

# Ueber das Lecithin und Cholesterin der rothen Blutkörperchen.

Von

**Paul Manasse** aus Berlin.

(Der Redaction zugegangen am 27. März 1890.)

In der Mitte dieses Jahrhunderts war es hauptsächlich Goble, welcher sich intensiver mit der Erkenntniss und Analysirung des Lecithins und des Cholesterins beschäftigte. Er fand im Jahre 1846<sup>1)</sup> im Eidotter ausser anderen Körpern Cholesterin, Margarinsäure, Oelsäure und «eine besondere Säure, welche Phosphor enthält und nichts Anderes ist als Glycerinphosphorsäure». Ferner als interessantesten Körper des ganzen Gelbeis eine schleimige, transparente Masse von weicher Consistenz und orangegelber Farbe. Diese Masse enthält den Phosphor, der, wie schon längst bekannt, im Eidotter in grosser Menge zu finden war. Goble gewann die schleimige Masse durch Extraction mit kochendem Alkohol oder mit Aether. Nachdem er dieselbe Masse im folgenden Jahre<sup>2)</sup> im Gehirn gefunden, kommt er zu dem Resultat, dass in derselben zwei Körper vorhanden sind: 1. die matière phosphorée, welche die grösste Analogie mit der von Frémy so benannten Oleophosphorsäure darbiete; 2. die matière cérébrique. In einer folgenden Arbeit<sup>3)</sup> fand er die erwähnte schleimige Masse in den Fischeiern; auch hier stellt er aus derselben zwei Körper dar, die in engem Zusammenhang stehen und immer in Begleitung von Cholesterin im Hühnerei,

<sup>1)</sup> Journal de Pharm. et de Chim., S. III, T. IX, p. 5.

<sup>2)</sup> Journal de Pharm. et de Chim., T. XI, p. 409, u. T. XII, p. 5.

<sup>3)</sup> L. c., T. XVII, p. 401, u. T. XVIII, p. 107.

Fischeiern und Gehirn auftreten. Er nennt dieselben Lecithin und Cerebrin. Das erstere beschreibt er folgendermassen: Es bildet den grösseren Theil der schleimigen Masse, giebt mit Wasser eine Emulsion, ist wenig in kaltem, vollständig in heissem Alkohol und Aether löslich und erfährt an der Luft keinerlei Veränderungen. Beim Erhitzen hinterlässt es eine phosphorhaltige Kohle. Es wird durch Mineralsäuren und Alkalien leicht zersetzt in Oelsäure, Margarinsäure und Glycerinphosphorsäure. Letztere bestimmt er als Kalksalz und findet für den glycerinphosphorsauren Kalk folgende Werthe:

C	75
O	100
H	12,50
Ca	350
P	400.

Gobley hat jene Körper 1851<sup>1)</sup> noch in der Milch des Karpfens, 1852<sup>2)</sup> im menschlichen Blut gefunden; hierbei bemerkte er, dass im Blut weder freie fette Säuren, noch Seifen enthalten wären. Schliesslich weist er die Körper 1856<sup>3)</sup> in der Galle nach.

Doch war es weder Gobley noch Frémy gelungen, die phosphorhaltige Substanz, welche sie Lecithin und Oleophosphorsäure nannten, einigermassen rein darzustellen. Dem entsprechend blieb ihnen die Zusammensetzung dieser noch sehr unreinen Körper in sehr wesentlichen Punkten unbekannt. Die Beziehungen der Glycerinphosphorsäure zur Zersetzung jener Körper zu demonstrieren, war ihnen jedoch in der Hauptsache gelungen.

Liebreich<sup>4)</sup> gelang es, aus dem Gehirn einen krystallisirten, sehr complicirten und leicht zersetzlichen Körper zu gewinnen, dem er den Namen Protagon gab und aus dem

<sup>1)</sup> L. c., T. XIX. p. 406.

<sup>2)</sup> L. c., T. XXI, p. 241.

<sup>3)</sup> L. c., T. XXX, p. 241.

<sup>4)</sup> Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 134, S. 29.



durch Spaltung mittelst Alkali fette Säuren, Glycerinphosphorsäure und eine Base, die er Neurin nannte, erhalten wurden.

Liebreich kochte das Protagon 24 Stunden lang mit concentrirtem Barytwasser, fällte den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure und filtrirte. Er erhielt im wässrigen Filtrat die Glycerinphosphorsäure an Baryt gebunden und eine Base, der er den Namen Neurin beilegte. Dies Neurin fällt er aus alkoholischer Lösung mit Platinchlorid.

