

Kationen intra-nicht-permutierend zu sein, zwar stets die Möglichkeit zweier gänzlich voneinander verschiedener stofflicher Vorgänge (verbunden mit Stromdurchgang von links nach rechts bzw. von rechts nach links in Abb. 1), aber nicht unbedingt das Auftreten eines entsprechenden dualen Potentials gewährleistet. Man sieht das sofort ein, wenn man sich vorstellt, dass als Lösungen I und II in Abbildung 1 anstatt NaCl und KCl zum Beispiel 2 gleichkonzentrierte in der Isotopenzusammensetzung verschiedene KCl-Lösungen gewählt werden. Für das Auftreten eines dualen Potentials muss in Wirklichkeit neben der Eigenschaft der Membran, intra-nicht-permutierend zu sein, die Eigenschaft der Membran verwirklicht sein, zwischen den verschiedenen Ionen, für welche die Membran intra-nicht-permutierend durchlässig ist, zu unterscheiden. Diese zusätzliche Forderung mag ein weiterer Grund dafür sein, dass bei der Feststellung dualer Potentiale an künstlichen Membranen zunächst nur kleine Absolutwerte des dualen Potentials beobachtet wurden. Trotzdem, oder gerade deswegen, dürfte ihre Feststellung interessante Ausblicke eröffnen.

Summary

It has been shown experimentally that two different potentials appear across an intra-nonpermutating membrane³ when two different solutions (e.g., solution I: 0·1 n NaCl + 0·0001 n KCl; and, solution II: 0·1 n KCl + 0·0001 n NaCl) are separated by such a membrane, and when the pores of the intra-nonpermutating membrane are supplied with ions from either solution I or solution II (in this case: essentially with Na⁺ ions from solution I, or essentially with K⁺ ions from solution II). The theoretical background, and other considerations, for these experiments will be found in reference².

³ An intra-nonpermutating membrane refers to a membrane whose pores are of such a size that the ions can move only in single file, and cannot change places with each other, during their passage through the membrane.

STUDIORUM PROGRESSUS

Gallen und Gallensäuren

Papierchromatographische Untersuchungen

Von G. L. SZENDEY¹

Der Zusammenhang zwischen Leberfunktion, besonders der Gallenbildung bzw. -ausscheidung, und Psyche war schon im Altertum bekannt. Untersuchungen medizinischer und biochemischer Art zur Erforschung dieser wichtigen Organfunktion sind seit langem im Gange. Eine entscheidende Rolle wird den Gallensäuren als Hauptbestandteilen der Galle zugeschrieben.

Die Gesamtzusammensetzung der menschlichen Galle, die als erster HAMMARSTEN^{2,3} beschrieben hat, wird im wesentlichen auch heute noch anerkannt. ISAKSSON⁴ hat die freien Gallensäuren der Menschengalle bestimmt und gibt folgende prozentualen Mittelwerte an: Cholsäure 20,1%, Chenodesoxycholsäure 20,0% und Desoxycholsäure 7,7% (berechnet auf die gesamten festen Bestand-

teile). Nach WIGGINS⁵ enthält die menschliche Galle Chenodesoxycholsäure als Hauptkomponente, weiterhin Cholsäure, Desoxycholsäure und Spuren von Lithocholsäure. Dieselbe Zusammensetzung wurde auch in Affengalle festgestellt. Beim Menschen beträgt das Taurin/Glycin-Verhältnis 1:1,4 bis 10, beim Affen 1:0,8 bis 11,5. Der Autor hat die konjugierten Gallensäuren im Gegenstrom verteilt, dann hydrolysiert und chromatographiert. Die Identifizierung erfolgte nach WOOTTON⁶ durch IR-Spektrum. Eine vergleichende Untersuchung über Gallensäuren der Neugeborenen und Erwachsenen veröffentlichten ENCRANTZ und SJÖVALL⁷. Nach ihren Beobachtungen nimmt das Mengenverhältnis der mit Glycin gepaarten Säuren im Vergleich zu den mit Taurin gepaarten Säuren mit dem Alter zu (G/T: 0,45 bis 3,1). Die Gallensäuren stehen in folgender Relation: Cholsäure-Chenodesoxycholsäure-Desoxycholsäure 1,2:1,0:0,6.

