III.

223. Über die Beziehungen des Hyaloidins zu der Bildung der Chondroitinschwefelsäure, des Collagens und des Amyloids im Organismus.

Von

O. Schmiedeberg.

1. Über die Bestandteile und die Zusammensetzung der Chondroitinschwefelsäure.

Zu der gleichen Gruppe von stickstoffhaltigen Kohlenhydrat-abkömmlingen, wie das in der ersten der vorstehenden Abhandlungen beschriebene Hyaloidin, gehört auch die Chondroitinschwefelsäure. Es lag daher nahe, zu untersuchen, ob diese Säure im Organismus aus dem Hyaloidin entstehen kann. Dabei kommt es vor allem darauf an, die Zusammensetzung der Chondroitinschwefelsäure und ihrer Spaltungsprodukte kennen zu lernen, um zunächst wenigstens die Möglichkeit einer solchen Abstammung beurteilen zu können.

Bei meinen Untersuchungen über diese Säure¹⁾ war ich zu dem Resultat gelangt, daß sie aus Glykosamin, Glykuronsäure, Essigsäure und Schwefelsäure zusammengesetzt ist, und suchte durch eine Strukturformel zu veranschaulichen, wie ich mir die Verbindung dieser Komponenten untereinander dachte. Gegen meine Angaben sind von verschiedenen Seiten mancherlei Einwände erhoben worden, die sich teils auf die Frage des Vorhandenseins dieser Komponenten und teils auf die Zulässigkeit der von mir aufgestellten Strukturformel bezogen. Von diesen Einwänden haben die, welche das Glykosamin und die Glykuronsäure als Komponenten nicht anerkennen wollten, sich bereits als unzutreffend erwiesen. Levene und La Forge

1) Archiv für experim. Pathol. u. Pharm. 1891, Bd. 28, S. 355.

aber suchen in fünf Abhandlungen darzutun¹⁾, daß die Chondroitinschwefelsäure einen Aufbau habe, der ganz verschieden von dem von mir angenommenen ist.

Ich beabsichtigte, eine eingehendere Untersuchung der Chondroitinschwefelsäure und ihrer Abkömmlinge auszuführen, um die vorliegenden tatsächlichen Angaben über diese Substanzen zu prüfen und hatte mir dazu bereits die nötigen Präparate der Chondroitinschwefelsäure und ihrer Baryumsalze mit möglichster Sorgfalt dargestellt, als meine Tätigkeit im Laboratorium unterbrochen wurde. Jetzt muß ich mich bei der Erörterung der angedeuteten Fragen hauptsächlich auf das in der Literatur vorhandene Material beschränken.

Levene und La Forge stellen auf Grund ihrer experimentellen Ergebnisse für die Chondroitinschwefelsäure die folgende Strukturformel auf:

Nach dieser Formel wäre die Chondroitinschwefelsäure eine gepaarte Glykuronsäure, und dementsprechend auch das Chondroitin

1) Levene und La Forge, On chondroitin sulfuric acid. The Journ. of Biological Chemistry. 1. Abhandlung, vol. 15, p. 69; 2. Abhandlung, vol. 15, p. 155, 1913; 3. Abhandlung, vol. 18, p. 123, 1914; 4. Abhandlung, vol. 20, p. 433, 1915; 5. Abhandlung, On chondrosamin. Proceeding of National Academy of Sciences of the U. S. of America 1915, vol. I, p. 190.

und das Chondrosin. Das ist aber völlig ausgeschlossen. Von den Autoren, welche von dem, was ich über diese Verbindungen ermitteln konnte, so gut wie nichts übrig lassen wollten, hat meines Wissens keiner behauptet, daß die Chondroitinschwefelsäure und ihre genannten Abkömmlinge gepaarte Glykuronsäuren seien. Levene und La Forge sind zu dieser Formel gekommen; weil ihre Versuche ergeben haben sollen, daß das Chondrosin eine freie Aminogruppe enthalte, die dadurch entstanden sei, daß bei seiner Darstellung durch Erhitzen mit Salzsäure das Acetyl von dem Stickstoff als Essigsäure abgespalten wurde. Sie stellten chondroitinschwefelsaures Baryum dar, erhitzen dieses für die Darstellung des Chondrosins 1 Stunde lang auf dem Wasserbade mit einem Gemisch aus gleichen Teilen konzentrierter Salzsäure und Wasser, dampften das Fitrat im Vakuum zum dicken Sirup ein, fällten die Substanz mit Alkohol aus und reinigten sie durch Umfällen mit Alkohol aus der Lösung in Wasser. Sie hielten diese Substanz für salzsaures Chondrosin. Es gab bei der Behandlung mit salpetriger Säure 3,67% »Aminostickstoff«. Levene und La Forge haben sich auf diesen einen Versuch beschränkt und die Substanz überhaupt nicht weiter untersucht.

Es fragt sich nun, ob sie es in der Tat mit reinem Chondrosin zu tun hatten. Wenn die von ihnen angenommene Strukturformel richtig wäre, so müßte beim Erhitzen auf dem Wasserbade mit der verhältnismäßig starken Salzsäure und durch die sich beim Eindampfen im Vakuum konzentrierende Säure auch eine Spaltung zwischen der Glykuronsäure- und der Hexosamingruppe eingetreten sein, wie unter solchen Umständen bei anderen gepaarten Glykuronsäuren zwischen ihren Komponenten. Daraus folgt, daß die Formel von Levene und La Forge nicht richtig sein kann, daß vielmehr die Glykuronsäure am Stickstoff gebunden ist, wie ich es in meiner angeführten Abhandlung angenommen habe. Wenn das aber zutreffend ist, so kann bei der Spaltung der Chondroitinschwefelsäure kein Chondrosin entstehen, welches eine freie Aminogruppe hat. Es bleibt nichts übrig, als anzunehmen, daß in ihrem Versuch die Einwirkung der Salzsäure weiter als zur Bildung von Chondrosin gegangen ist und daß dabei Hexosamin abgespalten wurde, aus welchem dann die salpetrige Säure den Aminostickstoff frei machte. Ich halte daher auch jetzt meine ursprüngliche Auffassung für zutreffend, daß die Glykuronsäure am Stickstoff gebunden ist, und zwar in derselben Weise, wie ich sie in der angeführten Abhandlung für das Hyaloidin zu begründen gesucht habe.

Levene und La Forge begründen die in ihrer Formel zum Ausdruck kommende Annahme, daß in der Chondroitinschwefelsäure auf ein Atom N nicht drei Acetylgruppen enthalten seien, wie ich angenommen habe, sondern nur die eine mit dem Stickstoff verbundene, durch folgende Versuchsergebnisse. Sie fanden bei der Analyse eines Baryumsalzes der Chondroitinschwefelsäure 26,18% C, 4,45% H, 2,18% N, also das Atomverhältnis N:C = 1:14. Von einem anderen Baryumsalz dieser Säure gaben 2,5 g 0,1036 g N und die gleiche Menge von 2,5 g im Mittel von drei Bestimmungen 0,459 g Essigsäure. Die Resultate dieser Versuche entsprechen einem Verhältnis von 1 Mol. Essigsäure zu 1 Atom N und 14 Atome C.

Man kann zugestehen, daß das von ihnen dargestellte chondroitinschwefelsaure Baryum, dem, wie sie angeben, auch Chondroitin beigemengt war, in der Tat auf ein Atom Stickstoff nur ein Mol. Essigsäure enthalten hat. Aber eine nähere Betrachtung der bekannten Analysenwerte der Chondroitinschwefelsäure und des Chondroitins zeigt, daß das Atomverhältnis N:C ein sehr verschiedenes ist.

Es geben die mir bekannten Analysenzahlen für die Chondroitinschwefelsäure (Nr. 1—5) und für das Chondroitin (Nr. 6) folgende Atomverhältnisse:

$$\begin{array}{l} 1. \text{ N:C} \\ \left. \begin{array}{l} 1:12,3^1) \\ 1:13,0^2) \end{array} \right\} = 1:12,5 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 2. \text{ N:C} \\ \left. \begin{array}{l} 1:14,1^3) \\ 1:14,3^1) \end{array} \right\} = 1:14 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 3. \text{ N:C} \\ \left. \begin{array}{l} 1:15,1^1) \\ 1:15,5^1) \\ 1:15,5^4) \end{array} \right\} = 1:15 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 4. \text{ N:C} \\ \left. \begin{array}{l} 1:16,0^4) \\ 1:16,3^1) \end{array} \right\} = 1:16 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 5. \text{ N:C} \\ \left. \begin{array}{l} 1:17,0^4) \\ 1:17,3^4) \end{array} \right\} = 1:17 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} 6. \text{ N:C} \\ \left. \begin{array}{l} 1:17,6^4) \\ 1:17,7^4) \end{array} \right\} = 1:17,65 = 1:18 \end{array}$$

Es ist nicht anzunehmen, daß diese bei den Untersuchungen aller Experimentatoren sich wiederholenden Verschiedenheiten in dem Atomverhältnis zwischen Stickstoff und Kohlenstoff auf Analysenfehler und Verunreinigungen der Präparate beruhen.

