

Zur Kenntniss der brenzkatechinähnlichen Substanz in den Nebennieren.

Von

Dr. Otto v. Fürth,

Assistenten des Instituts.

Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge, No. 2

Der Redaction zugegangen am 9. August 1897.

Die ersten Angaben über eine Substanz in den Nebennieren, welche ähnliche Reactionen wie das Brenzkatechin aufweist, rühren von Vulpian¹⁾ her (1856). Derselbe beobachtete, dass der von einem Schitte durch die Nebennieren mit dem Scalpell abgeschabte Saft, mit Wasser verdünnt, folgendes Verhalten zeigte: Eisenchlorid und andere Ferrisalze bewirkten eine dunkle Färbung mit einem Stiche ins Grüne oder Violette. Wässrige Jodlösung, Chlorwasser, Bromwasser, Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak, Barytwasser gaben eine deutliche Rosa-Carminfärbung, welche durch einen Ueberschuss der Reagentien zerstört wurde. Auch wenn man Nebennieren-Marksubstanz einige Stunden mit Wasser stehen liess, trat die Rosafärbung auf, und zwar zeigte sich die Reaction deutlicher bei Anwendung von Brunnenwasser, als von destillirtem Wasser. Eine ähnliche Rosafärbung wurde bemerkt bei Anwendung von Manganchlorid, Cobaltchlorid, Nickelchlorid, Platinchlorid, Goldchlorid, alkoholischer Sublimatlösung.

1) Vulpian, Note sur quelques réactions propres à la substance des capsules surrénales. Comptes-Rendus, Bd. 43, 1856, p. 663.

Note sur quelques réactions propres au tissu des capsules surrénales chez les Reptiles. Comptes-Rendus de la Soc. de Biologie, Bd. III, 1856, p. 223.

Die Substanz, der diese Reactionen zukamen, war löslich in Wasser und wurde durch längere Behandlung mit Alkohol den Nebennieren grösstentheils entzogen. Wurden Schafsnebennieren einige Zeit gekocht, so verschwand die charakteristische Eisenreaction. Eisenchlorid bewirkte dann nur mehr Rosafärbung. Vulpian überzeugte sich durch Versuche mit Papierstreifen, die er mit Eisenchlorid getränkt hatte, dass die angegebene Reaction ausschliesslich den Nebennieren zukomme und sich bei keinem anderen Organe und Gewebe finde, und theilte Beobachtungen mit, aus denen hervorgeht, dass der Träger der Reaction im Wege der Nebennieren-Venen, der Circulation einverleibt werde.

Arnold¹⁾ extrahirte Rindsnebennieren mit verdünntem Alkohol. Er erhielt so gelb gefärbte Extractionsflüssigkeiten, welche sich im Laufe einiger Wochen spontan intensiv roth färbten: es fiel dabei Arnold auf, dass Licht, Luft, Wärme und Ammoniakzusatz einen fördernden Einfluss auf den Eintritt der Rosafärbung übten. Arnold versuchte nun den Farbstoff zu isoliren. Zu diesem Zwecke wurden die alkoholischen Extracte mit Bleiacetat unter Zusatz von Ammoniak gefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wurde getrocknet, in Alkohol suspendirt und mit Oxalsäure zerlegt. Das Filtrat wurde mit Ammoniak versetzt, wobei sich oxalsaures Ammon abschied und durch Filtration entfernt wurde. Die Flüssigkeit wurde nymmehr eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt. Die so erhaltene rothbraune Flüssigkeit, welche noch Spuren von phosphorsauren Salzen enthielt, schied beim langsamen Verdunsten den «Farbstoff» ab: es fanden sich polygonale Körper mit abgestumpften Ecken von rother Farbe: diese lagen entweder in unregelmässigen Ballen beisammen oder vereinigten sich zu rosettenförmigen Bildungen. Bezüglich der weiteren Eigenschaften der Substanz wird nur angegeben, dieselbe sei leicht löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff.

¹⁾ Arnold, Virchow's Archiv, Bd. 35, 1866, p. 64.

Holm¹⁾ versuchte gleichfalls einen Farbstoff aus den Nebennieren zu isoliren. Zu diesem Zwecke wurde alkoholisches Nebennierenextract nacheinander mit neutralem Bleiacetat, basischem Bleiacetat und Kupferacetat gefällt, wobei sich im basischen Bleiniederschlage viel Inosit, im Kupferniederschlage viel Hypoxanthin befand. Keiner der Niederschläge enthielt den Farbstoff, sondern erst das letzte Filtrat, welches nach Entfernung der überschüssigen Metalle mit Schwefelwasserstoff beim Eindunsten den Farbstoff in Form einer violetten Harzabschied. Derselbe war unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol, leicht löslich dagegen in verdünnten Säuren: beim Zusatze von Ammoniak zur gelben Lösung schied sich der Farbstoff in violetten Flocken wieder ab.