Ausser dem Menschen besitzen Wirbeltiere, sämtliche Amphibien, Fische und Reptilien die Fähigkeit, Gallensäuren zu bilden und geeignet abzuwandeln. Über vergleichende Untersuchungen der Gallensäurekomponenten von verschiedenen animalischen Gallen siehe⁸⁻¹⁰.

Die Gallensäurebestimmungen im Blut zeigen je nach Methodik grosse Schwankungen. MINIBECK¹¹ findet auf Grund des Gallensäuregehaltes keinen Unterschied zwischen Vollblut und Serum. Bei hepatogenem Ikterus steigt der Gallensäureblutspiegel.

Diese Beobachtung wird auch bei der Therapie von Asthma bronchiale und cardiale ausgenutzt, da durch klinische Beobachtungen bekannt wurde, dass Astmatiker und Angina-pectoris-Patienten bei ikterischen Erkrankungen anfallsfrei bleiben. Im Harn kommen Gallensäuren nur bei hepatogenem Ikterus vor¹². Zusammenfassende Angaben, Bestimmungsmethoden der Gallensäure im Blut, Harn usw. siehe¹³⁻¹⁵.

Die Gallensekretionsstörungen können durch eine Substitution der fehlenden Galle günstig beeinflusst werden. Die Substitutionstherapie lässt sich am besten mit Humangalle durchführen, da diese nicht nur einen Funktionsersatz darstellt, sondern darüber hinaus die Sekretion von Lebergalle durch eine resorptive Wirkung anregt. Humangalle steht für die Therapie praktisch nicht zur Verfügung, daher werden möglichst gleichwertige tierische Gallen angewendet. Die Ochsengalle zeigt gute therapeutische Eigenschaften¹⁶⁻¹⁸. In Arzneimittelzubereitungen findet neben Ochsengalle auch Schweinegalle Verwendung.

Um festzustellen, welche der oben erwähnten tierischen Gallen auf Grund ihrer Gallensäurezusammensetzung für eine Substitution der Humangalle am besten geeignet ist,

³ H. S. WIGGINS, Biochem. J. 56, XXXIX (1954).

⁶ I. D. P. WOOTTON, Biochem. J. 53, 85 (1953).

⁷ J.-C. ENCRANTZ und J. SJÖVALL, Acta chem. Scand. 34, 1005 (1956).

⁸ H. SOBOTKA, *Physiological Chemistry of the Bile* (Baltimore, London 1937).

⁹ H. LETTRÉ und H. H. INHOFFEN, *Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe* (Stuttgart 1936). Erweiterte Neuauflage: H. LETTRÉ, H. H. INHOFFEN und R. TSCHIESCHE (Stuttgart 1954).

¹⁰ G. A. D. HASLEWOOD und V. WOOTTON, Biochem. J. 47, 584 (1950).

¹¹ H. MINIBECK, Biochem. Z. 297, 29 (1938).

¹² H. MINIBECK, Biochem. Z. 297, 40 (1938).

¹³ Documenta Geigy, 1955, p. 307.

¹⁴ B. FLASCHENTRÄGER, *Physiologische Chemie* (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956).

¹⁵ K. HINSBERG und K. LANG, *Medizinische Chemie* (München-Berlin-Wien 1957).

¹⁶ G. PAUSE, Fortschr. Med. 69, 210 (1951).

¹⁷ G. ZEISE, Med. Klin. 47, 1696 (1952).

¹⁸ H. GROSS, Therap. Gegenw. 95, 423 (1956).

¹ Forschungslaboratorien der Dr. Schwarz Arzneimittelfabrik GmbH, Monheim bei Düsseldorf.

² O. HAMMARSTEN, Erg. Physiol. 4, 1 (1905).

³ O. HAMMARSTEN, *Lehrbuch der physiologischen Chemie* (1922), p. 349.

⁴ B. ISAKSSON, Acta Soc. med. Upsaliensis 59, 307 (1953/54).

