



Princeton University Library



32101 079671564

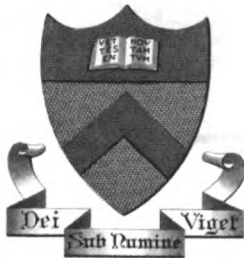


City Library
71564



8617
.181

Library of



Princeton University.

Presented by
Charles Milliston M^r. Alpin,
Class of '88.



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Straßburg i. Els., **C. v. Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe l. B., **A. Burg**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Háy**-Budapest, **A. Heffer**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus**-Levy-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **F. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molesch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Fick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sørensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklass**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeler**-München, **H. Thoms**-Berlin, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wierchowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von
C. Neuberg-Berlin

Fünfundachtzigster Band.



MORPHOLOGICAL LABORATORY
GREEN SCHOOL OF SCIENCE,
PRINCETON, N. J.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1918.

(RECAP)

8617

.181

(1918)

85 Bd.

UNIVERSITY
LIBRARY
L. A. MOTECHNIP

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Herzfeld, E. und R. Klinger. Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie. II.	1
Fellenberg, Th. von. Über den Nachweis und die Bestimmung des Methylalkohols, sein Vorkommen in den verschiedenen Nahrungsmitteln und das Verhalten der methylalkoholhaltigen Nahrungsmittel im Organismus	45
Fellenberg, Th. von. Über die Konstitution der Pektinkörper . . .	118
Baumgärtel, Traugott. Über die spektroskopisch-quantitative Bestimmung des Urochromogens	162
Feigl, Joh. Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum. I.	171
Belling, R. Über die Desinfektionswirkung von Chinaalkaloiden auf pathogene Bacillen	188
Feigl, Joh. und Rud. Deussing. Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum. II.	212
Löffler, Wilhelm. Desaminierung und Harnstoffbildung im Tierkörper	230
Loew, Oscar. Über die Natur der Giftwirkung des Suprarenins . .	295

Friderici, L. S. Untersuchungen an Menschen über Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Blut der Pulmonalarterie und über Messung des Minutenvolumens des Herzens	307
Jacoby, Martin. Über die Einwirkung der Aldehyde auf die Urease	358
Feigl, Joh. Neue Beiträge zur deskriptiven Biochemie gewisser Ödem- zustände. I. Untersuchungen an Blut und Serum	365
Euler, Hans. Über Enzyymbildung	406
Autorenverzeichnis	418

Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie.

II.

Die Immunitätsreaktionen.

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Aus dem chemischen Laboratorium der med. Klinik und aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 14. August 1917.)

In der folgenden Mitteilung sollen die wichtigsten Probleme der Immunitätsforschung mit den in unseren vorhergehenden Arbeiten entwickelten Vorstellungen über den Bau der Eiweißkörper in Beziehung gebracht und auf dieser Grundlage eine Erklärung derselben versucht werden. Wenn es auch verfrüht wäre, eine Theorie der hierhergehörigen Phänomene aufzustellen und noch manches weiter hypothetisch bleiben muß, so scheint uns ein Versuch, die zur Zeit herrschenden Theorien durch neue, chemisch besser fundierte Begriffe zu ersetzen, durch den gegenwärtigen Stand der Eiweißchemie nicht nur berechtigt, sondern geradezu notwendig geworden.

Jede Immunisierung beruht auf dem Eindringen körperfremder Stoffe („Antigene“) ins Innere des Organismus; diese rufen die Bildung bestimmter neuer Körper („Antikörper“) hervor, die sich durch besondere Eigenschaften gerade in bezug auf den antigenen Stoff auszeichnen: sie führen, wenn sie wieder mit neuem Antigen zusammentreffen, zu den bekannten *in vitro* oder *in vivo* nachweisbaren Reaktionen, auf die die Immunität und die Überempfindlichkeit zurückgeführt werden.

Die Hauptprobleme der Immunitätsforschung lassen sich so formulieren: Welcher Natur sind die Beziehungen zwischen

Antigen (Atg) und Organismus? Durch welche Vorgänge wird auf die Atg-Injektion hin der Antikörper (AK) gebildet? Welcher Art ist die Reaktion zwischen AK und Atg und namentlich: worauf beruht die spezifische Einstellung des AK auf ein bestimmtes Atg?

Wir werden im folgenden ausführen, daß das Wesentliche bei allen Immunisierungsvorgängen darin beruht, daß das Atg im Organismus bis zu einem gewissen Grade aufgespalten wird, worauf die von ihm stammenden, noch spezifisch zusammengesetzten Abbauprodukte an die Oberfläche geeigneter kolloider Eiweißteilchen adsorbiert werden und in dieser Form den „AK“ darstellen. Treffen die AK-Teilchen wieder mit Atg zusammen, so vermögen sie dasselbe dank den auf ihrer Oberfläche befindlichen Spaltprodukten elektiv zu adsorbieren. Die Folge sind bestimmte Veränderungen beider Kolloide häufig sichtbare oder ultramikroskopische Fällungen sowie eine Reihe weiterer Erscheinungen, die dadurch sekundär bedingt sind. (Anaphylaxie u. ähnl.)

Wir wollen nun diese Vorstellungen im einzelnen entwickeln und werden zu diesem Zweck die verschiedenen Tatsachen der Immunitätslehre eingehender analysieren. Während viele bisher ungenügend geklärte Vorgänge auf Grund dieser Vorstellungen verständlicher werden dürften, ergeben sich aus denselben auch wieder neue Fragestellungen, auf die wir im Laufe unserer Ausführungen hinweisen werden. Die weitere chemische Bearbeitung dieses Gebietes scheint uns jedenfalls vielversprechend und wird sich gewiß als sehr fruchtbar erweisen.

Wir beginnen mit den wesentlichen Eigenschaften der Antigene und möchten zunächst diejenigen Atg besprechen, die artspezifische AK hervorrufen; denn diese gelten ja für gewöhnlich als Atg im strengen Sinne des Wortes. Es ist bekannt, daß nur höher zusammengesetzte Stoffe die Fähigkeit besitzen, Antikörper zu bilden. Früher wurde vor allem auf die kolloidale Natur aller hierhergehörigen Stoffe Nachdruck gelegt; da in der Tat alle Körper, die typische AK hervorzurufen vermögen, Kolloide sind, wurde angenommen, daß die Entstehung dieser Immunstoffe an den kolloidalen Zustand des Atg gebunden sei. Eine tiefere Einsicht in das Wesen dieser Gesetzmäßigkeit wurde aber unseres Wissens nicht er-

reicht. Ja es blieb sogar die Frage offen, warum lange nicht alle Kolloide Antigene sind, sondern — wenn wir von den relativ indifferenten wie kolloidale Metalle, Schwefel usw. absehen — warum selbst von denjenigen Kolloiden, die infolge schwach saurer oder alkalischer Reaktion eiweißfällend wirken, sich die meisten nicht zur Immunisierung eignen? Es scheint uns deshalb der physik.-chem. Zustand für diese Gruppe von Atg nur in zweiter Linie von Bedeutung, die Abbaufähigkeit des Stoffes hingegen die wichtigste und unerläßliche Eigenschaft: nur solche hochmolekulare Körper, die im tierischen Organismus durch allmähliche Aufspaltung in Komponenten zerfallen, die zu der Muttersubstanz noch bestimmte chemische Affinitäten besitzen, können, indem sie von gewissen Eiweißteilchen fest adsorbiert werden, artspezifische AK liefern. Um diese Artspezifität zu ermöglichen, ist notwendig, daß die Spaltprodukte des Atg noch eine für sie charakteristische chemische Zusammensetzung besitzen, denn wäre dies nicht der Fall, so könnte man unmöglich verstehen, warum der betreffende AK gerade nur mit diesem und nicht mit einer ganzen Anzahl anderer Atg reagieren sollte.

Ein weiterer Grund, warum vor allen hoch zusammengesetzte Kolloide zu Immunisierungen tauglich sind, ist, daß sie durch die Nierenmembranen nicht austreten können; sie müssen daher mindestens so lange im Körper verweilen, bis sie in niedere dialysable Bausteine aufgespalten sind. Dadurch wird eine gewisse Anreicherung dieser Stoffe im Körper möglich und kann oft längere Zeit aufrechterhalten werden. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß größere (selbst noch kolloidale) Spaltstücke, wie sie aus hoch synthetisierten Körpern hervorgehen, im allgemeinen fester an Kolloidoberflächen adsorbiert werden als niedermolekulare Stoffe, die zwar auch an Oberflächen gehen, meist aber viel lockerer haften und deshalb leichter von Teilchen zu Teilchen wandern.

Eine bekannte und eigentlich selbstverständliche Forderung, die an diese wie überhaupt an jedes Atg gestellt werden muß, ist ferner seine Körper- resp. Zirkulationsfremdheit. Da alle AK-Bildung auf einer qualitativen Veränderung gewisser Eiweißteilchen des Blutes beruht,

kann eine solche begreiflicherweise nicht erfolgen, wenn wir nichts qualitativ Neues einführen. Injizieren wir einem Hammel Hammelserum, so ist nichts wesentlich anderes geschehen, als wenn wir ihm einen Teil seines eigenen Blutes entnommen und sofort oder nach Gerinnung wieder injiziert hätten. Arteigenes Serum kann gelegentlich, wenn es noch thrombinhaltig ist, bestimmte Wirkungen entfalten, zu einer AK-Bildung kann es aber unmöglich führen. Dasselbe wäre der Fall, wenn man etwa aus einem Pleuraerguß wiederholt Proben entnehmen und demselben Individuum subcutan injizieren würde. Erst wenn zirkulationsfremde, von den Bluteiweißkörpern strukturell abweichende Körper eingeführt werden, ist die Möglichkeit zu einer AK-Produktion geboten.

Diese Bedingung wird nicht nur von artfremdem Eiweiß erfüllt, wir können auch mit körpereigenen Eiweißstoffen immunisieren, sofern dieselben in ihrem Bau von den Bluteiweißkörpern abweichen. Sie müssen außerdem aus Zellen stammen, die entweder überhaupt im Körper nicht nennenswert zerfallen (Linseneiweiß, Spermatozoen) oder doch so zugrunde gehen, daß nur ihre tieferen Abbauprodukte, nicht aber das kolloidale Eiweiß ihres Protoplasmas in die Blutflüssigkeit gelangt, zwei Forderungen, die anscheinend nur für wenige Organe (mehr weniger) erfüllt ist. Die Erwartung, im Blute spezifische AK gegen verschiedene Zellen (Tumoreiweiß, gegen Placenta bei Gravidität, gegen Zellen zertrümterter oder pathologisch zerstörter Organe) anzutreffen oder hervorbringen zu können, hat sich insofern nicht bestätigt, als die erwartete Spezifität lange nicht so ausgeprägt ist und sich meist nur in einer Steigerung des Abbauvermögens äußert, die auch gegenüber jedem anderen Eiweiß zum Ausdruck kommt (wobei gewisse Unterschiede oft mehr von der Aufspaltbarkeit des verwendeten Eiweißes als durch die Spezifität der „Abbaufemente“ bedingt sind). Andererseits dürfte die Möglichkeit, mit Hornsubstanzen, Amyloid, Casein usw. zu immunisieren, aus Eidotter mehrere verschiedene Atg zu gewinnen u. ähnl., zur Genüge beweisen, daß es neben der Artspezifität noch eine chemische Spezifität gibt (s. u.); wie ja genau genommen die erstere nur ein besonderer Fall der letzteren sein kann. (Auf die Frage der „Zustands-Spezifität“ möchten wir in einer späteren Arbeit näher eingehen.)

Als typische Atg werden vielfach nur solche angesehen, die zu den mit den serologischen Methoden nachweisbaren Fällungen führen, also Agglutininogene, Präcipitinogene, komplementbindende und chok-auslösende Atg. Diese bilden aber nur eine erste, gewissermaßen die höchststehende Gruppe der artspezifischen Atg und die für dieselbe charakteristischen Dis-

persitätsänderungen des Atg-AK-Gemisches sind in erster Linie durch die Beschaffenheit des Atg bedingt: dieses muß, damit die Fällung eintritt, aus relativ großen Teilchen bestehen, die nicht zu sehr durch eigene Abbauprodukte stabilisiert sein dürfen. Hiermit sind aber die möglichen Atg-artigen Substanzen noch keineswegs erschöpft. Denn zweifellos können auch noch weniger hoch synthetisierte Teilchen streng spezifische AK hervorbringen, wofern sie nur den eingangs erwähnten Grundbedingungen entsprechen. Sie bringen aber, wenn sie mit dem AK in vivo oder in vitro zusammentreffen, keine Fällung mehr hervor, ihre AK sind deshalb mit den auf dem Nachweis von Fällungen beruhenden Reaktionen der Serologie nicht mehr erkennbar. Wir können sie daher nur noch dann feststellen, wenn ihnen besondere Eigenschaften zukommen, die sie durch den Kontakt mit dem AK verlieren oder erlangen. Dies ist nun in der Tat für eine Reihe von Stoffen der Fall, die wir als Toxine kennen, Körper, die meist nicht mehr zu den eigentlichen Eiweißkörpern gehören, sondern überwiegend höhere, noch kolloidale Eiweißabbauprodukte mit wenig kolloidalem Eiweiß sind. Hier gestattet uns die primäre Giftigkeit des Stoffes und seine Entgiftung nach Adsorption an den AK, die Existenz eines spezifischen AK im Serum des behandelten Tieres festzustellen. Wäre dies nicht der Fall, so hätten wir vorläufig kein sicheres Mittel, um Antitoxine nachzuweisen und die Entstehung von AK nach Injektion dieser „Albumosen“ anzunehmen. Auf gleicher Stufe wie die Toxine stehen aber viele mäßig aufgespaltene Eiweißkörper, wie wir sie durch Verdauung oder andere proteolytische Einwirkung erhalten. Von diesen wird allgemein bereits angegeben, daß sie keine Atg mehr sind, d. h. keine AK mehr hervorrufen. In der Tat können wir solche, da diese Stoffe meist ungiftig sind, nicht nachweisen¹⁾. Es wäre aber unserer Ansicht nach

¹⁾ Von der toxischen Wirkung, die viele tierische Sera und Eiweißabbauprodukte bei intravenöser (plötzlicher) Injektion größerer Mengen ausüben (chok-artige Wirkung) sehen wir hier ab. Sie ist von der Gegenwart von AK unabhängig (Simmel, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 22, 694) und hat anscheinend ihre eigenen Gesetze der Unempfindlichkeit. Die primäre Toxizität vieler Sera ist sicher durch niedere Abbauprodukte bedingt. Daher finden sich die toxischen Stoffe, wie Friedberger

richtiger, zu sagen, daß sie mit ihren AK nicht mehr unter Fällung reagieren. Der Grund für dieses Verhalten ist bei Berücksichtigung der Gesetze der Eiweißfällbarkeit leicht ersichtlich: Diese Atg sind als Eiweißabbauprodukte viel besser wasserlöslich als die noch koagulierbaren Eiweißteilchen. Wenn daher ein kolloidales AK-Teilchen ein oder mehrere solcher Atg-Teilchen adsorbiert, wird die Löslichkeit (Stabilität) des AK-Globulinteilchens dadurch nicht herabgesetzt, sondern eventuell sogar erhöht. Aus dem Fehlen von Fällungen aber auf Unfähigkeit zur AK-Bildung zu schließen, geht nicht an und wird gerade durch die Existenz von Antitoxinen als unberechtigt erwiesen. Es muß vielmehr angenommen werden, daß die der Toxinstufe entsprechenden (aber ungiftigen) Abbauprodukte vieler Eiweißkörper ganz ähnlich spezifische AK bilden wie die Toxine. Es ist sogar wahrscheinlich, daß auch tiefer, an der Grenze zwischen Albumosen und Peptonen stehende Körper (die tieferen Vertreter unserer Gruppe II) noch zur Produktion AK-ähnlicher Stoffe Anlaß geben werden, vorausgesetzt, daß sie (resp. ihre an die Fibrinogenteilchen adsorbierten Spaltstücke) noch spezifisch gebaut sind¹⁾. Je tiefer die Atg-Teilchen hinsichtlich ihrer spezifischen Struktur stehen, desto weniger artspezifisch können natürlich die von ihnen stammenden AK sein. Es wird zunächst eine immer ausgedehntere „Gruppen“-spezifität (Mitreaktion art-verwandter Atg) zu erwarten sein, bis schließlich überhaupt alle Art-Spezifität verschwindet.

Dort wo die Art-Spezifität aufhört, ist aber noch nicht die Grenze des antigenen Vermögens überhaupt erreicht. Es sind vielmehr viele Stoffe bekannt geworden, die im Tierkörper zwar keine artspezifischen, wohl aber noch für sie selbst spezifische Gegenstoffe (AK) hervorrufen. Am interessantesten sind in dieser Hinsicht die Arbeiten von Pick und namentlich nachgewiesen hat, in der Albuminfraktion (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 21).

¹⁾ Diese könnten z. B. wohl die Ursache von manchen allergischen Erscheinungen (s. u.) sein, wie Urticaria u. ähnl., die bei wiederholter Zufuhr gewisser Stoffe mit der Nahrung (Resorption noch nicht ganz unspezifischer Bausteine) beobachtet wird. Daß vom Darm aus noch spezifisch gebaute Eiweißspaltstücke aufgenommen werden können (wenn dies auch nicht die Regel sein dürfte), geht aus zahlreichen Immunisierungsversuchen hervor.

lich von Landsteiner über die Immunisierung mit chemisch stark veränderten Eiweißkörpern. Sie zeigen, daß es gelingt, Serumeiweiß durch Einwirkungen von HNO_3 , Acetanhydrid, Diazomethan usw. so zu modifizieren, daß dieselben nur mit solchen Immunseren reagieren, die mit einem in gleicher Weise vorbehandelten Eiweiß erhalten wurden. Wesentlich hierbei ist, daß die Art-Spezifität solcher Eiweißkörper fast immer aufgehoben und durch die neu aufgetretene chemische Spezifität ersetzt ist. Die Eiweißabbauprodukte sind durch die chemische Behandlung teils entfernt, teils so sehr verändert, daß sie die kolloidale Verteilung der Teilchen nicht mehr ermöglichen. Diese Substanzen sind daher auch gegenüber Abbau„fermenten“ (Pepsin, Trypsin) resistent (denn es ist, wie wir gezeigt haben, die Anwesenheit chemisch nicht veränderter Abbauprodukte an den Oberflächen der Teilchen notwendig, um solche Fermentwirkungen zu vermitteln). Im tierischen Organismus werden solche Präparate jedenfalls nur sehr langsam und unvollkommen aufgespalten. Daher kann eine Art-Spezifität der entstehenden AK, die nur auf Gegenwart artspezifischer Spaltstücke beruhen könnte, hier nicht zum Vorschein kommen. Die Eiweißteilchen sind bloß die Träger der besonderen chemischen Gruppen und können daher von beliebiger Herkunft (z. B. Edestin) sein. Indem sie im Tiere ähnlich wie andere Atg adsorbiert werden, liefern sie AK-artige Globuline, die zugleich mit dem Atg diese für dasselbe charakteristischen Gruppen (CH_2 , NO_2 usw.) tragen. Sobald dieselben daher mit Partikelchen zusammentreffen, die dieselben methylierten, alkylierten usw. Abbauprodukte aufweisen, findet auf Grund dieser gemeinsamen Bestandteile eine gegenseitige Adsorption und dadurch Fällung (und Komplementbindung) statt. — Ganz ähnlich sind wohl die von verschiedenen Forschern beschriebenen AK gegenüber eiweißfreien Atg (z. B. die Versuche von Dörr und Pick, Landsteiner u. a. über Präzipitinogene im Harn) aufzufassen. Auch hier fehlt stets und notwendigerweise die Art-Spezifität, die ja an das Vorkommen hoch synthetisierter Peptide gebunden ist. — Wir möchten hierher ferner die gegenüber manchen Arzneimitteln beobachteten, an Immunitätsreaktionen erinnernden spezifischen Fällungen stellen, wie sie u. a. Danysz eingehend

für Arsenobenzolpräparate studiert hat (Ann. Pasteur 1917). Alle diese Atg müssen natürlich aus relativ grob dispersen, wenig stabilen Teilchen bestehen, wenn anders die durch Adsorption entstehenden Atg-AK-Komplexe unlöslich sein und ausfallen sollen. Ob die Reaktionskörper, die diese und noch tiefer stehende Stoffe wie Laktophenin (Hanssen), Phenokoll (Stalling), Alkaloide usw. hervorrufen, wirklich noch als AK (im weitesten Sinne) bezeichnet zu werden verdienen, möchten wir hier nicht diskutieren. Es dürfte aber jedenfalls schwer sein, eine scharfe Grenze zu ziehen, welche die nicht artspezifischen Immunitätsreaktionen von den Erscheinungen der Arzneifestigkeit, Giftgewöhnung u. ähnl. scheiden könnte.

Diese Auffassung, wonach die Atg und die ihnen koordinierten AK keine scharf umgrenzte Gruppe von Stoffen darstellen, sondern eine kontinuierliche Reihe bilden, die von den höchst zusammengesetzten bis zu den relativ einfach gebauten Stoffen führt, dürfte den experimentell gefundenen Tatsachen besser gerecht werden als die bisherige, schematische und häufig etwas gewaltsame Einteilung. Wir werden zweckmäßig einerseits artspezifische, andererseits bloß „chemisch“spezifische Atg (und AK) unterscheiden und in beiden Gruppen teils solche, die mit ihren AK unter Fällung reagieren, teils solche bei denen dies nicht mehr der Fall ist; vielleicht gelingt es später, dieselben noch weiter in Untergruppen aufzulösen. Aber schon für diese Hauptgruppen muß betont werden, daß sie ohne scharfe Grenze ineinandergehen; eine solche Zwischenzone bilden z. B. alle Eiweißkörper, die sich infolge großen Gehalts an höheren Abbauprodukten den Körpern der Toxinstufe nähern. Hier werden bei Immunisierungen bald mehr, bald weniger deutliche Fällungs-AK erhalten, bald gelingt der serologische Nachweis von AK noch, bald nicht mehr, wofür es in der Fachliteratur verschiedene Beispiele gibt. Auch die Tatsache, daß manche mäßig abgebaute Eiweißkörper wohl noch sensibilisieren, aber keine Fällung mit dem AK mehr auslösen (z. B. gewisse Albumosen in Versuchen von E. Zunz), zeigt, daß AK-Produktion auch noch durch Stoffe möglich ist, die selbst infolge zu geringer Teilchengröße keine der typischen Immunreaktionen mehr geben ¹⁾.

¹⁾ Wenn erhitzte Eiweißlösungen nur schlecht präzipitiert werden, aber noch gute Präzipitinogene sind, so beruht dies auf der besonderen, durch die Erhitzung bewirkten Veränderung der Oberflächen der Teilchen.

Es ist aber zu hoffen, daß es gelingen wird, für die durch serologische Methoden nicht mehr erkennbaren Atg-AK-Reaktionen chemische Methoden ihres Nachweises aufzufinden. Viele bisherige Arbeiten über Immunisierung mit Abbauprodukten haben wohl nur deshalb negative oder unklare Resultate geliefert, weil man unbedingt Fällungs-AK suchte.

Wir haben im vorhergehenden ausschließlich Eiweißkörper und ihre Derivate ins Auge gefaßt. Es scheint uns aber notwendig, hier auf die in den letzten Jahren mit wachsendem Interesse untersuchten, wenn auch noch immer viel zu wenig bekannten Lipide die Aufmerksamkeit zu lenken. Nach allem, was wir aus den Angaben der Literatur und aus eigenen Studien ersehen können, dürfte auch für diese Körper ein analoges Verhalten für ihre Löslichkeit und kolloide Verteilbarkeit bestehen, wie wir es für die Eiweißkörper nachgewiesen haben. Auch hierbei scheinen wasserlösliche Spaltprodukte von Bedeutung zu sein. Wir können auf diese noch ungeklärten Verhältnisse hier nicht näher eingehen, möchten aber schon jetzt darauf hinweisen, daß im Prinzip die Möglichkeit einer AK-Bildung gegen Lipide zugegeben werden muß, wenn auch ihr Vorkommen zur Zeit noch nicht als erwiesen gelten kann. Daß dieselben in mancher Beziehung von den Eiweiß-AK abweichen könnten (z. B. hinsichtlich ihrer Art-Spezifität, s. S. 23, ihrer passiven Übertragbarkeit [K. Meyer] usw.), ist auf Grund ihres chemisch doch weitgehend differenten Baues zu erwarten. Die Versuche von K. Meyer, Bang und Forßmann, Landsteiner u. a. sprechen jedenfalls sehr dafür, daß auch mit Lipiden Fällungs-AK erhalten werden, daß also die Spaltstücke dieser Stoffe, an geeignete Oberflächen adsorbiert, mit dem Ausgangsmaterial unter Fällung reagieren können.

Schließlich muß noch darauf hingewiesen werden, daß zweifellos Verbindungen von Lipiden mit Eiweißabbauprodukten möglich und anscheinend sogar biologisch von großer Bedeutung sind. Es ist wahrscheinlich, daß gewisse Bausteine der Eiweißkörper einerseits, der Lipide andererseits füreinander eintreten können, um Lipid- resp. Eiweißteilchen kolloidal löslich zu machen. Speziell von den Toxinen darf angenommen werden, daß ihre Wirkung wenigstens zum Teil auch gegen Lipide gerichtet ist und daß sie mit Lipiden lösliche Verbindungen

eingehen. Inwieweit ein derartiges Verhalten auch auf die AK-Bildung und auf die Natur der entstehenden AK von Einfluß ist, wird die nähere chemische Erforschung dieser Körper lehren.

Wir wollen nun die Art, wie wir uns die Umwandlung eines parenteral zugeführten artspezifischen Atg in den AK und die Ausbildung der Immunität vorstellen, an einem Beispiel verfolgen. Wenn wir einem Tiere ein Eiweiß-Atg, z. B. artfremdes Serum parenteral zuführen, so ist dasselbe (von toxischen Beimengungen, meist proteolytisch wirksamen Abbauprodukten, wie sie manche Sera enthalten, sehen wir ab) an sich indifferent. Es gelangt in die Zirkulation und kreist im Blut, wo es mit der Präcipitinreaktion noch einige Zeit nachweisbar bleibt. Allmählich wird es aber durch autolytische Vorgänge aufgespalten, und die entstehenden höheren Abbauprodukte werden an geeignete Eiweißteilchen adsorbiert. Als solche dürften aus den a. a. O.¹⁾ näher ausgeführten Gründen namentlich die frisch durch Zellzerfall in das Blut gelangenden, relativ grob dispersen Eiweiß-Teilchen („Fibrinogenstufe“) in Betracht kommen. Diese besitzen mit Abbauprodukten nur wenig versehene, daher gut adsorbierende Oberflächen. Indem sie die noch spezifisch gebauten Spaltstücke des Atg an ihre Oberfläche binden, werden sie in AK-Teilchen umgewandelt; so tritt im Blut ein für dasselbe neuer Bestandteil auf: Eiweißteilchen, die infolge des für sie charakteristischen Gehaltes an Atg-Abbauprodukten eine besondere Eigenschaft in bezug auf frisch hinzugebrachtes Atg gleicher Art aufweisen, nämlich die Fähigkeit, dasselbe elektiv an ihre Oberfläche zu adsorbieren und dadurch mit den Atg-Teilchen relativ größere, wenig stabile Komplexe zu bilden.

Wenn wir anstatt Eiweiß höhere Eiweißabbauprodukte, z. B. Diphtherietoxin, einführen, so kommt diesen Stoffen meist schon an sich toxische (proteo- resp. lipolytische) Wirkung zu, die sich direkt in Schädigung gewisser Zellen äußert (Auflösung von Zellmembranen oder ganzen Zellen am Ort der Injektion [Schorfbildung, Nekrose], Gefäßschädigung [Ödeme, Exsudation, Hämorrhagien], Wirkung auf gewisse nervöse Appa-

¹⁾ Diese Zeitschr. 83, 3/4, 1917.

rate [Lähmung, Erweiterung gewisser Gefäßbezirke usw.], zum Teil wird es auch an Eiweißoberflächen des Blutes gebunden; wir haben ja gesehen, daß im kreisenden Blute stets einzelne Teilchen sich vorfinden, die zu solchen Adsorptionen besser geeignet sind. Ein Teil des Toxins wird dadurch unschädlich gemacht („Normal-Amboceptoren“, natürlicher Immunkörpergehalt des Blutes). Meist ist die dadurch primär gebundene Giftmenge aber nur gering. Das Gift hat zu anderen Substanzen des Organismus (Lipoide gewisser Membranen oder Nervenendigungen) eine größere (weil chemische) Affinität und wird deshalb viel früher dort verankert, bevor es in nennenswerter Menge an Fibrinogenteilchen usw. adsorbiert werden kann. So kommen die oben erwähnten Wirkungen zustande, von denen wir hier den lokal an der Injektionsstelle (subcutan) auftretendem proteolytischen Zellzerfall insofern hervorheben möchten, weil er zu einer Auflösung von Zelleiweiß führt. Es ist wahrscheinlich, daß das Toxin, das diese Proteolyse bewirkt und hierbei selbst etwas tiefer aufgespalten wird, an die hierdurch freiwerdenden Kolloidteilchen adsorbiert wird, so daß eine lokale AK-Bildung (am Ort der stärkeren Konzentration des Atg) in solchen Fällen angenommen werden kann.

Diese Aufspaltung und Adsorption der ersten Atg-Dose hat einige Tage in Anspruch genommen. Wenn wir nach dieser Zeit neuerlich dasselbe Atg (in geeigneter, mäßig erhöhter Menge) injizieren, so trifft es im Organismus bereits AK-Teilchen an, an die es dank den darauf befindlichen, ihm ähnlichen Abbauprodukten, mit ausgesprochener Affinität gebunden wird. Handelt es sich um direkt giftige Stoffe (Toxine), so werden dieselben dadurch entgiftet, d. h. sie können, sobald sie an den AK adsorbiert sind, die ihnen sonst eigenen, zellschädigenden Wirkungen nicht mehr entfalten. Neuerliche Krankheitserscheinungen bleiben daher aus. Die so entstehenden Atg-AK-Komplexe werden allmählich wieder aufgespalten und führen zu weiterer AK-Produktion (s. u.). Durch mehrmalige Atg-Zufuhr kann deshalb der „Serumtiter“, d. h. der Gehalt des Blutes an AK, immer höher getrieben werden. Auf einige, hierbei wichtige Einzelheiten kommen wir im folgenden noch zurück.

Die Entstehung der AK aus dem Atg einerseits,

aus den jeweils frisch durch den (physiologischen oder pathologisch gesteigerten) Zellzerfall freiwerdenden Eiweißteilchen des Blutes andererseits scheint uns diejenige Hypothese, die allein die Tatsachen der Immunitätsforschung zu erklären vermag, ohne mit den Grundlehren der Zellchemie in offenen Widerspruch zu treten. Wir erinnern diesbezüglich an folgendes:

Nach allem, was wir von den AK wissen, sind sie an gewisse Eiweißkörper („Globulin“gruppe) des Blutplasmas und der Körpersäfte gebunden. Eine Abtrennung hiervon gelingt nicht. Wir dürfen daher behaupten, daß die AK Eiweißkörper sind und halten alle Versuche, dieselben vom Blut-eiweiß zu isolieren, für prinzipiell aussichtslos. Es wäre zwar theoretisch denkbar, die an den Globulinteilchen adsorbierten Atg-Derivate von diesen abzutrennen. In diesem Augenblicke hätten wir aber in keiner der beiden Komponenten mehr den AK, sondern bloß indifferentes Eiweiß einerseits, Atg-Derivate andererseits.

Halten wir an der Eiweißnatur der AK fest, so ist die Produktion derselben seitens lebendiger, d. h. noch von intakten Membranen umgebener Zellen nach dem in unserer ersten Mitteilung Gesagten ausgeschlossen. Eiweißkörper können durch diese Membranen weder nach außen noch nach innen passieren, eine „Sekretion“ von Eiweiß durch irgendeine Zelle ohne Auflösung ihrer Membran ist daher unmöglich. Die Annahme, daß die AK bildende Zelle zugrunde gehen muß, damit die AK im Blute vorkommen können, wäre somit auch für die Hypothese eines endocellulären Ursprungs derselben notwendig. Sie hätte aber noch eine zweite Schwierigkeit zu überwinden, daß nämlich auch das Atg ein kolloidaler Körper ist und deshalb durch die Membran nicht eintreten kann, es sei denn, daß es vorher in dialysable Spaltprodukte zerlegt würde; dies würde ihm aber seinen spezifischen Bau und damit seine wichtigste Atg-Eigenschaft nehmen. Sehen wir somit von den Fällen ab, in welchen das Atg aktiv in die Zellen eindringt oder von Zellen mit phagozytären Eigenschaften aufgenommen wird (s. u.), so kann die Hypothese einer im Innern lebensfähiger Zellen stattfindenden AK-Bildung nicht aufrechterhalten werden.

Eine Entstehung des AK an der Außenfläche der Membran, wie man sie zur Rettung der Ehrlichschen Receptoren supponieren könnte, wäre eine ganz willkürliche Annahme. Wir kennen keinerlei Tatsachen, die für eine derartige Abstoßung von Membranteilen seitens einzelner Zellen sprechen. Werden die „Receptoren“ aber erst frei, wenn sich die ganze Membran auflöst, so würde auch hier die AK-Bildung mit dem Untergang der Zelle verknüpft sein. Es scheint uns aber wenig wahrscheinlich, daß die AK nur an der (mit Abbauprodukten wohl schon reichlich besetzten) Membran ihren Ursprung nehmen sollten. Diese Vermutung wurde zu einer Zeit aufgestellt, in der man sich die Bildung der AK nicht ohne „lebende“ Zelle vorstellen konnte; eine Schwierigkeit, die allerdings für eine rein chemische Auffassung des ganzen Vorganges, wie sie unser Ziel ist, nicht besteht. — Die von uns aufgestellte Hypothese des AK-Ursprunges steht zwischen der cellulären und der rein humoralen Hypothese; sie wird beiden, soweit sie es verdienen, gerecht, indem sie den Prozeß sich zwar außerhalb von Zellen abspielen läßt, aber doch die Mitbeteiligung von Zellen (als Quelle des AK-Eiweißes) als notwendig erachtet.

Für gewisse Fälle möchten auch wir eine endocelluläre AK-Bildung annehmen, nämlich dort, wo fremdes Eiweiß ins Innere von Zellen eindringt und daselbst aufgespalten („abgetötet“) wird. Wir haben diese Frage schon in unserer ersten Mitteilung gestreift und das aktive Eindringen von Parasiten in die Zelle, ferner die aktive Aufnahme fremder Teilchen (Bakterien usw.) durch Phagocyten als Beispiele angeführt. Die Aufspaltung des fremden Eiweißes wird hierbei (wofern sie überhaupt eintritt) in der Regel nicht so weit gehen, daß die spezifische Struktur desselben verschwindet. Es werden daher fremde Eiweißbestandteile unter die Zelleigenen gemischt, die Bedingungen für ihre Adsorption an die Zellkolloide sind erfüllt, es dürften somit schon innerhalb der Zellmembran AK auftreten. Für die Zelle hat diese Verwischung ihres eigenen spezifischen Baues aber fast immer zur Folge, daß sie als solche nicht mehr lebensfähig, namentlich nicht mehr fortpflanzungsfähig ist. Sie verfällt einer meist baldigen Auflösung und gibt

die in ihr entstandenen AK an die Umgebung = Körperflüssigkeit ab¹⁾).

Bleibt eine solche Zelle längere Zeit erhalten, so können natürlich die in ihr enthaltenen AK, solange ihre Membran intakt ist, nicht nach außen abgegeben werden; erst wenn die Membran aufgelöst wird (eventuell teilweise, wie bei manchen Sekretionsvorgängen), können die AK frei werden. — Zwischen der Befähigung zur Phagocytose und der späteren Auflösung der Zelle bestehen zweifellos kausale Beziehungen; darum sind nur einzelne Zellen Phagocyten, die vermutlich schon selbst in beginnender Auflösung sich befinden (durch gewisse Abbauprodukte des Serums), noch stimuliert werden, s. Komplement (Opsonine) und mit Hilfe der in ihnen freiwerdenden Zerfallsprodukte das fremde Eiweiß mehr weniger aufspalten. Über Phagocytose bei lebensfähig bleibenden Zellen s. Mitteilung I.

Ob die Phagocytose bei der Immunisierung mit kolloidal gelösten Antigenen, z. B. artfremdem Serum, eine ähnliche Rolle spielt, wie es gegenüber geformten Elementen (Bakterien usw.) der Fall ist, bleibt vorläufig unentschieden. Es wäre zwar denkbar, daß von Fresszellen nicht nur sichtbare, sondern auch ultramikroskopische Partikelchen (z. B. Kolloidfällungen, wie sie nach der Reinjektion eines Antigens eintreten) aufgenommen werden und dann zu intracellulärer Antikörperbildung führen und daß vielleicht überhaupt alle AK-bildung nur auf dem Wege der Phagocytose erfolgt. Doch scheint uns eine gewisse Größe des zu phagocytierenden Teilchens für das Zustandekommen der Plasmaströmung, die seine Aufnahme in die Zelle bewirkt, erforderlich. Eine richtige Einschätzung der Phagocytose in Bezug auf die Immunitätsvorgänge wird erst möglich sein, wenn wir den Mechanismus dieses Phänomens besser als heute kennen werden.

Die AK treten zuerst im Blut auf und sind daselbst (von seltenen Ausnahmen abgesehen) dauernd in höchster Konzentration enthalten; sie sind wohl in den verschiedenen Organen nachweisbar, jedoch nur in dem Maße, als dieselben Blut oder Lymphe enthalten; im Innern intakter Zellen fehlen sie dagegen. Indem sie aus dem Blutplasma in die einzelnen Gewebe eintreten, bedingen sie daselbst (frei zirkulierend oder an Gewebsteile [Bindegewebe usw.] angelagert) die sog. Gewebimmunität, die sich namentlich in gewissen Organen wie z. B. der Haut, in deren besonderem Verhalten gegenüber lokaler Reinjektion

¹⁾ Die Permeabilität der Zellmembran ist z. Z. noch ein wahrer Speicher wissenschaftlicher Verirrungen. Während die Biologen meist ohne Scheu selbst Eiweiß nach Belieben aus- und eintreten lassen, haben die physikalischen Chemiker sogar den Salzen die Durchtrittsmöglichkeit abgesprochen!

des Atg äußert (s. u. bei Allergie). Dagegen begegnen wir den AK auch in allen jenen Ex- und Transsudaten usw., in die Eiweiß aus dem Blutplasma übertritt. Ein viel untersuchtes Beispiel bietet hierfür die Milch, deren AK-Gehalt beweist, daß ihr Eiweiß sicher nicht ausschließlich von den Drüsenzellen herrührt, sondern zum Teil eine Art Gewebslymphe sein muß (daher auch die starke Blutfüllung des Organs während der Sekretion¹). Hingegen sind eiweißfreie Transsudate und alle echten Zellsekrete in der Regel frei von AK, z. B. der Urin, der Schweiß usw. Sofern aber in derartige Sekrete geringe Mengen Eiweiß aus dem Blut übertreten (z. B. in der Niere durch vereinzelte Defekte in den Glomeruli, in höherem Maße bei Albuminurie, ferner auch im Speichel), können sie natürlich Spuren oder selbst größere Mengen von AK enthalten. Zuletzt werden freilich alle vom Antigen stammenden Bausteine durch die Niere eliminiert, aber erst wenn sie dialysabel geworden sind und ihren spezifischen Bau so gut wie vollständig verloren haben. Sie sind deshalb zu spezifischen Reaktionen mit dem Atg nicht mehr befähigt.

Mit unserer Hypothese stimmt ferner überein, daß wir die AK stets an den gut adsorbierenden relativ gröber dispersen Eiweißteilchen des Serums antreffen. Wir haben in einer früheren Arbeit gezeigt, daß die Eiweißteilchen des Blutes eine Evolution durchmachen, die von den gröbsten dispersen (der sog. Fibrinogenstufe) über die Globuline zu den Albuminen und weiter zu nicht mehr koagulierbaren Abbauprodukten führt. Es ist nun selbstverständlich, daß die AK, die sich ja nur durch die Adsorption gewisser Abbauprodukte von den gewöhnlichen Globulinen unterscheiden, der gleichen Evolution unterliegen wie die übrigen Bluteiweißkörper. Die Untersuchungen von E. Pick, Ehrlich, Ide und Lemaire u. a. haben gezeigt, daß die AK stets unter den Globulinen (Eu- oder Pseudoglobulinfraction)

¹) Gerade bei der Milch wurde wegen der quantitativen Verhältnisse häufig angenommen, daß ihr AK-Gehalt auf eine aktive Produktion seitens der Drüsenzellen zurückgehe. Abgesehen von den schon erwähnten Gründen widerspricht dieser Hypothese auch die Tatsache, daß die Milch-AK nicht am Casein (dem eigentlichen Drüsenzelleiweiß), sondern an den aus dem Blute stammenden Globulinen der Milch angetroffen werden.

des Plasmas angetroffen werden, während Fibrinogen und Albumine frei davon sind. Dieser Befund erklärt sich unserer Ansicht nach folgendermaßen: Die ursprüngliche Bindung der Atg-Derivate findet wohl sehr wahrscheinlich an die frisch aus Zellen freiwerdenden Teilchen der Fibrinogenstufe statt; denn diese haben das beste Adsorptionsvermögen. Sie zerfallen aber im Laufe von wenigen Tagen und gehen in kleinere, mit den Eu- oder Pseudoglobulinen fällbare Partikelchen über, wobei sie die an ihrer Oberfläche befindlichen Atg-Spaltprodukte und damit ihren AK-Charakter natürlich weiter behalten. Wird das Blut, wie es bei Immunisierungen stets geschieht, einige (8 bis 10) Tage nach der letzten Atg-Injektion entnommen — gerade dann ist der Titer, d. i. die Zahl der mit Atg beladenen Teilchen durch diese Aufspaltung sehr hoch —, so finden sich alle AK an den „Globulinen“. Die Fibrinogenfraktion ist dagegen nahezu frei davon, weil diese Eiweißteilchen inzwischen durch Zellzerfall neu entstanden sind und daher mit freiem Atg nicht mehr in Berührung kamen.

Eigene Versuche haben uns übrigens gezeigt, daß eine völlige AK-Freiheit der Fibrinogenfraktion doch nicht feststellbar ist. Wenn man z. B. bei einem mit Hammelblut immunisierten Tiere 12 bis 14 Tage nach der letzten Injektion Blut in Oxalat auffängt und aus dem klar zentrifugierten Plasma das Fibrinogen darstellt (ää mit ges. NaCl-Lösung + $\frac{1}{5}$ Vol. ges. Ammonsulfatlösung), so enthält diese erste Eiweißfraktion schon sehr deutliche Mengen spezifischen Hämolytins. Setzt man dann zu dem Abguß immer wieder etwas Ammonsulf. zu, bis jeweils wieder eine deutliche Fällung erfolgt ist, so erhält man eine Reihe weiterer (5 bis 6) Fraktionen, von denen die 3 bis 4 ca. 10 bis 20mal reicher an AK ist als das Fibrinogen und eine Art Fällungsoptimum für den AK vorstellen. Das Gleiche haben wir auch für Präcipitine gefunden, wobei sich die interessante Tatsache ergab, daß gut wirksame Fraktionen ihren AK-Gehalt verloren, wenn sie durch mehrere Umfällungen gereinigt werden, und zwar so vollständig, daß dies nicht durch den teilweisen Eiweißverlust, der beim Umfällen erfolgt, erklärbar ist. Wir werden auf diese Einzelheit bei anderer Gelegenheit zurückkommen. — Siehe ferner die Befunde Van de Veldes, Pribam u. a. über Wechsel des AK-Gehaltes der Eiweißfraktionen beim Aufbewahren von Serum usw.

Allmählich zerfallen die AK-Globulinteilchen unter Vermehrung der oberflächlichen (unspezifischen) Abbauprodukte in immer höher disperse Teilchen; diese haben zwar auch Eiweißcharakter („Albumine“), sind aber zur Bindung des Atg und zur Toxinentgiftung, jedenfalls aber zu den typischen Fällungs-

reaktionen nicht mehr befähigt. Denn um Atg an ihre Oberfläche zu adsorbieren, dürfen die Teilchen nicht mit zu vielen unspezifischen (körpereigenen) Abbauprodukten besetzt sein, und um zu einer Fällung („Amboceptorwirkung“) zu führen, ist eine gewisse Größe der Teilchen im Vergleich zu seiner die Lösung vermittelnden Oberfläche nötig. Daher erweisen sich die Albumine AK-frei, nicht weil sie nichts mehr vom Atg enthalten, sondern weil die physik.-chem. Beschaffenheit der Teilchen für die gewöhnlichen Immunitätsreaktionen nicht mehr geeignet ist.

Es ist somit nur die „Globulin“-stufe der Bluteiweißkörper diejenige der eigentlichen AK. Hat einmal die AK-Neubildung aufgehört (wenn alles Atg verarbeitet ist und kein weiteres zugeführt wird), so dauert der Gehalt des Serums an nachweisbaren Schutzstoffen nur noch so lange, als diese Globuline bestehen bleiben. Je mehr sie der natürlichen Evolution der Blut-Eiweißkörper folgend, in Albumine übergehen, desto stärker sinkt der Serumtiter ab. Wird diese Umwandlung beschleunigt, so gehen die AK noch schneller verloren. So bewirken gewisse Blutgifte, die nicht nur die Blutzellen, sondern auch die Eiweißteilchen schädigen, ein irreparables Absinken des AK-Gehaltes (z. B. Hydroxylamin, das dagegen *in vitro* begrifflicherweise die spezifische Agglutination usw. nicht beeinflusst).

Damit scheint es aber noch nicht notwendig anzunehmen, daß der Albuminstufe der AK jegliche Beziehung zum Atg fehlt. Es wäre z. B. denkbar, daß sie die Fähigkeit, einen beschleunigten Abbau der Atg herbeizuführen, wohl noch besitzen und daß darauf eine gewisse Immunität beruht, z. B. jene Schutzkraft des Blutes gegen Reinfektion, die zuweilen auch nach dem Verschwinden nachweisbarer AK noch einige Zeit bestehen kann usw. Praktische Immunität und Vorkommen typischer AK gehen ja nicht immer parallel, eine Tatsache, die der Theorie dieser Vorgänge nicht geringe Schwierigkeiten bereitet hat. Es scheint, als ob die zu Fällungen führenden AK für die Vernichtung eingedrungener Erreger öfters weniger wichtig sind als diejenigen, die ein erhöhtes Lösungsvermögen des Blutes gegen das Atg bedingen und dadurch zur direkten Zerstörung oder zu vermehrter Phagoocytose führen. Die Fällungs-AK haben allerdings den Vorteil, daß sie die hydrolytisch aktiven Stoffe des Blutplasmas auf das Atg (z. B. Zellmembranen) konzentrieren und dadurch (als „Amboceptoren“) wesentlich verstärken.

Es wurde schon eingangs erwähnt, daß die weitere Folge

der gegenseitigen Adsorption von Atg und AK ein teilweiser Abbau des Atg zu sein pflegt. Diese im Vergleich zur erstmaligen Injektion erleichterte und beschleunigte Aufspaltung des Atg im Immuntier ist eine der wichtigsten Tatsachen der Immunitätslehre. Einerseits beruhen auf ihr Phänomene, die als Allergie (und Anaphylaxie) bekannt sind (s. u.), andererseits ist sie für die Neubildung von AK von Bedeutung. Wir nehmen, wie erwähnt, an, daß der AK nicht durch einfache Adsorption des unveränderten Atg, sondern durch Aufspaltung des letzteren in noch spezifisch gebaute, aber schon höher disperse löslichere, kurz, synthetisch tiefer stehende Abbauprodukte und Bindung derselben an geeignete Eiweißteilchen hervorgeht. Bei der Reinjektion wird nun das Atg zunächst von den schon vorhandenen AK-Teilchen adsorbiert. Dadurch sinkt vorübergehend die Fähigkeit der AK-Partikelchen, noch weiteres Atg zu binden („negative Phase“, beruht auf derselben Gesetzmäßigkeit wie das Bordet-Danyszsche Phänomen). Hierauf aber setzt eine neue AK-Bildung ein, die nicht nur den früheren Titer restituiert, sondern in der Regel wesentlich erhöht. Dies kann nur dadurch erklärt werden, daß das zunächst gebundene Atg nunmehr wieder frei wird und zwar nicht jedes Teilchen als ganzes, sondern in Form von größeren Spaltstücken, die sich ablösen und von neuen Fibrinogenpartikelchen in Beschlag genommen werden. Mit letzteren kommen sie ja im strömenden Blute leicht so weit in Berührung, daß eine Bindung an ihre Oberfläche stattfinden kann. Erleichtert und gefördert wird nun diese Aufspaltung des Atg dadurch, daß strukturähnliche Abbauprodukte am AK-Teilchen zugegen sind, ein Moment, das nachweislich die Proteolyse stets wesentlich begünstigt. Während der Atg-Abbau im normalen Tier ein hauptsächlich autolytischer und daher langsamer ist, findet er im immunisierten Tier unter Mitwirkung dieser spezifischen Abbauprodukte statt, die am AK vorhanden sind; darum ist er hier deutlich beschleunigt. Es muß allerdings betont werden, daß diese Aufspaltung unter den Bedingungen, wie sie im Organismus gegeben sind, keine sehr tief gehende noch sehr schnelle, in wenigen Minuten stattfindende ist. Es handelt sich mehr um eine allmähliche Auflockerung und feinere kolloidale Verteilung des Atg, die wohl

auf Grund leichter hydrolytischer Spaltungen erfolgt, aber nicht eigentlich eine tiefer greifende Hydrolyse sein kann. Dies geht ja u. a. aus den Versuchen von Morgenroth, Sachs, Rondoni u. a. hervor, denen es gelang, das Toxin nach längerem Stehen in Kontakt mit seinem AK durch Säure oder Alkali in wirksamer Form, d. h. noch nicht tiefer verändert wiederzugewinnen. Auch die Möglichkeit mit Toxin-Antitoxingemischen zu immunisieren, beweist, daß in solchen Mischungen das Toxin noch nicht zerstört ist. Immerhin ist es bei derartigen Versuchen geboten, die Bedingungen für Hydrolysen nicht zu günstig zu gestalten, wenn man eine zu weitgehende Aufspaltung des Atg sicher vermeiden will (niedere Temperatur, nicht zu starke Verdünnung des Serums usw.). Wird dies nicht eingehalten, so kann innerhalb von wenigen Stunden eine so gründliche Proteolyse des Atg stattfinden, daß wir dasselbe für Immunisierungen nicht mehr verwenden können [z. B. die Versuche von Döerr und Moldovan, in welchen Rinderserum nach Mischen mit spezifischem Antiserum und sechstündigem Stehen bei 37° so weitgehend abgebaut war, daß auch die so empfindliche Anaphylaxiereaktion weder im Präcipitat noch im Abguß mehrspezifisch gebautes Rindereiweiß nachweisen ließ¹⁾]. Bei Immunisierung mit Gemischen von Toxin und Antitoxin wurde (neben zweifellos guten Resultaten) oft auch die Erfahrung gemacht, daß das Antigen-Vermögen mancher Toxine (spez. Tetanus) nach Stehen mit Antitoxin doch abnimmt, so daß weniger gute Immunisierungsergebnisse erzielt werden. Die diesbezüglichen Angaben der Literatur sind freilich sehr ungleich, was zum großen Teil darin begründet sein mag, daß man über die in solchen Gemischen möglichen Veränderungen und die Bedingungen ihres Ablaufes nicht genug orientiert war und deshalb wichtige Einzelheiten nicht beachtete. So viel geht aber jedenfalls aus den zahlreichen Arbeiten hervor, daß das Atg nach seiner Adsorption an den AK in vitro längere Zeit intakt bleiben kann, daß aber dort, wo für Hydrolysen günstige Bedingungen gegeben sind, sein meist schneller Abbau (eventuell bis zu unspezifischen Spaltstücken) erfolgt.

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 5.

Wenn somit die AK-Bildung einer (geringgradigen) Aufspaltung des Atg bedarf, so ist zu erwarten, daß alle Momente, die diesen Vorgang fördern (ohne ihn zu weit zu treiben), auch die AK-Produktion beschleunigen werden. Daher die rasche und gute Immunisierung, die bei gleichzeitiger Injektion von Atg- und AK-haltigem Serum sowie von „sensibilisiertem“ Atg (Serovaccine usw.) erzielt wurde, während es umgekehrt nach Injektion von Eiweiß, das durch gründliches Kochen und Entfernung der Abbauprodukte sehr schwer aufspaltbar gemacht ist, weit schwerer fällt, eine AK-Produktion zu erzielen. Auch das schnellere Ansteigen des Titers bei schon vorbehandelten Tieren sowie unter Bedingungen, in welchen der Zerfall von Zellen und Eiweiß im Blute erhöht ist (Fieber, Blutentziehungen usw.), gehört hierher, und viele ähnliche Erscheinungen.

Wir haben die Reaktion zwischen Atg und AK bisher kurz als Adsorption bezeichnet, aber schon betont, daß dieselbe auf Grund chemischer Affinitäten (Gegenwart strukturähnlicher Abbauprodukte am AK) zustandekommt. Wir möchten hier auf die Natur dieser Bindung noch näher eingehen.

Im Gegensatz zu den Theorien der älteren Schulen hat sich im letzten Jahrzehnt die Vorstellung, daß die Bindung des Atg an den AK ein Adsorptionsvorgang sei, immer mehr Bahn gebrochen, vor allem dank den gründlichen Arbeiten von Bordet und seinen Mitarbeitern, von Zangger, Landsteiner u. a. Auch wurde speziell von Bordet mit Recht darauf hingewiesen, daß eine scharfe Trennung zwischen chemischem und physikalisch-chemischem Geschehen auf diesem Gebiete nicht möglich sei. Eine befriedigende Erklärung für die Elektivität der Adsorption hat aber auch dieser Forscher nicht zu geben vermocht; er hat bloß die Vermutung ausgesprochen, daß die Adsorptionsaffinitäten mit der inneren Ursache der Spezifität in Beziehung stehen, scheint dieselben aber weniger in der chemischen Konstitution als in den physikalischen Eigenschaften der Eiweißteilchen suchen zu wollen¹⁾.

Die Annahme einer Adsorption bei der Bindung von Atg und AK ist somit für die Immunitätslehre nicht neu und ist

¹⁾ Handb. d. Immun.-Forsch. (Kraus und Levaditi), 2. Aufl., I. S. 85.

durch zahlreiche Befunde genügend gestützt. Doch blieb das Wesen, die chemische Natur der beteiligten Stoffe bisher ganz im Dunkeln und wurden über den Ursprung der AK nur ungenügend begründete Hypothesen aufgestellt. Wie in vielen Zweigen der Biologie hat sich auch hier an Stelle inhaltsreicher, chemisch durchdachter Begriffe das „Wort“ zur rechten Zeit und mit vielen Variationen¹⁾ eingestellt, die griechische Umschreibung der nicht näher aufklärbaren Vorgänge. Demgegenüber scheinen die von uns entwickelten Vorstellungen einen wesentlichen Fortschritt zu versprechen, indem sie die Immunitätsvorgänge auf eine chemische Basis stellen und dieselben mit einer Reihe anderer eiweißchemischer Reaktionen in Analogie setzen.

Die von uns angenommene „Adsorption auf Grund chemisch verwandter Struktur“ wird nämlich nicht nur bei den AK getroffen, wenn diese auch eines der vollkommensten bisher bekannten Beispiele hierfür bieten²⁾. Sie spielt vielmehr bei vielen eiweißchemischen Prozessen eine wichtige Rolle. So dürfte u. a. der bald mehr, bald weniger weitgehenden Spezifität vieler „Fermente“, die nur ihnen chemisch nahestehende Stoffe abzubauen vermögen, ein analoges Gesetz zugrunde liegen. Auch hierbei beruht die Wirkung auf der Adsorption der das „Enzym“ bildenden Abbauprodukte, die durch den chemisch ähnlichen Bau ermöglicht ist, nur daß die Adsorption in diesem Falle, da es sich meist um niedere Abbauprodukte handelt, in der Regel nicht zu Fällungen, sondern direkt zur Aufspaltung des betreffenden Stoffes führt und die Spezifität entsprechend weniger ausgeprägt ist.

Nur bei einigen, durch calciumhaltige Abbauprodukte („Fermente“) bewirkten Reaktionen kommen Fällungen zustande analog den spezifischen Präcipitationen. So bei der Blutgerinnung durch Thrombin, bei der Milchgerinnung durch Lab usw. Von den Immunkörper-Fällungen unterscheiden sich diese Reaktionen aber durch die mangelnde Spezifität, was dadurch bedingt ist, daß die hieran beteiligten Abbauprodukte schon

¹⁾ Man vergleiche die übersichtliche Zusammenstellung in den Untertiteln bei Doerr, Allergie üb. Anaphylaxie im Handb. d. pathog. Mikroorg. 2, 2.

²⁾ Sehr ausgesprochen sind artspezifische, chemische Affinitäten auch beim physiologischen Befruchtungsvorgang (Eindringen des Spermatozoons in das Ei).

relativ tiefstehende Peptide sind. So z. B. bringt das Thrombin einer Tierart Fibrinogen auch phylogenetisch weiter abstehender Tierarten zur Gerinnung¹⁾. Auch der Mechanismus der Fällung ist ein anderer, wie wir an anderer Stelle gezeigt haben.

Durch quantitative Bestimmung der Abbauprodukte haben wir direkt nachweisen können, daß eine Adsorptionsbindung des Toxins an das Antitoxin stattfindet. So enthielt z. B. in einem unserer diesbezüglichen Versuche Diphtherietoxin allein 90 mg Aminosäuren, (auf 100 ccm berechnet), Di-Antitoxin (Pferd) allein 32 mg. Die Mischung beider ließ nur 102 mg nachweisen, also 20 mg weniger als der Summe entsprechen würde. (Alle Versuche nach 16stündigem Stehen unter Toluol bei 37° bestimmt.) Es gelingt somit, experimentell nachzuweisen, daß gewisse Kolloide Eiweißabbauprodukte aus einer Lösung entziehen²⁾.

Wie sehr die Adsorptionsbindung von Atg und AK von der chemischen Beschaffenheit der reagierenden Stoffe abhängt, geht daraus hervor, daß Toxin und Antitoxin in saurem Medium sich nicht mehr binden; ein Beweis, daß die Adsorption durch die basischen Gruppen des Toxins vermittelt wird. Wir beabsichtigen, in einer späteren Arbeit auf die Chemie der Toxine näher einzugehen; daselbst soll auch die Frage der „Toxone“ und ähnliches erörtert werden.

Die Tatsache des „Überspringens“ der hämolytischen AK auf nachträglich zugesetzte Blutkörperchen beweist, daß die Bindung derselben zunächst keine sehr feste ist, so daß eine Lostrennung einzelner AK-Teilchen von

¹⁾ Es bestehen allerdings gewisse graduelle, nach dem oben Gesagten verständliche Unterschiede, so daß innerhalb der Hauptklassen des Tierreiches Thrombin und Fibrinogen gleicher Klassen-(nicht Art-) Herkunft sich leichter und schneller beeinflussen als solches differenter Klassen. Die von Bordet-Gengou (Ann. Pasteur XV) beschriebene Spezifität des Thrombins beruht nur auf einer nicht spezifischen Adsorption der Thrombin-Abbauprodukte in Seren, in welchen durch Antiseren spezifische Niederschläge erzeugt werden; sie kann somit nicht für eine spezifische Struktur des Thrombins herangezogen werden. Die Verhältnisse sind hier ganz ähnlich wie bei der Komplementbindung.

²⁾ Auf die gleiche Ursache, d. h. auf adsorptive Bindung von proteolytisch wirkenden Abbauprodukten an spezifische Fällungen, möchten wir auch die Befunde von Pick und Hashimoto (Zeitschr. f. Immunforsch. 21) zurückführen, wonach die postmortale Leberautolyse von sensibilisierten Meerschweinchen durch Zusatz des betreffenden Atg-Serums deutlich gehemmt wird.

der Oberfläche noch möglich ist. Für unsere Vorstellungen ist hierbei von Interesse, daß gelagerte oder erhitzte Immunsera dieses Phänomen besser geben; denn je mehr die Globulinteilchen durch eigene Abbauprodukte stabilisiert sind, desto weniger fest werden sie vom Atg adsorbiert. Darum ist das Überspringen in 2% NaCl und in alkalischer Lösung ebenfalls deutlich, in Zuckerlösung dagegen, worin die Eiweißkörper leichter fällbar werden, nicht zu beobachten (Philosophow, Rondoni).

Die „Normal-AK“ (Normal-Amboceptoren usw.) beruhen wohl auf unspezifischen Adsorptionsvorgängen an Globulinteilchen des normalen Serums und bieten für die Theorie der Immunität kein neues Problem. Interessanter sind die eigenartigen „Neben-Spezifitäten“, wie die bekannte und inzwischen von vielen Forschern näher untersuchte Entdeckung Forßmanns, wonach gewisse Meerschweinchenorgane usw. im Kaninchen AK gegen Hammelblut liefern. Gewiß werden wir im Laufe der Zeit noch verschiedene ähnliche „AK-Gemeinschaften“ kennen lernen. Zur Erklärung derselben möchten wir nicht zu verschiedenen „Rezeptorenfraktionen“ unsere Zuflucht nehmen (worunter wir uns chemisch gar nichts vorstellen könnten), sondern diese Befunde vielmehr so ausdrücken, daß die betreffenden Atg (komplizierte Substanzgemische!) im Kaninchen Abbauprodukte liefern, die chemische Affinitäten zu Hammelerythrocyten besitzen. Wegen der fehlenden Art-Spezifität muß angenommen werden, daß es sich hierbei um tiefere Spaltprodukte handelt. Nach dem vorliegenden Tatsachenmaterial wäre es nicht ausgeschlossen, daß speziell Körper der Lipoidgruppe in Betracht kommen. — An dieser Stelle sind ferner die ganz allgemein vorkommenden „Mit“-reaktionen (Nebenagglutinine, — Präcipitine usw.) artverwandter Eiweißkörper zu erwähnen; beim Abbau eines Atg entstehen neben hohen, noch streng spezifisch gebauten Spaltstücken durch tiefere Aufspaltung einzelne Bruchstücke, die sich mehr oder weniger der Grenze der Unspezifität nähern und daher nicht nur mit dem streng zugehörigen, sondern auch mit chemischähnlichen gebauten Atg reagieren. Bei Adsorptionsversuchen mit solchen Atg werden sie natürlich gebunden, während die hoch-spezifischen AK zurückbleiben.

Eine eingehendere Besprechung verlangt die Frage nach den quantitativen Verhältnissen zwischen Atg und AK. Es könnte der Einwand erhoben werden, daß die von uns angenommene ausschließliche Herkunft alles AK vom Atg (soweit der AK nicht aus arteigenem Eiweiß besteht, welches natürlich den größten Teil desselben ausmacht) nicht mit der Tatsache in Einklang zu bringen sei, daß relativ geringe Atg-Mengen genügen, um den ganzen Organismus oft für lange Zeit mit einem höheren Gehalt an AK zu versehen. Um dies zu erklären, wurde ja tatsächlich angenommen, daß bei der Immunisierung gewisse Zellen auf den

Reiz(?) des Antigens hin zur Bildung von spezifischem AK „angeregt“ werden und diese nun längere Zeit hindurch immer weiter „aus sich heraus“ bilden können. Es braucht hier nicht noch einmal darauf hingewiesen zu werden, wie sehr unchemisch solche Vorstellungen sind! Wie sollte die Zelle mit ihrem streng spezifisch gebauten Eiweiß imstande sein, plötzlich Stoffe zu produzieren, die auf ein ganz fremdes Atg spezifisch eingestellt sind, also doch in ihrem Bau spezifisch von der zell-eigenen Struktur abweichen müßten? Wir können auf diese unhaltbar gewordenen Anschauungen nicht näher eingehen; sie waren Notbehelfe für eine Zeit, die nur spärliche und vielfach unrichtige Vorstellungen vom Bau der Eiweißkörper besaß und daher jede Hypothese annahm, die ihr die täglich neu herzuströmenden Entdeckungen der Immunitätsforschung einigermaßen verständlich machte. Heute können sie aber wohl nur ein historisches Interesse (das sie ja gewiß verdienen) beanspruchen.