Erst fast 2 Decennien später, während derer dieses Gebiet ohne wesentliche Erweiterung geblieben war, untersuchte Krukenberg²⁾ die «Chromogene» der Nebenniere aufs Neue und stellte fest, dass eine Anzahl von Reactionen des Nebennierenextractes mit denen des Brenzkatechins übereinstimmen. Krukenberg fand, dass Eisenchlorid mit Nebennierenextract eine blaugrüne Färbung gibt, welche auf Zusatz von saurem Natriumcarbonat oder von wenig Ammoniak in ein schönes Violettroth umschlägt: der Zusatz von Säuren zur grünen Flüssigkeit bewirkt Umschlagen der Farbe in Gelb oder Roth; die grüne Verbindung wird von Benzol, Chloroform, Aethylalkohol, Amylalkohol nicht aufgenommen. Weiter stellte Krukenberg fest, dass Nebennierenextract auf Silbernitrat, Knapp'sche Lösung und Fehling'sche Lösung reducirend einwirkt und sich mit Chlorkalk, sowie mit Kaliumbichromat dunkel färbt. Während sich in Bezug auf alle die angeführten Eigenschaften eine Uebereinstimmung mit dem Brenzkatechin ergab, zeigte sich Goldchlorid, welches von Brenzkatechin schon in der Kälte reducirt wird, dem Nebennierenextracte gegenüber kaum wirksam. Krukenberg bestätigte ferner die Angabe

1) F. Holm, Ueber die chemischen Bestandtheile der Nebennieren. Journ. für praktische Chemie, 1867, p. 150.

2) C. Fr. W. Krukenberg, Die farbigen Derivate der Nebennieren-Chromogene. Virchow's Archiv. Bd. 101, 1885, p. 542.

dass Jod in Nebennierenextracten Rothfärbung bewirkt: wurde nach Zusatz von Jod mit frischgefälltem Silberoxyd versetzt und filtrirt, so färbte sich das farblose Filtrat innerhalb einiger Minuten purpurroth. Krukenberg machte weiter den Versuch, das Chromogen nach dem oben erwähnten Verfahren Arnold's durch Fällung mit Bleiacetat und Ammoniak und Zersetzen des Niederschlags mit Oxalsäure zu isoliren. Er erhielt so eine braunrothe, harte Masse von saurer Reaction, die er, bei 80° getrocknet, der Elementaranalyse unterzog. Er fand

I. C. 40.83%	H 9.10%	N 9.31%
II. —	—	N 8.80%

auf aschefreie Substanz berechnet, zwei Aschenbestimmungen ergaben die Werthe von 1.48 und 1.48%.

Brunner¹⁾ bestätigte durch Vergleich der Reactionen des alkoholischen Nebennierenauszugs mit denen des Brenzkatechins die Auffassung Krukenbergs, dass zwischen dem Nebennieren-Chromogen und dem Brenzkatechin Identität besteht: ausser den schon früher erwähnten Reactionen, welche Brenzkatechin und Nebennierenextract theilen, stellte Brunner noch folgende fest: Jodsäure wird unter Abscheidung von Jod zersetzt. Ferricyankalium wird augenblicklich zu Ferrocyankalium reducirt und gibt mit Eisenchlorid Berlinerblau: beim Erwärmen mit einer äusserst verdünnten, fast farblosen Lösung von Nitroprussidnatrium unter Zusatz von einigen Tropfen Ammoniak entsteht eine weinrothe Färbung.

Manasse²⁾ fand auf dem Wege histologischer Untersuchung, dass die Nebennieren-Venen eine Substanz enthalten, welche mit Kaliumbichromat eine braune Färbung gibt: Seine sehr überzeugenden Befunde lassen kaum eine andere Deutung zu, als dass diese Substanz als Secret der Nebennieren aufzufassen sei, welches aus den in Kapillaren und Venen hinein-

¹⁾ H. Brunner, Zur Chemie der Lecithine und des Brenzkatechins, Bestandtheile der Nebennieren. Aus dem Laboratorium für allg. und pharm. Chemie der Universität Lausanne, Schweiz, Wochenschrift für Chemie und Pharmacie, 1892.

²⁾ Manasse, Ueber die Beziehungen der Nebennieren zu den Venen und dem venösen Kreislaufe. Virch. Archiv, Bd. 135.

ragenden Zapfen von Nebennieren-substanz direkt in das Lumen derselben gelangt.

Moore¹⁾ versuchte im Anschlusse an die wichtigen Untersuchungen von Oliver und Schäfer über die blutdrucksteigernde Wirkung von Nebennierenextracten das wirksame Princip chemisch zu isoliren. Er fand, dass in den Extracten die Wirkung auf den Blutdruck und das reductive Vermögen stets Hand in Hand gingen, und er hält deswegen das active Princip für identisch mit der reducirenden eisengrünenden Substanz. Bezüglich der Eigenschaften derselben ermittelte er, unter der stetigen Kontrolle des physiologischen Verhaltens, ausser den schon sehr früher bekannten Reductions- und Farbenreactionen, Folgendes: Die Substanz ist löslich in Wasser und verdünntem Alkohol, in absolutem Alkohol ist sie dagegen fast unlöslich; sie ist unlöslich in Aether, Chloroform, Amylalkohol, Benzin, Schwefelkohlenstoff und Ligroin. Durch mehrstündiges Kochen mit Wasser wird sie zerstört. Sie ist sehr empfindlich gegen Alkalien: sehr verdünnte Alkalien zerstören sie bei 3-4stündiger Einwirkung bei 40°, während dies selbst durch 10% Säure unter gleichen Verhältnissen nicht geschieht; auch verträgt die Substanz das Kochen mit Säuren während einiger Minuten. Weiters ist die Substanz sehr empfindlich gegen Oxydationsmittel: so gibt Wasserstoffsuperoxyd schon nach wenigen Minuten eine rosenrothe Färbung und schwächt den Effect sehr wesentlich. Die Substanz dialysirt leicht, ist weder für sich, noch mit Wasserdämpfen flüchtig; sie ist nicht fällbar durch Alkohol, Magnesiumsulfat, Quecksilberchlorid, Platinchlorid, Kaliumquecksilberjodid und Tannin; sie gibt mit Phenylhydrazin kein krystallinisches Produkt. Als Reductionsreaction wird noch das Verhalten gegen Phosphorwolframsäure erwähnt: es entsteht neben Grünfärbung der Flüssigkeit ein blauer Niederschlag.

