

Doppeltbrechende Substanzen aus pathologischen Organen.

Von
Theodor Panzer.

(Aus dem Universitätslaboratorium für medizinische Chemie in Wien.)

(Der Redaktion zugegangen am 5. Dezember 1907.)

Unter dem Titel «Über das Protagon der Niere» habe ich im XLVIII. Bande, Seite 519, dieser Zeitschrift Untersuchungen über eine krystallisierte, doppeltbrechende Substanz, welche in der großen weißen Niere beim Menschen auftritt, veröffentlicht. Diese Substanz wurde als der Ester des Cholesterins mit einer ungesättigten Säure erkannt, welche, wie die Ölsäure, einige Eigenschaften der Fettsäuren zeigt.

Diese Untersuchungen wurden nun fortgesetzt und auch auf andere Organe ausgedehnt, in welchen Substanzen vorkommen, die bei der histologischen Untersuchung ähnliche Eigenschaften zeigten. Obwohl diese Versuche noch zu keinem abschließenden Resultate geführt haben, halte ich doch auch die Publikation kleinerer Erfolge in dieser Sache für berechtigt, da die Organe, welche reich an doppeltbrechender Substanz sind, selbst bei dem großen Materiale des Wiener pathologisch-anatomischen Institutes nicht sehr häufig zu haben sind und da auch aus solchen Organen nur wenig reine Substanz erhalten wird.

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden von zwei Gedanken geleitet.

In meiner ersten Mitteilung wurde berichtet, daß aus 3 Nierenpaaren eine Substanz dargestellt worden war, welche unter dem Mikroskope einheitliches Aussehen und nach wiederholtem Umkrystallisieren einen konstanten scharfen Schmelzpunkt zeigte.

Sprechen diese Tatsachen nun für die Einheitlichkeit der Substanz, so mußte doch Zweifeln darüber Raum gegeben werden,

weil der saure Anteil des Esters sich in zwei Fraktionen zerlegen ließ, in eine, deren Bleisalz in Äther löslich war, und in eine zweite, deren Bleisalz sich in Äther nicht löste; allerdings addierten beide Fraktionen Brom. Die neuerlichen Untersuchungen haben nun ergeben, daß die Substanz, obwohl sie von vornherein einheitlich und leicht krystallisiert und nach wiederholter Reinigung einen konstanten Schmelzpunkt zeigt, doch ein Gemenge ist. Es war also die erste Aufgabe, die Bestandteile dieses Gemenges aufzufinden.

Zum zweiten wollte ich einen Überblick gewinnen, wieviel von dieser doppeltbrechenden Substanz in einem Organ wohl enthalten sein mag. Bei meinen ersten Versuchen war im Interesse der Reinheit der Substanz mit großen Verlusten gearbeitet worden; es mußte also bei neuerlichen Versuchen auch aus den Mutterlaugen die doppeltbrechende Substanz möglichst rein und vollständig wiedergewonnen werden und Anhaltspunkte gefunden werden, um auch dann noch unvermeidliche Verluste wenigstens schätzen zu können.

Zu diesem Behufe wurde folgendermaßen gearbeitet:

Die mit der Schere zerkleinerten Organe wurden mit 95%igem Alkohol übergossen und, um sie zu entwässern, mindestens 14 Tage lang in Alkohol belassen, wobei der Alkohol wiederholt gewechselt wurde. Die Organe wurden dann, unter Vermeidung nennenswerter Verluste, mit der Wurstmaschine weiter zerkleinert und nun in Aceton gebracht. Die Behandlung mit Aceton, welche die Entfernung der Hauptmenge des Fettes bezweckte, wurde durch wenigstens drei Tage fortgesetzt; auch das Aceton wurde mehrmals erneuert. Die abgegossenen Flüssigkeiten, Alkohol und Aceton, wurden filtriert, das Filter samt dem Ungelösten mit dem zerkleinerten Organe vereinigt und mehrmals mit Aceton ausgekocht. Die filtrierten Auszüge wurden über Nacht in den Eiskasten gestellt, wobei sich die gesuchte Substanz in farblosen Kryställchen abschied. Das Auskochen des Organs mit Aceton wurde so oft wiederholt, bis sich die filtrierte Flüssigkeit nach 24 stündigem Stehen im Eiskasten nicht mehr getrübt hatte.