Für Adsorptionsbindungen ist charakteristisch, daß die quantitativen Verhältnisse innerhalb weiter Grenzen variieren können, daß also von denselben Teilchen bald mehr, bald weniger adsorbiert werden kann, je nach der Menge und Konzentration, in der der zu adsorbierende Stoff zugesetzt wird. Läßt man viel Atg auf einmal mit einer bestimmten AK-Menge zusammentreten, so vermag die letztere weit mehr davon zu binden als bei allmählicher Zufuhr. Dieselben AK-Teilchen adsorbieren einmal viel, das andere Mal wenig Atg-Teilchen, verlieren aber in beiden Fällen ihre Fähigkeit, weiteres Atg zu binden (Danysz, v. Dungern). Der Umstand, daß unter geeigneten Verhältnissen eine größere Anzahl Atg-Teilchen von einem einzigen AK-Teilchen adsorbiert werden kann, macht verständlich, wieso ein Tier, das im ganzen nur z. B. 50 Dos. letal. eines Toxins erhalten hat, eine AK-Menge liefern kann, die viele Tausende Dos. letal. frischen Giftes zu „neutralisieren“ vermag. Dazu kommt noch, daß das Atg auch selbst im Körper aufgespalten wird, so daß z. B. von einem injizierten Eiweißteilchen eventuell eine größere Menge Spaltstücke und dementsprechend mehr AK-Teilchen entstehen können. Man erinnere sich ferner an die außerordentliche Verteilbarkeit der Kolloide, etwa an die Färbkraft des Hämoglobins, von dem einige Tropfen einer kon-

zentrierten Lösung genügen, um mehrere Liter Wasser zu färben oder doch in seitlichem Licht opalescent zu machen. Je mehr diese Verteilung der Atg im Körper begünstigt wird, desto mehr (geeignete) Eiweißteilchen können Atg-Derivate adsorbieren und dadurch zu AK werden. Daher die weit bessere Immunisierung bei intravenöser Zufuhr des Atg im Gegensatz zur subcutanen, bei der ein großer Teil der Atg-Teilchen lokal festgehalten werden kann, so daß die Verteilung eine weniger vorteilhafte ist. (Daneben kommt noch die schnellere Aufspaltung des Atg in der Blutbahn oder im Peritoneum im Vergleich zu subcutaner Anhäufung in Betracht usw.) Die nach den üblichen Zähl- und Meßmethoden freilich gewaltigen Toxinmengen, die ein hochwertiges Immuneserum unschädlich zu machen vermögen, sind nur scheinbar so große, da ja die tödliche Dosis als Einheit einen sehr kleinen Wert vorstellt und die Bindung von einigen Hundert Dos. let. nur ganz geringe Mengen von Abbauprodukten desselben Toxins, auf gut adsorbierende Oberflächen verankert, braucht, um stattzufinden. Zur Präparierung von kleinen Meerschweinchen für den anaphylaktischen Chok ist allerdings eine minimale Atg-Dosis erforderlich (namentlich wenn man dieselbe in g Eiweiß ausdrückt); aber es ist auch der AK-Gehalt solcher Tiere kein großer (in vitro nach Injektion kleinster Dosen Atg gar nicht nachweisbar), und nur die Vergrößerung des Effektes durch die besonderen Verhältnisse des Choks (s. u.) gestattet, dieselben in so eklatanter Weise sichtbar zu machen. Wir haben uns nach genauer Durchsicht der diesbezüglichen Versuchsergebnisse der Literatur nicht überzeugen können, daß die Menge der von einem Tier gebildeten AK mit der von uns postulierten Ableitung derselben vom Atg nicht vereinbar wäre. Diese Annahme scheint uns vielmehr unbedingt notwendig, wenn anders wir die Spezifität der AK chemisch verstehen wollen.

Versuche, die AK vom Atg entstehen zu lassen, liegen zwar schon von älteren Autoren vor. So wurde schon früh eine Entstehung von „Fermenten“ aus dem Atg angenommen (Buchner, Gruber) und darauf die Immunitätsreaktionen zurückgeführt; doch konnte dieses Wort, da man über die Natur der Fermente noch ganz im unklaren war, mit keinem chemisch fixierten Inhalt gefüllt werden. Biedl und Kraus nahmen

an, daß aus dem Atg eine Vorstufe des „Vasodilatin“ hervorgehe, die bei Reinjektion des Atg in das wirksame Prinzip übergehe. Das Vasodilatin blieb aber ein rein hypothetischer Stoff, dessen chemische Natur und Wirkungsweise unaufgeklärt war. Auch konnte dadurch die Spezifität der Reaktionen nicht verständlich gemacht werden. De Waele nahm an, daß aus dem Atg eine jeweils bestimmte Mischung von Aminosäuren entstehe und den AK vorstelle; dieser sollte bei der Reinjektion vermittelt „thromboplastischer“ Wirkungen (s. auch S. 30) den Chok auslösen. Nun sind aber (abgesehen von den übrigen Einwänden, die sich gegen diese Theorie erheben) gerade die tiefsten Bausteine ganz unspezifisch, so daß es schwer faßbar wäre, wieso bloße Mischungen derselben (ohne peptidartige Bindungen) die hohe Spezifität erklären sollten.

Das lange Verweilen des AK im Organismus immunisierter Tiere dürfte sich dadurch erklären, daß die AK nicht nur im strömenden Blut vorkommen, sondern auch in die Gewebe gelangen und daselbst vermutlich festgehalten werden. Während die Globulinteilchen des Blutes eine relativ kurze Lebensdauer (von Wochen, höchstens Monaten) besitzen, dürften jene Teilchen, die im Gewebe (namentlich in der Subcutis) an Bindegewebsfasern oder Zellmembranen locker adsorbiert liegen bleiben und dadurch aus dem regeren Stoffwechsel ausgeschaltet sind, sich gewiß viel länger unverändert halten; etwa wie ein Farbstoff, der einmal in ein Gewebe eingedrungen ist, nur sehr langsam wieder aus demselben vollständig herausgespült werden kann. Diese Annahme ließe es verständlich erscheinen, daß oft noch viele Monate nach Aufhören der Atg-Zufuhr fortwährend AK im Blut kreisen und z. B. mit der Milch durch längere Zeit abgegeben werden können, ohne daß der Titer des Blutes wesentlich absinkt; ferner die wiederholt beobachteten Titterschwankungen, das gelegentliche Wiederansteigen des schon abgesunkenen AK-Gehaltes durch gewisse Veränderungen im Körperhaushalt, wie z. B. Fieber, Gravidität und ähnliches.

Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß bei vergleichenden Titerbestimmungen (zu verschiedener Zeit, sowie gleichzeitig, z. B. zwischen Blut und Milch, mütterliches und kindliches Blut usw.) doch eine gewisse Vorsicht in der wissenschaftlichen Verwertung der Titergrenzen geboten ist; man ist in der Regel geneigt, die erhaltenen Zahlen allzusehr als exaktes Maß für den AK-Gehalt einer Flüssigkeit

zu nehmen, so daß z. B. einem Titer von $\frac{1}{1000}$ ein 10facher Agglutinin-gehalt zugeschrieben wird als einem Titer $\frac{1}{100}$. Wenn auch gewiß zugegeben werden muß, daß AK-Gehalt und Verdünnungsgrenze sich im allgemeinen parallel gehen, so sollte andererseits nicht vergessen werden, daß die Bindung von Atg bis AK eine Adsorptionsbindung ist und daß ferner, da es sich bei unseren Methoden um Eiweißfällungen handelt, die Gegenwart anderer Kolloide oder namentlich gewisser Abbauprodukte fördernd oder hemmend mitwirken kann.

Die Erscheinungen, welche in das Gebiet der Überempfindlichkeit (Anaphylaxie im weiteren Sinne) gehören, können in zwei Gruppen getrennt werden: in die sogenannte Allergie und in die Anaphylaxie im engeren Sinne, worunter wir den akuten oder protrahierten anaphylaktischen Chok verstehen. Beide Reaktionsgruppen gehen auf dasselbe Grundprinzip zurück, nämlich auf die Anwesenheit von Atg-Derivaten. Sie sind aber in wesentlichen Punkten verschieden und werden deshalb besser gesondert besprochen.

Unter Allergie möchten wir die Tatsache verstehen, daß der sensibilisierte Organismus das Atg bei dessen neuerlicher Zufuhr beschleunigt aufspaltet; es handelt sich somit um ein spezifisch erhöhtes Abbauvermögen, darauf beruhend, daß Atg-Abbauprodukte in einer zu diesem Zweck geeigneten Form im Körper vorhanden sind. Ursprünglich (v. Pirquet, auch Doerr u. a.) wurde jede auf AK beruhende „Anders-Reaktion“ unter diesen Begriff gebracht, also auch die Unterempfindlichkeit, wie sie z. B. immunisierte Tiere gegen Toxin aufweisen. Es scheint uns aber sowohl für die theoretische Erkenntnis wie für die Praxis empfehlenswerter, jene Immunitätsreaktionen, bei welchen der Abbau des Atg ganz zurücktritt — er findet zwar auch statt, aber ganz allmählich und ohne klinische Erscheinungen zu machen — (Toxinbindung an Antitoxin, anaphylakt. Chok usw.), abzutrennen und von Allergie (im klinischen Sinne) nur in jenen Fällen zu sprechen, bei welchen infolge gesteigerten Abbaus des Atg Krankheitserscheinungen auftreten. Demnach wäre Allergie zu definieren als „spezifische, d. h. auf AK beruhende Überempfindlichkeit infolge erhöhten Abbaus des Atg“.

Es wurde schon eingangs erwähnt, daß als Ursache der Allergie nicht nur die typischen (Fällungs-)AK in Betracht kommen, sondern daß wahrscheinlich auch noch die an tiefer stehenden Eiweißpartikelchen (Albumine, eventuell selbst albumosenartige Kolloide) vorkommenden Atg-Derivate zu allergischen Reaktionen mit Atg Anlaß geben dürften. Sicher ist jedenfalls, daß eine gegenseitige Fällung von Atg und AK hierzu nicht erforderlich ist (diese bedeutet ja für die Aufspaltung eigentlich nur einen Umweg, der manchmal freilich von Vorteil sein kann, indem er gewisse, für den folgenden Abbau wichtige Stoffe (z. B. Abbauprodukte von der Art des Komplementes) an den Komplex zur Adsorption bringt. Darum treffen wir ausgesprochene Allergie auch gegenüber Atg, die infolge ihrer chemischen Natur zu keiner Fällung (Komplementbindung in vitro usw.) führen können (wie z. B. manche Tuberkuline u. ähnl.). Daß auch gegenüber hoch synthetisierten Körpern, die nicht der Eiweißgruppe angehören, allergische Reaktionen wenigstens theoretisch möglich sind, geht aus S. 29 hervor.

Die relative Unabhängigkeit der allergischen Reaktionen von typischen (Fällungs-) AK erklärt uns, warum Immunität und Allergie nicht immer gleichzeitig vorkommen.

Es gibt Allergie ohne Immunität (z. B. häufig bei Tuberkulose, andererseits Immunität ohne Allergie (Beispiel: Passiv gegen Diphtherie immunisiertes Tier). In andern Fällen ist Allergie und Immunität gleichzeitig vorhanden, z. B. wenn man schon mit Kuhvaccine erfolgreich Geimpften echtes Pockenvirus in die Haut einreibt. In den meisten Fällen von Immunität bei Infektionskrankheiten ist aber das Verhältnis beider Begriffe ein kausales: Die Immunität beruht auf gesteigertem Auflösungsvermögen des Erregereiweißes, nur daß die allergischen Symptome (in Fällen, wo überhaupt keine Vermehrung der Erreger eintritt) wegen zu geringer Giftmengen nicht in Erscheinung treten. Sobald aber die Infektion zustande kam und die Erkrankung eintritt, sind die allergischen Fähigkeiten des Organismus für Verlauf und Symptome von großer Bedeutung.

Die beschleunigte Aufspaltung des Atg hat eine lokale Ansammlung von Atg-Abbauprodukten zur Folge. Sehr häufig treten hierbei toxische, d. h. auf die umgebenden Körperzellen proteo- oder lipolytisch wirkende Stoffe auf, welche die lokalen (und Herd-) Reaktionen, sowie eventuelle Allgemeinsymptome (Fieber, Mattigkeit usw.) auslösen. Bringt man z. B. Tuberkulin

in die Haut eines Tuberkulosekranken, so wirkt es daselbst stärker lokal entzündungserregend als beim Gesunden, weil die im Gewebe der Haut vorhandenen spezifischen Abbauprodukte, die Albumosen usw. des Tuberkulins rascher aufspalten; dabei entstehen hydrolytisch stark aktive Substanzen, welche empfindliche Zellen (Gefäßendothelien, Nervenendigungen) schädigen und so die bekannten Reizungserscheinungen auslösen. Im Gesunden erfolgt dagegen der Abbau langsamer, so daß bei geeigneter Dosierung das Tuberkulin zum größten Teil vorher durch die Zirkulation abgeführt wird, eine lokale Anhäufung toxischer Körper daher nicht eintritt. Ein Teil des subcutan eingeführten Tuberkulins gelangt in die Zirkulation (resp. seine Abbauprodukte) und bedingt, falls spezifische Herde vorhanden sind, die „Herdreaktion“, indem es das daselbst vorhandene Atg [Tuberkelbacilleneiweiß¹⁾ oder davon stammende Spaltstücke) einer gesteigerten Aufspaltung zuführt und so auch an dieser Stelle eine lokale Vermehrung der toxischen Abbauprodukte bewirkt.

Ähnlich erklären sich die anderen, so verschiedenartigen allergischen Phänomene, für welche uns die Pathologie der Infektionskrankheiten und die Immunitätslehre zahlreiche Beispiele bietet (Arthussches Phänomen usw.). Von den Allgemeinsymptomen sei neben dem Fieber, das ja als eine spezielle Wirkung der toxischen Stoffe auf das Temperaturzentrum aufgefaßt wird, die oft starke Abmagerung erwähnt, die wir wenigstens z. T. als eine direkte (nicht bloß durch das Fieber bedingte) Steigerung des Eiweißzerfalles durch die proteolytischen Abbauprodukte ansehen möchten; eine Auffassung, die übrigens (namentlich gegenüber den Befunden von Grafe u. a.) noch einer eingehenderen Untersuchung bedarf.

Wir möchten hier noch das von Behring als paradoxe Reaktion bezeichnete Phänomen besprechen, das in einer gesteigerten, zuweilen extremen Toxinüberempfindlichkeit mancher Immuntiere besteht, deren Serum gleichwohl einen hohen AK-Gehalt aufweist. Daß das Antitoxin in solchen Tieren etwa nur im Blute, nicht aber in den Geweben sich vorfinde, ist ausgeschlossen. Die Überempfindlichkeit irgendwelchen Zellen (etwa des Zentralnervensystems) zuzuschreiben, geht nicht an, da die Erscheinungen mehr allgemeiner Natur sind und gerade erklärt werden müßte, wieso das Gift bis zu den betreffenden

¹⁾ Von Lipoiden sehen wir auch hier der Einfachheit halber ab.

Zellen gelangen soll, ohne durch die zahlreich vorhandenen AK gebunden zu werden. Um diese Beobachtungen zu erklären, möchten wir vorläufig annehmen, daß in solchen mit großen Toxinmengen behandelten Tieren eine Überladung mit Toxinderivaten besteht. Die einzelnen AK-Teilchen enthalten zuviel und wahrscheinlich auch ungenügend verarbeitetes Toxin. Wenn diese Globulinpartikelchen in die tiefern (Albumin-)Stufen übergehen (was in solchen Fällen eventuell beschleunigt vor sich geht), sind die an ihnen befindlichen Toxinderivate vermutlich noch nicht so weit aufgespalten, wie es sonst der Fall zu sein pflegt. Es wäre daher denkbar, daß bei neuem Einbringen von Toxin dieses, anstatt von dem (übersättigten) Antitoxin wie sonst in Beschlag genommen zu werden, umgekehrt zu einer Aufspaltung der reichlich vorhandenen, nur locker gebundenen Toxinreste führt, wobei entweder typisches Toxin (Brieger) oder uncharakteristische, aber stark toxische Körper (v. Behring, Metschnikoff) entstehen. Das letztere kann übrigens auch spontan, d. h. ohne neuerliche Atg-Zufuhr eintreten und dürfte die nicht selten zu beobachtende, letal endende Abmagerung und den schnellen Verfall zu stark immunisierter Tiere bewirken. Wenn wir das Serum derart überempfindlicher Tiere auf normale übertragen, werden diese störenden Toxinschlacken stark verdünnt und können daher von gleichzeitig injiziertem Toxin nicht mehr wie oben in eine giftige Form übergeführt werden¹⁾. Die Verhältnisse sind hier zweifellos ähnliche wie bei der später zu besprechenden Chok-Überempfindlichkeit mit Atg überladener Meerschweinchen (s. u. S. 38, 39).

Wenn sich gewisse Tiere, wie namentlich Meerschweinchen, gegen manche Toxine überhaupt nicht immunisieren lassen, sondern mit steigender Empfindlichkeit reagieren, so möchten wir darin einen besonderen Fall von Allergie erblicken, ein gesteigertes Abbauvermögen, das eine Bildung regelrechter AK nicht oder in kaum nennenswerter Menge aufkommen läßt.

Die allergische Aufspaltung bedarf, wenn sie auch als „beschleunigter“ Abbau verläuft, dennoch stets einer gewissen Reaktionszeit, wie wir sie auch sonst bei hydrolytischen Aufspaltungen antreffen. Ihr gegenüber steht daher eine Gruppe von Symptomen, die durch die außerordentliche Schnelligkeit ihres Eintretens auffallen und die als Symptomenkomplex des anaphylaktischen Choks bekannt sind. Obwohl auf diesem Gebiete noch vieles ungenügend geklärt ist, so unterliegt es heute doch keinem Zweifel mehr, daß das Wesentliche für das Zustandekommen desselben in der Fällung gegeben

¹⁾ Von Interesse wäre auch ein näheres Studium der Gerinnungsverhältnisse, sowie namentlich des Abbauvermögens des Blutes solcher extrem empfindlichen Tiere; dadurch wird es gewiß möglich sein, diese Vorgänge chemisch noch weiter zu klären.

ist, die durch das Zusammentreffen von AK und Atg hervorgerufen wird. (Bordet, Sachs, Doerr, Besredka, P. Schmidt u. a.) Dies geht hauptsächlich daraus hervor, daß das Vorkommen der präcipitierenden AK und der Chokempfindlichkeit sich im wesentlichen parallel gehen und daß nur jene Atg, die in vitro zu nachweisbaren Fällungen führen (d. h. die eigentlichen Eiweißkörper), bei ihrer Reinjektion Chok auslösen¹⁾; während z. B. die typischen Bakterientoxine, die wegen der Kleinheit und Wasserlöslichkeit ihrer Teilchen mit ihren AK nicht unter Fällung reagieren, im sensibilisierten Tiere wohl gelegentlich allergische Erscheinungen, aber keinen Chok bewirken.

Der nähere Wirkungsmechanismus dieser Fällungen in vivo, die Frage, wieso dieselben zu den Symptomen der Lungenblähung und Asphyxie, zu Blutdruck- und Temperatursenkungen usw. führen, ist zur Zeit noch nicht klar. Sicher ist vorläufig nur, daß einige der früheren Erklärungen nicht zutreffend sind. So namentlich die Annahme des Auftretens toxischer Abbauprodukte, die bald vom Atg (Friedberger), bald vom AK (Wassermann und Keysser) abgeleitet wurden. Wir haben schon oben gezeigt, daß ein momentaner Abbau des Atg durch seine Adsorption an den AK keineswegs herbeigeführt wird und daß die relativ schnellere Aufspaltung, die unter geeigneten Bedingungen erfolgen kann, doch viel langsamer verläuft, als es zur Erklärung der fast sofort einsetzenden schweren Erscheinungen des akuten Choks verlangt werden müßte. Ein so schneller Verlauf ist für hydrolytische Aufspaltungen überhaupt kaum bekannt, namentlich wenn man bedenkt, daß doch tiefere Spaltprodukte entstehen müßten. Denn die ähnliche Wirkung von Pepton würde, wofür wir sie zur Erklärung des Choks heranziehen wollen, eine Beteiligung von Körpern verlangen, die auf oder eher noch unter der Peptonstufe stehen. In vitro haben wir nach Mischung von Atg und AK eine Abnahme der niederen Abbauprodukte gefunden, die wohl auf adsorptive Bindung derselben an die entstehenden Komplexe zurückgeht. Daß Ähnliches auch in vivo vorkommen dürfte, kann vielleicht aus dem im Chok beobachteten, relativen Komplementschwund vermutet werden²⁾. Auch im Anaphylatoxin, dessen Giftigkeit wohl

¹⁾ Die Identität der fallenden und der chokauslösenden AK steht für uns über jedem Zweifel. Daß häufig keine sichtbaren Präcipitate im Serum chokempfindlicher Tiere auftreten und die Stärke dieser und ähnlicher Reaktionen (Kompl.-Bindung usw.) nicht immer der Chokempfindlichkeit genau entspricht, ist wohl genügend darin erklärt, daß die Reaktionen in vivo und in vitro notwendigerweise andere optimale Bedingungen aufweisen.

²⁾ Siehe diesbezüglich auch S. 35.

sicher auf einem ganz ähnlichen Wirkungsmechanismus beruht wie der anaphylaktische Chok (s. u.) konnten wir keine wesentliche Vermehrung der Abbauprodukte nachweisen, und fanden sogar eine Herabsetzung des Abbauvermögens, wie folgende Zahlen zeigen: Menge der mit Ninhydrin reagierenden Abbauprodukte (auf 100 ccm berechnet) in a) Serum + $\frac{1}{2}$ Vol. NaCl-Lösung: 18 mg; b) Serum + $\frac{1}{2}$ Vol. Agarlösung: 17 mg; c) Serum + $\frac{1}{2}$ Vol. Aufschwemmung gekochter und gewaschener Bakterien: 19 mg. Abbau von Nucleoproteinpulver¹⁾ bei a) 40 mg, b) 24 mg, c) 28 mg.

Die Annahme einer akuten Vergiftung durch toxische Abbauprodukte als Ursache der Anaphylaxie wurde hauptsächlich durch die Tatsache gestützt, daß eine Reihe anderer Körper (namentlich aus Eiweiß verschiedentlich dargestellte Abbauprodukte) dem anaphylaktischen Chok z. T. weitgehend ähnliche Erscheinungen hervorrufen können (Pepton, Hirudin, Alkoholfraktion mit Alkali aufgespaltener Eiweißkörper usw.), auch viele artfremde Sera lösen bei empfänglichen Tieren chokartige Vergiftungen mit Lungenblähung usw. aus. Daß diese Wirkungen nicht auf das Eiweiß solcher Sera (das ja als solches indifferent sein muß), sondern auf Abbauprodukte, an den Oberflächen der Eiweißteilchen schon enthalten sind oder eventuell im Tierkörper rasch entstehen, zurückzuführen sind, braucht hier wohl nicht nochmals betont zu werden. Gegen eine Identifizierung dieser Gifte mit jenen des Choks wurde mit Recht geltend gemacht, daß die zur akuten Intoxikation erforderlichen Mengen meist viel größere sind; während vom Atg nur so geringe Mengen injiziert zu werden brauchen, daß die *in vitro* aus demselben Eiweiß durch Aufspaltung erhaltbaren Abbauprodukte an Giftigkeit weit zurückstehen. Es müßte also angenommen werden, daß der Abbau *in vivo* wesentlich giftigere Produkte liefert, wofür wir in unseren sonstigen eiweißchemischen Erfahrungen keine Stützen finden.

Wieso die Injektion gewisser Abbauprodukte im Normaltier gleichartige Symptome hervorruft, wie sie auf der anderen Seite durch die Atg-AK-Fällung und das Anaphylatoxin entstehen, kann zur Zeit nur vermutungsweise erklärt werden, da wir weder von der einen noch von der anderen Gruppe von Substanzen genügend sicher wissen, auf welche Weise sie die häufig so schweren Erscheinungen von seiten der Lunge, des Gefäßsystems usw. zustande bringen. Bei manchen Tieren (Hund) spielt für die Ausbildung des Choks die Leber eine Rolle; aber worin diese Rolle besteht (ob die injizierte Substanz in der Leber verändert wird oder ob bloß die von der Leber physiologischerweise ins Blut abgegebenen Stoffe für den Chok zugegen sein müssen), ist noch unbekannt; auch ist bei anderen Tieren, wie dem so sehr empfindlichen Meerschweinchen, die Leberausschaltung anscheinend ohne Belang. Es wäre deshalb verfrüht, wollte man schon jetzt eine Theorie dieser Vor-

¹⁾ Näheres über die diesbezügliche Technik s. Deutsche med. Wochenschr. 1917. Die in üblicher Weise angesetzten und auf Giftigkeit kontrollierten Abgüsse standen 18 Stunden mit dem Eiweißpulver bei 37°.

gänge aufstellen. Wir haben ja in der Biologie schon Beispiele genug, die zeigen, daß voreilig und ohne genügende chemische Grundlagen aufgebaute Theorien für die Wissenschaft fast nie eine Förderung, fast immer ein Hemmschuh werden.

Hierher gehört z. B. die von Nolf auf eine ganze Reihe biochemischer Probleme ausgedehnte, 'chemisch ganz ungenügend begründete Theorie der thromboplastischen und antithrombischen Wirkungen, auf die wir hier mit wenigen Worten deshalb eingehen möchten, weil sie auch zur Erklärung des Choks herangezogen wurde. Wir haben schon an anderer Stelle gezeigt, wie unhaltbar die Nolf'sche Theorie selbst für ihr Hauptgebiet, die Blutgerinnung ist ¹⁾. Nun hat die Tatsache, daß die Gerinnbarkeit des Blutes nach dem Chok und bei ähnlichen Vergiftungen vorübergehend herabgesetzt ist, diesen Autor dazu geführt, seine Vorstellungen auch auf das uns beschäftigende Gebiet zu übertragen. Nach dieser Theorie fällt es leicht, aus einer Eiweißfällung eine Lösung (d. i. das Gegenteil!) hervorgehen zu lassen, wovon Nolf u. a. Gebrauch gemacht hat, um selbst die Hämolyse auf eine Gerinnung zurückzuführen. Es war daher auch nicht schwer, die erwähnte verminderte Gerinnbarkeit im Chok auf eine vorherige (rein hypothetische) Gerinnung desselben zu beziehen und damit das ganze Problem in die Nolf'sche Gerinnungsterminologie hineinzuzwängen. Wir können auf die Einzelheiten dieser Theorie, die eine willkürliche Annahme auf die andere stellt (Störung des „labilen Gleichgewichts“ der Blutkolloide?) durch das Atg, Ausscheidung von Fibrinogen an den Gefäßendothelien; diese „antworten“ hierauf mit Produktion eines Antithrombins (einer ganz hypothetischen Substanz, die stets als eine Art von Umschalter zwischen Fällung und Lösung erscheint; der nicht „verbrauchte“ Teil dieses Antithrombins bewirkt die herabgesetzte Gerinnbarkeit usw.) hier nicht eingehen. Über die Beziehungen der Blutgerinnung zur Anaphylaxie sei hingegen folgendes bemerkt:

Es ist schon lange bekannt, daß frische Sera sowie Organextrakte intravenös injiziert zu Gerinnungen *in vivo* führen, die einen, weil sie fertiges Thrombin enthalten, die anderen, weil sie eine intensive Thrombinbildung im Blute auslösen. Diese Gerinnungen finden sich häufig schon im rechten Herzen oder auch im arteriellen System. Treten sie nicht sofort ein, so daß das mit diesen Substanzen vermischte Blut Zeit findet, durch die Leber zu passieren, so wird seine vorher so große Gerinnungstendenz so stark herabgesetzt, daß es jetzt schlechter als normales Blut gerinnt. Während des Durchgangs durch die Leber werden jedenfalls die thrombinartigen Abbauprodukte weiter abgebaut, so daß sie nicht mehr fällend, sondern lösend auf Fibrinogenteilchen einwirken. Also nicht plötzlicher Übergang

¹⁾ S. unsere Studien zur Gerinnungsphysiologie in dieser Zeitschr. 71, 75, 82; sowie Zeitschr. f. klin. Med. 85 (in Druck).

einer Fällung in eine Lösung, sondern proteolytische Aufspaltung des Thrombins (nicht des Fibrins!) ist die Ursache dieser Veränderung¹⁾. Ähnliches gilt auch vom Pepton, welches zwar an sich die Gerinnung wenig beeinflusst, nach seiner Passage durch die Leber dagegen so abgebaut wird, daß es die Löslichkeit des Fibrinogens erhöht.

Beim typischen anaphylaktischen Chok (infolge Reinjektion des Atg) muß eine auf Fibrinbildung beruhende Gerinnung als ganz unwahrscheinlich bezeichnet werden. Wir wissen, daß eine solche eintritt, wenn die Fibrinogenteilchen durch Adsorption gewisser, kalkhaltiger Abbauprodukte („Thrombin“) in ihrer Löslichkeit verändert werden. Weder theoretisch noch experimentell läßt sich eine Entstehung thrombinartiger Körper bei der Atg-AK-Reaktion stützen; *in vitro* tritt kein Thrombin auf, und auch *in vivo* werden nach dem Chok intravitale Gerinnungen stets vermißt²⁾. Auch das Anaphylatoxin hat sich uns in vielen Versuchen immer nahezu frei von Thrombin erwiesen. Viele Stoffe, die chokähnliche Symptome machen, wie Pepton, abgebautes Eiweiß usw., wirken *in vitro* eher hemmend auf die Gerinnung ein. Für alle diese Fälle scheint uns daher eine primäre Fibrinogenfällung in den Lungen als Chokursache geradezu ausgeschlossen. Daß hingegen bei manchen anderen Substanzen, die chokartige Symptome auslösen (namentlich wenn bei der Sektion vitale Gerinnsel gefunden werden), echte Gerinnungen oder doch Anfänge hierzu (Verklebung von Fibrinogenteilchen mit Plättchen u. dgl.) vorkommen und sogar die Ursache der plötzlichen Krankheitserscheinungen sein können, muß ohne weiteres zugegeben werden. (Wirkungen frischer Sera [Moldovan], gerinnungsaktiver Abbauprodukte usw.) Daß hier wie dort ähnliche Symptome auftreten, beweist aber nicht, daß in beiden Fällen Fibrinogengerinnungen beteiligt sind; es läßt höchstens die Vermutung zu, daß innerhalb der Gefäße sich abspielende (chemisch aber jeweils anders bedingte) Fällungsvorgänge mit anschließender mechanischer Behinderung der Blutströmung in den Lungen in beiden Fällen vorliegen könnten.

Die herabgesetzte Gerinnbarkeit des Blutes nach dem Chok (die bei dem so chokempfindlichen Meerschweinchen nur eine geringfügige³⁾, beim Hunde dagegen meist sehr ausgesprochen ist) darf wohl auf eine

¹⁾ Natürlich können auch die injizierten Abbauprodukte des Organextraktes usw. in der Leber dasselbe Schicksal weiterer Aufspaltung erfahren und dadurch die lösenden Faktoren erhöhen.

²⁾ Wenn man Oxalatplasma eines Tieres, dessen Blut spezifische Präcipitine enthält, mit seinem Atg zusammenbringt (unterschichtet), oder ein präcipitinhaltiges Serum mit einer Fibrinogenlösung als Atg reagieren läßt, so kommt es beidemale zu deutlicher Globulin(AK)-fällung; eine gleichzeitige Gerinnung fehlt dagegen, obwohl die hierzu erforderlichen Stoffe vorhanden wären.

³⁾ S. a. Hirschfeld und Klinger, Zeitschr. f. Immunforsch. 24.

Entstehung tieferer (fibrinogenlösender) Abbauprodukte zurückgeführt werden (vermutlich in der Leber analog wie bei Peptonchok). Woher diese Abbauprodukte stammen, ist noch nicht klar. Nach dem oben Gesagten können sie jedenfalls nur sekundär (als Folge, nicht als Ursache) mit dem Chok zusammenhängen.

Auch eine ätiologische Beteiligung des „Komplementes“ am Chokkomplex möchten wir ablehnen. „Komplement“ sind labile Abbauprodukte des Blutes, die unter geeigneten Bedingungen wohl lytische Fähigkeiten entfalten können, bei einem allem Anschein nach auf einer Fällung beruhenden Vorgang aber eher hemmen dürften¹⁾. Der nach dem Chok beobachtete (relative) Komplementschwund dürfte auf Adsorptionsvorgänge zurückgehen (Mitfällung von Globulinen [Mittelstück] analog der Komplementbindung *in vivo*); möglich wäre auch, daß die akuten Choksymptome von proteolytischen Vorgängen begleitet sind, wie wir sie schon zur Erklärung der Gerinnungsverhältnisse annahmen, und daß diese zu einer teilweisen Aufspaltung des „Komplementes“ führen. Eine Reihe weiterer Argumente gegen die Komplementhypothese siehe bei Doerr, Handbuch S. 1028 u. ff.

Die älteren Erklärungsversuche können somit heute nicht mehr befriedigen. In neuerer Zeit wurde dagegen von verschiedener Seite, namentlich von P. Schmidt (Zeitschr. f. Hygiene 83) die Vermutung ausgesprochen, daß durch alle zu Chok führenden Substanzen eine Zusammenballung und Verklebung gewisser Kolloidteilchen des Blutplasmas hervorgerufen wird, wodurch gröbere Partikelchen entstehen, die durch Verlegung des Kapillarkreislaufes zu den Erscheinungen des akuten Choks führen (Lunge: Atemnot und Erstickung, Haut: Jucken usw.). Von manchen Forschern wurde speziell darauf hingewiesen, daß die Blutplättchen im Chok aus der Peripherie verschwinden und daß sich in den Choklungen große Mengen, geradezu Kapillarembolien von Plättchen vorfinden können²⁾. Auch wissen wir, daß die Plättchen in Kolloidfällungen des Plasmas sehr leicht einbezogen werden. Daher verkleben sie z. B. schon mit den ersten Fibrinfäden der Gerinnung, was zur Meinung geführt hat, die Gerinnung werde durch sie eingeleitet. Auch die Versuche von Rieckenberg, Zeitschr. f. Immunforsch. 26, daß Trypanosomen in einem für sie AK-haltigen, plättchenreichen Citratplasma von einer Schichte an sie anklebender Plättchen überzogen werden, zeigt, daß diese Elemente in Atg-AK-Fällungen schnell hineingezogen werden können.

Vielleicht werden selbst die weißen Blutzellen wenigstens bei manchen Chokwirkungen mit beteiligt, wie ihr Verschwinden nach Injektion von Pepton, giftigen Seren usw. aus der Peripherie (anscheinend gleichzeitig mit den Plättchen) erwarten läßt. Weitere Untersuchungen wer-

¹⁾ Wir beabsichtigen, auf den Chemismus der Komplementwirkung in einer folgenden Mitteilung näher einzugehen.

²⁾ Pardi, Archives Ital. de Biologie 1916.

den zeigen müssen, wie weit zellige Elemente in die dem Chok bewirkenden Fällungen mit einbezogen werden und dieselben verstärken. Jedenfalls ist es gegenwärtig die mechanische Auffassung der Chokentstehung, welche den vorliegenden Beobachtungen am besten gerecht wird; und die Tatsache, daß chemisch ganz differente Substanzen wie spezifische Atg, Pepton, Kieselsäure, Saponin, Anaphylatoxin usw., die aber physikalisch-chemisch gemeinsame Eigenschaften besitzen, zu den gleichen Erscheinungen führen, weist unbedingt auf eine physikalische Ursache des ganzen Phänomens hin.

Der Tod bei protrahiert verlaufendem Chok dürfte wohl auf hydrolytische Veränderungen verschiedener lebenswichtiger Zellen zurückzuführen sein, welche durch die Atg-Injektion ausgelöst werden.

Wir möchten noch einige Worte über das Anaphylatoxin sagen, das in der Anaphylaxieforschung wegen der vollständig gleichartigen Wirkung, die es im Tierkörper auslöst, so großes Interesse erweckt hat. Seitdem wir die Bedingungen genau kennen, unter welchen das Serum in das Gift verwandelt wird, hat diese Substanz allerdings viel von ihrem Rätselhaften verloren. Wir wissen jetzt, daß Anaphylatoxin durch Kontakt des Serums mit einer ganzen Reihe von Substanzen entsteht, die alle ein gutes Adsorptionsvermögen für Eiweißkolloide besitzen (Bakterienemulsionen, Agar, Stärkekleister usw.). Es ist wohl nicht zweifelhaft, daß diese Stoffe mit gewissen, schon an sich gröber dispersen Teilchen des Serums verkleben (daher auch der Komplement[Mittelstück]schwund). Dadurch kommen größere Komplexe zustande, welche unter geeigneten Versuchsbedingungen als sichtbare Fällung erscheinen. Während diese Ausflockung auf der Zentrifuge entfernt werden kann, bleiben im Abguß (dem eigentlichen Anaphylatoxin) noch andere Teilchen zurück, die durch die Atg-Einwirkung zwar nicht bis zur abzentrifugierbaren Stufe gebracht, aber doch durch teilweise Zusammenlagerung gröber dispers gemacht wurden und sich daher in einem labilen Gleichgewicht befinden. Hierin und nicht in einem Gehalt an besonderen, toxischen Abbauprodukten (s. o.) liegt die Ursache der Giftigkeit solcher Seren. Im Blute wirken diese Teilchen ähnlich wie entstehende Atg-AK-Fällungen, indem sie andere Globulinpartikelchen, vielleicht unter Einbeziehung der Plättchen usw. adsorbieren und, mit ihnen verklebt die Lungengefäße verlegen.

Die passive Übertragbarkeit der Anaphylaxie bietet an sich dem Verständnis keine Schwierigkeit; die mit dem betreffenden Serum übertragenen AK führen auch im neuen Tier noch zu jenen Fällungen, die bei Atg-Zufuhr den Chok bedingen. Von Interesse sind hierbei die Versuche von Friedberger, Schiff und Moore (Übertragbarkeit nur durch die „Albumin-“ viel schlechter durch die „Globulin“-fraktion, Zeitschr. f. Immunforsch. 22), da sie zeigen, daß auch hier der

physikalisch-chemische Zustand der AK-teilchen von Wichtigkeit ist.

Vorläufig noch nicht aufgeklärt ist bloß die merkwürdige Tatsache, daß beim Meerschweinchen die Anaphylaxie erst mehrere Stunden nach der Übertragung des Serums ausgeprägt ist, während der Chok ausbleibt, wenn das Atg schon einige Minuten nach dem AK oder gleichzeitig injiziert wird. Da ein gleiches für die passive Anaphylaxie des Kaninchens und anscheinend auch des Hundes nicht zutrifft, kann dieser Befund nicht gegen die physikalische Auffassung des Choks angeführt werden. (Vielleicht erklärt sich derselbe dadurch, daß die Blutplättchen, denen ja nach dem oben Gesagten eine Rolle beim Chok zukommen dürfte, nur dann in die Atg-AK-Fällung einbezogen werden, wenn sie an ihren Oberflächen AK-Teilchen adsorbiert haben; diese „Verankerung“ des eingeführten AK würde einige Stunden in Anspruch nehmen).

Da zu den passiven Übertragungen in der Regel Serum verwendet wird, haben wir uns gefragt, ob nicht durch die vorhergehende Gerinnung des Blutes der AK desselben verändert (mit Abbauprodukten beladen) und dadurch vorübergehend für Chok-Fällungen ungeeignet würde. Wir haben deshalb anstatt Serum das mit Citrat ungerinnbar gemachte Vollblut übertragen. Das zugesetzte Citrat wird nach Reinjektion des Blutes im Tierkörper sofort verbrannt, so daß das Blut wieder gerinnbar ist und keinerlei fremde Beimengungen enthält; es ist daher die schonendste und indifferenteste Art der Bluttransfusion. Aber auch unter diesen Bedingungen reagierten die Tiere auf eine sofort folgende Atg-Injektion nicht, waren hingegen nach 24 Stunden typisch überempfindlich.

Die Hypothese, daß der AK erst an funktionell wichtige Körperzellen (z. B. die Endothelien der Lungencapillaren oder gar Zellen des Gehirns, der Leber usw.) verankert werden müßte, damit Chok zustande komme, scheint uns dagegen ganz unwahrscheinlich. Wir sehen ja im Anaphylatoxin, welches zweifellos durch genau denselben Mechanismus toxisch wirkt, daß eine Vorbereitung bestimmter Organzellen nicht erforderlich ist; der entscheidende Vorgang spielt sich vielmehr, soviel steht wohl fest, im Blute selber ab und zieht nur sekundär gewisse Organe in Mitleidenschaft. Wenn deshalb die Beteiligung von zelligen Elementen angenommen wird, so kann es sich wohl nur um solche des Blutes selbst handeln, deren Oberfläche (nicht das Innere!) mit affiziert werden könnte¹⁾.

Auch die Tatsache, daß die Injektion eines gegen Meerschweinchen

¹⁾ Um die sofortige Wirkung des Anaphylatoxins zu erklären, müßte die oben erwähnte Blättchenhypothese annehmen, daß sich die labilen Anaphylatoxin-Kolloide an die Plättchen und an die größeren Eiweißteilchen des Plasmas direkt adsorbieren und dadurch zu größeren Komplexen zusammenballen.

gerichteten Antiserums (vom Kaninchen) in diesem Tier sofort Chok auslöst, spricht gegen die Annahme einer Lokalisation der Chokursache in bestimmten Orgazellen.

Wenn man anstatt bloßem Antiserum ein in vitro hergestelltes (entsprechend dosiertes) Gemisch von Antiserum mit Atg injiziert, so bleibt die passive Sensibilisierung aus. Der schon mit Atg abgesättigte AK überträgt somit die Überempfindlichkeit nicht. Läßt man die Mischung des Atg mit dem AK in vivo stattfinden (zuerst Injektion einiger com Antiserum, hierauf kleine Atg-Menge [0,01—0,001]), so bleibt die passive Sensibilisierung ebenfalls aus, wenn die Atg-Injektion sofort oder wenigstens in den ersten Stunden folgt. Wird das Atg später injiziert, so vermag es die sich ausbildende Überempfindlichkeit nicht mehr zu verhindern (Anderson und Frost). Die Erklärung dieser Versuche scheint uns nicht in einer inzwischen eintretenden Veränderung oder Bindung des AK zu liegen, sondern bloß in der Verteilung des AK. Das AK-Eiweiß tritt allmählich aus der Blutzirkulation in alle Gewebe und in die Lymphe über, verteilt sich somit im ganzen Körper. Injiziert man, nachdem dies geschehen, eine kleine Atg-Menge, so wird diese nur jenen Teil des AK erreichen und neutralisieren, der sich noch innerhalb der Blutgefäße befindet. Es bleibt der zur Zeit der Injektion im Gewebe verteilte AK über, der durch die allgemeine Säftezirkulation nach einiger Zeit wieder z. T. im Blute sich vorfinden und das Tier chokempfindlich machen muß.

In bezug auf die quantitativen und zeitlichen Verhältnisse, die für eine optimale Ausbildung der Choküberempfindlichkeit bestehen, möchten wir hier nur folgendes erwähnen. Kleinste Atg-Dosen sensibilisieren nach Doerr und Ruß, Rosenau und Anderson langsamer als größere; vermutlich deshalb, weil unter diesen Bedingungen die Aufspaltung des Atg infolge der dauernd sehr niedrigen Konzentration seiner spezifischen Abbauprodukte nur sehr allmählich vor sich geht¹⁾.

Zwischen 0,01 und 1,0 ccm Atg (eventuell sogar noch größeren Mengen) wird dagegen die Überempfindlichkeit ziemlich gleichartig (nach 10 bis 14 Tagen) ausgebildet; hier erfolgt die Aufspaltung des Atg leicht, und seine Umwandlung zu AK ist selbst bei größeren Mengen so vollständig, daß reaktionshemmende Atg-Reste nach der angegebenen Zeit nicht mehr vorhanden sind. Eine weitere Steigerung der Atg-Menge und namentlich die wiederholte Injektion größerer Eiweißquantitäten in kurzen Zwischenräumen schiebt dagegen das Auftreten der Chokempfindlichkeit hinaus, kann dieselbe sogar dauernd verhindern (Remlinger, Otto u. a.). Besonders ungünstig kann nach Versuchen von Anderson und Frost, Otto, Besredka u. a. die Injektion einer großen Atg-Dose im schon anaphylaktischen Tiere wirken. Hierbei kommt es zwar zu einer weiteren Steigerung des AK-Gehaltes, trotzdem bleiben solche Tiere lange Zeit gegenüber einer neuerlichen Atg-Injektion refraktär. Diese Verhältnisse und namentlich die Tatsache, daß

¹⁾ Nicht, weil der Ictus immunisatorius (?) zu gering war!

durch das Serum solcher Tiere Anaphylaxie passiv auf andere übertragen werden kann, während sie selbst unempfindlich sind, konnte bisher nicht befriedigend erklärt werden. Wir glauben, daß auch hier die von uns gegebenen Vorstellungen ein Verständnis ermöglichen werden. Es ist ja sicher, daß die den anaphylaktischen Chok bedingenden Fällungen am besten zustande kommen, wenn die Aufteilung des Atg einen gewissen, optimalen Grad erreicht hat, was normalerweise 1 bis 2 Wochen braucht. Bei zu großen Atg-Dosen kann die Ausbildung dieses Optimums hinausgeschoben sein, sei es, daß die einzelnen AK-Teilchen zu viel Atg-Derivate enthalten oder daß die Aufspaltung eine ungenügende ist oder ähnliches. Der tierische Organismus kann jedenfalls nur ein gewisses Quantum von Eiweiß so verarbeiten, daß zu Fällungen befähigte AK daraus entstehen. Ein Zuviel wirkt hemmend und führt zu einer Unempfindlichkeit, die eine vorübergehende, unter Umständen aber sehr langdauernde sein kann¹⁾. Bekannt ist, daß eine solche Phase erloschener Überempfindlichkeit nach jeder Reinjektion des Atg eintritt; indem der AK mit dem Atg zu Komplexen zusammentritt, verliert er vorübergehend die für ein nochmaliges Zustandekommen eines Choks erforderliche Fällbarkeit. Diese Erscheinung ist als Antianaphylaxie bekannt und wird als „Absättigung“ des AK durch das Atg bezeichnet. Die einzelnen AK-Teilchen sind hierbei wohl mit zu viel (und mit zu wenig abgebautem) Atg besetzt; erst wenn sie davon wieder durch die allmählich stattfindende Abspaltung das meiste verloren (an andere Eiweißteilchen abgegeben) haben, kann von neuem durch Atg eine Fällung eintreten. Meist dauert dieses Stadium nur wenige Tage; in einem mit Atg überladenen Tiere wird diese Umwandlung der übersättigten AK-Teilchen dagegen weit langsamer erfolgen, die Dauer der Unempfindlichkeit dehnt sich daher viel länger aus. Bei Übertragung solcher AK auf ein normales Tier kann dagegen eine Entlastung derselben und optimale Verteilung der Atg-Derivate rasch erreicht werden, daher die Möglichkeit der passiven Übertragung der Anaphylaxie mit Serum solcher selbst nicht empfindlicher Tiere. Wir möchten diese Erklärung nur als eine vorläufige hingestellt wissen; diese und ähnliche Probleme bedürfen noch eingehender Bearbeitung speziell von dem im vorhergehenden entwickelten Gesichtspunkte aus. Wir zweifeln aber nicht, daß sie einer befriedigenden Erklärung zugeführt werden können.

Die Antianaphylaxie beruht somit im wesentlichen auf einer Veränderung des AK, der dadurch vorübergehend zu neuerlicher Fällung mit Atg unfähig wird. Es wurde aber speziell von Friedberger und seinen Mitarbeitern darauf hingewiesen, daß es auch eine nicht

¹⁾ Auch für die Fällungsreaktionen in vitro ist das Mengenverhältnis ein sehr wichtiges, stören Überschüsse eines der Reaktionsstoffe und namentlich auch andersartige Beimengungen die Ausbildung derselben.

spezifische Antianaphylaxie gibt, die durch Einwirkungen allgemeiner Natur bedingt ist. Sowohl der anaphylaktische Chok wie die schon mehrfach erwähnten peptonartig wirkenden Gifte schaffen für eine zweite Injektion desselben oder eines anderen hierher gehörigen Stoffes ein (meist nur kurzes) Refraktärstadium, während welchem der Organismus auf die ein- bis mehrfache letale Dosis nur mit leichten Erscheinungen reagiert. Mit andern Worten, in allen diesen Intoxikationen kann die auslösende Ursache (Atg-AK-Fällung, Anaphylatoxin, Pepton usw.) nur dann zu den schweren Erscheinungen führen, wenn gewisse Bedingungen erfüllt sind, die durch alle diese Eingriffe gleichsinnig gestört werden. Ob wir diese Störung in einer Veränderung der Blutkolloide oder in einem Auftreten hemmender (lösender) Abbauprodukte oder in einer Unfähigkeit, gewisse, für den Chok erforderliche Stoffe zu produzieren (Leber) usw., annehmen müssen, werden weitere Untersuchungen zeigen.

Für die Pathologie der Infektionskrankheiten möchten wir noch folgendes hervorheben: Die Krankheitserscheinungen bei Infektionen sind zweifellos auf Eiweiß-(eventuell Lipoid-)Abbauprodukte zurückzuführen, die durch Aufspaltung der Erreger frei werden. Sie sind es, die das Fieber, die so häufigen Gefäßaffektionen (Exantheme-Pusteln, Exsudate, Glomerulusschädigungen usw.), den schlechten Allgemeinzustand und den vermehrten Eiweißumsatz¹⁾ usw. bewirken. Inkubationszeit und Symptome weisen, wie zuerst v. Pirquet betont hat, bei den verschiedenen Infektionskrankheiten viele Ähnlichkeit auf. Wir müssen daher annehmen, daß es hierbei vor allem auf gewisse proteo-(oder lipo-)lytische Eigenschaften der jeweils entstehenden Abbauprodukte ankommt, die denselben durchgehend zukommen und nicht so sehr an Einzelheiten des chemischen Baues als an eine bestimmte Stufe der Eiweißspaltprodukte gebunden sind. Daher können selbst so weit voneinander stehende Proteine wie Bakterien und Pferdeeiweiß ähnliche Symptome auslösen. Analog verhalten sich ja auch viele Toxine (Diphtherietoxin, Ricin, Crotin u. ähnl.), die zwar von streng spezifischen Eiweißarten herkommen, aber in ihrer Wirkung zum Teil so wenig voneinander verschieden sind, daß Nicolle eine Hypothese aufstellte, wonach dieselben aus einer bei allen gleichartigen toxischen und

¹⁾ Ob derselbe nur indirekt oder, wie es wahrscheinlicher erscheint, auch direkt bedingt ist, ist, wie schon erwähnt, strittig.

aus einer spezifischen „Gruppe“ bestehen sollen, von denen nur die letztere die (spezifische) AK-Bildung anrege; denn nur so schien ihm erklärlich, wieso in vivo gleichwirkende Körper (also sozusagen derselbe „Reiz“) dennoch streng spezifische AK hervorbringen können¹⁾.

Est wenn die Abbauprodukte des Erregers in größerer Menge frei werden und im Körper ihre Wirkung entfalten, treten die Krankheitserscheinungen auf. Dies ist aber nicht sofort nach dem Eindringen der Parasiten der Fall, sondern erst nach jener „Inkubationszeit“ von mehreren Tagen bis Wochen, die erforderlich ist, damit einerseits eine genügende Menge Bakterieneiweiß, andererseits aber aus einzelnen zerfallenden Erregern spezifische Abbauprodukte entstehen. Sobald solche (sei es frei oder schon als AK) vorhanden sind, setzt ein beschleunigter Abbau von weiterem Erregereiweiß ein, zuerst noch unbedeutend, bald aber (durch die Mitbeteiligung der jeweils neu entstehenden Spaltprodukte) nach Art der bekannten Potentialkurve ansteigend, wobei noch die unspezifischen Abbauprodukte des Blutes (Komplement) mithelfen. So wird fast plötzlich eine große Menge jener toxischen Stoffe frei, die nun zu den mehr weniger schweren, allgemeinen oder lokalisierten Symptomen führen. Die Erreger werden entweder sofort mit dem Ansteigen des proteolytischen Vermögens des Blutes abgetötet und ihr Eiweiß rasch aufgespalten, so daß die weiteren Krankheitserscheinungen nicht mehr durch neue Giftbildung, sondern bloß durch die sekundären Folgen des akut toxischen Stadiums bedingt sind; oder sie sind resistenter und können sich (häufig in gewissen Organen mehr abseits vom Blutstrom) noch länger behaupten. So werden durch einige Zeit noch weiter Fieber usw. erregende Stoffe frei (durch das immer noch neu zerfallende Bakterieneiweiß), bis die Erreger schließlich doch unterliegen und damit der Weg der Heilung betreten ist (vom letalen Ausgang einer Infektion sehen wir hier, da er für unsere Betrachtung kein besonderes Problem bietet, ab). Dem einen Typus würde

¹⁾ Ein Beispiel (unter vielen) für die so ganz unchemische Denkweise, mit der die Wissenschaft diesen Phänomenen früher gegenüberzutreten pflegte!

die kritische, dem zweiten die lytische Entfieberung entsprechen; doch fällt das Fieber häufig auch bei dem ersteren nicht plötzlich ab, weil neben den Bakterien-Abbauprodukten noch andere, indirekt durch diese bewirkte Ursachen für Fieber eine Rolle spielen.

Die Anaphylaxie tritt bei den Infektionskrankheiten wohl hauptsächlich als Allergie in Erscheinung, da ja der ganze Verlauf und viele Symptome auf das im Laufe der Krankheit erworbene Abbauvermögen für das Parasiteneiweiß zurückgehen¹⁾. Als Anaphylaxie in engerem Sinne (Chokwirkung) ist sie aber kaum beteiligt, da für das Zustandekommen der letzteren immer plötzliche Reaktionen zwischen größeren Atg- und AK-Mengen erforderlich sind, was ja bei den natürlichen Infektionen nur ganz selten der Fall ist. Konstante und mit kleinen Atg-Mengen erfolgende Reaktionen erzeugen dagegen nie Anaphylaxie, sondern eher Antianaphylaxie. Die von Friedberger aufgestellte Hypothese, wonach alle Infektionskrankheiten auf in vivo stattfindende Anaphylatoxinbildung zurückzuführen wären, ist inzwischen wohl von den meisten Forschern aufgegeben worden. Wir haben im vorhergehenden unsere Ansicht über die Natur des Anaphylatoxins klargelegt und speziell die Beteiligung giftiger Abbauprodukte als unwahrscheinlich erkannt.

Zur Frage, ob mehr die „Toxine“ oder die „Endotoxine“ bei den einzelnen Infektionserregern eine Rolle spielen, möchten wir bemerken, daß es unserer Ansicht nach bei jeder Art nur ein einziges (an sich

¹⁾ In letzter Zeit wurde von Glanzmann (Jahrb. f. Kinderheilk. 83 u. 84) eine Reihe von Purpuraformen als Anaphylaktoide zusammengefaßt. Die hierbei beobachteten Hämorrhagien sind wohl die Folge von Gefäßschädigungen, die in der Regel durch proteo- (oder lipo-) lytische Abbauprodukte bedingt sein dürften. Faßt man den Ausdruck Anaphylaxie im weitesten Sinne, so kann man die von Glanzmann gewählte Bezeichnung gewiß gelten lassen. Wir würden aber lieber von einer „allergischen“ Purpura sprechen, weil dadurch zum Ausdruck käme, daß die betreffenden Erscheinungen mit einem verstärkten Abbau eines Atg (Pferdeserum, Bakterieneiweiß usw.) zusammenhängen, während „anaphylaktisch“ besser nur für Vorgänge reserviert bleiben sollte, die mit dem anaphylaktischen Chok in Beziehung stehen. So könnte als „anaphylaktische“ Purpura z. B. der folgende Fall bezeichnet werden, wo bei einem Kinde unmittelbar nach einer intravenösen Reinjektion von Diphtherieserum multiple Hautblutungen auftraten.

indifferentes) Bakterieneiweiß und seine Stufenreihe zugehöriger Abbauprodukte gibt, die verschiedene Giftigkeit aufweisen können; bald besitzen sie nur die oben erwähnte, wenig charakteristische, bald sehr spezifische (weil auf besonderen chemischen Affinitäten beruhende) Giftwirkung (z. B. Typhus einerseits, Tetanus andererseits). In künstlichen Nährböden können aus dem Substrat noch besondere toxische Produkte gebildet werden oder (in älteren Kulturen) aus den zerfallenden Bakterienleibern tiefe Giftstoffe abgespalten werden, wie sie in vivo vermutlich nicht auftreten. Beide können, da sie ja teils gar nicht vom Bakterieneiweiß abzuleiten sind, teils schon zu tief aufgespalten sind, nicht mehr artspezifischen Bau haben und höchstens für eine Kultur charakteristisch, aber nicht spezifisch sein. Sie könnte man als Ektoden Endotoxinen gegenüberstellen. Besser wäre unseres Erachtens die Bezeichnung unspezifische im Gegensatz zu den spezifischen (auf der chemischen Konstitution des Erregereißes beruhenden) Toxinen; nur die letzteren sind natürlich Atg (im strengen Sinn).

Für die Überwindung von Infektionskrankheiten ist die Fähigkeit des Organismus, fremdes Eiweiß nach einer gewissen Zeit in gesteigertem Maße abbauen und daher fremde Zellen auflösen zu können, von größter Bedeutung. Es handelt sich aber hierbei nicht um eine besondere, im Laufe der Phylogenese mühsam gemachte Erwerbung; die Möglichkeit hierzu liegt vielmehr schon im Bau und in den Grundeigenschaften der Eiweißkörper begründet, speziell in der Tatsache, daß die eigenen Abbauprodukte unter geeigneten Bedingungen auf das Eiweiß, von dem sie stammen, proteolytisch wirken. Auf die gleiche Weise erklärt sich ja auch die Wirkung der eiweißspaltenden Fermente. So finden sich Ferment- und Immunitätsforschung, die sich so lange gesucht und nie recht gefunden haben, schließlich doch an ihrer gemeinsamen Wurzel zusammen. — Daß die Immunitätsreaktionen für den Organismus von Vorteil sind, liegt auf der Hand; sie als „zweckmäßige Einrichtung“ zu bezeichnen, scheint uns dagegen (wie auch sonst in der Biochemie) nicht am Platze. Die Natur kennt keinen „Zweck“, welcher Begriff zielbewußtes Streben voraussetzt und daher nur für menschliche Tätigkeit gilt. Das „Zweckmäßige“ findet sich in der Natur darum so häufig, weil es das Vorteilhafte ist und weil das Unzweckmäßige im Kampf ums Dasein ausgeschaltet wird.

Zusammenfassung.

Die Anwendung der neuen, an anderer Stelle von uns entwickelten eiweißchemischen Vorstellungen auf das Gebiet der Immunitätsforschung führt zu folgender Auffassung der Antikörperbildung: Alle Antikörper sind vom Antigen selbst abzuleiten und entstehen dadurch, daß das Antigen im Organismus eine teilweise Aufspaltung erfährt; die hierdurch gebildeten höheren und noch spezifisch gebauten Abbauprodukte werden an gewisse Eiweißteilchen des Blutes („Globulin“stufe, aus frisch zerfallenden Zellen [Leukozyten u. ähnl.] stammend) adsorbiert. Diese erlangen dadurch die Fähigkeit, neues Antigen, wenn sie mit solchem zusammentreffen, in spezifischer Weise zu adsorbieren, wodurch die bekannten Immunitätsreaktionen (Entgiftung, Fällungen [„Amboceptor“wirkung, anaphylaktischer Chok usw.]) zustande kommen. Diese Vorstellungen werden im einzelnen weiter ausgeführt und die zeitlichen und quantitativen Verhältnisse der Antikörperbildung, sowie die Erscheinungen der Allergie, des anaphylaktischen Choks und der Infektionskrankheiten von demselben eiweißchemischen Standpunkte aus besprochen.

Zum Schlusse möchten mir noch betonen, daß wir mit dem vorhergehenden Ausführungen nicht etwa eine abschließende Theorie der Immunität geben wollen, sondern daß wir dieselben vielmehr als einen Anfang ansehen, als Anregungen zu einer Betrachtungs- und Erforschungsweise der hierhergehörigen Phänomene, die den neuen Vorstellungen vom Bau der Eiweißkörper, von der Bedeutung der Abbauprodukte für die Löslichkeit und Fällbarkeit derselben usw. Rechnung trägt. Nur so glauben wir erwarten zu können, daß diese Arbeit für die Immunitätsforschung einen Fortschritt bedeuten wird.

Über den Nachweis und die Bestimmung des Methylalkohols, sein Vorkommen in den verschiedenen Nahrungsmitteln und das Verhalten der methylalkoholhaltigen Nahrungsmittel im Organismus¹⁾.

Von

Th. von Fellenberg.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des schweizerischen Gesundheitsamtes.)

Mit 5 Figuren im Text.

(Eingegangen am 22. August 1917.)

1. Übersicht.

Der Methylalkohol ist in gebundener Form, als Methylester und als Methyläther, außerordentlich verbreitet im Pflanzenreich. In freiem Zustande findet er sich jedoch höchstens spurenweise in den unveränderten Pflanzenteilen. So fand Wolff²⁾ geringe Spuren dieses Alkohols in den Säften von Johannisbeeren, Pflaumen, Mirabellen, Kirschen, Äpfeln und Weintrauben. Wurden aber die Säfte vergoren, so stieg die

¹⁾ Bezüglich dieses Gegenstandes verweise ich auch auf eine Reihe von Arbeiten, die in den letzten Jahren in den „Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, veröffentlicht vom schweizerischen Gesundheitsamt“, erschienen sind. Diese Arbeiten sind: Bestimmung und Nachweis von Methylalkohol 4, 122 bis 146, 1913. — Analysen einiger Branntweine aus Obst 4, 146 bis 149, 1913. — Über den Ursprung des Methylalkohols in Trinkbranntweinen 5, 172 bis 178, 1914. — Zum Nachweis von Methylalkohol nach Denigès 5, 259 bis 261, 1914. — Über den Nachweis des Methylalkohols nach Denigès und seine Verwertung zur quantitativen Bestimmung in wäßriger Lösung 6, 1 bis 24, 1915. — Über das Vorkommen von Methylalkohol im Harn bei verschiedener Ernährung 6, 24 bis 37, 1915. — Die Bestimmung des Pektins in Gewürzen 7, 42 bis 61, 1916. — Über verschiedene Bindungsarten des Methylalkohols im Pflanzenreich. Bestimmung des Pektin- und Lignin-Methylalkohols in Gewürzen 8, 1 bis 24, 1917.

²⁾ Compt. rend. 131, 1323, 1900; C. 1901, I, 261.

Menge bei den Pflaumen, Mirabellen, Kirschen und Äpfeln auf ungefähr 1⁰/₀ des Gesamtalkohols an. Bei den Trauben war der Gehalt verschieden, je nachdem die Gärung mit oder ohne die Kämme erfolgt. Beim Vergären mit den Kämmen wurden 0,15 bis 0,4⁰/₀, ohne die Kämme Spuren bis 0,03⁰/₀ gefunden. Durch Vergären von Krystallzucker mit Weinhefe wurde kein Methylalkohol gebildet.