¹⁾ Moore, On the chemical nature of a physiologically active substance, occurring in the suprarenal glands. From the Physiological Laboratory, University College, London. Proceedings of the Physiological Society, Journ. of Physiology, 1895, March 16th, XVII, 1894-95.

Weiters sind bereits seit der Inangriffnahme vorliegender Arbeit noch zwei diesen Gegenstand betreffende Publicationen erschienen.

Fränkel¹⁾ versuchte im Anschlusse an die Arbeiten von Oliver, Schäfer und Moore die blutdrucksteigernde Substanz zu isoliren. Wässerige oder alkoholische Nebennierenextracte wurden zum Syrup eingeeengt: der Rückstand wurde in Alkohol oder in Wasser aufgelöst, je nachdem es sich um wässerige oder alkoholische Extracte gehandelt hatte. Nach abermaligem Abdunsten wurde mit kochendem absoluten Alkohol aufgenommen, nach dem Erkalten filtrirt und die alkoholische Lösung mit dem gleichen Volumen Aceton versetzt: es entstand ein krystallinischer Niederschlag, welcher Chlorkalium und Neurin enthielt. Die Lösung wurde wiederholt abgedunstet, schliesslich der rückständige Syrup in Alkohol gelöst und mit Aether gefällt. Fränkel erhielt so eine syrupöse Substanz, von der eine Spur die charakteristische Wirkung auf den Blutdruck zeigte: diesem Präparate legte er den Namen Sphygmogenin bei. Dasselbe zeigte, ausser den Farben- und Reductionsreactionen, die mit den gelegentlich früherer Arbeiten angeführten übereinstimmen, folgendes Verhalten: Es war löslich in Wasser und Alkohol, sehr schwer löslich in Aceton, in Aether nur in Spuren löslich. Es besass einen ansehnlichen Stickstoffgehalt: beim Kochen mit Lauge spaltete sich kein Ammoniak ab. Es gelang nicht, Metallverbindungen darzustellen: die Herstellung derselben sei an der ungemein leichten Oxydirbarkeit der Substanz gescheitert. Wurde die Substanz in Pyridin gelöst, die Lösung mit Benzoylchlorid geschüttelt und die Flüssigkeit sodann in viel Wasser geschüttelt, so entstand eine milchige Trübung und nach längerem Stehen setzte sich ein in Alkohol, Aether und Aceton löslicher Syrup ab. Fränkel versuchte ferner, die Substanz nach dem oben beschriebenen Verfahren Arnold's durch Fällung mit Bleiacetat und Ammoniak und Zerlegen des Niederschlags mit Oxalsäure darzustellen.

¹⁾ Sigmund Fränkel. Beiträge zur Physiologie und physiologischen Chemie der Nebennieren. Wiener med. Blätter. 1896. Nr. 14, 15, 16.

Während sich der Niederschlag mit Eisenchlorid noch grün färbte, gab die schliesslich resultirende Lösung die Reaction nicht mehr. Fränkel hält die blutdrucksteigernde Substanz für ein stickstoffhaltiges Derivat der Orthodioxybenzohreihe und betont, dass sie sich vom Brenzkatechin, ausser durch ihren Stickstoffgehalt, durch ihre Unlöslichkeit in Aether und durch ihr Verhalten gegen Kalkwasser unterscheide: Kalkwasser bewirke mit einer Lösung von Brenzkatechin Grünfärbung, mit Sphygmogenin dagegen Rosafärbung.

Mühlmann¹⁾ extrahirte 100—150 gr. Nebennieren mit Wasser unter Zusatz von Essigsäure in der Wärme: der nach dem Verdunsten zurückbleibende Syrup wurde in Alkohol gelöst, nach Verjagung des Alkohols der Rückstand in Wasser gelöst. Mühlmann erhielt so eine Lösung, welche die bekannten Farbenreactionen zeigte. Die mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung gab an Aether nur Spuren der reactionsfähigen Substanz ab. Wurde nunmehr aber $\frac{1}{10}$ Volumen Salzsäure vom specifischen Gewicht 1.12 hinzugefügt, 15 Minuten bei kleiner Flamme erhitzt und sodann wieder mit Aether ausgeschüttelt, so liess, Mühlmann's Angabe zufolge, der Aether beim Verdunsten eine grosse Menge einer braunen Masse zurück: dieselbe war löslich in Wasser, Alkohol und Aether, gab Eisenreaction, reducirte Gold-, Silber- und Quecksilbersalze in der Kälte, Kupfersalze in der Wärme und zeigte mit Chlorkalk Grünfärbung. Mühlmann hält diese Substanz für Brenzkatechin.