Tabelle I – R_f -Werte der Gallensäuren

Gallensäuren	R_f	Farbe im UV-Licht nach Behandlung mit $SbCl_3$
Glykocholsäure	0,00–0,05	violettrot
Taurocholsäure	0,00–0,05	violettrot
Cholsäure	3 α ·7 α ·12 α -Trioxycholansäure	0,16
Hyocholsäure*	3 α ·6 α ·11 α -Trioxycholansäure***	0,18
Hyodesoxycholsäure	3 α ·6 α -Dioxycholansäure	0,25
Chenodesoxycholsäure*	3 α ·7 α -Dioxycholansäure	0,39
(Anthropodesoxycholsäure)		
Desoxycholsäure	3 α ·12 α -Dioxycholansäure	0,41
Dehydrocholsäure	3·7·12-Triketocholansäure	0,60
Dehydrodesoxycholsäure**	3·12-Diketocholansäure	0,75
Lithocholsäure	3 α -Oxycholansäure	0,78
Cholansäure		0,98

* Herrn Prof. G. A. D. HASLEWOOD (Biochemistry and Chemistry Department, Guy's Hospital Medical School, London) danke ich für die freundliche Überlassung der aus Schweinegalle isolierten Chenodesoxycholsäure und Hyocholsäure;

** ferner Herrn Dr. O. CERRI (Istituto Sieroterapico Milanese «Serafino Belfanti», Milano) für die Dehydrodesoxycholsäure-Standardsubstanz.

*** G. A. D. HASLEWOOD, Biochem. J. 56, XXXVIII (1954).

wurden – im Rahmen einer neu entwickelten Methode – vergleichende Untersuchungen durchgeführt.

JACOBS¹⁹ beschreibt eine Methode über den Nachweis von Schweinegalle in Mischungen mit Rinder- oder Schafgalle. Die Schweinegalle – oder besser gesagt – ihre Hauptkomponente, die Glycohyodesoxycholsäure, kann aus ihren Lösungen durch NaCl ausgesalzt werden. Diese Methode eignet sich aber nicht für exakte Untersuchungen.

Zur Trennung und Identifizierung von Gallensäuren-Gemischen, weiterhin zur Untersuchung und Charakterisierung von hydrolysierten Gallensaften hat sich die papierchromatographische Methode am besten bewährt.

SJÖVALL trennt die freien Gallensäuren mit Hilfe der Lösungsmittelsysteme Isopropyläther-Heptan^{20,21} und Amylacetat-Heptan²². Als stationäre Phase dient 70%ige Essigsäure. Die konjugierten Gallensäuren lassen sich in Isopropyläther-Heptan, in Äthylchlorid-Heptan oder auch in Äthylchlorid-Butanol im Gleichgewicht mit 70%iger Essigsäure trennen²². Zur Untersuchung der freien Gallensäuren arbeiten KRITSCHEVSKY und KIRK^{23,24} mit einem Lösungsmittelgemisch Propanol-Äthanolamin-Wasser 90:5:5. BEYREDER und RETTENBACHER²⁵ benutzen Toluol-Eisessig-Wasser 40:40:8. SPERSTEIN *et al.* verwenden basische Lösungsmittelgemische²⁶. HASLEWOOD²⁷ beschreibt eine Methode unter Verwendung des Lösungsmittelsystems von BUSH²⁸. HASLEWOOD und SJÖVALL²⁹ trennen die konjugierten Gallensäuren mit Isopropyläther-Heptan 75:25, 85:15 bzw. 60:40 im Gleichgewicht mit 70%iger Essigsäure. Dieselben Autoren verwenden auch Butanol, mit 3%iger Essigsäure

gesättigt. KURODA³⁰ benutzt Methanol-Wasser 2:3. KRITSCHEVSKY und McCANDLESS³¹ empfehlen *n*-Propanol-Ammoniak-Wasser 90:2:8 und *n*-Propanol-Ammoniak-Äthanolamin-Wasser 89:2:1:8 für die Trennung von Gallensäuren. CERRI und SPIALTINI³² verwenden *n*-Butanol, mit Wasser gesättigt, unter Zugabe von einigen Tropfen konz. Ammoniak.

Es wurde allgemein beobachtet, dass die Gallensäuren sowie ihre Salze gleiche R_f -Werte zeigen.

