

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VII.

- Fig. 1. a, b u. c. Degenerirte, gequollene Blutplättchen vom Menschen. (Zeiss D. Ocul. 4.)
- Fig. 2 u. 3. Gestalts-Veränderungen von Blutplättchen innerhalb $\frac{1}{2}$ Min., beobachtet auf Agar + NaCl + NaPO₃ + K₂HPO₄. (Zeiss D. Ocul. 4.)
- Fig. 4. Blut vom Menschen. Agarpräparat mit Osmiumsäure fixirt. (Zeiss, $\frac{1}{2}$ homog. Immers., Ocul. 2.)
a u. b Verschiedene Formen von Blutplättchen, während der Bewegung fixirt. Der Kern ist deutlich durch Hämatoxylin gefärbt.
c Riesenform eines Blutplättchens. e, f, g Leukocyten. h rothe Blutzellen.
- Fig. 5. Blutplättchen auf Agar bei stärkerer Vergrösserung. Im Kern ist eine Art Gerüstwerk, aus einer stärker und einer schwächer lichtbrechenden Substanz bestehend, zu erkennen. (Zeis, $\frac{1}{2}$ homog. Immers., Ocul. 4.)
- Fig. 6: Froschblut. a u. b „Spindeln“, kurz nach Entnahme. c Spindel a nach 5 Minuten. d Spindel a nach 1 Stunde. e Spindel b nach 1 Stunde.
- Fig. 7. Lithographie nach einer Photographie mit Osmiumsäure fixirten, mit Hämatoxylin gefärbten Agarpräparat.
Gruppen von Blutplättchen in verschiedensten Formen, mit stark gefärbten Kernen.

XIII.**Ueber Fett-Farbstoffe.**

(Aus dem städtischen Krankenhouse Gitschnerstrasse. Dirigirender Arzt:
Prof. Dr. M. Litten.)

Von

Dr. Leonor Michaelis, Assistenzarzt.

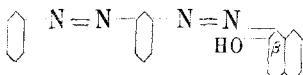
Es giebt einige organische Farbstoffe, welche in der Technik gebraucht werden, um Fette, Pomaden, Kerzen u. dergl. zu färben. Das sind u. A. das Alkannin in Form des Alkanna-Extractes und eine Reihe von Azofarbstoffen, unter denen das

Sudan III (Actiengesellschaft für Anilin-Fabrication, Berlin) einer der bekanntesten ist. Seit einigen Jahren hat man auch angefangen, diese Farbstoffe in der histologischen Technik zur Darstellung von Fetttröpfchen anzuwenden. Das gelingt sowohl, wenn man den Farbstoff an ein lebendes Thier verfüttert, wie auch, wenn man ihn auf fixirte Objecte einwirken lässt, seien es Gefriermikrotom-Schnitte oder Abstrichpräparate von Harnsedimenten u. dergl., die in Formalin fixirt sind. Eine Methode, welche die Erkennung von Fett erleichtert, mag auf den ersten Blick überflüssig erscheinen, da Fetttröpfchen sowohl morphologisch, wie durch ihr hohes Lichtbrechungs-Vermögen meist leicht erkennbar sind. Das ist aber doch nicht ganz der Fall; denn viele andere Körnchen, wie die reifen Zymogenkörnchen des Pankreas und der Speicheldrüsen, die eosinophilen Körnchen und eine ganze Reihe anderer Secretkörnchen, sind durch nichts von Fetttröpfchen zu unterscheiden. Eine schon seit langer Zeit übliche Methode zum exacten Nachweis des Fettes ist die Schwärzung desselben durch Osmiumsäure. Aber Jeder, der mit dieser Methode je gearbeitet hat, wird das Verlangen nach einer Controlmethode haben, denn die Osmium-Methode ist einerseits nicht eindeutig, — auch z. B. Hornsubstanzen schwärzen sich mit ihr —, andererseits ist sie nicht beweisend für Fett überhaupt. Denn, wie Altmann nachgewiesen hat, schwärzt sich nur die Oelsäure mit OsO_4 , nicht die anderen Fettsäuren.

Der beste von den oben genannten Fettfarbstoffen ist bisher das Sudan III. Es ist aber doch noch nicht vollkommen, weil es eine ziemlich helle Nuance hat und besonders die kleineren Fettropfen, auf die es gerade ankommt, nur orange färbt.

Da das Sudan eine ganz genau aufgeklärte Constitution hat, so machte ich es mir zur Aufgabe, festzustellen, auf welcher Eigenschaft des Moleküls die fettfärbende Eigenschaft beruht, um dann auf synthetischem Wege vielleicht zu besseren Fettfarbstoffen zu gelangen.