Gürber²⁾ bestreitet in einem jüngster Zeit in der physikalisch-medicinischen Gesellschaft in Würzburg gehaltenen, vorläufig nur in Zeitungsberichten bekannt gewordenen Vortrage die Richtigkeit der Angabe Mühlmann's, es gelinge durch Erwärmen mit Säuren, Brenzkatechin aus Nebennierenextracten abzuspalten. Ob die bei dieser Gelegenheit von Gürber erwähnte krystallinische blutdrucksteigernd wirkende Substanz mit

1) Mühlmann, Zur Physiologie der Nebennieren. Deutsche med. Wochenschr. 25. 6. 1896.

2) Gürber, Vortrag, gehalten in der physikalisch-medicinischen Gesellschaft in Würzburg, Juni 1897.

der Brenzkatechinähnlichen in Beziehung steht, vermag ich dem über den Vortrag vorliegenden Bericht nicht zu entnehmen.

Wie aus dem Mitgetheilten hervorgeht, sind die Hindernisse, welche sich einer Reindarstellung der Brenzkatechinähnlichen Substanz entgegenstellen, sehr erhebliche: sie liegen einerseits in der Schwierigkeit der Beschaffung eines ausreichenden Versuchsmaterials in frischem Zustande, andererseits aber in der ausserordentlich grossen Zersetzlichkeit der Substanz. Wenn ich mir daher, ohne dass es mir gelungen ist, die Substanz in krystallisirtem Zustande zu isoliren, erlaube, die bisherigen Ergebnisse meiner Versuche, die sich auf einen Zeitraum von 1½ Jahren erstrecken, mitzutheilen, so geschieht dies einerseits, weil ich glaube, dass die gefundenen Thatsachen den Arbeiten Anderer nützlich sein können, andererseits aber, um auch mir selbst, in Anbetracht der grossen Zahl neuer einschlägiger Publicationen, das Recht der Mitarbeit auf diesem Gebiete, wenigstens in einer bestimmten Richtung, offen zu halten.

I. Beziehungen zum Brenzkatechin.

Die erste Frage, der ich meine Aufmerksamkeit zuwandte, war die, ob die eisengrüne Substanz in den Nebennieren wirklich in unmittelbarer Beziehung zum Brenzkatechin steht. Die Eisenreaction und das reductive Vermögen hatten Krukenberg und Brunner veranlasst, eine Identität beider Substanzen anzunehmen. Bei genauerer Beachtung der Eisenreaction ergibt sich aber bereits ein wesentlicher Unterschied: Während es beim Brenzkatechin ohne Weiteres gelingt, die durch aufeinanderfolgenden Zusatz von Eisenchlorid und Natriumcarbonat hervorgerufene violettrothe Färbung durch weiteren Zusatz von Essigsäure wieder in Grün zu verwandeln, gelingt eine solche Wiederherstellung bei der Nebennieren-Substanz niemals. Jene grüne gefärbte Verbindung, welche hier auf Eisenzusatz entsteht, unterliegt als solche einer schnellen Veränderung, da die grüne Färbung nicht andauert, sondern bei Zimmertemperatur nach kurzer Zeit, beim Kochen momentan in eine röthlichgelbe Färbung umschlägt, während die durch Eisenchlorid und Alkali

hervorgerufene Rothfärbung viel dauerhafter ist und auch beim Aufkochen sich nicht sofort verändert. Bemerkenswerth ist, dass eine mit Eisenchlorid versetzte Probe auf Zusatz von Alkali die rothviolette Färbung auch dann zeigt, wenn die ursprüngliche in neutraler Lösung aufgetretene Grünfärbung beim Stehenlassen oder beim Schütteln mit Luft verschwunden war. Weiter sprach gegen die Identität mit Brenzkatechin die ausserordentlich grosse Veränderlichkeit der Substanz, vor Allem aber die bereits erwähnte Unlöslichkeit in Aether. Die Nachprüfung der Angaben Mühlmann's, der durch Erhitzen mit verdünnten Säuren Brenzkatechin als solches aus Nebennierenextracten dargestellt zu haben angibt, fiel negativ aus. Beim Ausschütteln der sauren Flüssigkeit mit Aether nimmt dieser nur minimale Mengen einer Substanz auf, die sich in ihren Reactionen in keiner Weise von der unveränderten Nebennierensubstanz unterscheidet und deren Uebergang in den Aether sich ungezwungen aus dem Wassergehalte desselben erklärt.

Ebensowenig gelang es, durch Schmelzen von Nebennierenextract mit Kali oder durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure im zugeschmolzenen Rohre auf 130—140° eine Abspaltung von Brenzkatechin zu erzielen. Dagegen wurde durch trockene Destillation eine Substanz erhalten, welche von Aether sowohl aus saurer, als auch aus alkalischer Lösung aufgenommen wird, die Eisenreaction in gleicher Weise wie Brenzkatechin gibt und daher als Brenzkatechin oder eine demselben in Betreff der Stellung der Hydroxylgruppen ähnliche, nicht saure Substanz angesprochen werden muss.¹⁾ Somit erscheint der Zusammenhang zwischen dem Brenzkatechin und der eisengrünenden Substanz der Nebennieren, der durch die Farbenreaction wahrscheinlich geworden war, direkt nachgewiesen.