Jede dieser Flüssigkeiten wurde nun eiskalt durch ein kleines

Filterchen filtriert, die auf dem Filter gebliebenen Krystalle mit wenig in Eis gekühltem Aceton gewaschen und auf dem Filter mit Chloroform übergossen, worin sie sich sehr leicht lösten. Die einzelnen Chloroformlösungen wurden in einem tarierten Wägegläschen unter Nachwaschen mit Chloroform vereinigt, bei mäßiger Wärme verdunstet und der Verdunstungsrückstand im Vacuum über Schwefelsäure und Paraffin bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Die so erhaltenen Krystalle, im folgenden als «Krystalle A» bezeichnet, wurden, nachdem ihr Gewicht bestimmt war, für weitere Versuche durch wiederholtes Umkrystallisieren aus heißem Aceton gereinigt, wofern für den Versuch nicht auch weniger reine Substanz genügte. Das Umkrystallisieren wurde so oft wiederholt, bis der Schmelzpunkt konstant blieb. Jede der beim Umkrystallisieren abfiltrierten Mutterlaugen wurde verdampft und das Gewicht des Abdampfrückstandes nach dem Trocknen im Vakuum bestimmt. Es galt mit als Kriterium einer gewissen Reinheit der Krystalle, wenn die Menge des Abdampfrückstandes der Mutterlauge sehr gering war.

Um einen Anhaltspunkt für die Löslichkeit der aus Nieren dargestellten Substanz in eiskaltem Aceton zu gewinnen, seien hier die Gewichte der Rückstände zusammengestellt, welche beim Verdampfen der von der letzten, demnach reinsten Krystallisation abfiltrierten Mutterlaugen aus den einzelnen Nierenpaaren erhalten wurden.

1,7508 g Mutterlauge lieferten 0,0040 g Abdampfungsrückstand,
100 g Aceton lösten demnach 0,23 g Substanz.

6,9504 g Mutterlauge lieferten 0,0107 g Abdampfungsrückstand,
100 g Aceton lösten demnach 0,15 g Substanz.

6,2008 g Mutterlauge lieferten 0,0138 g Abdampfungsrückstand,
100 g Aceton lösten demnach 0,22 g Substanz.

4,3081 g Mutterlauge lieferten 0,0062 g Abdampfungsrückstand,
100 g Aceton lösten demnach 0,14 g Substanz.

Für die folgenden Schätzungen wurde angenommen, daß 100 g eiskaltes Aceton 0,15 g Substanz und daß 100 ccm eiskaltes Aceton 0,19 g Substanz lösen.

Alle Flüssigkeiten, welche vor der Wägung der Krystalle A

abgefallen waren, nämlich die von dem zerkleinerten Organe abgossenen und filtrierten Alkohol- und Acetonportionen und die einzelnen Acetonmutterlaugen, welche nach dem Auskochen des Organs und nach dem Abkühlen des filtrierten Auszuges von den abgeschiedenen Krystallen abfiltriert worden waren, sowie der letzte Acetonauszug, welcher beim Abkühlen im Eiskasten klar geblieben war, wurden vereinigt, zunächst aus dem Wasserbade soweit als möglich destilliert, der Destillationsrückstand auf dem Wasserbade getrocknet und der getrocknete Abdampfrückstand in derselben Weise, wie bei der Gewinnung der Krystalle A beschrieben ist, wiederholt mit Aceton ausgekocht. Beim Erkalten schied sich die Substanz zumeist noch nicht rein genug aus, es war ihr gewöhnlich Fett beigemischt. Ein- oder zweimaliges Umkrystallisieren aus heißem Aceton genügte jedoch, um sie in homogenen Krystallen, frei von amorphen Beimengungen zu erhalten. Dann erst wurden sie genau so wie die Krystalle A zur Wägung gebracht. Im folgenden ist diese zweite Krystallisation als «Krystalle B» bezeichnet. Auch sie wurden für weitere Untersuchungen wie die Krystalle A gereinigt.

Alle bei der Abscheidung und beim Umkrystallisieren der Krystalle B resultierenden Mutterlaugen wurden gesammelt und gemessen. Berechnet man nun aus dem Volumen dieser Mutterlaugen und der oben angeführten Zahl für die Löslichkeit der Substanz, wieviel doppeltbrechende Substanz in diesen Mutterlaugen enthalten war, so begeht man sicher einen beträchtlichen Fehler. Doch ist es höchstwahrscheinlich, daß nicht weniger als die so berechnete Menge doppeltbrechender Substanz in den Mutterlaugen enthalten war. Unter dieser Voraussetzung ist auch im folgenden diese Menge in Rechnung gestellt worden, wie ja überhaupt von einer exakten quantitativen Bestimmung hier keine Rede sein konnte. Die so gewonnenen Zahlen sollten vielmehr nur einen Überblick über die Mengen doppeltbrechender Substanz geben, welche sich in den einzelnen Organen vorfinden.