Als ich vor einigen Jahren bei Anlaß der Neubearbeitung des Abschnittes „Spirituosen“ des schweizerischen Lebensmittelbuches nach einer geeigneten Methylalkoholreaktion suchte und bei dieser Gelegenheit eine Reihe von Trinkbranntweinen prüfte, fand ich in manchen davon deutlich nachweisbare Mengen Methylalkohol. Meine Ergebnisse stimmten mit denjenigen Wolffs gut überein. Als ich meine Beobachtungen in der Berner chemischen Gesellschaft bekannt gab und einige Möglichkeiten über die hypothetische Muttersubstanz des Methylalkohols besprach, wies mich Herr Prof. Dr. Tschirch darauf hin, daß diese Muttersubstanz am ersten unter den Membranbestandteilen zu finden sei. Unter der gütigen Wegleitung von Herrn Prof. Dr. Tschirch untersuchte ich die Membranindrogen und stellte fest, daß der Methylalkohol der Trinkbranntweine aus dem Pektin der Früchte stammt. Es zeigte sich im weiteren, daß das Pektin ein Methylester ist, aus dem der Methylalkohol außerordentlich leicht abgespalten werden kann. Auch Tragant zeigte sich analog zusammengesetzt. Dies führte dazu, eine Methode zur Bestimmung kleiner Mengen Methylalkohol in wäßriger Lösung auszuarbeiten und zwar an Hand der Reaktion nach Denigès. Diese Methode erlaubte die Bestimmung des Pektin-Methylalkohols in allen möglichen Nahrungsmitteln, sowie auch des bei entsprechender Ernährung im Harn auftretenden Methylalkohols. Ferner wurde die Methode in der Weise erweitert, daß auch der fest gebundene (verätherte) Methylalkohol, der Methylalkohol des Lignins, bestimmt werden konnte. Nicht in den Kreis unserer Untersuchung gezogen haben wir den Methylalkohol der ätherischen Öle und der Alkaloide. Es ließe sich aber durch geeignete Abänderungen wohl auch der diesen Körperklassen eigene Methylalkohol besonders bestimmen.

Unsere Methoden haben den Vorzug vor dem üblichen

Zeiselschen Bestimmungsverfahren, daß sie nicht wahllos den gesamten Methylalkohol einer Droge bestimmen, sondern daß man eine Trennung vornehmen kann in lose gebundenen, veresterten und festgebundenen, verätherten Methylalkohol. Wo aber diese Trennung nicht vorgenommen werden soll, empfiehlt sich nach wie vor die Zeiselsche Methode.

2. Nachweis und Bestimmung des Methylalkohols in alkoholischer Lösung.

Wie erwähnt, liefert die Reaktion nach Denigès¹⁾ mit vielen Trinkbranntweinen deutliche Methylalkoholreaktionen. Die Reaktion beruht darauf, daß der Methylalkohol zu Formaldehyd oxydiert wird und daß dieser Aldehyd mit fuchsin-schwefliger Säure eine je nach der Contraction mehr blaue oder mehr violettrote Färbung gibt. Um die Wirkung des gleichzeitig aus dem Äthylalkohol entstehenden Acetaldehyds auszuschalten, wird in verhältnismäßig stark saurer Lösung gearbeitet. Die Prüfung wird folgendermaßen ausgeführt:

In einem geräumigen Reagensglase werden 0,1 ccm des zu prüfenden Alkohols mit 5 ccm einer 1⁰/₀igen Lösung von Kaliumpermanganat und 0,2 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure versetzt und geschüttelt. Nach Verlauf von 2 bis 3 Minuten wird 1 ccm einer kalt gesättigten (ca. 8⁰/₀igen) Oxalsäurelösung hinzugefügt und umgeschüttelt. Nach wenigen Minuten hat die Lösung Madeirafarbe angenommen. Man setzt nun noch 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu, wobei die Färbung verschwindet, und versetzt mit 5 ccm Fuchsin-Bisulfitlösung. Bei Anwesenheit von Methylalkohol entsteht nach kurzer Zeit eine violette bis rote, bleibende Färbung, die nach 15 bis 20 Minuten ihr Maximum erreicht hat.

Die Fuchsin-Bisulfitlösung bereitet sich Denigès, wie er in einer früheren Mitteilung über den Nachweis von Formaldehyd angibt²⁾, indem er zu 1 Liter 1⁰/₀iger Fuchsinlösung 20 ccm Natriumbisulfitlösung von 38 bis 40⁰ Baumé und nach 5 bis 10 Minuten 20 ccm Salzsäure vom spez. Gew. 1,18 hinzufügt.

¹⁾ Compt. rend. 150, 832, 1910.

²⁾ Compt. rend. 150, 529, 1910.

Die Reaktion ist recht empfindlich. Eine Lösung von 1 Teil Methylalkohol in 100 Teilen Äthylalkohol ist bereits nach einer Minute stark gefärbt, bei 1:1000 beginnt die Färbung sich erst nach einiger Zeit bemerkbar zu machen und hat nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde ihre größte Intensität erreicht. Viel weiter als 1:1000 reicht die Empfindlichkeit nicht; jedoch kann man sie ganz außerordentlich steigern durch Anreichern des Methylalkohols, entweder durch Destillation, oder noch besser durch fraktionierte Fällung des Alkohols nach dem weiter unten beschriebenen Verfahren.

Reiner Äthylalkohol gibt nur eine schwache gelbliche Färbung, die von der fuchsin-schwefligen Säure herrührt. Sehr geringe Mengen Methylalkohol geben schiefergraue, etwas größere blaue und erst bedeutend größere Mengen fuchsinrote Färbungen.

Es wurden nun auch die höheren Alkohole nach Denigès geprüft, und da zeigte es sich denn, daß Isobutylalkohol und Amylalkohol leichte Färbungen geben, während Propylalkohol nicht reagiert. Die Färbung, die durch Isobutylalkohol hervorgerufen wird, ist mehrmals so stark wie die durch Amylalkohol bewirkte, aber immer noch viel zu schwach, als daß der in Branntweinen natürlicherweise vorkommende Isobutylalkohol etwa zu Täuschungen Anlaß geben könnte. Folgende Berechnung zeigt dies.

Ein Fuselöl aus italienischem Weinsprit gab eine Reaktion, die nahezu so stark war wie die eines Äthylalkohols, dem 1^o/₀ Methylalkohol beigemischt war. In Trinkbranntweinen haben wir kaum je mit mehr als 0,5^o/₀ höheren Alkoholen zu rechnen. Durch 0,5^o/₀ höhere Alkohole würde also $0,5 \cdot 0,01 = 0,005$ ^o/₀ oder $\frac{1}{20000}$ Methylalkohol vorgetäuscht, eine Menge, die man direkt nicht mehr nachweisen kann. Folglich stören die höheren Alkohole die Methylalkoholreaktion praktisch nicht.

Als nun der italienische Weinrohsprit¹⁾, aus dem das verwendete Fuselöl stammte, nach Denigès geprüft wurde, fand man eine Reaktion, die 0,1^o/₀ Methylalkohol entsprach. Da die Reaktion nicht von den höheren Alkoholen herrühren konnte, mußte wirklich Methylalkohol zugegen sein. Dies wurde

¹⁾ Derselbe wie auch das Fuselöl wurde mir von Herrn Enz, Vorstand des Laboratoriums des schweizerischen Alkoholamtes, geliefert.

denn auch nach dem weiter unten angegebenen Anreicherungsverfahren, bei dem die höheren Alkohole so gut wie vollständig beseitigt werden, festgestellt. Nach der Anreicherung war die Reaktion mehrmals so stark wie vorher.

Die Reaktion nach Denigès läßt sich auch gut zur colorimetrischen Bestimmung kleiner Mengen Methylalkohols in Branntweinen verwenden. Da aber die Stärke der Reaktion nicht proportional mit dem Gehalt an Methylalkohol zunimmt, sondern bedeutend rascher, ist es notwendig, eine Anzahl von Typen aufzustellen, von welchen einer der zu prüfenden Lösung im Gehalt sehr nahe kommen muß. Es ist zu empfehlen, auch den Gesamtalkoholgehalt der Typen ungefähr auf den des Branntweins einzustellen, da die Färbung bei Anwesenheit von viel Äthylalkohol etwas rascher auftritt als bei weniger. Immerhin sind diese Unterschiede nicht bedeutend. Sehr alkoholarme Lösungen lassen sich nicht gut verwenden. In solchen Fällen setzt man dem Reaktionsgemisch gleich am Anfang einen Tropfen Äthylalkohol zu.

Unsere Methylalkoholgehalte sind in der Tabelle I wiedergegeben. Zur näheren Charakterisierung und weil sich solche Analysen in der Literatur nur spärlich finden, führen wir bei den Branntweinen aus Obst und bei den Weintrester- und Weindrüsenbranntweinen (Weinhefebranntweinen) die vollständigen Analysen an, wie sie nach dem Schweizerischen Lebensmittelbuch auszuführen sind.

Die Branntweine 1 bis 12 außer Nr. 6 waren von der vorjährigen Ernte (1912), Nr. 6 war ein 10 bis 15 Jahre altes Produkt. Die beiden Obstweindestillate stellte ich durch Destillation von Apfelwein selbst her, die Obstdrüsen und Obsttresterbranntweine erhielt ich direkt von Mostereien, und zwar stammen Nr. 3, 4 und 7, sowie der Most, aus dem das Destillat Nr. 2 gewonnen wurde, aus demselben Betriebe, der Obstverwaltungsanstalt Oberdießbach im Kanton Bern. Es mag erwähnt werden, daß diese Mosterei und vielleicht auch die übrigen mit Reinhefe arbeiten. Die Weindrüsen- und Weintresterbranntweine Nr. 5, 11 und 12 wurden unter der Aufsicht des waadtländischen Kantonchemikers, Herrn Arragon, destilliert. Die Branntweine 13 bis 16 lieferte uns ein als zuverlässig bekannter Spirituosenhändler unter Garantie der Echt-

Tabelle I.

Nr.	Alkohol in Vol.-%	Auf den Alkohol des Branntweins berechnet			Methylalkohol in Vol.-% (nach Demiges) v. Fellenberg u. Komerowsky	Blausäure mg in Lit.		Aldehyde	Furfuröl
		Säure als g Essigsäure im Liter ber.	Ästerzahl als g Äthyläster im Liter ber.	höh. Alkohole in Vol.-% (colorimet.)		freie	gebundene		
1.	38,1	0,65	0,60	3,7	<1	0	Spuren sehr ger.	0	
2.	31,2	0,36	0,67	4,2	<1	0	Spuren	0	
3.	62,5	0,49	6,16	3,9	<1	—	0	0	
4.	53,4	0,60	4,02	4,6	<1	—	0	0	
5.	55,5	0,83	2,63	2,7	<1	—	0	Spuren	
6.	62,1	0,90	1,80	3,1	<1	—	Spuren	zieml. starke Reaktion	
7.	51,3	2,00	6,90	3,4	42	sehr ger. Spuren	starke Reaktion	starke Reaktion	
8.	54,8	2,21	6,58	4,6	20	0	starke Reaktion	0	
9.	53,4	1,93	7,11	4,2	23	0	sehr starke Reaktion	sehr schw. Reaktion	
10.	48,8	1,47	9,14	3,9	13	0	sehr starke Reaktion	0	
11.	51,9	0,25	1,52	7,6	13	—	sehr starke Reaktion	schwache Reaktion	
12.	46,6	0,28	1,87	5,0	12	—	starke Reaktion	schwache Reaktion	
13.	44,7	—	—	—	<1	—	—	—	
14.	78,8	—	—	—	<1	—	—	—	
15.	50,0	—	—	—	6	—	—	—	
16.	47,0	—	—	—	4	—	—	—	

heit. Bei keinem der verwendeten Branntweine ist Grund vorhanden, an der Echtheit zu zweifeln oder gar an die Möglichkeit eines künstlichen Zusatzes von Methylalkohol zu denken.

Interessant ist das Vorkommen von Blausäure bzw. Benzaldehydcyanhydrin in einem Obstdrusen- und zwei Obsttresterbranntweinen, besonders der hohe Gehalt in einem der letzteren (Nr. 7). Dieser Branntwein erinnerte bereits im Geruch leise an Kirschwasser. Viel deutlicher trat der Geruch nach der Zerlegung des Cyanhydrins durch Natronlauge durch die Bildung von Benzaldehyd hervor und noch ausgeprägter, nachdem man nun durch Ansäuern auch die Blausäure in Freiheit gesetzt hatte.

Bevor wir den Methylalkoholgehalt unserer Branntweine besprechen, ist es notwendig, den vollen Beweis zu erbringen, daß dieser Alkohol wirklich zugegen ist, daß die Reaktion nach Denigès nicht etwa durch irgendwelche andere Körper bedingt wird. Solche Einwände gegen die genannte Reaktion sind auch wirklich gemacht worden.

Vor allem führten wir die Reaktion nicht etwa mit den unveränderten Branntweinen aus, sondern mit Destillation, die durch 30 Minuten langes Erhitzen mit Natronlauge oder Silbernitrat (2 ccm n-AgNO₃ und 1 ccm 30⁰/₀ige NaOH auf 100 ccm 40⁰/₀ Alkohol enthaltendes Destillat) und nochmalige Destillation gereinigt worden waren. Durch diese Behandlung werden, wie ich bei anderer Gelegenheit zeigte¹⁾, die Aldehyde und Terpene zu Säuren oxydiert und als Salze zurückgehalten. Auch die Spuren Glycerin, die etwa vorhanden sein könnten, sind nach der zweimaligen Destillation entfernt. Nach Salkowski²⁾ wird nämlich auch Glycerin durch Permanganat zu Formaldehyd oxydiert und könnte zu Täuschungen Anlaß geben. Von den bekannten Verunreinigungen der Branntweine sind somit nur noch die höheren Alkohole zugegen.

Um den Methylalkohol mit voller Sicherheit nachzuweisen, wurde er durch fraktionierte Destillation möglichst abgetrennt und in das Jodid übergeführt, ein Nachweis, der zu den gebräuchlichsten gehört, aber den Nachteil hat, verhältnismäßig

¹⁾ Mitt. a. d. Geb. d. Lebensmittelunt. u. Hyg., veröffentl. vom Schweiz. Gesundheitsamt, 1, 311, 1910.

²⁾ Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 28, 225, 1914.

große Mengen Branntwein zu benötigen. Da Äthyljodid unter 760 mm Druck bei 72,2° siedet, Methyljodid aber bereits bei 43,8°, so ist eine Trennung der Jodide ungleich besser durchzuführen, als eine solche der Alkohole. Es zeigte sich denn auch, daß in allen Fällen, wo die Reaktion nach Denigès positiv ausfiel, der Methylalkohol sich auch durch das Jodid nachweisen ließ. Der Befund der Farbenreaktion wird dadurch in schöner Weise bestätigt.

5 Liter Obstresterbranntwein Nr. 7, der 2,1% Methylalkohol, also 150 ccm in der verwendeten Menge, enthielt, wurde verseift und der fraktionierten Destillation mittels eines Anderlini-Fraktionieraufsatzes unterworfen. Um die Basen zurückzuhalten, wurde die zweite Destillation unter Zusatz von etwas Schwefelsäure durchgeführt. Nachdem die Hauptmenge des Wassers durch die Destillation entfernt worden war, wurden die einzelnen Fraktionen mit gebranntem Kalk entwässert und weiter fraktioniert. Nach mehrmaliger Wiederholung dieser langwierigen Operation wurden die über 76° (bei ca. 715 mm) siedenden Anteile beiseitegestellt und nur die erste, tiefer siedende Fraktion von ca. 100 ccm weiter aufgeteilt. Daraus wurden schließlich erhalten:

- | | | |
|-------------------------|------------|---------|
| 1. Fraktion, Siedepunkt | 66 bis 70° | 8,2 g, |
| 2. " " | 70 " 73° | 10,5 g, |
| 3. " " | 73 " 75° | 10,7 g. |

Die beiden ersten Fraktionen wurden auf bekannte Weise in die Jodide übergeführt¹⁾. Nach Fraktionierung der Jodide konnten schließlich 13,2 g reines, bei 42,5 bis 43,5° (unkorr.) unter 710 mm Druck übergehendes Methyljodid gewonnen werden.

Damit ist das Vorkommen von Methylalkohol in Obstresterbranntwein von neuem mit völliger Sicherheit bestätigt.

Die Ausbeute an Methyljodid ist natürlich sehr schlecht, wie nicht anders zu erwarten war, da die Trennung der Alkohole durch fraktionierte Destillation nur sehr unvollständig gelingt. Die Hauptmenge des Methylalkohols war, als die Fraktionierung unterbrochen wurde, noch in der bei 76 bis 76,5°

¹⁾ Vgl. Emil Fischer, Anleitung zur Darstellung organischer Präparate.

siedenden Fraktion, die 500 ccm betrug; auch die Hauptfraktion (76,5 bis 77°) enthielt noch ansehnliche Mengen davon, wie die Probe nach Denigès zeigte.

3. Ein Anreicherungsverfahren für Methylalkohol zum Nachweis kleinster Mengen.

Die übrigen Branntweine konnte man nicht gut auf die soeben beschriebene Weise prüfen, weil dazu ein außerordentlicher Aufwand an Material und Zeit nötig gewesen wäre. Man suchte deshalb, ein Anreicherungsverfahren für den Methylalkohol aufzufinden.

Bekanntlich lassen sich die Alkohole aus wäßriger Lösung durch Pottasche abscheiden. Es wurde nun vermutet, daß sie sich mit steigendem Molekulargewicht gemäß ihrer immer schwereren Löslichkeit durch stets geringeren Zusatz von Pottasche ausfällen lassen. Es sollte demnach möglich sein, sowohl die höheren Alkohole, als auch den Äthylalkohol unter Bedingungen abzuscheiden, unter denen der Methylalkohol noch in Lösung bleibt.

Die ersten Vorversuche wurden mit 40⁰/₀igem Alkohol vorgenommen und waren nicht sehr ermutigend, da sich bei der fraktionierten Fällung mit Pottasche in allen Fraktionen reichliche Mengen Methylalkohol nachweisen ließen.

Es zeigte sich nun aber, daß eine Anreicherung des Methylalkohols erreicht werden kann, wenn die Pottaschefällung in viel verdünnterer Lösung vorgenommen wird. Es wurden zunächst Versuche mit auf 10⁰/₀ Alkohol verdünntem Branntwein ausgeführt; später zeigte es sich, daß man ebenso vorteilhaft mit 20⁰/₀igen Lösungen arbeiten kann. Dabei braucht man natürlich bedeutend weniger Pottasche.

Die Menge Branntwein, die 100 ccm Alkohol entspricht, wird auf einen Liter verdünnt (also auf den Alkoholgehalt von 10⁰/₀) und mit roher Pottasche versetzt, bis sich reichlich Alkohol ausscheidet. Man trennt die Alkoholschicht ab und versetzt die wäßrige Lösung von neuem mit Pottasche, trennt wieder ab und wiederholt diese Ausfällung noch ein- oder zweimal, bis der abgetrennte Alkohol zusammen ungefähr 75 bis 80 ccm ausmacht. Die abgetrennten Fraktionen enthalten alle

ein wenig Methylalkohol, die erste am wenigsten, die letzte schon bedeutend mehr. Deshalb fährt man mit der Ausfällung nicht weiter fort. Man braucht ungefähr 700 g Pottasche zur Ausfällung der genannten Menge Alkohol.

Nun wird die wäßrige Lösung unter Verwendung eines Anderlini-Fraktionieraufsatzes destilliert, indem man gleich etwas Kalilauge zusetzt zur Verseifung der Spuren von Estern, die etwa noch zugegen sind. Die Hauptmenge der Ester ist allerdings schon mit dem Alkohol ausgefällt worden. Man erhält ca. 50 bis 60 ccm Alkohol von ca. 75^o/_o. Das Destillat wird unter Zusatz von etwas Schwefelsäure wieder destilliert, mit Calciumoxyd eine Stunde am Rückflußkühler erhitzt und von neuem destilliert. Das nunmehr wasserfreie Destillat beträgt ca. 30 ccm. Man führt damit in der Weise eine Fraktionierung aus, daß man $\frac{4}{5}$ der Flüssigkeit sorgfältig aus einem Fraktionierkölbchen übertreibt, den Rückstand, der sehr wenig Methylalkohol enthält, beseitigt und das Übergegangene in gleicher Weise noch mehrmals destilliert, indem man stets wieder den Rückstand vernachlässigt. Man fährt fort, bis man endlich ca. 5 ccm Destillat erhält, das meist schon durch seinen niedrigeren Siedepunkt (75 bis 76^o bei 715 mm) die Anwesenheit von Methylalkohol verrät. Dieses Destillat führt man in das Jodid über, indem man es in einem kleinen Fraktionierkölbchen mit 1 g rotem Phosphor und 10 g Jod versetzt, umschüttelt, verschließt und mit schräg nach aufwärts gerichtetem Steigrohr einige Stunden stehen läßt. Darauf destilliert man sehr vorsichtig und langsam ab, bis keine Tröpfchen von Jodid mehr übergehen, schüttelt das Destillat mit der mehrfachen Menge Wasser unter Zusatz von so viel Natronlauge, daß gerade Entfärbung eintritt. Die Jodidschicht wird abgetrennt, mit Chlorcalcium getrocknet und unter Zusatz dieses Trocknungsmittels aus einem kleinen Fraktionierkölbchen sorgfältig abdestilliert, bis der Siedepunkt des Äthyljodids erreicht ist. Da bei dieser ersten Destillation meist noch Spuren von Wasser mitgehen, wird ihr Siedepunkt nicht berücksichtigt. Man destilliert nun ein zweites, drittes, viertes, und wenn möglich ein fünftes Mal in gleicher Weise ab, indem man jedesmal die letzten Anteile beseitigt und indem man sich die Siedepunkte aufnotiert. Wenn Methylalkohol zugegen ist, sind die Siede-

punkte deutlich niedriger als derjenige von Äthyljodid und nehmen bei jeder folgenden Destillation ab.

Während das aus reinem Äthylalkohol gewonnene Jodid während drei aufeinander folgenden Destillationen den Siedepunkt 67° zeigte und nach einigen Tropfen auf 69 und bald darauf auf 70° (unter 717 mm) stieg, zeigten einige unserer Branntweine folgende Siedepunkte:

	2.,	3.,	4.,	5.
	Fraktion			
Nr. 8. Äpfeltresterbranntwein, Kt. Freiburg	60°	55°	53°	—
„ 9. Birnentresterbranntwein, „	60°	56°	53°	51°
„ 16. Enzianbranntwein	57°	54°	52°	50°

Bei Weintresterbranntwein (Mischung von Nr. 11 und 12) und bei Kirschwasser wurde die Fällung nach dem Verdünnen auf 20% Alkohol durchgeführt. Aus 1 Liter 20% igem Branntwein wurden mit 360 bzw. 450 g Pottasche 230 bzw. 260 ccm in 2 Fraktionen abgeschieden.

Die Siedepunkte der Jodide waren:

	2.,	3.,	4. Fraktion
Nr. 11 u. 12. Weintresterbranntwein	60°	57°	53°
„ 15. Kirschwasser	60°	59°	58°

Es gelang also in allen Branntweinen, die die Denigèsreaktion geliefert hatten, selbst bei dem Kirschwasser mit nur 6‰ Methylalkohol, auf den Gesamtalkohol berechnet, diesen Alkohol nach dem Anreichern durch die Siedepunkte der Jodide mit Sicherheit nachzuweisen. Selbst bei dem letztgenannten Branntwein liegt der Siedepunkt noch 9° tiefer als bei dem Kontrollversuch mit Äthylalkohol.

Die fraktionierte Ausfällung mit Pottasche hat vor der fraktionierten Destillation den Vorzug, in viel kürzerer Zeit eine bedeutend weitergehende Trennung zu bewirken. Die Mengen Methylalkohol, die dabei mit ausgefällt werden, sind sehr gering, obgleich sie mit dem so außerordentlich empfindlichen Reagens nach Denigès noch recht starke Färbungen geben.

Wenn es sich darum handelt, äußerst geringe Spuren Methylalkohol noch nachzuweisen in Fällen, wo die direkte Reaktion nach Denigès, die ja nur Mengen bis zu etwa 0,1% erkennen läßt, versagt, geht man mit der Ausfällung des Alkohols noch weiter als bei dem letzten Versuche. So wurde z. B. reiner,

absoluter Alkohol im Verhältnis 1:100000 mit Methylalkohol versetzt; 40 ccm davon wurden auf 200 ccm verdünnt und mit 150 g Pottasche versetzt. Man trennte den ausgeschiedenen Alkohol ab und destillierte von der wäßrigen Lösung 5 ccm ab. Von diesem schätzungsweise ca. 20%igen Alkohol wurden 0,5 ccm zur Reaktion verwendet. In genau gleicher Weise wurde ein blinder Versuch mit dem absoluten Alkohol ausgeführt. Beim blinden Versuch trat eine äußerst geringe, kaum wahrnehmbare Färbung auf, bei der methylalkoholischen Lösung hingegen eine deutliche, wenn auch recht schwache Reaktion.

Nach dem Anreichern gaben auch der Kognak, die Weindrusenbranntweine, der Obstdrusenbranntwein sowie die beiden Obstweindestillate deutliche Reaktionen.

4. Ursprung des Methylalkohols in Trinkbranntweinen.

Wir haben also, wie unsere Tabelle I zeigt, deutliche Mengen Methylalkohol gefunden in Obst- und Weintresterbranntweinen, in Enzian und in Kirschwasser. Äußerst geringe Spuren, erst nach dem Anreichern nachweisbar, finden sich in nahezu jedem Branntwein. Auch in einigen Weinen, die ich daraufhin untersuchte, habe ich sie gefunden, und zwar in größerer Menge in Rotweinen als in Weißweinen. Unser Resultat stimmt mit dem eingangs erwähnten Befunde von Wolff überein. Der Methylalkohol findet sich in allen Branntweinen, deren Maische auf den Trestern vergoren worden ist; er muß somit bei der Gärung aus irgendeinem Tresterbestandteile entstehen. Man kann ihn auch künstlich aus Trestern durch Säurehydrolyse abspalten, wie folgender Versuch zeigt.

1 kg Äpfel wurde zerstampft, ausgepreßt und durch ein Tuch geseiht. Filtrat und Rückstand wurden getrennt mit 10% Schwefelsäure 2 Stunden lang gekocht und mit Wasserdampf destilliert. Die Destillate wurden durch Destillation angereichert und nach Denigès geprüft. Beide Destillate gaben eine positive Reaktion, dasjenige aus den Trestern aber eine ca. 10mal so starke wie dasjenige aus dem Saft. Bei der direkten Destillation ohne Säurebehandlung war mit den Trestern eine ganz minimale Reaktion aufgetreten, die erst nach weitgehendem Anreichern durch Destillation auftrat; vielleicht entstand diese Spur von Methylalkohol durch die Wir-

kung der vorhandenen Äpfelsäure. Auch die geringen Mengen Methylalkohol, die Wolff in den Früchten direkt nachwies, sind wohl erst während der Destillation entstanden.

Als nun der Frage nähergetreten werden sollte, welcher Tresterbestandteil als Muttersubstanz des Methylalkohols in Frage kommt, war Herr Prof. Dr. Tschirch so liebenswürdig, mir mit seinem wertvollen Rat an die Hand zu gehen, wofür ihm auch an dieser Stelle mein verbindlichster Dank ausgesprochen sei. Wegen der teilweisen Löslichkeit des methylalkoholliefernden Körpers wurde zuerst an Zellinhaltstoffe gedacht. Herr Prof. Tschirch machte mich jedoch aufmerksam, daß eher die Membranbestandteile in Betracht kommen dürften.

Tschirch¹⁾ teilt die Membranindrogen nach chemischen Gesichtspunkten in eine Anzahl Gruppen ein. Von jeder dieser Gruppen wurden einer oder mehrere Vertreter auf die Anwesenheit von leicht abspaltbaren Methylgruppen geprüft. Oft wurden auch die charakteristischen Bestandteile getrennt und für sich untersucht.

1 bis 2 g der Drogen oder der entsprechende Auszug wurde mit 50 ccm Schwefelsäure 1:10 $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflußkühler erhitzt, 25 ccm davon abdestilliert, mit Silbernitrat und Natronlauge versetzt und noch mehrmals destilliert, indem man stets nur die Hälfte auffing. Mit den letzten 4 ccm wurde die Reaktion nach Denigès vorgenommen. Ungefähr 0,02% Methylalkohol in den Drogen konnte so noch nachgewiesen werden. In der Tabelle II sind die dabei erhaltenen Resultate wiedergegeben. Wir führen hintereinander die Gruppe, den oder die untersuchten Vertreter der Gruppe und die erhaltene Reaktion an.

Tabelle II.

A. Cellulosine, die Polysaccharine enthalten.

1. Celluloso-Membranine, Baumwolle
(Watte) keine Reaktion
2. Reservecelluloso-Membranine,
Steinnuß keine Reaktion
3. Lichenino-Membranine, Lichenin,
isländisch Moos keine Reaktion

¹⁾ Handbuch der Pharmakognosie 2, 224.

Tabelle II (Fortsetzung).

4. Lignino-Membranine, Tannen-, Buchen-, Eichenholz sehr geringe Reaktion
5. Pektino-Membranine, Trauben, Äpfel, Birnen, Quitten, Kirschen, Zwetschen, Aprikosen, Johannisbeeren, Stachelbeeren, Himbeeren, Heidelbeeren starke Reaktion
6. Koryzo-Membranine,
 - A. Schleime der Intercellularsubstanzen, Carrageen, Perlmoos keine Reaktion
 - B. Schleime der sekundären Membran,
 - a) Schleime in Samen, Leinsamenschleim, ganze Leinsamen, Schleim von Quittenkernen, von weißem Senf keine Reaktion
 - b) Schleimzellen in der ganzen Pflanze verteilt, Schleim von Eibischwurzeln und Eibischblüten keine Reaktion
 - c) Schleimzellen in Knollen, Salepschleim keine Reaktion
 - d) Schleimzellen in Rinden, Zimtschleim keine Reaktion
7. Gummo-Membranine, Traganth zieml. starke Reaktion

Arabisches Gummi, Prunoideengummi (Kirschgummi, Aprikosengummi aus der Rinde, Reineclaudengummi aus den Früchten) keine Reaktion
- B. Drogen, die vorwiegend aus Membranen bestehen, die keine Polysaccharide enthalten, oder von denen es nicht sicher ist, ob sie welche enthalten.
 1. Suberino-Membranine, Kork, mit Wasser, Alkohol und Äther ausgezogen keine Reaktion
 2. Pollenino-Membranine, Lycopodium (Bärlappsamen) keine Reaktion
 3. Mycino-Membranine, Fliegen-schwamm, roter Täubling, honiggelber Hallimasch, Warzenstäubling, Ziegenlippe keine Reaktion
 4. Silico-Membranine, Kieselguhr . . . keine Reaktion
 5. Carbono-Membranine, Holzkohle . keine Reaktion

Von den Membranindrogen enthalten somit die Pektino-Membranine bedeutende Mengen mit verdünnter Schwefelsäure

abspaltbaren Methylalkohol, etwas weniger davon enthält eine Untergruppe der Gummo-Membranine, der Traganth und sehr geringe Mengen die Lignino-Membranine, die verschiedenen Holzarten.

Für unsere Frage nach der Herkunft des Methylalkohols in Trinkbranntweinen kommt natürlich nur die erste Gruppe in Betracht. Wird der Saft von reifen Früchten mit Alkohol gefällt, so liefert das ausfallende Pektin eine sehr starke Methylalkoholreaktion, während das Filtrat frei davon ist. Das Pektin ist somit die Muttersubstanz des Methylalkohols in den Trinkbranntweinen.

Vergegenwärtigen wir uns nun, wie die Bildung des Methylalkohols in den Branntweinen vor sich geht. Wir müssen dazu einige Ergebnisse der nächstfolgenden Arbeit vorwegnehmen. Das Pektin kommt in unreifen Früchten in unlöslicher Form als Pektose, oder, wie Tschirch den Körper benennt, als Protopektin, als wesentlicher Bestandteil der Membran, besonders der Mittellamelle, vor. Bei der Reife verwandelt sich das Pektin zum großen Teil durch einen hydrolytischen Vorgang in kolloidal lösliches Pektin. Pektin ist der Methyl-ester einer Säure, der Pektinsäure. Bei der Überreife, z. B., dem Teigwerden der Birnen, und beim Faulen der Früchte wird das Pektin durch ein Enzym, die Pektase, in Pektinsäure und Methylalkohol zerlegt. Auch beim Stehenlassen von Fruchtsäften, also auch bei der Gärung, entfaltet dieses Enzym seine Wirkung. Die weiteren Abbauprodukte des Pektins befinden sich ohne Zweifel unter den sogenannten schwachen Säuren und weiteren unbestimmbaren Extraktivstoffen des Weines. Wird die Pektase abgetötet, z. B. durch Sterilisieren des Saftes, so wird auch nach längerem Lagern kein Methylalkohol gebildet. Das vorhandene Pektin bleibt unverändert im alkoholfreien Wein.

Der auf die beschriebene Weise in den Wein gelangende Methylalkohol spielt gegenüber der gewaltigen Menge Äthylalkohol quantitativ nur eine sehr untergeordnete Rolle; er macht wohl stets weniger als 1⁰/₀ des Gesamtalkohols aus. Höchstens bei überreifen Früchten könnte er vielleicht die Menge von 1⁰/₀ erreichen.

Anders verhält es sich bei Tresterweinen. Im Preßrück-

stande der Weinbereitung befindet sich das gesamte, noch unveränderte Protopektin. Je nach dem Reifezustand wird seine Menge variieren, indem unreife Früchte noch bedeutend mehr davon enthalten als reife.

Bei der Vergärung der Trester zwecks Bereitung von Tresterbranntwein geht das Protopektin wiederum, wohl durch die Zwischenstufe Pektin, in Pektinsäure und Methylalkohol über. Da nun aber in den Trestern nur eine geringe Menge Zucker verblieb, herrscht der Äthylalkohol gegenüber dem Methylalkohol bei den Tresterbranntweinen nicht so gewaltig vor wie bei dem Wein; man findet, wie wir gesehen haben, Mengen von über 40⁰/₀ Methylalkohol.

Bei den Obsttresterbranntweinen muß der Methylalkohol naturgemäß größer sein als bei den Traubentresterbranntweinen, da Äpfel und Birnen weniger Zucker enthalten als Trauben und ihre Trester daher verhältnismäßig weniger Äthylalkohol liefern. Dazu kommt, daß diese Früchte wohl auch zur Weinbereitung etwas weniger reif gewonnen werden als die Trauben, da sonst zu befürchten ist, die Weine könnten einen zu geringen Säuregehalt aufweisen und an Haltbarkeit einbüßen. Das unreifere Obst muß aber wieder weniger Pektin und mehr Protopektin enthalten, wodurch die Verhältnisse im gleichen Sinne verschoben werden.

Bei den Rotweinen gelangt durch die Gärung auf den Trestern stets mehr Methylalkohol in den Wein als bei den Weißweinen, gegenüber dem Äthylalkohol aber nur eine äußerst geringe Menge.

Von den Tresterweinen könnte man erwarten, daß sie eine größere Menge Methylalkohol enthalten, wenn nicht durch den üblichen Zuckerzusatz der Äthylalkohol so vermehrt würde, daß dadurch wieder der Gehalt an Methylalkohol auf das gewöhnliche Maß herabgedrückt wird.

5. Die Bestimmung des Methylalkohols in pektinhaltigen Nahrungsmitteln.

Wie wir gesehen haben, ist der Methylalkohol ein wesentlicher Bestandteil des Pektins; er macht 9 bis 11,5⁰/₀ davon aus. Das Pektin läßt sich nicht nur durch verdünnte Schwefelsäure verseifen, sondern noch viel leichter durch Natronlauge.

Versetzt man eine Pektinlösung mit Natronlauge in geringem Überschuß, so ist bereits nach etwa 2 Minuten aller Methylalkohol abgespalten. In dieser Eigenschaft unterscheidet sich das Pektin scharf vom Lignin, dem verbreitetsten Methoxyderivat, das gegen kochende starke Natronlauge beständig ist.

Es war Aussicht vorhanden, mit Hilfe der Reaktion von Denigès, die uns bei der Untersuchung der Trinkbranntweine bereits so gute Dienste geleistet hatte, auch den Methylalkohol in wäßriger Lösung genau bestimmen zu können, nachdem man ihn aus dem Pektin in Freiheit gesetzt und durch Destillation abgetrennt haben würde.

Beschäftigen wir uns zuerst mit der genannten Methylalkoholreaktion. Die Reaktion ist sehr empfindlich und leicht auszuführen. Sie wäre ideal zu nennen, wenn die entstehenden Färbungen proportional den Methylalkoholgehalten ausfallen würden und wenn sie bei verschiedener Stärke im Farbton gleich wären. Leider ist dies beides aber nicht der Fall. Die niedrigeren Gehalte geben verhältnismäßig zu schwache Färbungen. Je schwächer die Färbungen sind, desto mehr zieht sich der Farbton nach Blau hin.

Ich vermutete, daß die Vorschrift von Denigès (siehe weiter oben) vielleicht nach der einen oder anderen Richtung hin verbesserungsfähig sein könnte und führte eine Reihe entsprechender Versuche aus unter Änderung der einzelnen in Betracht fallenden Faktoren. Im folgenden sind diese Resultate zusammengestellt.

1. Änderung der Zeitdauer der Permanganateinwirkung. Eine 2 Minuten lange Oxydationsdauer gab mit 1 mg Methylalkohol eine etwas stärkere Färbung als eine 5 und 10 Minuten lange. Wir oxydierten daher stets 2 Minuten lang.

2. Änderung der Schwefelsäure- und der Permanganatmenge bei der Oxydation. Zusatz von 0,1 ccm konz. Schwefelsäure gab eine stärkere Färbung als 0,3 ccm, 1 ccm 5⁰/₁₀ ige Permanganatlösung gab eine stärkere Färbung als 0,2 ccm und zwar sowohl bei Zusatz von 0,1 als auch von 0,3 ccm konz. Schwefelsäure. Auch bei 10 Minuten langer Oxydation gaben 0,2 ccm Permanganat ein schlechteres Resultat als 1 ccm.

3. Einfluß der schwefligen Säure. Ein Zusatz von schwefliger Säure unmittelbar nach dem Hinzufügen der Fuchsin-

bisulfittlösung bewirkt eine blaustichigere und etwas hellere Färbung; auch das fertige Reaktionsprodukt wird nach diesem Zusatz allmählich etwas blaustichiger und heller. Eine Fuchsin-schwefligsäurelösung, die durch Permanganat vorsichtig nahezu bis zum Erscheinen der Fuchsinfärbung oxydiert worden ist, gibt eine rotstichigere Lösung. Ein Reagens mit geringerem Überschuß an schwefliger Säure scheint somit Vorzüge zu haben gegenüber einem solchen mit größerem Überschuß.

4. Versuche mit Formaldehyd. Wird Formaldehyd unter Ausschaltung der Permanganatoxydation, also einfach unter Zusatz der entsprechenden Menge Schwefelsäure, mit fuchsin-schwefliger Säure in Reaktion gebracht, so fallen die Färbungen nahezu 20mal stärker aus als mit der gleichen Menge Methylalkohol. Wird die Oxydation aber wie beim Methylalkohol vorgenommen, so erhält man ähnliche, nur um eine Kleinigkeit stärkere Färbungen als mit dem Alkohol. Ob nun aber die Oxydation vorgenommen wird oder nicht, in beiden Fällen geben die schwächeren Konzentrationen blaustichigere und zu wenig starke Färbungen, allerdings nicht ganz im gleichen Verhältnis wie Methylalkohol.

Es zeigt sich, daß das Permanganat nur ungefähr $\frac{1}{18}$ des Methylalkohols zu Formaldehyd, $\frac{17}{18}$ aber gleich weiter zu Ameisensäure oder Kohlensäure oxydiert, daß aber die prozentuale Ausbeute an Formaldehyd bei verschiedenen Konzentrationen gleich ist. Der Grund des blauerer Farbtones und der verhältnismäßig zu schwachen Färbungen bei den verdünnteren Lösungen liegt nicht in der Oxydation, sondern in der Reaktion mit der fuchsin-schwefligen Säure.

5. Zusatz von Äthylalkohol. Neben der Vorschrift von Denigès, die uns bisher als Wegleitung diente und die für die Bestimmung in Spirituosen gilt, gibt dieser Verfasser eine weitere Anleitung zum Arbeiten in wäßriger Lösung¹⁾. Danach soll man Äthylalkohol zusetzen, wo solcher nicht schon vorhanden ist. Dadurch wird intermediär Formolacetol gebildet, das leichter mit fuchsin-schwefliger Säure reagiert als Formaldehyd. Wir können dies bestätigen; nach Zusatz von 1 ccm 10⁰/₀ igem Alkohol wurde eine 2,2mal stärkere Färbung erhalten.

¹⁾ Compt. rend. 150, 833, 1910.

6. Einwirkungsdauer der fuchsinschwefligen Säure. Man verglich die nach 1 und nach 14 Stunden erhaltenen Färbungen miteinander. Nach 14 Stunden erhielt man eine um 1,25mal stärkere Lösung. Da der Unterschied nicht sehr groß ist, lohnt sich ein längeres Warten nicht; wir beobachteten stets nach 1 Stunde.

7. Verschiedene Zusammensetzung der fuchsinschwefligen Säurelösung. Man stellte sich 2 Reihen von Lösungen her, die eine mit 5 g, die andere mit 0,5 g Fuchsin im Liter. Jede Reihe enthielt steigende Mengen schweflige Säure von 1 bis 40 Mol. auf 1 Mol. Fuchsinchlorhydrat. 1 Mol. schweflige Säure genügt zur Entfärbung nicht, wohl aber 2 Mol. Bei 5 g Fuchsin im Liter nimmt die Farbstärke mit steigendem SO_2 -Gehalt ab, bei 0,5 g im Liter nimmt sie zu. Mit dem höheren Fuchsingehalt lassen sich bedeutend stärkere Färbungen erzielen; auch ist das Verhältnis bei verschiedenen Methylalkoholgehalten dort günstiger. Das beste Resultat lieferte eine Lösung mit 3 Mol. SO_2 bei einem Gehalt von 5 g Fuchsin im Liter. Folgende Gehalte weisen die Lösungen von Denigès, Große-Bohle¹⁾ und meine Lösung auf:

Im Liter sind vorhanden:

	g Fuchsin	g SO_2	Mol. SO_2 auf 1 Mol. Fuchsin
Lösung nach Denigès	ca. 1	ca. 6,5	ca. 34,2
" " Große-Bohle . . .	" 1	" 6,34	" 33,8
" " von Fellenberg " 5	" 5	" 3,0	" 3,2

Meine Lösung wird bereitet, indem man zum Liter löst: 5 g Fuchsin, 12 g krystallisiertes Natriumsulfit und 100 ccm n-Schwefelsäure. Diese Lösung gibt ungefähr doppelt so starke Färbungen, wie die beiden, unter sich ungefähr gleichwertigen Lösungen von Denigès und Große-Bohle.

8. Änderung der Schwefelsäuremenge. Nach Denigès gibt man vor dem Zusatz der fuchsinschwefligen Säure 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu, um zu verhindern, daß Acetaldehyd eine Färbung liefert. Mit kleineren Schwefelsäuremengen fallen die mit Formaldehyd erzeugten Färbungen zwar stärker aus; aber da schon mit 0,8 ccm auch Acetaldehyd mitreagiert, darf der Säurezusatz nicht verringert werden.

¹⁾ Siehe Salkowski, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 28, 225, 1914.

Die Reaktion ist hiernach nach manchen Richtungen ziemlich genau untersucht worden. Das gewünschte Ziel, gleichmäßige Färbungen und gleichmäßiges Ansteigen der Farbstärke bei verschiedener Konzentration zu erhalten, ist dabei leider nicht erreicht worden. Man mußte sich deshalb damit behelfen, die Farbstärken bei verschiedenen Methylalkoholgehalten miteinander zu vergleichen und danach Umrechnungstabellen der Farbstärken in Methylalkoholgehalte aufzustellen. Diese Tabellen sind weiter unten (Tabelle IV bis VI) aufgeführt.

Wir müssen nun noch wissen, wieviel von einer wäßrigen Methylalkohollösung abdestilliert werden muß, damit der gesamte Methylalkohol im Destillat wiedergefunden wird. Wir haben dabei nur sehr verdünnte Methylalkohollösungen zu berücksichtigen.

Wenn eine Lösung von 50 mg Methylalkohol oder weniger in 100 ccm Wasser destilliert wird, bis 60 ccm übergegangen sind, so findet sich der Rückstand methylalkoholfrei. Es scheint demnach, daß sich die gesamte Menge des Methylalkohols im Destillat befinden muß. Es könnte aber doch sein, daß sehr kleine Mengen des Alkohols bei der Destillation verloren gehen, wie folgende Überlegung zeigt.

Vor der eigentlichen Destillation muß die gesamte in der Apparatur befindliche Luftmenge durch den sich bildenden Wasser-Methylalkoholdampf herausgetrieben werden. Diese Luft ist natürlich bis zu einem gewissen Grade mit Wasserdampf und Methylalkoholdampf beladen und nimmt somit eine kleine Menge des Alkohols mit sich fort. Das gleiche macht sich bei der Destillation jeder Flüssigkeit bemerkbar und der Grund, weshalb riechende Flüssigkeiten bei der Destillation besonders am Anfang ihren Geruch auszuströmen pflegen, liegt wohl darin, daß eben die aus dem Destillierkolben getriebene Luft mit dem Destilliergut, je nach dessen Dampfspannung mehr oder weniger, beladen ist.

Um zu prüfen, ob bei der Destillation sehr verdünnter Methylalkohollösungen sich dieser theoretisch vorauszusehende Fehler auch experimentell nachweisen lasse, wurden je 50, 25 und 10 mg Methylalkohol in 100 ccm Wasser gelöst, in einen 400 ccm-Kolben gebracht und destilliert, bis 60 ccm übergegangen waren. Nach dem Erkalten wurde das Destillat in den

Kolben zurückgegeben und noch zweimal in gleicher Weise destilliert. Zum Schlusse wurden Destillat und Rückstand vereinigt. Der Destillierkolben, der Kühler und die Vorlage wurden mit der Flüssigkeit gespült und nun die Reaktion nach Denigès vorgenommen. Zum Vergleich führte man die Reaktion mit einer gleichen, aber nicht destillierten Lösung aus. Es ließ sich in keinem Falle mit Sicherheit eine Verminderung der Farbstärke in der destillierten gegenüber der nicht destillierten Lösung wahrnehmen.

Ein weiterer Destillationsversuch in ähnlicher Richtung wurde folgendermaßen ausgeführt. 1 mg Methylalkohol wurde in 100 ccm Wasser gelöst und davon 50 ccm abdestilliert. Vom Destillat wurden weiter 60% = 30 ccm abdestilliert, davon wieder 60% = 18 ccm. Das Destillat wurde wieder in den Kolben zurückgegeben und die Vorlage diesmal mit 4 ccm Wasser nachgespült, da man sie gegen ein gewogenes Reagensglas vertauschte. Man destillierte von den 22 ccm ca. 13,2 ccm, davon 8 und davon schließlich 5,65 ccm (gewogen) ab.

Wenn kein Verlust eingetreten war, so mußten die 5,65 ccm 1 mg Methylalkohol enthalten oder 3 ccm 0,531 mg. Man führte mit 3 ccm der Lösung die Reaktion nach Denigès aus und verglich sie mit einem Typ, der ebenfalls 0,531 mg in 3 ccm enthielt. Die destillierte Lösung zeigte eine um 5% schwächere Reaktion als der Typ. Durch die 6 Destillationen waren also 0,025 mg Methylalkohol verloren gegangen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Verlust bei der Destillation gering ist und daß so gut wie aller Methylalkohol mit den ersten 60% der Lösung überdestilliert. Der Rückstand enthält dann so wenig Methylalkohol, daß er colorimetrisch nicht mehr nachweisbar ist und jedenfalls nur bei an und für sich äußerst verdünnten Lösungen, bei welchen manche Destillation folgen muß, prozentual in Betracht fällt.

Um die Verhältnisse der Destillation bei verschiedenen Konzentrationen näher kennen zu lernen, wurden folgende Versuche angestellt.

Methylalkoholmengen von 50 mg abwärts bis zu 1 mg wurden in je 100 ccm Wasser gelöst, in einen 400 ccm Kolben gebracht und unter Zusatz von einigen Tonstücken in Fraktionen zu ca. 10 ccm = 10% abdestilliert. Die Destillate wurden in ge-

wogenen Reagensgläsern mit eingezätzter Marke aufgefangen. Nach dem Gehalt der einzelnen Fraktionen an Methylalkohol wurden Kurven aufgestellt. Die einen Kurven geben an, wieviel mg, die andern wieviel % mit den einzelnen Fraktionen übergeht. Selbstverständlich wurde durch Addition der Werte der einzelnen Fraktionen nicht stets die theoretische Menge Methylalkohol erhalten, sondern es entstand durch Anhäufung von Versuchsfehlern gelegentlich ein etwas zu hoher oder zu niedriger Wert, der bis zu 1 mg differierte. Um die Form der Kurven davon unabhängig zu machen, wurden die gefundenen Werte so korrigiert, daß ihre Summe 100% ausmachte. Das Gewicht der einzelnen Fraktionen betrug nicht stets genau 10%. Auch hier wurde eine entsprechende Korrektur angebracht.

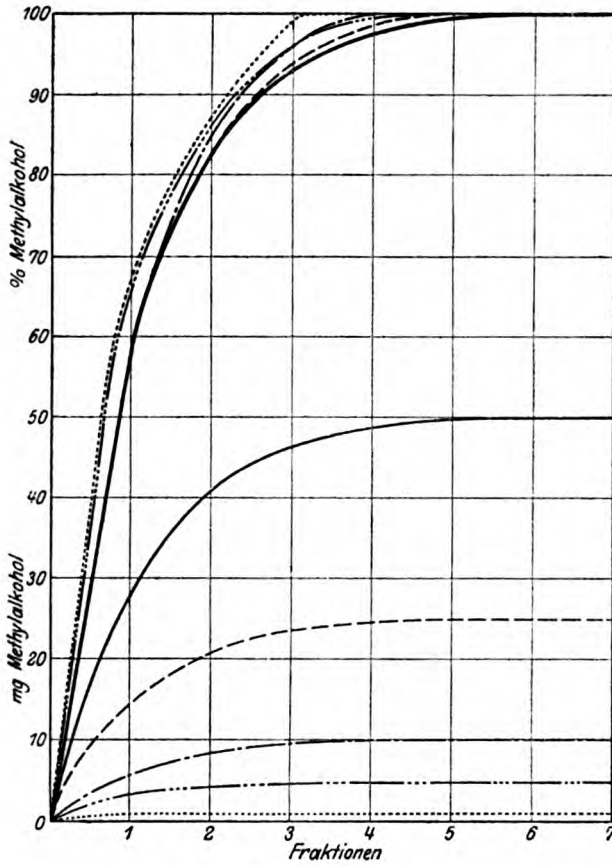
Die Tabelle III und die Kurventafel I geben darüber Aufschluß, wie der Methylalkohol in den verschieden konzentrierten Lösungen überdestilliert.

Tabelle III.

Destillation des Methylalkohols aus verdünnten, wäßrigen Lösungen.

Destillat %	Im Destillat gefunden bei Destillation von:									
	50 mg CH ₃ OH in 100 ccm		25 mg CH ₃ OH in 100 ccm		10 mg CH ₃ OH in 100 ccm		5 mg CH ₃ OH in 100 ccm		1 mg CH ₃ OH in 100 ccm	
	mg CH ₃ OH	% CH ₃ OH	mg CH ₃ OH	% CH ₃ OH	mg CH ₃ OH	% CH ₃ OH	mg CH ₃ OH	% CH ₃ OH	mg CH ₃ OH	% CH ₃ OH
10	28,0	56,0	14,13	56,5	5,80	58,0	3,29	65,8	0,67	67
20	41,0	82,0	20,61	82,4	8,50	85,0	4,32	86,4	0,88	88
30	46,5	93,0	23,51	94,0	9,63	96,3	4,81	96,2	1,00	100
40	48,7	97,4	24,71	98,8	9,95	99,5	5,00	100		
50	49,75	99,5	24,98	99,9	10,00	100				
60	50,0	100	25,0	100						

Die etwas unnormale prozentuale Kurve von 1 mg kommt offenbar daher, daß sich im Destillationsrückstand von der 4. Fraktion an, obgleich sich nichts mehr direkt nachweisen ließ, doch noch minimale Mengen Methylalkohol befanden. Während bei den höheren Gehalten der Methylalkoholgehalt des Rückstandes praktisch ganz außer Betracht fällt, trifft dies für ganz geringe Gehalte offenbar nicht ganz zu. Es ist daher auch vorsichtiger, selbst bei den niedrigsten Gehalten 50 bis 60% der Lösung abzudestillieren, wenn man möglichst den



Kurventafel I.

gesamten Methylalkohol überdestillieren will. Man kann aber auch in solchen Fällen die Ausbeute bei einer bestimmten Destillationsweise ein- für allemal bestimmen und danach eine Korrektur anbringen.

Die 5 unteren Kurven zeigen das Ansteigen des Methylalkohols bei der Destillation, ausgedrückt in mg, die 5 oberen Kurven dasselbe, ausgedrückt in $\%$. In allen Konzentrationen sieht man in der ersten Fraktion bereits mehr als die Hälfte übergehen. Mit sinkender Konzentration scheint dieser Anteil sich zu vergrößern. Immerhin möchte ich auf die Prozentzahlen der Destillation von 5 und besonders von 1 mg kein Gewicht legen, weil durch Multiplikation mit 20 bzw. 100 die

kleinsten Versuchsfehler schon sehr stark zum Ausdruck kommen. Die 1 mg-Kurve, die den Prozentgehalt angibt, ist denn auch steiler ausgefallen als der Wirklichkeit jedenfalls entspricht.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Destillationen bei verschiedenen Gehalten ungefähr verhältnismäßig gleich verlaufen, daß bei der Konzentration von 50 bis 25 mg 60⁰/₀, bei 10 mg 50, bei geringeren Gehalten eventuell auch nur 40⁰/₀ abdestilliert werden müssen, um praktisch allen Methylalkohol in das Destillat zu bekommen.

Damit ist der Weg gegeben, auch in äußerst verdünnten Lösungen nach entsprechender Anreicherung durch mehrere Destillationen quantitative Bestimmungen vorzunehmen.

Wir haben nun die Möglichkeit, den Pektin-Methylalkohol in jedem beliebigen Nahrungsmittel oder sonstigen pflanzlichen Produkt zu bestimmen. Im Prinzip verfährt man dabei folgendermaßen.

Bei Gewürzen u. dgl. geht nach feinstem Pulverisieren eine Extraktion der ätherischen Öle mit heißem Alkohol und mit Äther voraus, da diese oft methoxylhaltig sind. Das so extrahierte Material oder, wo die Extraktion unnötig ist, das Ausgangsmaterial selbst wird kurze Zeit mit Natronlauge erwärmt, angesäuert und destilliert, bis 60⁰/₀ übergegangen sind. Das Destillat enthält allen Methylalkohol. Es wird noch 1- bis 2mal destilliert (wieder 60⁰/₀), um es anzureichern. Bei der ersten dieser Destillationen setzt man vorsichtshalber etwas Natronlauge und Silbernitrat hinzu. Das Enddestillat wird gewogen; in einer bestimmten Menge davon wird die Reaktion nach Denigès ausgeführt und die entstehende Färbung mit derjenigen eines Typs aus reinem Methylalkohol verglichen.

Im folgenden sei die genaue Vorschrift zur Bestimmung des Pektin-Methylalkohols in pflanzlichen Produkten wiedergegeben.

Liegt ein Gewürz zur Untersuchung vor, so werden 1 bis 2 g in fein gepulvertem Zustand auf einem nicht zu großen Faltenfilter mit kleinen Portionen siedenden starken Alkohols ausgezogen, wobei man den Trichter bedeckt hält. Wenn das Filtrat ungefähr 40 ccm beträgt, ist die gewünschte Wirkung in der Regel erzielt. Man übergießt die Substanz nun portionenweise mit ungefähr 40 ccm Äther, trocknet im Wasserbad-

trockenschränk, schüttet den Inhalt des Filters auf ein Blatt Papier und schabt die anhaftenden Reste mit einem Messer ab.

Ist die Substanz kein Gewürz, d. h. enthält sie keine ätherischen Öle, so ist die Alkohol-Ätherextraktion überflüssig, es sei denn, daß man sie bei fettreichen Substanzen, um reinlicher arbeiten zu können, doch ausführt.

Man bringt das Gewürz nun in einen 400 ccm-Kolben, fügt 40 ccm Wasser hinzu und destilliert unter Verwendung eines senkrechten Kühlers 20 ccm davon ab, um auch die letzten Spuren der ätherischen Öle zu entfernen. Bei stärkereichen Produkten unterläßt man diese Destillation, setzt aber nur 20 ccm Wasser hinzu. Der Rückstand wird noch heiß (bei ca. 80 bis 90°) mit 5 ccm 10%iger Natronlauge (10 g NaOH + 90 ccm Wasser) versetzt, der Pfropfen mit dem Verbindungsrohr sogleich wieder aufgesetzt und der Kolben nach gründlichem Umschwenken 5 Minuten stehen gelassen. Nun werden 2,5 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 Volum konzentrierte Säure + 4 Volum Wasser) hinzugefügt und 16,2 ccm abdestilliert, wobei man als Vorlage ein gewogenes Reagensglas benützt, das bei 6, 10 und 16,2 ccm Marken trägt. Das Destillat wird in einen neuen Kolben gebracht, mit 5 Tropfen Natronlauge und 5 Tropfen 10%iger Silbernitratlösung versetzt und wieder destilliert, bis 10 ccm übergegangen sind. Durch eine letzte Destillation gewinnt man ein Destillat von 6 ccm. Man stellt sein Gewicht auf 2 Dezimalen genau fest und führt die Methylalkoholreaktion damit aus.

Dazu sind folgende Lösungen notwendig:

1. Alkohol-Schwefelsäure, hergestellt durch Lösen von 20 ccm reinem, absolutem Alkohol oder 21 ccm 95%igem Alkohol in Wasser, Zusetzen von 40 ccm konzentrierter Schwefelsäure und Verdünnen mit Wasser auf 200 ccm.

2. Kaliumpermanganatlösung, 5 g KMnO_4 in 100 ccm.

3. Oxalsäurelösung, 8 g in 100 ccm.

4. Reine konzentrierte Schwefelsäure.

5. Fuchsin-schweflige Säure, bereitet durch Lösen von 5 g Fuchsin, 12 g Natriumsulfit und 100 ccm n-Schwefelsäure zum Liter¹⁾.

¹⁾ Diese Lösung muß sorgfältig vom Licht abgeschlossen, am besten in einer von schwarzem Papier umgebenen Stöpselflasche aufbewahrt

6. Methylalkohollösung von 1 g in 100 ccm, erhalten durch Lösen von 12,67 ccm (= 10 g) Methylalkohol „Kahlbaum“ zum Liter und eine ebensolche Lösung von 0,1 g in 100 ccm, erhalten durch Verdünnen der ebengenannten Lösung auf das 10fache¹⁾.

Von dem methylalkoholhaltigen Destillat werden 3 ccm in einem 40 bis 50 ccm fassenden weiten Reagensglase mit 1 ccm Alkohol-Schwefelsäure und mit 1 ccm Permanganatlösung versetzt, einmal umgeschüttelt und genau 2 Minuten sich selbst überlassen. In gleicher Weise behandelt man drei Typen, von denen der erste 0,5 ccm 1⁰/₀ige Methylalkohollösung und 2,5 ccm Wasser (= 5 mg), der zweite 1 ccm 1⁰/₀₀ige Lösung (= 1 mg) und 2 ccm Wasser, der dritte 0,3 ccm 1⁰/₀₀ige Lösung (= 0,3 mg) und 2,7 ccm Wasser enthält. Nach 2 Minuten setzt man überall 1 ccm Oxalsäurelösung zu und neigt die Reagensgläser in der Weise, daß die Flüssigkeit alle etwa an der Wandung hängenden Tropfen Permanganat mit sich nimmt. Man setzt nun 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu (am besten aus einer Pipette mit recht enger Mündung, um das Aufsteigen von Luftblasen zu verhindern) und gleich darauf 5 ccm fuchsinschweflige Säure und mischt gehörig um, indem man wieder die Wandungen des Gefäßes mit der Flüssigkeit abspült. Man läßt nun 1 Stunde stehen und vergleicht die zu prüfende Lösung vorerst mittels Auge mit den Typen. Die genaue colorimetrische Vergleichung geschieht mit dem Typ, der der Lösung in der Farbstärke am nächsten steht. Ist es der Typ von 5 mg, so verdünnt man mit 100 ccm Wasser, ist es einer der beiden andern, so verdünnt man mit 25 ccm Wasser und vergleicht die Intensitäten in einem empfindlichen Colorimeter, z. B. demjenigen von Duboscq.

Wenn der Gehalt bedeutend höher ist als derjenige des

werden. So hält sie sich sehr lange Zeit. Nach 6¹/₂ Monaten wurde beispielsweise eine um nur 12⁰/₀ schwächere Färbung erhalten, wie mit einer frisch bereiteten Lösung. Am Licht aufbewahrt, ändert hingegen die Lösung ihre Wirksamkeit verhältnismäßig schnell.

¹⁾ Die Methylalkohollösungen sind sehr haltbar. Nach 6¹/₂ Monate langem Aufbewahren in einer Stöpselflasche am Tageslicht erhielt man mit der verdünnteren Lösung noch genau dieselbe Intensität, wie mit einer frisch bereiteten.

Typs, so empfiehlt es sich, die Farbenreaktion zu wiederholen unter Verwendung der auf die Typstärke berechneten Menge des Destillates, wobei man mit Wasser auf 3 ccm ergänzt.

Für genaue Bestimmungen ist diese Wiederholung unerlässlich, da die höchste Genauigkeit nur erreicht wird, wenn die Lösung mit dem Typ möglichst übereinstimmt.

Aus der gefundenen Farbstärke ergibt sich nach Tabelle IV der Gehalt an Methylalkohol in der verwendeten Flüssigkeitsmenge.

Tabellen zur Berechnung des Methylalkoholgehaltes aus den gefundenen Farbstärken.

Tabelle IV.

Unter Verwendung des Types von 5 mg und Verdünnen mit 100 ccm Wasser.

Farbstärke	mg CH ₃ OH	Differenz	Farbstärke	mg CH ₃ OH	Differenz	Farbstärke	mg CH ₃ OH	Differenz
0,4	0,60	0,30	3,8	3,93	0,18	7,2	6,66	0,16
0,6	0,90	0,27	4,0	4,11	0,18	7,4	6,82	0,16
0,8	1,17	0,24	4,2	4,30	0,19	7,6	6,98	0,16
1,0	1,41	0,24	4,4	4,48	0,18	7,8	7,15	0,17
1,2	1,61	0,20	4,6	4,66	0,18	8,0	7,32	0,17
1,4	1,82	0,21	4,8	4,83	0,17	8,5	7,80	0,48
1,6	2,00	0,18	5,0	5,00	0,17	9,0	8,30	0,50
1,8	2,18	0,18	5,2	5,16	0,16	9,5	8,80	0,50
2,0	2,36	0,18	5,4	5,32	0,16	10,0	9,30	0,50
2,2	2,53	0,17	5,6	5,47	0,15	11,0	10,45	1,15
2,4	2,71	0,18	5,8	5,62	0,15	12,0	11,70	1,25
2,6	2,88	0,17	6,0	5,77	0,15	13,0	13,10	1,40
2,8	3,05	0,17	6,2	5,91	0,14	14,0	14,40	1,30
3,0	3,22	0,17	6,4	6,05	0,14	15,0	15,80	1,40
3,2	3,40	0,18	6,6	6,20	0,15	16,0	17,15	1,35
3,4	3,58	0,18	6,8	6,35	0,15	17,0	18,55	1,40
3,6	3,75	0,17	7,0	6,50	0,15	18,0	20,30	1,75
		0,18			0,16			

Die Berechnung des Methylalkohols erfolgt nach der Formel:

$$x = \frac{g \cdot D}{10 \cdot d \cdot G}$$

wobei

G = verwendete Menge Gewürz in g,

D = Gewicht des Destillates in g,

d = zur Reaktion verwendete Menge Destillat in ccm,

g = gefundener Methylalkohol in mg.

Beispiel.

Verwendete Menge Gewürz . . = 2 g (*G*),
 Gewicht des Destillates . . . = 6,49 g (*D*),
 davon zur Reaktion verwendet = 3 ccm (*d*),
 Methylalkohol darin = 1,20 mg (*g*).

$$x + \frac{1,20 \cdot 6,49}{10 \cdot 3 \cdot 2} = 0,130.$$

Tabelle V.

