100,00		100,00	

Robin ²⁾ hat aus jenen Analysen die Formel $C_{14} H_9 NO_3$ für das Hämatoidin berechnet, doch habe ich schon vor Jahren darauf aufmerksam gemacht ³⁾, dass diese Formel nicht mit Robin's Analysen übereinstimmt, und dass man bei richtiger Berechnung zu der Formel $C_{30} H_{18} N_2 O_6$ gelangt; nur der Wasser-

¹⁾ Bei einem nicht genügend gereinigten Bilirubin fand ich folgende procentische Zusammensetzung: 66,52 Kohlenstoff, 6 Wasserstoff, 8,7 Stickstoff und 18,78 Sauerstoff.

²⁾ Erdmann's Journ. LXVII. 161.

³⁾ Annal. der Chem. und Pharm. CXVI. 89.

stoff ist in diesem Falle um $\frac{1}{10}$ und $\frac{2}{10}$ Proc. geringer gefunden, als der Formel entspricht. — Dass Bilirubin und Hämatoidin nahe verwandte Körper sind ergibt sich schon aus der grossen Aehnlichkeit der Formeln. Enthielte das Hämatoidin 2 Aeq. Wasserstoff weniger, hätte es also die Formel $C_{30} H_{16} N_2 O_6$, so würde es mit dem Bilirubin, $C_{32} H_{18} N_2 O_6$, in eine homologe Reihe gehören, und damit wären die mehrfachen Aehnlichkeiten in den Eigenschaften genügend erklärt. Doch darüber kann nur durch neue Analysen entschieden werden.

Schlussbemerkungen.

Ausser den beschriebenen Gallenpigmenten kommen noch andere vor, welche die Eigenschaft haben, mit Salpetersäure ein prächtiges Farbenspiel zu geben.

Es gehört hierher zunächst der grüne Farbstoff, dessen Bildung S. 8, Anmerk. angegeben worden ist. Kommt schlechtes Chloroform mit Bilirubin in Berührung, so bildet sich dieser Farbstoff sogleich in ansehnlicher Menge. Er hat mit dem Biliverdin und dem Biliprasin die Eigenschaft gemein, dass er in Aether unlöslich, in Weingeist mit prachtvoll grüner Farbe löslich ist. Von beiden Farbstoffen unterscheidet er sich durch sein Verhalten gegen reines Chloroform. Er löst sich darin ohne Schwierigkeit mit schön grüner Farbe. Eine Analyse habe ich noch nicht gemacht.

Einen andern grünen Farbstoff erhielt Scherer ¹⁾ aus icterischem Harn, indem er denselben mit Chlorbarium fällte und den Niederschlag entweder mit salzsäurehaltigem Weingeist zersetzte oder durch Kochen

¹⁾ Annal. der Chem. u. Pharm. LIII. 377.

mit kohlenisaurem Natron die Natronverbindung darstellte und diese dann mit Salzsäure fällte. Die salzsäurehaltigen Flüssigkeiten wurden darauf zur Trockne verdampft und der Farbstoff mit einer Mischung von Weingeist und Aether ausgezogen. Der so erhaltene grüne Farbstoff unterschied sich von allen vorhergehenden dadurch, dass er auch in reinem Aether löslich war. Wahrscheinlich war dieser Farbstoff ebenfalls nur ein Zersetzungsproduct, entstanden durch Einwirkung der Salzsäure auf den ursprünglichen Farbstoff; jedenfalls war er nicht rein, wie aus dem hohen Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt neben dem geringen Stickstoffgehalt hervorgeht.

Einen dritten grünen Farbstoff habe ich aus einem Gallenstein dargestellt, den ich von meinem Freunde, Prof. Merklein in Schaffhausen, erhielt. Er hatte fast die Grösse einer kleinen Wallnuss, war braun von Farbe, glänzend, ziemlich fest zusammenhängend, und sollte von einem Ochsen stammen. Die Untersuchung wurde vor mehreren Jahren ausgeführt, als das Verhalten der Gallenfarbstoffe gegen Chloroform noch nicht bekannt war. Der Stein wurde zerrieben, mit Wasser, Weingeist und Aether behandelt, dann der Rückstand bei Abschluss der Luft mit kohlenisaurem Natron zersetzt und die braune Lösung in verdünnte Salzsäure filtrirt. Der grüne flockige Niederschlag bildete nach dem Auswaschen und Trocknen im luftleeren Raum ein dunkelgrünes Pulver, das sich in Alkalien mit brauner, in Weingeist mit grüner Farbe löste. Auch dieser Farbstoff war, wenn auch schwer, in Aether löslich.

