

## Ueber das Eierstockcolloid.

Von

Dr. Theodor Panzer, Assistent.

Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie in Wien.

(Der Redaction zugegangen am 29. Juli 1899.)

In menschlichen Eierstöcken kommen Geschwülste vor, welche aus einer gelblichen, zitternden Gallerte bestehen und die klinischen Namen Cystoma pseudomucinosum, Eierstockcolloid u. dgl. führen. Die Substanz dieser Tumoren, als Colloid, Pseudomucin ꝫ Paramucin bezeichnet, ist dadurch ausgezeichnet, dass sie sich in Wasser nicht löst, dass sie mit verdünnten Alkalien Lösungen gibt, in welchen Essigsäure nur eine Trübung, aber keinen flockigen Niederschlag erzeugt, dass sie in getrocknetem Zustande mit Wasser übergossen wieder zu einer Gallerte aufquillt, und dass sie bei der Spaltung einen reduzierenden Körper liefert.

Derartige Stoffe sind noch wenig studirt. Virchow<sup>1)</sup> und Pfannenstiel<sup>2)</sup> geben ausser den angeführten Eigenschaften nur wenige Details an. Die einzige eingehende Untersuchung, auf die im Verlaufe dieser Abhandlung noch wiederholt zurückgegriffen werden soll, rührt von Katharina Mitjukoff.<sup>3)</sup>

Da mir grössere Mengen dieser Substanz zur Verfügung standen, beschäftigte ich mich mit der Untersuchung derselben.

1) Virchow, Das Eierstockscolloid, Verhandlungen der Gesellschaft Geburtshilfe in Berlin, III. Jahrgang 1848, S. 203.

2) Pfannenstiel, Ueber die Pseudomucine der cystischen Ovarien-Geschwülste, Arch. f. Gynäkol., Bd. 38, S. 407.

3) Katharina Mitjukoff, Ueber das Paramucin, Arch. f. Gynäk., Bd. 49, S. 278.

Obwohl es mir nicht gelang, die Natur derselben in erwünschtem Maasse aufzuklären, so will ich doch im Folgenden die Ergebnisse meiner Versuche mittheilen, da dieselben immerhin von einigem Interesse sein dürften.

Das von mir verarbeitete Material stammte von mehreren Fällen, welche auf den hiesigen gynäkologischen Kliniken operirt worden waren. Jeder einzelne Tumor zeigte die oben angeführten Eigenschaften. Zur Untersuchung wurden zunächst die blutreichen Stellen der Gallerte von den blutig gefärbten mechanisch getrennt und die letzteren nur für solche Versuche verwendet, bei welchen der geringe Blutgehalt, der durch Auswaschen sich nicht entfernen lässt, das Resultat nicht beeinträchtigen konnte. Auf eine Reindarstellung der Substanz wurde zunächst verzichtet, um die Natur derselben möglichst wenig zu verändern.

Zur Prüfung der Löslichkeitsverhältnisse wurde je eine grössere Portion der Gallerte (je ca. 200 g) in Wasser, 95<sup>o</sup> eigen Alkohol, verdünnte Schwefelsäure und verdünnte Natronlauge gebracht, gut durchgeschüttelt, nach 24 Stunden die Flüssigkeiten abgegossen, filtrirt und die Filtrate zur Trockene abgedampft.

Die wässrige Flüssigkeit, welche ganz schwach alkalisch reagirte, hinterliess nur einen Hauch eines Rückstandes, der Fehling'sche Lösung nicht reducirte.

Im Alkohol schrumpfte die Masse stark, wurde undurchsichtig und gab an den Alkohol eine immerhin nennenswerthe Menge einer im trockenen Zustande weissen, amorphen, spröden Masse ab, welche Fehling'sche Lösung stark reducirte.

Die verdünnte Schwefelsäure löste nur wenig auf. In dieser Lösung erzeugte Natronlauge bis zur genauen Neutralisation zugefügt eine geringe Menge eines flockigen Niederschlages, der sich im Ueberschusse der Lauge wieder leicht löste und alkalische Kupferlösung reducirte. Ob das Colloid in Alkohol und verdünnter Schwefelsäure etwas löslich ist, oder ob die beiden Reagentien nur Beimengungen gelöst oder die Substanz zersetzt haben, will ich zunächst nicht entscheiden. sicher ist, dass kein Zucker beigemengt war.

Verdünnte Natronlauge bewirkte nach einigen Stunden eine fast vollständige Lösung. Die hierbei resultirende hellgelbe, viscidie Flüssigkeit zeigte folgende Reactionen:

Beim Kochen trübt sich die Flüssigkeit nicht und scheidet auch auf Säurezusatz keinen flockigen Niederschlag ab.

Verdünnte Essigsäure, verdünnte Schwefelsäure, verdünnte Salzsäure rufen nur eine Trübung hervor, die im Ueberschusse der Reagentien nicht verschwindet.

Ebenso bewirkt Salpetersäure nur eine Trübung, auf weiteren Zusatz der Säure tritt aber Klärung ein.

Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Gerbsäure, sowie Alkohol erzeugen reichliche flockige Fällungen.

Ein gleiches Volumen einer gesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammonium zur alkalischen Lösung zugesetzt, bringt einen flockigen Niederschlag hervor, während schwefelsaures Natrium oder Chlornatrium erst bis zur Sättigung in die alkalische Flüssigkeit eingetragen dasselbe Resultat erzielt. Schwefelsaures Magnesium fällt weder in alkalischer, noch in der angesäuerten Lösung.