Unter Verwendung des Types von 1 mg und Verdünnen mit
25 ccm Wasser.

Farbstärke	mg CH ₃ OH	Differenz	Farbstärke	mg CH ₃ OH	Differenz	Farbstärke	mg CH ₃ OH	Differenz
0,13	0	0,036	0,6	0,658	0,052	1,2	1,132	0,062
0,15	0,036	0,092	0,65	0,708	0,050	1,3	1,192	0,060
0,2	0,128	0,085	0,7	0,755	0,047	1,4	1,255	0,063
0,25	0,213	0,074	0,75	0,804	0,049	1,5	1,316	0,061
0,3	0,287	0,073	0,8	0,851	0,047	1,6	1,380	0,064
0,35	0,360	0,066	0,85	0,890	0,039	1,7	1,440	0,060
0,4	0,426	0,059	0,9	0,928	0,038	1,8	1,508	0,068
0,45	0,485	0,065	0,95	0,966	0,038	1,9	1,570	0,062
0,5	0,550	0,056	1,0	1,000	0,034	2,0	1,630	0,060
0,55	0,606	0,052	1,1	1,070	0,070			
					0,062			

Tabelle VI.

Unter Verwendung des von 0,3 mg und Verdünnung mit
25 ccm Wasser.

Farbstärke	mg CH ₃ (OH)	Differenz	Farbstärke	mg CH ₃ (OH)	Differenz
0,096	0	0,014	0,40	0,384	0,014
0,10	0,014	0,046	0,42	0,399	0,015
0,12	0,060	0,040	0,44	0,413	0,014
0,14	0,100	0,027	0,46	0,427	0,014
0,16	0,127	0,031	0,48	0,440	0,013
0,18	0,158	0,029	0,50	0,453	0,013
0,20	0,187	0,025	0,52	0,467	0,014
0,22	0,212	0,023	0,54	0,480	0,013
0,24	0,235	0,023	0,56	0,493	0,013
0,26	0,258	0,022	0,58	0,506	0,013
0,28	0,280	0,020	0,60	0,520	0,014
0,30	0,300	0,020	0,62	0,533	0,013
0,32	0,320	0,017	0,64	0,546	0,013
0,34	0,337	0,017	0,66	0,560	0,014
0,36	0,354	0,016	0,68	0,573	0,013
0,38	0,370	0,014	0,70	0,597	0,014

Tabelle VII.
Pektin-Methylalkoholgehalte einiger Früchte und Gemüse.

	%	% Methylalkohol	
		Trocken- substanz	des frischen
1. Rote Kirschen	19,59	0,055	0,282
2. Schwarze Kirschen	20,00	0,045	0,224
3. Rote Johannisbeeren	18,71	0,079	0,422
4. Weiße Johannisbeeren	17,87	0,086	0,483
5. Schwarze Johannisbeeren	20,22	0,091	0,451
6. Stachelbeeren	10,35	0,069	0,667
7. Äpfel	12,72	0,059	0,465
8. Birne, kleine Sorte, 26 g schwer	13,73	0,058	0,413
9. Butterbirne, 120 g schwer	15,39	0,084	0,542
10. Pflaume	15,83	0,066	0,412
11. Reineclaude	16,67	0,064	0,505
12. Citrone, ohne Schale und Kerne	13,51	0,112	0,826
13. Schale	29,70	0,378	1,272
14. Schale von der Ölzellenschicht befreit	29,89	0,684	2,286
15. Saft, trüb, durch Watte filtriert	4,90	0,026	0,525
16. Himbeeren	13,72	0,113	0,823
17. Heidelbeeren	15,32	0,130	0,848
18. Gartenerdbeeren	14,28	0,104	0,728
19. Monatserdbeeren	13,10	0,147	1,125
20. Hagebutten, Frucht ohne Stiel und Kelch	36,15	0,237	0,642
21. Frucht ohne Kerne	—	—	0,821
22. Stiel	—	—	0,308
23. Kelch	—	—	0,343
24. Tomate	3,63	0,044	1,220
25. Blumenkohl, Blume	11,48	0,060	0,520
26. Storzen	10,08	0,086	0,848
27. Blattstiele	9,03	0,075	0,826
28. Blumen + Storzen (eßbarer Anteil)	—	—	0,577
29. Blumenkohl, Blume	11,40	0,052	0,452
30. Storzen	9,48	0,121	1,282
31. Blume + Storzen	—	—	ca. 1,100
32. Grünkohl	13,37	0,191	1,427
33. Kiefern	17,14	0,178	1,038
34. Grüne Bohnen	8,35	0,138	1,653
35. Pfälzerrüben	18,25	0,205	1,125
36. Gelbe Rüben	10,25	0,164	1,600
37. Spinat	7,66	0,048	0,626
38. Neuseeländischer Spinat	10,86	0,140	1,293
39. Sonnenwirbel	7,95	0,097	1,218
40. Kopfsalat	5,53	0,096	1,732
41. Lattich	7,14	0,129	1,811
42. Schnittmangold	8,00	0,079	1,213
43. Mangold (Blatteil)	8,78	0,083	0,946
44. Mangold, Krautstiele	5,17	0,081	1,567
45. Cardon (Blattstiele)	6,04	0,091	1,513
46. Rhabarber	6,86	0,118	1,720
47. Sauerampfer	8,04	0,160	1,989
48. Sellerie	10,98	0,124	1,124
49. Lauch	9,00	0,130	1,451
50. Schnittlauch	9,33	0,160	1,714

Der Methylalkohol beträgt somit $0,130\%$.

Ich habe so in den meisten Gewürzen und in den hauptsächlichsten Gewürzverfälschungsmitteln Bestimmungen des Pektin-Methylalkohols vorgenommen. Da der Methylalkoholgehalt des Pektins ungefähr 1% ausmacht, erhält man durch Multiplikation des Methylalkohols mit 10 den Pektingehalt. Hier will ich nur die Werte für einige Früchte und Gemüse anführen. Die Zahlen für die Gewürze und Gewürzverfälschungsmittel werden auf Tabelle XIII und XIV, S. 96 bis 99, zusammen mit denjenigen des Gesamt-Methylalkohols und des Lignin-Methylalkohols angegeben.

6. Über das festgebundene Methoxyl (Lignin und Suberin) und seine Bestimmung.

Neben Pektin gibt es in den meisten Pflanzenmaterialien noch weitere Methoxylverbindungen, in welchen das Methoxyl bedeutend fester gebunden ist und nicht durch Natronlauge in Freiheit gesetzt werden kann. Es handelt sich also nicht um Methylester, sondern offenbar um Methyläther. Das Methoxyl kann daraus nach der Zeiselschen Methode durch Jodwasserstoffsäure als Methyljodid abgespalten werden. Da diese Methode aber ziemlich umständlich und sehr kostspielig ist und da sie nicht gestattet, den veresterten Methylalkohol (Pektin-Methylalkohol) vom verätherten zu trennen, versuchte ich, durch weitem Ausbau meines weiter oben beschriebenen Verfahrens auch den verätherten, fest gebundenen, bzw. den gesamten Methylalkohol zu bestimmen. Die von mir benutzte Methylalkoholreaktion nach Denigès hat zudem den Vorteil, wirklich nur den Methylalkohol zur Bestimmung zu bringen, während nach der Zeiselschen Methode auch die übrigen, eventuell vorhandenen Alkylgruppen mitreagieren. Deshalb ist diese letztere Methode in gewissen Fällen nicht ganz eindeutig.

Wie weiter unten gezeigt wird, läßt sich der verätherte oder, falls das Pektin noch nicht zerlegt worden ist, auch der gesamte Methylalkohol abspalten durch Erhitzen mit starker Schwefelsäure. Durch Destillation und entsprechende Reinigung des Destillates erhält man eine Lösung, die zur Ausführung der Denigèsschen Reaktion geeignet ist.

Zu den Methoxyderivaten mit fest gebundenem Methoxyl gehört vor allem das Lignin bzw. die Lignocellulosen, der Hauptbestandteil der Methoxyderivate der Hölzer und aller stark verholzten Membranen; in gewissen Fällen sind daneben noch methoxylierte Cellulosen vorhanden; weiter konnten wir zeigen, daß die Korksubstanz, Suberin, Methoxygruppen enthält.

Unter Lignin verstehen die verschiedenen Forscher, die über die Holzsubstanz gearbeitet haben, nicht immer genau dasselbe. Meist nimmt man an, das Holz bestehe in seiner Hauptsache aus einer Mischung oder aus einer Verbindung von Cellulose und Lignin.

. Fr. Schulze¹⁾ berechnete den Ligningehalt von vegetabilischen Produkten aus dem Gewichtsverlust, den sie bei der Maceration mit Kaliumchlorat und Salpetersäure erleiden.

Benedikt und Bamberger²⁾ bestimmten den Methoxylgehalt von Hölzern und fanden unter Zugrundelegung eines Methylgehaltes von 5,29% für das hypothetische Lignin ähnliche Zahlen wie Schulze.

Lange³⁾ versteht unter Lignin den Rückstand der Extraktion von Holz mit Säuren, Alkalien und organischen Lösungsmitteln, also eine gereinigte Holzfaser. Da daraus mit Kupferoxydammoniak keine Cellulose herausgelöst werden kann, nimmt Lange an, daß die Cellulose nicht in freiem Zustande vorliege, sondern in Bindung mit einem Komplex, den wir heute Lignin nennen. Durch Schmelzen mit Kalilauge bei 185° spaltete er die Holzsubstanz in Cellulose und zwei wasserlösliche Ligninsäuren, von welchen die eine in Alkohol löslich, die andere unlöslich ist, und die sich offenbar recht nahe stehen.

Lindsey und Tollens⁴⁾ suchten das Lignin aus den Ablaugen der Sulfitcellulosefabrikation zu isolieren. Holz wurde während ca. 20 bis 40 Stunden in geschlossenen Kesseln mit Calciumbisulfit auf 120° bis 130° erhitzt. Aus der Lösung iso-

1) Siehe Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden 6, 64.

2) Ebendasselbst.

3) Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 15, 217, 1890.

4) Liebigs Annalen 267, 341.

lierten sie eine Ligninsulfosäure von der wahrscheinlichen Formel $C_{24}H_{24}(CH_3)_2SO_{12}$, der eine schwefelfreie Säure $C_{24}H_{24}(CH_3)_2O_{12}$ oder, wenn der Schwefel als Sulfogruppe zugegen ist, von der Formel $C_{24}H_{24}(CH_3)_2O_{10}$ entspricht. Diese letztere Formel halten die Autoren für die dem wahren Lignin am ehesten entsprechende.

Cross, Bevan und Beadle¹⁾ fanden in der Jutfaser neben der gewöhnlichen Cellulose (α -Zellulose) noch eine methoxylhaltige (β -Cellulose) mit 6,1 % OCH_3 . Sie legen ihr die Formel $C_{17}H_{29}O_{15}-OCH_3$ bei. Die Nichtcellulose, Lignin, von diesen Autoren Lignon genannt, hat die Formel $C_{10}H_{22}O_9$ und macht etwa 25 % der Faser aus. α -Zellulose, β -Cellulose und Lignin werden als in der Faser miteinander verbunden angesehen, ähnlich wie dies Lange annimmt.

Wesentlich andere Ansichten über Lignin entwickeln J. König und E. Rump²⁾. Sie nehmen für die Pentosane, Cellulosen bzw. Hexosane, sowie auch für die Lignine drei Löslichkeitsstufen an, Proto-, Hemi- und Orthopentosane, -cellulosen und -lignine. Die Protoverbindungen sind durch Enzyme oder durch Wasser unter 1 bis 3 Atmosphären Überdruck löslich bzw. hydrolysierbar, die Hemiverbindungen sind durch Kochen mit 1- bis 3%iger Schwefelsäure oder Salzsäure bei 1 bis 3 Atmosphären Überdruck löslich, die Orthoverbindungen sind bei Pentosanen und Cellulose in 72%iger Schwefelsäure in der Kälte oder in verdünnten Säuren unter Druck löslich: für die Ortholignine gilt das nur teilweise, nämlich für das sogenannte „Ortholignin, ungefärbt“, während ein „Ortholignin, gefärbt“ auch der Einwirkung dieser Reagenzien widersteht. Hingegen sind die sämtlichen Lignine leicht oxydierbar, z. B. durch Wasserstoffsperoxyd in ammoniakalischer Lösung. Bei Hölzern macht das Ortholignin, gefärbt, den Hauptbestandteil der Lignine aus: es entspricht bei diesen Ausgangsmaterialien ungefähr dem Lignin der andern Autoren.

Ähnlich wie König und Rump bin auch ich genötigt, den Begriff „Lignin“ etwas weit zu fassen, und zwar stütze ich mich ganz auf dessen Methoxylgehalt. Ich verstehe unter Lignin in

1) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, III, 2520, 1893.

2) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 28, 177 bis 222, 1914.

diesem erweiterten Sinne die nicht flüchtigen, alkohol- und ätherunlöslichen methoxylierten Verbindungen der Pflanzen, die ihren Methylalkohol nicht bei der Behandlung mit Natronlauge, wohl aber mit starker Schwefelsäure abgeben. Da der Methoxylgehalt dieser Verbindungen ein wechselnder, meist unbekannter ist und die Verbindungen im allgemeinen überhaupt nur an ihrem Methoxylgehalt erkannt werden, kann man die Menge des Lignins in der Regel nicht angeben. Nur der Gehalt an Lignin-Methylalkohol läßt sich bestimmen.

König und Rump nehmen an, daß das Lignin durch Einlagerung von Methoxyl oder Acetyl aus Hexosen oder Pentosen gebildet werde (S. 207). An einer andern Stelle ihrer Arbeit (S. 217) geben sie der Auffassung Raum, daß bei der Verholzung der Cellulose $C_6H_{10}O_5$ durch allmähliche Aufnahme von Methoxyl ein Lignin von der Formel $C_6H_6(CH_3)_4O_5$ entstehe, wobei auch die niedriger methoxylierten Derivate noch vorhanden sein können. Da es verschieden hoch methoxylierte Lignine gebe, lasse sich aus dem Gehalt an Methoxyl nicht auf den Ligningehalt schließen.

Die Vorstellung, die sich König und Rump hier vom Lignin machen, steht aber im Widerspruch mit verschiedenen von ihnen selbst festgestellten Tatsachen. Cellulose enthält 44,44 % Kohlenstoff. Eine 4fach methoxylierte Cellulose von der angegebenen Formel würde 55,0 % Kohlenstoff enthalten; die niedriger methoxylierten Derivate müßten zwischendrin stehen. Nun finden aber König und Rump für die aus 18 verschiedenen Pflanzenmaterialien gewonnenen gefärbten Ortholignine Kohlenstoffgehalte von 67,31 bis 70,03 %; meist liegen sie zwischen 68,5 und 68,8 %. In allen Fällen ist also der Kohlenstoffgehalt ganz beträchtlich höher, als der im Maximum berechnete Wert. Daraus ergibt sich, daß die Ansicht der beiden Autoren nicht richtig sein kann. Im folgenden zeigt sich aber auch, daß die Methoxylgehalte in der Regel viel niedriger sind, als der aufgestellten Formel einer 4fach methoxylierten Cellulose entsprechen würde. Diese Formel verlangt 27,5 % Methyl¹⁾.

¹⁾ König und Rump berechnen ihre Zahlen gleich wie Benedikt und Bamberger nicht als Methoxyl, OCH_3 , sondern als Methyl, CH_3 . Ich werde den Methoxylgehalt bei eigenen Untersuchungen stets als Methylalkohol angeben mit Rücksicht darauf, daß ich bei der colorimetrischen

Für die gefärbten Ortholignine von 20 Vegetabilien fanden König und Rump 1,28 bis 7,4 $\frac{0}{0}$, in einem Falle 10,14 (neuseeländischer Flachs) und in einem Falle 22,7 $\frac{0}{0}$ Methyl (Kartoffelschalen). Einzig das Ortholignin der Kartoffelschalen nähert sich der aufgestellten Formel einigermaßen. Nun aber besteht Kartoffelschale nach der gewöhnlichen Auffassung aus Korksubstanz, Suberin. Eigentliches Lignin kann darin nur in geringen Mengen vorkommen (siehe weiter unten).

Die Methylzahlen, die König und Rump für die Gesamtlignine angeben, schwanken zwischen 1,64 und 42,89 $\frac{0}{0}$ (Neuseeländer Flachs). Im letzteren Fall ist der Wert also bedeutend höher, als dem höchst methylierten Lignin entspricht. Dieser Methylgehalt würde 88,63 $\frac{0}{0}$ Methoxyl oder 91,34 $\frac{0}{0}$ Methylalkohol entsprechen. Eine wahrscheinliche Erklärung für diese unglaubliche Angabe ergibt sich, wenn wir uns vergegenwärtigen, wie diese Resultate erhalten worden sind. Die Autoren bestimmen das Gesamt-methoxyl im gereinigten Ausgangsmaterial, stellen andererseits fest, wie groß die Menge der oxydierbaren Substanzen ist und berechnen das gefundene Methoxyl bzw. Methyl auf die oxydierbare Substanz, das Lignin. Sie gehen also von der Voraussetzung aus, daß das gesamte Methoxyl vom Lignin stammen müsse. Diese Voraussetzung braucht aber nicht in allen Fällen zuzutreffen und ist wahrscheinlich für den Neuseelandflachs nicht richtig. Nach Cross, Bevan und Beadle gibt es ja, wie wir weiter oben erwähnt haben, auch eine methoxylierte Cellulose, ihre β -Cellulose mit 6,1 $\frac{0}{0}$ Methoxyl. Die genannten Autoren haben sie in der Jute aufgefunden.

Ich nehme nun an, daß die Cellulose des Neuseelandflachses nur aus dieser β -Cellulose bestehe und ferner, daß das ungefärbte Ortholignin denselben Methylgehalt habe wie das gefärbte. Es ergibt sich demnach folgende Rechnung:

100 Teile Neuseelandflachs enthalten	
45,83 Cellulose mit 2,80 Methoxyl oder 1,355 Methyl	
1,43 Ortholignin, gefärbt, mit . . . 0,145 „	
3,73 Ortholignin, ungefärbt, mit . . . 0,378 „	

Es ergibt sich für das Gesamt-methyl ber. 1,878 Methyl
gef. 1,825 „

Bestimmung Methylalkohol als Typlösung verwende. Der Methoxylgehalt läßt sich aus diesen Zahlen berechnen durch Multiplikation mit $\frac{3}{2}$, der Methylgehalt durch Multiplikation mit $\frac{3}{2}$.

Die Rechnung stimmt also. Wir halten es demnach für sehr wohl möglich, daß die Cellulose des Neuseelandflachses eine methoxylierte Cellulose und mit der von Cross, Bevan und Beadle in Jute aufgefundenen β -Cellulose identisch ist. Den Beweis dafür können wir allerdings nicht bringen, da uns das Ausgangsmaterial fehlt.

Vergegenwärtigen wir uns nun einmal die Elementarzusammensetzung und den Methoxylgehalt der Lignine verschiedener Autoren und die etwa in Betracht fallenden Formeln.

König und Rump geben keine Formel für Lignin an. Gestützt auf ihre Elementaranalysen nehme ich für das gefärbte Ortholignin aus Tannen- und Buchenholz die Formel $C_{22}H_{15}(CH_3)_2O_7$ an. Es ergibt sich danach:

Ber. für $C_{22}H_{15}(CH_3)_2O_7$	Gef. für gefärbtes Ortholignin aus:	
	Tannenholz	Buchenholz
C 68,40	C 68,65	C 68,84
H 5,00	H 5,07	H 4,93
$CH_3(OH)$ 15,20	$CH_3(OH)$ 13,00	$CH_3(OH)$ 15,82

Lange erhielt für seine Ligninsäuren aus Buchen-, Eichen- und Tannenholz nahezu gleiche Kohlenstoff- und Wasserstoffwerte, und zwar für die alkoholunlösliche Ligninsäure bei Tannenholz im Mittel $C=60,44$, $H=5,17\%$, für die alkohollösliche Säure $C=61,30$, $H=4,94\%$.

Eine Formel stellt Lange nicht auf; er gibt auch keine Zahlen für den Methoxylgehalt. Ich habe die Ligninsäuren nach Langes Vorschrift hergestellt und, ohne sie zu trennen, den Methoxylgehalt nach Zeisel darin bestimmt. Von einer Trennung der Säuren glaubte ich Abstand nehmen zu können, da Lange selbst die Vermutung ausspricht, es könnte im Holz nur eine Ligninsäure vorhanden sein und die Verschiedenheit der beiden Säuren könnte von einer Oxydation herrühren. Die alkoholunlösliche Säure ließ sich auch durch wiederholtes Lösen in Alkali und Fällen mit Säure allmählich in die lösliche Säure überführen.

Ich erhielt nach Zeisel aus 0,2457 g Ligninsäure 0,2443 g AgJ. Dies entspricht $13,55\%$ CH_3OH .

Nach den Elementarformeln Langes und meiner Methoxylbestimmung möchte ich folgende Formeln aufstellen.

Alkoholunlösliche Ligninsäure, $C_{22}H_{19}(CH_3)_2O_{10}$:

Ber.: C 60,88	Gef.: C 60,44
H 5,28	H 5,17
CH_3OH 13,53	CH_3OH 13,55

Alkohollösliche Ligninsäure, $C_{22}H_{17}(CH_3)_2O_{10}$:

Ber.: C 61,15	Gef.: C 61,30
H 4,88	H 4,94
CH_3OH 13,59	CH_3OH 13,55

Die Formel von Lindsey und Tollens haben wir bereits oben angeführt.

Jeder Forscher erhält also wieder etwas anders zusammengesetzte Körper aus der Holzsubstanz, je nachdem dieselbe mit kalter 72^o/_oiger Schwefelsäure, mit schmelzendem Kali oder mit siedender Bisulfidlösung behandelt wird. Offenbar entspricht keiner dieser Körper dem wirklichen Lignin, wie es im Holz vorhanden ist, sondern in allen Fällen haben wir es mit Umwandlungsprodukten zu tun. Ich stelle nun folgende Hypothese auf:

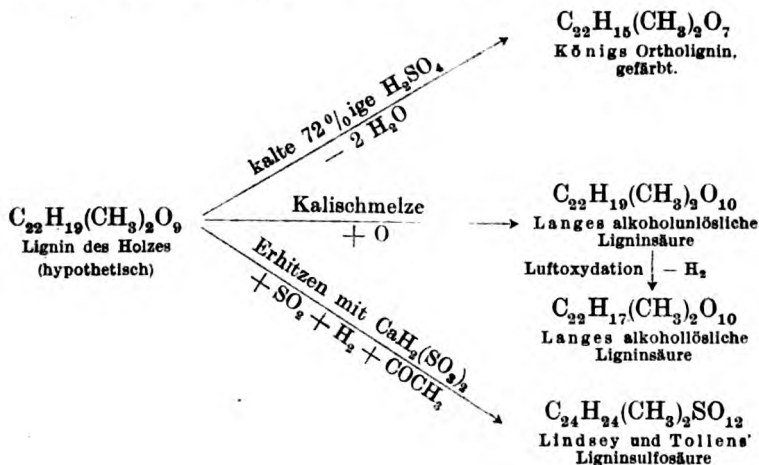
Das wahre Lignin des Holzes entspreche der Formel $C_{24}H_{25}O_9$ oder, da es 2 Methoxygruppen enthält, der Formel $C_{22}H_{19}(CH_3)_2O_9$, wobei wir dahingestellt sein lassen, ob es in freier Form oder an Cellulose gebunden vorkomme.

Aus diesem Lignin entstehe bei der Behandlung mit 72^o/_oiger Schwefelsäure unter Abspaltung von 2 H_2O Königs gefärbtes Ortholignin, $C_{22}H_{15}(CH_3)_2O_7$.

Bei der Kalischmelze entstehe aus dem Lignin durch Oxydation, Anlagerung O. Langes alkoholunlösliche Ligninsäure, $C_{22}H_{19}(CH_3)_2O_{10}$ und daraus durch weitere Oxydation, Abspaltung von H_2 , die alkohollösliche Säure $C_{22}H_{17}(CH_3)_2O_{10}$.

Beim Erhitzen von Lignin mit Calciumbisulfid resultiere durch Anlagerung von SO_2 (vielleicht Bildung einer Sulfogruppe unter Verwendung einer Hydroxylgruppe) H_2 und $COCH_3$, also Acetylierung, die Ligninsulfosäure von Lindsey und Tollens, $C_{24}H_{24}(CH_3)_2SO_{12}$. Die zur Acetylierung notwendige Essigsäure könnte durch irgendeine sekundäre Reaktion entstehen.

Wir können die Reaktionen durch folgendes Schema veranschaulichen:



In allen diesen Fällen handelt es sich um Holzlignin. Das Jutelignin von Cross, Bevan und Beadle, $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_9$ bzw. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}(\text{CH}_3)_2\text{O}_9$, scheint nicht in diese Reihe zu gehören, da es weniger Kohlenstoff enthält; es mag wesentlich anders zusammengesetzt sein. Wir glauben, daß Königs Ortholignin, gefärbt, bei den verschiedenen Hölzern gleich, bei andern Ausgangsmaterialien aber verschieden zusammengesetzt sein kann.

Obschon ich meine Ligninformel durchaus nicht für bewiesen halte, scheint es mir doch, daß sie mit keiner bekannten Tatsache im Widerspruch steht.

Einige eigene Versuche habe ich mit Königs Ortholignin, gefärbt, vorgenommen. Der braune Körper ist vollständig unlöslich in Natronlauge, in Salzsäure und in Schwefelsäure. Beim Schmelzen mit Kali wird er in Langes Ligninsäure übergeführt. Erhitzt man Lignin mit starker Salpetersäure, so geht es unter Kohlensäureentwicklung großenteils in Lösung. Erhitzt man es mit schwacher Salpetersäure kurze Zeit, z. B. mit 5%iger Säure fünf Minuten lang, so geht nur wenig in Lösung: ein großer Teil ist dann in heißem Wasser löslich, die Hauptmenge ist in Wasser unlöslich, wohl aber bis auf geringe Spuren (wohl Cutin) mit dunkelbrauner Farbe in Natronlauge löslich. Mineralsäuren fällen die Verbindung aus der Lösung in Form von hellbraunen Flocken wieder aus. Die in Natronlauge lösliche Verbindung ist eine Säure. Man kann sie, wenn auch nicht sehr scharf, mit Natronlauge titrieren. 1 g der

Säure entsprechen ca. 3,47 ccm n—NaOH. Der Methoxylgehalt geht beim Erhitzen mit 5%iger Salpetersäure stark zurück. Im Ausgangsmaterial wurden 16,1% Methylalkohol gefunden, im wasserlöslichen Reaktionsprodukt 4,52, im in Natronlauge löslichen 4,65%.

Es scheint, daß durch die Behandlung mit Salpetersäure hinter einander eine Reihe von Oxydationsprodukten entstehen, deren Beziehungen zum Ausgangsprodukt nicht leicht festzustellen sind, da fortdauernd Kohlensäure abgespalten wird.

Um die verschiedenen Bindungsformen des Methylalkohols in den Pflanzenfasern näher kennen zu lernen, haben wir zunächst Versuche mit Tannenholz ausgeführt. Nach dem Reinigen des Holzes mit Wasser, Alkohol und Äther ließ sich daraus mit verdünnter Natronlauge eine sehr kleine Menge Methylalkohol, kaum $\frac{1}{20}$ %, abspalten. Dieser Anteil fällt unter den Begriff des Pektin-Methylalkohols. Es gelang uns aber nicht, die andere Komponente des Pektins, die Pektinsäure, nachzuweisen. Ebenso wenig gelang es, durch Erhitzen mit Wasser oder verdünnter Säure, z. B. 1%iger Weinsäure bei 120°, Pektin aus dem Holz herauszulösen. Das durch schwache Natronlauge zerlegbare Methoxyderivat kann also nicht mit dem Fruchtpektin identisch sein. Wir nennen es vorderhand Holzpektin, ohne dabei eine nähere Verwandtschaft mit dem Fruchtpektin als feststehend anzunehmen.

Der gesamte Methylalkohol läßt sich, wie bereits angedeutet, durch Erhitzen mit starker Schwefelsäure abspalten. Da König die Anwesenheit verschiedener Lignine festgestellt hat und außerdem noch methoxylierte Cellulosen da sein können, war die Hoffnung berechtigt, durch geeignete Säurekonzentrationen vielleicht die eine oder andere dieser Verbindungen zu zerlegen, während die andern unverändert bleiben würden. Man führte deshalb folgende Versuchsreihe aus:

2 g des mit Alkohol und Äther vorbehandelten Holzes wurden zunächst mit Natronlauge in Reaktion gebracht, um den Pektin-Methylalkohol abzuspalten, genau neutralisiert und der Methylalkohol abdestilliert. Der Destillationsrückstand wurde filtriert und das Filtrat durch 5 Minuten langes Erhitzen mit 70%iger Schwefelsäure, Verdünnen und Abdestillieren auf gebundenen Methylalkohol geprüft. Das pektinfreie

Holz wurde nun je zweimal hintereinander mit steigenden Konzentrationen an Schwefelsäure je 15 Minuten lang erhitzt und jeweilen einerseits der dabei gebildete freie Methylalkohol bestimmt, andererseits in dem in Lösung gegangenen Anteil nach Einengen auf ein kleines Volumen mit 70%iger Schwefelsäure auf fest gebundenen Methylalkohol geprüft. Nach jeder Operation wurde auf der Nutsche abgesaugt, ausgewaschen, der Rückstand abgeschabt, in ein gewogenes Kölbchen gebracht, gewogen, um je nach dem Gewicht die zuzusetzende Schwefelsäuremenge zu berechnen. Dabei ließ sich natürlich nicht verhindern, daß jedesmal ein gewisser Anteil des Holzes an dem Filter kleben blieb, besonders bei den höheren Konzentrationen. Deshalb mußten die Werte bei den höheren Konzentrationen in steigendem Maße ganz beträchtlich zu niedrig ausfallen. Man fand folgende Zahlen:

Tabelle VIII.

Natronlaugebehandlung				mg CH ₃ OH in 100 g Tannenholz				Summe	
				freier CH ₃ OH		gebundener CH ₃ OH			
Destillat				48,0		—			
Filtrat				0		10,0			
Schwefelsäurebehandlung									
Vol. H ₂ SO ₄	Vol. H ₂ O	% H ₂ SO ₄	Siedetemp. der H ₂ SO ₄ bei 724 mm	1. Erhitzen	2. Erhitzen	1. Erhitzen	2. Erhitzen		
1	+	9	18,0	100°	4,8	0	53,4	14,0	72,2
2	+	8	28,8	104°	15,2	0	22,0	5,2	42,6
3	+	7	39,2	107°	4,8	7,4	0	0	12,2
4	+	6	48,4	127°	21,2	6,4	—	—	26,6
5	+	5	56,9	141°	43,4	21,6	—	—	65,0
6	+	4	64,3	162°	560,6	201,0	—	—	761,6
7	+	3	70,7	186°	388,0	0	—	—	389,8

Mit der 18%igen Schwefelsäure wird nur wenig Methylalkohol direkt in Freiheit gesetzt, 4,8 mg, während 87,4 mg in gebundener Form, also als Lignin oder Ligninderivat, in Lösung gehen und erst durch die Behandlung mit starker Säure ihren Methylalkohol abgeben. Bei der 28,8%igen Säure überwiegt auch noch der gebundene Methylalkohol. Bei der 39,2%igen Säure hingegen ist nur noch freier Methylalkohol zu finden. Das Lignin, das bei dieser Konzentration in Lösung geht,

gibt dabei gleichzeitig seinen Methylalkohol ab. Die Versuche mit den höheren Säurekonzentrationen haben zwar noch minimale Spuren scheinbar freien Methylalkohols in den Filtraten der Destillationsrückstände ergeben: wir addieren sie aber zum freien Methylalkohol, da sie offenbar bei den Destillationen im Rückstand verblieben sind.

Man erhält den Eindruck, daß mehrere, mindestens zwei, methoxylierte Körper vorhanden sein müssen, wovon der eine, wir wollen ihn Lignin I nennen, bereits durch 18%ige Schwefelsäure in erheblichem Maße, durch 39,2%ige nahezu ganz gelöst wird, der andere, Lignin II, bei diesen Säurekonzentrationen noch kaum angegriffen und erst durch ca. 60%ige Säure stark zersetzt wird; aber erst durch 70%ige Säure wird die Zersetzung vollendet. Der erstere Körper tritt gegenüber dem letzteren quantitativ stark zurück.

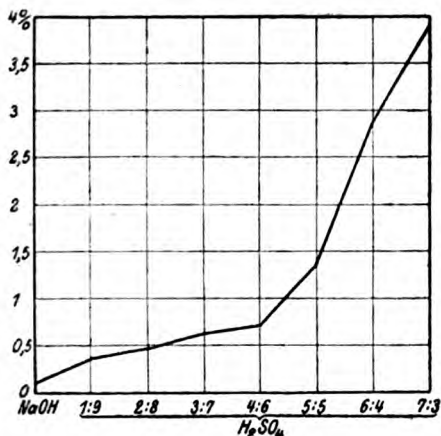
Es wurde eine weitere Versuchsreihe mit einem andern, auf das feinste geraspelten und durch Seidengaze gebeutelten Tannenholz ausgeführt. Auch hier ging eine Alkoholextraktion voraus, um die Angreifbarkeit des Holzes durch die Reagenzien möglichst zu erleichtern. Man bestimmte diesmal den freien und den in gebundener Form in Lösung gegangenen Methylalkohol zusammen. Er wurde mit der 18%igen Säure 6 mal hintereinander je 15 Minuten, mit den andern Konzentrationen 3 mal erhitzt. Die Resultate sind in der Tabelle IX und in der Kurventafel II wiedergegeben.

Tabelle IX.

				% Methylalkohol	
Natronlaugebehandlung (Pektin)				0,112	
	Vol.	Vol.			
Schwefelsäure	1	+ 9	1. Erhitzen	0,134	} 0,247
"			2. "	0,035	
"			3. "	0,020	
"			4. "	0,027	
"			5. "	0,018	
"			6. "	0,013	
"	2	+ 8	1. "	0,044	} 0,101
"			2. "	0,043	
"			3. "	0,014	

Tabelle IX (Fortsetzung).

Schwefelsäure			1. Erhitzen	% Methylalkohol	
	3	+	7	0,096	} 0,140
"			2. "	0,022	
"			3. "	0,022	
	4	+	6	0,053	} 0,096
"			2. "	0,007	
"			3. "	0,036	
	5	+	5	0,250	} 0,650
"			2. "	0,087	
"			3. "	0,313	
	6	+	4	0,649	} 1,526
"			2. "	0,682	
"			3. "	0,195	
	7	+	3	0,840	} 1,015
"			2. "	0,142	
"			3. "	0,033	



Kurventafel II.

Von den Auskochungen mit Schwefelsäure 1 + 9 ergibt die erste weitaus am meisten, die übrigen progressiv abfallende Mengen Methylalkohol; aber auch mit der 6. Auskochung hat die Entwicklung noch nicht aufgehört; es mag sein, daß hier bereits die Zersetzung eines zweiten Lignins begonnen hat. Bis zu der Säurekonzentration 4 + 6 ist die Menge des abgespaltenen Methylalkohols noch gering, um mit der Konzentration 5 + 5 (ca. 57 %) stark anzusteigen. Bei 6 + 4 entwickeln sich bereits sehr große Mengen des Alkohols,

und doch genügen $3\frac{1}{4}$ stündige Auskochungen noch nicht einmal, um den Prozess zu beendigen. Die dritte Auskochung gibt sogar einen bedeutend geringern Wert als die beiden ersten. Die Säure $7 + 3$ beendet nun den ganzen Prozeß und zwar hauptsächlich schon mit der ersten Auskochung.

Auch durch diese Versuchsreihe wird bestätigt, daß außer dem Holzpektin noch mindestens zwei methoxylierte Körper im Tannenholz vorhanden sind. Eine scharfe Trennung gelingt aber auf diese Weise nicht.

Für die endgültige Bestimmung des Lignin-Methylalkohols entschloß ich mich, 72^o/_oige Schwefelsäure anzuwenden, also die Säure, die König benützt, um aus der Rohfaser die Cellulose herauszulösen, und 10 Minuten lang damit zu kochen. Die Säure ist also etwas konzentrierter als die bei den beiden Versuchsreihen angewendete und wirkt daher schneller. Man könnte ja zwar nach den letzten Resultaten befürchten, 10 Minuten genügten nicht, um die Reaktion zu beendigen. Die Verhältnisse liegen aber bei der Bestimmung wesentlich günstiger. Nach dem Erhitzen mit Schwefelsäure lassen wir erkalten, setzen eine bestimmte Menge Wasser zu und destillieren das Volumen des zugesetzten ab. Dabei findet eine zweite Erhitzung statt. Es zeigte sich, daß das so behandelte Tannenholz seinen gesamten Methylalkohol abgegeben hatte. Bei Wiederholung der ganzen Operation mit dem Holzrückstand wurde im Enddestillat keine Reaktion mehr erhalten.

Die Schwefelsäure etwa noch stärker als 72^o/_oig zu wählen, schien bedenklich, da dabei eine Bildung von Methylschwefelsäure oder von Dimethylsulfat zu befürchten sein könnte. Es mußte überhaupt noch geprüft werden, ob durch Destillation von Methylalkohol mit 72^o/_oiger Schwefelsäure der Alkohol im Destillat quantitativ wieder gefunden wird. Die ersten Versuche in dieser Richtung verliefen ungünstig. Die Reaktion im Destillat war regelmäßig etwas schwächer als die eines Vergleichstyps. Man sagte sich nun, daß die Schwefelsäure vielleicht oxydierende Stoffe enthalten könnte, die einen Teil des Methylalkohols zerstörten. Es wurden deshalb Versuche unter Zusatz eines Kryställchens Natriumsulfit vorgenommen. Von da an erhielt man quantitative Resultate. Da sich beim Erhitzen von vegetabilischen Produkten mit

72⁰/₀iger Schwefelsäure stets schweflige Säure entwickelt, ist aber eine Oxydation durch Verunreinigungen der Schwefelsäure nicht zu befürchten.

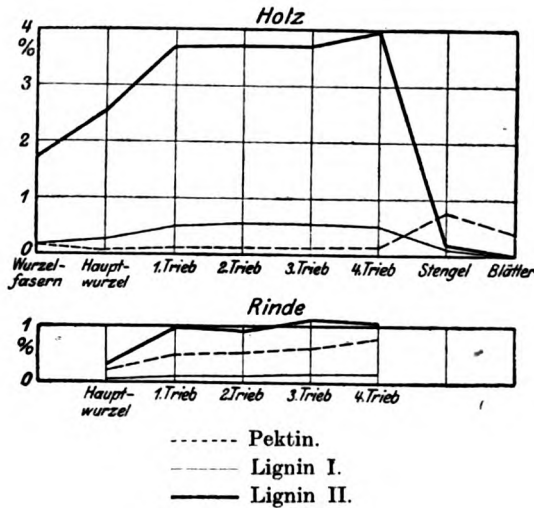
Weitere Versuche mit Tannenholz, die wir hier nicht genauer wiedergeben wollen, ergaben, daß durch Auskochen des Holzes mit mäßig starker, beispielsweise 40⁰/₀iger Schwefelsäure methoxylierte Säuren entstehen, die durch Erhitzen mit Natronlauge in Lösung gehen und durch Mineralsäuren aus dieser Lösung als braune Flocken gefällt werden. Sie geben ihren Methylalkohol erst beim Erhitzen mit starker Schwefelsäure, nicht aber mit Natronlauge, ab. Eine Reindarstellung dieser Säuren dürfte nicht leicht sein. Es ist nicht ganz ausgeschlossen, daß der Körper identisch ist mit Langes durch die Kalischmelze aus Holz erhaltener Ligninsäure.

Es wurde nun die Verteilung der methoxylierten Körper in einer Holzpflanze untersucht, und zwar bestimmte man den Methylalkohol, der herrührt von Pektin (durch Natronlauge abspaltbar), von Lignin I (durch 40⁰/₀ige Schwefelsäure) und von Lignin II (durch 72⁰/₀ige Schwefelsäure abspaltbar). Man wählte dazu eine an einer schattigen Halde gewachsene, im 5. Jahre stehende Esche von 131 cm Länge, die 36 cm lange Wurzel inbegriffen, und 87,6 g Gewicht. Sie wurde Ende April, also kurz nachdem der junge Trieb sich entwickelt hatte, dem Boden entnommen. Man untersuchte getrennt die Wurzelfasern, die Hauptwurzel, die verschiedenen Jahrestriebe, Stengel und Blattstiele und Blätter. Die Hauptwurzel und die Jahrestriebe mit Ausnahme des Jungtriebes wurden geschält und Holz und Rinde getrennt untersucht. Die Werte sind in der Tabelle X und in den graphischen Darstellungen III und IV wiedergegeben. Einerseits haben wir dieselben auf Prozent der Trockensubstanz berechnet, andererseits auf Prozent des Gesamtmethylalkohols.

Die Wurzelfasern und auch das Holz der Hauptwurzel sind ärmer an allen drei methoxylierten Körpern, als das oberirdische Holz. Letzteres erfährt an allen drei Bestandteilen eine geringe Zunahme nach den oberen, also jüngeren Teilen hin bis zum vorjährigen Holz. Dies ist auffällig, da man eher beim älteren Holz einen höhern Methoxylgehalt erwartet hätte. Unser Resultat erklärt sich dadurch, daß bei der erst kürzlich ausgetriebenen Pflanze in den obern Teilen des Stammes die

Tabelle X.

Pflanzenteile	Holz						Rinde							
	0/0 CH ₃ OH aus der Trockensubstanz berechnet				Auf 0/0 des Gesamt-CH ₃ OH berechnet		0/0 CH ₃ OH aus der Trockensubstanz berechnet				Auf 0/0 des Gesamt-CH ₃ OH berechnet			
	Pektin	Lignin I	Lignin II	Gesamt-CH ₃ OH	Pektin	Lignin I	Lignin II	Pektin	Lignin I	Lignin II	Gesamt-CH ₃ OH	Pektin	Lignin I	Lignin II
Wurzelfasern	0,17	0,16	1,73	2,06	8,2	7,8	84,0	—	—	—	—	—	—	—
Hauptwurzel	0,12	0,27	2,56	2,95	4,1	9,1	86,8	0,25	0,06	0,34	0,65	38,5	9,2	52,3
1. Trieb, 5. Jahr . . .	0,14	0,51	3,69	4,34	3,2	11,7	85,1	0,52	0,11	1,02	1,65	31,5	6,7	61,8
2. " 4. Jahr	0,16	0,58	3,67	4,41	3,6	13,2	83,2	0,59	0,11	0,94	1,64	36,0	6,7	57,3
3. " 3. Jahr	0,16	0,56	3,78	4,50	3,6	12,4	84,0	0,65	0,17	1,16	1,98	32,8	8,6	58,6
4. " 2. Jahr	0,17	0,51	4,00	4,68	3,6	10,9	85,5	0,80	0,18	1,07	2,05	39,0	8,8	52,2
5. " frisch {Stengel u. Blattstiele}	0,76	0,12	0,18	1,06	71,7	11,3	17,0	—	—	—	—	—	—	—
5. " " Blätter	0,41	0	0	0,41	100	0	0	—	—	—	—	—	—	—



Kurventafel III und IV.

abgelagerten Reservestoffe verbraucht, in den unteren aber noch erhalten sind. Die obere Teile enthalten demnach neben der Rohfaser weniger Fremdkörper mehr, als die unteren. Diese Ansicht wird durch folgende Beobachtung gestützt. An mit Jod gefärbten Querschnitten konnte man im Wurzelholz eine beträchtliche Menge Reservestärke nachweisen: nach oben nahm sie immer mehr ab und war im letztjährigen Trieb ganz

verschwunden. Demnach scheint die eigentliche Holzsubstanz der verschiedenen Jahrgänge ziemlich genau denselben Methoxylgehalt zu besitzen.

Die Rinde zeigt ein ganz anderes Verhältnis der methoxylierten Körper. Die Gesamtmenge ist bedeutend geringer als beim Holz. Während beim Holz der Methylalkoholgehalt des Pektins nur 3 bis 4 % des gesamten ausmacht, der des Lignins I 9 bis 13 % und der des Lignins II 84 bis 87 %, so erreicht der Pektin-Methylalkoholgehalt der Rinde die Höhe von 30 bis 40 % des gesamten. Absolut steigt er von der Wurzel zur Spitze ziemlich stark an; im Verhältnis zum Lignin schwankt er nicht stark. Das Verhältnis zwischen Lignin I und II ist in der Rinde ein ähnliches wie im Holz. Die Rinde der Hauptwurzel ist an allen drei methoxylierten Körpern bedeutend ärmer als die Rinde des Stammes. Bei den Wurzelfasern ließ sich natürlich Rinde und Holzteil nicht besonders verarbeiten. Ebensowenig war dies beim Jungtrieb möglich. Die Stengel und Blätter des Jungtriebes zeigen ein starkes Ansteigen des Pektins: es erreicht die Höhe des Rindenpektins. Lignin I und II sind aber darin nur in sehr geringer Menge vorhanden; auch macht hier das Lignin II nur das Anderthalbfache von Lignin I aus, während es in den übrigen Fällen stets ein Vielfaches davon betrug. Die Blätter endlich enthalten überhaupt kein Lignin mehr, wohl aber ziemlich viel Pektin.

Eine kleine Menge der methoxylierten Körper der Rinde muß aus dem Kork stammen, der die Rinde umgibt. In Flaschenkork fanden wir 2,67 % Methylalkohol; davon waren 0,19 % durch Natronlauge abspaltbar, rührten also wohl von Pektin her. Um eine weitere Trennung der methoxylierten Korkbestandteile zu versuchen, wurde folgendermaßen vorgegangen.

Fein geraspelter Kork wurde $\frac{1}{2}$ Stunde mit Wasser bei 2 Atmosphären Überdruck gedämpft und abgepreßt. Im schwach braunen Preßsaft fand man nur 0,05 % Methylalkohol, auf das Ausgangsmaterial berechnet. Der Rückstand wurde mit Alkohol extrahiert. Aus dem Auszug konnten Krystalle von Cerin isoliert werden, die sich als frei von Methoxyl erwiesen. Nun wurde der Extraktionsrückstand 40 Minuten lang mit 5 %iger Natronlauge zum schwachen Sieden erhitzt, filtriert und der

Rückstand mit Wasser gründlich ausgeknetet und nachgewaschen. Aus der Lösung ließ sich mit Mineralsäure ein braunes, in der Kälte flockiges, in der Wärme dickflüssiges, wachsähnliches Säuregemisch fällen, welches 2,6 % durch 72 %ige Schwefelsäure abspaltbaren Methylalkohol enthielt. Dieses Säuregemisch war in Ammoniak nur teilweise löslich: Der unlösliche Anteil, ein etwas gallertiger Körper, enthielt 1,84 % Methylalkohol. Der lösliche Anteil wurde mit Bariumchlorid versetzt und so eine Bariumfraktion mit 15,66 % Barium und 3,28 % Methylalkohol gefällt. Das Filtrat der Bariumsalze gab mit Salzsäure eine kolloidale Trübung; durch Zusatz von Ammonchlorid ließen sich hellbraune Flocken mit 1,73 % Methylalkohol fällen. Das Filtrat dieser Fällung wurde ausgeäthert und so eine geringe Menge eines flüssigen Harzes mit 2,07 % Methylalkohol gewonnen. Es scheint demnach, daß im Kork eine ganze Reihe verschiedener methoxylierter Säuren zugegen sind.

Der in Natronlauge unlösliche Korkrückstand betrug 14,4 % des Ausgangsmaterials. Unter dem Mikroskop zeigte dieser Rückstand noch vollkommen die Korkstruktur. Phloroglucin und Salzsäure erzeugte eine deutliche Rotfärbung. Der Rückstand enthielt 4,76 % Methylalkohol. Demnach ist im Kork auch eine gewisse Menge Lignin vorhanden, und zwar berechnet sich der Lignin-Methylalkohol zu ca. 25 % des Gesamtmethylalkohols.

Ein weiteres Produkt, welches wir in den Kreis unserer Untersuchungen zogen, ist Heu. Durch die freundliche Vermittlung von Herrn Dr. Schenk, kantonal-bernischer Lebensmittelinspektor, und Herrn Prof. Dr. Burri, Vorstand der milchwirtschaftlichen Anstalt Liebefeld bei Bern, erhielt ich verschiedene Proben Heu, die eine mehr oder weniger starke Braunheugärung durchgemacht hatten. Es konnten an diesem Material die Veränderungen studiert werden, die an totem Pflanzenmaterial in bezug auf die methoxylierten Stoffe eintreten können.

Am 17. Oktober, nachdem der Versuch abgebrochen und der Heustock zum Teil abgedeckt und ausgebreitet worden war, wurden folgende Proben entnommen:

1. Normales Heu (von der Oberfläche des Heustockes).

2. Schimmeliges Heu, etwas dunkler als das normale (aus einer tiefer liegenden Schicht).
3. Tief braunes Heu, entspricht der Hauptmasse des Heustocks.
4. Dunkelstes Heu, wurde besonders hervorgesucht.

Man bestimmte in allen Proben Wassergehalt, Asche und Methylalkohol in verschiedenen Bindungsarten. Das Braunheu Nr. 3 untersuchte man noch nach anderer Richtung.

Zur Vergleichung der Analysenzahlen schien mir die Berechnung auf die Trockensubstanz nicht zu genügen, da ja bei der Heugärung ein Substanzverlust eintritt und somit 100 g Trockensubstanz des unveränderten Heus einer geringern Menge Braunheu entspricht. Die Berechnung auf gleiche Aschengehalte schließt diesen Fehler aus. Man rechnete die Analysenzahlen auf die Substanzmenge um, die dem Aschengehalt des normalen Heus entspricht.

Außer Gesamt-Methylalkohol und Pektin-Methylalkohol bestimmte man noch denjenigen von Königs Ortholignin, gefärbt, also des Lignins, das in kalter, 72%iger Schwefelsäure unlöslich ist. Man ging aber noch etwas weiter. Schon König und Rupp geben an, daß ihr Ortholignin, gefärbt, gelegentlich teilweise löslich ist in Alkalien. Wir bestimmten auch diesen Anteil besonders und nennen ihn Ortholigninsäure, gefärbt. Er hat äußerlich eine gewisse Ähnlichkeit mit Langes Ligninsäure; ob eine Beziehung dazu besteht, wissen wir nicht. Es ist wahrscheinlich nicht der Fall. Aus der Differenz zwischen Gesamtlignin und Ortholignin, gefärbt, läßt sich noch der Methylalkohol des von König als Lignin, ungefärbt, bezeichneten, in 72%iger Schwefelsäure löslichen Anteils der methoxylierten Körper berechnen. Da unsere Versuche aber nicht an der Rohfaser, sondern am Heu selbst vorgenommen worden sind, sind die von König übernommenen Bezeichnungen mit einer gewissen Einschränkung aufzufassen.

Unsere Werte sind in der Tabelle XI wiedergegeben.

Der Pektin-Methylalkohol verschwindet bei der Heugärung nahezu vollständig. Wir haben dies auch nicht anders erwartet nach Analogie mit frühern Versuchen, bei welchen sich zeigte, daß das Pektin des Obstes bei der Fäulnis vollständig in Pektinsäure und Methylalkohol zerfällt. Da die Heugärung

Tabelle XI.

°/o Methylalkohol in verschiedenen Bindungsarten.

	Nr. 1 Normales Heu °/o	Nr. 2 Schimml. Heu °/o	Nr. 3 Tiefbraun. Heu °/o	Nr. 4 D unkelst. Heu °/o
Gesamt CH ₃ OH	0,927	0,856	0,760	0,759
CH ₃ OH des Pektins	0,481	0,216	0,041	0,033
Differenz = CH ₃ OH der Gesamtlignine	0,446	0,640	0,719	0,726
CH ₃ OH des Ortholignins, gefärbt . . .	0,147	0,226	0,270	0,290
CH ₃ OH der Ortholigninsäure, gefärbt .	0,147	0,137	0,150	0,148
CH ₃ OH des Lignins, ungefärbt	0,152	0,277	0,299	0,288

durch Mikroorganismen eingeleitet wird, war auch hier ein Zerfall des Pektins zu gewärtigen.

Der Gesamtmethylalkohol nimmt eigentümlicherweise nur verhältnismäßig schwach ab, lange nicht um so viel, wie dem Verlust an Pektin-Methylalkohol entspricht. Andererseits sehen wir, daß die Gesamtlignine ziemlich beträchtlich zunehmen, und zwar kommt diese Zunahme in erster Linie dem Ortholignin, gefärbt, in zweiter Linie dem Lignin, ungefärbt, zu. Der Gehalt an Ligninsäure ändert sich nicht.

Wir haben also das interessante Ergebnis, daß bei der Heugärung Lignin gebildet wird, bzw. daß eine Methoxylierung gewisser Körper stattfindet. Hand in Hand mit einer starken Abnahme des durch Natronlauge abspaltbaren geht eine ziemlich beträchtliche Zunahme des erst durch 72°/o ige Schwefelsäure abspaltbaren Methylalkohols.

Suchen wir nun das Schicksal des Pektin-Methylalkohols etwas genauer zu erforschen und zwar an Hand von Versuchen mit dem Braunheu Nr. 3. Diese Probe war in warmem Zustande aus der Mitte einer großen am Boden liegenden Heupartie entnommen und gleich in eine Flasche abgefüllt worden. Beim Auseinandernehmen des heißen Heustocks soll sich ein scharfer, durchdringender Geruch bemerkbar gemacht haben. Auch unsere Probe zeigte den Geruch noch ein wenig. Man vermutete die Anwesenheit von Oxydationsprodukten des Methylalkohols, Formaldehyd oder Ameisensäure, neben eventuell noch vorhandenem freien Methylalkohol.

Ein Teil unseres Braunheues wurde mit Wasser destilliert,

das Destillat geteilt, die eine Hälfte mit Silbernitrat und Natronlauge versetzt, um den eventuell vorhandenen Formaldehyd zu zerstören, und nochmals destilliert. In diesem Destillat ließ sich nach Denigès keine Spur Methylalkohol nachweisen. Die andere Hälfte wurde ohne Zerstörung des Aldehydes geprüft. Es entstand eine äußerst schwache Farbenreaktion, die 0,7 mg Formaldehyd in 100 g Heu entsprach. Unveränderter Methylalkohol war also nicht, Formaldehyd nur in minimalen Spuren zugegen.

Ein positives Resultat lieferte jedoch die Prüfung auf Ameisensäure. Ihr muß der scharfe Geruch des heißen Braunheues zugeschrieben werden. Man destillierte das Heu mit Wasserdampf und titrierte das Destillat. Dann konzentrierte man es und bestimmte in einem Teil durch mehrstündiges Erhitzen mit Sublimat die Ameisensäure. In dem Rest wurde die Ameisensäure mit Chromsäure oxydiert, die übrigen flüchtigen Säuren auf Wasserdampf abdestilliert, in die Bariumsalze übergeführt und ihr Bariumgehalt bestimmt. Man fand 52,18% Ba, während sich für Essigsäure 53,84% berechnet. Die flüchtigen Säuren bestehen somit neben Ameisensäure zum größten Teile aus Essigsäure. Es ergaben sich, auf die Trockensubstanz berechnet, 0,292% Ameisensäure und 1,05% Essigsäure. Auf das Normalheu bezogen, macht dies 0,320% Ameisensäure.

Der Pektin-Methylalkoholgehalt ist bei der Braunheubildung von 0,481 auf 0,041% heruntergegangen; er hat also um 0,440% abgenommen. Dies würde 0,633% Ameisensäure entsprechen. Die Gesamtabnahme des Methylalkohols beträgt $0,927 - 0,720 = 0,167\%$ entsprechend 0,240% Ameisensäure. Da die gefundene Ameisensäuremenge geringer ist als die aus dem Pektin-Methylalkoholverlust berechnete, könnte man vermuten, daß ein Teil des aus dem Pektin frei werdenden Methylalkohols nicht oxydiert, sondern zu weiteren Methoxylierungen, zur Ligninbildung verwendet werde. Beweisen läßt sich eine solche Vermutung nicht, da wir nicht wissen, ob unsere Heuprobe zur Zeit der Untersuchung noch die gesamte, aus ihr entstandene Ameisensäure enthielt oder ob vielleicht ein Teil entwichen war.

Die hier aufgeworfene Frage ist jedenfalls von großem theoretischem Interesse, weil ihre Bejahung vielleicht dazu

führen könnte, auch für die Entstehung des Lignins in der lebenden Pflanze dem Pektin eine vermittelnde Rolle zuzuschreiben. Jedenfalls scheinen unsere an der Esche gemachten Erfahrungen (siehe oben) nicht gegen eine solche Möglichkeit zu sprechen, da aus dem pektinreichen, nahezu ligninfreien, frischen Stengel pektinarmes, ligninreiches Holz entsteht. Diese Verhältnisse sind indessen noch weit davon entfernt, abgeklärt zu sein. Wir können gegenwärtig nur feststellen, daß bei der Heugärung der aus Pektin abgespaltene Methylalkohol verschwindet und an seine Stelle Ameisensäure tritt und daß andererseits der Lignin-Methylalkohol zunimmt.

Dieselben Bindungsarten des Methylalkohols, die wir im Heu bestimmt haben, wurden nun auch in einigen andern, unter sich recht verschiedenen Produkten bestimmt, in Tannenzholz, Jute, Weizenkleie, Flaschenkork und Kartoffelschalen, wobei wieder nicht die Rohfaser, sondern das Pflanzenmaterial selbst verarbeitet wurde. Neben dem Methylalkohol geben wir auch den Gehalt an Pektin (berechnet durch Multiplikation des Pektin-Methylalkohols mit 10), an Ortholignin, gefärbt, und an Ortholigninsäure, gefärbt, an. Die Kartoffelschalen wurden zur Entfernung der Stärke mit angesäuertem Wasser einige Zeit gekocht und mit viel Wasser gründlich ausgewaschen und dabei von Hand mechanisch gereinigt. Die gefundenen Zahlen sind in der Tabelle XII zusammengestellt.

Der Pektingehalt ist überall gering. Bei Tannenzholz macht

Tabelle XII.

	Tannenholz %	Jute %	Weizenkleie %	Flaschenkork %	Kartoffelschalen %
Gesamt-Methylalkohol	4,65	3,09	0,54	2,67	2,40
CH ₃ OH des Pektins	0,11	0,06	0,03	0,19	0,27
„ „ Gesamtlignins	4,54	3,03	0,51	2,48	2,13
„ „ Ortholignins, gefärbt	4,43	1,53	0,006	1,81	1,23
„ der Ortholigninsäure, gefärbt	0	0	0,003	0,63	0,38
„ des Lignins, ungefärbt	0,11	1,50	0,50	0,04	0,52
Gehalt an Pektin	1,1	0,6	0,3	1,9	2,7
„ „ Ortholignin, gefärbt	31,27	9,06	4,80	31,28	18,64
Dessen Methylalkoholgehalt	16,10	16,89	1,21	5,77	6,61
Gehalt an Ortholigninsäure, gefärbt	0	0	1,20	26,77	18,70
Deren Gehalt an Methylalkohol	—	—	2,11	2,36	2,01

das Ortholignin, gefärbt, den Hauptbestandteil des Gesamtlignins aus, während bei Jute auch das Lignin, ungefärbt, stark vertreten ist. Nun ist aber in diesem Lignin, ungefärbt, das gesamte Methoxyl der β -Cellulose der Jute vorhanden, wodurch ein viel zu hoher Lignin-Methylalkoholgehalt vorgetäuscht wird. Beide Produkte, Holz und Jute, sind frei von Ligninsäure. Bei Weizenkleie tritt das Ortholignin, gefärbt, ganz zurück. Nahezu die Gesamtheit der methoxylierten Körper ist hier in kalter, 72 $\frac{0}{100}$ iger Schwefelsäure löslich. Bei Kork hatten wir in den weiter oben beschriebenen Versuchen 14,4 $\frac{0}{100}$ unlöslichen Rückstand gefunden. Die kalte 72 $\frac{0}{100}$ ige Schwefelsäure hinterläßt einen 2 $\frac{1}{2}$ mal größeren Rückstand. Auch nachdem derselbe mit heißer Natronlauge behandelt worden ist, macht er noch 31,28 $\frac{0}{100}$ des Ausgangsmaterials aus. Dieses Ortholignin, gefärbt, enthält noch einen großen Teil der Ester des Korks. Starke kalte Schwefelsäure greift den Kork also nur ungenügend an. Bei Kartoffelschalen liegen die Verhältnisse natürlich ganz analog: die Zahlen sind auch ziemlich ähnlich.

Aus der Gesamtheit unserer bisherigen Versuche ergibt sich, daß in den pflanzlichen Materialien eine große Anzahl von methoxylierten Körpern vorhanden sein müssen. Je nach dem Ausgangsmaterial und je nach dem Verfahren, das wir anwenden, können wir aus den einen oder andern dieser Verbindungen den Methylalkohol abspalten. Ein geringer Teil läßt sich in der Regel mit Natronlauge in Freiheit setzen; in gewissen Fällen gehen Methoxylderivate durch Natronlauge in Lösung, ohne ihren Methylalkohol zu verlieren, in andern Fällen erfolgt dies erst nach vorhergehender Behandlung mit kalter 72 $\frac{0}{100}$ iger Schwefelsäure, wieder in andern Fällen nach dem Kochen mit 40 $\frac{0}{100}$ iger Schwefelsäure. Mit steigenden Säurekonzentrationen lassen sich hintereinander verschiedene Methoxylderivate herauslösen; bei den schwächeren Konzentrationen bleibt ihr Methoxylgehalt teilweise erhalten, bei den stärkeren wird er abgespalten.

Wir haben nun in einer größeren Anzahl von Gewürzen und von andern Pflanzenteilen, hauptsächlich solchen, die als Gewürzverfälschungsmittel in Betracht fallen, sowohl den gesamten, durch 72 $\frac{0}{100}$ ige Schwefelsäure abspaltbaren, als auch den durch Natronlauge abspaltbaren Methylalkohol (= Pektin-

Tabelle XIII.

Gewürze, Gehalt an Gesamtmethylalkohol, Pektin- und Lignin-Methylalkohol.

Nr.		Herkunft	% Gesamt- CH ₃ OH	% Pektin- CH ₃ OH	% Lignin- CH ₃ OH
A. Unterirdische Organe.					
1	Ingwer, Zingiber officinale Roscoe .	Bengalen	0,32	0	0,32
2	" .	Cochin	0,08	0,01	0,07
3	" .	Japan	0,11	0,01	0,10
4	" .	—	0,10	0,01	0,09
5	Zittwer, Curcuma Zedoaria Roscoe .	—	0,10	0,01	0,09
6	Galgant, Galanga officinarum Hauce .	—	0,73	0,02	0,71
7	" .	—	0,72	0,02	0,70
8	" .	—	0,30	0	0,30
9	Süßholz, Glycyrrhiza glabra L. . . .	—	0,83	0,18	0,65
B. Rinden.					
10	Ceylon-Zimt, Cinnamomum Ceylanicum, 0000	Ceylon	2,15	0,34	1,81
11	" " 000	"	1,72	0,21	1,51
12	" " 0	"	2,55	0,28	2,27
13	" " II	"	2,29	0,23	2,06
14	" " "	"	1,61	0,24	1,37
15	" " "	"	1,73	0,26	1,47
16	" " "	"	2,19	0,30	1,89
17	" " "	"	2,36	0,27	2,09
18	" " "	"	2,38	0,28	2,10
19	" " dünne, schlecht geschälte Rinde	"	1,74	0,23	1,51
20	" " sehr dicke, ziemlich schleimige Rinde	"	1,56	0,44	1,12
21	Ceylon Chips, Ceylonzimtabfälle . .	"	1,96	0,22	1,74
22	" " " "	"	2,11	0,24	1,87
23	Chinesischer Zimt, Cinnamomum Cas- sia Bl.	China	0,98	0,32	0,66
24	" " "	"	1,22	0,33	0,89
25	" " "	"	1,24	0,31	0,93
26	" " "	"	1,36	0,32	1,04
27	" " "	"	1,49	0,32	1,17
28	" " Cassiabruch	"	1,68	0,34	1,34
29	Holzzimt, Cassia lignea	Japan	2,75	0,11	2,64
30	Sehr schleimiger Zimt, frei von Zimt- aldehyd	—	2,06	0,18	1,88
C. Blätter und Kräuter.					
31	Dill, Anethum graveolens (Pulver) .	—	1,12	0,59	0,53
32	Estragon, Artemisia dracunculus sa- tivus	—	1,25	0,62	0,63
33	Majoran, Majorana hortensis Much. .	—	1,14	0,41	0,73
34	Rosmarin	—	0,62	0,42	0,20
35	Lorbeerblätter, Laurus nobilis L. . .	—	1,17	0,16	1,01
36	"	—	1,24	0,08	1,16

Tabelle XIII (Fortsetzung).