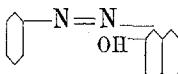
Das Sudan III hat die Constitution



(Azobenzol — azo β naphthol)

Es ist ein Tetrazofarbstoff, also ein Azokörper, welcher die Azogruppe zweimal im Molekül besitzt. Ferner fällt an der Formel auf, dass sie, trotz so vieler Kohlenstoff-Ringe, nur eine salzbildende Gruppe enthält, und zwar die Hydroxylgruppe (OH), welche in Ortho-Stellung zur Azogruppe an einem Naphthalinkern sitzt.

Zunächst konnte man annehmen, dass die doppelte Azo-gruppe dem Molekül die Eigenschaft der Fettfärbung verleiht. Als ich aber sah, dass auch ein einfacher Azofarbstoff,



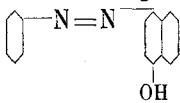
(Benzolazo β Naphtol)

Fett färbte, musste ich diese Annahme aufgeben.

Ich hatte somit einen viel einfacheren Fett-färbenden Körper gefunden, von dem ich nun weiter ausgehen konnte.

Ich stellte weitere Versuche mit einer grossen Zahl von Azokörpern an, welche ich mir zum Theil selbst darstellte, zum Theil in liebenswürdigster Weise von der Firma Kalle & Co. in Biebrich a. Rh. zur Verfügung gestellt erhielt. Ich spreche dieser Fabrik dafür meinen verbindlichsten Dank aus.

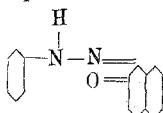
Zunächst untersuchte ich, ob man einen Fettfarbstoff nicht auch aus α Naphtol erhalten konnte. Ich stellte mir aus Diazo-benzol (Anilin + HNO_2) und α Naphtol folgenden Körper her:



(Benzolazo α Naphtol).

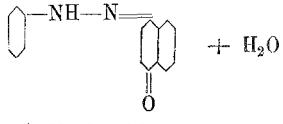
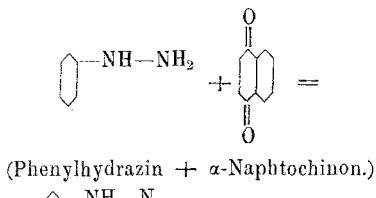
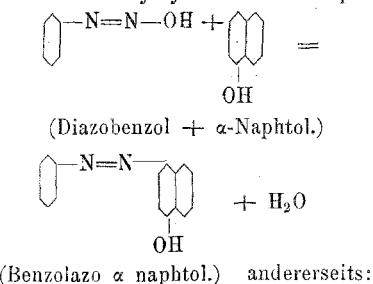
Dieser gelbrothe Farbstoff hat aber ganz andere Eigen-schaften. Er färbt nicht Fett, sondern das ganze Gewebe diffus. Es unterscheidet sich von dem entsprechenden β Naphtol-Farbstoff dadurch, dass er in Alkalien löslich ist, während der β Naphtol-Farbstoff weder in Säuren, noch in Alkalien, sondern nur in organischen Solventien, vor Allem in Chloroform, viel schlechter in Alkohol löslich ist, welche Eigenschaften er ganz mit Sudan III theilt. Die OH-Gruppe ist also bei den β -Naphtol-Farbstoffen nicht im Stande, mit Alkalien salzartige Verbindungen zu geben, hat mit anderen Worten keine sauren Eigenschaften.

Die Alkali-Unlöslichkeit des β -Naphthofarbstoffes zeigt, dass die OH-Gruppe des β -Naphthols in irgend einer veränderten Form in ihm enthalten sein muss, denn Phenole, also aromatische Körper mit einer freien OH-Gruppe, pflegen in NaOH löslich zu sein. Dieser Anschauung wird folgende Schreibweise des β -Naphthofarbstoffes gerecht:



Dass diese Schreibweise, welche sich von der obigen nur durch Verlagerung eines H und die dadurch hervorgerufenen Verschiebungen der Doppelbindungen unterscheidet, gerechtfertigt ist, geht aus folgender That-sache hervor.

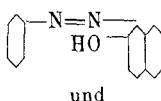
Nach den Untersuchungen von Zincke und Bindewald¹⁾ ist das Condensations-Product von Diazobenzol und α -Naphtol identisch mit dem Condensations-Product von Phenylhydrazin mit α -Naphtochinon.