Zur Sichtbarmachung der Flecken werden Phosphormolybdänsäure^{20,23,27,29,30}, gesättigte alkoholische Jodlösung^{20,25}, Rhodamin B²⁹, *m*-Dinitrobenzol³⁰ (Dragendorff-Reagens³⁰), Phosphorsäure^{20,24,25}, Vanillin-Phosphorsäure-Butanol-Reagens³² und Antimontrichlorid in Eisessig^{26,33,34} angewandt.

Die papierchromatographisch getrennten Gallensäuren können nach ERIKSSON und SJÖVALL^{35,36} auch quantitativ bestimmt werden.

Die Flecken werden dem Leitchromatogramm entsprechend ausgeschnitten und mit Alkohol eluiert. Danach wird die Lösung eingedampft, in 65%iger Schwefelsäure gelöst und erwärmt. Nach der Farbentwicklung werden die Extinktionswerte – freie und konjugierte Cholsäure bei 320 m μ , Chenodesoxycholsäure und Hyodesoxycholsäure bei 380 m μ , konjugierte Chenodesoxycholsäure bei 305 m μ , Desoxycholsäure frei bei 385 m μ und konjugiert bei 389 m μ – gemessen. Die Farbreaktion mit 65%iger Schwefelsäure³⁷ kann für die gleichzeitige Einzelbestimmung von Cholsäure und Desoxycholsäure bei 318 und 350 m μ ausgenutzt werden^{38,39}. Die Chabrol-Reaktion^{40,41} – Vanillin-Phosphorsäure-Reagens – ist

¹⁹ PH. JACOBS, Pharm. Weekblad 92, 239 (1957).

²⁰ J. SJÖVALL, Acta chem. Scand. 6, 1552 (1952).

²¹ J. SJÖVALL, Acta chem. Scand. 8, 339 (1954).

²² J. SJÖVALL, Ark. Kemi 8, 299 (1955).

²³ D. KRITSCHEVSKY und M. R. KIRK, Arch. Biochem. Biophysics

25, 316 (1952).

²⁴ D. KRITSCHEVSKY und M. R. KIRK, J. Amer. chem. Soc. 74,

4713 (1952).

²⁵ J. BEYREDER und H. RETTENBACHER-DÄUBNER, Mh. Chem. 84,

99 (1953).

²⁶ M. D. SPERSTEIN, F. M. HAROLD, I. L. CHAIKOFF und W. G.

DAUBEN, J. biol. Chemistry 210, 181 (1954).

²⁷ G. A. D. HASLEWOOD, Biochem. J. 56, 581 (1954).

²⁸ I. E. BUSH, Biochem. J. 50, 370 (1952).

²⁹ G. A. D. HASLEWOOD und J. SJÖVALL, Biochem. J. 57, 126

(1951).

³⁰ M. KURODA, J. Jap. biochem. Soc. 27, 301 (1955).

³¹ D. KRITSCHEVSKY und R. F. J. McCANDLESS, J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. 45, 385 (1956).

³² O. CERRI und A. SPIALTINI, Boll. chim. pharmac. 96, 193 (1957).

³³ J. B. CAREY JR. und H. S. BLOCH, J. lab. clin. Med. 41, 486

(1954).

³⁴ J. B. CAREY JR., Science 123, 892 (1956).

³⁵ S. ERIKSSON und J. SJÖVALL, Acta chem. Scand. 8, 1009 (1954).

³⁶ J. SJÖVALL, Ark. Kemi 8, 317 (1955).

³⁷ F. BANDOW, Biochem. Z. 301, 37 (1939).

³⁸ L. C. KIER, J. lab. clin. Med. 40, 755 (1952).

³⁹ L. C. KIER, J. lab. clin. Med. 40, 762 (1952).

⁴⁰ E. CHABROL, R. CHARONNAT, J. COTTET und P. BLONDE, C. R. Soc. Biol. Filiales 115, 834 (1934).