Sowohl die Krystalle A als auch die Krystalle B erwiesen sich in allen Versuchen frei von Phosphor und Stickstoff.

Bevor in die Berichte über die Einzelversuche eingegangen wird, sei noch, um Wiederholungen zu vermeiden, ein für allemal die Methode beschrieben, welche immer zur Verseifung des Esters angewendet wurde.

Die doppeltbrechende Substanz wurde in Benzol gelöst, in die Lösung Natrium und allmählich in kleinen Portionen absoluter Alkohol eingetragen, bis das Natrium vollständig gelöst war. Nach 24stündigem Stehen wurde filtriert und die abgeschiedenen Seifen mit Benzol ausgewaschen. Filtrat und Waschflüssigkeit wurden vereinigt und wiederholt mit immer neuen Mengen Wassers ausgeschüttelt, so lange, bis die wässrige Flüssigkeit nicht mehr alkalisch reagierte. Das im Scheidetrichter abgetrennte Benzol wurde bei mäßiger Wärme verdunstet; der Rückstand, den es dabei hinterließ, ist im folgenden, wie es bei Untersuchungen fettartiger Substanzen üblich ist, als «unverseifbarer Rückstand» bezeichnet.

In den vereinigten wässrigen Flüssigkeiten wurden die mit Benzol gewaschenen Seifen aufgelöst und diese Lösung wiederholt mit immer neuen Portionen Benzol ausgeschüttelt. Dabei konnten schwer trennbare Emulsionen dadurch vermieden werden, daß die Seifenlösung vor dem Ausschütteln mäßig erwärmt wurde. Die vereinigten filtrierten Benzolportionen hinterließen beim Verdunsten immer nur einen sehr geringen Rückstand, welcher, wenn er überhaupt erwähnt wird, im folgenden als «Rückstand von der Benzolausschüttelung» bezeichnet ist.

Die wässrige, mit Benzol ausgeschüttelte Lösung der Seifen wurde heiß mit Salzsäure angesäuert, nach dem Erkalten die abgeschiedenen Fettsäuren auf einem Filter gesammelt, in warmer verdünnter Natronlauge gelöst und nochmals durch Salzsäure abgeschieden. Sie sind im folgenden als «Fettsäuren» beschrieben und zeigten jedesmal die für Fettsäuren charakteristischen Reaktionen; als nämlich eine kleine Probe dieser Säuren in verdünntem Ammoniak gelöst und der Überschuß des Ammoniaks auf dem Wasserbade vertrieben worden war, schied diese Lösung beim Hinzufügen von Chlorcalcium, von Chlorbaryum und von Magnesiumsulfat, wie die entsprechenden Lösungen von Fettsäuren, Niederschläge ab.

1. Ein Paar großer weißer Nieren.

Gewicht der Nieren	490 g
Krystalle A	0,2269 »
Krystalle B	0,2850 »
	<hr/>
	0,5119 g

in den Mutterlaugen (250 ccm) 0,48 »

Summe 0,99 g, entsprechend 0,20%.

Die Krystalle A schmolzen nach der Reinigung nicht ganz scharf bei 67—70° C. Die gereinigten Krystalle A und die gereinigten Krystalle B zusammen wurden dazu verwendet, um nach der Methode von Parker Mc. Jhiney¹⁾ zu bestimmen, wieviel Brom sie durch Addition aufnehmen können. 0,1633 g im Vakuum über Schwefelsäure und Paraffin getrockneter Substanz verbrauchten hierbei für addiertes Brom 2,0 ccm Thiosulfatlösung (1 ccm Thiosulfat = 0,09803 ccm Normal). Die einem Grammmolekül Ölsäurecholesterinester ($C_{45}H_{76}O_2$) entsprechende Menge doppeltbrechender Substanz, d. i. 648,608 g, würde demnach addiert haben 0,779 Gramm-Atome Brom.

2. Ein Paar großer weißer Nieren.

Gewicht der Nieren	570 g
Krystalle A	1,1567 »
Krystalle B	0,8501 »
	<hr/>
	2,0068 g

in den Mutterlaugen (428 ccm) 0,81 »

Summe 2,82 g, entsprechend 0,50%.