Nr.		Herkunft	Gesamt- % CH ₃ OH	Pektin- % CH ₃ OH	Lignin- % CH ₃ OH
D. Blüten und Blütenteile.					
37	Gewürznelken, <i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	Sansibar	0,68	0,41	0,27
38	"	"	0,78	0,54	0,24
39	"	"	0,93	0,55	0,38
40	"	Amboina	0,62	0,48	0,14
41	"	—	0,68	0,36	0,32
42	Zimtblüten, <i>Cinnamomum Cassia</i> Bl.	China	0,71	0,43	0,28
43	Safran, <i>Crocus sativus</i>	Spanien	0,60	0,50	0,10
E. Früchte.					
44	Sternanis, <i>Illicium anisatum</i> L. . . .	China	2,37	0,39	1,98
45	"	"	2,60	0,46	2,14
46	" <i>Illicium religiosum</i> Siebold Vanille, <i>Vanilla planifolia</i> And. Kleine Frucht	Japan	1,41	0,27	1,14
47	" Mittlere Größe	—	0,61	0,14	0,47
48	" Bourbon ¹⁾	—	0,59	0,10	0,49
49	"	Réunion	0,63	0,08	0,55
50	"	"	0,67	0,12	0,55
51	"	"	0,72	0,13	0,59
52	"	"	0,73	0,13	0,60
53	"	"	0,76	0,14	0,62
54	Kardamomen, <i>Ellettaria major</i> . . .	Ceylon	0,17	0,05	0,12
55	"	Malabar	0,10	0,06	0,04
56	"	—	0,15	0,05	0,10
57	Schwarzer Pfeffer, <i>Piper nigrum</i> L. .	Batavia	0,77	0,07	0,70
58	"	Java	0,79	0,06	0,73
59	"	Tellichéry	0,85	0,15	0,70
60	"	"	0,94	0,17	0,77
61	"	Singapore	0,91	0,05	0,86
62	"	Lampong	0,76	0,06	0,70
63	"	Aleppi	0,95	0,24	0,71
64	"	Malabarküste	0,57	0,10	0,47
65	"	—	0,52	0,01	0,51
66	Weißer Pfeffer, <i>Piper album</i>	Indien	0,24	0,05	0,19
67	"	Singapore	0,28	0,03	0,25
68	"	"	0,36	0,17	0,19
69	"	Muntok	0,19	0,06	0,13
70	"	"	0,24	0,05	0,19
71	"	"	0,28	0,19	0,09
72	"	Penang	0,24	0,13	0,11
73	"	—	0,21	0,04	0,17
74	Langer Pfeffer, <i>Piper longum</i> L. . . .	—	0,15	0,01	0,14
75	"	—	0,37	0,15	0,22
76	Piment, Nelkenpfeffer, <i>Pimenta officinalis</i> Berg. . . .	Mexiko	0,15	0,29	1,86
77	"	Jamaika	0,17	0,31	1,86

¹⁾ Die Bourbon-Vanillen sind verwechselt worden; die Pektin- und Lignin-Methylalkoholgehalte wurden deshalb willkürlich zusammengestellt.

Tabelle XIII (Fortsetzung).

Nr.		Herkunft	Gesamt- CH ₃ OH %	Pektin- CH ₃ OH %	Lignin- CH ₃ OH %
78	Paprika, span. Pfeffer, Capsicum annum L. (Pulver)	—	0,73	0,32	0,41
79	" mild, wohl Rosenpaprika .	—	1,03	0,51	0,52
80	Cayennepfeffer, Capsicum frutescens L.	—	1,20	0,23	0,97
81	Wacholderbeeren, Juniperus communis L.	Schweiz	1,03	0,25	0,78
82	Kümmel, Carum Carvi L.	Holland	0,45	0,14	0,31
83	"	—	0,21	0,13	0,08
84	"	—	0,26	0,08	0,18
85	Anis, Pimpinella Anisum L.	Spanien	0,36	0,15	0,21
86	"	—	0,41	0,11	0,30
87	"	—	0,48	0,14	0,34
88	Fenchel, Foeniculum officinale All. . .	—	0,81	0,13	0,68
89	Koriander, Coriandrum sativum L. . . .	—	1,77	0,17	1,60
90	"	—	1,98	0,15	1,83
91	"	—	2,01	0,11	1,90
	F. Samen.				
92	Weißer Senf, Sinapis Brassica alba . . .	—	0,11	0,07	0,04
93	" "	—	0,16	0,08	0,08
94	Schwarzer Senf, Sinapis nigra L.	—	0,16	0,07	0,09
95	" "	—	0,17	0,08	0,09
96	Muskatnuß, Myristica fragans Houtt. .	Banda	0,16	0,05	0,11
97	"	"	0,16	0,06	0,10
98	"	"	0,18	0,06	0,12
99	"	"	0,19	0,07	0,12
100	"	Java	0,22	0,06	0,16
101	"	—	0,21	0,05	0,16
102	"	—	0,22	0,07	0,15
103	" lange, Papua-Mukatnuß Samenmantel.	—	0,14	0,05	0,09
104	Macis, Myristica fragans Houtt.	Banda	0,56	0,34	0,22
105	"	"	0,62	0,37	0,25
106	"	—	0,57	0,26	0,31

Tabelle XIV.

Gewürzverfälschungsmittel, Gehalt an Gesamtmethyl-
alkohol, Pektin- und Lignin-Methylalkohol.

Nr.				Nr.					
	Gesamt- CH ₃ OH %	Pektin- CH ₃ OH %	Lignin- CH ₃ OH %		Gesamt- CH ₃ OH %	Pektin- CH ₃ OH %	Lignin- CH ₃ OH %		
	I. Stärkesorten.				2. Getreide.				
1	Kartoffelstärke	0	0	0	4	Weizenmehl (Voll- mehltyp)	0	0	0
2	Weizenstärke	0	0	0					
3	Reisstärke	0	0	0	5	Roggenmehl	0,16	0	0,16

Tabelle XIV (Fortsetzung).

Nr.		Gesamt- CH ₃ OH %	Pektin- CH ₃ OH %	Lignin- CH ₃ OH %	Nr.		Gesamt- CH ₃ OH %	Pektin- CH ₃ OH %	Lignin- CH ₃ OH %
6	Gerstenmehl . . .	0,03	0	0,03	33	Reisschalen . . .	2,03	0,02	2,01
7	Hafer, geschält . .	0,06	0,03	0,03	34	Hirsespelzen . . .	2,44	0,02	2,42
8	Hafermehl	0,06	0	0,06		7. Schalen und Kerne.			
9	Maismehl	0,09	0,07	0,02					
10	Reis, indischer . .	0	0	0	35	Wallnußschalen .	5,58	0,24	5,34
	3. Leguminosen.				36	Haselnußschalen .	3,51	0,16	3,35
11	Erbsmehl	0,05	0,03	0,02	37	Mandelschalen . .	3,88	0,30	3,58
12	Wicken	0,08	0,07	0,01	38	Eichelschalen . .	2,48	0,50	1,98
13	Bohnenmehl	0,19	0,28	—	39	Kakaoschalen ¹⁾	0,79	0,41	0,38
	4. Blüten und Blätter.				40	Dattelnkerne . . .	0,14	0,03	0,11
14	Saflor	0,78	0,51	0,27	41	Olivenkernmehl .	5,99	0,10	5,89
15	Gras	0,46	0,16	0,30		8. Stiele.			
16	Zwiebelschalen . .	1,33	1,11	0,22	42	Äpfelstiele (Sur- grauech)	3,25	0,89	2,36
	5. Ölpreßkuchen und andere Futtermittel.				43	Nelkenstiele . . .	1,50	0,46	1,04
17	Leinmehl	0,45	0,14	0,31	44	Pimentstiele . . .	1,44	0,43	1,01
18	Erdnußmehl	0,34	0,02	0,32		9. Hölzer.			
19	Rapskuchen	0,38	0,12	0,26	45	Tannenholz	4,54	0,03	4,51
20	Sesamkuchen	0,25	0,15	0,10	46	Buchenholz	4,90	0,05	4,85
21	Mandelkuchen . . .	0,26	0,24	0,02	47	Eichenholz	5,32	0,04	5,28
22	Cochin Coprah . .	0,13	0,18	—	48	Birnenholz	5,78	1,81	3,97
23	Palmkernkuchen- mehl	0,12	0,01	0,11	49	Santelholz	3,77	0,07	3,70
24	Weizenfuttermehl	0,25	0,04	0,21		10. Wurzeln.			
25	Weizenausmahleten	0,52	0,04	0,48	50	Graswurzeln . . .	1,52	0	1,52
26	Haferfuttermehl . .	0,19	0,02	0,17	51	Süßholz	0,83	0,18	0,65
27	Reisfuttermehl . .	0,49	0,05	0,44		11. Tierische Stoffe.			
28	Eichelmehl	0,18	0,27	—	52	Gelatine	0	0	0
29	Obstrestermehl . .	1,25	0,69	0,56	53	Fleisch (Rind) . .	0	0	0
30	Birnenmehl (Ge- dörrte Birnen)	0,97	0,28	0,69		12. Giftige Ver- wechslungs- produkte.			
	6. Kleien und Spelzen.				54	Schierling	0,43	0,12	0,31
31	Weizenkleie	0,40	0,04	0,36	55	Illicium religiosum	1,41	0,27	1,14
32	Maisschalen	0,99	0,09	0,90					

Methylalkohol) bestimmt. Aus der Differenz ergibt sich dann der Lignin-Methylalkohol. Die Tabellen XIII und XIV geben diese Zahlen wieder.

Es geht aus unserer Bestimmungsmethode hervor, daß wir unter Lignin-Methylalkohol den Methylalkohol aller nicht flüch-

¹⁾ Siehe weitere Proben Kakaoschalen in Tabelle XV.

tigen, in Alkohol und Äther unlöslichen Methoxylderivate, abzüglich des Pektins, verstehen. Es können also gelegentlich Kork, methoxylierte Cellulose, methoxylierte Säuren u. a. m. dabei sein. Andererseits ist in dem Pektin-Methylalkohol auch der des Holzpektins inbegriffen.

Die unterirdischen Organe sind arm an Pektin und Lignin. Wir haben dies ja schon weiter oben am Beispiel der untersuchten Esche festgestellt. Unter den Zimtrinden sehen wir einen deutlichen Unterschied zwischen Ceylonzimt und chinesischem Zimt. Ceylonzimt gibt höhere Lignin- und niedrigere Pektinwerte als chinesischer Zimt. Ceylonchips unterscheidet sich nicht deutlich von Ceylonzimt. Der japanische Holzzimt hat einen sehr hohen Lignin- und einen sehr niedrigen Pektin-gehalt. Bei den Blättern und Kräutern halten sich Pektin und Lignin ungefähr die Wage außer bei Lorbeer, wo das Lignin stark überwiegt. Die Blüten und Blütenteile zeichnen sich durch hohen Pektin- und niedrigen Ligningehalt aus. Der Fruchtstand *Sternanis* zeigt einen hohen Lignin- und ziemlich niedrigen Pektin-gehalt. *Illicium religiosum* scheint an beiden Bestandteilen ärmer zu sein; dies müßte aber noch an weiteren Proben erhärtet werden, wenn man darauf etwa eine Unterscheidung gründen wollte. Bei den Früchten überwiegt meist der Ligningehalt; doch ist auch er im allgemeinen recht niedrig, außer etwa bei Piment und Koriander. Schwarzer Pfeffer zeigt durchweg bedeutend mehr Lignin als weißer, während im Pektin-gehalt kein deutlicher Unterschied zu sehen ist. Sehr arm an beiden Komponenten sind die Samen. Der Samenan-
mantel, *Macis*, ist ziemlich pektinreich und enthält eine nahezu gleich große Menge Lignin.

Unter den Gewürzverfälschungsmitteln sind die Stärke- und Getreidesorten und die Leguminosen frei oder arm an Methoxyl. Die Blüten und Blätter verhalten sich verschieden; sehr pektinreich sind hier die Zwiebschalen. Die Ölpreßkuchen sind wieder methoxylarm; bei einigen Futtermitteln (Weizenausmahleten, Reisufttermehl) tritt ein gewisser Lignin-gehalt hervor. Reich an Pektin ist Obsttrestermehl. Unter den Kleien und Spelzen treffen wir ligninarme und sehr ligninreiche Sorten, wie Reis- und Hirsspelzen; der Pektin-gehalt ist überall sehr gering. Schalen und Kerne weisen gelegent-

lich außerordentlich hohe Ligningehalte auf, welche sogar die der Hölzer übertreffen (Walnußschalen, Olivenkerne) oder ihnen nahestehen (Haselnuß- und Mandelschalen). In anderen Fällen sind die Gehalte wieder sehr gering (Kakaoschalen, Dattelkerne). Die Stiele zeigen einen ziemlich hohen Lignin- aber auch einen verhältnismäßig hohen Pektingehalt. Bei den Hölzern ist der hohe Ligningehalt selbstverständlich. Birnenholz ist daneben auch verhältnismäßig pektinreich. Es mag ein Zusammenhang zwischen dem Pektin des Fruchtbaumholzes und der Früchte bestehen. Wurzeln sind wieder ziemlich arm an Methoxyl; ganz frei davon sind die untersuchten tierischen Produkte, Gelatine und Rindfleisch.

Unsere Zahlen sind geeignet, bei der Gewürzanalyse da und dort gute Dienste zu leisten, besonders wo es sich um Verfälschung mit stark verholzten Stoffen oder mit Mehlen und Stärkemehlen handelt. Die erste Rolle bei der Gewürzuntersuchung wird ja nach wie vor das Mikroskop spielen. Ist aber mit seiner Hilfe der Nachweis einer Verfälschung gelungen, so wird man sich unter Umständen der Methoxylbestimmung bedienen können, um seine Menge annähernd festzustellen.

In drei Fällen, bei Bohnenmehl, Kopra und Eichelmehl haben wir etwas höhere Werte für Pektin- als für den Gesamtmethylalkohol gefunden. Es liegt hier ein Fehler vor und zwar vermutlich in der Bestimmung des Gesamtmethylalkohols. Bei sehr geringen Gehalten ist diese Bestimmung etwas weniger genau als diejenige des Pektin-Methylalkohols, offenbar, weil bei dem 10 Minuten langen Sieden mit der starken Schwefelsäure einige Tropfen überdestillieren und dabei gelegentlich eine Verdunstung eintreten kann trotz der Vorsichtsmaßregel, die wir dagegen anwenden.

Die Lignin-Methylalkoholgehalte sind aus der Differenz gewonnen worden. Wir sind so vorgegangen, weil wir die Pektingehalte ungefähr ein Jahr früher bestimmt hatten als die Ligningehalte. Wo die Ligningehalte sehr gering sind, ist es jedoch vorzuziehen, in der gleichen Probe zuerst den Pektin-Methylalkohol zu bestimmen, darauf die Probe zu filtrieren, auszuwaschen, zu trocknen und nun die Abspaltung des Methoxyls durch 72^o/₀ige Schwefelsäure zu beendigen. Wir sind so

vorgegangen bei den in der Tabelle XV aufgeführten Bestimmungen in Kakao und Kakaoschalen. Da das Auswaschen mit Wasser nach der Natronlaugebehandlung recht schwierig war, wurde das Material auf der Nutsche zuerst mit heißem Alkohol und mit Äther, dann erst mit Wasser ausgewaschen.

Die verwendeten Materialien sind uns vor Jahren von der Firma Suchard in Neuenburg in zuvorkommendster Weise zur Verfügung gestellt worden. Wir haben die Kakaobohnen selbst sorgfältig geschält und das Innere in zerstoßenem, die Schalen in gemahlenem Zustande verwendet. Die Zahlen beziehen sich nicht etwa auf fettfreie Substanz, sondern auf das unveränderte Material. Da die Ligningehalte der Bohnen sehr gering sind, geben wir die Werte auf drei Dezimalen an.

Tabelle XV.

	Kakaobohnen		Kakaoschalen	
	% Pektin- CH ₃ OH	% Lignin- CH ₃ OH	% Pektin- CH ₃ OH	% Lignin- CH ₃ OH
1. Caraque terré .	0,103	0,005	0,531	0,099
2. Arriba supérieur	0,110	0,005	0,575	0,108
3. Carupano . . .	0,112	0,008	0,600	0,091
4. Porto Cabello .	0,108	0,010	0,615	0,086
5. St. Thomé . . .	0,105	0,005	0,636	0,092
6. Para	0,102	0,006	0,721	0,112
7. Accra	0,110	0,006	0,742	0,139

In Kakaokeimen (Sorte unbekannt) wurde gefunden:

Pektin-Methylalkohol 0,105%

Lignin-Methylalkohol 0,014%

Man könnte daran denken, an Hand dieser Zahlen den Schalen gehalt von Kakao und Schokolade zu bestimmen, und zwar würden sich die Werte für Lignin-Methylalkohol besser eignen als diejenigen für Pektin-Methylalkohol. Die Methode dürfte vielleicht bessere Resultate geben als die meisten bisher vorgeschlagenen; befriedigen kann sie aber doch nicht ganz, da leider die Bohnen nicht völlig frei von Lignin-Methylalkohol sind. Bei der Umrechnung auf fettfreie Trockensubstanz würden die Werte für die Bohnen etwa um das Doppelte ansteigen, diejenigen für die Schalen aber nur um ein Weniges; das Ver-

hältnis wäre also weniger günstig, als es nach unserer Tabelle den Anschein hat.

Zum Schluß sei unsere Bestimmungsmethode des genaueren beschrieben. Für die Bestimmung des Pektin-Methylalkohols verweise ich auf das weiter oben Gesagte (S. 68).

Je nach dem zu erwartenden Methoxylgehalt werden 0,2 bis 0,5 g feingemahlene Substanz verwendet. Gewürze und fettreiche Nahrungsmittel werden auf einem Faltenfilter 4 mal mit starkem Alkohol und 2 mal mit Äther ausgezogen und im Trockenschrank getrocknet. Das extrahierte Material wird in einem 300 bis 400 ccm fassenden Kolben mit 15 ccm 72^o/_oiger Schwefelsäure übergossen, der Kolben mit einem senkrechten Kühler verbunden, dessen Mündung in ein als Vorlage dienendes, gewogenes, graduiertes Reagensglas taucht und der Zwischenraum zwischen Mündungsrohr und Reagensglas mit nicht entfetteter Watte verstopft, um Verluste durch Verdunstung zu vermeiden. Kühler und Reagensglas werden mit Wasser befeuchtet; letzteres trägt Marken bei 6,10, 16,2 und 25 ccm. Man erhitzt nun den Kolben und hält die Flüssigkeit 10 Minuten lang in ganz schwachem Sieden; dabei sollen nicht mehr als 1 bis 2 ccm überdestillieren. Von Zeit zu Zeit schwenkt man den Kolben etwas um, damit allfällig durch das meist eintretende Schäumen am Rand heraufgestiegene Teilchen wieder heruntergeschwemmt werden. Zum Schluß läßt man abkühlen, gibt in einem Guß 25 ccm Wasser hinzu, setzt den Pfropfen mit dem Verbindungsrohr sogleich wieder auf und destilliert 25 ccm ab. Das Destillat wird in einen frischen Kolben gebracht, mit ca. 1 ccm Wasser nachgespült, mit Natronlauge (1 + 2) unter Zusatz eines Stückchens Lackmuspapier alkalisch gemacht und wieder durch den inzwischen ausgespülten Kühler in dasselbe Reagensglas destilliert, bis ca. 16,2 ccm übergegangen sind. Bei sehr geringen Methoxylgehalten folgen noch 1 bis 2 Anreicherungsdestillationen, wobei man bei der ersten 10, bei der zweiten 6 ccm übergehen läßt. Das Enddestillat wird gewogen und colorimetrisch geprüft, wie bei der Bestimmung des Pektin-Methylalkohols angegeben worden ist.

Durch Subtraktion des Pektin-Methylalkohols vom Gesamtmethylalkohol erhält man den Methylalkohol des Lignins. Will man beide Bindungsarten des Methylalkohols in derselben Probe

bestimmen, was bei sehr geringen Ligningehalten zu empfehlen ist, so wird der nach Bestimmung des Pektins erhaltene Destillationsrückstand abgesaugt, mit heißem Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschen, getrocknet und der Schwefelsäuredestillation unterworfen.

7. Das Verhalten des Pektin-Methylalkohols im Organismus.

Nachdem nun festgestellt ist, daß Pektin erhebliche Mengen Methylalkohol in veresterter, äußerst leicht abspaltbarer Form enthält, wissen wir, daß wir diesen in größerer Dosis unzweifelhaft giftigen Körper täglich mit manchen unserer Speisen, mit den grünen Gemüsen, den Rüben- und Kohlarten, sowie mit allen Früchten einnehmen. Daß dadurch kaum irgendwelche Gesundheitsstörungen auftreten dürften, lehrt die Erfahrung.

Die Frage nach dem Verbleibe des Methylalkohols im Organismus legt uns folgende Möglichkeiten nahe. Entweder verläßt der Methylalkohol in den Fäkalien mit dem unverdauten Pektin oder mit einem seiner Spaltungsstücke den Darm, oder aber er wird im Magen oder Darm abgespalten und entweder im Organismus verbrannt oder mit dem Harn ausgeschieden.

Um die erste Möglichkeit zu prüfen, wurden zwei Meerschweinchen zwei Tage lang ausschließlich mit Rüben gefüttert. Ihre Fäkalien wurden kurze Zeit mit verdünnter Natronlauge behandelt, mit Schwefelsäure angesäuert, destilliert, das Destillat in bekannter Weise gereinigt und auf 3 ccm konzentriert und auf Methylalkohol geprüft. Es ließ sich kein solcher nachweisen. Somit wird der Methylalkohol, der in Form von Pektin eingenommen wird, nicht mit den Fäkalien ausgeschieden.

Es ist übrigens schon von vornherein wahrscheinlich, daß der Methylalkohol des Pektins im Organismus abgespalten wird, obschon Pektin nach der Literatur für unverdaulich angesehen wird. Für die Rohkost ergibt sich dies durch die Anwesenheit der Pektase, für die gekochte Nahrung ist eine Spaltung angesichts der Alkaliempfindlichkeit des Pektins durch die Alkaleszenz des Darmes gegeben.

Um die Möglichkeit des Vorkommens von Methylalkohol im Harn zu prüfen, wurde einen Tag lang nur von pektin-

reicher Nahrung, und zwar ausschließlich von Äpfeln, gelebt und der während dieses Tages und der darauffolgenden Nacht ausgeschiedene Harn gesammelt und untersucht. Es wurden 20 Äpfel (die bekannte Bernersorte „Surgraeuch“) im Gewicht von 1625 g verzehrt. Der Trockensubstanzgehalt der Äpfel betrug $12,6\%$; also wurden 240,8 g Trockensubstanz und 1420 g Wasser aufgenommen. Die frischen Früchte enthielten 59,1 mg Methylalkohol in 100 g; somit wurden im ganzen 960 mg Methylalkohol aufgenommen. Die Menge des ausgeschiedenen Harns betrug 1713 g. Man fand nach mehrfacher Destillation, zuerst unter Zusatz von Tannin, dann von Schwefelsäure und schließlich von Silbernitrat und Natronlauge 5,6 mg Methylalkohol.

Man könnte nun im Zweifel sein, ob die Reaktion wirklich durch Methylalkohol verursacht wird oder ob nicht vielleicht ein anderer im Harn vorkommender Körper eine ähnliche Farbenreaktion gibt, obschon unser Destillat durch die Behandlung mit Schwefelsäure und mit Natronlauge und Silbernitrat bereits eine weitgehende Reinigung erfahren hat.

Bei den kleinen zur Verfügung stehenden Materialmengen schien mir eine Identitätsprüfung am erfolgreichsten, die sich auf folgende Überlegung gründet. Enthält unser Harndestillat wirklich Methylalkohol, so muß er darin in gleicher Weise überdestillieren, wie in einer wässrigen Methylalkohollösung gleichen Gehalts.

18 ccm unseres letzten Destillats (= 3,36 mg Methylalkohol) wurden in ein Kölbchen von 200 ccm Inhalt gebracht, mit 2 ccm Wasser versetzt und unter Zusatz von Tonstücken destilliert. Man fand drei Fraktionen von je 3 ccm auf. Genau in gleicher Weise wurde mit einer Lösung von 3,36 mg Methylalkohol in 20 ccm Wasser verfahren. Mit den einzelnen Fraktionen führte man die Reaktion nach Denigès aus und verglich die Farbstärken miteinander. Man erhielt folgende Werte:

	Destillat aus Harn	Methyl- alkohollösung
1. Fraktion . .	2,32 mg	2,32 mg
2. " . .	0,48 "	0,52 "
3. " . .	0,17 "	0,15 "

Die geringen Differenzen zwischen den Werten der 2. und 3. Fraktion liegen innerhalb der Versuchsfehlergrenze. Der Körper aus Harn destilliert in gleicher Weise mit Wasser über wie Methylalkohol. Die Färbung nach Denigès ist auch im Tone bei gleichen Gehalten genau identisch. Es liegt also wirklich Methylalkohol vor.

Es war nun von Interesse, die Abhängigkeit der Methylalkoholausscheidung von der Art der Ernährung zu untersuchen. Um möglichst einfache Verhältnisse zu schaffen, wurde während der ganzen Versuchsdauer auf den Genuß von Fleisch und, soweit nichts anderes bemerkt ist, auch auf den von Alkohol verzichtet. Dagegen wurde gelegentlich Fleischbrühe in Suppen und Gemüsen nicht verschmäht. An animalischer Kost wurde auch Milch und etwas Käse in die Kost einbezogen. An gewissen Tagen wurde nur pektinfreie Nahrung, an anderen Tagen daneben auch pektinhaltige, an einigen Tagen ausschließlich pektinhaltige Kost eingenommen. Als pektinfrei wurden betrachtet die stärkehaltigen Nahrungsmittel, Getreide, also vor allem Brot, Gerste, Hirse, Mais, Reis, Kartoffeln, nachdem festgestellt worden war, daß einige Gramm dieser Speisen bei der Behandlung mit Natronlauge keine nachweisbare Menge Methylalkohol abgeben. Auch Kuhmilch ist praktisch methylalkoholfrei, obgleich die Kühe eine pektinreiche Nahrung einnehmen. In 1 l Milch fand man nur 0,38 mg Methylalkohol. Als pektinreiche Nahrung wurden verwendet weiße, gelbe und rote Rüben, Weißkohl, Rotkohl, Blumenkohl, Rosenkohl und Früchte, besonders Äpfel.

Zur Untersuchung des Harns wurde in der Regel der Tagesharn und der Nachtharn besonders aufgefangen. Der Tagesharn wurde von morgens nach dem Frühstück bis abends 6 Uhr, der Nachtharn von abends 6 Uhr bis am nächsten Morgen mit Einschluß der ersten Morgenentleerung gesammelt.

Bei der Anreicherung des Methylalkohols wäre es etwas umständlich gewesen, stets 60 und 60^o/_o abzudestillieren, da die Harnmengen verhältnismäßig groß und die Methylalkoholgehalte sehr gering waren. Man destillierte daher geringere Mengen ab und bestimmte durch besondere Versuche, wieviel des gesamten Methylalkohols erhalten, welche Korrektur somit angebracht werden mußte.

Man löste zu diesem Zwecke 1 mg Methylalkohol in 1000 ccm Wasser, destillierte davon 200 g, davon 40, davon 16, davon 6,5 und davon schließlich 3 ccm ab. In diesem letzten Destillat fand man 0,647 mg Methylalkohol. Nach unserer Tabelle III, S. 66, würden sich unter Zugrundelegung der bei der Destillation von 50 mg Methylalkohol mit 100 ccm Wasser gefundenen Verhältnisse 0,631 mg berechnen. Die Übereinstimmung ist recht gut.

In einer späteren Versuchsreihe (siehe Tabelle II) wurden kleinere Mengen Harn destilliert, nämlich das bei jeder Entleerung gesammelte Quantum besonders. Um auch diesen Fällen Rechnung zu tragen, wurden je 100 und 200 ccm Wasser mit verschiedenen Methylalkoholmengen in der folgenden Weise destilliert.

Man löste 0,2, 0,4 und 1 mg Methylalkohol in je 100 ccm Wasser und destillierte davon aus einem 400 ccm-Kolben 20, davon 7,5 und davon 3 ccm ab und führte im letzten Destillat die Bestimmung aus.

Andererseits wurden die gleichen Mengen Methylalkohol in 200 ccm Wasser gelöst und davon 40, davon 16, davon 6,5 und davon schließlich 3 ccm abdestilliert.

Man fand folgende Methylalkoholmengen:

Gelöst in 100 ccm	gefunden	berechnet
0,2 mg	0,162 mg	0,154 mg
0,4 "	0,316 "	0,308 "
1,0 "	0,642 "	0,774 "
Gelöst in 200 ccm	gefunden	berechnet
0,2 mg	0,158 mg	0,152 mg
0,4 "	0,322 "	0,307 "
1,0 "	0,643 "	0,754 "

Die gefundenen Werte sind etwas kleiner als die berechneten. Sie geben uns die Unterlage für die Berechnung der wirklichen Methylalkoholgehalte aus den in den Enddestillaten gefundenen.

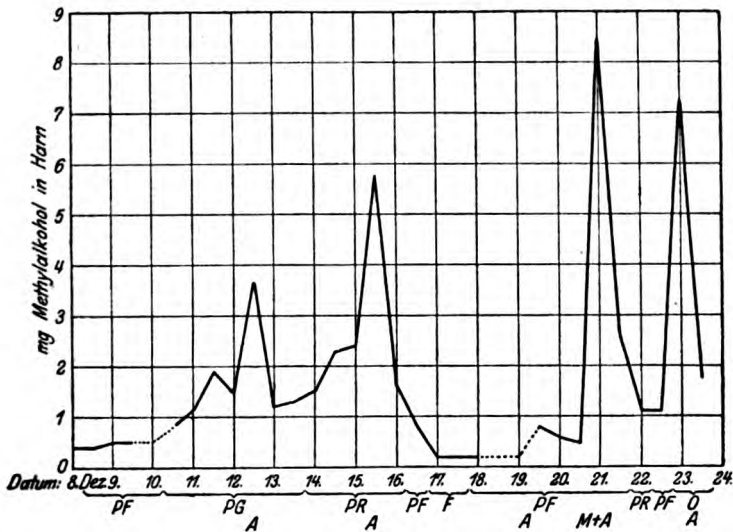
In der Tabelle XVI und der Kurventafel IV sind unsere Resultate kurz zusammengestellt. Der Ausdruck „pektinfreie Nahrung“ bedeutet, daß die Nahrung ausschließlich aus den obenerwähnten stärkehaltigen Speisen nebst täglich $\frac{3}{4}$ l Milch oder dieselbe Menge Joghurt und gelegentlich etwas Käse be-

Tabelle XVI.

Datum	Tages- oder Nachtharn	Nahrung	Harnmenge g	mg Methyl- alkohol	
				gefunden g	berechnete Gesamtmenge
4. Dez.	Tag- u. Nachtharn	Ausschließlich Äpfel, 1625 g enthaltend 960 mg Methylalkohol . . .	1713	5,6	8,7
7. "	Tagesharn	Pektinhaltige Nahrung	704	1,10	1,7
8. "	"	Pektinfreie Nahrung	637	0,3	0,4
8. bis 9. "	Nachtharn	" "	820	0,3	0,4
9. " 10. "	Tag- u. Nachtharn	" "	1470	0,70	1,0
10. " 11. "	Nachtharn	Gekochte, pektinhaltige Nahrung . .	700	0,55	0,8
11. "	Tagesharn	" " " "	880	0,73	1,1
11. " 12. "	Nachtharn	" " " "	750	1,20	1,9
12. "	Tagesharn	" " " "	767	0,96	1,5
12. " 13. "	Nachtharn	" " " " abends 5 Uhr 0,3 l Bier getrunken	1422	2,41	3,7
13. "	Tagesharn	Gekochte, pektinhaltige Nahrung . .	856	0,76	1,2
13. " 14. "	Nachtharn	" " " "	622	0,87	1,3
14. "	Tagesharn	Pektinhalt. Nahrung, Obst roh gegess.	885	0,95	1,5
14. " 15. "	Nachtharn	" " " " " "	714	1,5	2,3
15. "	Tagesharn	" " " " " " mittags 0,4 l Rotwein getrunken . .	977	1,58	2,4
15. " 16. "	Nachtharn	Pektinhalt. Nahrung, abends 0,3 l Rotwein getrunken	1176	3,75	5,8
16. "	Tagesharn	Pektinhalt. Nahrung, Obst roh gegess.	856	1,03	1,6
16. " 17. "	Nachtharn	Pektinfreie Nahrung	575	0,58	0,8
17. "	Tagesharn	Gefastet	520	0,18	0,2
17. " 18. "	Nachtharn	" abends 150 ccm Wasser getr.	532	0,14	0,2
18. "	Tagesharn	Pektinfreie Nahrung	524	0,15	0,2
18. " 19. "	Nachtharn	" " " "	404	—	—
19. "	Tagesharn	" " mittags 0,3 l Rotwein getrunken	730	—	—
19. " 20. "	Nachtharn	Pektinfreie Nahrung	633	0,56	0,8
20. "	Tagesharn	" " " "	1068	0,44	0,6
20. " 21. "	Nachtharn	" " " "	930	0,36	0,5
21. "	Tagesharn	" " mittags 60 ccm Obstrestbranntwein getrunken	1102	5,53	8,6
21. " 22. "	Nachtharn	Pektinfreie Nahrung	690	1,74	2,6
22. "	Tagesharn	Pektinhaltige Nahrung	817	0,71	1,1
22. " 23. "	Nachtharn	Pektinfreie Nahrung	583	—	1,1
23. "	Tagesharn	0,375 l Joghurt, 100 g Konfitüre, 1438 g Äpfel, enthaltend 900 mg Methylalkohol	1904	—	7,1
23. " 24. "	Nachtharn	Abends nichts gegessen	460	—	1,7

stand. Die Bezeichnung „pektinhaltige Nahrung“ bedeutet, daß daneben noch zum Frühstück Konfitüre, mittags Gemüse (meist Kohl- oder Rübenarten) und Äpfel, abends Äpfel ge-

nossen wurden. Die dabei verzehrte Menge Gemüse machte in der Regel ungefähr 250 g, das Obst mittags und abends je ungefähr 250 bis 300 g aus.



Methylalkoholausscheidung bei wechselnder Kost.

PF = Pektinfreie Nahrung.

PG = Gekochte, pektinhaltige Nahrung.

PR = Pektinhaltige Nahrung; Obst roh gegessen.

F = Gefastet.

O = Nahezu nur Obst gegessen.

A = Alkohol in irgend einer Form eingenommen.

Kurventafel IV.

Einen Anhaltspunkt über den Methylalkoholgehalt dieser Nahrungsmittel bieten folgende Zahlen¹⁾: In je 100 g frischer Substanz wurde gefunden bei

Rüben	205 mg Methylalkohol
Blumenkohl	65 " "
Äpfeln	59 " "

Man unterschied ferner zwischen vollständig gekochter

¹⁾ Vgl. auch Tabelle VII, S. 73.

pektinhaltiger Nahrung und solcher, bei welcher die Äpfel in rohem Zustande verzehrt wurden.

Bis zum 9. Versuchstag wurde vollständig alkoholfrei gelebt. Als dann ein zufällig getrunkenes Glas Bier eine deutlich erkennbare Wirkung auf die Methylalkoholausscheidung ausübte, wurden noch einige Tage mit Alkoholgenuß eingeschaltet.

Der Tag mit ausschließlicher Äpfelkost (4. Dez.) konnte in der Kurve nicht gut aufgeführt werden, weil keine Trennung in Tages- und Nachtharn vorgenommen worden war. Man beginnt mit pektinfreier Kost (8. Dez.). Die Werte halten sich bei 0,4 mg. Mit dem Einsetzen der gekochten pektinhaltigen Kost steigt der Gehalt auf 1,1 bis 1,9 mg im Maximum. Bei gleichzeitiger Einnahme von Bier schnellte die Kurve auf 3,7 hinauf, um nachher wieder auf das normale Maß zu sinken. Rohes Obst (14. bis 15. Dez.) scheint gegenüber gekochtem eine Erhöhung zu verursachen; man findet z. B. im Nachtharn vom 14. Dezember 2,3 mg Methylalkohol. Aus meinen Notizen geht aber hervor, daß damals zum Nachtessen 400 g Äpfel, also mehr als gewöhnlich, genossen wurden. Die Erhöhung kann also darauf zurückgeführt werden. Nach Genuß von Wein am 15. steigt die Kurve steil an auf 5,8 mg. Erst im Nachtharn macht sich dieses Ansteigen deutlich bemerkbar. Der Fasttag vom 17. Dezember läßt den Methylalkoholgehalt auf 0,2 mg sinken; auch während des darauffolgenden Tages bleibt bei pektinfreier Nahrung diese Depression bestehen. Die beiden folgenden Zahlen fehlen leider, da mit den Harnen ein Unfall passiert ist. Die eine Zahl betrifft den Nachtharn vom 18. bei pektinfreier Kost, die andere den Tagesharn vom 19., ebenfalls bei pektinfreier Kost, aber bei gleichzeitigem Genuß von Wein zum Mittagessen. Aus den Zahlen vom 15. sehen wir, daß Genuß von Wein mittags erst im Nachtharn ein Ansteigen des Methylalkoholgehalts zur Folge hat. Wir sehen denn auch in unserm Nachtharn vom 19. bis 20. Dezember eine kleine Erhöhung; man findet 0,8 gegenüber 0,2 mg Methylalkohol, also längst nicht die Mengen, die bei pektinhaltiger Kost mit gleichzeitigem Weingenuß auftreten.

Nun wurde bei pektinfreier Kost ein methylalkoholhaltiger Branntwein eingenommen. Wie weiter oben gezeigt wurde,

kommen gelegentlich Obsttresterbranntweine mit über 4% Methylalkohol, bezogen auf den Äthylalkohol, vor¹⁾).

Es war nun interessant, die Wirkung eines so stark methylalkoholhaltigen Getränkes auf den Organismus zu studieren. Da jener Branntwein mit dem höchsten Gehalte aufgebraucht war, versetzte ich einen 2% Methylalkohol enthaltenden Obsttresterbranntwein mit der berechneten Menge Methylalkohol von Kahlbaum, um ihn auf 4% zu bringen und stellte ihn auf den Gesamtalkoholgehalt von 50% ein. Davon wurden am 21. Dezember 60 ccm, entsprechend 1,2 ccm oder 947 mg Methylalkohol, während des Mittagessens eingenommen, diesmal bei pektinfreier Kost. Die Folge war, daß der Methylalkoholgehalt im Tagesharn von 0,5 auf 8,6 mg anstieg; im Nachtharn waren immer noch 2,6 mg vorhanden. Durch den Tresterbranntwein, d. h. durch die kombinierte Wirkung von 947 mg Methylalkohol und 30 ccm Äthylalkohol war also die höchste Methylalkoholausscheidung bewirkt worden, 11,2 mg innert 24 Stunden, das macht 1,18% des eingenommenen Methylalkohols aus.

Unser letzter Versuch (23. Dezember) betrifft ähnlich wie der erste die Methylalkoholausscheidung bei nahezu reiner Äpfelkost. Auch hier haben wir eine starke Erhöhung des Methylalkoholgehaltes. Am 8. Dezember wurden 960 mg Methylalkohol in Form von Äpfeln eingenommen und 8,7 mg oder 0,91% davon mit dem Harn wieder ausgeschieden. Bei diesem Versuche trat ein kleiner Verlust von vielleicht 1 mg ein, indem bei einer der Destillationen der Verbindungspropfen zwischen Kolben und Fraktionieraufsatz eine kurze Zeit lang nicht dicht schloß. Am 23. Dezember wurden in den Äpfeln und der Konfitüre zusammen ungefähr 970 mg Methylalkohol eingenommen. Ausgeschieden wurden davon 8,8 mg oder 0,91%, also weniger als bei Genuß von methylalkoholhaltigem Obsttresterbranntwein, bei ungefähr gleicher Dosis Methylalkohol.

Aus unserer ganzen Versuchsreihe geht folgendes hervor.

Bei pektinfreier Kost werden sehr kleine Mengen Methylalkohol im Harn ausgeschieden; an Fasttagen verringern sie sich noch auf ungefähr die Hälfte. Bei mäßig pektinhaltiger Kost steigt der Gehalt auf das Mehrfache an. Es kommt dabei

¹⁾ Siehe Tabelle I, S. 50.

nicht in Betracht, ob das Pektin in Form von Gemüse oder Obst, ob die Nahrung in rohem, pektasehaltigem, oder in gekochtem Zustande genossen wird. Folglich wird der Methylalkohol aus dem Pektin nicht etwa nur durch die in der Nahrung enthaltene Pektase, sondern auch durch die Verdauungssäfte des tierischen Organismus selbst in Freiheit gesetzt, wobei die Frage unerörtert bleiben mag, ob dabei Enzyme tätig sind oder ob die Alkaleszenz des Darmes allein die Spaltung bewirkt.

Bei ausschließlicher oder nahezu ausschließlicher Obstkost steigt der Methylalkoholgehalt stark über das normale Maß. Genuß von Äthylalkohol läßt bei pektinfreier Kost eine minimale Erhöhung, bei pektinhaltiger Kost eine starke Erhöhung des Methylalkoholgehaltes erkennen. In analoger Weise bewirkt auch die gleichzeitige Einnahme von Methyl- und Äthylalkohol in Form von Obsttresterbranntwein ein starkes Ansteigen des Methylalkoholgehaltes im Harn.

Die kombinierte Wirkung des Methyl- und Äthylalkohols glauben wir folgendermaßen deuten zu müssen. Der Organismus verbrennt bekanntlich den Methylalkohol nur schwer und unvollständig, bedeutend schwerer als den Äthylalkohol. Wird nun neben dem Methylalkohol des Pektins noch Äthylalkohol eingenommen, so erschwert die in erster Linie erfolgende Verbrennung des Äthylalkohols diejenige des Methylalkohols, und es werden etwas größere Mengen des letzteren Körpers mit dem Harn ausgeschieden.

Bei dem Versuch mit Obstkost vom 23. Dezember wurde jede einzelne Harnentleerung für sich aufgefangen und untersucht. Auf diese Weise konnte man sich ein genaueres Bild machen von der Abhängigkeit der Harnmenge und des darin vorhandenen Methylalkohols von der eingenommenen Nahrung. Der Versuch begann am 22. Dezember abends 10^h und wurde bis zum 24. Dezember morgens um 7^h 30 fortgeführt. Er umfaßt somit einen ganzen Tag samt den beiden ihn einschließenden Nächten. Die Tabelle XVII, ebenso wie die danach konstruierte Kurventafel V, gibt Aufschluß über die eingenommene Nahrung, die ausgeschiedene Harnmenge und den darin direkt gefundenen und den wirklich vorhandenen Methylalkohol. Über die Art

der Destillation des Harnes und die Berechnung des Methylalkohols wurde bereits weiter oben berichtet.

Tabelle XVII.

a) Am 23. Dezember eingenommene Nahrung.

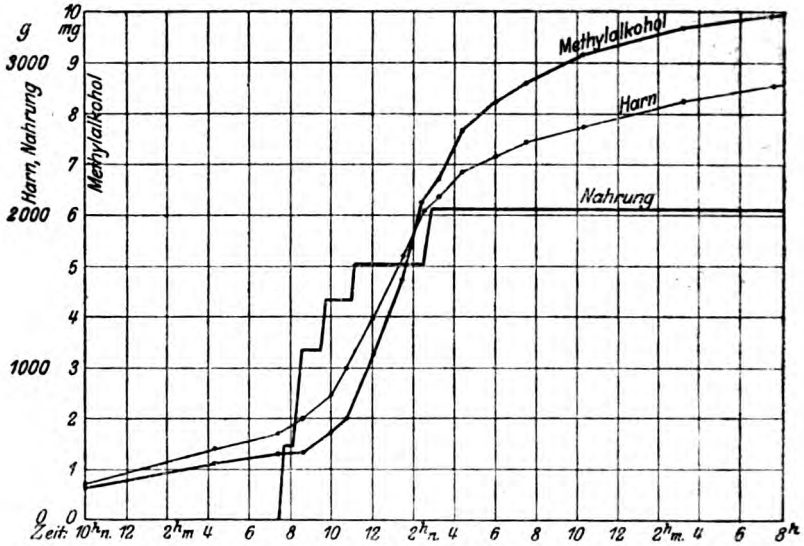
Zeit	Art und Menge der eingenommenen Nahrung	Darin vorhandener Methylalkohol
7 ^h 30 bis 7 ^h 40	ca. 400 g Joghurt	0
	ca. 100 g Johannisbeerkonfitüre .	ca. 60 mg
8 ^h 05 " 8 ^h 35	616 g Äpfel, 8 St. (Surgrauech)	364 "
9 ^h 30 " 9 ^h 45	338 g " 4 " "	200 "
11 ^h " 11 ^h 15	230 g " 4 " "	136 "
2 ^h 30 " 2 ^h 50	352 g " 4 " "	208 "
	2040 g, davon 1536 g Äpfel .	ca. 970 mg

b) Vom 22. Dezember abends bis zum 24. Dezember morgens ausgeschiedene Harn- und Methylalkoholmenge.

Zeit der Harnentleerung	Harnmenge	mg Methylalkohol	
		gefunden	wirklich vorhanden
22. XII. 10 ^h 20 ^a	258	0,46	0,62
23. XII. 4 ^h 20 ^m	216	0,38	0,50
7 ^h 25	109	0,14	0,17
8 ^h 25	80	0,05	0,05
9 ^h 55	161	0,27	0,34
10 ^h 50	193	0,27	0,34
11 ^h 20	172	0,36	0,46
12 ^h 5 ^a	141	0,55	0,78
1 ^h 30	411	0,97	1,47
2 ^h 25	284	0,99	1,51
3 ^h 15	94	0,37	0,48
4 ^h 20	172	0,65	0,95
6 ^h	96	0,41	0,55
7 ^h 30	100	0,30	0,41
10 ^h 20	80	0,38	0,50
24. XII. 3 ^h 10 ^m	172	0,42	0,56
7 ^h 30	107	0,20	0,25

In der Kurve sind die Werte für die eingenommene Nahrung und den ausgeschiedenen Harn in einem andern Maßstabe eingezeichnet, als der Methylalkohol.

Das Frühstück am 23. Dezember, bestehend aus Joghurt und Konfitüre, wurde 7^h 30 bis 7^h 40 eingenommen. Gleich darauf steigt die Harnkurve an, während die Methylalkoholkurve zunächst noch keine Erhöhung erfahren hat. Im Gegenteil scheint



Kurventafel V.

gerade jetzt der Punkt erreicht zu sein, wo nahezu die letzten Reste des gestern aufgenommenen Methylalkohols ausgeschieden sind, wo der Harn praktisch methylalkoholfrei wird.

Die nächste Nahrungsaufnahme findet 8^h 5 bis 8^h 35 statt. Die verzehrten 8 Äpfel bewirken ein ziemlich starkes Ansteigen sowohl der Harn- wie der Methylalkoholkurve, die beide bald darauf ihre maximale Steigung erreichen. Dies trifft aber wieder für den Harn früher ein als für den Methylalkohol. Um 10^h, also kurz nach der zweiten Aufnahme von Äpfeln, ist der Punkt erreicht, wo der Harn für die nächste Zeit gleichmäßig schnell ansteigt; für den Methylalkohol ist dies von 10^h 50 an der Fall. Nach der letzten Nahrungsaufnahme 2^h 30 bis 2^h 50, beginnt die Harn- sowie die Methylalkoholkurve sich wieder allmählich abzufachen, und zwar tritt diese Tendenz für den Harn früher ein als für den Methylalkohol. Gegen Morgen des 24. Dezember haben beide Kurven wieder ungefähr den Steilheitsgrad, den sie am vorhergehenden Morgen besaßen.

Wir sehen also, daß die Methylalkoholausscheidung ungefähr eine Stunde nach Aufnahme der pektinhaltigen Nahrung einsetzt, ungefähr zwei Stunden lang schwächer, dann stark ansteigt und sich nach der Nahrungsaufnahme allmählich wieder

verringert, um gegen Morgen nahezu aufzuhören. Die Vermehrung der Harnabsonderung beginnt früher als diejenige der Methylalkoholausscheidung und nimmt nach Aufhören der Nahrungszufuhr auch schneller wieder ab.

Aus den vorliegenden Ergebnissen dürften sich auch hygienisch wertvolle Schlüsse ziehen lassen. Es ist gezeigt worden, daß bei mäßiger Einnahme von Pektin nur äußerst geringe Methylalkoholmengen in den Harn gelangen, also nahezu aller Methylalkohol verbrannt wird. Bei Einnahme von Äthylalkohol in Form von Wein oder Bier neben Pektin oder bei gleichzeitiger Einnahme von Äthyl- und Methylalkohol in Form von Tresterbranntwein treten größere Mengen Methylalkohol im Harn auf; die Verbrennung des Methylalkohols wird erschwert, indem dem Organismus gleichzeitig die Verbrennung verhältnismäßig großer Mengen Äthylalkohol zugemutet wird. Dadurch ist wohl auch die Möglichkeit gegeben, daß der Methylalkohol seine schädigende Wirkung in viel eingreifenderer Weise ausüben kann. Während also der Genuß von Obst auch in großen Mengen wohl niemals auch nur zu leichten Methylalkoholvergiftungen führt, so scheint uns die Einnahme von Branntweinen mit verhältnismäßig hohem Gehalt an Methylalkohol, also vor allem von Obsttresterbranntweinen, bedenklich.

Als Verfasser vor einigen Jahren in Obsttresterbranntweinen Methylalkoholmengen von 1,3 bis 4,2⁰/₀, bezogen auf den Gesamtalkohol, auffand, wandte sich das Eidgenössische Gesundheitsamt an Herrn Dr. F. Stocker, Chefarzt der kantonalen Augenklinik in Luzern, mit der Bitte um Auskunft, ob er in der Zentralschweiz, wo bekanntlich Obsttresterbranntwein in großen Mengen konsumiert wird, Krankheitserscheinungen bzw. Sehstörungen beobachtet habe, die an akute oder chronische Methylalkoholvergiftung durch übermäßigen oder lange andauernden Genuß von Obsttresterbranntwein, sog. „Träsch“, denken ließen. Mit Einwilligung von Herrn Dr. Stocker lasse ich hier seine am 2. März 1913 erfolgte Antwort folgen.

„Die Zentralschweiz ist allerdings wohl das hauptsächlichste Absatzgebiet für den sog. „Träsch“; ja man könnte wohl sagen, ohne sich der Übertreibung schuldig zu machen, daß der „Träsch“, spez. Birnenträsch, ein eigentliches Volksgetränk ist und schon lange gewesen ist.

In meiner 25jährigen Augenpraxis habe ich denn auch Jahr für Jahr mehrere Patienten zu behandeln gehabt, die infolge chronischen übermäßigen Träschgenusses an ihren Sehorganen erkrankt waren. Mit Vorliebe kam die retrobulbäre Neuritis, die interstitielle Entzündung der Sehnerven zur Beobachtung, die sich namentlich durch Schädigung des papillomaculären Bündels auszeichnet und wegen des zentralen Ausfalls der Empfindung für Grün und Rot auch Amblyopia macularis centrica genannt wird. Es ist zu betonen, daß nicht, wie man früher von gewissen Seiten annahm, die Anwesenheit von Nikotinvergiftung dazu nötig ist, ich habe viele, viele solche Fälle bei nikotinabstinenten Träschtrinkern gesehen. Neben dieser Sehnervaffektion fand ich auch häufig Retinalblutungen; wie weit letztere nun dem Träsch und nicht der durch den Alkohol erzeugten Arteriosklerose zuzuschreiben sind, läßt sich nicht sagen.

Ebensowenig ist es mir möglich, zu sagen, ob diese Augenstörungen eigentlich und spezifisch durch den in Träsch enthaltenen Methylalkohol erzeugt werden, da mir diesbezügliche Untersuchungen fehlen. Sonderbar ist schon, daß alle an Retinitis oder Retrobulbärneuritis obiger Art Erkrankten richtige Träsch- oder, vulgär, Schnapstrinker waren; Most-, Bier- oder Weintrinker kamen nur insoweit in Betracht, als diese eben gewohnt waren, nach einer Dosis Wein, Most oder Bier das „Träsch“ draufzusetzen zum, wie sie sagen „Zerreißen“ („Verrissen“).

Die gleichen Beobachtungen machte ich auch in den letzten 3 $\frac{1}{2}$ Jahren als Chefarzt der kantonalen Augenklinik, und ich kann das auf Seite 57 des Spitalberichtes von 1911 Gesagte dahin ergänzen, daß alle diese Patienten Träschtrinker waren.“

Nach Herrn Dr. Stocker lassen sich also die genannten Erkrankungen der Sehorgane unzweifelhaft auf den Genuß von Obsttresterbranntwein zurückführen, während die methylalkoholfreien alkoholischen Getränke Most, Wein und Bier keine derartigen Störungen hervorrufen. Allerdings läßt Herr Dr. Stocker die Frage offen, ob die Schädigungen dem Methylalkoholgehalt des Träsch zuzuschreiben sind. Daß dies tatsächlich der Fall ist, glauben wir durch unsere Untersuchungen über die kombinierte Wirkung von Methyl- und Äthylalkohol wenigstens wahrscheinlich gemacht zu haben.

Immerhin sind unsere Untersuchungen weit davon entfernt, vollständig zu sein. Sie wurden an einer einzigen, nur ab und zu alkoholische Getränke genießenden Versuchsperson bei vegetarischer Kost durchgeführt. Während der ganzen Versuchsperiode wurde eine gleichmäßige Tätigkeit (Laboratoriumstätigkeit) eingehalten; auch Sonntags wurden größere körperliche Leistungen vermieden. Ferner fallen die Versuche alle in eine bestimmte Jahreszeit, in eine Zeit von ungefähr gleichbleibender Witterung (ziemlich feuchtes Wetter, Temperatur meist über 0°). Diese Konstanz der Bedingungen war für unsere vergleichenden Beobachtungen durchaus erwünscht. Daneben wäre es aber sehr interessant, bei verschiedenen Personen, z. B. auch bei gewohnheitsmäßigen Alkoholikern, ferner bei anämischen Personen, bei denen die Oxydationswirkung im Organismus herabgesetzt ist, dann auch bei verschiedener Tätigkeit, also auch bei strenger körperlicher Arbeit, sodann bei verschiedenen Jahreszeiten ähnliche Versuche durchzuführen. Es wäre dabei wünschenswert, Art, Menge und Methylalkoholgehalt der eingenommenen Nahrung fortlaufend genau zu registrieren.

Es ist möglich, daß sich die Bestimmung des Methylalkohols im Harn unter Einhaltung einer bestimmten Ernährung als klinische Reaktion verwerten ließe, indem sie ein Maß für die Oxydationsfähigkeit des Organismus abgeben könnte.

Andrerseits sollte aber auch der Frage näher getreten werden, ob nicht aus Rücksicht auf die Volksgesundheit der Konsum methylalkoholischer Getränke zu verbieten sei.

Inhalt.

	Seite
1. Übersicht	45
2. Nachweis und Bestimmung des Methylalkohols in alkoholischer Lösung	47
3. Ein Anreicherungsverfahren für Methylalkohol zum Nachweis kleinster Mengen	53
4. Ursprung des Methylalkohols in Trinkbranntweinen	56
5. Die Bestimmung des Methylalkohols in pektinhaltigen Nahrungsmitteln	60
6. Über das festgebundene Methoxyl (Lignin und Suberin) und seine Bestimmung	74
7. Das Verhalten des Pektin-Methylalkohols im Organismus	104

Über die Konstitution der Pektinkörper¹⁾.

Von

Th. von Fellenberg.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Schweizerischen Gesundheitsamtes.)

(Eingegangen am 22. August 1917.)

Einleitung.

Nachdem in der vorhergehenden Arbeit nachgewiesen wurde, daß der Methylalkohol der Trinkbranntweine als ein Zerfallsprodukt des Pektins angesehen werden muß, war es angezeigt, sich eingehender mit diesem interessanten gallertbildenden Pflanzenstoff zu beschäftigen, war doch Aussicht vorhanden, durch Feststellung der Beziehung des Methylalkohols zum Pektin zur Kenntnis dieses letzteren Stoffes einiges beizutragen.

Im folgenden soll vorerst ein Überblick über unsere bisherige Kenntnis des Pektins gegeben werden, ohne daß jedoch eine Berücksichtigung aller Arbeiten beabsichtigt ist.

Das Pektin oder die Pflanzengallerte wurde 1833 von Braconnot²⁾ in Fruchtsäften aufgefunden und als die gelatinierende Substanz der Fruchtgelees angesprochen. Es kommt auch in Baumrinden, in Blättern und Stengeln, ferner in Rüben und andern Wurzelgewächsen vor. Wohl die wichtigsten der

¹⁾ Die vorliegende Abhandlung ist eine Erweiterung der in den Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, veröffentlicht vom Schweizerischen Gesundheitsamt, erschienenen Arbeiten: Zur Kenntnis des Pektins, genannte Zeitschr. 5, 225 bis 256, 1914 und Zur Kenntnis des Tragants, genannte Zeitschr. 5, 256 bis 258, 1914.

²⁾ Berzelius, Jahresbericht 12, 205, 1833; 13, 315, 1834.

älteren Untersuchungen über Pektin sind diejenigen von Fremy.

Nach Fremy¹⁾ ist das Pektin in den unreifen Früchten hauptsächlich in unlöslicher Form als Pektose vorhanden. Dieser Körper ist noch niemals in reiner Form isoliert worden, da er durch kein Lösungsmittel von seinen Begleitkörpern, wie Cellulose und celluloseähnlichen Substanzen, getrennt werden kann. Durch Behandeln mit anorganischen oder organischen Säuren außer Essigsäure in der Wärme geht Pektose in lösliches Pektin über; daneben gehen stets reichliche Mengen Calcium in Lösung. Deshalb vermutet Fremy, Pektose könnte eine Calciumverbindung des Pektins sein. Mangin glaubt jedoch, das Pektin sei in den Membranen mit Cellulose verbunden.

Fremy verfolgte die Pektinbildung auch mikroskopisch. In unreifen Früchten ist Pektin nur in geringer Menge vorhanden. Es bildet sich erst während der Reife. Unter dem Mikroskop zeigt eine unreife Johannisbeere folgendes Bild. Die Fleischpartie ist zusammengesetzt aus vielen kleinen Zellen mit ziemlich dicken Wänden, die in eine äußere, grüne Substanz von ziemlicher Konsistenz eingebettet sind. Mit der Reife quellen die vorher opaken Zellen und werden durchsichtig. Die dünnen Wände platzen oft oder weiten sich so auf, daß der Zellsaft herausdringt. Dieser sehr saure Saft kommt mit der äußern Substanz in Berührung und verwandelt sie in eine schleimige, wasserlösliche Substanz, nämlich in Pektin und vielleicht in Zucker.

Fremy zerstieß unreife Johannisbeeren und laugte sie während mehrerer Stunden mit destilliertem Wasser aus, bis die saure Reaktion verschwunden war. Die Masse gab beim Kochen nichts an Wasser ab. Beim Ansäuern mit Weinsäure, Äpfelsäure oder Schwefelsäure wurde die Lösung dickflüssiger; Pektin ging in Lösung.

Auch beim Kochen der Früchte wird Pektin gebildet, indem der saure Zellsaft herausdringt und die Umwandlung bewirkt.

¹⁾ Journ. de Pharmacie 26, 368 bis 393, 1840; Annal. de Chimie et de Physique 24, 5.

Nach Bourquelot und Hérissé¹⁾ wird Pektose auch durch ein Enzym, das von *Aspergillus niger* abgesondert wird, in Pektin umgewandelt.

Folgen wir weiter den Untersuchungen Fremys. Pektin bildet je nach seiner Gewinnungsart lockere, wolleartige weiße Flocken oder eine zähe, hornartige, etwas elastische Masse oder gelegentlich auch ein körniges Pulver. Mit Wasser quillt es zu einer kleisterähnlichen Masse auf und gibt mit mehr Wasser eine opaleszierende kolloidale Lösung, die die Polarisationsebene nach rechts dreht. In Alkohol und Äther ist Pektin unlöslich. Die wäßrige Lösung wird durch Alkohol je nach der Konzentration als Gallerte oder als Flocken gefällt. Säuren koagulieren die Lösung nicht, wohl aber fallen viele Schwermetallsalze sowie die Hydroxyde der alkalischen Erden Gallerten aus; Ammoniumsulfat und Magnesiumsulfat geben, nahezu zur Sättigung eingetragen, flockige Fällungen. Durch neutrales Bleiacetat wird frisch bereitetes Pektin nicht gefällt, wohl aber durch basisches Bleiacetat. Wird aber eine Pektinlösung einige Zeit gekocht, so erzeugt auch neutrales Bleiacetat eine Fällung; Pektin ist in das isomere Parapektin übergegangen. Wird Pektin oder Parapektin mit verdünnter Säure einige Zeit gekocht, so verwandelt es sich in Metapektin. Dieses weitere Isomere reagiert sauer und wird schon durch Bariumchlorid gefällt.

Diese drei isomeren Pektine unterscheiden sich durch den Bleigehalt ihrer Fällungen. Der Pektinbleiniederschlag enthält 10% Bleioxyd, derjenige von Parapektin 19 und derjenige von Metapektin 33%.

Pektin ist außerordentlich empfindlich gegen kaustische Alkalien und Erdalkalien. Versetzt man eine Pektinlösung mit wenig überschüssiger Natronlauge und säuert nach einigen Minuten an, so fällt eine Gallerte aus. Pektin ist in Pektinsäure übergegangen. Ammoniak bewirkt diese Umwandlung nicht. (Braconnot.)

Durch ein Enzym, eine Koagulase, durch die in Mohrrüben und Runkelrüben in löslicher, in sauren Früchten in unlöslicher Form vorkommende Pektase wird Pektin ebenfalls in Pektinsäure übergeführt. Frischer Saft von Möhren wird mit Alkohol

¹⁾ Journ. de Pharm. et de Chim. 8, 145, 1899.

gefällt und die pektasehaltige Fällung in Wasser gelöst. Wird diese Lösung zu Pektinlösungen zugesetzt, so erfolgt oft schon nach Minuten, stets aber nach einigen Stunden Koagulation; die Lösung erstarrt, wenn sie konzentriert genug ist, zu Gallerte; ist sie verdünnt, so scheiden sich Flocken von Pektinsäure aus.

Pektin und Pektinsäure werden nach Bourquelot und Hérissé¹⁾ durch Diastase, nicht aber durch Ptyalin und Emulsin, hydrolysiert unter Bildung von reduzierenden Zuckern. Die genannten Autoren nehmen ein die Diastase begleitendes spezifisches Enzym an.

Nach Fremy ist Pektinsäure ein Isomeres des Pektins. Sie bildet in trockenem Zustande ein weißes Pulver, das in Wasser aufquillt und sich in der Hitze ein wenig löst. Die Lösung reagiert schwach sauer. Sie wird durch Schwermetallsalze als Gallerte gefällt. Alkalien und Ammoniak lösen Pektinsäure mit Leichtigkeit. In saurem Wasser ist Pektinsäure bedeutend weniger löslich als in reinem Wasser.