Es wurde nun die Meinung herrschend, dass das Goble'y'sche Lecithin ein Zersetzungsproduct des Protagon darstelle, und dieser Substanz eine grosse Verbreitung zukäme.

Doch erschienen bald darauf die aufklärenden Arbeiten von Parke<sup>1)</sup> und Hoppe-Seyler<sup>2)</sup>, aus welchen hervorging, dass in dem Eidotter und in den rothen Blutkörperchen eine phosphorreiche Substanz enthalten wäre, welche wegen ihres bedeutenden Phosphorgehalts von dem Protagon verschieden sein müsste. Es war nämlich Hoppe-Seyler schon früher aufgefallen, dass die Untersuchung des Aetherauszuges der Blutkörperchen stets viel höheren Phosphorgehalt ergab, als der Berechnung entsprach, wenn man neben Cholesterin Protagon als einzigen Bestandtheil dieses Auszuges annahm. Es erschien somit sicher, dass die rothen Blutkörperchen ebenso wie der Eidotter kein Protagon, sondern Lecithin oder einen dem letzteren sehr ähnlichen Körper enthielten. Dieser phosphorreiche Körper wurde durch Behandlung der mit Aether erschöpften rothen Blutkörperchen, sowie des ebenso behandelten Eidotters mit warmem Alkohol erhalten; er krystallisirte in concentrirter alkoholischer Lösung bei längerem Stehen unter 0° und zeigte einen nahezu constanten Phosphorgehalt. Diakonow<sup>3)</sup> untersuchte den-

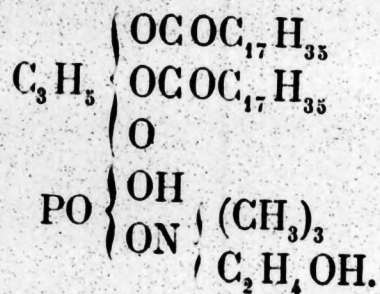
<sup>1)</sup> Medic.-chem. Untersuch., S. 209.

<sup>2)</sup> Medic.-chem. Untersuch., S. 218.

<sup>3)</sup> Medic.-chem. Untersuch., S. 221.

selben, und es gelang ihm, seine procentische Zusammensetzung, sowie seine chemische Structur im Wesentlichen zu erkennen.

Seiner Ansicht über die molekulare Constitution des Lecithins entsprach jedoch nicht die bald darauf erscheinende Auffassung Strecker's<sup>1)</sup>. Diakonow<sup>2)</sup> behauptete nämlich, dass das Lecithin eine salzartige Verbindung sei, und dass darin die Distearinglycerinphosphorsäure mit dem Neurin, welches die Rolle der Base vertrete, verbunden sei. Er kam zu diesem Schluss, weil erstens das Lecithin durch Behandlung mit Barytwasser zersetzt und in freies Neurin, glycerinphosphorsaures und stearinsaures Barium gespalten würde, zweitens beim Behandeln einer ätherischen Lecithinlösung mit verdünnter Schwefelsäure, in wässriger Lösung Neurinsulfat, in ätherischer dagegen Distearinglycerinphosphorsäure erhalten würden. Er gab dem Lecithin folgende Formel:



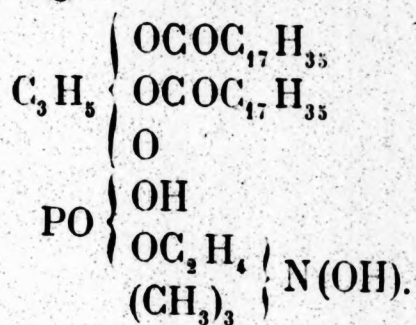
Nach Strecker ist das Lecithin im Gegentheil als ätherartige Verbindung anzusehen; das Neurin ist mit der Distearylglycerinphosphorsäure durch das Sauerstoffatom der Hydroxylgruppe verbunden. Strecker folgert dies aus der Reaction mit Platinchlorid, das zu einer alkoholischen Lecithinlösung hinzugesetzt, einen in Alkohol unlöslichen, in Aether und Chloroform leicht löslichen Niederschlag giebt, welcher seiner Ansicht nach 2 Moleküle HCl Lecithin und 1 Molekül Platinchlorid enthält. Das Lecithin verhält sich also wie eine Base. Wäre dasselbe eine salzartige Verbindung, so müsste man bei dieser Reaction Neurinplatinchlorid, unlöslich in

<sup>1)</sup> Annal. d. Chem. u. Pharm., 1868.