Das von mir beim Chondroitin gefundene, nach oben abgerundete Atomverhältnis N:C = 1:18 hatte mich veranlaßt, für diese Substanz

1) Kondo, Zur Kenntnis der Chondroitinschwefelsäure. Biochem. Zeitschr. 1910, Bd. 26, S. 116.

2) Mörner, nach Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper, 1911, 3. Aufl., S. 372.

3) Levene und La Forge, a. a. O. oben S. 2, 2. Abhandl.

4) Schmiedeberg, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 1891, Bd. 28, S. 355.

und die Chondroitinschwefelsäure auf 1 Atom Stickstoff 3 Acetylene anzunehmen. Für meine und andere Präparate, in denen die Anzahl der Kohlenstoffatome unter 18 blieb, konnte eine teilweise Abspaltung von Essigsäure geltend gemacht werden. Alle meine Präparate waren ohne jedes Erhitzen bei gewöhnlicher Temperatur dargestellt und dennoch betrug dieses Verhältnis in anderen meiner Präparate nur 1:15,5—16.

Deshalb konnte man annehmen, daß bei der Darstellung der Chondroitinschwefelsäure oder ihrer Salze unter Erhitzen eine noch größere Abnahme der Anzahl der Kohlenstoffatome in dem Verhältnis N:C für eine noch stärkere Abspaltung von Essigsäure sprach.

Levene und La Forge zogen den Knorpel mit 2%igem Kali aus, neutralisierten den Auszug mit Essigsäure und dampften ihn dann nach Zusatz von einem Überschuß von Baryumkarbonat auf dem Wasserbade ein. Da die Flüssigkeit beim Eindampfen alkalisch war, so konnte dabei leicht eine Verseifung eintreten.

Kondo neutralisierte den alkalischen Auszug des Knorpels ebenfalls mit Essigsäure, kochte ihn dann mit überschüssigem Baryumkarbonat auf, brachte das Filtrat, das also alkalisch war, nach Zusatz von ein wenig Baryumkarbonat auf dem Wasserbade zur Trockne, kochte den Rückstand mit Wasser aus und fällte das chondroitinschwefelsaure Baryum mit Alkohol.

Zur Erklärung der großen Schwankungen des Atomverhältnisses N:C der Chondroitinschwefelsäure läßt sich zunächst die Annahme einer Abspaltung von Essigsäure nicht umgehen. Die Frage aber, ob dabei nur ein acetylärmeres, aber einheitliches Produkt gebildet wird, oder ob ein Gemenge mit verschiedenem Acetylgehalt entsteht, kann ohne die Kenntnis des letzteren nicht erörtert werden. Deshalb kam es darauf an, zu prüfen, ob die Chondroitinschwefelsäure nach den Angaben von Levene und La Forge auf 1 Atom Stickstoff nur 1 Mol. Acetyl enthält oder, wie ich es angenommen habe, 3 Acetylene.

Da ich nicht mehr in der Lage war, die Bestimmungen selbst auszuführen, so hatte Herr Privatdozent Dr. Hermann Wieland die Freundlichkeit, an einem Präparat die Essigsäure und an einem anderen die Essigsäure und den Stickstoff zu bestimmen. Das letztere Präparat bestand aus freier Chondroitinschwefelsäure von den oben S. 48 erwähnten Präparaten. Sie war nur durch Stehen über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet und gab bei der Bestimmung 2,11% Stickstoff und 8,33% Essigsäure, also auf 1 Atom des ersteren 0,92 Atome der letzteren. Das zweite Präparat war die

von mir früher analysierte Kaliumverbindung eines Gemenges von Chondroitinschwefelsäure und Chondroitin¹⁾. Sie enthielt 2,15 % Stickstoff und gab 6,57 % Essigsäure, so daß von der letzteren nur 0,72 Mol. auf 1 Atom Stickstoff kommen.

Die Ergebnisse dieser Bestimmungen bestätigen die Annahme von Levene und La Forge, daß die Chondroitinschwefelsäure auf 1 Atom Stickstoff nur 1 Atom Acetyl enthält.

Es fragte sich nun, wie die von mir bei meinen früheren Untersuchungen gefundenen Analysenwerte mit diesem Acetylgehalt in Einklang zu bringen sind. Die beste Übereinstimmung der Analysenzahlen mit einer Formel ergibt sich, wenn man annimmt, daß die Chondroitinschwefelsäure und das Chondroitin nicht bloß aus 2 Mol. Glykosamin, 2 Mol. Glykuronsäure und 2 Mol. Essigsäure gebildet sind, sondern neben diesen Gruppen noch eine dritte stickstofffreie Atomgruppe, wahrscheinlich ebenfalls ein Kohlenhydrat, enthalten, das aber nicht Glykuronsäure, sondern eine Hexose ist. Die nachstehende Zusammenstellung veranschaulicht die Bildung der Chondroitinformel aus diesen Bestandteilen:

	Berechnet	Gefunden
C	44,32	44,25
H	5,70	5,86
N	3,04	2,94

Die gefundenen Zahlen bestehen aus dem Mittel der bei meinen früheren Analysen von drei Präparaten von freiem Chondroitin und einer Baryumverbindung erhaltenen Werte; von der letzteren nach Abzug des Baryums und Berechnung auf 100 Teile Substanz.

Die vorstehende Formel enthält 1 Mol. Wasser weniger, als das aus jenen Bestandteilen regelrecht gebildete Chondroitin haben würde, wenn es beim Trocknen noch kein Wasser aus seinem Molekül verloren hätte. Die eigentliche Formel des Chondroitins ist daher:

1) a. a. O. S. 371.

Durch Verbindung mit 2 Mol. Schwefelsäure unter Austritt von 2 Mol. Wasser entsteht aus diesem Chondroitin die Chondroitinschwefelsäure mit 2 Mol. Acetyl auf 2 Atome Stickstoff.

Die Mittelzahlen aus meinen früheren Analysen von 4 Präparaten der Kupferverbindung der Chondroitinschwefelsäure und einem Präparat der Kaliumverbindung eines Gemenges von Chondroitinschwefelsäure und Chondroitin stimmen nach Abzug des Kupfers und des Kaliums vollkommen zu der neuen Formel dieser Säure. Bei zwei anderen Präparaten solcher chondroitinhaltiger Kaliumverbindungen sind die Analysenergebnisse nicht für alle Bestandteile zuverlässig. Doch ist bei dem einen das Atomverhältnis $N : C = 1 : 17,0$, also genau das geforderte. Für das andere Präparat fehlt die Stickstoffbestimmung. Da bei den chondroitinhaltigen Präparaten der Schwefelgehalt niedriger ist als in der Chondroitinschwefelsäure, so ist er in dem Mittel der nachstehenden gefundenen Zahlen nicht einberechnet.

Nach den Analysenzahlen hat die Chondroitinschwefelsäure von der geforderten Zusammensetzung die folgende Formel:

	Berechnet	Gefunden
C	36,53	36,58
H	5,06	5,35
N	2,51	2,62
S	5,73	5,68

Die Berechnung hat 1 Mol. Wasser mehr ergeben, als die von der vorstehenden Chondroitinformel abgeleitete Zusammensetzung der Chondroitinschwefelsäure verlangt. Mit solchen Verhältnissen in bezug auf den Wassergehalt hat man es bei allen derartigen Verbindungen, auch beim Hyaloidin, zu tun.

Die regelrechte Formel der Chondroitinschwefelsäure ist daher:

Über die Natur der Hexose, wenn eine solche, wie man zunächst annehmen darf, sich in der Tat an der Bildung der Chondroitinschwefelsäure beteiligt, läßt sich natürlich nichts näheres angeben. Die von mir früher beschriebene¹⁾, beim Kochen dieser Säure mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure auftretende dunkelbraune bis schwärzliche Färbung der Flüssigkeit, wie beim Fibrinhyaloidin²⁾, schien auf die Gegenwart von Lävulose hinzudeuten. Aber die

1) a. a. O. S. 380.

2) Vgl. die erste der beiden vorstehenden Abhandlungen S. 21.

Seliwanoffsche Reaktion mit Resorcin fiel »unzweideutig negativ« aus, wie mir Herr Dr. Wieland mitteilte, der diese Reaktion auf meine Bitte an den beiden obengenannten Präparaten geprüft hat.

Als stickstoffhaltiges Spaltungsprodukt des Chondrosins sind an Stelle des Glykosamins verschiedene andere Stoffe beschrieben worden. Orgler und Neuberg¹⁾ konnten bei der Spaltung des Chondrosins durch Kochen mit Baryt keine Glykuronsäure finden, sondern erhielten aus 25 g des Sulfats 1,2 g einer Säure als Kupferverbindung, die keine Kohlenhydratreaktion gab, Kupferoxyd nicht reduzierte, mit der Glykosaminsäure isomer war, aber nicht wie diese süß schmeckte, und die sie deshalb als Tetraoxyaminokapronsäure auffaßten. Mit dieser Aminosäure, nicht mit Glykosamin sei eine kohlenhydratartige Substanz im Chondrosin verbunden.