Die Krystalle A schmolzen nach der Reinigung scharf bei 60° C.

Bei der Bestimmung des addierten Broms verbrauchten 0,4408 g im Vakuum über Schwefelsäure und Paraffin getrockneter Substanz 4,6 ccm Thiosulfat (1 ccm Thiosulfat = 0,12470 ccm Normal); 648,608 g Substanz (entspr. $C_{45}H_{76}O_2$) würden demnach verbrauchen 0,840 Gramm-Atome Brom.

¹⁾ Siehe Hans Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen, Berlin 1903, S. 655.

Die Krystalle B schmolzen nach der Reinigung nicht scharf bei $47-52^{\circ}$ C.; sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand war zum größten Teile in den für Cholesterin charakteristischen Formen krystallisiert, zum geringen Teile bestand er aus einem hellgelben, fast farblosen, dickflüssigen Öle. Er zeigte sehr deutlich die Liebermannsche Cholestolreaktion und war bei 101° C. bereits vollkommen geschmolzen.

Die Fettsäuren wurden, wie in meiner ersten Mitteilung beschrieben ist, in die Bleisalze verwandelt, diese durch Extrahieren mit Äther in zwei Fraktionen getrennt und aus jeder Fraktion die Säuren wieder in Freiheit gesetzt. Die Säuren aus dem in Äther gelösten Bleisalz schmolzen bei 49° C. und addierten kein Brom. Die Säuren aus dem durch Äther nicht gelösten Bleisalz schmolzen bei 47° C. und addierten gleichfalls kein Brom.

3. Ein Paar großer weißer Nieren.

Gewicht der Nieren 205 g

Krystalle A 0,0468 »

Krystalle B 0,3002 »

0,3470 g

in den Mutterlaugen (298 ccm) 0,57 »

Summe 0,92 g, entsprechend 0,45%.

Die Krystalle A schmolzen nach der Reinigung scharf bei 52° C.; sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand bestand zum Teile aus farblosen Krystallen mit den für Cholesterin charakteristischen Formen, zum anderen Teile aus einem hellgelben dickflüssigen Öle. Er zeigte deutlich die Cholestolreaktion und war bei 35° C. schon vollständig geschmolzen. Bei einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol schieden sich farblose, tafelförmige Krystalle ab, welche bei 140° C. schmolzen und die Cholestolreaktion zeigten.

Der Rückstand von der Benzolausschüttlung war sehr gering, ölig und gab nicht die Cholestolreaktion.

Die Fettsäuren schmolzen bei 60° C. und addierten Brom.

Die Krystalle B schmolzen nach der Reinigung nicht ganz scharf bei 50—52° C.; auch sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand bestand aus gelblichen, langen Krystallnadeln und nur wenig gelbem Öl. Er zeigte die Cholestolreaktion und war bei 123° C. geschmolzen. Bei einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol wurden farblose, tafelförmige Krystalle erhalten, welche bei 147° C. schmolzen und deutliche Cholestolreaktion zeigten.

Der Rückstand von der Benzolausschüttlung war gering, ölig und zeigte keine deutliche Cholestolreaktion.

Die Fettsäuren schmolzen bei 48° C. und addierten nur wenig Brom.

4. Ein Paar großer weißer Nieren.

Gewicht der Nieren 300 g

Krystalle A 0,5118 »

Krystalle B 0,6023 »

1,1141 g

in den Mutterlaugen (384 ccm) 0,73 »

Summe 1,84 g, entsprechend 0,61%.

Die Krystalle A schmolzen nach der Reinigung scharf bei 52° C.; die gereinigten Krystalle wurden in zwei Hälften geteilt, in der einen Hälfte wurde die Menge Brom bestimmt, welche addiert wird, die andere Hälfte wurde verseift, wobei Verluste soweit als möglich vermieden wurden, und einerseits in den Fettsäuren, andererseits in dem mit dem Rückstande von der Benzolausschüttlung vereinigten unverseifbaren Rückstande wieder die Menge des addierten Broms bestimmt.

Die erste Hälfte, nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure und Paraffin 0,1431 g, verbrauchten für addiertes Brom 0,5 ccm Thiosulfat (1 ccm Thiosulfat = 0,12470 ccm Normal). 650,624 g Substanz (entspr. $C_{45}H_{78}O_2$) würden 0,270 Gramm-Atome Brom addieren.