¹⁾ Die Eisenreaction in der für Brenzkatechin charakteristischen Weise ist den Orthodihydroxy-benzol-Derivaten eigenthümlich, so z. B. zeigen sie: Protokatechusäure, Protokatechusäure-methylester, Homoprotokatechusäure, Dihydrokaffeesäure, Kaffeesäure, Brenzkatechinsulfosäure, Methylpheniol (3,4), Bibrenzkatechin.

II. Versuche zur Isolirung.

Als Material für meine Versuche dienten Schweins-Nebennieren. Dieselben wurden im frischen Zustande aus dem Schlachthause bezogen und sogleich verarbeitet. Nach zahlreichen Versuchen erwies sich mir folgendes Verfahren als das relativ zweckmässigste:

Die zerkleinerten Nebennieren wurden bei Zimmertemperatur oder aber bei 35—40° mit Alkohol extrahirt. Die alkoholischen Extracte wurden filtrirt und mit neutralem Bleiacetat gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltrirt und das Filtrat mit einem Ueberschuss von Bleiacetat und Ammoniak versetzt. Es fiel ein hellbrauner, flockiger Niederschlag aus, der nach dem Absetzen filtrirt, mit ammoniakhaltigem¹⁾ Wasser, Alkohol und Aether sorgfältig gewaschen und sodann an der Luft getrocknet wurde.

Dieser Niederschlag, welcher im trocknen Zustande ein feines, stäubendes Pulver von hellgelbbrauner Farbe und eigen thümlichem Geruche darstellte und die Eisenreaction direkt mit grosser Intensität gab, bot die Möglichkeit, die eisengrünende Substanz in haltbarer Form lange Zeit aufzubewahren. Die Hoffnungen jedoch, die ich angesichts der Menge der Bleiverbindung auf die Ausbeute an eisengrünender Substanz setzte, erwiesen sich als trügerisch, da der Niederschlag seiner Hauptmenge nach aus Inosit und anorganischen basischen Bleisalzen bestand.

Um die eisengrünende Substanz aus ihrer Bleiverbindung wieder zu gewinnen, wurde diese portionenweise in Wasser eingetragen und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die Zersetzung ging sehr langsam vor sich und war selbst nach dreimaligem halbtägigem Einleiten von Schwefelwasserstoff (eventuell in der Wärme) keine vollständige, indem es sich zeigte, dass der Niederschlag auch dann noch beim Erwärmen mit verdünnter Säure an diese ein Umwandlungsprodukt der eisengrünenden Substanz (s. u.) abgab. In der Schwierigkeit dieser

¹⁾ Das Auswaschen mit reinem Wasser empfiehlt sich nicht, da der Niederschlag in diesem etwas löslich ist.

Zersetzung scheint mir ein wesentlicher Grund der schliesslich erzielten geringen Ausbeute zu liegen.

Nach beendigtem Einleiten von Schwefelwasserstoff wurde filtrirt und das durch einen Kohlensäurestrom von Schwefelwasserstoff befreite Filtrat im Vacuum oder im Kohlensäurestrom eingedampft. Der Rückstand wurde mit heissem absoluten Alkohol so lange extrahirt, als dieser noch wesentliche Mengen eisengrünender Substanz aufnahm. Die vereinigten alkoholischen Extracte wurden eingeeengt und vorsichtig mit soviel Aether versetzt, dass eben eine Fällung entstand. Der aus einem Gemenge von eisengrünender Substanz und Inosit bestehende Niederschlag wurde nach 24 Stunden abfiltrirt und das nunmehr inositfreie Filtrat mit dem mehrfachen Volumen Aether versetzt, wobei die eisengrünende Substanz, wenn auch nicht vollständig, in Form schwach gefärbter Flocken ausfiel. Diese wurden nach dem Absetzen durch wiederholtes Decantiren mit einem Gemenge gleicher Theile Alkohol und Aether, dann mit reinem Aether gewaschen, wobei es vermieden wurde, die Flocken mit der Luft in Berührung kommen zu lassen. Schliesslich wurde der Niederschlag im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet; er schrumpfte dabei zu einer rothbraunen, bröckligen Masse zusammen.

Leider war die Ausbeute an der so erhaltenen stickstoffreichen Substanz sehr gering (ca. 0,4 gr. aus 2000 Nebennieren), und bot ihre Beschaffenheit keine genügende Garantie für Reinheit. Ich hielt es daher nicht für angezeigt, sie der Ele-

1) Die Trennung der eisengrünenden Substanz vom Inosit bereitet, angesichts der ähnlichen Lösungs- und Fällungsverhältnisse beider Substanzen, erhebliche Schwierigkeiten und gelang es nur durch das angegebene, allerdings mit grossen Verlusten verbundene Verfahren, dessen Durchführung ohne Zersetzung der eisengrünenden Substanz durchaus nicht immer gelingt, zu inositfreien Präparaten zu gelangen. Entgegen der gewöhnlich gemachten Angabe, Inosit sei unlöslich in absolutem Alkohol, sah ich bei Extraction mit absolutem Alkohol erhebliche Mengen Inosit in Lösung gehen, dessen Gegenwart in Nebennierenextracten durch die sehr empfindliche Scherer'sche Reaction mit grosser Schärfe ermittelt werden kann. Selbst durch 6 malige Wiederholung der Extraction mit absolutem Alkohol gelang es nicht, inositfreie Extracte zu erhalten.

mentaranalyse zu unterziehen, sondern zog es vor, nach weniger vergänglichen Derivaten derselben zu fahnden, wenn auch lange ohne Erfolg.