Durch Hydrolysieren mit Schwefelsäure stellte S. Fränkel²⁾ aus chondroitinschwefelsaurem Kupfer und aus Chondrosin eine Säure von der Formel $C_6H_{11}NO_6$ dar, die er für Aminoglykuronsäure erklärte, aber nicht angibt, ob sie Kupferoxyd reduzierte. Er schließt daraus, daß die Aminogruppe nicht der »Zuckerkomponente«, sondern der Glykuronsäurekomponente angehöre.

Levene und La Forge³⁾ kochten Chondrosin 6 Stunden lang mit halbkozentrierter Salzsäure und erhielten Kristalle eines salzsauren Salzes, welches sie nach der aus den gut übereinstimmenden Analysenzahlen berechneten Formel, $C_6H_{13}NO_5HCl$, und der optischen Drehung $\alpha_D = 99,9^\circ$ als Glykosamin erklärten. In der angeführten dritten Abhandlung geben sie die Annahme auf, daß das Hexosamin aus der Chondroitinschwefelsäure mit dem Glykosamin identisch sei. Sie nennen diese Base Chondrosamin, das mit dem Glykosamin isomer sei, sich aber von diesem durch seine Löslichkeit in 80 %igem Alkohol, seinen scharfen Schmelzpunkt bei 182° , seine spezifische Drehung von $+129,5^\circ$, die nach 24 Stunden $+93,8^\circ$ betrug, und schließlich durch seine Kristallform unterschied. Sie geben aber nicht an, worin dieser letztere Unterschied bestand. Es heißt nur: lange, weiße, prismatische Nadeln.

Aber diese Abweichungen von den Eigenschaften des Glykosamins lassen auch eine andere Deutung zu, wenn man die von

1) Orgler und Neuberg, Über Chondroitinschwefelsäure und das Vorkommen einer Oxaminsäure im Knorpel. Zeitschr. f. physiol. Chemie 1903, Bd. 37, S. 407.

2) S. Fränkel, Über Chondroitinschwefelsäure. Ann. der Chemie und Pharmac. 1906, Bd. 351, S. 344.

3) Levene und La Forge, a. a. O. oben S. 48, 2. und 3. Abhandlung.

Levene und La Forge in einer bloß einmaligen Analyse für dieses Chondrosamin gefundenen Kohlenstoff- und Chlorzahlen mit den für eine solche Hexosaminbase geforderten vergleicht. Eine Stickstoffbestimmung haben sie bei diesem Präparat nicht ausgeführt.

Für Glykosamin gefordert	33,39 % C,	6,55 % H,	16,45 % Cl
Sie fanden	33,93 » »,	6,56 » »,	15,15 » »
	+ 0,54 % C,		— 1,30 % Cl

Levene und La Forge meinen, das Chondrosamin habe beim Umkristallisieren und beim Stehen im Exsiccator ein wenig Chlor verloren, weil bei der Analyse zu wenig Chlor gefunden wurde. Es ist aber unwahrscheinlich, daß eine so starke Base wie ein Hexosamin unter diesen Umständen Chlor verloren habe, namentlich daß beim Umkristallisieren weniger chlorhaltige Kristalle entstanden sein sollen. Es muß vielmehr angenommen werden, daß das analysierte Produkt nicht einheitlich war und wahrscheinlich aus einem Gemenge von salzsaurem Glykosamin und Chondrosin bestand und zwar in Übereinstimmung mit den Analysenzahlen aus rund 83 Teilen Glykosamin- und 17 Teilen Chondrosinchlorhydrat. Man hat dann:

in 83 Teilen Glykosamin	27,71 Teile C und 13,64 Teile Cl
» 17 » Chondrosin	6,24 » » » 1,53 » »
	33,95 Teile C und 15,17 Teile Cl

Die Zahlen entsprechen genau den gefundenen. Wenn aber das »Chondrosamin« ein solches Gemenge von Glykosamin- und Chondrosinchlorhydrat war, so ist es erklärlich, daß auch die Löslichkeit, der Schmelzpunkt und die optische Drehung dieses Gemenges verschieden von den gleichen Eigenschaften des reinen Glykosamins waren. Jedenfalls ist man durch die Ergebnisse dieses einen Versuches nicht genötigt, die Existenz eines von dem Glykosamin verschiedenen Hexosamins in der Chondroitinschwefelsäure als erwiesen anzusehen. Auch die weiteren Untersuchungen von Levene und La Forge sind nicht ausreichend, die Existenz eines von dem Glykosamin verschiedenen Hexosamins zu sichern.

Sie stellten aus dem »Chondrosamin« ein aus Wasser kristallisiertes Phenylsazon dar, das unter Zersetzung bei raschem Erhitzen bei 180—185° schmolz. Aus dem vorher mit Silbernitrit behandelten und von der Aminogruppe befreiten Chondrosamin erhielten sie ein Phenylsazon, welches bei einmaligem Umkristallisieren den Schmelz-

punkt um 160° herum hatte. Bei mehrmaligem Umkristallisieren wurde ein mit dem vorigen gleiches Phenylsazon erhalten.

Aus diesen Angaben geht hervor, daß sie es mit einem Gemenge verschiedener Phenylsazone zu tun gehabt haben, und es erscheint sehr zweifelhaft, ob die bei etwa 180° unter Zersetzung schmelzenden Produkte schon einheitlich waren.

Levene und La Forge halten aber diesen Schmelzpunkt als feststehend und für identisch mit dem des Phenylsazons aus der von Levene und Jacobs (1909/1910) dargestellten, der Alloschleimsäure entsprechenden Zuckerart Alloose und schließen daraus, daß das Chondrosamin Allosamin sei.

Auch weiter nehmen sie dieses Phenylsazon in Anspruch, um das Chondrosamin als Allosamin zu erweisen. Sie stellten aus dem von der Aminogruppe durch salpetrige Säure befreiten Chondrosamin, dem »Desaminozucker«, durch Oxydation mit Salpetersäure die optisch inaktive Epichondrosinsäure dar. Da die Möglichkeit der Konfiguration dieser Säure auf die Anhydroschleimsäure und die Anhydroalloschleimsäure beschränkt sei und da das Chondrosamin ein mit dem Phenylsazon aus der Alloose identisches Phenylsazon gibt, so entscheide die Wahl zugunsten der Anhydroalloschleimsäure. Auch eine von ihnen durch Oxydation mit Brom und darauf durch Reduktion mit Jodwasserstoff dargestellte Hydrooxaminokapronsäure fassen sie zugunsten der Annahme auf, daß in dem Chondrosamin wie in den Alloverbindungen eine normale Kohlenstoffkette enthalten sei.

Wie dem auch sei. Ob die vorstehend geäußerten Bedenken und Einwendungen gegen die Verschiedenheit der Hexosamingruppe des Chondrosins und der Chondroitinschwefelsäure von dem Glykosamin sich bestätigen oder nicht, jedenfalls handelt es sich nur um die Frage der Konfiguration dieser Hexosamingruppe, nicht wie sie mit der Glykuronsäuregruppe verbunden sei, und die Konfiguration hat daher auf die Beurteilung der Struktur der Chondroitinschwefelsäure, soweit sie hier in Betracht kommt, keinen Einfluß. Von dieser Struktur wird bei der Erörterung der Frage über die Entstehung der Chondroitinschwefelsäure im Organismus noch weiter die Rede sein.

2. Die Entstehung der Chondroitinschwefelsäure aus Hyaloidin bei der Bildung von Collagen aus Eiweiß.

Das Vorkommen der Chondroitinschwefelsäure ist nicht auf bestimmte Knorpel beschränkt, sondern scheint weit verbreitet

zu sein und hängt offenbar mit der Bildung des Collagens, der leimgebenden Substanz der Binde- und Gerüstsubstanzen, zusammen. Wie diese Stoffe bei collagenfreier Nahrung aus dem Eiweiß entstehen, läßt sich noch nicht vollständig übersehen, weil die Kenntnis der Bestandteile, aus welchen das Collagen oder sein Umwandlungsprodukt, der Leim, zusammengesetzt sind, dazu noch nicht ausreicht.

Von den mir vorliegenden Analysenwerten für den Leim¹⁾ geben acht das Atomverhältnis N:C im Minimum 1:3,21, im Maximum 1:3,27, drei Analysen aus älterer Zeit das Verhältnis 1:3,10, 3,19 und 3,33, im Mittel 1:3,21. Für den Nasenknorpel vom Schwein ist das Verhältnis nach den von Sadikoff zusammengestellten Analysenwerten²⁾ im Mittel 1:3,40.