Die zweite Hälfte der gereinigten Krystalle A, 0,2117 g, lieferten 0,1778 g Fettsäuren und 0,0185 g unverseifbaren Rückstand (samt Rückstand von der Benzolausschüttlung). Die Fettsäuren addierten überhaupt kein Brom. Die 0,0185 g

unverseifbarer Rückstand verbrauchten für addiertes Brom 0,45 ccm Thiosulfat (1 ccm Thiosulfat = 0,12470 ccm Normal). Auf 650,624 g unverseifte Substanz berechnet, würde diese Zahl 0,171 Gramm-Atome Brom entsprechen.

Die gereinigten Krystalle B schmolzen unscharf bei 45 bis 48° C.; sie wurden verseift. Der unverseifbare Rückstand war nur zum geringen Teile krystallisiert, der Hauptsache nach ölig; er zeigte die Cholestolreaktion und war bei 70° schon geschmolzen. Durch einmaliges Umkrystallisieren aus heißem Alkohol wurden Krystalle von den für Cholesterin charakteristischen Formen erhalten, welche bei 145° C. schmolzen und die Cholestolreaktion zeigten.

5. Ein Stückchen Mesenterium.

Dieses Objekt wurde mir, wie die beiden folgenden, von Herrn Professor Dr. F. Schlagenhauser, Prosektor des k. k. Kaiserin Elisabeth-Spitals in Wien, übergeben mit der Frage, ob daraus nicht dieselbe Substanz dargestellt werden könnte, wie aus der großen weißen Niere; bei der histologischen Untersuchung seien nämlich ähnliche doppeltbrechende Gebilde gefunden worden. Herr Professor Schlagenhauser teilt mir über die Herkunft dieses Objektes und die Resultate der histologischen Untersuchung folgendes mit:¹⁾

«Stück eines Dünndarmmesenteriums von einem 26 jährigen, an fibröser Aortitis gestorbenen Manne.

Dasselbe war stark verdickt, fühlte sich wie infiltriert an und zeigte eine eigentümlich weißgelbliche Verfärbung. Am Flächenschnitt sah man Flecken und breite Züge eines gelbweißen Gewebes, das sich deutlich vom Fettgewebe differenzierte.

Mikroskopisch (Gefrierschnitt) ist das Mesenterium von großen Mengen geblähter Zellen durchsetzt, in denen Tröpfchen angehäuft sind. Dieselben sind doppeltbrechend, färben sich mit Fettfarbstoffen, geben nur sekundäre Osmierung und sind anscheinend sehr schwer in Alkohol und Äther löslich. Doppeltbrechende Krystalle sieht man wenige und dann extracellulär.»

¹⁾ Die pathologisch-anatomische Untersuchung dieses und der beiden folgenden Objekte ist von Herrn Prof. Schlagenhauser ausführlich im Zentralblatt f. pathol. Anatomie, 1907, veröffentlicht worden.

Das Objekt wurde mir, wie die folgenden, in Alkohol übergeben, sein Gewicht war 2,6 g.

Krystalle A	0,0316 g
Krystalle B	0,0792 »
	0,1108 g
in den Mutterlaugen (107 ccm)	0,20 »
Summe	0,31 g, entsprechend 12 ⁰ / ₁₀₀ .

Die Krystalle A zeigten nach der Reinigung dasselbe Aussehen wie die doppeltbrechende Substanz der Nieren, sie schmolzen nicht ganz scharf bei 53—55° C. und ließen bei Anstellung der Cholestolreaktion das charakteristische Farbenspiel nur langsam eintreten; sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand war nur zum geringen Teile krystallisiert und bestand der Hauptsache nach aus einem farblosen, dickflüssigen Öle; er zeigte die Cholestolreaktion und war bei 60° C. vollkommen geschmolzen. Es gelang in diesem Falle nicht, durch einmaliges Umkrystallisieren aus heißem Alkohol reine Cholesterinkrystalle zu erhalten; den Krystallen, welche sich beim Erkalten des Alkohols abschieden und die für Cholesterin charakteristischen Formen zeigten, war vielmehr etwas von dem farblosen Öle beigemischt. Für eine weitere Reinigung war die Menge der abgeschiedenen Krystalle zu gering. Auch die Menge der Fettsäuren reichte, nachdem die den Fettsäuren zukommenden Reaktionen angestellt worden waren, zu weiteren Versuchen nicht mehr aus.