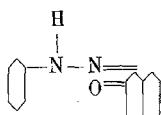
Da dieser Körper nun in Alkalien löslich ist, so muss man annehmen, dass er, wenigstens in alkalischer Lösung, die Azo-Constitution mit der OH-Gruppe besitzt, welche ihn zu einem phenolartigen Körper stempelt und daher alkalilöslich macht.

¹⁾ Berichte der deutschen chem. Gesellsch., XVII.

Dementsprechend wird man auch für den correspondirenden β -Naphtol-Farbstoff eine Tautomerie zwischen den beiden Formeln annehmen müssen:



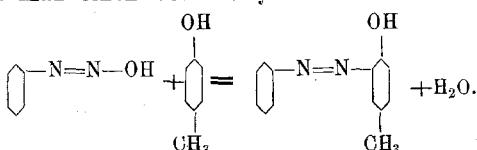
und



Die zweite Formel erklärt die Alkali-Unlöslichkeit vollkommen. Man muss also annehmen, dass auch bei Gegenwart von NaOH das Molekül nach der zweiten Formel constituiert ist. Nur in alkoholisch-alkalischer Lösung tritt eine Bindung des NaOH mit dem Farbstoff ein, was man aus der ungemeinen Löslichkeit des Farbstoffes in alkoholischer Natronlauge erkennt. In diesem Fall muss also eine Umlagerung in die erste Formel eintreten.

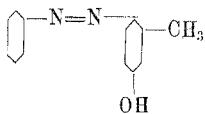
Wir haben also gesehen, dass zwei Farbstoffe, die sich nur dadurch unterscheiden, dass der eine ein Derivat des β -Naphtol, der andere ein Derivat des α -Naphtol ist, ganz verschiedene Eigenschaften in Bezug auf Fettfärbung haben. Nun unterscheiden sich die α -Naphtol-Azofarbstoffe von den β -Naphtol-Azofarbstoffen chemisch dadurch, dass erstere die Azogruppe in Para-Stellung zur OH-Gruppe, letztere in Ortho-Stellung zur OH-Gruppe haben. Wenn daher die fettfärbende Eigenschaft auf der Orthostellung der OH- und Azogruppe beruhen sollte, so müsste man auch Fettfarbstoffe darstellen können, welche keinen Naphthalinkern, sondern nur einen Benzolkern statt dessen enthalten.

Wenn man gewöhnliches Phenol mit Diazobenzol kuppelt, so geht die Azogruppe stets in die Para-Stelle zu OH. Ist aber die Para-Stelle besetzt, so greift die Azogruppe in die Ortho-Stelle ein. Wenn man also z. B. Diazobenzol mit Parakresol kuppelt, so bekommt man einen Ortho-Oxyazofarbstoff:



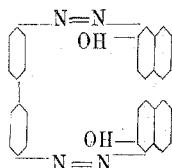
Ich stellte mir diesen Körper dar, und in der That färbt die Lösung desselben in 70 pCt. Alcohol Fett mit orangegelber Farbe.

Dagegen ist der aus Orthokresol dargestellte Azofarbstoff



alkalilöslich und färbt kein Fett, ganz der Annahme entsprechend.

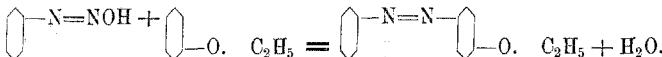
Ausserst interessant ist die Thatsache, dass die aus Benzidin und β -Naphtol oder Parakresol dargestellten Azofarbstoffe zwar Fettfarbstoffe sind, aber wegen ihrer enormen Schwerlöslichkeit und Schwer-Diffundirbarkeit, welche ihnen in Folge der Grösse des Moleküls anhaftet, ziemlich ungeeignet sind, Fett zu färben, wie ja überhaupt die Benzidin-Farbstoffe auch sonst von den übrigen Azofarbstoffen etwas abseits stehen. Ein solcher Farbstoff wäre z. B.



(Diphenyltetrazo-di β -naphtol), welchen ich mir darstellte, ebenso wie Diphenyletrazodiparakresol.

Ich glaubte somit festgestellt zu haben, dass die Ortho-Stellung der Azogruppe zur Hydroxylgruppe das Wesentliche der Fettfarbstoffe sei. Da machte ich aber folgende Beobachtung.

Ich stellte mir den Azofarbstoff aus Diazobenzol und Phenetol her:

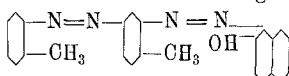


Dieser Farbstoff kann keinen Phenol-Charakter haben, weil er keine freie Hydroxylgruppe besitzt. Aber er ist nach Allem, was über die Azokörper bekannt ist, ein Para-azokörper. Trotzdem ist dieser Farbstoff ein Fettfarbstoff; er färbt das Fett mit orangegegelber Farbe.