E. Fischer, Levene und Aders³⁾ erhielten bei der Hydrolyse des Leims durch Mineralsäuren 42,6% Spaltungsprodukte, für welche die Berechnung insgesamt 7,9121 g Stickstoff und 17,407 g Kohlenstoff ergibt, deren Atomverhältnis N:C = 1:2,56 ist. Die von Cohnheim zusammengestellten, für 100 g Leim 74 g betragenden Spaltungsprodukte enthalten zusammen 12,3877 g Stickstoff und 31,4689 g Kohlenstoff. Für diese Mengen ist das Atomverhältnis N:C = 1:2,96. Das für den Leim geforderte Verhältnis N:C = 1:3,22 wird also in beiden Fällen bei den Spaltungsprodukten nicht erreicht. Sie sind stickstoffreicher als der Leim. Es ist entweder zu viel von den stickstoffreichen und kohlenstoffarmen Spaltungsprodukten, wie Glykokoll und Arginin, gefunden worden, oder es haben sich stickstoffärmere und kohlenstoffreichere Bestandteile des Leims der Bestimmung entzogen. Aber soviel scheint festzustehen, daß die Eiweißbestandteile Tryptophan, Tyrosin und Cystin im Collagen nicht vertreten sind. Sie werden also bei der Bildung des letzteren abgespalten und in einer oder der anderen Weise entfernt. Auch vom Hyaloidin sind Collagen und Leim frei. Man kann Leim mit verdünnter oder konzentrierter Salzsäure längere oder kürzere Zeit kochen, er reduziert danach kein Kupferoxyd. Die Eiweißstoffe dagegen, welche für die Bildung des Collagens in Betracht kommen, enthalten Hyaloidin als Komponenten, wie man nach den in der vorstehenden Abhandlung über die stickstoffhaltigen Kohlenhydratverbindungen der Eiweißstoffe mitgeteilten Ergebnisse annehmen kann.

1) Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper 1911, 3. Aufl., S. 246. Biochemisches Handlexikon 1911, Bd. 4, S. 181.

2) Biochem. Handlexikon, a. a. O. S. 182.

3) Ebenda, a. a. O. S. 183.

Das bei der Bildung des Collagens abgespaltene Hyaloidin kann nicht zersetzt werden, weil in ihm, wie in den gepaarten Glykuronsäuren, die Aldehydgruppen gebunden sind.

Die Chondroitinschwefelsäure entsteht als Nebenprodukt bei der Umwandlung von Eiweiß in Collagen und kann dementsprechend überall auftreten, wo Eiweiß in leimgebende Substanz umgesetzt wird. So erklärt sich das verbreitete Vorkommen der Chondroitinschwefelsäure in collagenreichen Geweben und Organen. Mörner (1894) fand sie in allen den verschiedenartigen Knorpeln, in allen von ihm untersuchten Enchondromen, in den Knochen und in der inneren Schicht der Aortenwandung, Krawkow¹⁾ ebenfalls im Knochen und neben Amyloid in der Aortenwandung, ferner im Uterusfibrom, im Ligamentum nuchae und im Wirbel eines Knorpelfisches (Acipenser), und endlich in sehr geringer Menge in der Magenschleimhaut vom Schwein. Lönnberg (1889) wies sie im Knorpel einer Haifisch- und einer Rochenart nach. Sie braucht aber nicht notwendig in solchen collagenen Gebilden gefunden zu werden. Sie könnte nach abgeschlossener Bildung der letzteren allmählich aus ihnen verschwinden. Ein von mir untersuchtes Enchondrom enthielt keine Chondroitinschwefelsäure²⁾, während, wie vorstehend erwähnt, Mörner sie in allen von ihm untersuchten Enchondromen fand.

Es fragt sich nun, ob es nach der Zusammensetzung des Hyaloidins und der Chondroitinschwefelsäure als möglich und wahrscheinlich erscheint, daß die letztere aus dem ersteren durch die biochemischen Vorgänge im Organismus entstehen kann. Die Möglichkeit einer solchen Umwandlung ist durch die Gleichartigkeit ihrer Komponenten, abgesehen von der Schwefelsäure, gegeben. Es sind acetylierte Verbindungen des Glykosamins mit Hexose oder Glykuronsäure. Die Umwandlung des Hyaloidins zunächst in das Chondroitin, also in die schwefelfreie Verbindung, kann in einfacher Weise nur erfolgen, wenn man annimmt, daß in den Eiweißstoffen 2 Moleküle des Hyaloidins von der Formel $C_{26}H_{46}N_2O_{20}$ miteinander verbunden sind, und zwar durch eine Hexose derartig, daß bei der Spaltung aus dieser eine Aldose, nicht ein Kohlenhydratalkohol entsteht.

Die nachstehenden Strukturformeln suchen die Zusammensetzung des unter diesen Voraussetzungen im Eiweiß vorgebildeten Hyaloidins und seine Umwandlung in das Chondroitin zu veranschaulichen.

1) Krawkow, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 1897, Bd. 40, S. 200.

2) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1891, Bd. 28, S. 403.

Der Vorgang bei der Umwandlung des Hyaloidins in das Chondroitin ist bei dieser Struktur beider ein sehr einfacher. Die Gruppen I und II werden unter Aufnahme von 2 Molekülen Wasser in Zusammenhang miteinander abgespalten und ihre beiden Hexosegruppen durch 4 Atom O unter Austritt von 2 Molekülen Wasser zu Glykuronsäure oxydiert. Die Gruppen III und IV sind nach der Abspaltung Aldosen und werden wahrscheinlich weiter zersetzt. Gleich-

zeitig mit diesem Vorgang der Bildung des Chondroitins erfolgt wohl auch seine Paarung mit 2 Molekülen Schwefelsäure zu Chondroitinschwefelsäure. Die erstere ist vielleicht aus dem Schwefel des aus dem Eiweiß abgespaltenen Cystins entstanden.

Die Spaltung der Chondroitinschwefelsäure durch die Einwirkung von Säure vollzieht sich nach der Formelgleichung

Doch braucht der Vorgang bei der Spaltung mit Mineralsäuren nicht so glatt zu verlaufen. Wenn nur die Acetyle teilweise oder vollständig austreten oder in der noch acetylierten Verbindung Trennung der Gruppen I und II zustande kommt, wobei die Hexose entweder ganz entfernt wird, oder etwa mit dem Aldehydkohlenstoff an der einen Gruppe haften bleibt und alle diese Vorgänge in verschiedenen Kombinationen miteinander auftreten, so ist es erklärlich, daß in dem so entstandenen Gemenge von Substanzen das Atomverhältnis N : C in weiten Grenzen schwanken kann. Wenn dabei z. B. ein acetyliertes Hexosochondrosin entstehen sollte, so wäre dieses Verhältnis in ihm 1 : 20. Bei 4—5 Stunden langem Kochen von Chondroitinschwefelsäure mit Oxalsäure erhielt Hebling¹⁾ das freie Chondrosin mit 1 Mol. Wasser in Kristallen. Die optische Drehung war $\alpha_D = 41^\circ$, während ich für das wasserfrei berechnete Chondrosin $\alpha_D = 42^\circ$ fand.

3. Über die Bildung der Chondroitinschwefelsäure bei der amyloiden Degeneration.

Weitere Bildungsstätten der Chondroitinschwefelsäure sind die amyloidentarteten Organe. Oddi²⁾ stellte die Säure nach dem von mir beschriebenen Verfahren aus zwei Lebern dar, Krawkow³⁾ in derselben Weise aus acht Lebern, darunter eine Pferdeleber, sowie aus einer Milz und einer Niere. In normalen Lebern, Milzen und Nieren fanden Oddi und Krawkow keine Chondroitinschwefelsäure. Hanssen⁴⁾ »hydrolysierte« die Trockensubstanz der Organe 6—7 Stunden mit konzentrierter Salzsäure und bestimmte im Filtrat die Gesamtmenge der Schwefelsäure. Er fand in fünf normalen Milzen im Mittel 0,029% Sulfat-Schwefel, in fünf Amyloidmilzen im Mittel 0,119% Schwefel, also in den letzteren 0,09%

1) Hebling, Biochem. Zeitschr. 1914, Bd. 63, S. 353.

2) Oddi, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1894, Bd. 33, S. 376.

3) a. a. O. oben S. 58.

4) Hanssen, Ein Beitrag zur Chemie der amyloiden Entartung. Biochem. Zeitschr. 1908, Bd. 13, S. 185.

mehr als in den normalen. Die Chondroitinschwefelsäure enthält 5,82% Schwefel; dem Betrag von 0,09% entsprechen 1,5% der Säure, falls keine anderen gepaarten Schwefelsäuren in Betracht kommen. Die Untersuchung von fünf Amyloidlebern gab im Durchschnitt 0,06% Sulfat-Schwefel mehr, als zwei von ihm untersuchte normale Lebern. Es ist demnach unzweifelhaft, daß in allen amyloid-entarteten Organen Chondroitinschwefelsäure vorkommt und daß zwischen dem Auftreten der letzteren und der Bildung des Amyloids ein Zusammenhang bestehen muß.

