

Ueber zuckerabspaltende, phosphorhaltige Körper in Leber und Nebenniere.

Von

Dr. Paul Manasse,
II. Assistenten am pathologischen Institut.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)
(Der Redaction zugegangen am 11. März 1895.)

Es ist seit Jahren bekannt, dass die Marksubstanz der Nebennieren zum grössten Theil aus Zellen zusammengesetzt ist, welche, mit chromsauren Salzen behandelt, eine dunkelbraune Färbung annehmen, dagegen in Alkohol gehärtet, vollständig farblos bleiben. Vor einiger Zeit¹⁾ habe ich nun in den Gefässen der Nebennieren, welche frisch in chromsauren Salzen fixirt waren, eine braune glasige Substanz beschreiben können, von welcher gleichfalls bei directer Alkoholbehandlung nichts zu bemerken war. Ich musste also vermuthen, dass die Substanz, welche diese eigenthümliche braune Chromsäure-Verbindung in den Zellen sowohl als in den Gefässen gab, in Alkohol löslich sei.

Ich habe deshalb den Alkoholextract dieser Organe chemisch untersucht, um jene Substanz isolirt zu erhalten und eventuell näher definiren zu können.

Herr Professor Dr. Hoppe-Seyler, in dessen Laboratorium ich diese Untersuchungen anstellte, hat mich in lebenswürdigster Weise mit Rath und That unterstützt, wofür ich nicht verfehlen möchte, ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

¹⁾ Virch. Arch., Bd. 135, S. 263.

Von vorneherein möchte ich bemerken, dass es mir nicht gelungen ist, jene Substanz zu erhalten, dass ich jedoch constant im Alkoholextract der Nebennieren einen Körper angetroffen habe, welcher grosse Aehnlichkeit mit dem von Drechsel¹⁾ in der Leber gefundenen und von ihm so benannten Jecorin besitzt, jedoch nicht mit demselben identisch zu sein scheint.

Das Jecorin selbst ist nur wenig untersucht; es liegen, soweit mir bekannt, ausser der Drechsel'schen Abhandlung nur 2 Arbeiten darüber vor; es schien mir desshalb lohnend, zunächst diesen Körper näher zu studiren, besonders um den in den Nebennieren gefundenen, über den ich weiter unten berichten werde, mit demselben vergleichen zu können.

I.

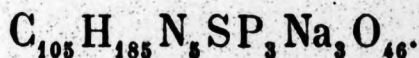
Jecorin.

Das Jecorin wurde von Drechsel im Alkoholextract der Leber gefunden, und zwar aus der ätherischen Lösung desselben durch absoluten Alkohol gefällt.

Die Analyse Drechsel's gab folgende Resultate:

C . . .	51,32—51,64 %.
H . . .	3,11— 8,25 %.
N . . .	2,86 %.
S . . .	1,42— 1,47 %.
P . . .	3,2 — 3,7 %.
Na. . .	2,72 %.
O . . .	30,10 %.

Er berechnet daraus die Formel:



Das getrocknete Jecorin war in wasserfreiem Aether fast unlöslich, ebenso in Alkohol, dagegen in Wasser löslich nach vorhergehender Quellung. Durch concentrirte Salzlösungen wurde die wässrige Lösung gefällt. Essigsaures Kupferoxyd und salpetersaures Silberoxyd fällten die Lösung gleichfalls. Die Niederschläge lösten sich auf Zusatz von Jecorinlösung.

¹⁾ Journal f. prakt. Chemie, Bd. 33, S. 425.