<sup>2)</sup> Centralblatt f. d. med. Wissenschaft, 1868.



Alkohol, Aether und Chloroform erhalten. Strecker giebt also dem Lecithin folgende Formel:



Die Strecker'sche Auffassung gewinnt nach Hundeshagen<sup>1)</sup> sehr an Wahrscheinlichkeit durch des Letzteren Versuche, das Lecithin synthetisch darzustellen; wenigstens ist ein negativer Beweis dafür erbracht, weil die synthetisch dargestellte Glycerinphosphorsäure mit dem Neurin keine salzartige Verbindung einging, die dem Lecithin entsprochen hätte.

In neuerer Zeit wurde nun die Ansicht Strecker's über die Structur der ätherartigen Bindung des Neurin im Lecithin an die Phosphorsäure durch Gilson<sup>2)</sup> ausser Zweifel gestellt; derselbe kam nach Behandlung des aus Eidotter gewonnenen Lecithins mit Säuren und Alkalien zu folgenden Resultaten: Durch Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Lecithin entsteht freie Phosphorsäure, während verdünnte Alkalien Glycerinphosphorsäure liefern. Lecithin wird durch verdünnte Säuren nur sehr langsam angegriffen, durch verdünnte Alkalien viel schneller und energischer zersetzt. Es ist also nicht als Salz der Distearylglycerinphosphorsäure, sondern als ätherartige Verbindung anzusehen.

Das interessante Auftreten von Cholesterin und Lecithin als constante Zersetzungsproducte der Einwirkung solcher Flüssigkeiten, die unter anderen Verhältnissen als einfaches Lösungsmittel angesehen werden, auf die rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere ist seit den Untersuchungen von Hoppe-Seyler und Jüdel nur höchstens flüchtig gestreift. Wooldridge<sup>3)</sup> erwähnt kurz, dass er aus den rothen Blut-

<sup>1)</sup> Franz Hundeshagen, Inaug.-Diss., Leipzig 1883.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. XII, S. 585.

<sup>3)</sup> Du Bois' Archiv, 1881, S. 387.

körperchen Cholesterin und Lecithin, aus letzterem das Platindoppelsalz erhalten habe. Er behauptet, dass das bis dahin aus dem rothen Bodensatz des Blutes gewonnene Lecithin nicht aus den rothen, sondern aus den weissen Blutkörperchen erhalten sei, eine Annahme, die jeglicher Begründung entbehrt. — Es war von Hoppe-Seyler festgestellt, dass den rothen Blutkörperchen nach erschöpfender Extraction mit Aether noch durch Alkohol eine reichliche Portion von Lecithin entzogen würde, ebenso wie anderen organischen Körpern, z. B. den Pflanzenkeimen, wie es neuerdings von E. Schulze und E. Steiger<sup>1)</sup> nachgewiesen ist.

Aber es ist noch nicht der Beweis geführt, dass die Zersetzungsproducte wie Glycerinphosphorsäure und Neurin ebenso aus dem Lecithin der rothen Blutkörperchen wie aus dem Eidotter, Bierhefe und anderen Pflanzentheilen erhalten werden. Ebenso wenig ist festgestellt, dass das Cholesterin der rothen Blutkörperchen identisch ist mit dem der Gallensteine, des Gehirns etc. Es sind ferner die quantitativen Verhältnisse, in welchen diese (nach den Eiweissstoffen) wichtigsten Zerfallproducte des Zellprotoplasma in den rothen Blutkörperchen des Menschen in normalen und pathologischen Zuständen auftreten, noch nicht untersucht.

Ich folgte deshalb gern der Aufforderung des Herrn Professor Hoppe-Seyler, zur Ermittlung dieser Dinge die folgenden Untersuchungen anzustellen.

## I.

### Qualitative Versuche.

Die qualitativen Versuche wurden wiederholt mit grossen Mengen defibrinirten Pferdeblutes angestellt, weil bekanntlich bei diesem schon nach ruhigem Stehen die Blutkörperchen sich schön und schnell zu Boden senken. Die vollständige Senkung der rothen Blutkörperchen wurde mit  $\frac{1}{10}$  gesättigter

<sup>1)</sup> Landwirthschaftl. Versuchsstation, Bd. 36, S. 391.