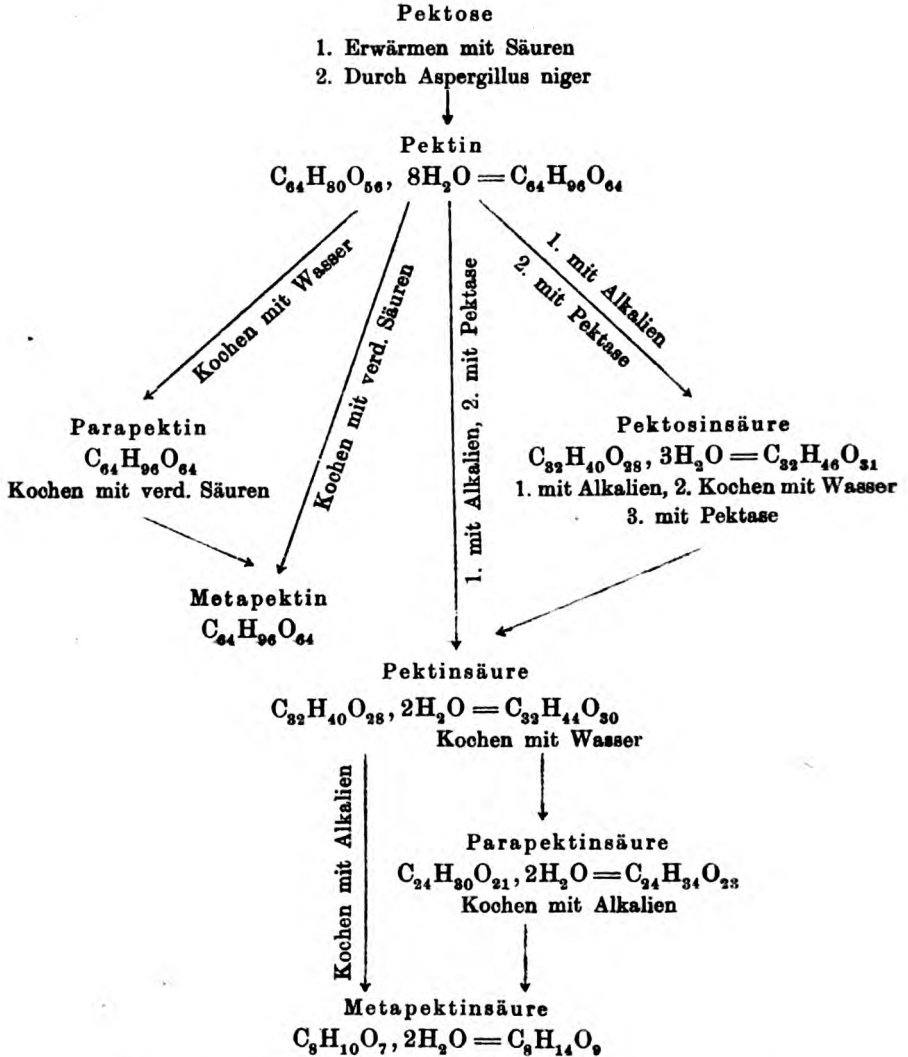
Der Pektinsäurebildung soll die eines Zwischenproduktes, der ebenfalls mit Pektin isomeren Pektosinsäure vorangehen. Sie soll sowohl bei der Pektasewirkung als bei der Behandlung mit sehr wenig überschüssigem Alkali entstehen und die Bildung der Gallerte bewirken. Durch siedendes Wasser oder durch Überschuß an Alkalien soll sie in Pektinsäure übergehen.

Wird Pektinsäure mit Wasser längere Zeit gekocht, so geht sie in eine löslichere Modifikation, die Parapektinsäure, über.

Wenn Pektinsäure mit sehr geringem Überschuß von Kaliumhydroxyd einige Stunden erhitzt wird, geht sie in Metapektinsäure über. Dieselbe Wirkung erzielt man durch längeres Erhitzen mit starken Säuren. Die sehr saure Metapektinsäure ist sirupös. Durch Alkohol wird sie nicht gefällt. Die Alkali- und Erdalkalisalze sind leicht löslich, das Bleisalz läßt sich mit Hilfe von Bleiacetat gewinnen.

Folgendes Schema gibt die von Fremy erhaltenen Pektinkörper und die meist aus der Analyse der Bleisalze abgeleiteten Formeln wieder, die einen allmählichen Zerfall des Pektinmoleküls ohne Abspaltung irgendwelcher Nebenprodukte vor-demonstriert.

¹⁾ l. c.



Diese Formeln stimmen nicht überein mit den von andern Autoren aufgestellten.

Mulder¹⁾ nimmt für die Pektinsäure die Formel $C_6H_8O_5$ an; Régnault²⁾ schreibt für denselben Körper $C_{11}H_{14}O_{10}$.

¹⁾ Berzelius, Jahresbericht 18, 282, 1839.

²⁾ Berzelius, Jahresbericht 19, 410, 1840.

Fromberg¹⁾ schließt sich der Ansicht Mulders an unter Verdoppelung des Moleküls. Berzelius, der über die Arbeit Frombergers referiert, hält folgende Formeln für wahrscheinlich; für Pektin $C_{24}H_{39}O_{20}$, für Pektinsäure $C_{12}H_{16}O_{10}$, für Metapektinsäure $C_6H_8O_6$.

Chodnew²⁾ stellt für Pektin die Formel $C_{28}H_{42}O_{34}$ auf. Er beschreibt eine rationelle Methode, um Pektinsäure aus Rübenschnitzeln zu gewinnen, indem man gar nicht erst das Pektin isoliert, sondern direkt die Pektose in Pektinsäure überführt. Die fein zerriebenen Rübenschnitzel werden mit Wasser vollständig ausgelaugt und mit sehr verdünnter Kalilauge gekocht. Im Filtrat befindet sich dann pektinsaures Kalium, aus dem die Pektinsäure mit Säure als Gallerte abgeschieden wird.

Auch eine pektinige Säure will Chodnew aus Rübenschnitzeln gewonnen haben. Die zerriebenen und gewaschenen Rübenschnitzel werden mit sehr verdünnter Salzsäure gekocht und die Lösung mit Alkohol gefällt. Nach der Darstellungsart und den Eigenschaften seines Produktes muß er aber Pektin selbst in Händen gehabt haben. Er erkannte es wohl nicht, weil es reiner war als sein Pektin aus Früchten, das noch 8,5% Asche enthielt.

Nach dem Ausziehen mit verdünnter Salzsäure kochte Chodnew seine Rübenschnitzel mit Kalilauge und erhielt wieder eine gelatinierende Substanz, die er Überpektinsäure nannte. Pektinsäure soll entstehen durch Wechselwirkung eines Moleküls pektiniger Säure mit einem Molekül Überpektinsäure. Unreife Früchte sollen nicht Pektin, sondern pektinige Säure, gebunden an Kalk, enthalten. Durch Reduktion würde daraus bei der Reife Pektin entstehen.

Schließlich stellte auch Fremy³⁾ seine Metapektinsäure aus Rübenschnitzeln her, indem er die gut ausgelaugten Schnitzel eine Stunde lang mit Kalkmilch kocht, wodurch die aus Pektose intermediär entstehende Pektinsäure gleich weiter in Metapektinsäure umgewandelt wird.

Chodnew stellt folgende Formeln auf:

¹⁾ Berzelius, Jahresbericht 24, 371, 1845.

²⁾ Berzelius, Jahresbericht 24, 566, 1845.

³⁾ l. c.

Pektinartiges Zellgewebe . . .	$C_{28}H_{44}O_{22}$
Pektin	$C_{28}H_{42}O_{24}$
Pektinige Säure, wasserhaltig	$C_{28}H_{42}O_{25}$
Pektinsäure	$C_{28}H_{40}O_{26}$
Überpektinsäure	$C_{28}H_{38}O_{27}$

Die genannten Autoren leiten ihre Formeln meist aus der Analyse der Blei-, Silber- und Bariumsalze und auch der unverbundenen, meist recht aschehaltigen Körper her. Die Unterschiede der Analysenzahlen rühren zum Teil vom Trocknen bei verschiedenen hohen Temperaturen, hauptsächlich aber wohl davon her, daß meistens nicht mit genügend reinen Körpern gearbeitet wurde.

Die Metapektinsäure aus Rübenschnitzeln wurde von Scheibler¹⁾ genauer untersucht. Er stellte fest, daß sie sich beim Erhitzen mit starken Säuren in einen Zucker und eine Säure spaltet, also als ein Glykosid zu betrachten ist. Er sieht daher die Pektinkörper als wahrscheinliche Muttersubstanzen der Zucker an. Der Zucker aus Metapektinsäure, Pektinzucker oder Pektinose, erwies sich als identisch mit der Arabinose, die Scheibler nachträglich aus arabischem Gummi gewann, Metapektinsäure sollte deshalb nichts anderes als Arabin sein. Später fand Scheibler, daß seine Metapektinsäure aus Rüben überhaupt kein Körper der Pektingruppe ist, sondern Arabin, das sich in der unlöslichen Form der Metaarabinsäure in den Rüben vorfindet, also in derselben Form, wie bei Kirschgummi. Dadurch wird es nun wieder zweifelhaft, ob Fremys Metapektinsäure aus Rüben mit seiner aus Pektinsäure hergestellten Metapektinsäure identisch ist.

Reichhardt²⁾ sieht die Pektinkörper für gallertgebende Kohlenhydrate an, die den Gummiarten zunächst zu stellen sind.

Herzfeld³⁾ stellte fest, daß die Pektinkörper bei der Hydrolyse Arabinose liefern und bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure. Dies letztere Ergebnis deutet auf das Vorkommen von Galaktosegruppen hin. Es ist indessen erst vor kurzem Ehrlich möglich gewesen, aus den Produkten der Pektinhydrolyse Galaktose selbst zu isolieren.

¹⁾ Liebzig und Kopp, Jahresbericht 1868, 779.

²⁾ Liebzig und Kopp, Jahresbericht 1877, 905.

³⁾ Liebzig und Kopp, Jahresbericht 1890, 2185; 1891, 2213.

Parapektinsäure aus Rübenschnitzeln gab 29,6% Schleimsäure und 14% Furfurol. Sie schien kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von Arabinose und Galaktose liefernden Körpern zu sein, dessen Trennung nicht vollständig gelang. Das Verhältnis von Arabinose und Galaktose ist auch nicht immer dasselbe.

Über die Konstitution der Pektinstoffe äußert Groß folgende Ansicht. Die Pektine enthalten 40,8 bis 43,5% Kohlenstoff und 5,6 bis 5,7% Wasserstoff, mit Ausnahme des Johannisbeerpektins, das kohlenstoff- und wasserstoffreicher ist.

Die Zusammensetzung der Körper der Oxycellulosereihe der natürlichen Gruppe liegt in denselben Grenzen. Dieselben Zahlen gibt auch die Lignocellulose. Wie die Lignocellulose reagiert Pektin leicht mit Chlor unter Bildung von Chinonchloriden, die durch Reduktion in Derivate des Pyrogallols übergehen. Groß hält Pektin für lösliche Lignocellulose, die frei ist von den gewöhnlich in den Faserverbindungen dieser Klasse vorhandenen Nebenprodukten.

Tromp de Haas und Tollens¹⁾ nahmen die Frage nach der Zusammensetzung des Pektins von neuem in Angriff.

Die Pektinstoffe reagieren häufig säuerlich, während die Pflanzenschleime ganz neutrale Körper sind. Die letzteren sind Kohlenhydrate, deren Zusammensetzung genau dem Verhältnis $H:O = 1:8$ entspricht. Für die Pektinkörper wird meistens ein anderes Verhältnis angegeben. Die genannten Autoren stellten aus dem Saft zahlreicher Früchte Pektin her und verbrannten es nach dem Trocknen im Wasserdampftrockenschrank. Sie fanden Zahlen, die um das Verhältnis 1:8 herum schwankten und bald etwas niedriger, bald etwas höher waren, in der Regel etwa 1:7,4 bis 8,4. Dieselbe Frucht gab oft verschiedene Werte, je nachdem ihr Saft nur einmal mit Alkohol gefällt oder aber nochmals umgelöst worden war. Die Pektine stehen somit den Kohlenhydraten mindestens sehr nahe.

Tollens²⁾ nimmt einen kleinen Überschuß von Sauerstoff an, obgleich nach seinen Analysen nicht mit Sicherheit darauf geschlossen werden kann, da die analysierten Körper zu unrein

¹⁾ Liebigs Annal. 286, 278, 1895.

²⁾ Liebigs Annal. 286, 292, 1895.

waren. Der Sauerstoffüberschuß wird aber dadurch wahrscheinlich, daß die Pektinkörper meist deutlich sauer reagieren und Basen binden. Er nimmt darin eine oder mehrere zuweilen anhydrierte oder veresterte Carboxylgruppen an.

Die Carboxylgruppe befindet sich vermutlich an Stelle einer ätherifizierten CHO- oder CH_2OH -Gruppe der Kohlenhydrate. Es würde sich also etwa eine Säure von der Art der Glykonsäure, vielleicht eine solche mit 5 Kohlenstoffatomen im Molekül befinden. Die Formel könnte man dann beispielsweise folgendermaßen schreiben $(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)_{11}$, $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_5$; oder man kann auch C_5 - und C_6 -Gruppen zugleich darin annehmen.

Wie O'Sullivan in den Gummiarten eine Kombination von Kohlenhydraten mit Säuren annimmt, so Tollens für die Pektine. Die Arabinsäure hat nach O'Sullivan die Formel $\text{C}_{91}\text{H}_{142}\text{O}_{74}$ und liefert neben Glykosen die Geddinsäure $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_{22}$. In der Arabinsäure wäre das Verhältnis $\text{H}:\text{O} = 1:8,33$, in der Geddinsäure $= 1:9,26$. Das ursprüngliche Pektin ist neutral, weil die Säuregruppe darin als Laktone oder Ester vorhanden ist. Beim Behandeln mit Alkalien wird zuerst diese Anhydridbindung aufgehoben und das Pektin wird als pektinsaures Alkalisalz gelöst. Bei der Hydrolyse entstehen dann Hexosen, Pentosen und Säure.

Nach dieser Auffassung sind die Pektinstoffe den Pflanzenschleimen nahestehend; sie sind als Oxympflanzenschleime zu betrachten.

Wie weiter oben angegeben, befaßte sich schon Fremy mit der Frage nach dem Sitz des Pektins in den Früchten. In neuerer Zeit wurde diese Frage von Tschirch und Rosenberg¹⁾ in botanischem Sinne endgültig gelöst, nachdem Tschirch bereits in seinem anatomischen Atlas bei der Hollunderbeere das allmähliche Aufquellen der Membranen der Zellen vor-demonstriert und den Vorgang mit dem Namen Pektinmetamorphose bezeichnet hatte.

Diese Metamorphose geht ausschließlich oder vorwiegend in der Intercellularsubstanz vor sich. Rosenberg untersuchte auf Anregung Tschirchs eine Anzahl Früchte von den ersten

¹⁾ E. Rosenberg, Über die Pektinmetamorphose, Inauguraldissertation, Bern 1908.

Stadien bis zur Reife unter Zuhilfenahme mikrochemischer Reaktionen. Er fand u. a. in einigen basischen Farbstoffen, wie Safranin, Methylenblau, Neutralviolett, sowie auch im Rutheniumrot (Rutheniumsquesquichlorid) geeignete Reagenzien, um Pektin zu färben, während die übrigen Fruchtbestandteile ungefärbt blieben. Während die genannten Farbstoffe sich bei unreifen Früchten gut bewähren, versagen sie vom Eintritt der Reife an, mit der Bildung des „Früchtepektin“. Hier empfehlen Tschirch und Rosenberg als Reagens konzentriertere Zuckerlösungen. Wie sie feststellten, läßt sich aus pektinhaltigen Früchten niemals Gelee herstellen, wenn nicht Zucker zugesetzt wird, es sei denn, daß die Früchte, wie etwa Trauben, bereits sehr viel Zucker enthalten. In dem Zucker sehen die genannten Autoren ein Lösungs- oder Quellungs- oder Koagulationsmittel für Pektin. Wenn die Präparate mit Zuckerlösung erhitzt werden, so werden die Pektine herausgelöst, und an ihrer Stelle gewahrt man unter dem Mikroskop schwarze Partien infolge von mehr oder weniger großem Luftgehalt.

Es ließ sich nachweisen, daß Pektin niemals im Innern der Zellen oder an den innern Zellwandpartien auftritt, sondern stets nach außen. Die meisten Interzellularräume sind mit einer Pektinschicht ausgekleidet. Diese Schicht steht in kontinuierlichem Zusammenhang mit den Mittellamellen und fehlt den Interzellularen der ersten Entwicklungsstadien.

Das geleegebende Pektin ist nicht schon ursprünglich angelegt, sondern entsteht aus dem anfänglich vorhandenen, den größten Teil der Mittellamellen ausmachenden Calciumpektat beim Beginn der Reife und ist als Endprodukt der Pektinreihe zu betrachten.

Einen Fortschritt in der Kenntnis der Pektinkörper bilden die kürzlich in Form einer vorläufigen Mitteilung erschienenen Untersuchungen von F. Ehrlich¹⁾. Dieser Forscher entdeckte als Bestandteil der Pektinstoffe die d-Galakturonsäure, ein Isomeres der d-Glucuronsäure, die als Oxydationsprodukt der Galaktose aufzufassen ist. Er konnte diese sehr verbreitete Säure auch in Pflanzenschleimen auffinden.

Aus Rübenmark, d. h. den wasserunlöslichen Zellrückständen

¹⁾ Chem. Ztg. 41, 197 bis 200, 1917.

der Rüben, erhielt er auf noch nicht bekannt gegebene Weise ein Rohpektin, das aus zwei Körpern bestand, einem linksdrehenden Araban und einem rechtsdrehenden Calcium-Magnesiumsalz der Pektinsäure, einer Estersäure, mit einem Aschengehalt von ca. 6⁰/₀. Aus der wäßrigen Lösung des Salzes erhält man durch Fällung mit Alkohol und Salzsäure die freie Pektinsäure als dicke, farblose Gallerte von der Zusammensetzung C 43,70⁰/₀, H 5,45⁰/₀, O 50,85⁰/₀. Sie ist eine schwache Säure. 1 g davon verbraucht ca. 15 ccm ⁿ/₁₀-NaOH zur Neutralisation. Der Methoxylgehalt beträgt ca. 9⁰/₀. Die Pektinsäure ist frei von Pentosen, obgleich sie bei der Salzsäuredestillation Furfurol bildet. Bei der Oxydation bildet sie große Mengen Schleimsäure. Ehrlich nimmt an, daß darin eine Verbindung von Galakturonsäure mit Galaktose vorliege. Durch Hydrolyse mit Oxalsäure erhielt er eine rechtsdrehende Galaktose-Galakturonsäure von der Formel C₁₂H₂₀O₁₃, entstanden gedacht durch Vereinigung der beiden Komponenten unter Wasseraustritt.

Die Pektinsäure liefert bei der Behandlung mit Natronlauge durch Verseifung unter Abspaltung der Methyl- und der Galaktosegruppen das Natriumsalz einer weiteren Säure von bedeutend stärker sauren Eigenschaften. Ehrlich sieht sie als eine komplexe Verbindung an, die durch Austritt von 3 Molekülen Wasser aus 4 Molekülen Galakturonsäure entstanden zu denken ist, der also die Formel C₂₄H₃₄O₂₅ zukommt. Diese d-Tetragalakturonsäure, wie Ehrlich die Verbindung nennt, verbraucht ca. 4 mal mehr NaOH als Pektinsäure. Sie gibt die Farbenreaktion der Pentosen und der Glucuronsäure und liefert bei der Oxydation ca. 70⁰/₀ Schleimsäure.

Die Nomenklatur Ehrlichs weicht von der gebräuchlichen, auch von mir benützten, ab. Seine Pektinsäure entspricht offenbar einem meiner Pektine. Seine d-Tetragalakturonsäure scheint ungefähr meiner Pektinsäure zu entsprechen. Allerdings sind hier noch gewisse Unstimmigkeiten zwischen Ehrlichs und meinen Befunden vorhanden, die sich wohl bei der in Aussicht gestellten, eingehenden Veröffentlichung Ehrlichs aufklären werden.

Experimenteller Teil.

Wie uns der Überblick über die Literatur der Pektinkörper gezeigt hat, herrscht eine ziemliche Verwirrung in diesem Gebiete. Die älteren Autoren beschreiben eine ganze Reihe von verschiedenen Körpern, deren Existenz teilweise nicht ganz sichergestellt erscheint. Die neuern Arbeiten differenzieren weniger; sie sprechen oft nur schlechtweg von Pektin, obgleich sie darunter nicht nur jenen von Braconnot aus Fruchtsaft gewonnenen, wasserlöslichen Körper verstehen, sondern gelegentlich auch unlösliche Körper.

Die vorliegende Abhandlung wird sich eingehender mit den drei ersten Gliedern der Pektinreihe beschäftigen. Es sind dies:

1. Pektose oder, wie wir sie nach Tschirch¹⁾ benennen wollen, Protopektin.
2. Pektin, worunter wir erstens die vollständig veresterte Pektinsäure, zweitens alle methoxylhaltigen Übergangsstufen bis zur Pektinsäure verstehen.
3. Pektinsäure.

1. Protopektin.

Unter Protopektin ist der in unreifen und zum großen Teil auch noch in reifen, nicht aber in überreifen, faulenden Früchten vorkommende, unlösliche Körper zu verstehen, der bei der Reife in Pektin übergeht. Durch Kochen mit Wasser, noch besser mit verdünnter Säure läßt sich diese Umwandlung künstlich herbeiführen. Nach Bourquelot und Hérissé wird sie auch schon durch Kochen mit Alkohol bewirkt. Protopektin färbt sich nach Tschirch und Rosenberg mit basischen Farbstoffen an und bildet die Auskleidung der Interzellularräume und die Mitellamelle der Früchte. Ungenauerweise bezeichnet es Rosenberg in seiner Dissertation durchweg mit dem Namen Pektin.

Fremy hält es für möglich, daß Protopektin eine Verbindung von Pektin mit Calcium ist, also ein Calciumpektinat. Andere Autoren, wie Payen²⁾ und Mangin, sprechen von Calciumpektat, also von pektinsaurem Calcium. Diese letztere

¹⁾ Handbuch der Pharmakognosie 2, 277.

²⁾ Compt. rend. 43, 769, 1856.

Ansicht ist von vornherein unrichtig, da Pektinsäure ein Abbauprodukt des Pektins ist und nicht eine Vorstufe davon. Auch Ehrlichs Calcium-Magnesiumsalz der Pektinsäure (d. i. des Pektins) kann nicht mit Protopektin identisch sein, da es als lösliches Salz beschrieben wird.

Wir führten folgende Versuche mit Protopektin aus:

2 kg Äpfel wurden mit einer Fleischhackmaschine zerkleinert und ausgepreßt. Der 290 g schwere Preßkuchen wurde gründlich ausgewaschen, mit viel Wasser ausgekocht, wiederholt mit viel Wasser aufgeschwemmt und ausgepreßt. Nun wurde er eine halbe Stunde mit 1 kg 50%iger Zuckerlösung ausgekocht, um einen eventuellen wasserunlöslichen, zuckerlöslichen Pektinkörper zu entfernen. Nach längerem gründlichem Auswaschen trocknete man die Masse im Wasserdampftrockenschrank und mahlte sie fein. 42 g eines grauen, zähen, protopektinhaltigen Pulvers wurden erhalten.

Eine Methoxylbestimmung nach Zeisel ergab folgende Zahlen:

0,6 g Substanz lieferten 0,0820 g AgJ, entsprechend 0,01116 g Methylalkohol. Da unser Produkt 10,73% Wasser und 1,45% Asche enthielt, ergaben sich auf aschenfreie Trockensubstanz 2,12% Methylalkohol.

Da Pektin 11,94% Methylalkohol enthält, berechnet sich der Pektinegehalt unseres Produktes in Form von Protopektin zu 17,76%.

Es wurde nun versucht, aus unserm Äpfelextraktionsrückstande durch verschiedene Reagenzien Pektin herauszulösen und seine Menge mit dem zugleich in Lösung gehenden Calcium zu vergleichen.

10 g des Rückstandes wurden hintereinander mit 150 ccm Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde aufgeköcht, mit 2%iger Essigsäure in der Kälte behandelt, mit 150 ccm 1%iger Salzsäure kurze Zeit stehen gelassen und schließlich mit derselben Menge dieser Säure nahezu zum Kochen erhitzt und gleich wieder abgekühlt. Nach jeder Einwirkung preßte man die Flüssigkeit ab, wusch den Rückstand gehörig aus, klärte die Lösung durch Zentrifugieren und bestimmte darin Calcium und Pektin, letzteres durch Fällen mit angesäuertem Alkohol. Man fand

	Ca	Pektin	Ca auf 100 Teile Pektin
durch siedendes Wasser ausgezogen	0,010	0,440	2,3
" 2 ⁰ / ₀ ige Essigsäure in der Kälte	0,080	0,004	2000
" 1 ⁰ / ₀ ige Salzsäure " " "	0,012	0,069	17,3
" 1 ⁰ / ₀ ige " " " Wärme	0,005	0,014	3,6

Wie wir sehen, ist die Hauptmenge des Calciums in kalter essigsäurelöslicher Form vorhanden. Kalte Essigsäure zersetzt aber Protopektin nicht wesentlich; folglich steht diese Hauptmenge des Calciums mit dem Pektin in keiner Beziehung, sondern ist als irgendein wasserunlösliches Calciumsalz zugegen.

Nach der Essigsäurebehandlung wirkte die kalte Salzsäure in ähnlicher Weise fort und brachte ebenfalls ein Calciumsalz in Lösung. Die Versuche mit Wasser und mit heißer Salzsäure lassen jedoch die Möglichkeit zu, daß doch wenigstens die 2,3 bzw. 3,6⁰/₀ Calcium, die hier gewonnen wurden, an Pektin gebunden sein könnten.

Da es auf keine Weise gelingt, das Protopektin als solches abzuscheiden, sind wir in bezug auf diese Verbindung mehr oder weniger auf Vermutungen angewiesen. Wahrscheinlich haben wir es bei ihrer Umwandlung in Pektin mit einem hydrolytischen Vorgang zu tun. Das Pektin ist möglicherweise als Anhydrid vorhanden oder es ist an irgendeinen andern Körper, vielleicht an Cellulose, gebunden. Beim Erhitzen mit Wasser, noch besser mit Säure, würde eine hydrolytische Spaltung der Verbindung unter Bildung des löslichen Pektins vor sich gehen.

Man könnte an die Existenz eines Glykosids denken. Schon Fremy spricht die Möglichkeit aus, daß beim Übergang des Protopektins in Pektin Zucker gebildet wird.

Um auch diesen Punkt zu prüfen, wurde bei den oben erwähnten Versuchen über die Abspaltung von Pektin und Calcium in der Lösung auch jeweilen der Zucker bestimmt. Durch Erhitzen des Äpfelrückstandes mit Wasser wurde kein reduzierender Zucker gebildet. Ebenso wenig lieferten die kalten Auszüge mit Essigsäure und mit Salzsäure Zucker. Nur bei der Behandlung mit heißer Salzsäure erhielt man, natürlich infolge einer weitergehenden Hydrolyse, 0,048 g Zucker, berechnet als Invertzucker.

Unsere Frage läßt sich also in dem Sinne beantworten, daß bei der Bildung von Pektin aus Protopektin kein reduzierender Zucker abgespalten wird.

2. Pektin.

Unter Pektin verstehen wir die im Saft der Früchte vorkommenden, in Wasser kolloidal löslichen, durch Alkohol fällbaren Körper, die bei der Reife oder durch chemische Eingriffe aus dem Protopektin entstehen und unter gewissen Bedingungen zur Bildung von Fruchtgelees führen.

Zur Gewinnung des Pektins wählten wir verschiedene in der Literatur angegebene Methoden. Zuerst verfahren wir ähnlich wie Braconnot und Fremy, indem wir den möglichst klar filtrierten Fruchtsaft mit dem doppelten Volumen Alkohol fällten. Das Pektin fällt als gallertartige Masse aus und kann durch Filtration durch Leinwand, Auspressen und Trocknen als hornartige oder faserige, mehr oder weniger intensiv gefärbte Masse erhalten werden. Zur weitem Reinigung des sehr mineralstoffreichen Rohproduktes löst man es wieder in Wasser auf, filtriert es nochmals, setzt etwas Salzsäure zu und fällt wieder mit Alkohol.

Diese ursprüngliche Methode ist aus drei Gründen nicht zu empfehlen. Erstens ist die klare Filtration der Fruchtsäfte in vielen Fällen äußerst schwierig, besonders bei gewissen Früchten, wie Johannisbeeren. Man läuft Gefahr, daß sich das Pektin durch bakterielle oder enzymatische Vorgänge verändert, bis die oft tagelang dauernde Filtration beendet ist. Zweitens gelingt es kaum, das Pektin auf diese Weise rein zu erhalten. Neben andern Verunreinigungen haften ihm gefärbte Stoffe an, die nachträglich nicht mehr zu entfernen sind. Drittens gewinnt man auf diese Weise nur das im Saft in freier Form vorhandene Pektin, nicht aber die in der Regel weit größere Menge des im Protopektin vorgebildeten.

Eine andere Darstellungsweise, die auch nicht ganz befriedigte, hingegen interessante Resultate bezüglich der Geleebildung lieferte, ist die Dialyse von Fruchtgelees. Man dialysiert und fällt den filtrierten Dialysatorrückstand mit Alkohol. Auch hier wird mit dem Pektin viel Farbstoff, bzw. die aus

den Gerbstoffen während der Geleebereitung durch Luftoxydation entstandenen Phlobaphene mitgerissen. Natürlich kann die Dialyse in Kombination mit andern Reinigungsmethoden, etwa zur Entfernung von Säuren und Salzen, äußerst wertvolle Dienste leisten. Pektin selbst diffundiert nur sehr wenig durch Membrane.

Das beste bis jetzt bekannte Verfahren der Pektindarstellung aus Früchten ist ohne Zweifel dasjenige von Bourquetot und Hérissé, das darin besteht, daß man alle alkohol-löslichen Bestandteile mit Alkohol extrahiert, wobei gleichzeitig Protopektin in reichlicher Menge in Pektin umgewandelt wird. Dann wird mit Wasser unter Druck erhitzt und die filtrierte Lösung mit Alkohol gefällt.

Die bis vor kurzem bekannten Bausteine des Pektins sind Arabinose und Galaktose. Die Arabinose, die ja von Herzfeld durch Hydrolyse von Pektin erhalten wurde, wäre nach Ehrlich nur in dem Rohpektin vorhanden und zwar nur in Mischung mit dem eigentlichen Pektinkörper. Ohne die genaue Arbeitsweise Ehrlichs zu kennen, läßt es sich nicht sagen, ob das Pektin im bisher gebräuchlichen Sinne diese Gruppe enthält oder nicht. Ich sehe vorläufig keinen zwingenden Grund, an der Angabe Herzfelds zu zweifeln. Die Galaktose als solche wurde erst durch Ehrlich aus Pektin isoliert, während früher auf ihre Gegenwart nur indirekt geschlossen worden war, da Pektin durch Salpetersäure zu Schleimsäure oxydiert wird.

Durch einen solchen indirekten Schluß nehme ich eine Methylpentose im Pektinmolekül an. Bei der Pentosebestimmung nach Tollens erhält man einen Phloroglucidniederschlag, der in Alkohol teilweise mit brauner Farbe löslich ist. Der gelöste Anteil kann nach allen Analogien als ein Methylfurfurophloroglucid angesehen werden. Die Natur der Methylpentose ist gegenwärtig noch nicht bekannt.

Ein weiterer von mir aufgefundener Pektinbaustein ist Methylalkohol. Bei allen unsern aus den verschiedensten Früchten gewonnenen Pektinen ließ sich in großer Menge Methylalkohol nachweisen, wie in der vorhergehenden Arbeit ausgeführt wurde. Dieser Alkohol ist so lose gebunden, daß er bei der Behandlung mit Alkalien selbst in der Kälte in einigen Minuten quantitativ abgespalten wird. Dabei nimmt

das Pektin den Charakter einer Säure an: es geht in Pektinsäure über.

Durch Säuren hingegen wird die Methoxylgruppe nicht so leicht abgetrennt. Es scheint möglich zu sein, durch gelinde Säurebehandlung einen Teil des Methylalkohols zu entfernen und so zu niedriger methoxylierten Pektinen, Zwischenstufen zwischen dem neutralen Pektin und der Pektinsäure, zu gelangen.

Als zuletzt entdeckter Baustein des Pektins ist die d-Galakturonsäure zu nennen.

Um nun zu prüfen, ob wirklich nur Methylalkohol und nicht etwa noch andere Alkohole verestert im Pektin zugegen sind, wurde das Methoxyl nach zwei verschiedenen Methoden bestimmt, erstens nach der gewöhnlichen Zeiselschen und zweitens nach der colorimetrischen Methode nach Denigès. Die Zeiselsche Bestimmung beruht bekanntlich darauf, daß der Methylalkohol in sein Jodid übergeführt, dieses durch alkoholische Silbernitratlösung zersetzt, das ausgeschiedene $\text{AgJ} \cdot \text{AgNO}_3$ durch Wasser gespalten und das AgJ gewogen wird. In analoger Weise reagieren alle Alkohole, die flüchtige Jodide bilden, und werden als Methylalkohol mitbestimmt. Bei Anwesenheit fremder Alkohole müßte demnach die Bestimmung zu hoch ausfallen.

Anders verhält es sich bei dem colorimetrischen Verfahren nach Denigès (siehe vorhergehende Arbeit). Hier werden die Alkohole zu Aldehyden oxydiert und in bestimmter Weise mit fuchsin-schwefliger Säure in Reaktion gebracht. Der Formaldehyd erzeugt dabei eine intensive Blaufärbung; von den andern Alkoholen geben nur Amyl- und Isobutylalkohol ganz minimale Färbungen. Eine Übereinstimmung des Zeiselschen mit dem Denigèsschen Verfahren würde also dafür sprechen, daß nur Methylalkohol zugegen ist.

Ein Johannisbeerpektin mit 9,3⁰/₁₀ Methylalkohol nach Zeisel wurde colorimetrisch geprüft. Als Vergleichslösung wurde eine Lösung reinsten getrockneten Methylalkohols, Marke „Kahlbaum“, verwendet, die 9,3⁰/₁₀ Methylalkohol des Pektins entsprach. Eine völlige Gleichheit der Färbungen zeigte die Übereinstimmung der Methoden. Somit kann neben Methylalkohol kein anderer Alkohol im Pektin verestert zugegen sein.

Darstellung und Analyse von Pektinen verschiedener Herkunft.

Die Analysenwerte sind überall auf aschenfreie Trockensubstanz bezogen.

Pektin aus Johannisbeeren. Das soeben erwähnte Johannisbeerpektin wurde durch Fällen von filtriertem Johannisbeersaft und Umlösen des Koagulums gewonnen. Es enthielt 2,9 % Asche und 9,3 % Methylalkohol.

Bei der Pentosenbestimmung lieferten 0,2721 g der organischen Substanz 0,0965 g Furfurolphloroglucid. Danach würden sich 46,65 % Arabinose berechnen.

Nach Ehrlich liefert d-Galakturonsäure erhebliche Mengen Furfurol. Demnach geben unsere Werte den wirklichen Arabinosegehalt nicht an. Sie mögen lediglich als Vergleichszahlen hier angeführt sein.

Pektin aus Quitten. 1,4 kg Quitten wurden vom Kernhaus befreit und mit 500 ccm Wasser 1 Stunde lang im Autoklav auf 125° erhitzt. Der Saft wurde abgepreßt, durch Papier filtriert und mit Alkohol gefällt. Man erhielt so 5,5 g Rohpektin. Es wurde in Wasser gelöst, die Lösung filtriert, das Filtrat mit 0,6 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt, mit Alkohol gefällt und ausgepreßt. Nun wurde der Niederschlag wieder gelöst, die Lösung durch Kieselguhr filtriert, 2 Tage lang gegen destilliertes Wasser dialysiert und mit Alkohol gefällt, wozu sehr viel Alkohol notwendig war. Die Ausbeute hatte sich bei diesen Reinigungsversuchen auf 3,2 g vermindert. Man trocknete bei 105° bis zu konstantem Gewicht. Dazu waren 10 Stunden erforderlich. Das so gewonnene Pektin war grau gefärbt.

Die Aschenbestimmung ergab 1,6 %.

Die Methoxylbestimmung nach Zeisel gab folgende Zahlen:

0,1978 g Substanz = 0,1480 g AgJ = 10,25 % Methylalkohol
 0,1978 " " = 0,1482 " " = 10,27 % "

Die Pentosenbestimmung ergab folgendes:

0,2952 g Substanz = 0,1050 g Furfurolphloroglucid, woraus
 sich 41,16 % Arabinose berechnen würde,
 0,2952 g Substanz = 0,1092 g Furfurolphloroglucid, woraus
 sich 42,68 % Arabinose berechnen würde.

Pektin aus Äpfeln. Man arbeitete mit einigen Abänderungen nach dem oben skizzierten Verfahren von Bourquetot und Hérissé¹⁾, welches von Bridel²⁾ noch weiter ausgebildet wurde. Der große Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, daß man durch Auslaugen der Früchte mit Alkohol von vornherein gewisse Substanzen entfernt, die dem auf die gewöhnliche Weise gewonnenen Pektin leicht anhaften können, vor allem Farbstoffe, Säuren und wohl noch andere Körper. Dem einmal isolierten Pektin lassen sich diese Verunreinigungen viel schwerer entziehen. Ein weiterer großer Vorteil besteht darin, daß man hier Lösungen bekommt, die besser zu filtrieren sind als die auf die gewöhnliche Weise erhaltenen.

2 kg Äpfel wurden vom Kernhaus befreit und 6 bis 8 mal mit 2 bis 3 Liter Alkohol während 20 Minuten am Rückflußkühler ausgekocht und jedesmal gut ausgepreßt. Man erhielt schließlich 200 g noch alkoholflechtes Material. Es wurde 1 Stunde lang mit 1500 ccm Wasser im Autoklav auf 110° erhitzt und lose durch ein Tuch gepreßt, so daß ca. $\frac{3}{5}$ der Lösung erhalten wurden. Der Rückstand wurde auf Pektinsäure verarbeitet. Das Filtrat wurde weiter filtriert, bis es in der Durchsicht klar war und mit dem doppelten Volumen Alkohol gefällt, dem per Liter 7 ccm konz. Salzsäure zugesetzt worden waren. Man preßte die Gallerte durch ein Tuch, knetete sie mit Alkohol aus, bis die saure Reaktion verschwunden war, kochte sie mit Alkohol aus, wusch mit Äther nach und trocknete. Man erhielt auf diese Weise 5,3 g Pektin in leichten, weißen, wollartigen Flocken.

Beim Verbrennen hinterblieben 0,25% einer eisenhaltigen Asche.

Bei diesem Pektin wurde auch die Elementaranalyse ausgeführt.

0,1800 g Substanz	gaben	0,2870 g CO ₂	und	0,0944 g H ₂ O
		= 43,49%		und 5,88% H,
0,1794 " " "		0,2878 g CO ₂		
		= 43,66%		C,
0,1660 " " "		0,2598 g CO ₂	und	0,0857 g H ₂ O
		= (42,68%		C) und 5,78% H.

¹⁾ Journ. de Pharm. et de Chim. 7, 473, 1898.

²⁾ Journ. de Pharm. et de Chim. 26, 536, 1907.

Die Methoxylbestimmung ergab folgende Zahlen:

0,2992 g Substanz	geben 0,2314 g AgJ	= 10,54 %	Methylalkohol
0,2539 " "	" 0,1970 " "	= 10,54 %	"
0,2315 " "	" 0,1800 " "	= 10,59 %	"

Die Pentosenbestimmung ergab

0,2419 g Furfurophloroglucid, woraus sich = 51,73 % Arabinose berechnen würde.

Pektin aus Steckrüben. Man ging ähnlich vor, wie bei der Darstellung des Äpfelpektins und erhielt auch ein Produkt von ähnlichen Eigenschaften. In der Löslichkeit zeigte sich jedoch ein kleiner Unterschied. Das Pektin aus Rüben war etwas leichter löslich und die Lösung dünnflüssiger. Da das Material hauptsächlich andern Zwecken dienen mußte, fiel hier die Pentosebestimmung weg.

Beim Verbrennen hinterblieben 0,8 % Asche.

Die Methoxylbestimmung ergab folgende Zahlen:

0,2484 g Substanz	lieferten 0,1625 g AgJ	= 8,9 %	Methylalkohol.
-------------------	------------------------	---------	----------------

Pektin aus Orangen. 2,3 kg Orangen wurden in gleicher Weise wie die Äpfel mit Alkohol extrahiert und im Autoklav mit Wasser erhitzt. Die Masse wurde abgepreßt, die Lösung durch Kieselguhr klar filtriert und mit Alkohol in bekannter Weise gefällt. Man erhielt auf diese Weise 17 g eines weißen, faserigen Pektins, das wir mit Nr. I bezeichnen wollen.

Der Preßrückstand nach dem Ausziehen im Autoklaven wurde nun noch mehrmals mit heißem Wasser angeteigt und ausgepreßt. Die Lösung gab nach dem Filtrieren durch Kieselguhr und Fällen mit Alkohol noch 12,5 g eines ebenfalls weißen und dem Aussehen nach reinen Pektins, das wir mit Nr. II bezeichnen.

Es fragte sich nun, ob diese äußerlich sehr ähnlichen Körper chemisch identisch seien.

Die Analyse des Pektins I ergab folgende Zahlen:

Der Aschengehalt betrug 0,2 %.

Die Methoxylbestimmung ergab:

0,2495 g Substanz	lieferten 0,2095 g AgJ	= 11,44 %	Methylalkohol,
0,2134 g Substanz	lieferten 0,1851 g AgJ	= 11,76 %	Methylalkohol.

Die Pentosenbestimmung ergab:

0,2749 g Substanz lieferten 0,1048 g Phloroglucid.

Davon mit Alkohol extrahierbar 0,0060 g Methylfurfuroolphloroglucid.

Daraus würden sich berechnen:

0,1126 g Arabinose oder 41,0% Arabinose
und 0,0185 g Methylpentose oder 6,7% Methylpentose.

Da die Natur der Methylpentose unbekannt ist, wurde bei der Berechnung der Mittelwert zwischen Fukose und Rhamnose verwendet.

Es wurde nun noch eine Bestimmung des Galaktoserestes versucht, indem man je 0,5 g Milchzucker und Pektin in möglichst genau gleicher Weise in Schleimsäure überführte, diese über das Ammoniumsalz reinigte und wog. Beide Schleimsäureproben schmolzen bei 215° (unkorr.) und zersetzten sich bei 218°, waren somit rein.

0,5 g Milchzucker = 0,25 g Galaktose gaben
0,1484 g Schleimsäure,
0,5 g Pektin I gaben 0,1626 g Schleimsäure.

Unter der Annahme, daß die Galaktose des Pektins in gleicher Ausbeute Schleimsäure gebildet hat, wie die Galaktose des Milchzuckers, läßt sich ein Galaktosegehalt des Pektins von 54,8% berechnen.

Aber auch dieser Wert ist wie derjenige der Pentose unrichtig, da nach Ehrlich ein Teil der Schleimsäure aus Galakturonsäure stammt.

Die Analyse des Pektins II ergab:

Der Aschengehalt betrug 1,4%.

Die Methoxylbestimmung lieferte folgende Zahlen:

0,2067 g Substanz lieferten 0,1125 g AJ = 7,41%
0,1978 " " " " 0,1090 " " = 7,51%.

Die Pentosenbestimmung ergab folgendes:

0,2722 g Substanz gaben 0,0906 g Phloroglucid.

Davon mit Alkohol extrahierbar

0,0090 g Methylfurfuroolphloroglucid.

Daraus würden sich berechnen

0,0958 g Arabinose oder 35,2% Arabinose
und 0,0244 g Methylpentose oder 8,9% Methylpentose.

Es lassen sich also deutliche Unterschiede zwischen Pektin I und II feststellen, hauptsächlich im Methoxylgehalt. Daß es sich nicht etwa um eine Mischung von Pektin mit Pektinsäure handelt, läßt sich leicht beweisen. Reaktionen der Pektinsäure, wie Bildung eines flockigen Niederschlages beim Erhitzen mit Calciumcarbonat, Fällung durch basische Farbstoffe in Form von voluminösen Flocken, traten nicht im geringsten ein, obgleich sie bei künstlichen Mischungen von Pektin und Pektinsäure zu konstatieren waren. Fehlingsche Lösung wurde durch Pektin II so wenig reduziert wie durch Pektin I.

Im Pektin II scheint also ein von I verschiedenes Pektin vorzuliegen. Man kann sich nun die Frage stellen, ob überhaupt unser Pektin I ein einheitlicher Körper ist. Es wurde untersucht, ob es sich vielleicht durch Umlösen in weitere zwei Komponenten trennen lasse. 6 g davon wurden in 300 ccm Wasser gelöst und mit so viel Alkohol versetzt, daß gerade eine Fällung entstand. Wegen der Reinheit des Pektins bzw. wegen der Abwesenheit von Elektrolyten mußte mit dem Filtrieren einige Stunden gewartet werden, bis sich der Niederschlag genügend zusammengeballt hatte. Man erhielt 4,2 g Pektin (= 70^o/_o der angewandten Menge), das wir mit Ia bezeichnen wollen. Aus dem Filtrat ließen sich durch weitem Alkoholzusatz noch 0,4 g (= 7^o/_o) eines Pektins Ib niederschlagen. Der Verlust betrug 23^o/_o.

Die Analyse von Pektin Ia ergab:

Die Methoxylbestimmung lieferte folgende Zahlen:
0,2030 g Substanz gaben 0,1688 g AgJ
= 11,33 g Methylalkohol.

Die Pentosebestimmung ergab:

0,3432 g Substanz lieferten 0,1202 g Phloroglucid.
Davon mit Alkohol extrahierbar
0,0126 g Methylfurfurolphloroglucid.

Daraus würden sich

0,1353 g Arabinose oder 39,4^o/_o Arabinose
und 0,0318 g Methylpentose oder 9,2^o/_o Methylpentose
berechnen.

Die Analyse von Pektin Ib ergab folgendes:

Die Methoxylbestimmung ergab:
0,1507 g Substanz gaben 0,1140 g AgJ
= 10,31^o/_o Methylalkohol.

Die Pentosenbestimmung ergab:

0,2237 g Substanz gaben 0,0848 g Phloroglucid.

Davon mit Alkohol extrahierbar

0,0085 g Methylfurfuroolphloroglucid.

Daraus würden sich

0,0900 g Arabinose oder 40,2% Arabinose
oder 0,00234 g Methylpentose oder 10,4% Methylpentose
berechnen.

Wie aus diesen Zahlen ersichtlich, unterscheidet sich das Pektin Ia von Ib nicht deutlich durch den Methoxylgehalt, wohl aber durch einen etwas niedrigeren Pentosen- und einen etwas höhern Methylpentosengehalt, obgleich hier die Fehlergrenze der Methode mit zur Verschärfung des Unterschiedes beitragen könnte. Jedenfalls scheint es nach unserm Versuche, daß man nahezu am Ende der Reinigung angelangt ist. Dies läßt auch einen günstigen Rückschluß auf die Reinheit der andern nach der Methode von Bourquelot und Hérisséj gewonnenen Pektine ziehen.

Ich nahm früher an, daß im Pektinmolekül Arabinose, Methylpentose und ferner eine durch Methylalkohol veresterte, der Galaktose entsprechende Säure vorhanden sei, bei der entweder die CHO- oder die CH₂OH-Gruppe der Galaktose durch Carboxyl ersetzt sei, und daß sowohl die Zucker- als auch die Säuremoleküle unter Wasseraustritt miteinander verknüpft seien. Die wertvollen Untersuchungen von Ehrlich belehren uns, daß es die CH₂OH-Gruppe der Galaktose ist, die oxydiert ist. Ferner zeigen uns diese Untersuchungen daß aus dem durch Salzsäure abspaltbaren Furfurol nicht unbedingt auf Pentose geschlossen zu werden braucht, bzw. daß der berechnete Pentosegehalt durch die Anwesenheit der Galakturonsäure viel zu hoch gefunden wird.

Unter diesen neuen Gesichtspunkten möchte ich nun eine ungefähre Formel für Pektin und Pektinsäure aufstellen, die ich durch meine bereits früher ausgeführten Analysen stützen werde.

Ich nehme im Pektin die Verkupplung von 2 Molekülen Arabinose, 1 Molekül einer Methylpentose, 1 Molekül Galaktose und 8 Molekülen Galakturonsäuremethylester unter Austritt von 10 Molekülen Wasser an. Die Überlegung würde

zwar bei dem Zusammentritt der 12 Moleküle den Austritt von 12 Molekülen Wasser erwarten lassen. 2 Moleküle Wasser sind somit irgendwie als Konstitutionswasser gebunden. Wir erhalten, indem wir die Zucker- und Estergruppen als Anhydride schreiben, für Pektin die Formel $(C_5H_8O_4)_2(C_6H_{10}O_5)_2 C_5H_7O_4-COOCH_3)_8, 2 H_2O$ oder $C_{62}H_{96}O_{52}(COOCH_3)_8$ oder die Bruttoformel $C_{78}H_{120}O_{68}$.

Diese Formel entspricht dem neutralen Pektin, dem Oktomethoxypektin. Davon leiten sich eine Reihe weiterer Pektine mit niedrigerem Methoxylgehalt ab, die an Stelle des Methoxyls freie Carboxylgruppen enthalten. Das vollständig entmethoxylierte Pektin ist die Pektinsäure mit 8 Carboxylgruppen.

Man kann die Pektinformel auch allgemein schreiben: $C_{62}H_{96}O_{52}(COOCH_3)_n(COOH)_{8-n}$, wobei n alle Werte von 0 bis 8 annehmen kann.

Für die 4 höchst methoxylierten Pektine berechnen sich folgende Methylalkoholgehalte:

Oktomethoxypektin . . .	11,94%	Methylalkohol
Heptamethoxypektin . . .	10,50%	"
Hexamethoxypektin . . .	9,07%	"
Pentamethoxypektin . . .	7,61%	"

Die Zusammenstellung unserer Analysenzahlen mit den berechneten Werten ergibt folgendes:

Berechnet für Oktomethoxypektin:	Gefunden für Pektin aus:								
	Johannis- beeren	Quitten	Äpfel	Orangen				Steck- rüben	
				I	Ia	Ib	II		
Asche	—	2,9	1,6	0,25	0,2	—	—	1,4	0,8
C	43,65	—	—	43,58	—	—	—	—	—
H	5,60	—	—	5,83	—	—	—	—	—
Furfurolbildung als Arabi- nose berechnet	14,0	46,7	41,9	45,7	41,0	39,4	40,2	35,2	—
Methylpentose	8,4	—	—	—	6,7	9,2	10,2	8,9	—
Schleimsäurebildner, als Galaktose berechnet . .	75,6	—	—	—	—	—	54,8	—	—
Methylalkohol	11,94	9,3	10,26	10,57	11,60	11,33	10,31	7,46	8,90

Daß die Arabinose bedeutend zu hoch gefunden werden mußte, ergibt sich aus dem oben Gesagten. Für die Oxydation

zu Schleimsäure stand uns keine Vorschrift zur Verfügung. Daraus erklärt sich wohl die zu geringe Ausbeute.

Die Elementaranalyse stimmt befriedigend mit der Theorie; auch auf die Formel des Heptamethoxypektins würde sie genügend stimmen.

Vergleichen wir die gefundenen Methoxylgehalte mit den berechneten, so ergibt sich, daß unser Orangenpektin I und Ia als nahezu neutrales Oktomethoxypektin anzusprechen ist. Im Äpfel und Quittenpektin und im Orangenpektin Ib haben wir Vertreter des Hepta-, im Johannisbeer- und Steckrübenpektin des Hexa- und im Orangenpektin II des Pentamethoxypektins.

Je mehr Methoxylgruppen abgespalten werden, desto mehr nimmt die Viscosität der Pektinlösungen ab. Steckrüben- und Orangenpektin II sind bedeutend dünnflüssiger als Äpfelpektin oder gar als Orangenpektin I. Gleichzeitig werden die Pektine aber auch schwerer löslich. Wir haben gesehen, daß das Orangenpektin II mit dem niedrigsten Methoxylgehalt erst aus dem Rückstande der Extraktion von Pektin I isoliert wurde. Am dünnflüssigsten und am schwersten löslich ist die Pektinsäure. Parapektin, Metapektin und Pektosinsäure der älteren Autoren sehe ich als verschieden hoch methoxylierte Pektine an.

Wir möchten unsere Pektinformel nicht als definitiv ansehen. Es ist auch nicht gesagt, daß alle Pektine genau gleich zusammengesetzt sind. Es mögen gelegentlich Unterschiede in der Art der in das Molekül eintretenden Zuckergruppen vorhanden sein. Unsere Analysen deuten zum Teil bereits darauf hin. Es scheint auch, daß das Rübenpektin vom Fruchtpektin etwas verschieden ist. Die sich davon ableitende Pektinsäure ist etwas leichter löslich als die Pektinsäure des Fruchtpektins.

Physikalische Eigenschaften des Pektins.

Pektin ist ein reversibles Kolloid. Beim Übergießen mit Wasser quillt es darin auf, es bilden sich kleisterartige Knollen und schließlich tritt, am besten in der Wärme, vollständige Lösung ein. Man erhält eine opaleszierende, in der Durchsicht klare, in der Aufsicht trübe Lösung, die im Ultramikroskop

zahlreiche, in lebhafter Bewegung befindliche Teilchen von verschiedenen, meist kleinen Dimensionen erkennen läßt. Wird die Lösung mit Alkohol versetzt, so wird das Pektin in der Regel ausgefällt, und zwar aus konzentrierten Lösungen als Gallerte, aus verdünnten als flockige Masse. Bei äußerst reinem Pektin kann die Koagulation auch ausbleiben. Bei der ultramikroskopischen Betrachtung der Gallerte sieht man Schlieren und Fetzen, die aus lauter zusammenhängenden Submikronen bestehen. Die Brownsche Bewegung hat aufgehört.

Außer Alkohol wirken noch einige Metallsalze koagulierend auf Pektin unter Bildung von Gallerten. Die aus Äpfeln, Quitten und Steckrüben gewonnenen Pektine wurden in dieser Hinsicht genauer untersucht. Alle drei Körper werden gefällt durch CuSO_4 , PbNO_3 , basisches und neutrales Bleiacetat. Rüben- und Quittenpektin wurden ferner gefällt durch FeCl_3 , während eine frisch bereitete Lösung von Äpfelpektin beim Versetzen mit diesem Reagens klar blieb. Als der Versuch aber mit der einige Stunden gestandenen Lösung wiederholt wurde, trat auch hier Koagulation ein. Zinnchlorür erzeugte bei Verwendung frischer Lösungen nur mit Rübenpektin eine Fällung. Die einige Stunden gestandene Quittenpektinlösung gab aber mit demselben Salz ebenfalls einen schönen Niederschlag.

Neutrales Bleiacetat koaguliert wohl frische Lösungen von mehrere Monate altem Pektin, nicht aber in allen Fällen frisch aus den Früchten gewonnenes Pektin. Das frisch gewonnene Pektin wird oft nicht durch neutrales, sondern erst durch basisches Bleiacetat niedergeschlagen. Früher unterschied man direkt zwischen Pektin, das durch Bleizucker nicht gefällt wird und dem isomeren Parapektin, bei dem Koagulation eintritt. Fremy nahm eine allmähliche chemische Umwandlung des Pektins in isomere Modifikationen an. Diese Umwandlungsstufen sind offenbar Pektine mit allmählich abnehmendem Methoxylgehalt. Je mehr Methoxylgruppen abgespalten, je mehr Säuregruppen im Pektinmolekül vorhanden sind, desto leichter tritt Koagulation mit Metallsalzen ein. Wie wir später sehen werden, wird Pektinsäure, das vollständig entmethoxylierte Pektin, durch sehr viele Metallsalze gefällt, welche die Pektine nicht koagulieren.

Pektin wird nicht koaguliert durch folgende Metallsalze:

AgNO_3 , HgCl_2 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, NiSO_4 , FeSO_4 , CdCl_2 , ZnSO_4 , MnCl_2 , CaCl_2 , SrCl_2 , BaCl_2 ; ebenfalls nicht durch die Salze der Alkalien. Die Koagulationen mit den obengenannten Metallsalzen sind reversibel; bei geringem Säurezusatz lösen sie sich auf. Aber auch Ammoniak kann die Lösung herbeiführen. Wird zu der durch CuSO_4 erzeugten Fällung etwas Ammoniak zugesetzt, so löst sie sich, indem das Kupfer das bekannte blaue komplexe Salz bildet. Wird zu der Fällung, die mit FeCl_3 entsteht, Ammoniak zugefügt, so sollte man erwarten, daß der Niederschlag nicht nur bestehen bleibe, sondern daß auch das überschüssige Eisen als Hydroxyd gefällt werde. Dies ist aber nur der Fall, wenn viel überschüssiges Eisenchlorid zugesetzt worden ist. Bei geringem Überschuß tritt glatte Lösung ein. Das entstehende Eisenhydroxyd bleibt in kolloidaler Lösung, indem das Pektin als Schutzkolloid wirkt. Beim Ammoniakalischmachen des Bleinitratkoagulums treten andere Erscheinungen auf. Es bildet sich schwer lösliches basisches Bleinitrat. Dieser gewöhnlich kristalloide Körper hat in unserm Falle gelatinöse Beschaffenheit und hält das Pektin zurück.

Nach der ältern Auffassung sind die Niederschläge von Pektin mit Metallsalzen Salze des Pektins, sogenannte Pektinate. Man gab sich Mühe, diese Niederschläge zu analysieren, erhielt aber recht wechselnde Resultate, was durchaus verständlich ist, da eben die Anzahl der Säuregruppen im Molekül nicht konstant ist. Man kann die Fällungen auch als Elektrolytkoagulationen auffassen. Ganz analog den Elektrolytkoagulationen kolloidaler Körper bleibt eine Pektinlösung bei vorsichtigem Zusatz sehr geringer Mengen von Metallsalz klar. Erst wenn ein gewisser Grenzwert, der Schwellenwert Bodländers, überschritten ist, tritt Koagulation der ganzen Masse ein.

Die koagulierenden Salze sind alles Salze schwacher Basen. Sie sind als solche teilweise hydrolysiert und enthalten somit etwas freie Säure und freies Metallhydroxyd. Man kann sich nun denken, daß das freie Hydroxyd mit dem Pektin unter Salzbildung zusammentritt, so daß gegenseitige Ausfällung erfolgt. Die Verbindung ist jedenfalls sehr lose, da sie durch jedes Agens, welches das Metallhydroxyd angreift, durch Säuren und Ammoniak, gespalten wird.

Pektin wird nicht gefällt durch Gerbsäure, noch durch Eiweiß, noch durch saure oder basische Farbstoffe.

Anders als gegenüber Metallsalzen verhält sich Pektin gegenüber den Hydroxyden der alkalischen Erden. Wird eine Pektinlösung mit Kalk- oder Barytwasser versetzt, so entsteht eine Gallerte, die äußerlich genau aussieht wie die mit Metallsalzen erhaltenen Fällungen. Fügt man nun aber etwas Mineralsäure hinzu, so löst sich die Gallerte nicht, sondern sie wandelt sich in einen andern ebenfalls gallertigen Niederschlag um. Das Pektin ist durch die Hydroxylionen in Pektinsäure übergeführt worden; pektinsaures Calcium bzw. Barium ist ausgefallen. Durch Säuren entsteht daraus die fast unlösliche Pektinsäure.

Pektin ist, wie bereits ausgeführt, ein Methylester der Pektinsäure. Durch Verseifung entsteht daraus Pektinsäure. Die Verseifung geht äußerst leicht vor sich. Bereits in der Kälte wird der Methylalkohol durch etwas überschüssige Natronlauge innert wenigen Minuten quantitativ abgespalten. In der Hitze geht die Abspaltung mit einer Spur mehr als der theoretischen Menge momentan vor sich. Folgende Versuche zeigen dies.

Eine 0,5%ige Lösung von Quittenpektin wurde verwendet. Der Methylalkoholgehalt dieses Pektins wurde nach Zeisel zu 10,05% gefunden. Eine in bezug auf den Methylalkoholgehalt normale Pektinlösung, entsprechend 32 g Methylalkohol im Liter, enthält demnach $\frac{100,32}{10,05} = 318,4$ g Pektin im Liter. Somit entspricht 1 g Pektin $\frac{1000}{318} = 3,14$ ccm n-NaOH.

Von unserer 0,5%igen Pektinlösung verbrauchen je 5 ccm theoretisch 0,0785 ccm n-Natronlauge.

Die Versuche wurden so durchgeführt, daß je 5 ccm der Pektinlösung mit der gewünschten Menge Natronlauge eine bestimmte Zeit lang in Reaktion gebracht wurden. Dann wurde mit n-Salzsäure eben angesäuert, mit 5 ccm Wasser verdünnt und destilliert. Die ersten 4 ccm, die übergingen, enthielten den gesamten in Freiheit gesetzten Methylalkohol. Er wurde nach Denigès (siehe vorhergehende Arbeit) nachgewiesen. Mit den nächsten 4 ccm wurde die Reaktion zur Kontrolle eben-

falls ausgeführt, aber stets mit negativem Erfolge. Der Destillationsrückstand enthielt eventuell noch unverändertes Pektin. Er wurde mit 5 ccm Wasser und 1 ccm n-Natronlauge versetzt und destilliert. Mit dem Destillat wurde die Reaktion vorgenommen. Eintritt der Rotfärbung zeigte an, daß durch die ursprüngliche Verseifung nicht aller Methylalkohol abgespalten worden war.

Folgende Versuche wurden unternommen:

1. 5 ccm Pektinlösung werden mit Hilfe einer in Hundertstel ccm eingeteilten Pipette mit 0,08 ccm n-Natronlauge (theoretisch 0,0785) einmal aufgekocht. Die Lösung reagiert schwach alkalisch. Der Methylalkohol ist quantitativ abgespalten worden. Nur das erste Destillat gibt eine, und zwar eine recht kräftige Reaktion, der Rückstand erweist sich als frei von Methoxyl.

2. 5 ccm Pektinlösung werden mit 0,16 ccm n-Natronlauge (der doppelten theoretischen Menge) versetzt und 1 Minute stehen gelassen. Alsdann wird neutralisiert und die Reaktion vorgenommen. Es zeigte sich, daß ziemlich genau die Hälfte des Methylalkohols abgespalten worden ist.

3. Die Pektinlösung wird mit derselben Menge Natronlauge 2 Minuten stehen gelassen. 85 bis 90% des Pektins sind verseift worden, 10 bis 15% sind unverändert geblieben.

4. Die Pektinlösung wird mit derselben Menge Natronlauge 5 Minuten stehen gelassen. Diesmal ist die Verseifung eine vollständige.

5. 5 ccm Pektinlösung werden mit 0,31 ccm n-Natronlauge (der 4fachen theoretischen Menge) versetzt und 2 Minuten einwirken gelassen. Auch hier ist der Methylalkohol vollständig abgespalten worden.

In 0,5%igen Lösungen läßt sich Pektin somit quantitativ in Pektinsäure überführen durch Aufkochen mit wenig mehr als der theoretischen Menge Natronlauge, durch 5 Minuten lange Einwirkung der doppelten oder durch 2 Minuten lange Einwirkung der 4fachen theoretischen Menge Natronlauge.

Es ist in der Literatur öfters beschrieben worden, daß Pektin durch ein Enzym, die Pektase, die in Früchten hauptsächlich in unlöslicher, in Rüben in löslicher Form vorliegt, koaguliert, also in Pektinsäure übergeführt werde.

Es wurden nun einige Versuche unternommen, um festzustellen, daß auch diese Koagulation, wie die durch Natronlauge und nachherigen Säurezusatz bewirkte, nichts anderes ist, als eine Methylalkoholabspaltung.

Steckrübensaft wurde mit Alkohol gefällt, der Niederschlag ausgepreßt und bei 37° getrocknet. Eine kleine Menge dieser rohen Pektase (pektasehaltiges Pektin) wurde zu einem aufgekochten Birnensaft zugesetzt. Am nächsten Tage war Koagulation eingetreten, und im Destillat ließ sich durch eine starke Reaktion nach Denigès Methylalkohol nachweisen.