Diese Lösungen waren stark opalisirend; die silberhaltige wurde durch etwas Ammoniak völlig klar und färbte sich dann beim Kochen prachtvoll weinroth. Versetzte man die kupferhaltige Lösung mit einigen Tropfen Natronlauge, so wurde sie schön blau und klar, und schied beim Kochen rothes Kupferoxydul aus; dasselbe geschah beim Kochen einer Jecorinlösung mit Fehling'scher Lösung. Alkalische Lösungen von rothem Blutlaugensalz wurden in der Hitze durch Jecorin ebenfalls reducirt. Ferner gelang es Drechsel, Stearinsäure aus dem Jecorin darzustellen. Am Schlusse seiner Abhandlung weist er darauf hin: 1. auf diesen Körper Rücksicht zu nehmen bei der Bestimmung der Kohlehydrate, 2. warnt er davor, den ganzen Phosphorgehalt des Alkoholätherextractes auf Lecithin zu beziehen.

Weiter stellte Baldi¹⁾ das Jecorin aus Kaninchen- und Hunde-Leber dar, desgl. aus Rindermilz, Pferdemuskel und aus Rohcerebrin. Auch er weist darauf hin, wie falsch es jetzt sei, die Lecithinmenge nach dem Phosphorgehalt und die Zuckermenge nach dem Reductionsvermögen der wässerigen und alkoholischen Extracte eines Organes zu bestimmen. Er fand überall dieselben Eigenschaften in dem Jecorin der verschiedenen Organe und erhielt bei der Analyse folgende Werthe:

C . . .	46,88—46,89 %.
H . . .	7,81— 8,09 %.
N . . .	4,36— 4,88, %.
S . . .	2,14— 2,70 %.
P . . .	2,29— 2,75 %.
Na. . .	5,72 %.

Drittens hat Jacobsen²⁾ das Jecorin im Blut beschrieben und sein Reductionsvermögen genauer studirt.

Ich habe mir nun das Jecorin dargestellt und verfuhr dabei, analog der Drechsel'schen Angabe, auf folgende Weise:

Grössere Mengen von Pferdeleber (jedesmal ca. 4 Kilogr., im Ganzen ca. 16 Kilogr.) wurden von grösseren Gefässen

¹⁾ Du Bois' Arch. 1887, Supplementbd., S 100.

²⁾ Centralblatt f. Physiologie 1892, Heft 13.

befreit, klein gehackt und längere Zeit (Tage und Wochen lang) mehrfach mit Alkohol extrahirt. Die vereinigten Extracte wurden filtrirt, bei mässiger Wärme, 40 – 50°, auf dem Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedampft. Dieser Rückstand wurde dann mehrfach mit absolutem Alkohol behandelt, die alkoholische Lösung abgegossen, der Rest soweit als möglich in Aether gelöst und filtrirt. Fügte ich zu der ätherischen Lösung absoluten Alkohol in gleicher bis doppelter Menge hinzu, fiel ein dicker braungelber flockiger Niederschlag aus, welcher sich stark zusammenballte und sich sehr bald absetzte. Dieser Niederschlag musste Jecorin sein.

Dasselbe wurde am anderen Tage wieder in Aether gelöst, wobei ein kleiner Theil ungelöst blieb, aus der ätherischen Lösung das Jecorin wieder mit absolutem Alkohol gefällt. Diese Reinigung wurde 6—8 Mal wiederholt. Die Flüssigkeit wurde dann soweit als möglich abgegossen, das Jecorin im Becherglase mit dem Rest des Alkohol-Aethers über Schwefelsäure gestellt und getrocknet. Die Substanz auf dem Filter zu trocknen, ist unzweckmässig, da sie zu fest mit dem Papier verklebt.

Nach vollständiger Trocknung stellte das Jecorin eine erdige, poröse, fast weisse Substanz dar, welche bei geringster Wasseraufnahme braun wurde. Es war in Aether sowohl als in Alkohol unlöslich, leicht löslich dagegen in Wasser mit geringer Opalescenz, welche auf Zusatz von Natronlauge vollständig verschwand. Ueberhaupt zeigte es die von Drechsel angegebenen Eigenschaften, besass vor Allem die Fähigkeit, alkalische Kupferlösung beim Erwärmen zu reduciren.