Kochsalzlösung (d. h. 10 Theile gesättigter Kochsalzlösung auf 90 Theile Wasser) bewerkstelligt.

Es sind von verschiedenen Autoren andere Methoden zur Abtrennung des Serum von den rothen Blutkörperchen angegeben worden; so hat in neuester Zeit Mayet<sup>1)</sup> angegeben, er habe die rothen Blutkörperchen besonders schön dadurch gewonnen, dass er das defibrinirte Blut mit einer Lösung von 1,5 reines Natriumsulfat auf 100 Theile Wasser behandelte. Herr Professor Hoppe-Seyler hat unter anderen Methoden auch diese versucht und in Folge der Mittheilung von Mayet neuerdings constatirt, dass die oben erwähnte Kochsalzlösung am zweckmässigsten ist, weil durch sie die rothen Blutkörperchen am wenigsten angegriffen werden.

Ich liess also, um einen Versuch herauszugreifen, 6,865 Ltr. defibrinirtes Pferdeblut  $\frac{1}{2}$  Stunde in der Kälte stehen und konnte dann schon 2,715 Ltr. reines Serum abgiessen. Der Rest wurde durch ein leinenes Tuch filtrirt und mit 25 Ltr. von obiger Kochsalzlösung gut umgerührt und in Schalen aufgestellt. Nach 24 Stunden wurde die klare Flüssigkeit (Serum + Kochsalzlösung) von den Schalen abgegossen, das dünne Gemenge von Serum, Salzwasser und Blutkörperchen wiederum mit Kochsalzlösung von obigen Procentgehalt aufgestellt. Der dicke Brei von rothen Blutkörperchen, der sich am Boden der Schalen befand, wurde zusammen in einen Kolben gebracht, der Rest mit sehr wenig Wasser nachgespült und eben dahin gebracht.

Auf diese rothen Blutkörperchen wurde Aether gegossen, der Kolben mehrere Male am Tage leicht rotirt. Täglich kamen neue Mengen rother Blutkörperchen hinzu, die sich jedesmal am Boden der Schalen wieder abgesetzt hatten. Dreimal wurde mit Aether extrahirt, letzterer jedesmal abgegossen, von den vereinigten Extracten der Aether abdestillirt, der Rest im Becherglas verdunstet und unter der Luftpumpe getrocknet.

<sup>1)</sup> Comptes rendues hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences, T. 109, No. 4, Paris 1889.

Dann wurden dieselben rothen Blutkörperchen mit warmem Alkohol dreimal extrahirt und filtrirt, der Alkohol bis zum dicken Syrup verdunstet. Letzterer wurde mehrmals mit Aether extrahirt, dieser im Becherglase verdunstet, der Rückstand dann gleichfalls unter der Luftpumpe getrocknet.

Die Rückstände wurden möglichst in Wasser und sehr wenig Alkohol gelöst, zusammengebracht eine Stunde mit heiss gesättigtem Barytwasser gekocht, dann mit Wasser verdünnt, Kohlensäure hindurch geleitet, um den überschüssigen Baryt zu fällen, und filtrirt.

Im Filtrate befinden sich glycerinphosphorsaures Barium und Neurin, im Niederschlag die Fettsäuren, gleichfalls an Baryt gebunden, kohlen-saures Barium und das Cholesterin.

Dieser ganze Niederschlag wurde in Wasser gethan, Salzsäure hinzugefügt, um die Kohlensäure herauszutreiben, wobei natürlich auch die Barytseifen gespalten wurden, und filtrirt.

Der Filter mit dem Niederschlag wurde mit Aether geschüttelt und filtrirt; dann diese ätherische Lösung mit sehr verdünnter Kalilauge geschüttelt und im Scheidetrichter getrennt: wir haben nun in der ätherischen Lösung Cholesterin, in der wässerigen die Kali-Seifen.

Von ersterer wurde der Aether verdunstet, und das Cholesterin krystallisirt erhalten. Von der Seifenlösung wurden die Fettsäuren nach Salzsäurezusatz gleichfalls in Aether aufgenommen, und der Aether verdunstet.