Es fragt sich nun, wie dieses Auftreten der Chondroitinschwefelsäure in den amyloidentarteten Organen zu erklären ist. Hanssen¹⁾ fand bei der Wasser- und Fettbestimmung der Sagomilz, daß die Volumvergrößerung weder vom Wasser noch vom Fett oder eingelagertem Amyloid abhängt, sondern sicher zum Teil auf die Vermehrung von Gewebsbestandteilen zu beziehen sei. Daher dachte ich zunächst an eine mit der Amyloidentartung gleichzeitig verlaufende und auf gleicher Ursache beruhende Entstehung der Chondroitinschwefelsäure infolge Bildung von collagenem Gewebe, wie im Knorpel. Aber das erscheint ausgeschlossen, da Herr Kollege Prof. Dr. M. B. Schmidt in Würzburg mir auf meine Bitte freundlichst mitteilte, daß bei der gewöhnlichen Amyloiddegeneration eine Wucherung collagenen Gewebes im mikroskopischen Bilde nie gefunden wird, daß in den höheren Graden der Entartung vielmehr die alten Bindegewebsfasern in mehr oder weniger großer Ausdehnung verschwunden sind. Eine Wucherung der alten Gewebe finde nicht statt. Auf Grund dieser Feststellung muß man annehmen, daß die Entstehung der Chondroitinschwefelsäure zum Amyloid in einem ähnlichen Verhältnis steht, wie es für das Collagen wahrscheinlich erscheint. Aber beim Amyloid kommt noch etwas weiteres in Betracht, das sind die für die Praxis so wichtigen Farbenreaktionen. Wegen der blauen oder violettblauen Färbung durch Jodschwefelsäure hat man sich seit der Entdeckung des Amyloids durch Virchow vergeblich bemüht, ein Kohlenhydrat als Ursache dieser auffälligen Färbung nachzuweisen. Jetzt kann man das Hyaloidin dafür in Anspruch nehmen. Allerdings erscheint es gewagt, schon jetzt, ohne ausreichende tatsächliche Grundlagen, die Ansicht zu vertreten, daß aus dem Hyaloidin bei der Bildung des Amyloids nicht nur die Chondroitinschwefelsäure, sondern auch die sich färbenden Anteile des Amyloids entstehen. Allein vielleicht kann eine kurze Erörterung der dabei in Betracht kommenden Fragen zu weiteren Untersuchungen

1) Hanssen, a. a. O. vorstehend S. 60.

über die Schicksale des Hyaloidins der Eiweißstoffe Anlaß geben, aus denen das Amyloid gebildet wird.

Daß das Amyloid ein Eiweißstoff ist, steht fest. Wie sich dieser aber in seiner Zusammensetzung von den normalen Eiweißkörpern des Organismus unterscheidet, hat noch keine ausreichende Untersuchung gefunden, trotz der Elementaranalysen, die man an verschiedenen Präparaten ausgeführt hat. Die Analysen, in denen nicht bloß der Stickstoff bestimmt wurde, stammen von Friedrich und Kekulé (1859), von Tschermak (1894), von Krawkow (1897) und von Hanssen (1908).

Hanssen¹⁾ analysierte das reine Naturprodukt, ein Amyloid, das keinerlei chemischen Einwirkungen unterworfen worden war. Er isolierte die sogenannten Sagokörnchen der Amyloidmilz durch Herausschaben, Schütteln des Breies in der Schüttelmaschine und Abschleimmen der Gewebsteilehen mit viel Wasser und Entfernen der letzten Gewebsreste mit der Pinzette.

Krawkow analysierte das Verdauungsamyloid. Er zog die zu einer breiartigen Masse zerkleinerte amyloide Leber oder Milz zur Entfernung aller löslichen Bestandteile mit verdünntem Ammoniak und mit Wasser aus, unterwarf sie dann 3—4 Tage lang der Verdauung mit kräftig wirksamem Magensaft, unter Erneuerung des letzteren, löste den Rückstand in ganz verdünntem Ammoniak und fällte aus der filtrierten Lösung das Amyloid mit Salzsäure aus. Nach nochmaliger Einwirkung von Magensaft befreite er die Substanz durch Lösen in Barytwasser von den Nukleinsubstanzen und wusch sie nach dem Ausfällen mit Salzsäure, mit Wasser, Alkohol und Ather aus.

Die Berechnung der Atomverhältnisse aus den von Hanssen erhaltenen Analysenwerten führt zu dem Ergebnis, daß die Amyloidsubstanz der Sagokörnchen der Milz im wesentlichen die gleiche elementare Zusammensetzung hat, wie das Serumalbumin und die Serumglobuline, abgesehen natürlich von dem unbekannten Molekulargewicht.

In einer früheren Zusammenstellung der Atomverhältnisse verschiedener Eiweißstoffe hatte ich nach den Analysen von Hammarsten und Starké die folgenden Atomverhältnisse für das Serumalbumin berechnet²⁾:

Die Durchschnittswerte der Analysen des kristallisierten und amorphen Serumalbumins von Michel und Gürber³⁾ und des

1) Hanssen, a. a. O.

2) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 1897, Bd. 39, S. 47.

3) Jahrbuch der Chemie 1895, S. 229.

kristallisierten von Abderhalden (1903)¹⁾ geben die gleichen Atomverhältnisse wie die vorstehenden und eine gute Übereinstimmung der geforderten und gefundenen Zahlen für alle Elementarbestandteile.

	Berechnet	Gefunden
C	53,32	53,01
H	7,01	7,03
N	15,96	15,84
S	1,82	1,86

Beim Globulin aus Serum ergab die Berechnung nach den mir vorliegenden Analysenwerten für vier verschiedene Globuline die gleiche elementare Zusammensetzung. Es sind dies:

- I. Das »Serumglobulin« von Hammersten (1880)²⁾.
 - II. Das Englobulin aus Serum von Porges und Spiro (1903)³⁾.
 - III. Das Salzglobulin aus Serum
 - IV. Das Säureglobulin aus Serum
- } von Huiskamp (1906) (?)²⁾.

Die über den gefundenen Analysenzahlen stehenden Ziffern beziehen sich auf die vorstehend genannten Globuline.

	Berechnet	I	II	III	IV	Mittel aus I—IV
C	52,82	52,71	52,62	52,83	52,64	52,72
H	7,12	7,02	7,70	7,66	7,46	7,39
N	15,81	15,85	16,03	15,73	15,87	15,87
S	1,20	1,11	1,13	1,08	1,07	1,09

Diese Globuline enthalten im Verhältnis zu den N- und C-Atomen $\frac{1}{3}$ Atom S weniger als das Serumalbumin. Für ein Atom S in den Globulinen muß das Verhältnis von N:C auf 30:117 Atome gebracht werden.

Hanssen analysierte drei Präparate seiner »Sagokörnchen«. Die Berechnung führt für dieses genuine Amyloid zum Vergleich mit dem Serumalbumin und den Globulinen zu folgenden Atomverhältnissen:

1) Nach den bei Cohnheim, a. a. O. S. 181 angegebenen Zahlen berechnet.

2) Nach den Zahlen im Biochemischen Handlexikon 1910, Bd. 4, S. 83 und 84.

3) Porges und Spiro, Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 1902, Bd. 3, S. 279.

Präparat I. $C_{78}H_{122}N_{20}S^{2/3}O_{24} + 1\frac{1}{2}H_2O$. Mol.-G. 1771,8.

	Berechnet	Gefunden
C	52,82	52,79
H	7,12	7,46
N	15,81	15,62
S	1,20	1,26

Präparat II. $C_{78}H_{122}N_{20}S^{2/3}O_{24} + 3\frac{1}{2}H_2O$. Mol.-G. 1807,8.

	Berechnet	Gefunden
C	51,77	51,87
H	7,27	7,58
N	15,49	15,17

Präparat III. $C_{78}H_{122}N_{20}S^{2/3}O_{24} + 10H_2O$. Mol.-G. 1924,9.

	Berechnet	Gefunden
C	48,62	48,49
H	7,45	7,24
N	14,55	14,23

Auffallend ist die große Verschiedenheit in dem als Wasser berechneten Wasserstoff und Sauerstoff der einzelnen Präparate. Um Analysenfehler kann es sich nicht handeln, da diese Verschiedenheit nicht auf diese Präparate beschränkt bleibt, sondern auch eine Eigentümlichkeit der Globuline zu sein scheint, während sie beim Serumalbumin nach den bisherigen Analysen nicht vorkommt. Die Analysenzahlen nach Porges und Spiro¹⁾ von zwei als Pseudoglobulin bezeichneten Präparaten aus Serum geben bei der Berechnung noch größere Beträge dieses Wassers als die Sagokörnchen. Das Pseudoglobulin II hat die folgende Zusammensetzung:

$C_{78}H_{122}N_{20}S^{2/3}O_{24} + 12H_2O$. Mol.-G. 1961.

	Berechnet	Gefunden
C	47,73	47,46
H	7,51	[8,07]
N	14,28	14,45
S	1,08	0,92

Der große Überschuß von Wasserstoff gegen die geforderte Menge ist durch einen Analysenfehler zu erklären und kommt für dieses Wasser nicht in Betracht, da ihm kein Sauerstoff entspricht.