Der Phosphor- und Fettsäure-Gehalt verlieh dem Jecorin eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Lecithin, auf die übrigens auch schon Drechsel hingewiesen hat. Ich habe deshalb versucht, die Zersetzungsproducte des Lecithins aus dem Jecorin durch Verseifung des letzteren darzustellen: Zu diesem Zweck wurde eine grössere Menge Jecorin in wenig Wasser gelöst, mit gesättigter, wässriger Barytlösung eine Stunde lang gekocht, der überschüssige Baryt durch Kohlensäure entfernt und mit den Barytseifen abfiltrirt. Das Filtrat wurde auf

dem Wasserbade fast bis zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol behandelt, die alkoholische Lösung abfiltrirt, der Rest in Wasser gelöst.

Die wässerige Lösung musste nun die Glycerinphosphorsäure (als Barytsalz), die alkoholische das Cholin enthalten, wenn Lecithin in dem Jecorin enthalten war. Die alkoholische Lösung wurde nun mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, wobei ein dicker, gelber Niederschlag sich abschied. Dieser wurde auf kleinem Filter gesammelt, in wenig Wasser gelöst, auf dem Wasserbade eingeeengt und auf den Exsiccator gestellt. Am anderen Morgen hatten sich die bekannten, schönen, orangeröthen Krystalle des salzsauren Neurin-Platinchlorids ausgeschieden.

Der Theil des Verseifungsrückstandes, welcher, in Alkohol unlöslich, in Wasser gelöst worden war, wurde etwas eingedampft, wenige Tropfen der Lösung im Platintiegel mit Salpeter und Soda geschmolzen, die Schmelze nach dem Erkalten in heissem Wasser gelöst, mit reiner Salpetersäure stark sauer gemacht und mit molybdänsaurem Ammoniak versetzt. Nach dem Erwärmen fiel ein starker gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak aus.

Durch diesen Nachweis von Phosphorsäure war auch zugleich die Glycerinphosphorsäure nachgewiesen, da Glycerinphosphorsäure die einzige phosphorhaltige Säure ist, welche mit Baryt ein in Wasser lösliches Salz bildet.

Der erste, bei der Verseifung erhaltene Niederschlag von Barytseifen und Baryumcarbonat wurde in Wasser aufgenommen, mit Salzsäure versetzt und mit Aether geschüttelt. Nach der Trennung der ätherischen von der wässerigen Lösung wurde die erstere auf ein kleines Volumen eingeeengt, der Rest getrocknet. Hierbei schieden sich sehr schöne Krystalle aus, welche bei 58–60° schmolzen, also offenbar Fettsäuren darstellten.

Wir haben also in dem Jecorin Cholin, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren gefunden; damit ist aber der Beweis erbracht, dass in ihm ein lecithinartiger Körper enthalten ist.

Die höchst auffallende Eigenschaft des Jecorins, Kupfer in alkalischer Lösung zu reduciren, führte darauf hin, Beziehungen dieser Substanz zu irgend einem Kohlehydrat aufzusuchen.

Zuerst wurde an Galactose gedacht. Der Nachweis derselben wäre leicht durch Darstellung von Schleimsäure zu erbringen gewesen.

Es wurde desshalb nach Kent und Tollens¹⁾ 1 gr. Jecorin fein verrieben, mit 12 ccm. Salpetersäure von 1,15 sp. G. auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Flüssigkeit syrupös wurde. Beim Erkalten schieden sich Krystalle aus, welche jedoch mit Schleimsäure keine Aehnlichkeit hatten, da sie absolut nicht jene für diese Säure charakteristische weisse sandige Beschaffenheit zeigten, ferner auch in Aether löslich waren. (Sie erwiesen sich dann als Fettsäurekrystalle.) Galactose konnte demnach nicht das gesuchte Kohlehydrat sein.