Die Lösung von glycerinphosphorsaurem Barium und Neurin wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, das Neurin in absolutem Alkohol gelöst und vom Niederschlag von glycerinphosphorsaurem Barium abfiltrirt. Die Lösung von Neurin in absolutem Alkohol wurde mit alkoholischem Platinchlorid versetzt, 24 Stunden stehen gelassen, filtrirt und mit absolutem Alkohol gewaschen. Der Niederschlag von salzsaurem Neurinplatinchlorid in Wasser gelöst, bis auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbade einge-



dampft und über Schwefelsäure getrocknet. Man erkannte nach dem Auskrystallisiren deutlich die sechsseitigen Tafeln von orange-gelber Farbe, die für salzsaures Neurinplatinchlorid charakteristisch sind.

Der auf dem Filter gebliebene Niederschlag von glycerinphosphorsaurem Baryt wurde in Wasser gelöst, zur Trockne verdunstet und in eine kleine Retorte gebracht. Dann wurde etwas saures schwefelsaures Kali hinzugefügt und vorsichtig erhitzt. Die Dämpfe wurden durch einen Kühler geleitet und unten aufgefangen. Sie wurden als Acrolein-Dämpfe erkannt, erstlich durch ihren stechenden Geruch, zweitens durch ihre Fähigkeit, salpetersaures Silber zu reduciren. — Durch diese Acrolein-Dämpfe war das Glycerin nachgewiesen.

Der in der Retorte gebliebene Rückstand wurde in Wasser gelöst, mit starker reiner Salpetersäure stark sauer gemacht, molybdänsaures Ammoniak hinzugefügt, und die Phosphorsäure als phosphormolybdänsaurer Ammoniak (gelber Niederschlag) nachgewiesen.

In gleicher Weise wurden noch mehrere andere Quantitäten Pferdeblut behandelt, und die betreffenden Endproducte jedesmal zu denen des ersten Versuches gebracht.

Nachdem ich genügende Quantitäten Cholesterin und salzsaures Neurinplatinchlorid gewonnen hatte, sollten diese Körper näher untersucht werden: ersteres auf seinen Schmelzpunkt und seine Fähigkeit, die Polarisationssebene zu drehen, letzteres auf seinen Platingehalt.

Dazu mussten die Objecte natürlich vollständig gereinigt werden.

Die Abtrennung der letzten Seifenreste vom Cholesterin bot erhebliche Schwierigkeiten. Ich machte erst den Versuch, dasselbe durch Thierkohle zu reinigen: Das Cholesterin wurde in Alkohol und Aether zu gleichen Theilen gelöst, mit frisch geglühter Thierkohle zerrieben und filtrirt, darauf mit Alkohol und Aether nachgespült. Die so erhaltene alkoholisch-ätherische Cholesterinlösung wurde auf dem Wasserbade abgedampft und bei 80° getrocknet. Doch auch jetzt zeigte

sich noch eine kleine Seifenverunreinigung. Deshalb wurde folgendes Verfahren eingeschlagen: Das Cholesterin wurde mit Wasser verrührt, eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erhitzt, filtrirt und mit heissem Wasser gewaschen. In das Filtrat war etwas Seife mit übergegangen, wie durch Salzsäurezusatz bewiesen wurde. Das auf dem Filter befindliche Cholesterin wurde nun in 70procentigen Alkohol gebracht, einige Tropfen Salzsäure hinzugesetzt und auf dem Wasserbade erhitzt, bis sich sowohl Cholesterin wie Seifen gelöst hatten, die Flüssigkeit also vollständig klar geworden war. Beim Erkalten schieden sich schöne Cholesterinkrystalle aus, welche abfiltrirt, mit kaltem 70procentigem Alkohol dreimal gewaschen und in Aether gelöst wurden. Der Aether wurde verdunstet und das so erhaltene Cholesterin musste nun vollständig rein sein. Natürlich war auch etwas Cholesterin in der salzsäurehaltigen alkoholischen Lösung geblieben. Dies wurde jedoch, wenn auch nicht ganz, so doch zum grössten Theil, dadurch wiedergewonnen, dass die Flüssigkeit ungefähr auf ein Viertel ihres Volumens eingedampft wurde. Beim Erkalten schieden sich wieder Cholesterinkrystalle aus, die in gleicher Weise behandelt wurden.