Von den allgemeinen Alkaloidreagentien: Jodjodkalium, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismutjodid erzeugt in der mit Salzsäure angesäuerten Lösung nur das letztere einen Niederschlag.

Die nun folgenden Reactionen wurden direkt mit der ursprünglichen Gallerte angestellt. Dieselbe gab nämlich die Biuret-, Xanthoproteinsäure- und Millon'sche Reaction, während die Adamkiewicz'sche und Liebermann'sche Reaction nur undeutlich ausfielen. Mit  $\alpha$ -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure entstand Violettfärbung, mit Thymol und concentrirter Schwefelsäure Rothfärbung. Beim Kochen mit alkalischer Bleilösung schied sich Schwefelblei ab. Fehling'sche Lösung wurde bei Siedehitze zwar nicht sofort, sondern erst bei mehrere Minuten andauerndem Kochen, dann aber deutlich reducirt.

Eine grössere Anzahl dieser Reactionen wurde auch von Mitjukoff angestellt. Dieselben fielen jedoch nur ähnlich aus, indem die angeführten Säuren dort immer flockige Niederschläge erzeugten. Dieser Unterschied dürfte jedoch nicht so

schwerwiegend sein, da hierbei der Gehalt an Salzen und anderweitigen Beimengungen, namentlich aber die Dauer der Einwirkung von Lauge, eine Rolle spielen mag.

Zur ungefähren Orientirung wurde einer der Tumoren auf seine elementare Zusammensetzung untersucht.

15,4194 g der feuchten, blutfreien Gallerte hinterliessen nach dem Trocknen bei 110° 1,0640 g Rückstand und nach dem Glühen unter den für Aschenbestimmungen gebotenen Cauteleu 0,1847 g Asche. Die Gallerte enthält demnach:

Wasser . . . . .	93,10%
Organische Substanzen . . . . .	5,70%
Asche . . . . .	1,20%
	<u>100,00%</u>

1,1560 g der durch vorsichtiges Glühen über dem Bunsenbrenner aus blutfreier Gallerte erhaltenen Asche wurden der Analyse nach der Methode von Bunsen unterworfen.

Der in Wasser lösliche Theil der Asche enthält:

Kaliumoxyd . . . . .	0,1245 g
Natriumoxyd . . . . .	0,4291 »
Calcium und Magnesium . . . . .	Spuren
Chlor . . . . .	0,4472 »
Schwefelsäureanhydrid . . . . .	0,1200 »
Phosphorsäureanhydrid . . . . .	0,0045 »
Kohlensäureanhydrid . . . . .	0,0800 »
	<u>Summe . . . . .</u>
	1,2053 g
Ab die dem Chlor äquivalente Menge Sauerstoff	<u>0,1009 »</u>
Löslicher Theil . . . . .	1,1044 g

Der in Wasser unlösliche Theil enthält:

Calciumoxyd . . . . .	0,0336 g
Magnesiumoxyd . . . . .	0,0130 »
Phosphorsäureanhydrid . . . . .	0,0012 »
Kohlensäureanhydrid . . . . .	0,0088 »
	<u>Unlöslicher Theil . . . . .</u>
	0,0566 g
Aus den Einzelanalysen berechnete Summe . . . . .	1,1610 g
Gewicht der verwendeten Asche . . . . .	1,1560

### Analytische Belege.

Die Lösung des in Wasser löslichen Theiles wurde auf 250 cem. gestellt.

50 cem. dieser Lösung gaben im Ludwig'schen Kohlensäurebestimmungsapparate 0,0160 g Kohlendioxyd ab. Die aus dem Apparate herausgespülte und eingeengte Flüssigkeit gab 0,0015 g pyrophosphorsaures Magnesium, entsprechend 0,0009 g Phosphorsäureanhydrid.

50 cem. gaben 0,2011 g Chloralkalien und 0,1283 g Kaliumplatinchlorid, entsprechend 0,0249 g Kaliumoxyd und 0,0858 g Natriumoxyd.

50 cem. gaben 0,0699 g schwefelsaures Baryum, entsprechend 0,0240 g Schwefelsäureanhydrid.

50 cem. gaben 0,3539 g Chlorsilber und 0,0060 g Silber, zusammen entsprechend 0,0894 g Chlor.

Der in Wasser unlösliche Theil gab im Kohlensäurebestimmungsapparate 0,0088 g Kohlendioxyd ab. Die aus dem Apparate herausgespülte Flüssigkeit wurde eingedampft, der Rückstand mit concentrirter Salpetersäure aufgenommen und in die Lösung 1 g Zinn, entsprechend 1,55 g Schwefelzinn, eingetragen. Die mit Wasser verdünnte Masse wurde filtrirt. Das Filtrat gab 0,0336 g Calciumoxyd und 0,0362 g pyrophosphorsaures Magnesium, entsprechend 0,0130 g Magnesiumoxyd. Der Filtrationsrückstand wurde in verdünnter Kalilauge gelöst, die Lösung mit Schwefelwasserstoff gesättigt und mit Essigsäure angesäuert. Die so erhaltene Flüssigkeit sammt dem ausgeschiedenen Schwefelzinn wog 252,86 g. Dieselbe wurde durch ein trockenes Filter filtrirt und von dem Filtrate 182,67 g zur Bestimmung der Phosphorsäure verwendet, welche 0,0013 g pyrophosphorsaures Magnesium, entsprechend 0,0007 g Phosphorsäureanhydrid, lieferte.

Eine grössere Menge der Gallerte nach Zusatz von kohlensaurem Natron vorsichtig verbrannt, gab eine Asche, die frei von Jod war.