Die zahlreichen Versuche, die ich angestellt habe, um zu einem reineren Präparate zu gelangen (Anwendung anderer metallischer Fällungsmittel, fractionirte Fällung mit Alkohol-, Aether-, Aceton-, Petroläther, Zersetzung des Bleiniederschlags durch Mineralsäuren und Alkalicarbonate, Versuche zur Darstellung löslicher Metallverbindungen, Ausschluss von Luft¹⁾ Wasser, höherer Temperaturen etc.), führten zu keinen besseren Ergebnissen: ich übergehe daher deren nähere Beschreibung.

Bei Gelegenheit dieser Isolirungsversuche habe ich mich mit den Eigenschaften der brenzkatechinähnlichen Substanz genauer bekannt gemacht, und es sei mir gestattet, dieselben hier zusammenzustellen, wobei auch die von früheren Untersuchungen festgesetzten Eigenschaften, soweit ich diese einer Nachprüfung unterzogen habe, angeführt werden.

Die Substanz ist leicht löslich in Wasser, ziemlich leicht in verdünntem Aethyl- und Methylalkohol, schwerer in Aceton und absolutem Alkohol, kaum löslich in Aether, Petroläther, Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff. Die Lösungen der Substanz reagiren sauer. Die Substanz wird aus concentrirter wässriger Lösung durch Alkohol, aus alkoholischer Lösung durch Aether, Aceton, Petroläther etc. in Form schwach gefärbter Flocken unvollkommen gefällt. Sie wird aus ihren Lösungen durch Bleiacetat und Ammoniak, nicht aber durch Bleiacetat allein gefällt und kann aus der Bleiverbindung durch Zersetzen derselben mit Schwefelwasserstoff wieder erhalten werden. Sie wird ferner, jedoch unvollkommen, durch Kupferacetat gefällt. Auch Quecksilbersalze scheinen die Substanz als solche zu fällen, doch gelingt es nicht, dieselbe durch Zersetzen der Niederschläge in unverändertem Zustande wieder zu gewinnen. Es gelang nicht, die Substanz durch Kupfersulfat, Kupferchlorid, Cadmiumsulfat, Cadmiumchlorid, Cadmiumacetat, Zinkchlorid, Zinnchlorid, Beinirrat, Jodwismuthkalium, Jodquecksilberkalium, Phosphorwolframsäure, Metaphosphorsäure, Platinchlorid, Goldchlorid, Pikrinsäure und Tannin aus ihren Lösungen zu fällen.

¹⁾ Um die Darstellung der eisengrünenden Substanz aus ihrer Bleiverbindung unter völligem Ausschlusse der Luft zu ermöglichen, wurde ein Apparat construirt, der es gestattete, die Zersetzung durch Schwefelwasserstoff, das Filtriren der alkoholischen Zersetzungsflüssigkeit, die Fällung mit Aether und endlich das Auswaschen des Niederschlags im Kohlensäurestrom durchzuführen.

Alkalien, wie Ammoniak, Natronlauge, Natriumcarbonat, Ammoniumcarbonat, Kalkhydrat, Barythydrat, färben ihre Lösung röthlich, ebenso viele Metallverbindungen, wie Quecksilbersalze, Goldchlorid, Platinchlorid etc. Die schönste, sehr intensive Rosafärbung sah ich in alkoholischer Lösung mit Quecksilberacetat auftreten.

Die Substanz erweist sich zahlreichen, metallischen Salzlösungen gegenüber kräftig reducirend. In Fehling'scher Lösung kommt es nicht zur Abscheidung von Kupferoxydul. Dagegen wird ammoniakalische Silberlösung von concentrirten Lösungen schon in der Kälte unter Abscheidung von metallischem Silber reducirt; doch kommt es nicht zur Bildung eines Silberspiegels. Kaliumbichromat bewirkt im Laufe einer Zeit eine zunächst braunrothe, schliesslich braunschwarze Färbung; die Reaction tritt beim Kochen fast momentan auf und wird durch Zusatz von Schwefelsäure befördert.

Die Substanz ist sehr veränderlich und insbesondere sehr leicht oxydabel und erfolgt eine theilweise Zersetzung derselben unter Dunkel-färbung schon bei niedriger Temperatur, noch leichter aber in der Wärme. Doch verträgt sie bei Ausschluss von Luft selbst langdauerndes Kochen. Sie ist relativ widerstandsfähig gegen Säuren, wird dagegen von Alkalien schon in der Kälte unter Dunkelfärbung sehr schnell gelöst. Eine infolge eingetretener Zersetzung dunkelgefärbte Lösung färbt sich bei Behandlung mit Säuren, Schwefelwasserstoff, insbesondere aber durch nascenten Wasserstoff wieder hell, ohne dass dabei eine Restitution der Substanz erfolgen würde.