Der Schmelzpunkt des so gereinigten und getrockneten Cholesterins wurde bei kleiner Flamme in concentrirter Schwefelsäure bestimmt: Das Cholesterin schmolz regelmässig bei  $145^{\circ}$  C., stimmt also in dieser Hinsicht genau mit dem Cholesterin überein, was aus Gehirn und Gallensteinen gewonnen worden ist.

Das spezifische Drehungsvermögen des getrockneten Cholesterins wurde in concentrirter Chloroformlösung bestimmt, und zwar in einem grossen Halbschatten-Polarimeter nach Lippich-Landolt.

Auch aus diesen Bestimmungen ergab sich die Identität des Blutkörperchen-Cholesterins mit dem aus Gallensteinen gewonnenen: Denn ich erhielt bei einer 4,8procentigen Chloroformlösung, bei einer Länge des Rohres von 20 cm.:

$$\text{bei } 19^{\circ} \text{ eine Ablenkung von } 3,58^{\circ}, \text{ oder } (\alpha)_{\text{D}} = \frac{3,58}{0,048 \cdot 2} = 37,29^{\circ}.$$



Hesse<sup>1)</sup> fand bei 15° mit der Concentration zunehmend 37,02—38,63° Ablenkung bei dem aus Gallensteinen erhaltenen Cholesterin. Beim Wechseln der Temperatur machte ich die Beobachtung, dass die Grösse des Ablenkungswinkels zur Höhe der Temperatur im umgekehrten Verhältniss stand.

Das Cholesterin gab ferner die bekannten schönen Farbenreactionen: Beim Uebergiessen der Cholesterinkrystalle mit concentrirter Schwefelsäure und Hinzufügen von Chloroform erhielt ich eine blutroth bis violett gefärbte Lösung, die an der Luft bald wieder farblos wurde, indem das Roth in Violett, Blau, Grün überging. Rauchende Salpetersäure bewirkte dies Farbenspiel fast momentan. — Wenige Krystalle mit einem Tropfen concentrirter Salpetersäure auf einer Porcellanplatte erhitzt gaben einen gelben Fleck, der noch warm mit Ammoniak übergossen, schön roth wurde. Endlich gab das Cholesterin, in Chloroform gelöst mit concentrirter Schwefelsäure und Essigsäureanhydrid eine blaue Farbe (Liebermann'sche Reaction).

Durch diese Reactionen sowohl, wie durch die Uebereinstimmung des Schmelzpunktes und des Rotationsvermögens ist die Identität des aus Blutkörperchen gewonnenen Cholesterins mit dem Gallenstein-Cholesterin bewiesen.

Zur Platinbestimmung des salzsauren Neurinplatinchlorids wurden sämtliche über Schwefelsäure getrockneten Krystalle dieses Doppelsalzes zusammen in Wasser gelöst, filtrirt, das Wasser verdunstet und die getrockneten Krystalle mit absolutem Alkohol gewaschen.

Von dem so gereinigten Doppelsalz wurden 2 Portionen gemacht, jede bei 100° getrocknet und im Uhrsälchen gewogen. Jede Portion wurde dann in Wasser gelöst, durch diese Lösung auf dem Wasserbade Schwefelwasserstoff hindurch geleitet, so lange ein Niederschlag erfolgte, der Niederschlag von Schwefelplatin auf aschefreiem kleinen Filter gesammelt, getrocknet, vorsichtig im Porcellantiegel erhitzt, dann heftig bis zum Weggehen der Kohle geglüht und das

<sup>1)</sup> Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 192, S. 178.

Platin gewogen. Diese Platinbestimmung wurde jedoch zuerst an 2 Portionen aus dem Gehirn gewonnenen salzsauren Neurinplatinchlorids gemacht, welches Herr Professor Hoppe-Seyler so liebenswürdig war, mir zur Verfügung zu stellen. Ich fand in der:

1. Portion:	30,909	%	Platin.
2.       »	31,000	»	»
Berechnet:	31,79	»	»

Die Platinbestimmung des aus den Blutkörperchen gewonnenen Doppelsalzes ergab ein noch genaueres Resultat. Zur Bestimmung benutzte ich eine möglichst grosse Menge salzsauren Neurinplatinchlorids, und zwar waren es 0,516 gr. In diesen fand ich 0,163 gr. Platin, also 31,58%.

Aus dieser Uebereinstimmung, sowie aus der Krystallform, den Lösungsverhältnissen und der Art der Fällung des salzsauren Neurinplatinchlorids geht es klar hervor, dass dasselbe identisch ist mit dem aus Gehirn und Eidotter gewonnenen.