Daraus musste der Schluss gezogen werden, dass nicht so sehr die Ortho-Stellung es ist, welche den fettfärbenden Charakter hervorruft, als vielmehr der Mangel einer freien OH-Gruppe, d. h. der Mangel jeglicher salzbildender Gruppe; sei es nun, dass die OH-Gruppe durch Substitution des H verändert wird, oder durch Umlagerung des H an ein anderes Atom.

Man kann also diese Untersuchungen in folgenden Satz zusammenfassen: Fettfarbstoffe sind diejenigen Azokörper, welche keine salzbildende Gruppe besitzen. Ich möchte diese Farbstoffe indifferenten Farbstoffe nennen, im Gegensatz zu den sauren und basischen Farbstoffen.

Damit war der Weg gegeben, neue Fettfarbstoffe synthetisch aufzubauen, welche das bisher gebräuchliche Sudan III an Farb-Intensität übertrafen. Am intensivsten in seiner Färbekraft erwies sich folgender, mir von Kalle & Co. zur Verfügung gestellter Farbstoff, welchen diese Firma unter dem Namen „Scharlach R“ oder Fettponceau in den Handel bringt:



(Azoorthotulolazo β -naphthol¹.)

Er ist in Wasser, Säuren, Alkalien unlöslich, in Alkohol schwer, in Chloroform und fetten Oelen und geschmolzenem Paraffin leicht löslich. In concentrirter H_2SO_4 löst er sich mit blauer Farbe. Sonst ist seine Lösung tiefrot und färbt auch das Fett selbst in Form der kleinsten Tropfen leuchtend roth. Man benutzt zum Färben der in Formalin gehärteten Gefriermikrotom-Schnitte, bezw. Abstrichpräparate eine gesättigte Lösung in 60—70 proc. Alkohol und färbt $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde. Man kann dann z. B. mit Böhmer'schem Hämatoxylin die Kerne gegenfärbten und die Schnitte in Glycerin oder Laevulose-Syrup aufbewahren. Glycerin hellt weniger auf, greift aber die Hämatoxylin-Färbung nicht an, was die Lävulose thut.

Ausser dieser praktischen Seite haben diese Untersuchungen noch eine viel interessantere theoretische Bedeutung. Bei keiner Färbung kann es offenkundiger sein, dass der Färbe-Process ein blosser Lösungsprocess, also ein physikalischer, nicht chemischer Vorgang ist, als bei der Fettfärbung. Und doch sahen wir, dass das Molekül, um in Fett löslich zu sein, eine ganz scharf zu charakterisirende chemische Constitution haben muss. Wenn man daher mit der Witt'schen Auffassung des Färbe-Proesses als „starrer Lösung“ von vorne herein nicht ganz in Einklang zu bringen vermochte, weshalb ein Farbstoff z. B. basische

¹) Zu haben bei E. Leitz, Berlin und Dr. G. Grübler, Leipzig.

Eigenschaften haben muss, um Kerne zu färben, und saure, um das Protoplasma zu färben, so wird das durch diese Untersuchungen verständlicher; auch die physikalischen Eigenschaften eines Körpers hängen von seiner chemischen Constitution ab. Die theoretische Erörterung dieser Frage gedenke ich an anderer Stelle ausführlicher vorzunehmen.

Meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Litten, auf dessen Anregung ich diese Untersuchung machte, spreche ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank aus.

XIV. Ueber Cystenleber.

Von

Wilhelm Müller, Arzt,
gewes. Assistent des Patholog. Instituts in Bern.
(Hierzu Taf. VIII.)

Vorstehende Arbeit verdankt ihre Entstehung einem Sectionsbefund bei einem 2 jährigen Mädchen, welches am 4. Juni 1899 in das Jenner'sche Kinderspital in Bern aufgenommen und am 26. Juli gleichen Jahres von den in Biel wohnenden Eltern wieder nach Hause geholt wurde. Herr Dr. Grütter, Arzt in Biel, der während des Aufenthaltes des Kindes im Jennerspital daselbst Assistent war, besuchte das Kind später einige Male, und auf seine dankenswerthe Mittheilung vom erfolgten Exitus konnte die Section von uns am 21. Februar 1900 in dem von den Eltern des Kindes bewohnten Hause in Biel ausgeführt werden. Das Haupt-Ergebniss dabei war ein grosser, von der Leber ausgehender, fast das ganze Abdomen einnehmender Tumor, denn ich auf Anrathen des Herrn Professor Langhans einer genaueren Untersuchung unterzog.