⁴¹ Y. ABE, J. Biochem. (Tokyo) 25, 181 (1937).

für die Bestimmung von Desoxycholsäure bei 465 und 545 m μ auch in Anwesenheit von anderen Gallensäuren gut brauchbar⁴². Desoxycholsäure wird neben Cholsäure in alkoholischer 0,1 n-Natronlauge bei 280 m μ bestimmt⁴³.

Eigene Versuche führten zu einer leicht und schnell durchführbaren papierchromatographischen Methode. Eine gute Auftrennung wurde mit Hilfe des Lösungsmittelsystems Xylol-Methyläthylketon auf dem mit Propylenglykol imprägnierten Schleicher & Schüll 2043b Mgl-Papier erzielt. Zur Sichtbarmachung der Flecken wurde 20%ige Antimontrichloridlösung in Chloroform benutzt.

Untersucht wurden reine Gallensäuren als Standardsubstanzen, Gemische derselben und alkalisch hydrolysierte Menschen-, Ochsen- und Schweinegallen.

Reine Gallensäuren (Tabelle I)

Die Wanderungsgeschwindigkeiten steigen in nachstehender Reihenfolge: Trioxy-, Dioxy-, Triketo-, Diketo-, Oxyketo- und Oxycholansäure.

Die R_f -Werte sind gut reproduzierbar, aber abhängig von der Art der Imprägnierung, vom Alter der Imprägnierungslösung, des Fließmittels und von der Temperatur.

Es wird bei Identitätsprüfungen empfohlen, Vergleichssubstanzen mitzuchromatographieren.

Die Alkalosalze zeigen die gleichen R_f -Werte wie die freien Säuren.

Versuche zur quantitativen Auswertung der Chromatogramme sind im Gange.



Abb. 1. Aufnahme im UV-Licht

D Desoxycholsäure mit Spuren von Cholsäure.
H Hyocholsäure mit Spuren von Hyodesoxycholsäure. Unter der Hyocholsäure sind Spuren von nicht hydrolysierten konjugierten Gallensäuren sichtbar.

D H

Hydrolysierte Gallen (Tabelle II)

a) **Gallensäuren.** Aus den alkalischen Gallenhydrolysaten wurden die freien Gallensäuren mittels verdünnter Schwefelsäure gefällt und mit der beschriebenen Methode untersucht.

Menschen- und Ochsengalle zeigen das gleiche papierchromatographische Bild. Schweinegalle enthält Gallensäuren, die in Menschen- und Ochsengalle nicht vorkommen (Hyocholsäure in kleinen Mengen und Hyodesoxycholsäure); des Weiteren fehlt ihr die für Menschen- und Ochsengalle charakteristische Cholsäure. Die Schweinegalle wird durch Hyodesoxycholsäure charakterisiert (vgl. Tabelle I und II, Abb. 2 und 3).

Menschengalle enthält relativ die meiste Chenodesoxycholsäure. Lithocholsäure, die am stärksten in Gallen- und Darmsteinen vertreten ist⁴⁴, wurde nur in Spuren nachgewiesen.

⁴² E. L. PRATT und H. B. CORBITT, Analyt. Chem. 24, 1665 (1952).
⁴³ G. BIGLINO und M. GENNARO-SOFFIETTI, Ann. Chim. (Roma) 41, 603 (1951).

⁴⁴ F. S. FOWWEATHER, Biochem. J. 44, 607 (1949).

Tabelle II
In Menschen-, Ochsen- und Schweinegalle gefundene Gallensäuren

Menschengalle* und Ochsengalle	Schweinegalle
Cholsäure	Hyocholsäure (in kleinen Mengen)
Eine nicht identifizierte Komponente (grüne Fluoreszenz, R_f : 0,20)	Hyodesoxycholsäure
Chenodesoxycholsäure bzw. Desoxycholsäure	Desoxycholsäure bzw. Chenodesoxycholsäure
Lithocholsäure (nur in Spuren)	Lithocholsäure (nur in Spuren)

* Ich möchte Herrn Prof. H. GILLMANN (I. Medizinische Klinik der Medizinischen Akademie Düsseldorf) auch an dieser Stelle für die Überlassung von Menschengalle vielmals danken.

b) **Aminosäuren.** Nach Entfernen der mit Schwefelsäure gefällten Gallensäuren wurde das Hydrolysat mit Hilfe des Lösungsmittelsystems n-Butanol-Eisessig-Wasser 40:8:20 und des Papiers Schleicher & Schüll 2043b Mgl (Sprühreagens: 0,2%ige Ninhydrinlösung in Chloroform-Butanol 1:1) auf Aminosäuren untersucht. Menschen-, Ochsen- und Schweinegalle zeigten das gleiche papierchromatographische Bild. Die einzelnen Aminosäuren wurden nicht identifiziert.