III. Umwandlungs- und Zersetzungsprodukte der eisengrünenden Substanz.

Das auffallendste der bei der Zersetzung der eisengrünenden Substanz auftretenden Produkte ist eine in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Alkalien unlösliche Substanz, die sich in braunschwarzen Flocken mehr oder minder reichlich abzuschneiden pflegt, sobald eine Lösung von eisengrünender Substanz bei höherer Temperatur eingeeengt wird. Selbst beim Arbeiten im Kohlensäureströme und im Vacuum vermisste ich die Flocken selten ganz, wenn dieselben auch unter diesen Umständen nur spärlich auftraten.

Ein zweites Umwandlungsprodukt ist eine Substanz, welche dadurch charakterisirt erscheint, dass sie, im Gegensatze zu der eisengrünenden Substanz in Wasser unlöslich, in Alkohol dagegen leicht löslich ist. Ich versuchte ein grösseres Quantum dieses Produktes, welches sich von Fetten, Lecithinen etc. durch

seine Unlöslichkeit in Aether unterscheidet, mit Eisensalzen keine Färbung gibt und einen eigenthümlichen Geruch darbietet, dadurch herzustellen, dass ich einen Luftstrom Tage lang bei Zimmertemperatur durch eine Lösung eisengrünender Substanz streichen liess und das erhaltene Produkt durch wiederholtes Lösen in Alkohol und Fällen mit Wasser reinigte. Ich erhielt so eine fettige Masse von braungelber Farbe. Die alkoholische Lösung derselben veränderte sich während mehrmonatlicher Aufbewahrung derart, dass sich ein körniger Niederschlag daraus abschied und eine stark sauer reagirende Flüssigkeit resultirte, die nicht mehr mit Wasser, wohl aber mit Aether, eine Fällung gab. Platinchlorid, Eisenchlorid, Chlorzink, Pikrinsäure veränderten sie nicht sichtlich, Quecksilbersalze bewirkten einen Niederschlag. Sehr auffallend war das Verhalten von Jodkalium, welches in der sauren Lösung eine äusserst intensive, dunkelcarminrothe Färbung bewirkte.

Ein weiteres Umwandlungsprodukt der eisengrünenden Substanz sah ich bei sehr lange dauerndem Erhitzen im Kohlen-säureströme oftmals auftreten. Es zeichnet sich dadurch aus, dass es mit Eisenchlorid eine rothbraune Färbung gibt. Auf Zusatz von Platinchlorid zu sehr concentrirten, von Kalium und Ammonium befreiten Lösungen dieser Substanz entstand ein gelbbrauner Niederschlag, der bisweilen amorph, flockig oder körnig war, meist aber aus Sphaeriten bestand, die zuweilen eine sehr regelmässige Ausbildung, concentrische Schichtung und radiäre Streifung zeigten. Die Substanz enthält Stickstoff in lockerer Bindung, den sie bereits beim Eindampfen, bei lange dauerndem Stehen, sowie auch bei Zersetzung mit Schwefelwasserstoff in Form von Ammoniak abspaltet: sie ist leicht löslich in Alkalien und Alkalicarbonaten und wird aus den Lösungen durch Säuren wieder gefällt. Ich versuchte aus ansehnlichen Mengen von Ausgangsmaterial das krystallinische Produkt, das anscheinend als Platinverbindung eines Umwandlungsproduktes der eisengrünenden Substanz aufzufassen wäre, in analysenreinem Zustande darzustellen. Doch ergaben Analysen verschiedener Präparate keine Uebereinstimmung, da der Plattingehalt zwischen 33–38%, der Stickstoffgehalt in

noch weiteren Grenzen schwankte. Es ist hervorzuheben, dass das genuine Nebennierenextract diese durch Platin fällbare Substanz nicht enthält.

Dieses eisenbräunende Produkt scheint nicht identisch zu sein mit einem anderen Umwandlungsprodukte, das man durch Erhitzen der eisengrünenden Substanz oder aber ihrer Blei-Verbindung mit verdünnten Mineralsäuren erhält. Man gelangt so zu rothbraunen, durch Aether, nicht aber durch Alkohol fällbaren Lösungen, welche auf Zusatz von Eisenchlorid eine erhebliche Zunahme der braunen Färbung zeigen, ammoniakalische Silberlösung kräftig reduciren und mit Jodquecksilberkalium, Jodwismuthkalium und Pikrinsäure harzige Niederschläge geben. In solchen Lösungen erzeugt Platinchlorid einen Niederschlag von Ammoniumplatinchlorid, was auf eine erfolgte Ammoniakabspaltung hinweist.

Was die physiologische Wirkung der besprochenen Präparate betrifft, fand ich bei gelegentlich angestellten Versuchen in Uebereinstimmung mit Oliver und Schäfer die eisengrünende Substanz stets wirksam. Herr Professor Gottlieb in Heidelberg hatte die grosse Freundlichkeit, eine Reihe von Umwandlungsprodukten der physiologischen Untersuchung zu unterziehen, und fand, dass diesen keinerlei Wirkung in Bezug auf den Blutdruck zukommt.