Beim Verdunsten der ätherischen Lösung bedeckte sich die Schalenwand mit einem gelben Anflug, der ungelöst zurückblieb, wenn nach dem vollständigen

Eintrocknen der grüne Farbstoff in Weingeist gelöst wurde. Beide Farbstoffe gaben mit Salpetersäure prachtvolle Pigmentreaction. Nachdem durch wiederholte Behandlung mit Aether der gelbe Stoff möglichst entfernt war, wurde eine Analyse gemacht. Nimmt man 32 Aeq. Kohlenstoff in dem grünen Farbstoff an, so stimmt das analytische Resultat nahezu mit der Formel $C_{32} H_{18.5} N_{2.5} O_{10}$ überein. — Ich lege auf diese Formel übrigens nicht den geringsten Werth, denn ich habe keine genügende Sicherheit, dass der analysirte Stoff rein war. Ich theile sie nur mit, um zu zeigen, dass im Thierreich Gallenfarbstoffe vorzukommen scheinen, welche reicher an Stickstoff sind als die Pigmente der menschlichen Galle. — Gefunden wurden $10\frac{1}{2}$ Proc. Stickstoff.

Schliesslich habe ich noch einige Worte über die künstlichen Pigmente zu sagen, die man durch Zersetzung der Gallensäuren erhält und die mit Salpetersäure ebenfalls einen schönen Farbenwechsel zeigen.

Vermischt man ein gallensaures Salz mit concentrirter Schwefelsäure und erwärmt so weit, dass die Lösung eine lebhaft braunrothe Farbe annimmt, so entstehen Chromogene, die sich auf Zusatz von Wasser in harzähnlichen Flocken abscheiden. Hat man kurze Zeit erwärmt und den Luftzutritt möglichst beschränkt, so sind die durch Wasser abgeschiedenen Flocken farblos oder grünlich, lässt man die schwefelsaure Lösung etwa 24 Stunden stehen, so zeigt sie einen prachtvollen Dichroismus, bei durchfallendem Licht ist sie orangefarbig oder tief bräunlichroth, bei auffallendem rein grasgrün, und auf Zusatz von Wasser scheiden sich dann grünblaue Flocken ab.

Werden die farblosen oder schon gefärbten Chromogenflocken einige Male mit Wasser ab gespült und

mit Weingeist übergossen, so lösen sie sich auf, und man erhält eine farblose oder schwach grünliche Lösung, die beim Verdunsten im Wasserbade und bei genügendem Luftzutritt sich tiefer färbt und einen prachtvoll indigblauen Rückstand hinterlässt. Dies Pigment löst sich mit gallengrüner Farbe in Weingeist, durch Alkali gelb oder orangefarbig, durch Salzsäure wieder grün werdend, und NO_4 haltige Salpetersäure bringt selbst bei sehr grosser Verdünnung einen lebhaften Farbenwechsel hervor. Zuerst wird die Flüssigkeit intensiv grün, dann grünblau oder grünbraun, hernach roth und endlich schmutziggelb. Je vollständiger die Umwandlung der Gallensäuren in Chromogene gelungen ist, um so lebhafter und schöner werden natürlich die Farben; bei ungenügender Umwandlung tritt statt des schön rothen Farbentones gewöhnlich nur ein mehr oder weniger lebhaftes Braunroth auf, während der grüne Farbenton unter allen Umständen sehr intensiv ist.