Die Krystalle B zeigten nach der Reinigung dasselbe Aussehen und dasselbe Verhalten bei der Cholestolreaktion, wie die Krystalle aus den Nieren und schmolzen nicht ganz scharf bei 45—47° C.; auch sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand bestand wieder zum geringeren Teile aus Krystallen, zum größeren aus dem farblosen Öle; er zeigte die Cholestolreaktion und war bei 101° C. geschmolzen. Auch hier schied sich bei einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol nebst Krystallen in den für Cholesterin charakteristischen Formen auch etwas von dem farblosen Öle aus. Die von dem Öle, so gut es ging, abgepreßten Krystalle schmolzen bei 124° C.

6. Ein Stückchen Mesenterium.

Herr Professor Schlagenhauser teilt mir über dieses Objekt folgendes mit:

«Dünndarmmesenterium eines 72-jährigen, an einem in das Duodenum eingebrochenen Gallenblasencarcinom gestorbenen Mannes.

Makroskopisch und mikroskopisch gleiche Verhältnisse wie bei 5.»

Auch dieses Objekt wurde mir in Alkohol übergeben, sein Gewicht betrug 73,1 g.

	Krystalle A	0,3446 g
	Krystalle B	0,1549 »
		0,4995 g
in den Mutterlaugen (335 ccm)		0,64 »
	Summe	1,14 g, entsprechend 1,6%.

Die Krystalle A zeigten wieder dasselbe Aussehen und dasselbe Verhalten bei der Cholestolreaktion wie die Krystalle aus Nieren und schmolzen nach der Reinigung scharf bei 41° C.; sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand bestand zum größeren Teile aus Krystallen, zum geringeren aus dem farblosen, dickflüssigen Öle, er zeigte die Cholestolreaktion und war bei 111° C. geschmolzen. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Alkohol wurden Krystalle von den charakteristischen Formen des Cholesterins erhalten, welche bei 145° C. schmolzen.

Die Fettsäuren addierten etwas Brom und schmolzen bei 45° C.

0,1626 g dieser Fettsäuren, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, wurden in Alkohol gelöst, die Lösung mit ein wenig Phenolphthalein versetzt und mit Natronlauge titriert; hierzu waren 6,4 ccm Lauge (1 ccm Lauge = 0,09330 ccm Normal) erforderlich. Daraus berechnet sich das

gefundene Äquivalentgewicht:	272
Berechnet für $C_{16}H_{32}O_2$:	256,256
» » » $C_{18}H_{36}O_2$:	284,288

Die neutralisierte Flüssigkeit wurde nun mit einem Tröpfchen Essigsäure wieder angesäuert, mit Chlorbaryum ausgefällt, der abgesetzte Niederschlag auf einem Filter gesammelt und mit Wasser und, um das Phenolphthalein zu entfernen, mit Alkohol ausgewaschen. 0,1300 g des ausgewaschenen und bei 110° C. getrockneten Niederschlages ergaben nach dem Abrauchen mit Schwefelsäure 0,0446 g Baryumsulfat.

Gefunden: 20,2% Ba

Berechnet für $(C_{16}H_{31}O_2)_2Ba$: 21,21% »

» » $(C_{18}H_{35}O_2)_2Ba$: 19,52% »

Die Krystalle B sahen ebenso aus, wie die Krystalle aus den Nieren, auch sie gaben die Cholestolreaktion nur langsam, jedoch auffallend schwach. In gereinigtem Zustande schmolzen sie etwas unscharf bei 67—69° C.; sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand wurde durch ein farbloses, dickflüssiges Öl gebildet, in welchem sich nur wenige farblose, tafelförmige Krystalle fanden. Er zeigte nur schwache Cholestolreaktion und war bei 50° C. schon geschmolzen. Beim Umkrystallisieren aus heißem Alkohol wurden keine Krystalle mehr erhalten.

Der Rückstand von der Benzolausschüttlung war sehr gering, er war nur zum Teile krystallinisch und zeigte nur undeutliche Cholestolreaktion.

Die Fettsäuren schmolzen bei 51° C. und addierten kein Brom.

7. Ein Stückchen Granulationsgewebe.

Über dieses dritte Objekt, das ich von Herrn Professor Schlagenhauer erhielt, teilt er mir folgendes mit:

Granulationsgewebe von einem 45jährigen Manne, der an einer Staphylomykose gestorben war, wobei sich eigentümliche aktinomykoseähnliche Abszesse in den Nieren und im perirenaln Bindegebebe fanden.