Da das Amyloid von Krawkow Chondroitinschwefelsäure enthielt, so ist nach dem Durchschnitt der bei der Analyse der vier Präparate aus Leber und Milz gefundenen Zahlen das Atomverhältnis N : C nicht wie in den Sagokörnchen von Hanssen 20 : 78, sondern

1) a. a. O. S. 279.

20:83, in dem Amyloid aus der Aortenwandung sogar rund 20:85. Wenn der chondroitinschwefelfreie Anteil dieser Präparate mit dem Amyloid der Sagokörnchen identisch ist, so würde diesem Atomverhältnis ein Chondroitinschwefelsäuregehalt von rund 10% entsprechen. Das Sagokörnchenamyloid mit einem Schwefelgehalt wie die Globuline und mit 10% Chondroitinschwefelsäure würde 1,7% Schwefel verlangen. Krawkow fand aber in allen sechs Präparaten 2,65—2,89% also 1% mehr. Als Schwefelsäure konnte dieser Überschuß darin nicht enthalten sein, weil das Amyloid bei der Darstellung in Barytwasser gelöst war, ebensowenig als Chondroitinschwefelsäure, weil dazu im ganzen ein Gehalt an letzterer von mehr als 30% erforderlich gewesen wäre. Die Angaben über den Schwefelgehalt des Amyloids in der Literatur schwanken zwischen 1,3 und 2,9%. Es ist daher die Möglichkeit ins Auge zu fassen, daß es Amyloidformen mit verschiedenem Schwefelgehalt gibt, die dem Verhältnis $N:C=20:78$ entsprechend sowohl aus dem Globulin wie aus dem Serumalbumin entstehen könnten, nicht aber aus den Cellglobulinen und den Histonen, weil in diesen, soweit die Angaben darüber reichen, das Atomverhältnis $N:C=20:66-68$ beträgt. Zur Bildung von Amyloid aus ihnen mit dem Verhältnis von mindestens 20:78 wäre entweder eine Synthese mit kohlenstoffreicheren Stoffen oder eine Abspaltung stickstoffreicherer Bestandteile erforderlich. Eine Synthese erscheint wohl von vornherein ausgeschlossen.

Der Umstand, daß das genuine Sagokörnchenamyloid im wesentlichen die gleiche Zusammensetzung wie die Serumglobuline hat und alle Eiweißreaktionen, namentlich auch die Schwefelblei- und Millonsche Probe gibt, sprechen gegen seine Entstehung durch Spaltungen des Eiweißmoleküls oder weitgehende Abspaltungen seiner Komponenten. Neuberg (1904) hatte im Amyloid sehr große Mengen Arginin und Lysin, aber kein Histidin gefunden im Vergleich zu den Mengen dieser Hexonbasen in den gewöhnlichen Eiweißstoffen. Wegen des hohen Stickstoffgehaltes dieser Basen müßte in diesem Falle das Amyloid etwa das gleiche Atomverhältnis zwischen Stickstoff und Kohlenstoff haben wie die vorstehend erwähnten Cellglobuline und Histone. Aber Mayeda¹⁾ fand unter Kossels Leitung viel weniger Arginin und Lysin und erhielt auch das von Neuberg vermißte Histidin. Er kommt zu dem Resultat, daß der »Hexonbasengehalt« der die Amyloidsubstanz bildenden Proteinstoffe der Leber der gleiche ist wie in normalen Organen.

1) Mayeda, Ztschr. f. physiol. Chem. 1909, Bd. 58, S. 469.

Wenn aber das Amyloid aus dem Globulin und dem Serumalbumin nicht durch eine fermentative Spaltung der letzteren und nicht aus einem Spaltungsprodukt gebildet wird, so darf man schließen, daß seiner Entstehung das Gegenteil zugrunde liegt: eine verhinderte Spaltung. Man kann sich den Vorgang dabei ungefähr folgendermaßen vorstellen.

Da das Serumalbumin nicht bloß im Blutserum, sondern in allen flüssigen Bestandteilen des Organismus, auch in der interstitiellen Gewebsflüssigkeit enthalten ist, so darf man annehmen, daß aus ihm das Protoplasmaeiweiß der zelligen Gebilde und die kontraktile Substanz der Muskeln entstehen und daß es vielleicht dabei vorher als Zwischenstufe in Serumglobulin umgewandelt wird. Im normalen Organismus wird der Teil des bei der Ernährung den Gewebsflüssigkeiten zugeführten Serumalbumins oder Globulins, welcher nicht in Protoplasmaeiweiß umgewandelt wird, entweder in die Endprodukte des Stoffwechsels zersetzt oder, wie man annimmt, in Fett umgesetzt. In Krankheiten mit sogenannten kachektischem Charakter kann sowohl die Bildung von Protoplasmaeiweiß wie die Zersetzung und Umbildung des Überschusses dieser Eiweißstoffe vermindert sein, so daß es bei relativ unverminderter Zufuhr zu einer Anhäufung der letzteren kommt. Sie sind in diesem Falle gleichsam Fremdkörper für den Organismus, und da sie bei gesunden Nieren gar nicht, bei Erkrankungen der letzteren wohl nicht immer vollständig ausgeschieden werden, so sucht der Organismus sich ihrer, wie bei anderen Fremdkörpern, dadurch zu entledigen, daß er sie im veränderten Zustande ablagert.

Da bei den Eiweißstoffen, namentlich leicht beim Globulin, schon beim bloßen Schütteln eine Gerinnung eintritt durch Ausscheidung feinsten, im Ultramikroskop gerade noch sichtbarer Partikel in unlöslicher Form, so wäre es möglich, daß das Globulin oder Serumalbumin im unveränderten Zustande in die Organe gelangt und hier erst in das Amyloid umgewandelt wird.

Wenn man, wie Leupold¹⁾ es tut, darauf hindeuten will, daß das Eiweiß sich auch in diesem Falle bei seiner Ausscheidung aus der Lösung wie eine colloidale Substanz verhält, so kann man die in der Colloidchemie übliche Bezeichnung Sol für den gelösten Zustand des Eiweißes und Gel für den nach seiner Ausscheidung gebrauchten.

1) Nach Leupold, Untersuchungen über die Mikrochemie und Genese des Amyloids. Abdruck aus Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie 1919, Bd. 64.

Bekanntlich ist das Amyloid nicht unverdaulich. Nur ist das Verdauungsprodukt in Säuren, also auch in der Pepsin-Salzsäure, unlöslich, leicht löslich dagegen in Alkalien. Es hat daher den Charakter einer Säure, so daß bei seiner Bildung eine Oxydation mitgewirkt haben kann, bei welcher aber nur wenige Atome Wasserstoff durch Sauerstoff ersetzt werden, ohne andere Veränderung in der Zusammensetzung des Eiweißes. Wegen der Unsicherheit der Wasserstoffbestimmung bei der Elementaranalyse macht sich eine solche Oxydation bei der Berechnung der Atomverhältnisse nicht bemerkbar. Es ist ausgeschlossen, daß dieses Oxyeiweiß schon im Blute vor der Ablagerung entsteht, sonst hätten wir es mit einer Blutverunreinigungs-pathologie zu tun.

Die Auffassung, daß das Eiweißmaterial für die Bildung des Amyloids in die Organe von außen gelangt, steht in Einklang mit der Ansicht von M. B. Schmidt, daß der Vorgang, welcher zur Amyloiddegeneration der Organe führt, nicht eine Transformation des Organgewebes, sondern eine Infiltration ist¹⁾.

Da das Amyloid der Sagokörnchen die gleiche elementare Zusammensetzung wie das Globulin hat, so muß man annehmen, daß bei der Umwandlung von Eiweiß in Amyloideiweiß Umlagerungen im Molekül tätig sind. Dabei können auch Fermente mitwirken, durch welche, wie bei anderen chemischen Vorgängen im Organismus, bei Spaltungen, Synthesen und Oxydationen, Wasserstoff mobil gemacht wird und seine Stelle leicht wechselt²⁾. Bei der Amyloidbildung nimmt das Eiweiß die sogenannte hyaline Beschaffenheit an und wird dann zu einer homogenen, speckigen, mehr oder weniger derben, wachsartig glänzenden Masse umgewandelt.

Es fragt sich nun, wie das Amyloideiweiß die Eigenschaft erlangt, sich zu färben, mit Methylviolett rosa- oder violettrot, mit Jod braun oder braunrot und mit Jod und Schwefelsäure blau, grün oder violett.

Junges Amyloid gibt nach den Erfahrungen der Pathologen gewöhnlich nur die Färbung mit Methylviolett. Auch das gewöhnliche »Hyalin« nimmt zuweilen durch das letztere die gleiche Färbung an und wird wohl auch als eine Zwischenform zwischen Eiweiß und Amyloideiweiß angesehen. Beim fertigen Amyloid kommt die Methylviolettreaktion am konstantesten vor und läßt sich beim Behandeln des Amyloids mit Alkalien schwerer als die anderen

1) Nach Leupold, a. a. O. S. 1.