Da durch diese Pigmentreaction ein Zusammenhang der künstlichen Pigmente mit den natürlichen Gallenpigmenten angedeutet schien, und da wir, wie schon oben (S. 3) angegeben wurde, ausserdem noch beobachteten, dass nach der Injection von gallensäuren Salzen in eine Vene fast regelmässig Gallenpigment im Harn auftritt, so war es gewiss nicht übereilt, wenn wir schlossen, dass die Gallensäuren auch in der Blutbahn eine Umwandlung in Pigment erleiden könnten. Als völlig erwiesene und unumstösslich feststehende Thatsache ist diese Umwandlung übrigens niemals hingestellt worden, da uns einige, wenn auch nur wenige Fälle vorkamen, wo nach Galleninjection kein Pigment im Urin nachgewiesen werden konnte. — Es ist mir jetzt gelungen, auch die stickstofffreie Chol-

säure auf gleiche Weise wie die Glycocholsäure und Taurocholsäure in Farbstoffe zu verwandeln, und da sich ungezwungen nicht annehmen lässt, dass die stickstoffhaltigen Gallenpigmente ihr Entstehen einem stickstofffreien Körper verdanken, so kann von einer Umwandlung der Gallensäuren in die wirklichen Gallenfarbstoffe nicht wohl ferner mehr die Rede sein.

Es bleibt nun noch immer die Frage unerledigt, welche Rolle die in das Blut getretene Galle bei der Erzeugung der Gallenpigmente spielt, denn die Annahme, dass die Gallensäure nur die Blutkörperchen auflöse, und dass das gelöste Blutroth dann in Gallenfarbstoff übergehe, scheint mir doch nicht gerechtfertigt zu sein. Einmal müsste dann nach Gallenjectionen regelmässig Gallenpigment im Urin auftreten, was bekanntlich nicht der Fall ist, und ausserdem müssten Wasserinjectionen dieselbe Wirkung hervorbringen wie die Injection von Gallensäuren. Auch dieses ist nicht der Fall. Röhrig¹⁾ spritzte einem Kaninchen, dessen Blutgehalt sich zu 130 Grm. berechnete, 100 CC Wasser in die Vena jugularis und beobachtete, dass der darauf gelassene Harn reich an Blutpigment war aber keinen Gallenfarbstoff enthielt.

Es ist eine bekannte Thatsache, dass bei eintretendem Icterus die Herzthätigkeit sich bedeutend zu vermindern pflegt; gewöhnlich beobachtet man eine Verminderung derselben um 20–30 Contracti-
onen, und Frerichs erwähnt sogar zweier Fälle, in welchen die Herzbewegung auf 28 und selbst auf 21 Schläge herabsank. In der citirten Abhandlung wird

¹⁾ Dessen Inaugural-Dissertation: Ueber den Einfluss der Galle auf die Herzthätigkeit. Leipzig 1863.

nun von Röhrig durch eine grosse Zahl von sorgfältig ausgeführten Versuchen nachgewiesen, dass die beobachteten Störungen einzig den Gallensäuren zuzuschreiben sind, und zwar wirken glycocholsaure, taurocholsaure und cholsaure Salze auf gleiche Weise, wenn sie in die Blutbahn gelangen. Schon verhältnissmässig kleine Mengen bewirken ein bedeutendes und anhaltendes Herabgehen des Pulses und etwas grössere Mengen haben den plötzlichen Tod durch Herzparalyse zur Folge.

Nach diesen Beobachtungen halte ich es für wahrscheinlich, dass wir in diesen enormen Kreislaufstörungen, mit denen natürlich auch grosse Störungen in der chemischen Stoffmetamorphose verbunden sein müssen, hauptsächlich den Grund der Pigmentbildung nach Einführung von Gallensäuren in das Blut zu suchen haben. Es würde sich damit auch erklären, dass die Pigmentbildung nicht constant eintritt, denn Thiere von verschiedenem Alter und Grösse, von schwacher und kräftiger Constitution, können nicht auf gleiche Weise von derselben Menge Gallensäure afficirt werden. — Demnach wäre also die Pigmentbildung nur eine secundäre Wirkung der in's Blut gebrachten Gallensäure, und ist dieses der Fall, so steht zu erwarten, dass andere Substanzen, welche ähnliche Störungen der Herzhätigkeit hervorbringen, ebenfalls zur Bildung von Gallenpigment Veranlassung geben müssen. Eine solche Substanz besitzen wir in der Digitalis, mit der ich demnächst einige Versuche anstellen werde.