## II.

### Quantitative Versuche.

Es wurden 5 quantitative Bestimmungen mit Leichenblut gemacht. Herr Professor von Recklinghausen hatte die Güte, mir dasselbe zur Verfügung zu stellen.

Die Methode war dieselbe wie die bei den qualitativen Versuchen; nur wurde die Verseifung nicht mit Barytwasser, sondern mit alkoholischer Kalilauge gemacht: Beide gewogenen Extractrückstände wurden in Alkohol gelöst eine Stunde lang mit alkoholischer Kalilauge gekocht, bis zur Trockne verdunstet; der Rückstand in Wasser gelöst, mehrmals mit Aether geschüttelt, um das Cholesterin zu gewinnen, der Aether abdestillirt, das Cholesterin im Becherglas getrocknet und gewogen.

Die Summe der beiden Extractrückstände minus Cholesterin ergab das Gewicht des Lecithins; vorher musste noch die jedesmal auftretende Seifenverunreinigung des Cholesterins durch wiederholtes Waschen mit kaltem 60procentigem Alkohol abgetrennt werden.



Das Lecithin wurde zweitens aus der Phosphorsäure berechnet und zwar auf folgende Weise: Die wässrige Lösung von Neurin, Seifen, glycerinphosphorsaurem Kali etc. wurde mit Salpeter und Soda in einer Platinschale zur Trockne verdunstet, dann vorsichtig bis zum Weggehen der Kohle geschmolzen. Nach dem Erkalten wurde die Schmelze in heissem Wasser gelöst, mit starker reiner Salpetersäure stark sauer gemacht, und molybdänsaures Ammoniak hinzugeführt.

Am folgenden Tage wurde der Niederschlag von phosphormolybdänsaurer Ammoniak-Magnesia auf kleinerem Filter gesammelt, mit verdünntem Ammoniak gewaschen, getrocknet, im Platintiegel bis zum Weggehen der Kohle geglüht und nach dem Erkalten über Schwefelsäure gewogen. Das Gewicht multiplicirt mit der Zahl 7,2748, ergiebt bekanntlich den Lecithingehalt für Lecithin, welches Stearinsäure bei der Spaltung liefert. Die Oelsäure oder Palmitinsäure liefernden Lecithine weichen nur sehr unbedeutend in dieser Beziehung ab, so dass der Unterschied vernachlässigt werden kann.

Der Lecithin- sowie der Cholesteringehalt wurden nun auf das Gewicht der gesammten in den rothen Blutkörperchen enthaltenen organischen Substanz bezogen. Um dieses zu erhalten, wurde folgendes Verfahren angewendet: Die zuletzt mit Alkohol behandelte ungelöste Masse der rothen Blutkörperchen wurde in einer Porcellanschale auf dem Wasserbade getrocknet, pulverisirt und zerrieben. Hierzu wurde die auf das gewogene Filter gebrachte Masse nach gutem Abtropfen mit dem Spatel heruntergenommen und in die Schale gebracht. Die oberflächlich getrocknete und gepulverte Masse wurde mit der Schale, dann ein Theil derselben von ungefähr 2 bis 3 gr. Gewicht in einem Bechergläschen genau gewogen, bei 120° anhaltend getrocknet und gewogen, und hieraus der Gehalt an festen Stoffen in der ganzen oberflächlich getrockneten Masse berechnet. Der am Filter haften bleibende Blutrückstand wurde gesondert mit dem Filter bei 120° getrocknet und gewogen. Die Blutkörperchen wurden verbrannt, und das Gewicht der Asche von dem der Trockensubstanz abgezogen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen waren folgende:

### 1. Versuch.

55 ccm. vom stark anämischen Individuum (Mann; Magencarcinom).

Gewicht der mit Alkohol und Aether behandelten organischen Substanz . . . . .	2,678 gr.
Cholesterin . . . . .	0,0075 »
Lecithin . . . . .	0,0925 »
Gesammte org. Subst. . . . .	2,7780 gr.

Procentgehalt auf hundert Theile org. Subst.:

$$\text{Cholesterin} \cdot \frac{0,75}{2,778} = 0,27\%$$

$$\text{Lecithin} \cdot \frac{9,25}{2,778} = 3,33\%$$

### 2. Versuch.

150 ccm. Blut (Mann, Phthisis, aber kräftig).

