IV. Aus dem städtischen Krankenhause Gitschiner-
strasse 104/5 in Berlin.

(Dirigirender Arzt: Prof. Dr. M. Litten.)

Die indifferenten Farbstoffe als Fettfarbstoffe.¹⁾

Von Dr. **Leonor Michaelis**, Assistenzarzt.

Nach den ersten grundlegenden Untersuchungen von Ehrlich über den Zusammenhang zwischen Constitution und histologisch-färberischen Eigenschaften, denen mehrere Untersuchungen

¹⁾ Im Anschluss an eine Demonstration im Verein für innere Medizin am 7. Januar 1901.

von Unna folgten, ist die Erforschung dieses Gebietes nur wenig gefördert worden. Der erste Grundsatz, den Ehrlich aufstellte, war der, dass die basischen Farbstoffe im allgemeinen die Kerne, die sauren Farbstoffe die protoplasmatischen Substanzen bevorzugen. In neuester Zeit hat Pappenheim sehr ausgedehnte Untersuchungen über diesen Gegenstand veröffentlicht. Seine ausserordentlich gründlichen und in vieler Beziehung erfolgreichen Studien, welche er in dem Buch: „Grundriss der Farbbehemie“ (1901) zusammengefasst hat, gehen jedoch von einigen Voraussetzungen von dem Wesen des Färbeprozesses aus, welchen ich nicht ganz zustimmen kann. Indem ich mir vorbehalte, über diesen Gegenstand ausführlich zu berichten, will ich jetzt die Ergebnisse einiger Untersuchungen mittheilen, von denen ich hoffe, dass sie einiges Interesse erwecken werden; nicht so sehr, weil es sich um einen sehr wichtigen Gegenstand handelte, als vielmehr in der Absicht, zu zeigen, wie exakt man mitunter den Zusammenhang zwischen Constitution und färberischen Eigenschaften eines Farbstoffes constatiren kann.

Jedem Farbstoffmolekül liegt ein Kern zu Grunde, welcher gefärbt ist, aber noch nicht die Fähigkeit hat, ein Gewebe anzufärben. Solche Körper nennt man Chromogene. So z. B. liegt den Azofarbstoffen das Chromogen Azobenzol, $C_6H_5 \cdot N=N \cdot C_6H_5$ zu Grunde. Dies ist ein Körper von indifferenten Eigenschaften. Nur gegen concentrirte H_2SO_4 zeigt er in Folge seiner N-Atome basische Eigenschaften; sonst ist er durchaus indifferent, weder basisch noch sauer. Aus diesem Chromogen entsteht nun durch das Hinzutreten einer elektropositiven Gruppe (NH_2 , $NH \cdot CH_3$, $N(CH_3)_2$ und $N(CH_3)_3OH$) ein basischer Farbstoff, durch das Hinzutreten einer elektronegativen Gruppe (OH , $COOH$, SO_3H) ein saurer Farbstoff. Ein Salz, dessen saurer Antheil eine Farbsäure und dessen basischer Antheil eine Farbbase ist, nennt man nach Ehrlich einen neutralen Farbstoff.

Ich wollte nun hiermit die Aufmerksamkeit auf eine andere Klasse von Farbstoffen lenken, welche als eine besondere Klasse bisher noch nicht zusammengefasst worden sind. Aus dem Azobenzol kann nämlich auch durch Hinzutreten einer indifferenten Gruppe ein Farbstoff entstehen. Diese will ich als indifferente Farbstoffe zusammenfassen. Sie können auf verschiedene Weise entstehen:

1. Wenn ein Oxyazokörper in der Hydroxylgruppe ätherifizirt wird. So entsteht z. B. aus Oxyazobenzol dadurch, dass das H der OH-Gruppe durch C_2H_5 ersetzt wird, ein indifferenter Farbstoff. Diesen stellte ich mir dar, indem ich Diazobenzol mit Phenetol ($C_6H_5 \cdot O \cdot C_2H_5$) in alkalisch-alkoholischer Lösung zusammenbrachte und nach einiger Zeit durch Zusatz von Wasser den Farbstoff abschied.

2. Diejenigen Oxyazokörper, welche die OH-Gruppe in Orthostellung zur Azogruppe enthalten, sind indifferente Farbstoffe. Das kommt daher, dass ihnen eigentlich eine andere Constitutionsformel zukommt, als man sie gewöhnlich schreibt. Wenn man z. B. Diazobenzol und Parakresol in alkalischer Lösung zusammenbringt, so sollte man zunächst annehmen, dass folgender Farbstoff entstünde:

Dieser Körper lagert sich aber sofort, und zwar in wässriger Lösung quantitativ, zu folgendem Körper um:

Wie man sieht, enthält diese Formel nicht mehr die elektro-negative Gruppe —OH, sondern das indifferente =O.

Solche Orthoazokörper entstehen aus Diazobenzol und solchen Phenolen, deren Parastelle besetzt ist, also z. B. Parakresol, oder β -Naphthol,

nicht aber α -Naphthol oder Orthokresol.

Der Grund, weshalb ich die indifferenten Farbstoffe als be-

sondere Gruppe herausgreife, ist der, dass ich beobachtet habe, dass dieser Klasse eine besondere histologisch-färberische Eigenthümlichkeit zukommt: es sind nämlich durchweg, und zwar nur sie, Fettfarbstoffe.

Damit ein Farbstoff im histologischen Sinne Fett färbt, genügt es nicht, dass er in Fetten löslich ist; im allgemeinen kann man zwar Fette und Oele dadurch färben, dass man irgend welche in Fett löslichen Farbsäuren oder Farbbasen in dem (nöthigenfalls geschmolzenen) Fett auflöst. Wenn das Fett dann wieder erstarrt, hält es den Farbstoff in „starrer Lösung“ fest. In der Histologie sind dagegen nur diejenigen Farbstoffe zur Färbung des Fettes geeignet, welche eine so grosse „Lösungsaffinität“ zum Fett haben, dass sie aus (70 %) alkoholischer Lösung spontan in das Fett hineindiffundiren. Diese Eigenschaft haben nach meinen Erfahrungen eben die indifferenten Farbstoffe.

Als brauchbarsten Repräsentanten dieser Farbstoffgruppe schlage ich gegenüber dem bisher gebrauchten Sudan III (Benzolazobenzolazo β -naphthol) wegen seiner gesättigteren Nuance das Scharlach R (Fettponceau), Toluolazotoluolazo β -naphthol¹⁾, vor. Es färbt jedes Fett (im Gegensatz zur Osmiumsäure) und nur Fett (ebenfalls im Gegensatz zur Osmiumsäure). Auch Markscheiden, intakte, wie frisch zerfallene, und das Lipochrom der Ganglienzelle wird gefärbt. Wie Benda²⁾ gezeigt hat, erhält man eine prachtvolle, äusserst contrastreiche Färbung, wenn man in einem Gefrierschnitt (nach Formalinfixation) die intakten Markscheiden, z. B. nach Weigert, vorfärbt und mit Scharlach R die Degenerationsprodukte der Markscheiden nachfärbt. Der Einschluss dieser Präparate erfolgt bei weitem am besten in dickem Lävulosesyrup. Cholesterinkrystalle werden nicht gefärbt.

Zur Färbung eignet sich am besten eine gesättigte Lösung des Farbstoffs in 70 % igem Alkohol.³⁾

Den Gang der chemischen Untersuchungen, welche mich zu diesen Ergebnissen führten, werde ich demnächst in Virchow's Archiv veröffentlichen.