Es wurde das Letztere von dem Lecithin zu trennen versucht und zwar zunächst durch die Behandlung mit Alkalien. Jedes Product der Barytverseifung sowohl als auch einer Verseifung mit alkoholischer Kalilauge wurde auf seine Fähigkeit, Kupfer zu reduciren, geprüft, jedoch stets ohne Erfolg. Die reducirende Substanz, welche neben dem lecithinähnlichen Körper im Jecorin vorhanden war, musste also beim Kochen mit Alkalien zersetzt worden sein.

Kochte ich das Jecorin jedoch nur 10 Minuten mit $2\frac{1}{2}$ proc. Schwefelsäure, so schied sich aus der Lösung eine braune harzige Masse aus, welche abfiltrirt, leicht in Aether löslich war; prüfte ich jetzt die wässrige Lösung auf Reduction, so fiel ein so starker Niederschlag von Kupferoxydul aus, dass ich entschieden den Eindruck gewann, als ob die Reductions-fähigkeit vermehrt wäre.

Schon im Anfang hatte ich den Versuch gemacht, durch Behandlung des Jecorins mit salzsaurem Phenylhydrazin und essigsauerm Natron ein Osazon darzustellen, jedoch mit wechselndem Erfolg.

¹⁾ Liebig's Annalen, Bd. 227, S. 224.

Wenn ich jetzt nach der Schwefelsäure-Behandlung des Jecorins mit Baryumcarbonat neutralisirte, abfiltrirte und das Filtrat mit salzsaurem Phenylhydrazin und essigsauerm Natron nach der Emil Fischer'schen Vorschrift versetzte, dreiviertel Stunden im Wasserbade erhitzte, erhielt ich stets den charakteristischen, an Tannenzweige erinnernden Niederschlag, welcher schon in der Wärme ausfiel. Derselbe bestand unter dem Mikroskop aus langen, gelben, in Büscheln bei einander liegenden Nadeln, typischen Osazonkrystallen. Hierdurch war das Vorhandensein einer Zuckerart im Jecorin erwiesen, bezw. die Möglichkeit, durch Hydrolyse einen Zucker aus jenem Körper abzuspalten. Um den Charakter des Zuckers näher zu bestimmen, wurde von den Osazonkrystallen eine grössere Menge dargestellt, dieselben mit Chloroform gereinigt, getrocknet und auf ihren Schmelzpunkt untersucht:

Sie schmolzen bei 203—204°.

Dieser Schmelzpunkt (204—205) kommt nur dem Glucosazon zu, bezw. den mit ihm identischen Osazonen der Mannose und der Fructose.

Charakteristisch für Mannose ist ihr schwer lösliches Phenylhydrazon. Beim Vermischen der kalten wässerigen Mannose-Lösung fällt das Hydrazon als krystallinischer Niederschlag aus, während die Hydrazone der übrigen Zuckerarten meist leicht löslich sind¹⁾).

Bei der Behandlung unserer Substanz mit salzsaurem Phenylhydrazin und essigsauerm Natron konnte eine Krystallisation des Hydrazons nicht beobachtet werden, nur das Osazon fiel nach dreiviertelstündigem Erwärmen regelmässig aus. Also konnte der vom Jecorin abgespaltene Zucker keine Mannose sein. Bleibt nur noch Fructose und Glucose. Das Vorhandensein der ersteren in der Leber ist jedoch sehr unwahrscheinlich, da sie mit Ausnahme beim Diabetes (Kütz) überhaupt noch nicht im thierischen Organismus nachgewiesen ist.

¹⁾ Meyer und Jacobson, Lehrb., Bd. I, S. 877.

Ich stehe deshalb nicht an, das im Jecorin enthaltene Kohlehydrat für Glucose anzusprechen. Für letztere spricht übrigens auch die Thatsache, dass das Osazon schon in der Wärme ausgefallen ist.

II.

Nebennieren-Substanz.