Gewicht der mit Alkohol und Aether behandelten organischen Substanz . . . . .	12,792 gr.
Cholesterin . . . . .	0,022 »
Lecithin . . . . .	0,234 »
Gesammte org. Subst. . . . .	13,048 gr.

Procentgehalt:

$$\text{Cholesterin} \cdot \frac{2,2}{13,048} = 0,168\%$$

$$\text{Lecithin} \cdot \frac{23,4}{13,048} = 1,793\%$$

### 3. Versuch.

152 ccm. Blut (Weib, kräftig, Embolie).

Mit Alkohol und Aether behandelte org. Subst. . . . .	18,064 gr.
Cholesterin . . . . .	0,034 »
Lecithin . . . . .	0,318 »
Gesammte org. Subst. . . . .	18,446 gr.

Procentgehalt:

$$\text{Cholesterin} \cdot \frac{3,4}{18,446} = 0,184\%$$

$$\text{Lecithin} \cdot \frac{3,18}{18,446} = 1,723\%$$



## 4. Versuch.

106 cem. Blut (Weib, kräftig).

Mit Alkohol und Aether behandelte org. Subst. . . . .	19,612 gr.
Cholesterin . . . . .	0,019
Lecithin . . . . .	0,196
Gesammte org. Subst. . . . .	19,827 gr.

## Procentgehalt:

$$\text{Cholesterin} \cdot \frac{1,9}{19,827} = 0,095\%$$

$$\text{Lecithin} \cdot \frac{19,6}{19,827} = 0,993\%$$

## 5. Versuch.

100 cem. Blut (Mann, mittelkräftig).

Mit Alkohol und Aether behandelte org. Subst. . . . .	16,407 gr.
Cholesterin . . . . .	0,008
Lecithin . . . . .	0,249
Gesammte org. Subst. . . . .	16,664 gr.

## Procentgehalt:

$$\text{Cholesterin} \cdot \frac{0,8}{16,664} = 0,048\%$$

$$\text{Lecithin} \cdot \frac{24,9}{16,664} = 1,494\%$$

Stellen wir diese Resultate zusammen, so ergibt sich:

	Cholesterin:	Lecithin:
I.	0,27	3,33
II.	0,168	1,793
III.	0,184	1,727
IV.	0,095	0,993
V.	0,048	1,494
	0,755	9,337

Dividire ich jede dieser Summen durch 5, so erhalte ich im Mittel:

0,151% Cholesterin.  
1,867% Lecithin.

Die einzelnen gefundenen Procentwerthe differiren unter einander besonders für das Cholestrin erheblich. Die Ursache der Verschiedenheit kann in der Schwierigkeit begründet sein, so kleine Mengen von Cholesterin ohne wesentlichen Verlust an Substanz zu bestimmen, da besonders die Entfernung beigemengter Seifen leicht Verlust veranlasste.

Es ist nicht unwahrscheinlich, dass in pathologischen Zuständen der Gehalt an Cholesterin und Lecithin in den rothen Blutkörperchen sich ändern kann. Für die Prüfung dieser Aenderungen würde jedoch zunächst eine Vermehrung der Analysen der normalen Blutkörperchen erforderlich sein.

Wenn ich nun noch einmal recapituliren darf, was ich gefunden habe, so ergibt sich:

1. Das Cholesterin der rothen Blutkörperchen ist identisch mit dem aus Gallensteinen gewonnenen, weil der Schmelzpunkt, das specifische Drehungsvermögen und die Reactionen die gleichen sind. Die specifische Rotation in Chloroformlösung ist mit der Erhebung der Temperatur absinkend gefunden worden.

2. Das Lecithin der rothen Blutkörperchen ist gleichfalls identisch mit dem im Eidotter, Gehirn etc. enthaltenen, da die beiderseitigen Zersetzungsproducte dieselben sind.

3. Die rothen Blutkörperchen enthalten im Mittel 0,151% Cholesterin.

4. Die rothen Blutkörperchen enthalten im Mittel 1,867% Lecithin.

Zum Schluss sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Hoppe-Seyler, für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seine jederzeit freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank abzustatten. Auch bin ich den Herren Privatdocent Dr. Hans Thierfelder, wie Dr. Julius Abel, Assistenten am physiologisch-chemischen Institut, für ihr in jeder Hinsicht lebenswürdiges Entgegenkommen zu grossem Danke verpflichtet.