IV. Reduction der brenzkatechinähnlichen Substanz.

Für die chemische Klarstellung der Frage nach der Natur der brenzkatechinähnlichen Substanz in den Nebennieren ist die Gewinnung eines stabilen Derivates derselben das dringendste Bedürfniss. Es ist Herrn Professor Hofmeister gelungen, ein Umwandlungsprodukt aufzufinden, welches noch die charakteristischen Reactionen der Brenzkatechinreihe, dabei aber eine viel geringere Veränderlichkeit aufweist.

Wie schon erwähnt, ist die Grünfärbung der brenzkatechinähnlichen Substanz mit Eisenchlorid vergänglich. Die Rothfärbung mit Eisenchlorid und Ammoniak ist aber davon unabhängig. Sie tritt ebensowohl bei der nativen Substanz direct ein, wie auch dann, wenn sie das Vermögen, sich mit Eisen-

chlorid grün zu färben, bereits verloren hat. Andererseits gelingt es nicht, nach Hervorrufung der rothen Eisenreaction durch Zurückneutralisiren, sodann Ansäuern wieder Grünfärbung zu erzielen. Nach diesem Verhalten hat man es bei dieser Reaction mit zwei Substanzen zu thun: der nativen, in neutraler Lösung eisengrünenden und einer in alkalischer Lösung eisenthenden. Die eisengrünende Substanz geht nun sehr leicht bei Anwesenheit von Eisenchlorid durch Schütteln mit Luft in neutraler, rascher noch in alkalischer Lösung, langsamer in saurer Lösung in die (in alkalischer Lösung) eisenröthende über, die aber ihrerseits nicht wieder in die eisengrünende überführbar ist. Die Umwandlung der nativen Substanz muss, wie das überhaupt für ihre Veränderlichkeit gilt, als durch ihre grosse Oxydirbarkeit bedingt angesehen werden. Darach war zu erwarten, dass durch Reduction das eisenröthende Oxydationsprodukt wieder in die ursprüngliche Substanz zurückverwandelt werden könnte.

In der That gelingt es, dem Anschein nach, diesen Zweck durch Reduction mit Zink oder Magnesium in saurer Lösung zu erreichen. Man erhält dabei Lösungen, welche bei saurer und neutraler Reaction mit Eisenchlorid Grünfärbung geben, darauf bei Ammoniakzusatz den Farbentuschlag ins Rothe. Allein eine nähere Prüfung lehrt, dass es sich dabei nicht um eine Regeneration der ursprünglichen Substanz handelt, sondern um Bildung eines derselben in der Eisenreaction ähnlichen, aber durch Haltbarkeit ausgezeichneten Reductionsproductes. Die in der Lösung dieses Productes durch Eisenchlorid hervorgerufene Grünfärbung verändert sich nicht spontan, auch nicht bei kurzem Kochen. Auf allmählichen Zusatz von verdünntem Ammoniak geht die grasgrüne Färbung erst in Grünblau, dann in Stahlblau über, schlägt dann in ein schönes Purpurviolett um. Durch Ansäuern mit Essigsäure lässt sich dann immer wieder die Grünfärbung, durch Ammoniakzusatz die Violett-färbung hervorrufen, soweit die eintretende Verdünnung das Erkennen der Farbe noch gestattet. Das erhaltene Reductionsproduct erweist sich somit unter Bedingungen, unter denen die native eisengrünende Substanz rasch oxydirt wird, als unveränderlich, somit von dieser als sicher verschieden.

Die grosse Aehnlichkeit in dem Verhalten der Eisenreaction mit jenem bekannter Abkömmlinge des Brenzkatechins z. B. der Protokatechusäure, liess zunächst erwarten, dass man es mit einem solchen zu thun habe. Dies bewahrheitete sich jedoch nicht, wenigstens ergab sich, dass das Reductionsprodukt in reinem Aether ebenso unlöslich ist, als die Muttersubstanz auch erwies es sich, soweit vorläufige Isolirungsversuche ein Urtheil gestatten, als stickstoffhaltig.

Von den Eigenschaften der neuen Substanz sei hervorgehoben, dass sie mit Eisenvitriol Rothfärbung gibt (die ursprüngliche Substanz reagirt nicht mit Ferrosalzen), die nach Ammoniakzusatz verschwindet; ferner, dass sie in einem Gemenge von Alkohol und Aether löslich ist, durch Kochen mit rauchender Salzsäure bei Anwesenheit von Zink nicht zerstört wird und dass sie bei der Kalischmelze sowenig ein die Brenzkatechinreactionen darbietendes Produkt liefert, als die genuine Substanz.

Ihre physiologische Wirkung, welche Herr Professor Gottlieb die Freundlichkeit hatte, mit einem ihm übersandten Präparate zu prüfen, ergab sich als eine sehr ausgesprochene und nachhaltige.

Die Haltbarkeit dieses Produktes und die günstigen Resultate, welche vorläufig angestellte Isolirungsversuche geliefert haben, lassen hoffen, dass sich auf diesem Wege weitere Aufklärung über die chemische Natur der brenzkatechinartigen Substanz und damit auch über die physiologische Bedeutung der Nebenmieren erhalten lassen wird. Die genaue Untersuchung des Reductionsproduktes, zu dessen Gewinnung in grösserer Menge bereits Schritte gethan sind, wird unsere nächste Aufgabe sein, deren ungestörte Bearbeitung wir uns durch vorstehende Mittheilung gesichert haben möchten.