Die Nebennieren wurden in der gleichen Weise behandelt wie die Leber: Grössere Mengen¹⁾ von Rinds- und Pferde-Nebennieren wurden möglichst gleich nach dem Schlachten sorgfältig von Fett und Bindegewebe befreit, klein geschnitten und längere Zeit mit 96 proc. Alkohol bei Zimmertemperatur extrahirt, der Rückstand des Extractes mit absolutem Alkohol behandelt, dann der ungelöst gebliebene Rest soweit als möglich in Aether gelöst. Die filtrirte ätherische Lösung wurde mit absolutem Alkohol versetzt. Auch hier fiel ein dicker gelbbrauner flockiger Niederschlag aus, welcher sich am folgenden Tage gut abgesetzt hatte. Die Reinigung wurde in der gleichen Weise vorgenommen wie beim Jecorin, die Substanz über Schwefelsäure getrocknet.

Diese getrocknete Substanz hatte nun eine grosse Aehnlichkeit mit Jecorin, jedoch fehlte ihr eine der hauptsächlichsten Eigenschaften des letzteren vollständig: Sie reducirte niemals Kupfer in alkalischer Lösung. Ferner war sie im Gegensatz zum Jecorin selbst nach monatelangem Trocknen in Aether sehr leicht löslich.

Die Analyse dieser Substanz gab folgende Resultate:

1. 0,1996 gr. im offenen Rohr unter Vorlage von Kupferoxyd und Bleichromat verbrannt, ergaben 0,3033 gr. $\text{CO}_2 = 0,0827$ gr. C = 41,43% C, und 0,1291 gr. $\text{H}_2\text{O} = 0,0143$ gr. H = 7,16% H.
2. 0,1916 gr., nach Hammarsten behandelt, gaben 0,0255 gr. $\text{BaSO}_4 = 0,0035$ gr. S = 1,8% S.
3. 0,135 gr. mit Salpeter und Soda verbrannt etc. gaben 0,023 gr. $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,006$ gr. P = 4,44%.
4. 0,2284 gr., nach Kjeldahl behandelt, ergaben 0,3% N.

Es wurde nun ebenso wie beim Jecorin auf Lecithin untersucht, und zwar mit demselben Erfolge: Es gelang leicht,

¹⁾ Im Ganzen wurden ca. 350—400 Nebennieren verarbeitet.

durch die Verseifung Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure, sowie Cholin darzustellen. Das Platindoppelsalz des letzteren schien mir jedoch hier in weit geringerer Menge vorhanden zu sein, als beim Jecorin, ein Umstand, der wohl mit dem geringen Stickstoffgehalt der Substanz in Zusammenhang steht.

Dann wurde versucht, durch Behandlung dieses Körpers mit verdünnter Schwefelsäure eine Reductionsfähigkeit zu erzielen. Zu diesem Ende wurde die Substanz mit $2\frac{1}{2}$ proc. Schwefelsäure im Kolben mit Rückflusskühler 2 Stunden lang gekocht, jedoch ohne Erfolg: die Lösung, von der sich ein Niederschlag in schwärzlichen Flocken abgeschieden hatte, reducirte nicht. Das Gemenge wurde etwas eingedampft, mit wenig Wasser in ein Glasrohr gebracht, letzteres zugeschmolzen und 5 Stunden lang im Luftbade auf 130° erhitzt. Jetzt reducirte die Lösung sehr deutlich; die schwärzlichen Flocken waren auch jetzt ungelöst geblieben, sie wurden abfiltrirt, in Aether leicht gelöst und erwiesen sich nach dem Verdunsten des letzteren als Fettsäuren.

Die schwefelsäurehaltige, Kupfer reducirende Lösung wurde mit Baryumcarbonat neutralisirt und filtrirt. Das Filtrat wurde eingedampft, mit salzsaurem Phenylhydrazin und essigsäurem Natron im Wasserbade erhitzt. Nach $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden schied sich auch hier jener charakteristische Niederschlag aus, welcher sich unter dem Mikroskop aus langen, gelben Nadeln, richtigen Osazonkrystallen, zusammengesetzt erwies.