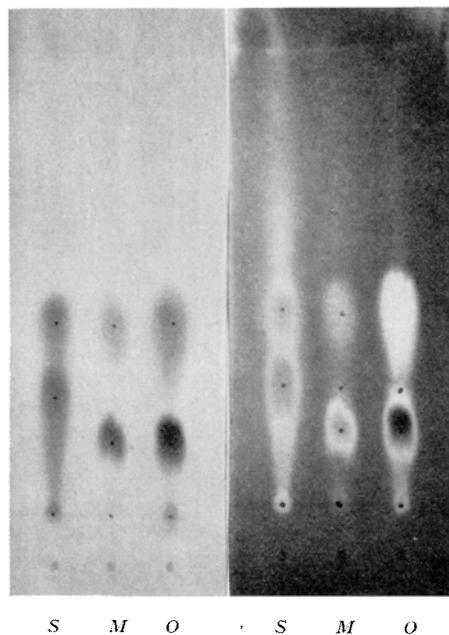


Abb. 2. Aufnahme im Tages- und UV-Licht. Aufsteigende Methode

S Schweinegalle;
M Menschengalle;
O Ochsengalle.

KNEDEL und NEIKES⁴⁵ untersuchten die freien Aminosäuren und Amine in der menschlichen Galle. Die Autoren haben eine relativ konstante Aminosäurezusammensetzung des Gallensaftes nachgewiesen, die auch bei pathologischen Veränderungen der Gallenblase keine sicheren Abweichungen erkennen lässt.

Die verschiedenen Gallen können nicht durch die Aminosäurezusammensetzung charakterisiert werden.

⁴⁵ M. KNEDEL und K. NEIKES, Klin. Wschr. 34, 1005 (1956).

Auf Grund der Untersuchungen kann festgestellt werden, dass im Gegensatz zur Schweinegalle Menschen- und Ochsengalle in bezug auf die Gallensäurezusammensetzung als physiologisch verwandte biologische Stoffe zu betrachten sind.

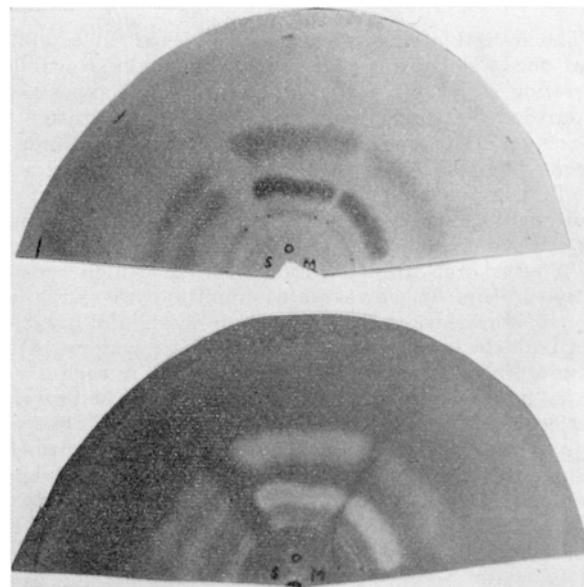


Abb. 3. Aufnahme im Tages- und UV-Licht. Rundfiltertechnik

S Schweinegalle;
O Ochsengalle;
M Menschengalle.

Beschreibung der Versuche

Trennung und Identifizierung der Gallensäuren:

Papier: Lufttrockene Schleicher & Schüll 2043b Mgl. Papierstreifen der Grösse 8 × 30 cm oder Rundfilter.

Das Papier wird genau 8 min mit 20%iger 1,2-Propylenglykol-Lösung in Chloroform imprägniert, dann zwischen Filterpapierbogen abgepresst und 1–2 min an der Luft trocknen gelassen.