In einem nicht erhitzten Teile des Saftes ohne Pektasezusatz war dasselbe eingetreten, wenn schon in schwächerem Grade, während der erhitze, aber nicht mit Pektase versetzte Saft auch nach mehrtägigem Stehen keine Spur von Methylalkohol enthielt. Der Versuch hatte somit den Erwartungen vollständig entsprochen.

Einige Äpfel wurden mit Paraffin überzogen und mehrere Tage bei 35° aufbewahrt. Dabei wurden sie im Innern braun. Man preßte nun den Saft aus und destillierte ihn. Auch hier war Methylalkohol entstanden.

Einige Äpfel wurden in toluolhaltigem Wasser bei 35° einige Tage aufbewahrt, bis sie braun gefärbt waren. Sowohl das Wasser, wie das Innere der Äpfel enthielt Methylalkohol.

Es zeigte sich überhaupt, daß Obst, das sich in beginnender oder fortgeschrittener Fäulnis befindet, das morsch ist, stets Methylalkohol enthält.

Einige durch die ganze Masse faule Äpfel wurden ausgepreßt. Der geklärte Saft war methylalkoholhaltig und gab beim Versetzen mit Alkohol eine ziemlich starke Fällung von Pektin. Pektinsäure hingegen enthielt er nicht, was daraus hervorging, daß er beim Versetzen mit etwas Salzsäure klar blieb. Der Preßrückstand hingegen enthielt viel Pektinsäure. Durch Ammoniak wurde sie herausgelöst und nach dem Filtrieren mit Salzsäure als Gallerte gefällt. Um nun zu prüfen, ob noch Protopektin zugegen sei, wurde der Preßrückstand mit Wasser erschöpft und mit Natronlauge erwärmt. Es ging keine weitere Pektinsäure mehr in Lösung, das Filtrat gab mit Säure keine Fällung mehr. Folglich ist auch kein Protopektin mehr in den faulen Äpfeln vorhanden, denn wie erinnerlich,

wird dieser Körper durch Natronlauge mit Leichtigkeit in Pektinsäure übergeführt, verdünntes Ammoniak hingegen greift ihn in der Kälte kaum an.

Während also frisches Obst hauptsächlich Protopektin, daneben etwas Pektin und gar keine Pektinsäure, also auch keinen Methylalkohol enthält, so ist im faulen Obst das Protopektin vollständig verschwunden; Pektin ist noch vorhanden, Pektinsäure und Methylalkohol sind in reichlicher Menge entstanden.

Nach Ehrlich soll bei der Umwandlung seiner Pektinsäure in d-Tetragalakturonsäure neben Methylalkohol auch Galaktose abgespalten werden. Um diesen Punkt nachzuprüfen, wurde eine Lösung von 0,2 g Pektin (Orangenpektin Ia) mit 2 ccm gesättigter Barytlauge, einem geringen Überschuß, versetzt und gehörig umgerührt. Dabei wird das Pektin verseift, und es entsteht eine Gallerte von pektinsaurem Barium. Man preßte die Lösung nach einiger Zeit durch Leinwand und knetete den Rückstand wiederholt mit wenig Wasser aus. Das 30 ccm betragende Filtrat wurde mit n/10 Schwefelsäure gegen Phenolphthalein neutralisiert, wozu einige Tropfen nötig waren, und zentrifugiert. 25 ccm der klaren Lösung wurden mit 50 ccm Fehlingscher Lösung und 25 ccm Wasser 2 Minuten lang gekocht. Es entstand nicht die geringste Reduktion. Auch nach längerem Stehen war keine Spur eines Kupferoxydulniederschlages sichtbar.

Um nun zu versuchen, ob die Abspaltung von Galaktose vielleicht bei Verwendung sehr starker Natronlauge vor sich gehe, versetzte ich eine sehr konzentrierte, etwas angewärmte Pektinlösung mit dem gleichen Volumen 10⁰/₀iger Natronlauge, neutralisierte nach kurzer Zeit mit 25⁰/₀iger Salzsäure, filtrierte ab und prüfte das Filtrat mit Fehlingscher Lösung. Auch hier war keine Reduktion sichtbar.

Diese beiden Versuche bestätigen meine Ansicht, daß bei dem Übergang meines Pektins in Pektinsäure keine Galaktose, sondern nur Methylalkohol abgespalten wird.

3. Pektinsäure.

Die Formel der Pektinsäure ergibt sich nach der Gleichung:

$$\begin{aligned} \text{C}_{62}\text{H}_{96}\text{O}_{52}(\text{COOCH}_3)_8 + 8\text{H}_2\text{O} &= \text{C}_{62}\text{H}_{96}\text{O}_{52}(\text{COOH})_8 + 8\text{CH}_3\text{OH} \\ &= \text{C}_{70}\text{H}_{104}\text{O}_{68}. \end{aligned}$$

Zur Darstellung der Pektinsäure empfiehlt sich die Verwendung einer größeren Menge Natronlauge. Je 100 ccm 0,5 bis 1^o/_oige Lösungen von Pektin werden mit 5 ccm 10^o/_oiger Natronlauge 2 Minuten stehen gelassen. Dann säuert man mit Salzsäure an, filtriert die ausgeschiedene Gallerte durch ein Tuch, preßt so gut wie möglich aus, wäscht mehrmals mit Alkohol aus, bis die saure Reaktion verschwunden ist. Nun wird mit Äther gewaschen und getrocknet.

Es wurden auch Versuche gemacht, die Pektinsäure direkt aus den Früchten herzustellen, indem man die bei der Gewinnung des Äpfelpektins (siehe oben) mit Alkohol extrahierten und mit Wasser im Autoklaven erhitzten Äpfel nach dem Abpressen mit Natronlauge behandelte. Dadurch geht nicht nur das Pektin, sondern auch das noch vorhandene Protopektin in Pektinsäure über. Man preßte aus, filtrierte und fällte das Filtrat mit Säure, wobei die Pektinsäure als Gallerte ausfiel. Diese vereinfachte Darstellungsweise gibt aber kein reines Pektin. Es läßt sich nur mit Schwierigkeiten durch Lösen in viel heißem Wasser und Fällen mit Säure und Alkohol reinigen. Besser geht man also vom reinen Pektin aus.

Die Pektinsäure treibt die Kohlensäure aus ihren Salzen aus. Der Übergang von Pektin in Pektinsäure wurde folgendermaßen quantitativ zu verfolgen versucht.

Etwas Äpfelpektin wurde in Wasser gelöst, mit einer bestimmten Menge Natronlauge versetzt und nach kurzer Zeit genau mit der austitrierten Menge Salzsäure neutralisiert, eingedampft und im Glycerintrockenschrank bei 103^o bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Daneben wurde eine der verwendeten Menge entsprechende Menge Natronlauge und Salzsäure ebenfalls eingedampft und getrocknet. Die Differenz des Pektinsäure-Trockenrückstandes vom Salzsäurerückstand gab die Pektinsäuremenge an, die aus dem Pektin entstanden war.

0,2484 g Pektin aus Äpfeln gaben 0,3354 g Rückstand.

Der Kochsalzrückstand betrug . . . 0,0990 g.

Somit sind entstanden 0,2364 g Pektinsäure
= 95,17^o/_o.

Die Gewichtsverminderung beträgt demnach 4,83^o/_o.

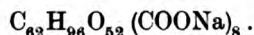
Die Berechnung ergibt beim neutralen Oktomethoxypektin 5,22^o/_o.

Wir sehen aber unser Äpfelpektin als Heptamethoxypektin an; dafür berechnet sich eine Abnahme von 4,60%, womit der gefundene Wert genügend übereinstimmt.

Salze der Pektinsäure.

Die Pektate der Alkalien sind in Wasser leicht löslich. Durch überschüssige Lauge oder durch Alkalisalze können sie ausgefällt werden. Man erhält sie durch Lösen der Pektinsäure in Alkalien oder durch Verseifen von Pektin mit Alkalien. Die übrigen neutralen Pektate lassen sich gewinnen durch Fällen der Alkalipektate mit Metallsalzen, die Pektate der alkalischen Erden auch durch Fällen von Pektinsäure oder durch Verseifung von Pektin mit den Hydroxyden. Saure Pektate entstehen bei der Fällung von Pektinsäure mit Metallsalzen.

Natriumpektat:



Bei der Neutralisation von Pektinsäure unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator wurde folgender Verbrauch an Natronlauge festgestellt:

Ber. für 1 g Pektinsäure = 3,91 ccm n-NaOH.

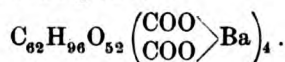
Gef. für Äpfelpektinsäure = 4,3 ccm n-NaOH.

Orangenpektinsäure = 4,6 ccm n-NaOH.

Man verbraucht also wesentlich mehr Natronlauge, als die Theorie verlangt. Ich halte es für wahrscheinlich, daß meine Pektinsäuren trotz gründlichen Auswaschens eine gewisse Menge Salzsäure zurückgehalten haben, wie das ja bei kolloidalen Körpern leicht der Fall ist. Folgender Versuch scheint hierfür zu sprechen:

Nach der Titration von 0,25 g Orangenpektinsäure wurde die Lösung eingedampft, bei 103° getrocknet und gewogen. Man erhielt 0,2876 g Natriumsalz oder aus 100 Teilen Pektinsäure 115,04 Teile Natriumpektat. Unsere Formel verlangt 108,6% Ausbeute. Wenn wir den Überschuß an verbrauchter Natronlauge, 4,6 — 3,91 = 0,69 ccm, in Natriumchlorid umrechnen, so erhalten wir 4,04% NaCl. Addieren wir dies zum theoretischen Wert, so erhalten wir 112,6%, was sich dem gefundenen Wert von 115% ziemlich nähert.

Neutrales Bariumpektat:



Das Salz wurde auf zwei verschiedene Arten gewonnen.

1. 0,1 g Pektinsäure aus Steckrüben, gelöst in 40 ccm Wasser, wurde mit einem Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt und mit verdünntem Barytwasser im Überschuß gefällt. Jeder Tropfen erzeugte gleich eine kleine Gallerte. Der Niederschlag wurde durch Leinwand filtriert, gut ausgepreßt und mit ausgekochtem Wasser so lange ausgewaschen, bis das Filtrat keine Bariumreaktion mehr gab. Darauf trocknete man im Wasserbadrockenschrank.

2. 40 ccm 0,5⁰/₀ige Pektinsäurelösung wurden mit kohlensäurefreiem, sehr verdünntem Ammoniak unter Zusatz von Phenolphthalein sorgfältig neutralisiert und mit überschüssiger Bariumchloridlösung versetzt. Auch hier erzeugte jeder Tropfen eine Gallerte. Die Verarbeitung geschah genau wie bei 1.

Die Bariumbestimmungen ergaben folgende Zahlen:

1. 0,0954 g Substanz lieferten 0,0316 g BaCO ₃ .	
2. 0,1053 g " " " 0,0342 g "	
Ber. 21,36 ⁰ / ₀ Ba.	Gef. 1. 23,0 ⁰ / ₀ Ba,
	2. 22,5 ⁰ / ₀ Ba.

Sauerer Bariumpektat:

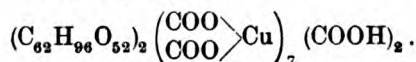


Eine Pektinsäurelösung wurde, ohne sie zu neutralisieren, mit überschüssiger Bariumchloridlösung versetzt. Der Niederschlag hatte nicht dasselbe Aussehen wie das neutrale Bariumpektat. Während jenes durchscheinend gallertig war und nach dem Trocknen faserige Struktur annahm, erhielt man hier ein weißliches weniger zusammenhängendes Koagulum, nach dem Trocknen eine harte, hornartige Masse.

0,0889 g Substanz lieferten 0,0173 g BaCO₃.

 Ber. 11,94⁰/₀ Ba. Gef. 12,6⁰/₀ Ba.

Sauerer Kupferpektat:



Durch Fällen von Pektinsäure mit überschüssiger Kupfersulfatlösung erhält man ein Salz, das viel weniger sauer ist als das entsprechend hergestellte saure Bariumpektat. Die Säuregruppen sind hier nicht zur Hälfte abgesättigt, sondern nur zu $\frac{7}{8}$. Wir müssen deshalb die Formel verdoppeln. Man findet:

Ber. 9,90% Cu. Gef. 9,78% Cu.

Physikalische Eigenschaften der Pektinsäure.

Die Pektinsäure ist in reinem Zustande ein weißes Pulver. Sie wird in der Literatur bald als löslich, bald als unlöslich bezeichnet. In reinem Zustande ist sie ziemlich löslich. Es bereitet z. B. keinerlei Schwierigkeiten, durch Aufkochen von Pektinsäure aus Steckrüben mit Wasser 1%ige Lösungen zu erhalten. Schwieriger löslich sind die Pektinsäuren aus Äpfeln und Orangen. Die Löslichkeit wird sehr beeinflußt durch schon geringe Mengen von Verunreinigungen, besonders von Elektrolyten.

Die Lösungen der Pektinsäure opalescieren bedeutend weniger als diejenigen der höher methoxylierten Pektine; sie sind klar. Die Pektinsäure ist in kolloidaler Lösung vorhanden, wie die Betrachtung unter dem Ultramikroskop zeigt. Man beobachtet Submikronen von verschiedener Größe, teils in lebhafter Bewegung. Es scheint aber, daß ein großer Teil der Pektinsäure als Amikronen und ein weiterer Teil als Ionen vorhanden ist. Wenn die Lösung z. B. durch Salzsäure koaguliert wird, so bilden sich größere zusammenhängende Fetzen, die aus lauter noch sichtbaren Submikronen bestehen, die aber ihre Beweglichkeit eingebüßt haben. Diese Fetzen machen in ihrer Masse das Vielfache der vorher sichtbaren Submikronen aus und sind wohl durch Auswachsen von Amikronen entstanden. Daß Ionen zugegen sind, geht daraus hervor, daß Pektinsäure deutlich sauer reagiert; auch der Geschmack ist ganz schwach sauer.

Pektinsäure ist recht elektrolytempfindlich. Sie wird durch geringe Mengen von Elektrolyten koaguliert, und zwar je nachdem als Gallerte oder Flocken.

Der Fällungswert einiger Elektrolyte gegenüber 0,5%igen Lösungen der Pektinsäure aus Steckrüben ist in der nachfol-

genden Tabelle wiedergegeben. Die Zahlen beanspruchen keine sehr große Genauigkeit, da der Koagulationspunkt ziemlich schwierig zu erkennen war und da die Titrations aus Mangel an Material nur je einmal ausgeführt wurden. Die Elektrolytlösungen wurden unter Umschwenken zugesetzt, bis eine deutliche Koagulation sichtbar war.

Tabelle.

Elektrolyt	Fällungswert (Millimol im Liter)
HCl	34,4
NaCl	214,3
MgCl ₂	16,6
AlCl ₃	0,41

Nach der Wertigkeitsregel wirken einwertige Kationen auf negative Hydrosole weniger fällend als zweiwertige, und diese wieder weniger als dreiwertige. Wir finden diese Regel für die Pektinsäure voll und ganz bestätigt. Die Unterschiede in der Fällbarkeit sind von derselben Größenordnung, wie sie von Freundlich¹⁾ u. a. für kolloide Sulfide gefunden worden sind.

Pektinsäure wird durch die meisten Metallsalze gefällt. Es wurden Koagulationen erzielt durch NaCl, CaCl₂, SrCl₂, BaCl₂, MgCl₂, AlCl₃, FeSO₄, FeCl₃, CuSO₄, CO(NO₃)₂, NiSO₄, CdCl₂, ZnSO₄, SnCl₂, MnCl₂, AgNO₃, PbNO₃ u. a. m. Nicht gefällt wird sie durch HgCl₂.

Die meisten der entstehenden Niederschläge sind als verschieden starke saure Salze der Pektinsäure aufzufassen, wie wir es bei den Fällungen mit Bariumchlorid und Kupfersulfat gesehen haben. Die Alkalisalze fällen nur die unveränderte Pektinsäure aus.

Ferner wird Pektinsäure, wie es bei seinem Charakter als negatives Hydrosol zu erwarten ist, durch Eiweiß, nicht aber durch Gerbsäure koaguliert. Auch eine Reihe von Farbstoffen wurde zur Prüfung herangezogen. Durch alle basischen Farbstoffe, wie Fuchsin, Kristallviolett, Methylenblau, Bismarckbraun, Safranin, wird Pektinsäure im Gegensatz zu Pektin in Form von intensiv gefärbten Flocken gefällt. Auch hier muß,

¹⁾ Vgl. Zsigmondy, Kolloidchemie, 1912, S. 54.

wie bei den Elektrolytkoagulationen, ein Schwellenwert erreicht werden, bis die Fällung eintritt. Saure Farbstoffe, wie Eosin, Pikrinsäure, Azolithmin, Curcumin, geben keinen Niederschlag; auch nicht Kongo und Indigocarmin.

Die Bildung von Fruchtgelee.

Fremy¹⁾ faßte die Geleebildung so auf, daß Pektin beim Kochen der Früchte in Pektinsäure übergehe und daß diese die Geleebildung bewirke. Er kam jedenfalls zu dieser Ansicht durch die Beobachtung, daß gelegentlich Fruchtsäfte spontan gelatinieren infolge der Überführung ihres Pektins in Pektinsäure durch das Enzym Pektase. Diese Gerinnung von Fruchtsäften hat aber mit der Herstellung von Fruchtgelees nichts zu tun. Aus Pektinsäure läßt sich weder durch Kochen mit Zuckerlösung allein, noch unter Zusatz von Säuren oder Salzen ein Gelee gewinnen. Man erhält stets eine sirupöse Flüssigkeit mit gallertartigen Partien darin; der Zusammenhang der Masse fehlt aber ganz, da die Pektinsäure sich in den genannten Medien nicht löst. In Fruchtgelees läßt sich auch keine Pektinsäure nachweisen.

Tschirch sieht das Gelee als eine feste Lösung von Pektin in Zuckerlösung oder als eine Verbindung von Pektin mit Zucker an. Ohne Zucker entsteht demnach kein Gelee.

Um die Bildung von Gelee zu studieren, wurden zuerst einige Gelees dialysiert. Wird diese Operation z. B. mit Johannisbeergelee vorgenommen, so treten folgende Erscheinungen auf: Das Gelee zieht rasch Wasser an, die Flüssigkeit im Dialysator steigt um das Mehrfache, und im Verlaufe von vielleicht 15 Stunden löst sich das Gelee auf. Man erhält aber keine klare Lösung, sondern es haben sich Flocken eines celluloseähnlichen Körpers ausgeschieden, die sich durch Zentrifugieren oder Filtrieren abtrennen lassen. Das klare Filtrat gibt bei weiterm Dialysieren nochmals Flocken, ein Zeichen, daß sie während des Dialysierens entstehen und nicht etwa im Fruchtgelee vorgebildet sind. Diese Flocken lösen sich beim Erhitzen mit Zuckerlösung teilweise auf; beim Abkühlen der Lösung

¹⁾ l. c.

tritt Geleebildung ein. Es wurde nun vermutet, daß dieser wasserunlösliche, in Zuckerlösung lösliche Körper das eigentliche geleebildende Pektin sei. Diese Vermutung bestätigte sich aber nicht, denn erstens gab das letzte, von Flocken befreite Filtrat des Dialysenrückstandes beim Eindampfen und Aufkochen mit Zucker ebenfalls ein Gelee, zweitens fehlt der flockige Körper aus Johannisbeeren in den Gelees anderer Früchte, und schließlich unterscheidet sich dieser Körper vom Pektin dadurch, daß er keine Methoxylgruppen enthält. Er kann also auch nicht etwa Protopektin sein, wie man vermuten könnte. Tromp de Haas und Tollens¹⁾ haben diesen Körper analysiert und gefunden, daß er ein Kohlenhydrat mit 54,4% Kohlenstoff und 5,05% Wasserstoff ist, also bedeutend mehr Kohlenstoff enthält als Pektin und Cellulose.

Wird Quittengelee in heißem Wasser gelöst und die Lösung mit Alkohol versetzt, so fällt das Pektin aus. Das Filtrat gibt beim Eindampfen kein Gelee mehr, sondern eine sirupöse Lösung. Fügt man aber das ausgefällte Pektin zum Sirup hinzu, so entsteht ein Gelee. Genau dasselbe tritt ein, wenn man reines Pektin zum Quittensirup zufügt. Die Masse fließt nicht mehr; wird ein Glasstab hineingedrückt und wieder herausgezogen, so zieht er keinen Faden nach sich, sondern die klumpige Masse bricht kurz ab.

Wird aber reines Pektin mit Zuckerlösung erhitzt, so entsteht keine Gallerte. Trotz häufiger Versuche mit den Pektinen verschiedener Früchte unter Variierung der Mengenverhältnisse gelang es niemals, eine solche zu gewinnen; stets wurden nur Sirupe erhalten, die beim Stürzen des Reagensglases flossen. Die Geleebildung muß also noch von anderen Bedingungen abhängen als nur von der Gegenwart des Zuckers. Es müssen daran außer Zucker noch andere im Fruchtsaft vorhandene Körper beteiligt sein. Bei der Geleebildung handelt es sich um eine Koagulation; man konnte daher erwarten, mit denjenigen Mineralsalzen, die die wässrige Pektinlösung koagulieren, in der Zuckerlösung auch Gelees zu erhalten. Dies ist aber nicht der Fall. Wird beispielsweise zu einer pektinhaltigen

¹⁾ Ann. Chem. 286 (1895), 278.

Zuckerlösung etwas Eisenchlorid gegeben, so werden Flocken des Pektineisenkoagulums ausgeschieden; ein Gelee entsteht aber nicht. Der Schaum, der beim Einkochen der Fruchtgelees entsteht, mag vorzugsweise aus solchen Adsorptionsverbindungen bestehen.

Bessere Resultate erhielt man mit gewissen organischen Salzen, z. B. Malaten.

In wässriger Lösung koagulieren sie Pektin nicht. Die Alkalisalze sind auch in Gegenwart von Zucker wirkungslos; mit Calcium-, Magnesium- und Aluminiumsalzen erhält man jedoch bei Anwesenheit von Zucker meistens Gelees. Sie sind aber schwieriger zu erhalten und nicht so steif wie die aus pektinfreiem Fruchtsaft durch Zusatz von Pektin erhaltenen. Zur Bildung von Gelee ist somit außer Pektin und Zucker noch die Anwesenheit von gewissen Salzen erforderlich.

Es liegt nahe, anzunehmen, daß sich dabei Calcium- oder Magnesiumsalze eines nicht vollständig methoxylierten Pektins bilden und daß diese Salze, die für sich wasserlöslich sind, in Gegenwart von Zucker koagulieren und die Geleebildung bewirken. In diesem Falle würde das neutrale Oktomethoxypektin kein Gelee geben. Zur Geleebildung ist es nötig, daß die Früchte eine Zeitlang gekocht werden. Dabei wird vor allem das Protopektin in Pektin übergeführt. Im weitern wird dann eine Methoxylgruppe abgespalten und das entstehende Pektin mit einer Säuregruppe, bzw. sein Calcium- oder Magnesiumsalz, gelatiniert in Gegenwart von Zucker. Andererseits geht aber, wie jede Hausfrau weiß, die Fähigkeit zu gelatinieren, durch zu langes Kochen verloren. Es bilden sich dabei offenbar Pektine mit mehreren Säuregruppen, und diese sind zur Geleebildung ungeeignet, wie wir dies ja bei der Pektinsäure selbst festgestellt haben.

Als ein der Geleebildung ähnlicher, aber nicht damit zu verwechselnder Vorgang ist die spontane Gerinnung von Fruchtsäften durch Übergang des Pektins in Pektinsäure zu betrachten. Vermutlich bilden sich dabei als Übergangsstufen niedriger methoxylierte Pektine, die wohl isoliert werden könnten.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung kurz zusammengefaßt.

	Vor- kommen	Zusammen- setzung	Löslichkeit	Verhalten gegen				Geebigung		
				Ammoniak	Natron- lauge	Weitere Elektrolyte	Gerbstoff		Ei- weiß	Farbstoffe
Protopektin	In unreifen Früchten; in Knollenwachsen	Enthält die Bestandteile des Pektins	Unlöslich in Wasser; kein Lösungsmittel ist bekannt	Wird allmählich in Pektinsäure übergeführt	Wird schon in der Kälte mit Leichtigkeit in Pektinsäure übergeführt	—	—	—	Wird durch basische Farbstoffe nicht aber durch saure, angefärbt	Gibt beim Kochen mit Zuckerlösung und pektin-freiem Fruchtsaft kein Gelee
Pektin (= Pektinsäuremethyl-ester und niedriger methoxylierte Stufen) $C_{62}H_{96}O_{52}(OH)_{2n}(COOH)_{8-n}$ wobei $n = 1 - 8$	In reifen Früchten	Schleimsäurebildende Gruppen, Arabinose, Methylpentose, veresterte Carboxylgruppen, Methylalkohol	Kolloidal löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol, Äther, Benzol usw.	Wird allmählich in Pektinsäure übergeführt	Wird schon in der Kälte mit Leichtigkeit in Pektinsäure übergeführt	Nicht elektrollytempfindlich; Wird koaguliert durch: $CuSO_4$, $PbNO_3$, basisches Biacetat; durch neutrales Biacetat; $FeCl_3$ und $SnCl_2$ werden die Lösungen oft erst nach längerem Stehen koaguliert. Wird nicht koaguliert durch: $NaCl$, $CaCl_2$, $SrCl_2$, $BaCl_2$, $MgCl_2$, $AlCl_3$, $FeSO_4$, $Co(NO_3)_2$, $NiSO_4$, $CdCl_2$, $ZnSO_4$, $MnCl_2$, $AgNO_3$, $HgCl_2$. Wird koaguliert und zugleich in pektinsäure Salze übergeführt durch $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$.	Wird nicht koaguliert	Wird weder durch basische, noch durch saure Farbstoffe koaguliert	Gibt beim Kochen mit Zuckerlösung und pektin-freiem Fruchtsaft, weniger gut mit Zucker und organischen Kalzsalzen, Gelee	
Pektinsäure $C_{62}H_{96}O_{52}(OH)_{2n}(COOH)_8$	In unreifen u. faulen Früchten	Schleimsäurebildende Gruppen, Arabinose, Methylpentose, Carboxylgruppe, Kein Methylalkohol	Ziemlich schwierig kolloidal löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol, Äther, Benzol usw.	Leicht löslich als Ammoniumsalz	Leicht löslich als Natrium-salz	Sehr elektrollytempfindlich; Wird koaguliert durch: Mineral-säuren, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, $NaCl$, $CaCl_2$, $SrCl_2$, $BaCl_2$, $MgCl_2$, $AlCl_3$, $FeSO_4$, $FeCl_3$, $CuSO_4$, $Co(NO_3)_2$, $NiSO_4$, $CdCl_2$, $ZnSO_4$, $PbNO_3$, u. a. m. Wird nicht koaguliert durch $HgCl_2$.	Wird nicht koaguliert	Wird durch basische Farbstoffe nicht aber durch saure koaguliert	Gibt beim Kochen mit Zuckerlösung u. pektin-freiem Fruchtsaft kein Gelee. Bewirkt die spontane Gerinnung von Fruchtsäften durch Einste-hung aus Pektin durch das Enzym Pektase	

Anhang: Tragant.

In der vorangehenden Arbeit wurde gezeigt, daß außer Pektin auch Tragant Methoxylgruppen enthält. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß Pektin als ein Methylester der Pektinsäure aufgefaßt werden muß, konnte man auch für Tragant ein ähnliches Verhältnis zu einem seiner Derivate vermuten. Wie aus dem folgenden hervorgeht, ist dies auch der Fall. Die Analogie zwischen Pektin und Tragant ist so groß, daß es gerechtfertigt erscheinen mag, den Tragant gewissermaßen als eine Art Pektin hier im Anhang einer Abhandlung über Pektin kurz zu besprechen.

Um vorerst zu prüfen, ob die Methoxylgruppen dem löslichen oder dem unlöslichen Bestandteil des Tragant zukommen, wurden einige Gramm Tragant über Nacht mit Wasser aufquellen gelassen, am nächsten Tage abgepreßt, die Lösung sorgfältig durch Papier filtriert und andererseits der Rückstand gründlich ausgewaschen. Filtrat und Rückstand wurden getrennt auf Methoxyl untersucht. Es zeigte sich, daß nur der unlösliche Teil Methoxyl enthält, nicht aber das lösliche Gummi. Wir werden den unlöslichen Teil des Tragants im folgenden in Übereinstimmung mit manchen Autoren Bassorin nennen.

1. Bassorin.

Bassorin löst sich bekanntlich in Natronlauge; die Lösung wird durch Säurezusatz nicht mehr gefällt; es ist also irgendeine Veränderung mit dem vorher unlöslichen Körper vorgegangen. Nach den Erfahrungen, die wir bei dem Pektin gemacht haben, war es wahrscheinlich, daß bei dieser Natronlaugebehandlung die Methoxylgruppe abgespalten wird.

Aufgequollenes Bassorin wurde in Wasser suspendiert, mit etwas Natronlauge versetzt und erwärmt. Bald löste sich alles bis auf eine geringe Menge eines faserigen Körpers, der aus Cellulose bestehen mochte. Die Lösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und destilliert. Im Destillat ließ sich wirklich Methylalkohol nachweisen. Somit trifft unsere Vermutung ein: Bassorin ist ein Methoxyderivat eines löslichen Körpers.

Nun sollte der Methoxylgehalt des Bassorins bestimmt

werden. Dazu wurde Tragant in einem Säcklein aus Leinwand über Nacht in fließendes Wasser gehängt, um das lösliche Gummi vollständig herauszulösen. Der unlösliche Rückstand wurde, um die gröbern mechanischen Verunreinigungen zurückzuhalten, durch Leinwand gedrückt, und mehrmals mit Alkohol übergossen und ausgepreßt. Die Masse erhielt dadurch faserige Struktur. Man kochte sie noch einige Zeit mit Alkohol aus, wusch sie mit Äther und trocknete sie bis zu konstantem Gewicht im Glycerintrockenschrank bei 103°.

Das Produkt enthielt 3,22% Asche.

Nach der Literatur¹⁾ enthält Tragant als unlösliche Verunreinigungen noch Cellulose und Stärke.

Wir bestimmten die Cellulose bzw. den in Natronlauge unlöslichen Bestandteil folgendermaßen:

Eine abgewogene Menge Bassorin ließ man in Wasser auflösen, erhitzte nahezu zum Sieden, setzte 0,5 ccm 10%ige Natronlauge hinzu, wobei sich bis auf einige Flocken alles löste. Man säuerte an, filtrierte unter Absaugen und wusch den Rückstand zuerst mit ammoniakhaltigem, dann mit reinem Wasser. Nach dem Wägen wurde der Niederschlag verbrannt und wieder gewogen.

0,2409 g Substanz gaben 0,0117 g aschenfreie Cellulose. Somit enthält unser Bassorin 4,9% Cellulose.

Die Stärke wurde bestimmt, indem man Bassorin in Wasser aufquoll, die Suspension im Wasserbad erhitzte, gleichmäßig verteilte und nun nach dem Zusatz von Jod mit Stärkelösungen verglich, die ebenfalls mit Jod versetzt worden waren. Man fand einen Gehalt von 3,0% Stärke.

Bei der Methoxylbestimmung nach Zeisel lieferten 0,2951 g Substanz 0,1073 g AgJ. Danach ergab sich der Gehalt des Bassorins an Methylalkohol zu 5,38%, auf cellulosefreie, stärkefreie, aschenfreie Trockensubstanz berechnet.

2. Bassorinsäure.

Wird Bassorin durch Natronlauge in Lösung gebracht, so wird, wie wir gesehen haben, Methylalkohol abgespalten. Es entsteht dabei eine schwache Säure von sehr schwachsaurem

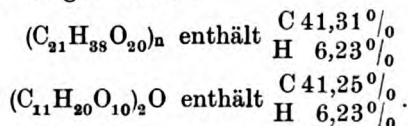
¹⁾ Siehe Tschirch, Handb. d. Pharmakognosie S. 399.

Geschmack, die wir Bassorinsäure nennen wollen in Analogie zu der aus Pektin auf gleiche Weise erhaltenen Pektinsäure. Ihr Säurecharakter scheint bisher nicht erkannt worden zu sein. Hilger und Dreyfus¹⁾ nennen den Körper Oxybassorin, legen ihm die Formel $(C_{11}H_{20}O_{10})_2O$ bei und sehen ihn als ein Oxydationsprodukt des Bassorins von der Formel $(C_{11}H_{20}O_{10})_n$ an

Wie sogleich gezeigt werden soll, erklärt sich die Beziehung der beiden Körper als Methylester und Säure sehr gut an Hand dieser Formeln.

Wenn wir die Formel von Hilger und Dreyfus für Bassorin verdoppeln, wenn wir sie also $(C_{22}H_{40}O_{20})_n$ schreiben und darin n-Methoxygruppen annehmen, so muß der Körper theoretisch 5,13% Methylalkohol enthalten. Wir finden in Übereinstimmung damit 5,38%.

Wenn der Methylalkohol abgespalten wird, gehen die $COOCH_3$ -Gruppen in $COOH$ über; es tritt Verminderung um n- CH_2 -Gruppen ein, folglich muß Bassorinsäure der Formel $(C_{21}H_{38}O_{20})_n$ entsprechen. Die Formel von Hilger und Dreyfus für Oxybassorin stimmt aber im Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt mit dieser Formel gut überein.



Dadurch wird indirekt ein Argument zugunsten der Formel $(C_{22}H_{40}O_{20})_n$ für Bassorin beigebracht. Andererseits wird es klar, daß sich der durch Natronlaugebehandlung aus Bassorin entstehende Körper von Bassorin nicht durch einen Mehrgehalt an O, sondern durch einen Mindergehalt an CH_2 unterscheidet.

Die Verseifung des Bassorin geht nicht so leicht vor sich, wie diejenige des Pektins; man muß schon mit Natronlauge erwärmen. Während Pektin leicht löslich, Pektinsäure ziemlich schwer löslich ist, so ist umgekehrt Bassorin unlöslich und die daraus entstehende Säure sehr leicht löslich.

Bassorinsäure läßt sich wie Pektinsäure unter Verwendung von Phenolphthalein mit Natronlauge titrieren; aus Erdalkali-

¹⁾ Siehe Tschirch, Handb. d. Pharmakognosie S. 400.

carbonaten treibt sie jedoch keine Kohlensäure aus. Sie wird durch Alkohol sowie durch manche Elektrolyte als Gallerte oder in verdünnter Lösung als Flocken gefällt, ist aber bedeutend weniger elektrolytempfindlich als Pektinsäure. Vielleicht hängt dies damit zusammen, daß sie im Verhältnis zum Gesamtmolekül weniger Carboxyl enthält, nur ungefähr halb soviel.

Bassorinsäure wird koaguliert durch $\text{Ba}(\text{OH})_2$, BaCl_2 , AlCl_3 , FeCl_3 , AgNO_3 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, neutrales und basisches Bleiacetat. Eine Trübung, aber keine Fällung entsteht mit ZnSO_4 .

Nicht koaguliert wird die Säure durch Mineralsäuren, durch Alkalisalze, durch CaCl_2 , SrCl_2 , MgCl_2 , FeSO_4 , MnCl_2 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, NiSO_4 , CdCl_2 , HgCl_2 .

Einige dieser Salze, die die freie Bassorinsäure nicht fällen, koagulieren wenigstens das Natronsalz der Säure. Es sind dies SrCl_2 , FeSO_4 , MnCl_2 , $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, NiSO_4 , ZnSO_4 . Eine Trübung erzeugt CaCl_2 . Nicht gefällt wird das Natriumsalz durch MgCl_2 , CdCl_2 , HgCl_2 .

Durch basische Farbstoffe wird Bassorinsäure koaguliert, nicht aber im Gegensatz zu Pektinsäure durch Eiweiß. Auch mit Tannin tritt keine Koagulation ein.

Über die spektroskopisch-quantitative Bestimmung des Urochromogens.

Von

Traugott Baumgärtel.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des beratenden Hygienikers einer Armee.)

(Eingegangen am 12. September 1917.)

Nach der Ionentheorie wird durch die Auflösung von Kaliumpermanganatkrystallen in Wasser das KMnO_4 -Molekül in seine beiden Ionen K' und MnO_4' elektrolytisch dissoziiert. Wie die spektroskopische Untersuchung stark ionisierter Permanganatlösungen zeigt, verdanken dieselben ihre violette Farbe dem elektronegativen, univalenten¹⁾ MnO_4' -Ion und verlieren diese infolgedessen bei seinem Zerfall. Der Atomkomplex MnO_4' zerfällt bei Gegenwart von oxydablen Substanzen.

Die Entfärbung verdünnter Permanganatlösung auf Zusatz von Urin beruht hiernach auf der Reduktion²⁾ des MnO_4' -Ions durch Urinbestandteile. Da bei der Titration normalen Urins mittels KMnO_4 -Lösung bis auf leichte Bräunung keine charakteristische Farbveränderung des Urins auftritt, bringt ein etwaiger Farbenumschlag bei der Urinoxydation den Nachweis pathologischer Urinbestandteile und spricht für eine Stoffwechselstörung.

Nach den grundlegenden Untersuchungen von M. Weiß³⁾

¹⁾ Das bivalente MnO_4'' -Ion ist grün.

²⁾ In saurer Lösung vollzieht sich die Reduktion nach der Gleichung: $2\text{K}' + 2\text{MnO}_4' + 6\text{H}' = 2\text{K}' + 2\text{Mn}'' + 3\text{H}_2\text{O} + 5\text{O}$.

³⁾ M. Weiß, Über das Prinzip der Ehrlichschen Diazoreaktion (Wiener klin. Wochenschr. **33**, 1907); Über das Chromogen des Urochroms als Ursache der Ehrlichschen Diazoreaktion (Brauers Bericht zur Klinik der Tuber-

und anderweitigen Mitteilungen [Bosch⁴⁾, Coppoli⁵⁾, Glas⁶⁾, Hage-Korff-Peterson⁷⁾, Halbey⁸⁾, Levy⁹⁾, Mühlens¹⁰⁾, Mareck¹¹⁾, Nicoloyesen¹²⁾, Pulay¹³⁾, Rhein¹⁴⁾, Stalling¹⁵⁾, Schmitz und Kirchner¹⁶⁾, Svestka¹⁷⁾, Zucker und Ruge¹⁸⁾] findet sich eine charakteristische Farbveränderung des Urins auf Zusatz von KMnO_4 -Lösung nur bei den toxischen Stoffwechselstörungen, die mittels der Ehrlichschen Diazoreaktion nachgewiesen werden.

Weiß fand, daß ein diazopositiver Urin nach Vorbehandlung mit KMnO_4 -Lösung diazonegativ wird, so daß angenommen werden darf, daß durch diesen Oxydationsprozeß der die Diazoreaktion auslösende Stoff zerstört wird. Bei der chemischen Untersuchung erweist sich das Reaktionsprodukt als Urochrom, das hiernach ein Abkömmling des pathologischen Bestandteils diapositiver Urine darstellt. Diesen Urinbestandteil bildet das Urochromogen, das durch KMnO_4 -Lösung zu kanariengelbem Urochrom oxydiert wird.

Da ein urochromogenpositiver Urin diazonegativ und nach

kulose 8, 1909); Über eine Vorstufe der Ehrlichschen Diazoreaktion im Harn Tuberkulöser (M. Kl., 22, 1910); Über eine neue Harnreaktion und ihren Zusammenhang mit der Ehrlichschen Diazoreaktion (M. Kl., 42, 1910); Über die Vorstufen des normalen gelben Harnfarbstoffs in ihren Beziehungen zur Diazoreaktion und über eine Schätzung des Urochroms (diese Zeitschr. 30, 1911); Die quantitative Bestimmung des Urochromogens (M. Kl., 24, 1917); Beobachtungen über die Ehrlichsche Diazoreaktion bei Lungentuberkulose und Beiträge zur Klinik der Tuberkulose (Wiener klin. Wochenschr. 44, 1906).

⁴⁾ Deutsche med. Wochenschr. 1916.

⁵⁾ Riv. crit. di clin. med. 1914.

⁶⁾ M. Kl. 1915.

⁷⁾ Deutsche med. Wochenschr. 1915.

⁸⁾ M. Kl. 1915.

⁹⁾ Deutsche med. Wochenschr. 1915.

¹⁰⁾ Münch. med. Wochenschr. 1915.

¹¹⁾ Wiener klin. Wochenschr. 1916.

¹²⁾ Med. rev. 1914.

¹³⁾ Münch. med. Wochenschr. 1915.

¹⁴⁾ Münch. med. Wochenschr. 1914; M. Kl. 1915.

¹⁵⁾ Deutsche med. Wochenschr. 1916.

¹⁶⁾ Münch. med. Wochenschr. 1916.

¹⁷⁾ Wiener klin. Wochenschr. 1915.

¹⁸⁾ Münch. med. Wochenschr. 1916.

24stündigem Aufenthalt im Brutschrank diazopositiv sein kann, muß ein primäres [α] und ein sekundäres [β] Urochromogen angenommen werden. Urochromogen = α wird nach Weiß bei 37° zu Urochromogen = β oxydiert. Es erklärt sich hieraus, daß ein diazopositiver Urin stets auch positive Urochromogenreaktion auslöst, und daß ferner ein urochromogenpositiver, diazonegativer Urin zwecks Diazonachweis längere Zeit bei 37° gehalten werden muß.

Die beiden Urochromogene gehören, wie ihr Derivat Urochrom zur Gruppe der Harnfarbstoffe (Blutfarbstoffderivate) und geben demzufolge die für diese allgemein charakteristischen chemischen Reaktionen. Die Urochromogene werden von Tierkohle absorbiert, können mittels Bleiacetat, Phosphorwolframsäure sowie salpetersaurem Quecksilberoxyd ausgefällt, mit Amylalkohol und Essigäther, dagegen nicht mit Chloroform und Äther, extrahiert werden. Die Extrakte besitzen kein typisches Absorptionsspektrum. Die Urochromogene werden ferner durch Oxydationsmittel wie Wasserstoff-, Blei- oder Mangansuperoxyd, sowie Kaliumpersulfat, Kaliumpermanganat usw. zu Urochrom (Urochromogenreaktion) oxydiert, vereinigen sich mit aromatischen Verbindungen zu Farbstoffen (Diazoreaktion) und bilden Blei-, Zink- und Bariumsalze.

Da bei gleichzeitigem Gehalt des Urins an Urobilin(-ogen) der Urochromogennachweis mittels Permanganat- oder Diazoreaktion versagt, muß zur Beseitigung dieser Harnfarbstoffe die Aussalzung des Urins mittels Ammoniumsulfat vorgenommen werden. Wie Weiß zeigen konnte, reduziert ein derartig vorbehandelter Urin die zugesetzte KMnO_4 -Lösung hauptsächlich unter Oxydation des in ihm enthaltenen Urochromogens zu Urochrom. Die Austitrierung eines mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ausgesalzenen Urins mit einer KMnO_4 -Lösung bekannten Titers bietet hiernach durch quantitative Bestimmung des Urochromogens die Möglichkeit, den Grad und Verlauf der toxischen Schädigung zu messen.

Weiß hat hierzu die Titration des Urins mittels $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung vorgeschlagen. Der Grundgedanke seines Verfahrens besteht in der Annahme, daß mit steigendem Reagenszusatz eine entsprechende Abnahme oxydabler Urinsubstanz verbunden ist und somit pro Volumeneinheit eines jeden Urins ein KMnO_4 -

Maximalwert feststeht. Dieser Permanganatwert wird nach Weiß colorimetrisch ermittelt. Es werden je 10 ccm des vorbehandelten Urins in zwei gleich weite Röhrchen gegeben, denen zunächst je 0,2 ccm und dann abwechselnd je 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung so lange zugesetzt werden, bis der nach jedem KMnO_4 -Zusatz angestellte Farbenvergleich der beiden Röhrchen erkennen läßt, daß die Maximalgelbfärbung erreicht ist. Bei diesem Titrierungsversuche ist, wie bei jedem colorimetrischen Verfahren, die Beurteilung des Reaktionsausschlages von dem subjektiven Empfinden des Versuchsanstellers, den Belichtungsverhältnissen usw. abhängig und liefert aus diesem Grunde nur Annäherungswerte für den tatsächlichen Urochromogengehalt. Im vorliegenden Falle machen sich diese Nachteile um so mehr geltend, als es sich dabei einerseits um die an und für sich in ihren einzelnen Stufen schwer unterscheidbare Gelbfärbung, andererseits um die schwierige Feststellung von Farbenunterschieden handelt, wie sie durch den geringen Zusatz von nur 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung hervorgerufen werden. Demgegenüber genügt aber ein überschüssiger oder fehlender Zusatz von nur 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung, um für die Urochromogenbestimmung einen Fehler zu bedingen, der sich durchschnittlich zwischen ± 5 bis 10% des wirklichen Urochromogehaltes bewegt.

Um die Permanganatwerte möglichst genau zu bestimmen, liegt es nahe, die eingangs erörterten spektroskopischen Eigenschaften einer verdünnten Permanganatlösung als Indicator heranzuziehen. Da die typischen Absorptionsstreifen des MnO_4^- -Ions einerseits mit der Reduktion desselben verschwinden und andererseits im Überschuß nach Oxydation einer oxydablen Substanz erscheinen, kann der Permanganatverbrauch eines urochromogenhaltigen Urins durch Titration mittels KMnO_4 -Lösung unter gleichzeitiger Beobachtung des Absorptionsspektrums bestimmt werden. Ein wesentlicher Vorteil dieses spektroskopisch-quantitativen Bestimmungsverfahrens gegenüber dem colorimetrischen Titrierungsversuch bietet sowohl die außerordentliche Empfindlichkeit der Reaktion als auch die Möglichkeit, den Permanganatwert auf zweifache Weise auszutitrieren und durch Berechnung des Mittelwertes die natürlichen Analysenfehler ausschalten zu können. Zur Urochromogen-

messung werden je 25 ccm des Morgen- und Abendurins mit 20 g Ammoniumsulfat versetzt, gut geschüttelt und die dadurch erzielte Urinverdünnung — ca. 20 bis 25⁰/₁₀ — berechnet. Um den KMnO_4 -Verbrauch des derart vorbehandelten und filtrierten Urins zu bestimmen, werden 5 ccm desselben mit $\frac{n}{10}$ - bzw. $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung unter gleichzeitiger Beobachtung des Absorptionsspektrums austitriert. Das Auftreten der für das MnO_4' -Ion charakteristischen 5 dunklen Streifen im Gelb und Grün des Spektrums ergibt den $\frac{n}{10}$ - KMnO_4 -Entfärbungsendpunkt. Beträgt die zugesetzte $\frac{n}{10}$ - bzw. $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung x ccm und werden y ccm [$y < 5$] nativen Urins austitriert, so ist xy^{-1} der $\frac{n}{10}$ - KMnO_4 -Maximalwert cm^{-3} . Zur Prüfung dieses Permanganatwertes wird umgekehrt zu x ccm $\frac{n}{10}$ - KMnO_4 -Lösung so lange Urin zugesetzt, bis die typischen Absorptionsstreifen des MnO_4' -Ions verschwinden. Beträgt die hierzu erforderliche Urinmenge z ccm, so ist xz^{-1} ebenfalls der $\frac{n}{10}$ - KMnO_4 -Maximalwert cm^{-3} . Aus den so erhaltenen Werten berechnet sich der durchschnittliche $\frac{n}{10}$ -Permanganatverbrauch, $[d]$ nach der Gleichung:

$$d = \frac{x[y^{-1} + z^{-1}]}{2}.$$

Unter Umrechnung auf n - KMnO_4 -Lösung ergibt sich für das mit der Urintagesmenge $[T]$ ausgeschiedene Urochromogen $[D]$ die Formel:

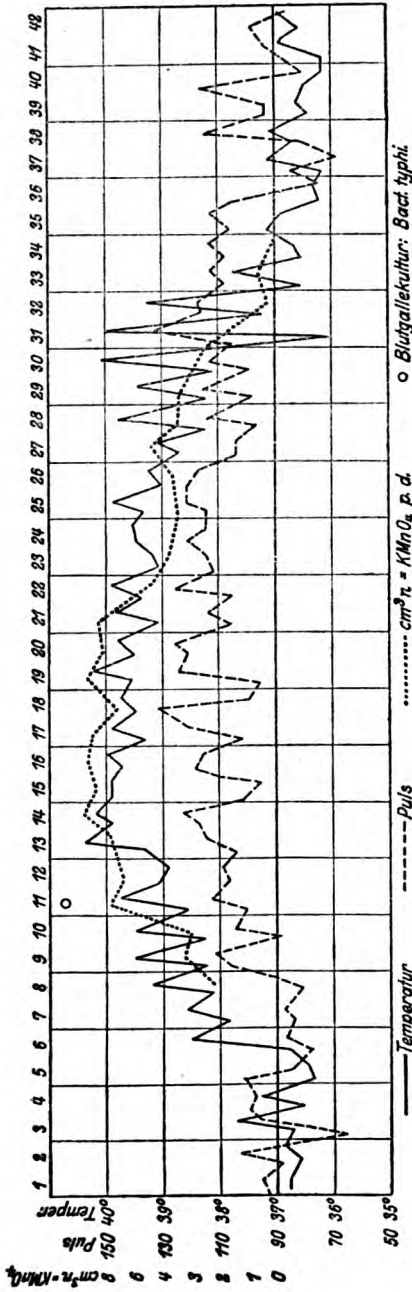
$$D = \frac{T \cdot d}{10},$$

wenn d der Mittelwert der cm^{-3} im Morgen- bzw. Abendurin enthaltenen Urochromogenmengen, ausgedrückt in ccm $\frac{n}{10}$ - KMnO_4 -Lösung, darstellt.

Da die auf diese Weise für D ermittelten Zahlenwerte gegenüber denen von T verhältnismäßig klein sind und, wie bereits erwähnt, durch geringe Schwankungen im Reagenszusatz nicht unerhebliche Fehler bedingt werden, verlangt die Technik der einwandfreien Urochromogenmessung peinlichste Genauigkeit. Deutlich geht dies aus den Urintitrierungsergebnissen bei einem Fall von Meningitis cerebros spinalis epidemica hervor, für den das 14 Stunden vor dem Tode im Urin nachgewiesene Urochromogen sowohl colorimetrisch- als auch spektroskopisch-

quantitativ bestimmt wurde. Zu diesem Zweck wurden 25 ccm des katheterisierten Urins (750 ccm) mit 20 g Ammoniumsulfat (Volumenzunahme betrug 5 ccm) versetzt, filtriert und zu 20 ccm des Filtrats 40 ccm aqu. dest. gegeben. Hierdurch wurde eine 27,8⁰/₀ ige Urinverdünnung gewonnen, so daß 10 ccm derselben 2,78 ccm nativen Urins enthielten. Für diese wurde im Sinne des Weißschen Titrierungsversuches der Urochromogengehalt gemessen. Derselbe entsprach 2,3 ccm $\frac{n}{100}$ -KMnO₄-Lösung. Insgesamt berechnete sich hiernach das mit der Tagesmenge von 750 ccm ausgeschiedene Urochromogen zu 6,21 ccm n-KMnO₄-Lösung. Um diesen Wert spektroskopisch-quantitativ zu ermitteln, wurden 5 ccm ($y = 4,17$ ccm) des mit Ammoniumsulfat vorbehandelten Urins mit $\frac{n}{10}$ - bzw. $\frac{n}{100}$ -KMnO₄-Lösung aus-
titriert. Es ergab sich: $x = 0,33$; $y = z = 4,17$ und $xy^{-1} = xz^{-1} = 0,07913$. Für den Gesamt-n-KMnO₄-Verbrauch ergab sich somit $D = 5,94$. Der Unterschied zwischen den beiden Titrierungsergebnissen belief sich auf 0,27 ccm n-KMnO₄, d. h. + 4,5⁰/₀ des tatsächlichen Urochromogengehaltes. Dieser Fehler wurde dadurch verursacht, daß bei dem colorimetrischen Verfahren den 2,78 ccm nativen Urins 2,3 anstatt 2,2 ccm $\frac{n}{100}$ -KMnO₄-Lösung zugesetzt wurden. Die Schwankung im Reagenszusatz betrug somit + 0,1 ccm $\frac{n}{100}$ -KMnO₄-Lösung.

Mit Auffindung der spektroanalytischen Titrationsmethode war die Möglichkeit gegeben, durch quantitative Urochromogenbestimmung einerseits den Grad und Verlauf der toxischen Schädigung und andererseits den Zusammenhang derselben mit andersartigen Krankheitssymptomen zahlenmäßig klarzulegen. Die hierzu angestellten Untersuchungen erstreckten sich vornehmlich auf Menge und Dauer der Urochromogenausscheidung im Verlauf einer typhösen und paratyphösen Erkrankung. Namentlich wurde untersucht, ob die auf Grund des qualitativen Urochromogennachweises vielfach in der Literatur verbreitete Ansicht über das Abhängigkeitsverhältnis zwischen Diazo und Temperatur durch quantitative Urochromogenbestimmung bestätigt werden konnte. Da ferner bei typhösen Erkrankungen die Temperaturschwankungen eine Funktion der bakteriellen Giftwirkung darstellen, konnte von der Beziehung zwischen Diazo und Temperatur auf das Gegenseitigkeitsverhältnis von Diazo zum Krankheitsverlauf gefolgert werden. Auch wurde



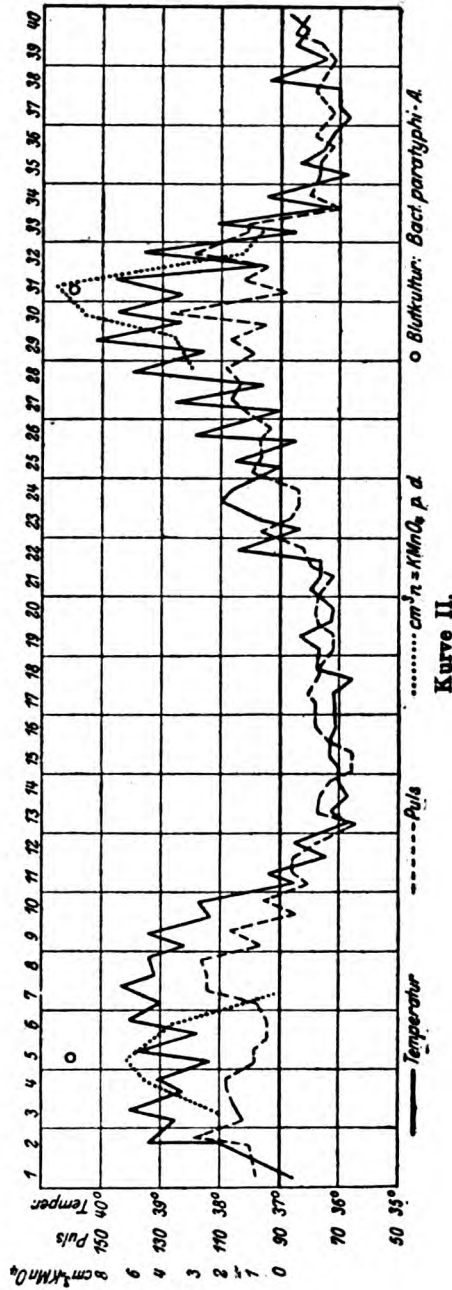
Kurve I.

versucht, eine etwa vorhandene Beziehung zwischen Urochromogen als Blutfarbstoffderivat und den Veränderungen des Blutbildes (Leukopenie, relative Lymphocytose) zu ermitteln. Die hierüber angestellten Untersuchungen, die sich auch auf andere vergleichsweise herangezogenen Krankheiten erstrecken, sind noch nicht abgeschlossen; sie lassen indessen einen Zusammenhang zwischen Diazo- und Erythrocytolysen vermuten. Der von Stalling¹⁾ erhobene Befund eines Zusammenspiels von Diazo und Milztumor konnte nur insofern bestätigt werden, als das Urochromogen mittels Diazoreaktion nur in den Fällen mit gleichzeitig auftretender Milzschwellung, dagegen nicht dieser entsprechend gradatim nachgewiesen werden konnte. Im allgemeinen bestätigten die Untersuchungen die Annahme eines Parallelismus von Temperaturverände-

¹⁾ l. o.

rung und Urochromogen gehalt des Urins; die von Genken¹⁾ aufgestellte Behauptung, „die Diazoreaktion falle mit der Eberth-Bakteriämie zusammen“, konnte dadurch gestützt werden, daß in den Fällen mit positiver Diazoreaktion, diese auch stets zur Zeit der Bakteriämie beobachtet wurde.

Bei Typhus abdominalis gaben die während des Krankheitsverlaufs für die Menge des täglich ausgeschiedenen Urochromogens berechneten Permanganatwerte in Übereinstimmung mit den Untersuchungsergebnissen von Weiß in graphischer Darstellung meist eine Kurve, die zunächst mehr oder weniger schnell anstieg, um dann vom Höhepunkte ab langsam wieder abzufallen. Bei dem in Kurve I wiedergegebenen Typhusfall konnte das Urochromogen mittels Permanganatreaktion während der Dauer von 25 Tagen nachgewiesen werden. Der Permanganatwert erreichte am 14. Krankheitstage den Höhepunkt und kehrte — entsprechend



¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1907, zitiert nach Curschmann, Der Unterleibstypus, 1913.

dem Temperaturabfall — nach weiteren 18 Krankheitstagen auf den normalen Wert zurück.

Bei den zur Beobachtung gelangten Paratyphus-A-Erkrankungen, die im allgemeinen das klinische Bild eines mittelschweren Typhus boten, konnte das Urochromogen entweder gar nicht oder nur vorübergehend nachgewiesen werden. Die Diazoreaktion war selten positiv. Einen diazopositiven Fall zeigt Kurve II. Es handelt sich um eine Paratyphus-A-Erkrankung mit nachfolgendem Rezidiv. Nur an den beiden Tagen, an denen im Blute Paratyphus-A-Bacillen nachgewiesen werden konnten, waren Diazo- und Permanganatreaktion deutlich positiv. Von den hierfür ermittelten Permanganatwerten war der während des Rezidivs am größten.

Bei Paratyphus-B schwankte die Nachweisbarkeit des Urochromogens je nach der typhösen oder enteritischen Krankheitsform. Bei typhös verlaufendem Paratyphus-B bewegten sich die Permanganatwerte in der für Typhus charakteristischen Kurve.

Zusammenfassung.

I. Das Urochromogen ($\alpha + \beta$) kann durch spektro-analytische Titration mittels $\frac{n}{10}$ - bzw. $\frac{n}{100}$ - KMnO_4 -Lösung quantitativ bestimmt werden.

II. Die Permanganatwerte lassen bei Typhus- und Paratyphus einen Zusammenhang von Diazo und Temperatur, Milztumor und Erythrocytolyse vermuten.

III. Bei Typhus abdominalis und der typhösen Form des Paratyphus-B ist die Permanganatkurve im allgemeinen, der Temperatur entsprechend staffelförmig auf- und absteigend.

IV. Bei Paratyphus-A bewegen sich die Permanganatwerte meist in einer steilen, kurzen Kurve.

V. Bei den enteritischen Formen des Paratyphus-B kann kein Urochromogen nachgewiesen werden.

Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum. I¹⁾.

Von
Joh. Feigl.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses
Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 23. August 1917.)

Das Vorkommen von Hämatin im menschlichen Blutserum wurde erstmalig von O. Schumm aus Anlaß einer akuten „Chromsäurevergiftung“, die mit toxischem Blutkörperchenzerfall einherging, beobachtet²⁾. Dieser erste Befund wurde bei der hohen Wichtigkeit der damit auftauchenden Frage nach der Häufigkeit und den Zusammenhängen ähnlicher Vorkommnisse der Anstoß zu weiter ausgreifenden Untersuchungen. Zur Methodik der Hämatinämie äußerte sich der genannte Autor bald darauf³⁾. Inzwischen folgten Beobachtungsreihen größeren Umfanges, an denen zunächst C. Hegler⁴⁾ teilnahm, und die später von H. Schottmüller⁵⁾ in bestimmten Richtungen ausgedehnt

¹⁾ Die in der folgenden Mitteilung besprochenen Befunde wurden im Verlaufe der letzten Jahre gesammelt, gelegentlich als solche erwähnt und für die vorliegende Zusammenstellung reserviert.

²⁾ O. Schumm, Hämatinämie bei toxischem Blutkörperchenzerfall. Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 1, 1912 (eine Tafel).

³⁾ O. Schumm, Über den Nachweis von Hämatin im menschlichen Blutserum. Zeitschr. f. physiol. Chem 87, 171, 1913 und Diskussion zum Vortrage von Joh. Feigl, Ärtzl. Verein zu Hamburg (s. u.).

⁴⁾ C. Hegler, Klinische Beobachtungen über Methämoglobinämie und Hämatinämie, Vorträge in der biol. Abtlg. des Ärtzl. Vereins zu Hbg. Sitzung am 29. X. 1912. Münch. med. Wochenschr. 53, 2923, 1912.

⁵⁾ H. Schottmüller, zit. bei O. Schumm a. a. O. 1916.

wurden, während vor kürzerer bzw. kürzester Zeit C. Lorey, E. Becker, H. F. Brütt u. a. in ferneren Abschnitten des Untersuchungsgebietes an der Weiterbildung der Hämatingorschung sich beteiligten¹⁾.

Im Jahre 1914 machte Verf. an einem schweren Falle von Vergiftung mit Kaliumchlorat die Beobachtung einer zeitlich ausgedehnten und beträchtlichen Hämatingämie²⁾. Dieser Befund wurde, da alle bisherigen toxikologischen Untersuchungen über Hämating im Serum an dem Mangel experimenteller Gegenprüfungen, deskriptiver Ergänzungen und Umschreibungen krankten, und zum Teil heute noch krankten, in einer ausgedehnten Reihe von Vergiftungsversuchen an Hunden und Katzen näher charakterisiert. Die Publikation erfolgte indes erst 1916³⁾.

Im gleichen Jahre hatten J. Feigl und E. Querner⁴⁾ bzw. A. V. Knack und H. Koopmann⁵⁾ anlässlich eines groß angelegten Armeegepäckmarsches die Fragestellung aufgerollt, ob Umsetzungen im Bestande des Oxyhämoglobins bzw. Farbstoffaustritte und Abbauerscheinungen sich beobachten ließen. Neben weiteren Ergebnissen wurde hier an einem beträchtlichen Materiale, zeitlich orientiert, das Auftreten nicht ganz unbeträchtlicher Hämatingmengen erwiesen. Auch diese Ergebnisse blieben liegen, bis sie 1916 mitgeteilt wurden. Inzwischen wurden mit steter Unterstützung von E. Querner und unter wohlwollender Förderung durch auswärtige bzw. andere hiesige Stellen weitere Beobachtungen gesammelt.

¹⁾ O. Schumm, Die pathologischen Farbstoffe des Blutes . . . Vortrag. Hbg. Ärzte-Korresp. 1916, 9. Juli, 28, 298 ff. Diskussion. E. Fraenkel, C. Lorey, E. Becker.

²⁾ Joh. Feigl, Chemisch-physiologische Untersuchung eines Falles von Kaliumchloratvergiftung. Demonstration in Verbindung mit Schaedel, Biol. Abtlg. des ärztl. Vereins zu Hamburg. Sitzung vom 7. April 1914. Hbg. Ärzte-Korresp. 1914, Nr. 10, 126; Nr. 12, 152. Münch. med. Wochenschrift 28, 1583, 1914.

³⁾ Joh. Feigl, Über das Auftreten von Hämating im Blute bei Vergiftung mit Chloraten. Diese Zeitschr. 74, 5/6, 394 bis 414, 1916.

⁴⁾ Joh. Feigl u. E. Querner, Untersuchungen an Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches. Zeitschr. f. klin. Med. 1916, 80.

⁵⁾ Joh. Feigl (mit A. V. Knack u. H. Koopmann), Chemische Blutuntersuchungen an den Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches. I. Über Blutfarbstoff, Hämoglobinämie, Hämatingämie, Hämoglobinurie. Diese Zeitschr. 76, 1/2, 88, 1916.