Der Gehalt an Schwefelsäure wurde ausserdem noch in einer Portion bestimmt, welche über einem Spiritusbrenner in einem abgesonderten Zimmer verascht worden war, um den Einfluss der schwefelhaltigen Laboratoriumsluft auszuschliessen. 0,6848 g Asche gaben hierbei 0,1476 g schwefelsauren Baryt, entsprechend 0,0507 g Schwefelsäureanhydrid.

Werden die oben angegebenen Mengen der einzelnen Bestandtheile unter Berücksichtigung des zuletzt angeführten Werthes für Schwefelsäure als Metalle und Säurereste ausgedrückt, so ergibt sich folgende procentische Zusammensetzung der Asche:

Kalium (K) . . . . .	9,46%
Natrium (Na) . . . . .	28,24%
Calcium (Ca) . . . . .	2,12%
Magnesium (Mg) . . . . .	0,70%
Chlor (Cl) . . . . .	39,63%
Schwefelsäurerest (SO <sub>4</sub> ) . . . . .	8,84%
Phosphorsäurerest (PO <sub>4</sub> ) . . . . .	0,58%
Kohlensäurerest (CO <sub>3</sub> ) . . . . .	10,73%
	100,00%

Ein flüchtiger Blick auf diese Tabelle lässt sofort das bemerkenswerthe Verhältniss  $\frac{\text{Kalium}}{\text{Natrium}} = \frac{1}{3}$  in die Augen springen. Dasselbe steht in der Mitte zwischen demjenigen, welches thierische Flüssigkeiten (für Blutserum ungefähr  $\frac{1}{10}$ ), und demjenigen, welches lebende Zellen zeigen (in den rothen Blutkörperchen eine nennenswerthe Menge von Kalium gegenüber Spuren von Natrium).

Zur Ausführung der organischen Elementaranalyse wurde blutfreie Gallerte durch Leinen gepresst, mit Wasser durch Decantation gut gewaschen, auf dem Wasserbade getrocknet, der fein zerriebene Rückstand mit Alkohol und darauf mit Aether extrahirt.

I. 0,9241 g trockener Substanz hinterliessen nach vorsichtigem Verbrennen 0,0594 g Asche, welche aus Oxyden, Sulfaten und Phosphaten von Calcium und Magnesium bestand.

II. 0,2078 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit vorgelegtem chromsauren Blei, Kupfer und Kupferoxyd 0,1097 g Wasser, entsprechend 0,0122 g Wasserstoff und 0,3595 g Kohlensäure, entsprechend 0,09810 g Kohlenstoff.

III. 0,1907 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit vorgelegtem chromsauren Blei, Kupfer und Kupferoxyd 0,1003 g

Wasser, entsprechend 0,0112 g Wasserstoff und 0,3304 g Kohlensäure, entsprechend 0,0902 g Kohlenstoff.

IV. 0,2076 g Substanz gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Dumas-Ludwig 11,7 ccm. Stickstoff bei 12,7° C. und 750,0 mm. Barometerstand.

V. 0,2381 g Substanz gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Dumas-Ludwig 16,9 ccm. Stickstoff bei 13,4° C. und 749,0 mm. Barometerstand.

VI. 0,4550 g Substanz nach Carius zerstört gaben 0,0254 g schwefelsaures Baryum, entsprechend 0,0035 g Schwefel. Das Filtrat davon mit Molybdänsäure behandelt gab 0,0099 g pyrophosphorsaures Magnesium, entsprechend 0,0028 g Phosphor.

VII. 0,4628 g Substanz ebenso behandelt gaben 0,0274 g schwefelsaures Baryum, entsprechend 0,0038 g Schwefel und 0,0080 g pyrophosphorsaures Magnesium, entsprechend 0,0022 g Phosphor.

In Procenten ausgedrückt:

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	Mittel
C	—	47,23	47,30	—	—	—	—	47,27
H	—	5,88	5,85	—	—	—	—	5,86
N	—	—	—	8,39	8,41	—	—	8,40
S	—	—	—	—	—	0,77	0,81	0,79
P	—	—	—	—	—	0,61	0,48	0,54
Asche	6,43	—	—	—	—	—	—	6,43

Da die Substanz bei der Vorbereitung zur Elementaranalyse nicht mit Säuren behandelt wurde, so kann der hohe Gehalt derselben an mineralischen Bestandtheilen, namentlich den in Wasser unlöslichen, nicht auffallen.

Der Phosphorgehalt ist so gering, dass er wohl ganz als der Verunreinigung mit mineralischen Bestandtheilen angehörig betrachtet werden kann. Erwähnt mag noch werden, dass die Gallerte mit verdünnter Schwefelsäure gekocht und mit Ammoniak übersättigt mit Silberlösung keinen Niederschlag gab zum Beweise, dass Xanthinbasen als Spaltungsprodukte nicht auftreten. Damit dürfte es gerechtfertigt sein, wenn im Folgenden der Gehalt an Phosphor unberücksichtigt bleibt. Demnach ergeben sich folgende Mittelwerthe für aschenfreie

Substanz, wobei die Ungenauigkeit, welche der Schwefelgehalt bedingt, nicht beachtet werden soll:

50.52% C, 6.26% H, 8.98% N, 0.84% S, 33.40% O.