Die Gallensäuren und Gallenhydrolysate werden aus 1–2%iger Methanol-Chloroform(1:1)-Lösung aufgetragen und die Chromatogramme nach der aufsteigenden Methode bzw. Rundfiltertechnik mit dem Lösungsmittel-System Xylol-Methyläthylketon 1:1 entwickelt.

Entwicklungszeit: 2–3 h. Versuchstemperatur: 22°C ± 2°.

Das Imprägnierungsmittel lässt sich etwa eine Woche lang gut verwenden. Es ist zweckmäßig, das Lösungsmittelsystem nach 2–3 Entwicklungen frisch vorzubereiten.

Nach Beendigung der Entwicklung werden die Chromatogramme im Trockenschrank mit Umluft 1/2 h bei 100 bis 110°C vollständig von Lösungsmittel und Propylenglykolimprägnierung befreit.

Zur Sichtbarmachung der Flecken dient 20%ige Antimontrichloridlösung in Chloroform, durch welche die getrockneten Chromatogramme gezogen werden. Nach anschliessender Erwärmung, 5–10 min auf 100–110°C, erscheinen die Flecken mit rotvioletter Farbe. Die Auswertung wird im filtrierten UV-Licht vorgenommen (vgl. Tabelle 1).

Empfindlichkeit der Methode: 5–10 µg.

Für die Sichtbarmachung kann auch 30%ige wässrige Phosphorsäurelösung als Sprühreagens benutzt werden. Nach Trocknen auf 110–120°C erscheinen die Flecken im UV-Licht mit blauvioletter Fluoreszenz.

Hydrolyse der Gallensäfte:

50–100 ml der zu hydrolysierenden Galle werden mit der entsprechenden Menge Natronlauge auf etwa 10% an Natriumhydroxyd eingestellt und am Rückflusskühler 18–24 h gekocht. Zur Beseitigung der Schaumeigung bewährte sich ein Zusatz von 0,1% Bayer-Entschäumer E 100 in alkoholischer Lösung.

Nach Beendigung der Hydrolyse wird das alkalische Reaktionsgemisch mit 20%iger Schwefelsäure zur Fällung der freien Gallensäuren angesäuert (pH 3–4).

Die ausgefallene braune amorphe Substanz wird mit Wasser stark ausgewaschen und im Trockenschrank getrocknet. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Chloroform (1:1) lässt sich das Gemisch der freien Gallensäuren in schöner kristalliner Form erhalten.

Summary

In cases of bile-secretion disturbances substitution-therapy can be performed using suitable animal biles equivalent to human bile. Comparative investigations have been made to establish which animal bile is in practice the most suitable for bile substitutiontherapy based on its bile acid components.

A new paper partition chromatographic method has been applied for separation and identification of free bile acids. Ascending development was used on Schleicher & Schüll 2043b Mgl paper impregnated with 20 v/v% propylene glycol in chloroform. The xylene-methylethylketone 1:1 solvent system gave good separation. The bile acids can be detected by immersing the chromatograms in 20 w/v% SbCl_3 in chloroform followed by drying and heating for 5–10 min at 100–110°C. The spots show intense reddish-violet or blue fluorescence in filtered UV-light (see Table 1).

These investigations have shown that human and ox biles are, in contrast to pig bile, physiologically related biological substances regarding their bile acid components.

STUDIORUM PROGRESSUS

Identification of Human Serum Proteins Binding Iron, Copper, and Thyroid Hormones by Starch Gel Electrophoresis

By A. C. ALLISON*

It has been recognized for many years that metal ions and thyroid hormones in the blood stream are bound to plasma proteins. The high resolution achieved by the starch gel electrophoresis technique of SMITHIES¹, and the use of the discontinuous buffer system of POULIK², has permitted the accurate identification of the serum proteins responsible for the binding and has given some new information about their genetical control and properties. A typical starch gel pattern of human serum proteins

* National Institute for Medical Research, London.

¹ O. SMITHIES, Biochem. J. 61, 629 (1955).

² M. D. POULIK, Nature 180, 1477 (1957).