In den Nierenabszessen, wie in dem lichtgelb gefärbten, perirenaln Granulationsgewebe reichliche Mengen, zum Teil intracellulär, zum Teil extracellulär gelegener, doppeltbrechender Substanz, von gleichem mikrochemischem Verhalten wie bei 5. und 6.»

Dieses, mir in Alkohol übergebene Objekt wog 13,5 g.

Krystalle A 0,4624 g

Krystalle B — „

0,4624 g

in den Mutterlaugen (198 cem) 0,38 „

Summe 0,84 g, entsprechend 6,2%.

Die Krystalle A zeigten dasselbe Aussehen und dasselbe Verhalten bei der Cholestolreaktion; nach der Reinigung schmolzen sie nicht ganz scharf bei 37—39° C.; sie wurden verseift.

Der unverseifbare Rückstand bestand zum weitaus größten Teile aus dem farblosen dickflüssigen Öle, nur zum geringeren aus Krystallen, er zeigte deutliche Cholestolreaktion. Beim Umkrystallisieren aus heißem Alkohol wurden nur einige wenige Krystalle von den charakteristischen Formen des Cholesterins erhalten, welche die Cholestolreaktion zeigten; für die Schmelzpunktbestimmung reichte dann ihre Menge nicht mehr aus.

Die Fettsäuren schmolzen bei 48° C. und addierten kein Brom.

Als die Mutterlaugen in der angedeuteten Weise verarbeitet wurden, um die Krystalle B zu gewinnen, schied sich zunächst beim Erkalten der mit heißem Aceton bereiteten Auszüge nur ein Öl aus; dieses wurde nochmals in heißem Aceton gelöst, als aber die Lösung im Eiskasten erkaltet war, blieb sie vollkommen klar. Aus diesem Grunde hat auch, da keine Garantie geboten ist, daß die Mutterlaugen mit doppeltbrechender Substanz gesättigt waren, die Berechnung der Menge der gelöst gebliebenen Substanz noch weniger Anspruch auf Richtigkeit als in den vorher beschriebenen Fällen.

8. Die Intima zweier atheromatöser Aorten.

Von pathologischen Anatomen auf die den atheromatösen Herden eigentümliche, noch rätselhafte Substanz aufmerksam gemacht, habe ich untersucht, ob nicht auch bei der atheromatösen Erkrankung die doppeltbrechende Substanz eine Rolle spiele. Von zwei hochgradig erkrankten Aorten, bei denen eine nennenswerte Verkalkung noch nicht eingetreten war,

wurde die Intima sorgfältig abpräpariert und in der beschriebenen Weise auf doppelbrechende Substanz verarbeitet. Sowohl die ersten Acetonauszüge, als auch die bei Aufarbeitung der Mutterlaugen gewonnenen blieben beim Erkalten vollkommen klar; nennenswerte Mengen doppelbrechender Substanz waren also in diesen Objekten nicht enthalten.

Sollen nun aus den Ergebnissen der beschriebenen Versuche Schlußfolgerungen gezogen werden, so liegt eine Schwierigkeit darin, daß die Beobachtungen an Präparaten erhoben wurden, die verschiedener Herkunft und wenn auch sehr ähnlich, doch verschieden in ihren Eigenschaften waren.

Allen Präparaten war eigentümlich die einheitliche Kristallform, das Verhalten gegen Lösungsmittel, die langsam eintretende Cholestolreaktion und, soweit dies konstatiert wurde, bei der Spaltung mit Natriumäthylat als integrierende Spaltungsprodukte Cholesterin und Säuren von den Eigenschaften der Fettsäuren.

Die Verschiedenheit der Präparate liegt¹ zunächst im Schmelzpunkte. Wenn auch bei den einzelnen Präparaten durch fortgesetztes Umkrystallisieren ein konstanter, meist scharfer Schmelzpunkt erzielt werden konnte, so beweist doch schon die Verschiedenheit der konstanten Schmelzpunkte der einzelnen Präparate, daß sie nicht aus einer einheitlichen chemischen Verbindung bestehen, trotz vieler Tatsachen, die dafür sprechen würden, sondern aus einem Gemenge; noch mehr geht dies aus den Abweichungen hervor, welche die bei der Verseifung entstehenden Spaltungsprodukte aufweisen.