Vergleicht man diese Zahlen mit den von Mitjukoff (51.76% C, 7.76% H, 10.70% N, 1.09% S, 28.69% O) und Pfannenstiel (9.45% N) gefundenen, so ist die Uebereinstimmung wohl nicht sehr weitgehend. Allerdings kann ich dem Einwande nicht begegnen, dass meine Substanz nicht rein war, andererseits aber könnte auch die Behandlung mit verdünnten Säuren, wie sie Mitjukoff zur Reinigung ihrer Substanz angewendet hat, schon Veränderungen setzen. Immerhin wäre es auch denkbar, dass die einzelnen Tumoren auch aus verschiedenen Körpern bestehen.

#### Untersuchung des reducirenden Complexes.

Bekanntlich liefert das Colloid bei der Spaltung mit verdünnten Säuren einen reducirenden Körper. Zur Isolirung desselben wurde folgender Versuch angestellt:

1 kg mit Wasser gewaschener Gallerte wurde mit 2% iger Schwefelsäure 2 Stunden lang gekocht. Diese Bedingungen schienen nach einigen Vorversuchen die günstigsten zu sein. Das Reactionsgemisch wurde zunächst einige Tage gegen öfter gewechseltes destillirtes Wasser dialysirt und die Dialysate gesammelt. Die Dialyse wurde dann noch einige Tage mit fliessendem Wasser fortgesetzt. In der im Pergamentpapierbeutel befindlichen Flüssigkeit schieden sich bald reichliche Mengen von braunen Flocken aus, über deren Untersuchung später berichtet werden soll.

Die vereinigten Dialysate wurden mit Bleizucker im Ueberschusse versetzt und die von dem entstandenen Niederschlage abfiltrirte Flüssigkeit mit Ammoniak übersättigt. Der reichlich ausgeschiedene Niederschlag, von der Flüssigkeit durch Filtration getrennt und mit ammoniakhaltigem Wasser chlorfrei gewaschen, wurde in Wasser suspendirt und durch Kohlensäure zerlegt. Die vom kohlensauren Blei abfiltrirte Flüssigkeit, in Plattingefässen im Vacuum bei ca. 50° C. zur Trockene eingedampft, hinterliess eine gelbe, spröde, amorphe Masse.

welche an der Luft Feuchtigkeit anzog, zu einem Syrup zerfiess und sich dunkler färbte. Derselbe konnte auch durch monatelanges Stehen im Vacuum über Schwefelsäure bei niedriger Temperatur nicht zur Krystallisation gebracht werden.

Die so dargestellte Substanz enthält Stickstoff und ist frei von Schwefel. Die wässrige Lösung derselben schmeckt nicht süss, reducirt Fehling'sche Lösung stark, gibt die Rubner'sche Zuckerreaction (mit Bleizucker und Ammoniak bei gelindem Erwärmen Rosafärbung), die Molisch'sche Probe mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure, nicht aber die Biuret- und Millon'sche Reaction und dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nicht.

Mit essigsaurem Phenylhydrazin erwärmt, scheidet sie beim Abkühlen eine Verbindung ab, welche aus gelben, radial gestreiften Kugeln besteht. Die letztere wurde aus heissem 60°-igen Alkohol so lange umkrystallisirt, bis zwei aufeinanderfolgende Krystallisationen denselben Schmelzpunkt zeigten, welcher bei 166° lag. Ein weiteres Umkrystallisiren aus heissem Benzol veränderte den Schmelzpunkt nicht mehr.

Mit salzsaurem Hydroxylamin und Sodalösung entstand kein schwerlösliches Oxim.

Mit Hefe, welche auf ihre Gährungsfähigkeit geprüft worden war, vergohr die Lösung nicht.

Auf die Ausführung der Elementaranalyse musste verzichtet werden, weil die Substanz nicht genügend rein schien.

Um zu entscheiden, ob eine Pentose oder ein Pentosan vorliegt, wurde die Lösung der Substanz mit Phloroglucin und Salzsäure erwärmt; es entstand nicht die für Pentosen charakteristische kirschrothe Färbung, sondern eine carminrothe Lösung, welche spectroscopisch geprüft auch den typischen Absorptionsstreifen im Gelbgrün vermissen liess.<sup>1)</sup>

Ungefähr 1 g des Syrup mit Salzsäure vom spec. Gew. 1.06 destillirt, lieferte ebensowenig Furfurol als die ursprüngliche Gallerte.

Zur Prüfung auf Hexosen wurde aus dem Syrup nach

<sup>1)</sup> Tollens, Handbuch der Kohlehydrate, II, S. 73.

Fischer und Jennings<sup>1)</sup> das Resorcinderivat dargestellt und dieses mit Fehling'scher Lösung gekocht. Es zeigte sich auch hier keine Rothfärbung.

Hexakohlehydrate geben bekanntlich bei der Spaltung mit starken Mineralsäuren Huminstoffe und Lävulinsäure. Die ersteren wurden wohl, wie später erörtert werden soll, in reichlichen Mengen erhalten, der Nachweis der Lävulinsäure gelang jedoch auch in einer grösseren Portion der Gallerte (250 g nach dem Verfahren von Wehmer und Tollens<sup>2)</sup> nicht.

Sollte der letzte Versuch, mit noch grösseren Mengen unter verschiedenen Bedingungen angestellt, dasselbe negative Resultat ergeben, so wäre wohl der Schluss berechtigt, dass die durch Spaltung mit Schwefelsäure aus dem Colloid entstehende reducirende Substanz weder eine Hexose, noch eine Pentose, noch auch eine Substanz ist, welche bei der hydrolytischen Spaltung derartige Kohlehydrate liefert.