2) Vgl. Über Spaltungen, Synthesen und Oxydationen im Organismus. Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 1881, Bd. 14, S. 288 und 379.

beiden Reaktionen entfernen. Diese Umstände machen es sehr wahrscheinlich, daß die Methylviolettreaktion nicht von einer besonderen Substanz im Amyloideiweiß abhängt, sondern auf dem Vermögen des letzteren selbst, sich zu färben, beruht.

Einen anderen Ursprung muß man den Färbungen zuschreiben, die durch Jod und durch Jod und Schwefelsäure hervorgebracht werden, und kann dafür das Hyaloidin in Anspruch nehmen. Seit der Entdeckung des Amyloids hat man, durch die der Jodstärke entsprechende Blaufärbung veranlaßt, vielfach versucht, in dem Amyloid ein Kohlenhydrat nachzuweisen, aber vergeblich. Kühne und Rudneff (1865) sowie Cohn (1896) bestätigen, daß sie kein Kohlenhydrat gefunden haben. Auch Chondroitinschwefelsäure scheint das Amyloid in solchen Versuchen nicht enthalten zu haben, sonst hätte man nach dem Kochen mit Säuren eine Reduktion von Kupferoxyd gefunden und auf die Gegenwart eines Kohlenhydrats bezogen. Nur Morochowetz (1878) beobachtete eine solche Reduktion nach dem Kochen von Amyloid mit Schwefelsäure. Aber sein Präparat war sehr unrein, es enthielt nicht weniger als 3,1% Phosphor. Man darf also annehmen, daß in den meisten Fällen keine Reduktion von Kupferoxyd erfolgt war. Da das Amyloid nicht notwendig Chondroitinschwefelsäure enthalten muß, wie sich herausgestellt hat, so ist das Ausbleiben der Reduktion erklärlich. Sie hätte aber nicht regelmäßig gefehlt, wenn das Hyaloidin der amyloidbildenden Eiweißstoffe noch im Amyloid enthalten wäre. Es kann entweder nur in ganz verändertem Zustande mit dem Amyloid in Zusammenhang geblieben oder abgespalten sein. Die Berücksichtigung aller dabei in Betracht kommenden Umstände und Tatsachen führt zu der Überzeugung, daß zur Erklärung des Auftretens der Chondroitinschwefelsäure in den amyloidentarteten Organen einerseits und der Jodreaktionen andererseits beide Möglichkeiten erfüllt sein können.

Zur Begründung der Annahme, daß die Jodreaktionen von einem Umwandlungsprodukt des Hyaloidins abhängen, müssen zwar weitere, namentlich chemische Untersuchungen beigebracht werden, aber verschiedene Umstände lassen diese Annahme schon jetzt mindestens als sehr wahrscheinlich erscheinen. Es wird dadurch zunächst der vermißte Zusammenhang dieser Reaktionen mit einer Substanz aus der Kategorie der Kohlenhydrate hergestellt und das Auftreten der Jodreaktionen, namentlich der blauen Färbung durch Jod und Schwefelsäure, dem Verständnis näher gebracht. Da es ferner Amyloidformen gibt, von welchen noch weiter die Rede sein

wird, die diese Reaktionen nicht geben, so läßt sich vermuten, daß die letzteren nicht der eiweißartigen Grundsubstanz als solcher, sondern einer besonderen Atomgruppe in derselben angehören, die auch fehlen kann. Dabei liegt es nahe, diese Gruppe mit dem Hyaloidin in Zusammenhang zu bringen. Dazu kommt, daß es Leupold¹⁾ gelungen zu sein scheint, sie zu isolieren. Er versetzte nach der Verdauung der Amyloidorgane mit Pepsinsalzsäure das Filtrat von der ungelöst gebliebenen Masse mit Ammoniak, wobei, manchmal erst nach einiger Zeit, ein wolkiger Niederschlag entstand, der nach dem Auswaschen auf einem Filter und nach dem Trocknen ein grauweißes Pulver bildete, welches auf Jodschwefelsäure eine deutliche Blaufärbung gab. Die Substanz hat basischen Charakter, da sie löslich in Salzsäure, unlöslich in Ammoniak ist. Es reagiert nur ein Teil vom Niederschlag auf Jodschwefelsäure. Unter dem Mikroskop zeigten sich feine Fäden und Körnchen, welche die Blaufärbung annahmen.

Die Färbungen des Chitins durch Jod gestatten, sich auch eine Vorstellung von der möglichen Art der Umwandlung des Hyaloidins in den auf Jod reagierenden Bestandteil des Amyloids zu machen. Das genuine Chitin ist aus Glykosamin und Essigsäure im Verhältnis von vier Mol. des ersteren und sechs Mol. des letzteren gebildet. Es färbt sich mit Jod allein braun oder rotbraun, mit Jod und Schwefelsäure rot oder rotviolett. Es gibt Chitine, die auf vier Mol. Glykosamin weniger als sechs Mol. Acetyl enthalten und durch Jod in derselben Weise gefärbt werden, darunter das Triacetylchitin, in welchem auf vier Mol. Glykosamin nur drei Acetyle kommen. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß es, wie Offer annimmt, ein Chitin gibt, in welchem das Verhältnis jener Bestandteile 4:2 ist, das nach Offer als polymeres Monoacetyldiglykosamin aufgefaßt werden kann und das mit Jod die gleichen Färbungen wie die anderen Chitine zeigt²⁾. Wenn bei der Amyloidbildung aus dem Hyaloidin im Zusammenhang mit dem Eiweiß nur die Hexosegruppen abgespalten werden³⁾, so hinterbleibt ein solches Monoacetyldiglykosamin oder ein Polymeres desselben, von dem dann die Farbenreaktionen des Amyloids abhängen. Vielleicht entstehen dabei auch verschiedene Polymerisationsstufen, die den Dextrinen entsprechen würden und die mit Jod verschiedene Farbennuancen

1) Leupold, a. a. O. S. 38.

2) Vgl. die nachstehende Abhandlung Nr. 224 »Über Chitin und Chitinabkömmlinge des Tier- und Pflanzenreichs« S. 77.

3) Vgl. die vorstehende Abhandlung Nr. 221 »Über die stickstoffhaltigen Kohlenhydratabkömmlinge der Eiweißstoffe«.

und Mischfarben annehmen. Da die Glykosamingruppe des Hyaloidins nur durch starkes Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure abspalten wird¹⁾, so kann es auch davon abhängen, daß man nach dem Kochen des Amyloids mit verdünnten Säuren in der Regel keine Reduktion von Kupferoxyd erhalten hat²⁾.

Leupold³⁾ machte auch Versuche zur künstlichen Darstellung von Amyloid. Er ließ steril entnommene Stückchen von Milzen normaler, durch einen Unglücksfall zugrunde gegangener Individuen 2—4, in einem Falle acht Wochen lang in schwefelsäurehaltigem Wasser »autolysieren«. Unter dem Mikroskop fand er homogen aussehende Gebilde, die einen gewissen Glanz zeigten und von denen ein Teil durch Jod eine intensive Rotbraunfärbung annahm, während ein anderer Teil sich nicht färbte, aber einen hellen Glanz zeigte. Wie beim natürlichen Amyloid war diese Jodreaktion gegen Säuren resistent, verschwand aber unter der Einwirkung von Alkalien. Die Reaktion mit Jod und Schwefelsäure erhielt Leupold niemals direkt an dieser durch Jod sich braunfärbenden Substanz, sondern erst nach dem Auswaschen von Stückchen der autolysierten Milz auf dem Objektträger mit verdünntem Ammoniak und Wasser. Er ließ dann Jod und etwas konzentriertere Schwefelsäure als gewöhnlich einwirken. Dabei nahmen die Körnchen und Fädchen teils eine graublaue, teils eine rein blaue Färbung an. Die homogene, hyaline Beschaffenheit fehlte diesem auf Jod und Schwefelsäure reagierenden Körper, auch ist es Leupold niemals gelungen, an den autolysierten Milzstückchen die Methylviolettffärbung zu erzeugen.

Man kann wohl ungezwungen annehmen, daß in diesen Versuchen die auf Jod und Schwefelsäure sich blau färbende Substanz aus dem Hyaloidin des Eiweißes entstanden ist. Da ihr die homogene, hyaline Beschaffenheit des Amyloids fehlte, so scheint sie unabhängig von der Bildung von Amyloideiweiß aus dem Hyaloidin gebildet und mit dem Eiweiß in Zusammenhang geblieben zu sein. Das Fehlen des Amyloideiweißes erklärt auch das Ausbleiben der Methylviolettffärbung. Wenn sich die interessanten Beobachtungen von Leupold bestätigen, so wird es nicht schwer sein, durch Versuche in größerem Maßstabe die Herkunft und Natur dieser Substanz sicher zu ermitteln und festzustellen, ob ihre Bildung allein von der mäßigen, aber langdauernden Einwirkung der Schwefelsäure abhing, oder ob dabei auch die Mitwirkung eines Autolysenferments stattfand.