Berücksichtigt man, daß die angedeuteten Unterschiede auch bei den Präparaten aus Nieren sich vorfinden, so kann man wohl aussagen, daß die aus den beiden erkrankten Mesenterien, sowie aus dem Granulationsgewebe dargestellten Substanzen im wesentlichen dasselbe sind, wie die aus den Nieren gewonnenen. Solche Objekte können daher ganz gut zum Studium der chemischen Eigenschaften dieser doppelbrechenden Substanz mit herangezogen werden.

Die Versuche, welche angestellt wurden, um eine Orientierung über die Menge der doppeltbrechenden Substanz in erkrankten Organen zu gewinnen, ergaben, daß diese Mengen, wenn auch sehr verschieden, doch immerhin recht beträchtlich sein können.

Die Untersuchung der bei der Verseifung entstehenden Produkte hat auch gegenüber meiner ersten Mitteilung manch neue Resultate zutage gefördert.

Zunächst wurde die Tatsache festgestellt, daß an dem Aufbau des Estergemenges nicht eine Säure, sondern deren mehrere beteiligt sind. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man schließt, daß die Hauptmenge dieser Säuren aus Stearinsäure und Palmitinsäure besteht; dafür spricht das Verhalten des Säuregemenges gegen Lösungs- und Fällungsmittel, das Aussehen, der Schmelzpunkt und in einem Falle die Bestimmung des Äquivalentgewichtes. In einigen, aber nicht in allen Fällen, war, wie das Verhalten gegen Brom beweist, eine ungesättigte Säure vorhanden, also wohl wahrscheinlich Ölsäure.

Unter den dem Estergemenge zugrundeliegenden Alkoholen spielt jedenfalls das Cholesterin eine große Rolle. Das Cholesterin konnte aus fast allen Präparaten, welche daraufhin untersucht wurden, rein, mit allen charakteristischen Eigenschaften erhalten werden. Es ist aber nicht der einzige Alkohol, und ich glaube in dem oft farblosen Öle, das im unverseifbaren Rückstand neben den Cholesterinkrystallen enthalten war, die übrigen suchen zu müssen. Über die Mengen des Cholesterins geben die Versuche, welche nach der Methode von Parker Mc. Ihiney durchgeführt wurden, einigen Aufschluß.

Zur Frage, wieweit man die dort erhaltenen Zahlen auf Cholesteringehalt beziehen darf, seien zwei Versuche beigebracht. Der eine wurde mit reinem Cholesterin im hiesigen Laboratorium von D. V. Mucha durchgeführt, der mir seine Resultate zur Verfügung stellte. Den anderen habe ich mit dem in meiner ersten Mitteilung beschriebenen Elaidinsäurecholesterinester angestellt.

0,1831 g Cholesterin verbrauchten für addiertes Brom 7,7 ccm Thiosulfat (1 ccm Thiosulfat = 0,12470 ccm Normal).

Durch ein Grammolekül Cholesterin ($C_{27}H_{44}O$) = 384,352 g wurden demnach 2,006 Gramm-Atome Brom addiert.

0,1858 g Elaidinsäurecholesterinester verbrauchten für addiertes Brom 8,4 ccm derselben Thiosulfatlösung; ein Grammolekül des Esters ($C_{45}H_{76}O_2$) = 648,608 g addierte demnach 3,64 Gramm-Atome Brom.

Lieferte das Cholesterin einen mit der Theorie tadellos stimmenden Wert, so läßt die Übereinstimmung bei dem Ester des Cholesterins mit der ungesättigten Säure einiges zu wünschen übrig, und dieser Versuch mahnt zur Vorsicht, wenn aus den bei doppeltbrechender Substanz gefundenen Zahlen auf die darin enthaltene Cholesterinmenge geschlossen werden soll. Das eine jedoch geht mit Sicherheit aus diesen Zahlen hervor, daß das Cholesterin nicht den einzigen Alkohol des Estergemenges bildet; denn selbst wenn man die Ölsäure vernachlässigt und annimmt, daß außer dem Cholesterin kein ungesättigter Alkohol mehr vorhanden ist, so ist immer noch bedeutend weniger Brom addiert worden als zwei Atome auf ein Molekül Ester.

Noch sicherer ist dies aus dem einen Versuch zu sehen, in welchem im unverseifbaren Rückstande die Menge des addierten Broms bestimmt wurde. Ich unterlasse es absichtlich, aus diesem einen Versuch weitere Schlüsse zu ziehen, da ein Versuch zur Beweisführung nicht genügt; seine Resultate aber sollen mir die Wege zur Fortsetzung der Untersuchungen weisen.