Zu der Ueberzeugung, dass die reducirende Substanz aus dem Colloid kein Traubenzucker sei, war auch Mitjukoff gekommen. Durch Spaltung des Colloids mit Kalilauge wurde nämlich ein Produkt erhalten, welches kein Osazon lieferte und nicht vergohr.

Es war nun zunächst daran zu denken, dass das Colloid vielleicht ein ähnliches Kohlehydratderivat enthalte, wie der Knorpel die Chondroitinschwefelsäure, obwohl auch aus diesem Lävulinsäure bereits dargestellt wurde.<sup>3)</sup> Zum Nachweise eines solchen Körpers wurden 1 1/2 kg nach dem Verfahren behandelt, welches Schmiedeberg<sup>4)</sup> zur Darstellung der Chondroitinschwefelsäure eingeschlagen hatte.

Die Gallerte wurde nämlich mit 2° 00iger Salzsäure wiederholt gewaschen, mit Pepsin und 4° 00iger Salzsäure durch 48 Stunden bei 38°C. verdaut, wobei eine dickliche schleimige

1) Tollens, Handbuch der Kohlehydrate, II, S. 100.

2) Tollens, Handbuch der Kohlehydrate, II, S. 51.

3) Wehmer und Tollens, Die Bildung von Lävulinsäure, Reaction aller wahren Kohlehydrate, Liebig's Annal. 243, S. 315.

4) O. Schmiedeberg, Ueber die chemische Zusammensetzung des Knorpels, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 28, S. 355—404.

Flüssigkeit entstand, die beim Verdünnen mit Wasser zwar keine Gallerte absetzte, aber mit Alkohol eine Fällung gab, welche nach längerer Behandlung mit Alkohol in Wasser sich nur zum geringen Theile löste. Das in Wasser unlöslich Gebliebene wurde, nachdem es mit Wasser wiederholt gewaschen war, mit 2<sup>o</sup> iger Salzsäure extrahirt und die durch Filtration gewonnene klare Flüssigkeit mit Alkohol und Aether gefällt, der Niederschlag mit Alkohol von steigender Concentration behandelt, bis er zu farblosen, harten, bröckligen Massen geworden war, welche dann mit Wasser chlorfrei gewaschen werden konnten.

Diese wurden hierauf in Kalilauge gelöst und mit dem dreifachen Volumen Alkohol gefällt. Das Lösen und Fälln wurde so oft wiederholt, bis eine Probe des Niederschlages keine Buretreaction mehr zeigte. Es blieb dann nach dem Trocknen eine ziemlich anscheinliche Menge eines weissen Pulvers.

Eine Probe desselben wurde mit verdünnter Salzsäure 1 Stunde lang gekocht. Das Reactionsgemisch reducirte beim Kochen Fehling'sche Lösung sofort, während das Pulver erst nach längerem Sieden Kupferoxydul daraus abschied, und gab mit Chlorbaryum einen weissen Niederschlag. Die wässrige Lösung des Pulvers hingegen blieb auf Zusatz von Chlorbaryum klar.

Wiederholte Versuche, nach der Methode von Schmiedeberg zu einem ähnlichen Endprodukte zu gelangen, wie das Chondrosin, förderten nur eine ganz winzige Menge einer klebrigen Substanz zu Tage, deren wässrige Lösung Reduction und Rechtsdrehung zeigte, aber nicht die von Schmiedeberg als charakteristisch angegebene Barytreaction gab.

Die Ergebnisse dieser Versuche führen zu dem Schlusse, dass die reducirende Substanz in Form einer Aetherschwefelsäure im Colloid enthalten ist, deren Kupfersalz auch dargestellt wurde. Dasselbe stellt ein hellblaues Pulver mit einem Kupfergehalte von 9.7% dar (0.1176 g trockenes Salz gaben 0.0142 g Kupferoxyd). Dieser Kupfergehalt stimmt wohl mit dem des Chondroitinschwefelsauren Kupfers (im Mittel 9.63% ) überein. Nichtsdestoweniger ist es nach den im Vorstehenden beschrie-

benen Versuchen unwahrscheinlich, dass die genannte Säure vorliegt. Es wäre vielmehr nur eine ähnliche Verbindung zu vermuthen. Sobald mir genügendes Material zur Verfügung steht, will ich die Versuche in der angegebenen Richtung fortsetzen und auch zu entscheiden trachten, ob alle reducirende Substanz in Form einer Aetherschwefelsäure im Colloid enthalten ist.

### Untersuchung des Eiweisskörpers.

Wie schon früher erwähnt, schied die Lösung der mit verdünnter Schwefelsäure zerkochten Substanz bei der Dialyse reichliche braune Flocken aus. Diese wurden auf einem Filter gesammelt und mit Wasser gewaschen. Beim Trocknen buken sie zu einer gummiartigen, braunen, amorphen Masse zusammen, welche in Wasser unlöslich war, wohl aber in verdünnter Lauge sich löste.

Diese Lösung wurde gefällt durch kleine Mengen von Essigsäure, Schwefelsäure oder Salpetersäure, der Niederschlag löste sich aber im Ueberschusse der Säuren wieder. Sie wurde ferner gefällt durch ein gleiches Volumen einer gesättigten Lösung von schwefelsaurem Ammonium oder schwefelsaurem Magnesium, durch Chlornatrium bis zur Sättigung eingetragen, während Sättigung mit schwefelsaurem Natrium nur spärliche Flocken abschied, ferner durch Alkohol, Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, in der angesäuerten Lösung durch Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumwismutjodid, Kaliumquecksilberjodid, Jodjodkalium und Gerbsäure. Die Substanz selbst gab Milton'sche und Xanthoproteinsäurereaction, nicht aber die Molisch'sche, Adamkiewicz'sche und Liebermann'sche Reaction. Sie reducirte alkalische Kupferlösung nicht.