1) Vgl. S. 12 der vorstehenden Abhandlung Nr. 221.

2) Vgl. vorstehend S. 68.

3) Leupold, a. a. O. S. 36 und 38.

Man kann sich denken, daß in diesen Versuchen von Leupold die mäßige, aber wochenlang dauernde Einwirkung der verdünnten Schwefelsäure eine Abspaltung der Hexosegruppen unter Schonung der Acetylgruppe des Hyaloidins herbeigeführt hat, ähnlich wie in dem vorstehend erwähnten Versuche von Offer durch die starke, aber verhältnismäßig kurz dauernde Einwirkung der konzentrierteren Schwefelsäure alle Acetyle des Chitins abgespalten wurden und nur das eine Acetyl auf N_2 erhalten blieb.

Es scheint in den amyloidentarteten Organen ein Amyloid vorzukommen, welches die homogene, hyaline Beschaffenheit, den Glanz und die anderen Eigenschaften des Amyloid hat, aber keine Farbenreaktion gibt und welches Klebs als achromatisches Amyloid bezeichnet hat¹⁾.

Vielleicht kommt diese Form neben dem gewöhnlichen »chromatischen« Amyloid in den Organen häufiger als man es beobachten kann, vielleicht sogar regelmäßig vor. Aber er entzieht sich auch regelmäßig dem Nachweis, weil es dem Aussehen nach von dem gewöhnlichen Amyloid nicht zu unterscheiden ist und Reaktionen seine Gegenwart nicht kundgeben. Wenn es in größerer Menge auftritt, so würden die Reaktionen des daneben vorhandenen gewöhnlichen Amyloids schwächer ausfallen, als man nach der Beschaffenheit der entarteten Organe erwarten durfte. Aber man würde die Reaktion doch nur auf das gewöhnliche Amyloid beziehen.

Die Bezeichnung achromatisches Amyloid scheint darauf hinzudeuten, daß ihm auch die Methylviolettreaktion fehlt. Ob das zutreffend ist, vermag ich nicht zu entscheiden, da mir dazu die Originalliteratur fehlt. Aber undenkbar ist ein solches vollständig achromatisches Amyloid nicht. Es läßt sich künstlich aus dem gewöhnlichen, auf Methylviolett und Jod reagierenden Amyloid darstellen, wenn dieses mit Alkalien, z. B. mit Barytwasser, behandelt wird. Dabei hinterbleibt ein Körper, der absolut beständig gegen Barytwasser ist, ein vollkommen hyalines Aussehen hat und vollständig die physikalischen Eigenschaften des Amyloids beibehält, aber nicht mehr die typischen Reaktionen gibt¹⁾. Das Auftreten des achromatischen Amyloids im Organismus ist erklärlich, wenn man annimmt, daß an seiner Bildung das Hyaloidin nicht beteiligt ist. Vielleicht hat in diesem Falle das Amyloideiweiß ein anderes Molekulargefüge erhalten als das gewöhnliche Amyloid, so daß es auch durch Methylviolett nicht gefärbt wird. Diese Färbung kann auch dem gewöhnlichen Amyloid fehlen. Leupold beobachtete einen

1) Nach Leupold, a. a. O. S. 8.

Fall, in welchem durch Jod und Schwefelsäure die schönste Reaktion eintrat, mit intensiver, klarer, blauer Farbe, während die Jodreaktion an manchen Schnitten völlig ausblieb und die Färbung mit Methylviolett ganz fehlte.

Die Nichtbeteiligung des Hyaloidins bei der Umwandlung des abgelagerten Eiweißes in Amyloid beruht allem Anschein nach darauf, daß es in einem frühen Stadium der Entwicklung des letzteren abgespalten und, wie bei der Bildung von Collagen, in Chondroitinschwefelsäure umgewandelt wird. Das Amyloideiweiß bleibt in diesem Falle frei von dem die Jodreaktionen gebenden Bestandteil. Wenn in einem anderen Teile des Eiweißes das Hyaloidin selbst oder Spaltungsprodukte desselben mit dem Eiweiß in Zusammenhang bleiben, so bildet dieses Eiweiß das Material für das die Farbenreaktionen gebende Amyloid. Unter diesen Bedingungen können »achromatisches« und »chromatisches« Amyloid sowie Chondroitinschwefelsäure gleichzeitig gebildet werden. Auf die Frage, ob die letztere aus dem nicht abgespaltenen Hyaloidin auch im Zusammenhang mit dem Eiweiß entsteht, wird man durch die Versuche von Krawkow hingewiesen, der, wie oben S. 62 erwähnt, aus seinem Verdauungsamyloid die Chondroitinschwefelsäure isolieren konnte. Krawkow behandelte die amyloidhaltigen Organe vor der Verdauung mit schwacher Ammoniaklösung, um die nicht an Amyloid gebundene Chondroitinschwefelsäure zu entfernen. Es besteht aber nicht die Sicherheit, daß ihm das vollständig gelungen war, trotzdem er das Waschen mit Ammoniak und Wasser so lange fortsetzte, bis in der Waschflüssigkeit keine Chondroitinschwefelsäure mehr nachweisbar war. Da es anzunehmen ist, daß sie in dem Amyloid und nicht in dem lockeren Gewebe der Organe verteilt war, so kann jetzt, wo man die Verhältnisse besser übersieht, wohl der Zweifel auftauchen, ob die schwache Ammoniaklösung imstande gewesen ist, die Chondroitinschwefelsäure vollständig aus dem homogenen Amyloid zu entfernen. Experimentell wird sich die Frage leicht entscheiden lassen. Man braucht nur festzustellen, daß die Sagokörnchen der Milz stets frei von Chondroitinschwefelsäure sind, und dann genau nach dem Verfahren von Krawkow das Verdauungsamyloid darzustellen, um beurteilen zu können, woher jene Säure in den Präparaten von Krawkow stammte. Wenn in diesem Versuche das verdaute Sagokörnchenamyloid Chondroitinschwefelsäure enthalten würde, so wäre es erwiesen, daß sie in Form einer in Säuren unlöslichen Verbindung mit Verdauungsprodukten des Eiweißes oder, wie in meinen Versuchen am Knorpel, mit denen des

Collagens dem Amyloid sich bloß beigemischt hatte, vielleicht auch sich bei der Verdauung an das letztere in derselben Weise wie an andere Verdauungsprodukte gebunden hatte. Dann darf man auch schließen, daß die Chondroitinschwefelsäure in dem Verdauungsamyloid von Krawkow den gleichen Ursprung hatte, und in Alkalien zusammen mit dem Amyloid gelöst und in Verbindung mit diesem aus der Lösung durch Säure gefällt wurde.

Überblickt man alle, das Vorkommen des Amyloids in den Organen betreffenden Möglichkeiten, so ergeben sich recht verwickelte Verhältnisse.

Wenn man das Bestehen eines »achromatischen« Amyloids zuläßt und wenn die Erfahrung lehrt, daß ein Amyloid vorkommt, welches entweder nur eine oder nur zwei oder alle drei Farbenreaktionen gibt, so hat man es mit acht verschiedenen Amyloidformen zu tun. Diese Formen können in mannigfacher Weise nach ihrer Anzahl und der Intensität ihrer Reaktionen miteinander kombiniert in den verschiedenen Organen oder in demselben Organ der einzelnen Fälle vorkommen. Dazu kommt, daß die eine Reaktion durch eine andere ganz verdeckt oder abgeschwächt oder auch in der Farbe verändert werden kann. Die Blaufärbung einer schwachen Jodschwefelsäurereaktion wird nicht zur Wahrnehmung kommen, wenn an derselben Stelle die Braun- oder Braunrotfärbung durch Jod sehr intensiv ist. Wenn die braunrote Färbung durch Jod nicht zu stark ist, so mischt sie sich mit der gleichzeitig auftretenden blauen Färbung und die Reaktion ergibt eine violette Färbung, eine grüne dagegen, wenn das Jod nur das Gewebe gelb färbt. Alle diese Umstände erschweren den Ausfall der Reaktionen für die Praxis. Es müßte versucht werden, charakteristische Reaktionen für das Amyloideiweiß selbst zu ermitteln, was vielleicht nicht aussichtslos ist, gerade weil diese merkwürdige pathologische Eiweißart noch so wenig untersucht ist.

Der Zweck der vorliegenden Abhandlung besteht nicht darin, abschließende Tatsachen über die Beziehungen des Hyaloidins zu der Bildung der Chondroitinschwefelsäure, des Collagens und Amyloids zu bringen. Vielmehr sollen die auf das vorhandene tatsächliche Material gegründeten Ansichten als ebensoviele Fragen zu weiteren experimentellen Forschungen über das Hyaloidin dienen, das als Abkömmling der Kohlenhydrate einen nicht minder wichtigen Bestandteil der Eiweißstoffe bildet als die übrigen Spaltungsprodukte der letzteren, denen man bisher das Hauptinteresse zugewandt hat.

Baden-Baden, im März 1920.