Diese Procedur der Zersetzung mit Schwefelsäure wurde noch mehrfach wiederholt bei verschiedener Concentration der Säure und verschiedenen Hitzegraden: Reduction wurde häufiger erzielt, jedoch erhielt ich niemals wieder die schönen Osazonkrystalle wie beim ersten Mal.

Jedenfalls ist es aber einmal gelungen, durch energische Schwefelsäure-Behandlung von der Nebennieren-Substanz einen Zucker abzuspalten, welcher sich sowohl durch seine Fähigkeit, Kupfer in alkalischer Lösung zu reduciren, als auch durch seine Phenylhydrazin-Verbindung als solcher documentirte. Der Schmelzpunkt des Osazons wurde nicht bestimmt.

Fasse ich jetzt kurz die Resultate der vorstehenden Untersuchungen zusammen, so ergibt sich Folgendes:

Aus dem Alkoholextract der Leber lässt sich ein Körper, das Jecorin (Drechsel), darstellen, welcher erstens einen dem Lecithin ähnlichen Körper enthält, und aus dem sich zweitens ein Kohlehydrat, und zwar Traubenzucker, abspalten lässt. Aus dem Alkoholextract der Nebennieren lässt sich eine Substanz gewinnen, welche ebenfalls einen lecithinartigen Körper enthält, dabei die Fähigkeit hat, nach Säure-Behandlung einen Zucker abzuspalten, somit also eine erhebliche Aehnlichkeit mit dem Jecorin zeigt, welche noch vergrößert wird durch die gleiche Art der Darstellung und durch den Schwefelgehalt.

Während aber das Jecorin an sich schon leicht Kupfer in alkalischer Lösung reducirt, bedarf es bei der aus Nebennieren gewonnenen Substanz einer energischen Schwefelsäure-Behandlung, um die gleiche Reaction hervorzurufen.

Weitere Unterschiede der Substanzen liegen darin, dass ihre Löslichkeitsverhältnissé nach dem Trocknen nicht mehr die gleichen sind: trockenes Jecorin ist in Aether unlöslich, die Nebennieren-Substanz dagegen leicht löslich. — Eine andere Differenz ist durch die procentuale Zusammensetzung beider Substanzen gegeben; jedoch möchte ich auf letzteren Punkt kein allzugrosses Gewicht legen, da ja die Zahlen für das Jecorin bei Drechsel einerseits und bei Baldi andererseits erhebliche Differenzen zeigen, und somit es wohl nicht sicher ist, ob diese Substanz immer die gleiche Zusammensetzung hat, also schon als einheitlicher Körper genügend charakterisirt ist.

Welcher Art die Verbindung des Kohlehydrates mit dem lecithinartigen Körper ist, ob überhaupt eine chemische Verbindung vorhanden ist, ob es sich nicht vielmehr um eine mechanische Niederreissung des einen Körpers durch den andern handelt, das weiter zu untersuchen wäre noch von hohem Interesse.

Es fragt sich ferner, sind wir auf Grund der oben notirten Unterschiede berechtigt, den Nebennierenkörper als einen von Jecorin ganz verschiedenen anzusehen?

Nach den Untersuchungen von Baldi findet sich das reducirende Jecorin ausser in der Leber auch in der Milz, im Muskel, im Blut und im Rohcerebrin; die Nebenniere wäre also nach den bisherigen Untersuchungen das erste Organ, welches diesen Körper nicht enthält, dafür aber einen ihm sehr ähnlichen, der nicht die dem Jecorin charakteristische Eigenschaft, nämlich Kupfer zu reduciren, zeigt, sondern der diese Eigenschaft erst bekommt, wenn er der Schwefelsäure-Einwirkung längere Zeit ausgesetzt ist. Somit scheint doch die Nebenniere eine Sonderstellung gegenüber den anderen Organen einzunehmen.

Ob es dagegen nicht gelingen wird, beide Substanzen auf einen einzigen, allen Organen gemeinschaftlichen Körper zurückzuführen, wäre eine weitere Frage.