Nach alledem wäre dieses Spaltungsprodukt als ein Albuminat zu betrachten. Obwohl es stark mit färbenden Stoffen verunreinigt war, wurde es doch einer Elementaranalyse unterworfen. Diese ergab Folgendes:

1. 0.8016 g Substanz hinterliessen nach dem Glühen

0,251 g Asche, bestehend aus Sulfaten und Oxyden von Calcium und Magnesium.

II. 0,2085 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit vorgelegtem chromsauren Blei, Kupfer und Kupferoxyd 0,1200 g Wasser, entsprechend 0,0135 g Wasserstoff und 0,3720 g Kohlensäure, entsprechend 0,1015 g Kohlenstoff.

III. 0,2342 g Substanz, ebenso verbrannt, gaben 0,1347 g Wasser, entsprechend 0,0151 g Wasserstoff und 0,4465 g Kohlensäure, entsprechend 0,1136 g Kohlenstoff.

IV. 0,2046 g Substanz gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Dumas-Ludwig 18,1 cem. Stickstoff bei 14,0° C. und 746,5 mm. Barometerstand.

V. 0,2166 g Substanz, ebenso behandelt, gaben 18,8 cem. Stickstoff bei 13,1° C. und 747,5 mm. Barometerstand.

VI. 0,1773 g Substanz gaben bei der Schwefelbestimmung nach Carins 0,0126 g schwefelsaures Baryum, entsprechend 0,0017 g Schwefel.

VII. 0,1717 g Substanz, ebenso behandelt, gaben 0,0092 g schwefelsaures Baryum, entsprechend 0,0013 g Schwefel.

In Procenten ausgedrückt:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	Mittel
C	—	48,60	48,50	—	—	—	—	48,55
H	—	6,45	6,45	—	—	—	—	6,45
N	—	—	—	10,38	10,23	—	—	10,30
S	—	—	—	—	—	0,97	0,73	0,85
Asche	3,13	—	—	—	—	—	—	3,13

Auf aschefreie Substanz berechnet, ergeben sich folgende Mittelwerthe:

50,11% C, 6,66% H, 10,63% N, 0,88% S, 31,72% O.

Zur näheren Charakterisirung des Eiweisscomplexes wurde eine Spaltung des Colloids mit concentrirter Salzsäure vorgenommen. 1 kg Gallerte wurde mit 3 kg reiner rauchender Salzsäure nach Zusatz von Zinnchlorür durch 5 Stunden unter Anwendung eines Rückflusskühlers gekocht. Dabei schieden sich reichliche Mengen von unlöslichen, schwarzen Massen ab, welche nach dem Erkalten der Flüssigkeit abfiltrirt und mit Wasser gewaschen wurden, bis das Waschwasser farblos durch-

lieft. Dieser ungelöste Antheil, nach dem Trocknen auf dem Wasserbade zerrieben und mit Aether extrahirt, gab an den Aether 0.67 g eines Gemenges ab, in welchem Fettsäuren und Cholesterin nachgewiesen wurden, und stellte darnach ein braunes Pulver dar, welches sich durch erschöpfendes Ausziehen mit reiner verdünnter Natronlauge in zwei Portionen theilen liess.

Die von der Lauge ungelöst gebliebene, an Menge gering wurde mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr alkalisch reagirte, auf dem Wasserbade getrocknet und der Elementaranalyse unterworfen. Dieselbe ergab Folgendes:

Die Substanz ist frei von Zinn, enthält jedoch Schwefel.

I. 0.1904 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit vorgelegtem chromsauren Blei, Kupfer und Kupferoxyd 0.0168 g Asche, 0.0707 g Wasser, entsprechend 0.0079 g Wasserstoff und 0.4457 g Kohlensäure, entsprechend 0.1215 g Kohlenstoff.

II. 0.1742 g Substanz gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Dumas-Ludwig 3.9 ccm. Stickstoff bei 10.0° C. und 748.0 mm. Barometerstand.

In Procenten:

	I	II	auf aschefreie Substanz berechnet
C	63.8	—	70.00
H	4.17	—	4.57
N	—	2.67	2.93
S + O	—	—	22.50
Asche	8.9	—	—
			100.00

Der in verdünnter Natronlauge gelöste Antheil wurde aus seiner Lösung durch Neutralisation mit verdünnter Schwefelsäure gefällt und mit Wasser schwefelsäurefrei gewaschen. Nach dem Trocknen hinterblieb eine braune, leicht zu einem feinen Pulver zerreibliche Masse, welche frei von Schwefel und Phosphor war und beim Erhitzen bis auf eine winzige Menge Asche verbrannte. Die Elementaranalyse ergab:

I. 0.1812 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit vorgelegtem Kupferoxyd und Kupfer 0.0708 g Wasser, entsprechend 0.0079 g Wasserstoff und 0.3952 g Kohlensäure, entsprechend 0.1078 g Kohlenstoff.

II. 0.4334 g Substanz gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Dumas-Ludwig 18.5 cem. Stickstoff bei 12.1° C. und 754.5 mm. Barometerstand.

In Procenten ausgedrückt:

59.52° C, 4.36° H, 3.32° N, 32.80° O.

Von diesen beiden Fractionen, besonders von der ersten, kohlenstoffreicheren kann selbstverständlich nicht behauptet werden, dass sie chemische Individuen sind. Ihrer Entstehungsweise, ihren Eigenschaften und ihrer chemischen Zusammensetzung nach kommen sie jedoch einerseits den durch Kochen mit Säuren aus Kohlehydraten entstehenden Huminstoffen, anderseits den von Schmiedeberg<sup>1)</sup> durch Spaltung von Eiweisskörpern auf demselben Wege erhaltenen Melanoidsäuren nahe. Allerdings ist es noch nicht klargestellt, ob die Melanoidsäuren nicht die aus dem Kohlehydratcomplex der Eiweisskörper entstandenen Huminsubstanzen repräsentiren. Die grosse Menge der aus dem Colloid entstandenen schwarzen Produkte würde dann nicht anders zu deuten sein, als dass im Colloid im Vergleich zu den Amidoverbindungen bedeutend mehr kohlehydratähnliche Gruppen enthalten sind, als in anderen Eiweisskörpern. Der verschiedene Stickstoffgehalt spielt nur eine geringe Rolle, da Huminstoffe nach den Untersuchungen von Berthelot und André<sup>2)</sup> Ammoniak aufnehmen und zu Amidoverbindungen binden.

Zur bequemeren Uebersicht soll eine Zusammenstellung der oben angeführten Werthe, der Schmiedeberg'schen Melanoidsäuren und der aus Traubenzucker gewonnenen Huminsäuren nach Berthelot und André folgen:

In Procenten:

Huminstoffe aus Traubenzucker:

	C	H	N	S	O
Berechnet für $C_{15}H_{14}O_6$	66.24	4.30	—	—	29.44
Berechnet für $C_{15}H_{14}O_6 + H_2O$	62.80	4.64	—	—	32.56

1) O. Schmiedeberg, Elementarformeln einiger Eiweisskörper (Melanine). Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak., Bd. 39, S. 1.

2) Berthelot u. André, Recherches sur les substances humiques. Compt. rend., Bd. 112, S. 916.

Huminstoffe aus dem Colloid:

	C	H	N	S	O
in Natronlauge unlöslich	70.00	4.57	2.93	—	22.50
in Natronlauge löslich	59.52	4.36	3.32	—	32.80

Melanoidsäuren:

	C	H	N	S	O
aus Wittes Pepton	60.34	4.86	8.09	0.96	—
aus Serumalbumin	66.27	5.49	5.57	—	—

Die von den schwarzen Massen abfiltrirte Flüssigkeit wurde nach dem Verdünnen mit Wasser wiederholt mit Aether ausgeschüttelt. Die vereinigten ätherischen Auszüge hinterliessen nach dem Abdestilliren des Aethers nur eine geringe Menge Rückstand (0.16 g), welcher an Wasser nichts abgab. Es hatte sich also auch hier keine Lävulinsäure gebildet. Unwahrscheinlich ist auch die Anwesenheit von aromatischen Oxy Säuren. Dagegen konnten darin Cholesterin und Fettsäuren nachgewiesen werden.

Die wässrige Flüssigkeit wurde nach dem Abdunsten des gelösten Aethers mit Schwefelwasserstoff behandelt und von dem abgeschiedenen Schwefelzinn abfiltrirt. Der Niederschlag wurde noch wiederholt mit Wasser ausgekocht und die Waschwässer mit der übrigen Flüssigkeit vereinigt. Nachdem daraus der Schwefelwasserstoff durch Kochen vertrieben war, wurde die Lösung noch warm mit einer heiss gesättigten Lösung von Phosphorwolframsäure versetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Es schied sich nur wenig Niederschlag aus, welcher abfiltrirt, mit 5<sup>o</sup>iger Schwefelsäure gewaschen und mit Baryt zerlegt wurde. Die so erhaltene Flüssigkeit wurde nun nach dem von Kossel<sup>1)</sup> ausgearbeiteten Verfahren nacheinander mit Sublimat, schwefelsaurem Silber und Natriumpikrat gefällt und die einzelnen Niederschläge in der entsprechenden Weise zerlegt. Jede der drei Fractionen lieferte endlich nur eine winzige Menge von stickstoffhaltigen Kryställchen, die letzte, welche das Lysin enthalten soll, relativ am meisten. Diese wurde daher in das Platindoppelsalz übergeführt, durch wiederholtes Umkrystallisiren gereinigt und, nur um grobe

1) A. Kossel, Ueber die Constitution der einfachsten Eiweissstoffe. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXV, Heft 3 u. 4.

Verwechslungen (z. B. mit Platinsalmiak) hintanzuhalten, eine Platinbestimmung versucht, welche bei der winzigen Menge der zur Verfügung stehenden Substanz nur ein annäherndes Resultat geben konnte.

0,0025 g des trockenen Salzes hinterliessen beim Versetzen 0,0009 g Platin, entsprechend 39% während Lysinplatinchlorid 35,05% und Ammoniumplatinchlorid 43,9% Platin erfordert.

Es ist demnach sehr wahrscheinlich, dass hier kleine Mengen von Hexonbasen vorlagen.

Das Filtrat von dem durch Phosphorwolframsäure entstandenen Niederschlage wurde heiss mit Baryt alkalisch gemacht, filtrirt und das Filtrat mit Schwefelsäure unter Vermeidung eines grösseren Ueberschusses gefällt. Die vom schwefelsauren Baryum abfiltrirte und auf ca. 300 ccm. eingeeigte Lösung wurde mit Chlorbaryum genau ausgefällt, filtrirt, das Filtrat nach weiterem Einengen auf ca. 100 ccm. mit Salzsäuregas gesättigt und zum Syrup eingedampft. Dieser blieb dann im Eiskasten einen Monat lang stehen. Es schieden sich wohl Krystalle aus, welche jedoch nach dem Absaugen auf porösen Thonplatten und Reinigen sich als vollkommen anorganisch und zwar der Hauptmenge nach als Kochsalz erwiesen. Salzsäure Glutaminsäure wurde demnach nicht erhalten.

Die mit Wasser verdünnten Mutterlaugen wurden nun durch Silberoxyd von der Salzsäure und durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit, wobei die Filtrationen immer unter Anwendung eines Wärmetrichters vorgenommen und die Niederschläge wiederholt mit Wasser ausgekocht wurden. Filtrat und Waschwasser wurden dann zur Krystallisation eingedampft, die Krystalle abgesaugt und die Mutterlauge so oft weiter eingeeigt, als sich noch Krystalle ausschieden. Die gesammelten Krystalle, deren Lösung (vielleicht nur in Folge der anhaftenden Mutterlauge) nur schwache Millon'sche Reaction gab, wurden nach dem von Hlasiwetz und Habermann zur Trennung von Leucin und Tyrosin angegebenen Verfahren behandelt, wobei kein Tyrosin, wohl aber ansehn-

liche Mengen von Leucin erhalten wurden. Das letztere wurde aus heissem ca. 20° igeu Alkohol mehrere Male umkrystallisirt und stellte zuletzt eine aus grösseren Blättchen bestehende farblose Krystallmasse dar, welche beim Erhitzen sublimirte und die Scherer'sche Reaction zeigte.

Eine Stickstoffbestimmung daraus nach Dumas-Ludwig ergab folgendes Resultat:

0.0788 g Substanz gaben 7.3 cem. Stickstoff bei 14.1° C. und 742 mm. Barometerstand.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$	10.70% N
Gefunden	10.79% N

Das daraus dargestellte Kupfersalz zeigte folgende Zusammensetzung:

0.1188 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit vorgelegtem Kupferoxyd und metallischem Kupfer 0.0291 g Kupferoxyd, entsprechend 0.0232 g Kupfer, 0.0738 g Wasser, entsprechend 0.0088 g Wasserstoff und 0.1938 g Kohlensäure entsprechend 0.0529 g Kohlenstoff.

In Procenten:	Berechnet für $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$	Gefunden
C . . . . .	44.58	44.49
H . . . . .	7.43	7.39
Cu . . . . .	19.60	19.57

Die Mutterlaugen nach dem Leucin sieden bei der Behandlung mit Bleiessig, sowie mit Kupferhydroxyd und Bleiessig keine Asparaginsäureverbindung ab. Ebenso wenig konnte mit Hilfe von Quecksilbersalzen Glutaminsäure gewonnen werden. Die wässrige Lösung der Mutterlauge zeigte zwar schwache Millon'sche Reaction, doch konnte der dieselbe verursachende Körper nicht dargestellt werden.

Ein zweiter Spaltungsversuch mit vorher getrockneter Substanz, rauchender Salzsäure und Zinnchlorür, nur zu dem Zwecke unternommen, um bei dem ersten etwa übersiehene Spuren von Glutaminsäure, Asparaginsäure und Tyrosin nachzuweisen, weshalb die Fällung mit Phosphorwolframsäure sammt den dadurch bedingten Operationen wegließ, ergab bezüglich der drei genannten Körper dasselbe negative Resultat.

Es sei nur noch erwähnt, dass beim Kochen des Colloids mit concentrirter Barytlösung reichliche Mengen Ammoniak, sowie ein aus rothen Flocken bestehender Körper von eigenthümlichem Geruche (vielleicht Pyrrolroth?) abdestillirten.

Als sichere organische Spaltungsprodukte wurden also nach dem Kochen mit concentrirten Säuren und Alkalien nachgewiesen: Ammoniak, Leucin und Huminstoffe, mit Wahrscheinlichkeit Hexonbasen in Spuren.

Weitere Untersuchungen, welche, sobald mir genügendes Material zur Verfügung steht, werden unternommen werden, sollen über die Natur des die Millon'sche Reaction gebenden Spaltungsproduktes Aufschluss geben. Bei der grossen Empfindlichkeit dieser Reaction ist es nicht unmöglich, dass dieser Körper Tyrosin in geringen Mengen ist, welche bei dem umständlichen Trennungsverfahren leicht in den anorganischen Niederschlägen bleiben können. Da die Spuren von Fettsäuren, Cholesterin und Basen mit Wahrscheinlichkeit nur auf Verunreinigungen zu beziehen sind und dasselbe bei den etwaigen Spuren von Tyrosin der Fall sein dürfte, so würde dann das Colloid eine oder vielleicht ein Gemenge von Verbindungen eines Kohlehydratderivates mit Eiweisskörpern repräsentiren, welche letztere durch grosse Einfachheit allerdings in anderem Sinne als die Protamine ausgezeichnet sind.

Soll zum Schlusse noch das Eierstockscolloid mit ähnlichen Körpern anderer Herkunft verglichen werden, so scheint dasselbe von dem Schilddrüsencolloid weit verschieden zu sein, da das letztere nach neueren Untersuchungen das jodhaltige Jodothyren enthält, während jenes frei von Jod ist. Dagegen zeigen manche Gallertcarcinome, wie sie von Würtz, Virchow, Mulder, Buhl u. A. untersucht wurden, wenigstens den Löslichkeitsverhältnissen und dem Verhalten gegen alkalische Kupferlösung nach grosse Aehnlichkeit.