Ungefähr gleichzeitig mit der Publikation obiger Beobachtungsreihen erschien eine Zusammenfassung von O. Schumm über das Vorkommen von Hämatin in pathologischen Blutseris¹⁾. Diese Sammelarbeit gibt einen dankenswerten Überblick über das Forschungsgebiet, schließt etwa mit Ende 1915 ab, zeigt, daß ein stattliches Material von dem Entdecker und seinen Mitarbeitern zusammengetragen wurde und berücksichtigt entsprechend auch die Angaben des Verfs.

Die Methodik ist mehrfach Gegenstand von Erörterungen gewesen²⁾. Für unsere jetzigen Beobachtungen ist nachzutragen, daß unser Apparat³⁾ den Instrumenten von O. Schumm zwar nachsteht, aber durch einen vortrefflichen Doppelspalt von Schmidt-Haensch wesentlich verbessert wurde. Die Technik wurde in allen Fällen mit äußerster Vorsicht gehandhabt⁴⁾.

Neue Beobachtungen.

Toxikologisch-pharmakologische Fälle.

Im Anschluß an die experimentellen Untersuchungen über die Wirkung von Chlorat (Kaliumchlorat bzw. Natriumchlorat) wurden auch Versuche über das Verhalten von Bromaten angestellt. Sowohl an Hunden wie an Katzen wurde in kurz verlaufenden wie subakuten Fällen (Anordnung parallel nach den betr. Chloratuntersuchungen) Hämatin gefunden. Bei langsamem Verlaufe konnte Hämatin allein, dagegen kaum Methämoglobin vorkommen. Das Vorherrschen des Hämatins ließ sich erweisen. Die Intensitäten wurden von erheblichen Graden bis zur eben sicheren Nachweisbarkeit festgestellt. Eine neuere experimentell-pharmakologische Arbeit von C. G. Santesson⁵⁾

¹⁾ O. Schumm, Hämatin als pathologischer Bestandteil des Blutes. Zeitschr. f. physiol. Chem. 97, 1, 32, 1916.

²⁾ O. Schumm, l. c. (1913) und J. Feigl, l. c. (1916).

³⁾ Siehe dort 1916.

⁴⁾ Bekanntlich wird immer wieder von den Untersuchern auf die Gefahren artifizieller Bildung von Hämatin bzw. Methämoglobin bzw. Austritte des Oxyhämoglobins hingewiesen. Im Laufe längerer Untersuchungen gewinnt man für alle einschlägigen Fährlichkeiten den richtigen Blick, tut aber im Beginn von Arbeiten dieser Art gut, gegen spurenweises Vorkommen mißtrauisch zu sein. Nähere Angaben (Joh. Feigl-E. Querner) später.

⁵⁾ C. G. Santesson, Über die Wirkung von Kaliumbromat. Arch.

(1910) stellt fest, daß die Nerven- und Herzwirkung des Bromates erheblich höher ist als die des Chlorates. Indes soll eine direkte Blutwirkung kaum zur Beobachtung kommen. Das Auftreten — zwar relativ geringer — Mengen von Hämatin im Serum zeigt, daß doch Umsetzungen vor sich gehen, die wohl an Sinnfälligkeit weit hinter denen nach Chloratgaben zurückbleiben (Vollblut). Demnach würde also in diesem Falle die Hämatinbildung und -erkennung ein feinerer Indicator sein. Die Untersuchung selbst hat indes fast lediglich systematisch-theoretisches Interesse.

In zweiter Linie wurde ein Fall beobachtet, der sich als Resorcinvergiftung charakterisierte und der, wie folgt, näher beschrieben sei. Es handelte sich um ein zwei Monate altes, kräftiges, gut genährtes Kind mit klinisch als normal befundenen Organen¹⁾. Ausgebreitetes trockenes Ekzem am Hinterkopf, im Gesicht, am Gesäß, im Nacken, an den Beinen, mit stark geröteter Epidermis; Behandlung mit einer Vaselinesalbe von Resorcin und Zinkoxyd. Nach 3tägiger Kur setzte Erbrechen ein; in kurzem Verlaufe trat unter den mehrfach beschriebenen Erscheinungen nach vorübergehendem, mäßigem Krampfstadium der Tod ein.

Intra vitam wurde reichlich Hämatin, und zwar direkt, nachgewiesen. Die Sektion zeigte Methämoglobin in allen Organen; auch fand sich im Serum (unmittelbar post exitum) sehr reichlich Hämatin. Es wurde an die Beschaffenheit der Vaseline gedacht, die jedoch, als Massenprodukt an zahllosen Patienten gleichzeitig verwandt, hinsichtlich des Verdachtes alsbald ausscheiden mußte²⁾, ferner an das ebenso ergiebig benutzte Zinksalz. Beide Anknüpfungen mußten also fallen gelassen werden. Befunde: Ht 8 +, Ht 20 +.

Die Vergiftung wurde einwandfrei als durch Resorcin ver-

di Fisiolog. 7, 1910 (Festschrift für Fanò). Biochem. Centralbl. 10, 277, Ref. 876, 1910.

¹⁾ Krankengeschichte (1915) nach Dr. C. Philip in der dermatologischen Abteilung des Allgem. Krankenhauses Hamburg-Barmbeck bzw. dem neuen Polizeikrankenhaus (Oberarzt bzw. Leiter: Dr. R. Hahn. Sektion durch Dr. K. Fahr).

²⁾ R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen (in Bibliothek des Arztes, Sammlung), 2. Aufl. 1916, 2, spez. Teil, 128 und 1243 (Nachträge).

ursacht erwiesen. R. Kobert bespricht die Frage und zitiert Fälle von J. Brudzinski, Sigm. Kaiser, W. Schwabe, denen sich der unserige auf dem statistisch immerhin mäßig belegten Gebiete anschließt¹⁾. Von den genannten waren zwei Kinder geringen Alters. Über dieses statistische Interesse hinaus gewinnt unseres Erachtens die Beobachtung darum besonderen Wert, weil in ihr zum ersten Male bei Vergiftung mit Resorcin, ja bei Phenolen überhaupt, das Vorkommen von Hämatin im Blute innerhalb des akuten Vergiftungsbildes nachgewiesen wurde²⁾.

Im Anschluß an diese Beobachtungen sei über ein weiteres (substituiertes) Phenol berichtet. Verf. hatte mehrfach Gelegenheit, über die Wirkung von staubförmiger Pikrinsäure auf vorwiegend inhalatorischem Wege im chronischen Verlaufe bei Menschen einschlägige Beobachtungen anzustellen³⁾. Bekanntlich gelten einmalige oder seltene Gaben von 0,5 g bis 1,0 g pro die nach Beobachtungen von H. Rulle und W. Erb (in der Zusammenstellung von R. Kobert) als erträglich, ohne schwerere Erscheinungen zu hinterlassen⁴⁾. Schon früher zu Zwecken der Simulation benutzt (Pikrinikterus), hat im jetzigen Kriege, weit vorherrschend in der französischen Literatur das Trinitrophenol für den Arzt und den Toxikologen durch gewisse Schwierigkeiten der Diagnose und des chemischen Nachweises neue Bedeutung erlangt⁵⁾. Beobachtungen über Inhalationswirkungen teilt

¹⁾ Über das Verhalten des Resorcins bei Verwendung chronischer, geringer Gaben — derzeit in Arbeit befindliche Frage — läßt sich schon heute sagen, daß geringe Mengen Hämatin auftreten.

²⁾ In dem Werke von Fr. Erben, *Vergiftungen, klinischer Teil II, organische Gifte*, Wien u. Leipzig 1910, 255, wurden zwei weitere tödliche Fälle von Nothen (1908) — 19jähriger Mann und Knabe von 11 Jahren — und eine lebensbedrohende Vergiftung (Kayser, 1905) genannt.

³⁾ Das Material des einen verdanke ich Herrn Dr. A. Lippmann, Krankenhaus St. Georg, Hbg. (1917).

⁴⁾ Rud. Kobert, l. c. Lehrbuch 805 ff.

⁵⁾ In kürzester Form zitiert nach den Referaten im Chem. Centralbl. Bartheu. Fredoux 2, 605, 1916 (Blut, Harn, Fäces); Brulé, Javillier. Baeckeroot 2, 510, 1916 (Pikrinikterus und echter Ikterus, klinisch ungemein wichtig); Castets 2 32, 1916 (Nachweis, auch in Nahrungsmitteln); Grélot 1, 1100, 1916 (Nachweis); Grimbert 2, 33, 1916 (Methoden und Nachweis im Harn); Guillaume 1, 1089, 1916 (Harn); Lassaussé 2, 156, 1916 (Harn, zugleich Bilirubin); Murat u. Durand 2,

Chéron, über solche durch Salbenbehandlung von Hautverbrennungen Latouche mit. Rymza will Methämoglobin gefunden haben¹⁾. Trotz allem ist bisher ungeklärt die blutzersetzende Wirkung langsamer Resorption geringster Mengen durch Haut und Atmungsorgane²⁾. Wir beobachteten zwei Fälle, von denen langdauernde (1 Jahr und mehr), nur mäßige Aufnahme feststeht. Beide Personen (Frauen) zeigten keine beträchtlicheren Erscheinungen und blieben deshalb nur ganz kurze Zeit in ärztlicher Behandlung. Im Serum fand sich bei zweimaliger Beobachtung (Ht bzw. Ht +) und (Ht + bzw. Ht deutlich erkennbar), zugleich mit geringem positivem Ausfalle der Proben auf Gallenfarbstoff auf direktem Wege und durch die Diazoreaktion. Unter Einrechnung der Tatsache, daß ärztlicherseits ernster gewertete Erscheinungen nicht vorlagen, verdient der Befund aus mehreren Gründen Beachtung.

Die Befunde über die Entstehung von Hämatin im Blute bei chronischer Pikrinsäureeinwirkung (Inhalation) haben darum weiter ausgreifendes Interesse, weil sie einmal an das Verhalten der Phenole bzw. Polyphenole — besonders im Zusammenhang mit der gleichen Beobachtung an Resorcin —, ferner an die spezifische Charakteristik der Nitrokörper anknüpfen. Beschreibend äußert sich über diese in medizinisch-toxikologischer Hinsicht jüngst F. Koelsch³⁾. O. Schumm⁴⁾ bzw. E. Becker fanden Hämatin im Blute bei schwerer erkrankten (3 Heilungen, 1 Todesfall) Arbeitern, die in einer Mühle gearbeitet hatten, auf der grobes Dinitrobenzol zerkleinert wurde, Verhältnisse, mit denen die chronische Wirkung durch Inhalation auf verwandter

22, 1916 (Nachweis); Pognan u. Sauton 1, 1181, 1916 (Harn); Rodillon 1, 1097, 1916 (neue Reaktion und Nachweis in Nahrungsmitteln); Ydrac 2, 522, 1916 (Nachweis).

¹⁾ Bei R. Kobert, l. c.

²⁾ Auch bei F. Erben, l. c. 325, finden sich keine weiteren Angaben als die von Chéron, darunter jedoch die Vermutung einer indirekten N_2O_3 -Wirkung. Über Hämatin durch Nitritvergiftung wissen wir bisher nichts. Neue Beobachtungen (Verf.) noch unveröffentlicht.

³⁾ F. Koelsch, Über die Giftigkeit der aromatischen Nitroverbindungen. Münch. med. Wochenschr. 30, 965, 24. Juli 1917.

⁴⁾ O. Schumm, l. c. (1916).

Stufe steht¹⁾. Fr. Reuter berichtete über mehrere toxikologische Details und die Sektion²⁾.

Für die Frage nach der Kasuistik der Hämatinämie bzw. für das Verhalten der Methämoglobinbildner und für die Methämoglobinbildung dürften zunächst einmal die Wirkungen der Nitrokörper in bestimmter, neuartiger Richtung einer Klärung zugänglich werden. Experimentelle Weiterführungen sind eingeleitet (Verf.). Indes kann hier folgendes mitgeteilt werden. Über die Blutzersetzung durch Nitrobenzol berichten die Lehrbücher im Sinne einer Methämoglobinbildung, wenn schon eine genauere Einmessung des maßgebenden Streifens nicht in allen Fällen mit übereinstimmenden Ergebnissen gelang³⁾. Vielleicht kann auch in dieser Reihe an die Mitbeteiligung von nitrosen Verbindungen gedacht, und die Differenz der Messungen sonach vermutet werden. Oder aber es ist denkbar, daß früheren Untersuchern das eigentliche Hämatin entging, da ihnen die Technik der Prüfung intakten Serums fehlte. In einigen Tierversuchen mit akutem Ablauf (Hunde, Kaninchen) gelang es, unzweifelhaft Hämatin in achtbaren Beiträgen nachzuweisen. Chronische Versuchsanordnungen sind bisher nicht einwandfrei mit Auftreten von Hämatin durchgeführt worden. Immerhin enthielt m. E. trotz der bisher vorliegenden Versuchsergebnisse, die Hämatinbildung veranschaulichten und daher den speziellen deskriptiven Teil der Aufgabe lösten, die Frage nach den Einwirkungen von Nitrobenzol auf den Blutfarbstoff weitere einschlägige Probleme, die sich an die Existenz vermutlich primärer Umsatzprodukte knüpfen, unter denen das in klassischen Arbeiten nachgewiesene Methämoglobin obenan steht. Soweit wir bisher sagen können,

¹⁾ E. Becker, *Wissensch. Dem. Krkh. Eppendorf*, 3. Juni 1916. *Hbg. Ärzte-Korresp.* 1916, 9. Juli, Nr. 28, 297 ff.

²⁾ Fritz Reuter, *Über Unfälle durch Vergiftung mit Dinitrobenzol*. *Vierteljahrsschrift für gerichtl. Med. u. öffentl. San.-Wesen* 52, 3, 1 bis 16, 1916, *ref. Chem. Centralbl.* 1916, 627 bis 710.

³⁾ Siehe die Darstellung bei Fr. Erben, l. c. 313 sowie bei R. Kobert, l. c. 798. *Spektroskopische Befunde von Ehrlich u. Lindenberg, Pirmann u. Winternitz*. Der sogenannte „Nitrobenzolstreifen“, dessen eigene Existenz nicht systematisch nachgeprüft wurde, verliert sowohl durch die Erkennung des reinen Methämoglobins wie auch durch die Auffindung des Hämatins immer mehr an Boden.

scheint die Intoxikation mit Nitrobenzol die Möglichkeit zu eröffnen, für die wichtige Frage nach der Dynamik der Hämatinbildung durch Beobachtung des zeitlichen Auftretens in Relation zum Methämoglobin u. a. experimentelle Grundlagen zu schaffen. Bekanntlich müssen wir bei dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse über das Auftreten und Vorkommen von Hämatin im Serum unter pharmakologisch-toxikologischen Voraussetzungen immer wieder die Frage berücksichtigen, ob es primär entsteht oder erst sekundär aus Methämoglobin in mehr oder minder geringer Proportionalität abgesprengt wird¹⁾. Im letzteren Falle würden die zwar deskriptiv nicht unwichtigen Beobachtungen über Hämatinbildung an allgemeiner Bedeutung einbüßen und nur den Charakter einseitiger bzw. mittelbarer Feststellungen behalten.

Anschließend wurde bei salbenartiger Zubereitung und epidermatischer Applikation ein Versuch mit dem bekannten Sprengstoff Trinitrotoluol am Kaninchen gemacht. Auch hier trat unter akuten Intoxikationserscheinungen reichlich Hämatin im Blutserum auf. Von Jaffé wurden Untersuchungen über das Mononitroprodukt angestellt, von White, Hay, Orsmann das Dinitrotoluol und das Trinitrotoluol vergleichend in Rücksicht auf die hygienischen Verhältnisse der Sprengstofffabrikation geprüft. Die Angaben lauten nicht durchaus übereinstimmend (R. Kobert). Immerhin nannten die englischen Autoren das Trinitroderivat harmloser als den Dinitrokörper, bei dem sie Methämoglobinbildung in speziellen Versuchen nachgewiesen hatten. Vergleiche dieser Art konnten nicht angestellt werden; immerhin wurde nebenher auch die fragliche Technik nachgebildet (subcutane Injektion) und bei dieser Hämatin gefunden.

Im gewissen Zusammenhange mit den reinen Nitrokörpern sowie den nitrierten Phenolen sei nunmehr über Beobachtungen

¹⁾ Joh. Feigl, l. c. 1916 (Chlorate und Hämatinbildung). Hierzu gehört u. E. auch die Mitberücksichtigung katalytischer Beschleunigung der Farbstoffumwandlung durch anscheinend indifferentere Stoffe, wie solche für Chloride bei Chloratwirkung von Falck, Beitrag zur Kenntnis der Chloratwirkung, Arch. f. d. ges. Physiol. 45, 1889, erstmalig beobachtet wurde. Zu derselben Frage nahm u. a. A. Gröber, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 58, 342, 1908, Stellung.

berichtet, die sich auf Derivate einfacher aromatischer Amine beziehen. Verf. hatte Gelegenheit, Blutserum zu untersuchen, das einer 33jährigen, sonst durchaus gesunden Frau am dritten Tage nach einer ziemlich schweren Vergiftung (offenbar unkritische bzw. selbstmörderische Benutzung des Materials) mit Acetanilid entnommen war. Die Erscheinungen der Intoxikation waren angesichts der Tatsache, daß über 3,3 g Antifebrin tatsächlich genommen und einbehalten wurden, die üblichen und auch am dritten Tage noch in typischer Weise fortbestehend. Bekanntlich existiert gerade über Acetanilid und seine pharmakologisch-toxikologische Bedeutung eine größere Literatur, auf die angesichts des typischen Verlaufes unseres Falles hingewiesen sei ¹⁾. Unser Fall soll endgültig geheilt worden sein und ist daher nebenbei für die Statistik der tödlichen und geheilten Vergiftungen, sowie für die Frage der noch erträglichen Giftmenge von Interesse ²⁾. Im Harn fand sich Hämatoporphyrin, das nach dem derzeitigen Stande der Methodik nachgewiesen wurde, in erheblichen Mengen während ca. 2 Wochen ³⁾. Über die Blutbefunde ist in den fraglichen Arbeiten hinsichtlich des Hämoglobins weniger berichtet worden. Im Vordergrund steht die spezielle Feststellung von Fr. Müller, daß Methämoglobin bei Anilinvergiftung auftritt ⁴⁾. Im Serum fanden wir am dritten Tage starke Mengen Hämatin, im Blute selbst auch Methämoglobin, also nach Heubner und Dennig mehr als rd. 15 % des Farbstoffes, am 10. Tage noch mäßige, gut erkennbare Beträge Hämatin bei bereits abgeblaßter Haut, die vorher cyanotisch, dann „hämatinikterisch“ (Bezeichnung nach

¹⁾ Fr. Erben l. c., 339 ff., R. Kobert l. c. 795 ff.

²⁾ Fall von Kronfeld (l. c.) mit 12,0 g Acetanilid in schnellem Verlaufe Heilung. Fälle mit 28,0 g bzw. 30,0 g je innerlich, andererseits 2,0 g zweitägig mit ähnlichem Verlaufe des Vergiftungsbildes (l. c.). Letale Dosis nach Brown 3,6 g (l. c.). Spezielle Verhältnisse bei Erben. Bedrohliche Erscheinungen nach R. Brieger (l. c.) bei 1,5 g. Zu dieser Kategorie gehört demnach der obige Fall mit dem **doppelten Betrage** des einbehaltenen Giftes.

³⁾ O. Schumm, Beiträge zur Kenntnis der Haematoporphyrin congenita (H. Günther) und der natürlichen Porphyrinurie, Zeitschr. f. physiol. Chem. 98, 3/4, 123, 1916.

⁴⁾ Fr. Müller, Über Anilinvergiftung. Deutsche med. Wochenschr. 1887, XIII, 27.

Schumm), später leicht ikterisch erschien. Zuletzt ließ sich mit Diazoreaktion in verspätetem Ausfalle hämolytischer Gallenfarbstoff nachweisen¹⁾.

Anschließend wurde das Exalgin, nach v. Mering ein schlechteres Fiebermittel bei höherer Giftigkeit (Calm und Hepp) in Frankreich früher eingeführt und beliebt (Methylacetanilid), tierexperimentell geprüft. Auch diese Substanz, übrigens ein unwesentlich verändertes (N-methyliertes) Derivat des Stammkörpers, gab unter bekannten Erscheinungen Anlaß zum Auftreten reichlicher Hämatingehalten im Serum²⁾.

Ferner wurde das berüchtigte Pyrodin (Acetylphenylhydrazin) tierexperimentell untersucht. Von Dreschfeld eingeführt, von Östreicher, Ziegler, Renvers untersucht und als gefährlich charakterisiert, wurde es gleichzeitig als energisches Blutgift mit starker Methämoglobinbildung beschrieben³⁾. In unserer Versuchsanordnung zeigte sich unter entsprechenden Verhältnissen relativ sehr reichlich Hämatingehalt im Serum.

Ferner ist über einen Fall zu berichten, der unter dem Bilde einer Vergiftung mit Paraphenylendiamin betrachtet wurde. Es handelte sich um eine 40 Jahre alte Frau, die in längerer Frist ein Haarfärbemittel benutzte, das einen beträchtlichen Gehalt an p-Phenylendiamin und weitere Substanzen aufwies, (Resorcin, Extrakte), enthielt. Die Beschwerden waren beträchtlich und glichen den in der Literatur beschriebenen, die Rückbildung erfolgte langsam und schwierig, besonders die Ekzeme, Rhagaden und Urticarien, Schwellungen des Rachens⁴⁾. Man hat zahlreiche Fälle sowohl nach Anwendung von Haarwässern und Färbemitteln mit Phenylendiamin als auch zu-

¹⁾ Nach A. A. Hymans v. d. Bergh und P. Müller, Über eine direkte und eine indirekte Diazoreaktion auf Bilirubin. Diese Zeitschr. 77, 90, 1916. Eingehende klinisch-chemische bzw. auch toxikologische Beobachtungen mit der fraglichen Reaktion haben J. Feigl und E. Querner seit Jahren angestellt. Das Prinzip der Reaktion muß selbst angesichts gewisser technischer Schwierigkeiten durchaus bestätigt werden. Bericht hierüber a. a. O.

²⁾ R. Kobert, l. c. 796, Fr. Erben, l. c. 343.

³⁾ R. Kobert, l. c. 784, Fr. Erben, l. c. 352.

⁴⁾ Fall, der in einer städtischen Poliklinik zur Beobachtung kam. Das Material wurde dem Verf. zur Untersuchung freundlicherweise überlassen.

folge industrieller Benutzung des Stoffes (Ursol) kennen gelernt, ohne daß die Frage nach Blutzerfallsprodukten allgemeiner gewürdigt worden wäre¹⁾. Es ist die Ansicht ausgesprochen worden, daß ein Zwischenprodukt der Oxydation — das Chinondiimin — der Träger der Wirkungen sein soll. Puppe glaubte den Nachweis erbracht zu haben, daß in vitro aus Phenylendiamin direkt Hämatin entstände, eine Angabe, die Kunkel als großen Irrtum erwies, indem ihm gelang, zu zeigen, daß neutralisierte Präparate nur MtHb zu bilden vermögen²⁾. In unserem Falle gelang es, Hämatin in erheblichen Mengen (Ht 6 +) zu finden, zugleich alle übrigen pathologischen bzw. toxikologischen Voraussetzungen für Ht-Bildung als nicht existent zu erweisen. Später (ca. 2 Wochen) wurde Ht + gefunden.

Weitere Gelegenheit bot sich aus Anlaß planmäßiger Untersuchungen an Patienten, die chronischen Abusus mit Schlafmitteln, insbesondere Sulfonal, Trional, Trigemin trieben³⁾. Nachdem in 8 Fällen nichts ermittelt werden konnte, und einer strittig blieb, ergab sich einer mit mehrfach erhobenen Befunden an geringen, deutlich nachweisbaren Mengen Hämatin im Serum. Es handelte sich um einen Mann von etwa 40 Jahren, der seit langem Abusus mit Trigemin u. o. Stoffen beging, im übrigen gesund, ungemein tätig und rege war, und der mit Hilfe der Medikamente sich zeitweilig „künstlich aufrechterhielt“. Im Harn fand sich häufig Hämatorporphyrin. Nach den neusten Arbeiten von O. Schumm (1916) kann man u. U. erwarten, daß Hämatorporphyrinurie mit Hämatinämie verknüpft sein könnte, nachdem der Autor bei Hämatorporphyria congenita (Günther) an einem klassischen Falle beide Erscheinungen, vermehrt noch um eine (erstmalig erkannte und beschriebene) Hämatorporphyrinämie beobachtet und mitgeteilt hatte⁴⁾. Die Fälle mit Porphyrin-

¹⁾ Fr. Erben, l. c. 349, R. Kobert, l. c. 786.

²⁾ Zit. nach R. Kobert.

³⁾ Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken. I. Diese Zeitschr. 81, 1/2, 14, 1917, Tab. XI, 59. 6 Fälle bzw. 13 Beobachtungen zur vorstehenden Frage. — Derselbe: Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blutserum. I. Diese Zeitschr. 81, 5/6, 380, 1917, Tab. VII, 400, 4 Fälle.

⁴⁾ O. Schumm, l. c.

urie nach toxischen Einflüssen schienen uns demnach das beste Material für die Förderung der vorliegenden Aufgabe zu sein. Unser erster Fall wird somit von weitergehender Bedeutung sein müssen, um so mehr, als es sich um einen gut beobachteten, jahrelang in ärztlicher Behandlung stehenden Mann handelt¹⁾. In der Literatur (Kobert, Erben, Biochem. Centralbl. seit 1909) finden sich keine Andeutungen für Hämatinämien, die in diesem Kreise auch O. Schumm bisher nicht Gelegenheit hatte zu beobachten.

Unter vielen (10) Fällen mit Salvarsanvergiftung, die ja in diesen Befunden vieldeutig sein kann, fand sich einer mit Ht 2 + bei nicht eindeutig geklärten allgemeinen Vorbedingungen.

Im Verlaufe längerer Arbeitsgelegenheiten zur vorstehenden Frage konnten Fälle untersucht werden, die sich als Gasvergiftungen (allgemeinster Begriff) charakterisieren.

Zu den zahllosen älteren, länger bekannten Quellen von Gasschäden — Kohlenoxyd bzw. CO-Gemischen, Kohlengas, Kohlendunst, Leuchtgas, Heizgas, Wassergas, Minengas, Grubengas, Industriegasen, Motorabgasen u. a. — ist in der jetzigen Zeit der Anlaß hinzugetreten, an Gase von Geschoßexplosionen und ähnliches, an Kampfgase verschiedener Art zu denken. Es ergab sich die Gelegenheit, Patienten mit bereits seit längerer Zeit überstandenen Gasschäden (Kampfgase) zu untersuchen. Unter 12 Beobachtungen ergab sich einmal ein geringer, anderweitig nicht erklärbarer Hämatingehalt, sowie häufiger „hämolytischer“ Gallenfarbstoff ohne spezifische sonstige Vorbedingung. Über einige dieser Fälle, bei denen die Natur der Kampfgase nicht aufgeklärt oder selbst vermutungsweise angedeutet werden konnte, hat u. a. A. V. Knack klinisch berichtet; weitere erhielt Verf. auf anderem Wege zugewiesen²⁾.

Ein fernerer Fall, bei dem nitrose Gasgemische sichergestellt waren, zeigte in fortschreitender Heilung nach mäßigen

¹⁾ Neben vielem weitem Material freundlichst überwiesen von H. Luce, Oberarzt der III. Inneren Abteilung.

²⁾ A. V. Knack, Über Kampfgasvergiftungen. Hbg. Ärzte-Corresp. 27, 292, 8. Juli, 1917. Vortrag im Ärztl. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 19. Juni 1917.

Symptomen am 4. Tage (einmalige Serumprobe) Ht 2 + und Gallenfarbstoff hämolytischer Natur.

Ein gleichfalls hierher gehöriger Fall hatte folgende Voraussetzungen. Ein Heizer (Torpedodienst) stand nach erheblichen Rauchgasschäden (offenbar bei künstlichen Zug) vor der Verhandlung über Dienstbeschädigung¹⁾. Die Untersuchung des Serums dieses im übrigen von sonstigen fraglichen Vorbedingungen für Blutzerfall freien Menschen zeigte, bald nach dem Anlasse, Hämatin in zweifelsfreier und deutlich erkennbarer Menge. Nebenher fand sich durch verzögerte Diazo-reaktion charakterisiertes Bilirubin.

Angesichts der Tatsache, daß 63 Fälle von Kohlenoxyd- bzw. Leucht- bzw. Heizgasvergiftungen mäßigen bis stärkeren Grades nicht einmal Anlaß zur Beobachtung von Hämatin im frischen, nicht häufig erheblich hämolytischen Blute boten²⁾, ferner gegenüber derselben ebenso bestimmt gefaßten Angabe von O. Schumm³⁾ kann man zur Zeit wohl sagen, daß Kohlenoxydgase für sich oder in geeigneten Gemischen (frei von sonstigen Gasgiften) Hämatinübertritt ins Serum nicht verursachen bzw. das Zerfallsprodukt in nachweisbarer Menge nicht bilden. Es mußte für den vorliegenden Fall zwingend die Mitwirkung weiterer toxischer Produkte gefordert werden. Sie lassen sich auch voraussetzen, da bei den in Rede stehenden Gasstoffen verschiedene Möglichkeiten offenbleiben. Immerhin kann dieser Fall zur Zeit nicht näher gedeutet werden.

Endlich soll hier kurz auf eine Untersuchungsreihe hingewiesen werden, die es wahrscheinlich macht, daß bei akuten und chronischen Nikotinvergiftungen — Abusus von Tabak unter Einschränkung wirksamer Bestandteile der Ernährung — Hämatin auftreten kann. Der bisher für diese Ansicht maßgebende Fall (von sonst sehr raren) betrifft einen 19jährigen Südamerikaner, bei dem eingehendere Untersuchungen

¹⁾ Material überwiesen von einem Marine-Lazarett mit dem Ansuchen um Auffindung von Anhaltspunkten für gutachtliche Verwertung.

²⁾ Durchgeführt im Laufe von 3 Jahren im Allgemeinen Krankenhaus Barmbeck unter freundlicher, aufmerksamer Mitwirkung von E. Querner, A. V. Knack, R. Deussing, M. Bockhorn.

³⁾ O. Schumm, l. c. 1916, 47 (Hämatin), Vergiftungen, 4. „Kohlenoxyd-(Leuchtgas-)Vergiftung — Reaktion negativ“.

die Forderung des Ausschlusses weiterer, zu Hämatinbildung tendierender Faktoren erfüllen.

Im Anschlusse an die Zusammenfassung des bis dahin vorliegenden Beobachtungsmateriales durch Schumm (1916) ergibt sich für das Vorkommen von Hämatin als pathologischen Bestandteil des Blutes auf Grund toxikologisch-pharmakologischer Voraussetzungen durch vorstehende Ergebnisse nunmehr das folgende Bild.

Zusammenfassung:

I. Anorganische Substanzen.

1. Chromat, Reihenuntersuchung 1 Fall Sch. 1913¹⁾
2. Chlorat, Reihenuntersuchung 1 Fall. Experimentell-toxikologische Bearbeitung auf breiterer Basis F. 1914
3. Bromate. Experimentelle Prüfung F. 1917
4. Kohlenoxyd (Leuchtgas) u. a. Klinisches Material Sch. 1916
F. 1917
5. Unbekannte bzw. im einzelnen nicht definierte oder analysierte Gasgemische:
 - a) Kampfgase (ältere Fälle) F. u. A. V.
Knack 1917
 - b) Nitrose Gase (Gemische) 1 Fall F. 1917
 - c) Rauchgase (künstlicher Zug usw.) mit unbekanntem Beimengungen 1 Fall F. 1917
6. Argyrie Sch. 1916

II. Organische Substanzen.

1. Phenole, Resorcin 1 Fall F. 1917
2. Nitrokohlenwasserstoffe:
 - a) Nitrobenzol experimentell F. 1917
 - b) Dinitrobenzol mehrere Fälle Sch. 1916
u. Becker
 - c) Trinitrotoluol experimentell F. 1917
3. Nitrophenole, Pikrinsäure 2 chronische Fälle . F. 1917
4. Amine:
 - a) Acetanilid 1 Fall F. 1917
 - b) Exalgin experimentell F. 1917
 - c) p-Phenylendiamin 1 Fall F. 1917

¹⁾ Sch. = O. Schumm; F. = Joh. Feigl.

5. Hydrazinderivate:

- | | |
|--|--------------------------|
| a) Pyrodin experimentell | F. 1917 |
| 6. Maretin mehrere Fälle | Sch. 1916
(C. Hegler) |
| 7. Trional, Sulfonal } ein genau charakterisierter, | F. 1917 |
| 8. Trigemin u. a. } ein fraglicher Fall | F. 1917 |
| 9. Tabakmißbrauch, ein genauer charakterisierter,
mehrere fragliche Fälle | F. 1917 |

Wie die vorstehende Zusammenstellung lehrt, sind die Beobachtungen über das Vorkommen von Hämatin im menschlichen Blutserum unter der Einwirkung toxischer Verbindungen mittlerweile weiter erheblich angewachsen. Schumm benannte aus diesem Ausschnitte der Hämatinämie auch negative Ergebnisse, so an Bleiintoxikationen. Bei der größeren Anzahl positiver Befunde glauben wir einstweilen die Statistik negativer Feststellungen entbehren zu dürfen, obgleich ihre Zahl sehr groß ist und sich auf zahlreiche Gruppen typischer Gifte erstreckt. Indes lassen teilweise vereinzelte Beobachtungen kaum die Formulierung endgültiger negativer Ansichten zu.

Die beobachteten Fälle von Hämatinämien erstrecken sich vorwiegend auf Vergiftungen mit den als Methämoglobinbildner bezeichneten, erkannten bzw. vermuteten Stoffen — Nitrokörpern, Resorcin, Acetanilid, Phenylendiamin, Pyrodin u. a. Stoffe, bei denen die Entstehung von Methämoglobin nicht oder kaum festgestellt bzw. vorausgesetzt war, sind die Körper der Trionalgruppe, Trigemin, Nicotinmißbrauch sowie besonders die Gasgemische, bei denen indes die Frage nach ihrer genauen Zusammensetzung offenbleibt. Es liegen also die Ergebnisse in zwei, m. E. unterscheidbaren Richtungen. Einmal findet sich Hämatin bei den typischen Blutgiften vergesellschaftet und gleichzeitig mit überwiegenden Mengen Methämoglobin. Ferner tritt es da auf, wo Methämoglobin weder im Vollblut noch im Serum (nach O. Schumm und C. Hegler) dem Nachweise zugänglich ist. Wenn auch der Nachweis des Hématins im Serum der Erkennung des MtHb. im Vollblut ganz erheblich an Schärfe überlegen ist, und nahezu sicher auch den des MtHb. nach Übertritt ins Serum übertrifft, so ist doch nicht endgültig abzulehnen, daß auch die zweite Gruppe der Hämatinbildner zugleich oder vorher MtHb. zu erzeugen vermöchte. Aus dieser Sachlage

kann man zunächst wohl einen Schluß ziehen, nämlich den, daß der Nachweis des Hämatins einen empfindlicheren Indicator für mehr oder minder energischen Blutzerfall darzustellen vermag. Die sichere Erkennung des Hämatins liegt in Beträgen, die vielfach kleiner sind als die zur Einmessung nötigen Methämoglobinmengen im Blute, vielleicht auch im Serum.

Die Methämoglobinbildner erzeugen gleichzeitig Hämatin. Damit charakterisiert sich ihre Wirkung in neuem Lichte. Nach den wenigen (bis 1916, O. Schumm) Beobachtungen konnte nur vermutet werden, daß die Systematik diesen Zug würde als typisch annehmen müssen; nachdem zur Zeit jedoch weit mehr Individuen und differente Typen als Hämatinerzeuger erkannt sind, wird die veränderte Auffassung mit höherem Rechte zur Gewißheit. Alle Methämoglobinbildner erzeugen gleichzeitig Hämatin, soweit unsere gegenwärtige Kenntnis reicht. Der Nachweis des Blutzerfalls ist indes durch die Prüfung auf Hämatin verschärft und gelingt auch da, wo MtHb. sich dem Nachweise entzieht, in Fällen geringer wie abgelauener Erscheinungen. Möglich ist dabei, daß Methämoglobin (welche Modifikation entsteht, kann zur Zeit als nicht näher geprüft, nur angedeutet werden) rückgebildet oder zum Teil zerlegt wird, so daß Hämatin für sich frei wird und länger kreist.

Bei den Substanzen wie Sulfonal usw. steht ursprünglich die Erscheinung der Hämatoporphyrinurie im Vordergrund. Nun hat sich gezeigt, daß sie unter gewissen Voraussetzungen Hämatin zu bilden vermögen. Damit rückt diese Beziehung in Anschluß an die Porphyrinurie mit Hämatinämie (und Porphyrinämie) bei Hämatoporphyrinuria congenita nach Schumms neuen vortrefflichen Untersuchungen. Die experimentell zur Zeit noch unübersteiglich scheinende, analytische Forderung nach Auffindung von Porphyrin im Blutserum von Menschen mit toxischen Porphyrinurien muß im Gesichtsfelde verbleiben.

Schlußsätze.

In der vorliegenden Abhandlung wird über neue sowie erweiterte Beobachtungen berichtet, die die Auffindung von Hämatin im menschlichen Blutserum zum Gegenstande haben.

Es wurden toxikologisch-pharmakologische Verhältnisse beim Menschen — tödliche, lebenbedrohende, leichtere Vergiftungen

sowie chronische Erscheinungen nach Mißbrauch von Medikamenten und Nicotin — sowie tierexperimentelle Versuche zur Prüfung herangezogen.

Hämatin fand sich, zum Teil gemeinsam und gleichzeitig mit Methämoglobin bei schwereren Vergiftungen mit typischen Methämoglobinbildnern (Resorcin, Trinitrotoluol, Acetanilid, Exalgin, Pyrodin, Paraphenyldiamin). Es fand sich — allein nachweisbar bei anscheinend geringgradigen chronischen Vergiftungen (Pikrinsäure u. a.) sowie fast allein bei Einwirkung von Bromaten, ferner isoliert bei chronischem Mißbrauch von Trional, Sulfonal, Trigemin, Tabak u. a. Endlich zeigte es sich im Serum nach teilweise weiter zurückliegenden, teils auch frischen Fällen an Gasintoxikationen. Sowohl für erstere (Rauchgase) wie für letztere (Gemische mit Stickstoffoxyden, Nitrose; Rauchgase bestimmter Herkunft) ließ sich eine chemische bzw. toxikologisch-pharmakologische Analyse der Gasmenge nicht mehr durchführen. Die toxikologische Statistik wird erweitert.

Unter den zur Beobachtung herangezogenen Fällen befand sich eine tödliche Resorcin-(Salben-)Vergiftung eines Säuglings, eine akute Acetanilidvergiftung (mit 3,3 g), eine chronische p-Phenyldiaminvergiftung (Kosmetikum), chronische Fälle von Abusus mit Schlafmitteln und Nicotin sowie Gasschäden verschiedener Art, chronische, klinisch wenig besagende Einwirkungen von staubförmiger Pikrinsäure.

Über die Desinfektionswirkung von Chinaalkaloiden auf pathogene Bacillen.

Von
R. Bieling.

(Aus der Bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der
Universität Berlin.)

(Eingegangen am 11. September 1917.)

Mit 4 Figuren im Text.

Der Nachweis der äußerst starken Desinfektionswirkung der Äthylverbindung des Hydrocupreins, des Optochin, auf die Pneumokokken im Tierkörper durch Morgenroth und Levy hatte der Chemotherapie Ehrlichs völlig neue und weite Entwicklungsmöglichkeiten gegeben; denn er zeigte an einem hervorragenden Beispiel, daß eine spezifische Desinfektion im erkrankten Organismus neben den Protozoenerkrankungen nunmehr auch bei bakteriellen Infektionen durchführbar ist. Die fortschreitende Entwicklung der chemischen Erforschung der Chinaalkaloide ermöglichte es nun unter steter Berücksichtigung der Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und chemotherapeutischer Wirkung¹⁾, das angeschnittene Gebiet systematisch im Sinne Morgenroths zu durchforschen. Aber erst mit der Darstellung der höheren Homologen der Hydrochinreihe mit 5 bis 12 Kohlenstoffatomen in der Seitenkette des Chinolinkerns entstanden Verbindungen, deren biologische Wirksamkeit einen weiteren Spielraum zeigte. Dementsprechend hatten denn auch die älteren Versuche, die sich im wesentlichen auf Chinin, Hydrochinin, Optochin und deren Derivate, also auf Verbindungen mit ein und zwei Kohlenstoffatomen in der Seitenkette beschränkten, neben den Pneumokokken lediglich den *Micrococcus melitensis* als hoch empfindlich nachweisen

können ^{1a)}). Die Desinfektionswerte für alle anderen bakteriellen Infektionserreger waren nur relativ gering, denn die große Anzahl von anderen Kokken und Bacillen, die von verschiedenen Seiten geprüft wurden, erwiesen sich als schwach empfindlich. Die betreffenden Versuche erstreckten sich auf Typhus ²⁾, Paratyphus B ³⁾, Kolibacillen ⁴⁾, den Friedländerschen Pneumoniobacillus ^{4, 5)}, den Bacillus pyocyaneus ⁴⁾, den Diplobacillus Morax-Axenfeld ⁴⁾ und den Influenzabacillus ⁴⁾, sowie auf Staphylokokken ^{3, 4)} und Streptokokken ^{4, 7)}.

Nur bei den Meningokokken erhoben sich die Werte so weit, daß bei den besonderen Bedingungen, die für eine Desinfektion in dem abgeschlossenen, räumlich beschränkten Lumbalkanal gegeben sind, eine praktische Benutzung durchaus angezeigt sein konnte. Nach den Versuchen, die unter Kurt Meyers Leitung G. Nachmann ¹²⁾, ferner v. Gutfeld und Löser, sowie Bieling in Morgenroths Laboratorium ausführten, liegen die Werte für die Wachstumshemmung und Abtötung der Meningokokken beim Chinin zwischen Verdünnungen von 1:2500 und 1:5000, beim Optochin dagegen schon bei Verdünnungen von 1:10000. Die Werte, die Löser ⁸⁾ bei der Behandlung des Schweinerotlaufbacillus mit Chinin und Optochin fand, sind relativ niedrig und noch dazu von einer Reihe äußerer Versuchsbedingungen abhängig, so daß ihre Bedeutung wohl mehr in der Feststellung liegt, daß einer Ausdehnung der Erforschung der Chininderivate von den Kokken auf die Bacillen kein absolutes Hindernis entgegensteht. Aber erst nachdem die starke Desinfektionswirkung der höheren Homologen der Hydrochininreihe auf die Streptokokken und Staphylokokken durch Morgenroth und Tugendreich ^{8a)} bekannt geworden war, gelang es Schäffer ⁹⁾ unter Brauns Leitung zu zeigen, daß auch ein menschenpathogener Bacillus von der Isoamylverbindung des Hydrocupreins, dem Isoamylhydrocuprein (Eucupin) in hohem Maße beeinflusst wird. Diese Versuche, deren ausführliche Publikation durch Braun und Schäffer wohl bevorsteht*), haben zum

*) Anm. bei der Korr. Dieselbe ist inzwischen erfolgt. S Braun und Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 37, und diese Zeitschr. 63, 269. Die wichtigen neueren Befunde der Autoren müssen in den Originalen nachgelesen werden, besonders die Beobachtungen über die Wirkung der höheren Homologen des Eucupin.

erstermal die Möglichkeit einer spezifischen chemotherapeutischen Behandlung einer bacillären Infektion mit Chinaalkaloiden dargetan. Denn das Eucupin erwies sich als ein hochwertiges, von Eiweißzusatz relativ unabhängiges Desinfizien für Diphtheriebacillen. Ihr Wachstum wurde noch durch Verdünnungen des Eucupins von 1:50000 bis 1:100000 gehemmt. Davon ausgehend konnte dann durch Morgenroth und Bieling¹⁰⁾ gezeigt werden, daß auch der anaerobe Gasbrandbacillus von dem Eucupin und in noch höherem Maße von dem Isoctylhydrocuprein (Vuzin), also von dem homologen Glied der Reihe mit 8 Kohlenstoffatomen abgetötet wird. Die Werte für die Desinfektionswirkung liegen bei den Reagensglasversuchen bei Eucupinverdünnungen von 1:20000 und Verdünnungen des Isoctylhydrocuprein (Vuzin) von 1:40000. Die Wirksamkeit dieser letzten Verbindung im prophylaktischen Versuch am Meerschweinchen ließ dann in dem Isoctylhydrocuprein (Vuzin) ein auch für die Desinfektionswirkung im Körpergewebe geeignetes Mittel erkennen*).

Nachdem sich hier die Isoctylverbindung als besonders wirksam erwiesen hatte, erschien es wertvoll, in Anschluß an Braun und Schäffer, besonders im Hinblick auf die augenblickliche Dringlichkeit derartiger Fragen, die Untersuchung der Diphtheriebacillen auch mit den höheren Homologen der Hydrochinreihe durchzuführen und genauer zu studieren. Weiterhin interessierte nunmehr nach den erwähnten Gasbrandversuchen vor allem die Frage, ob der zweite menschenpathogene Anaerobier, der dem Gasbrandbacillus in vielem so nahestehende Tetanusbacillus, ebenfalls der Wirkung der Chininderivate unterliegt, und weiter auch der aerobe menschenpathogene Sporenbildner, der Milzbrandbacillus. Gerade für diesen hatte bereits eine frühere größere Anzahl von Versuchen mit Salvarsan gezeigt^{10a)}, daß dieses Stäbchen einer Beeinflussung durch innere Desinfizientien in hohem Maße zugänglich ist. Die Erfolge Biers^{10b)} bei der Behandlung von Abscessen mit den Chinaalkaloiden Morgenroths gibt der Frage nach der

*) Anm. Über die Behandlung des menschlichen Gasbrands mit Vuzin s. neuerdings Klapp, Deutsche med. Wochenschr. 1917, Nr. 44.

Wirksamkeit dieser Mittel auch auf den Milzbrandbacillus ein besonderes praktisches Interesse.

Die folgenden Versuche zeigen nun, daß neben dem Gasbrandbacillus und dem Diphtheriebacillus auch der Milzbrand- und der Tetanusbacillus durch sehr starke Verdünnungen der höheren Homologen der Hydrochinreihe abgetötet werden, daß dagegen das Maximum der Wirkung für die verschiedenen pathogenen Stäbchen nicht immer derselben Verbindung zukommt.

1. Diphtheriebacillen.

Zu den folgenden Untersuchungen wurde ein Diphtheriestamm benutzt, der im Laboratorium seit langem als Stamm Enoch fortgezüchtet worden war. Die Technik der Desinfektionsversuche im Reagensglas gestaltete sich folgendermaßen: Ausgehend von einer frischen, d. h. nicht über 4 Tage alten 1% wäßrigen Lösung des zu prüfenden Alkaloids wurden geeignete Verdünnungen in Wasser hergestellt und hiervon wechselnde Mengen — maximal 0,4 ccm — in Jenaer Röhrchen gebracht und mit 1% Traubenzuckerbouillon auf 2 ccm aufgefüllt. So entstanden die gewünschten, in den Tabellen später angeführten Endverdünnungen des Heilmittels in der Nährlösung. Diese wurden nun mit einem Tropfen einer gut bewachsenen frischen Traubenzuckerbouillon-Kultur oder einer mit Bouillon hergestellten Abschwemmung einer frischen Löffler-serum-Kultur beimpft und in den Brutschrank gebracht. Am folgenden Tag, also nach 20 bis 24 Stunden, wurde dann eine große Öse der beimpften, einen Tag bebrüteten Bouillon auf Löffler-Serum ausgestrichen und nach weiteren 24 Stunden untersucht. Blieb der Impfstrich unbewachsen, so bezeichneten wir dies mit 0, war er mit einem Rasen bewachsen, so wie dies stets bei der Kontrolle der Fall war, mit +++ . Die dazwischen liegenden Unterschiede in der Zahl der bewachsenen Kolonien wurde mit + und ++ der Menge nach gekennzeichnet.

Die Ergebnisse dieser Reihenversuche zeigt die folgende Zusammenstellung, in der die Endergebnisse bei der Züchtung auf Löffler-Serum eingetragen sind.

Tabelle I.

Einwirkung auf Diphtheriebacillen.

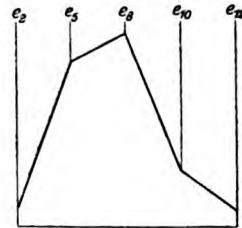
Nr.	Optochin hydrochl.	Eucupin bihydrochl.	Isoctylhydrocuprein bihydrochl.	Decylhydrocuprein bihydrochl.	Dodecylhydrocuprein bihydrochl.
1	1/5000 —	1/50000 —	1/50000 —		
	1/10000 +	1/100000 +	1/100000 +		
	1/25000 +++		Kontrolle+++		
2	1/10000 —	1/100000 —			
	1/25000 +++	1/20000 +			
		Kontrolle+++			
3	1/10000 —	1/80000 —	1/100000 —		
	1/20000 +++	1/100000 +	1/400000 +		
			Kontrolle+++		
4		1/40000 —	1/40000 —	1/20000 —	1/5000 —
		1/60000 +	1/60000 +	1/40000 ++	1/10000 +
		1/80000 +	1/80000 +	1/60000 +	1/20000 +
		1/100000 +++	1/100000 +	1/80000 ++	1/40000 +++
			1/200000 +++	1/100000 +++	Kontrolle+++

Die Versuche zeigen, daß in Optochinverdünnungen von 1:5000 bis 1:10000 die eingesäten Diphtheriebacillen in etwa 24 Stunden abgetötet werden, während in einer Verdünnung von 1:20000 bis 1:25000 ungehemmtes Wachstum stattfindet. Beim Eucupin sind die Desinfektionswerte bis zu 10mal größer. Abtötung der Einsaat bewirken hier noch Verdünnungen von 1:40000 bis 1:100000, während selbst Verdünnungen bis zu 200000 noch eine deutliche Wachstumshemmung zustande bringen. Diese Zahlen stimmen im wesentlichen mit jenen überein, die seinerzeit Schäffer mitgeteilt hat. Steigt man nun von der Amylverbindung dem Eucupin noch weiter in der homologen Hydrochinreihe bis zum Isoctylhydrocuprein an, so sieht man hier nochmals eine, wenn auch zumeist nicht sehr ausgesprochene Steigerung der Desinfektionswirkung. Von den drei vergleichenden Versuchen zeigt nur der eine (Nr. 3) eine deutlich bessere abtötende Wirkung des Isoctylhydrocupreins im Vergleich zum Eucupin, während in den beiden anderen, bei der gewählten Methodik kein Unterschied zum Ausdruck kam. Immerhin ergibt auch der Versuch 4, daß die wachstumshemmende Zone beim Isoctylhydrocuprein weiter reicht als beim Eucupin. Die höheren Homologen mit 10 und 12 Kohlenstoffatomen in der Seitenkette haben bereits wieder

bedeutend geringere Desinfektionswerte. Decylhydrocuprein ist in Versuch 4 nur noch halb so stark, Dodecylhydrocuprein nur noch etwa $\frac{1}{10}$ so stark als Eucupin*).

Stellt man die Ergebnisse der Desinfektionsversuche in Traubenzuckerbouillon kurvenförmig dar, um das Verhältnis der abtötenden Wirkung (bei 24 stündiger Versuchsdauer) der einzelnen Glieder der homologen Reihe zueinander wiederzugeben, so erhält man etwa folgendes Bild:

Wesentlich anders wird diese Kurve der Abtötungswirkung im Reagensglas, wenn man für die Desinfektionsprüfungen eine eiweißhaltige Nährflüssigkeit in der Form der Ascitesbouillon wählt. Wir konnten schon früher zeigen, daß dem Isoctylhydrocuprein eine im Vergleich mit den niedrigeren Homologen der Reihe relativ ziemlich erhebliche Affinität zu Körpersubstanzen zukommt. Aber immerhin



Kurve 1.

kam nach den Versuchen von Morgenroth, Tugendreich und Bieling auch im eiweißhaltigen Medium dem Isoctylhydrocuprein die stärkste, absolut sehr hohe Wirkung unter den verschiedenen Gliedern der homologen Reihe auf Streptokokken, Staphylokokken und Gasbrandbacillen zu. Hier bei den Diphtheriebacillen liegen nun die Verhältnisse im allgemeinen ungünstiger für die Isoctylverbindung. Genügt doch schon ein relativ geringer Eiweißzusatz wie bei der 17%igen Ascitesbouillon, um seine Wirkung so weit abzuschwächen, daß es von dem Eucupin übertroffen wird.

Diese Beziehungen erläutert ein vergleichender Versuch, in dem die Wirkung von Eucupin, Isoctylhydrocuprein und Decylhydrocuprein auf Diphtheriebacillen in der oben geschilderten Weise in 1%iger Traubenzuckerbouillon und gleichzeitig ganz analog in 17%iger Ascitesbouillon (100 Bouillon, 20 Ascites) bestimmt wurde.

Das Ergebnis der Abimpfung auf Löffler-Serum nach ein-

*) Anm. bei der Korr. Schaeffer (l. c.) beobachtet bei Isoctylhydrocuprein und Decylhydrocuprein eine sehr erhebliche Steigerung der Wirkung im Vergleich zum Eucupin. Es mag dies vielleicht mit dem differenten Verhalten verschiedener Stämme zusammenhängen.

tägigem Aufenthalt im Brutschrank gibt die folgende Zusammenstellung.

Tabelle II.

Wirkung auf Diphtheriebacillen in eiweißhaltigem und eiweißfreiem Medium.

Traubenzuckerbouillon		Ascitesbouillon	
Eucupin bihydrochloricum			
1/40000	—	1/30000	—
1/60000	+	1/40000	+
1/80000	+	1/50000	+++
1/100000	+++	Kontrolle	+++
Kontrolle	+++		
Isoctylhydrocuprein bihydrochloricum			
1/40000	—	1/10000	—
1/60000	+	1/20000	+
1/80000	+	1/30000	+
1/100000	+	1/40000	+
1/200000	+++	1/60000	+
		1/80000	+++
			(1 Kolonie)
			(9 Kolonien)
			(10 Kolonien)
			(ca. 10 Kolonien)
Decylhydrocuprein bihydrochloricum			
1/20000	—	1/1000	—
1/40000	++	1/5000	+
1/60000	+	1/10000	+
1/80000	++	1/20000	+
1/100000	+++	1/40000	+++
			(1 Kolonie)
			(4 Kolonien)
			(1 Kolonie)

Dieser Versuch zeigt, daß durch den Eiweißzusatz die Desinfektionskraft des Eucupins nur unwesentlich herabgesetzt wird. Der Grenzwert sinkt nämlich von der Verdünnung 1:40000 auf 1:30000. Dagegen nimmt die Wirkung der beiden höheren Homologen der Hydrochinreihe mit 8 und 10 Kohlenstoffatomen für Diphtheriebacillen erheblicher infolge des Zusatzes der Ascitesflüssigkeit ab. Bei der Octylverbindung schrumpft der Desinfektionswert auf etwa die Hälfte bis den 4. Teil, bei der Decylverbindung wohl noch weiter zusammen. Allerdings erfolgt auch in Konzentrationen, in denen die Abtötung innerhalb der Beobachtungszeit nicht mehr völlig gelingt, kein Wachstum der eingesäten Diphtheriebacillen mehr, ja es wird sogar offenbar ein Teil der Einsaat abgetötet, wie die geringe Anzahl der vermehrungsfähigen Keime in diesen Verdünnungen zeigt. Diese Herabsetzung der Desinfektionskraft des Isoctylhydrocupreins für Diphtheriebacillen durch Zusatz von Körperflüssigkeit läßt seine Werte unter diejenigen

des Eucupins sinken. Das zeigen auch die übrigen Versuche, in denen die gleichzeitige Bestimmung der Hemmungswirkung in Traubenzuckerbouillon unterblieb.

Tabelle III.

Wirkung auf Diphtheriebacillen in eiweißhaltigem Medium.

Nr.	Chinin hydrochl.	Optochin hydrochl.	Eucupin bihydrochl.	Isoctylhydrocuprein bihydrochl.	Decylhydrocuprein bihydrochl.	Dodecylhydrocuprein bihydrochl.
1	1/1000 + 1/5000 +++	1/5000 +++	1/10000 - 1/50000 +++	1/10000 + 1/50000 +++	1/10000 - 1/50000 +++	1/10000 - 1/50000 +
2	1/1000 - 1/2500 + 1/5000 +++	1/1000 - 1/2500 ++ 1/5000 +++	1/20000 - 1/30000 + 1/40000 + 1/60000 +++	1/5000 ++ 1/10000 +++ 1/40000 + 1/60000 + 1/80000 +++	1/5000 ++ 1/10000 +++ 	1/5000 - 1/10000 + 1/20000 +
3		1/5000 -	1/60000 - 1/80000 +++	1/60000 -		
4			1/20000 - 1/40000 + 1/60000 +++	1/10000 - 1/20000 + 1/40000 + 1/60000 + 1/80000 +++		
5			1/40000 - 1/60000 +			

Drei der vier Versuche, in denen die Desinfektionskraft von Eucupin und Isoctylhydrocuprein gleichzeitig in Ascitesbouillon geprüft wurde, zeigen, daß die Amylverbindung der Octylverbindung in diesem eiweißhaltigen Nährboden ganz deutlich überlegen ist. Allerdings wuchsen auch hier aus den unterhalb der abtötenden Dosis liegenden Verdünnungen des Isoctylhydrocupreins nur sehr spärliche Keime in Kolonieform aus, ähnlich wie in dem oben mitgeteilten Versuch. Der Nachweis dieser spärlichen Keime dürfte in dem Versuch 3 nicht gelungen sein. Hier wurde die bei stärkerer Konzentration erwartete Grenze der Wirksamkeit bei der Einstellung nicht erreicht, immerhin ergibt sich doch, daß die Wirkung starker Verdünnungen des Isoctylhydrocupreins auf Diphtheriebacillen in Ascitesbouillon unsicher wird und daß sie zumeist der des Eucupins unterlegen ist.

Auch hier bleibt also der Anstieg vom Optochin zum Eucupin, wie ihn die Kurve 1 zeigte, bestehen, doch sinkt dann die Wirkung beim Übergang zur Isoctylverbindung bereits wieder ab, im Gegensatz zu der Kurve der Werte

aus Traubenzuckerbouillon, wo sogar ein leichter Anstieg verzeichnet werden konnte. Die folgenden Werte für Decyl- und Dodecylhydrocuprein stehen noch unter dem Isoctylhydrocuprein, wobei es vorläufig dahingestellt bleiben mag, ob der geringgradige Anstieg von der Decyl- zur Dodecylverbindung bei einer häufigeren Wiederholung der Vergleichsversuche bestätigt würde. Praktisch wichtig ist jedenfalls die stärkere Abnahme der Desinfektionswirkung des Isoctylhydrocupreins für Diphtheriebacillen bei Zusatz von Körperflüssigkeit. Dieser weist darauf hin, daß für die Anwendung im Organismus zumeist die Isoamylverbindung (Eucupin) in Betracht kommen dürfte. Während also in Traubenzuckerbouillon die Wirkung der homologen Hydrochininreihe auf die Diphtheriebacillen ungefähr jener parallel geht, die für die pathogenen Kokken und die Gasbrandbacillen bekannt war, ändert sich bei Eiweißzusatz die Kurve und bekommt eine für die Diphtheriebacillen charakteristische Gestalt.

Die Ergebnisse, die bei der Prüfung eines Infektionserregers gefunden wurden, lassen sich also auch hier nicht ohne weiteres auf einen anderen übertragen, dessen Beeinflussbarkeit durch irgendeines der Glieder der homologen Reihe bekannt ist. Immerhin aber dienen uns die Erfahrungen bei anderen pathogenen Bakterien mit als Wegweiser.

Nun hatten Versuche von Morgenroth und Bumke an Streptokokken und Staphylokokken in den sogenannten Toxinen der Hydrochininreihe besonders wertvolle Desinfektionsmittel erwiesen, während ihnen nach den Versuchen von Morgenroth und Bieling gegenüber den Gasbrandbacillen keine stärkere Wirkung zukam. Eine vergleichende Prüfung in Ascitesbouillon ergab nun, daß die Aufhebung der Ringbindung am N in dem Chinuklidinrest, also die Überführung in das sogenannte Toxin, die Stärke der Desinfektionswirkung des Eucupins für Diphtheriebacillen bei längerer Einwirkungsdauer nicht vergrößert.

Die beiden nach der oben geschilderten Technik in Ascitesbouillon vorgenommenen Prüfungen des Eucupins und des zugehörigen Eucupinotoxins zeigen dies übereinstimmend.

Auch hier ergibt sich also wiederum ein Unterschied gegenüber den Befunden bei pathogenen Kokken und eine Analogie

Tabelle IV.

Wirkung von Eucupin und Eucupinotoxin auf Diphtheriebacillen (24 Stunden), in Ascitesbouillon.

Nr.	Eucupin bihydrochl.	Eucupinotoxin hydrochl.
1.	1/20 000 —	1/20 000 —
	1/40 000 +	1/40 000 +
	1/60 000 +++	1/60 000 +++
2.	1/20 000 —	1/20 000 —
	1/40 000 —	1/40 000 —
	1/60 000 +	1/60 000 +

zu denjenigen bei Gasbrandbacillen insofern, als die absolute abtötende Wirkung des Eucupinotoxins auf Diphtheriebacillen diejenige des Eucupins nicht übertrifft. Dennoch aber bietet das Eucupinotoxin einen praktisch sehr wertvollen Vorteil, denn genau so wie dies schon Morgenroth und Bumke für die Kokken zeigten, kommt ihm auch gegenüber den Diphtheriebacillen eine bedeutend raschere und promptere Wirkung zu. Diese Beziehungen erläutert der folgende Versuch.

Die Technik ist unter Verwendung von Ascitesbouillon genau so wie bisher, doch erfolgt die Abimpfung auf Löffler-serum und damit die Prüfung der Desinfektionswirkung nicht lediglich nach einem Tag, sondern vielmehr

1. sofort nach der Beimpfung und Durchmischung,
2. nach $\frac{1}{2}$ stündigem Aufenthalt im Wasserbad bei 37°,
3. nach 3 stündigem Aufenthalt im Wasserbad bei 37°,
4. nach 22 stündiger Bebrütung, also nach 3 stündigem

Aufenthalt im Wasserbad und 19 stündigem Aufenthalt im Brut-schrank. Auf diese Weise konnte in Stichproben der zeitliche Ablauf der Desinfektionswirkung verfolgt werden. Das Ergebnis der Abimpfung auf Löffler-serum zeigt die folgende Tabelle. Die Bezeichnung der Resultate erfolgt wie oben, — bedeutet, daß keine Abimpfung vorgenommen wurde.

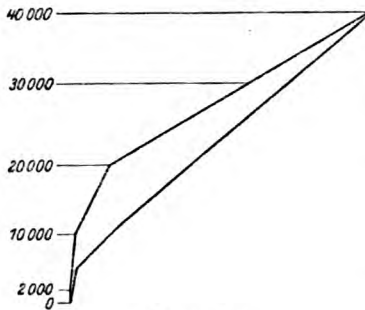
Sofort nach der Mischung hat also eine Eucupinverdünnung 1:500 bereits alle eingesäten Diphtheriebacillen abgetötet. In den Verdünnungen 1:1000 und 1:2500 ist ebenfalls, wie der Vergleich mit der Kontrolle lehrt, bereits ein Teil der Einsaat vernichtet. Die sofortige Wirkung des Eucupinotoxins dagegen ist mindestens 10mal so stark. In einer Verdünnung 1:5000 konnten sofort nach der Beimpfung schon keine entwicklungs-

Tabelle V.

Zeitlicher Verlauf der Wirkung von Eucupin und Eucupinotoxin auf Diphtheriebacillen in Ascitesbouillon.

Abimpfung nach	Eucupin bihydrochl.				Eucupinotoxin hydrochl.			
	0'	1/2 h	3 h	22 h	0'	1/2 h	3 h	22 h
1/500	○	○	—	—	—	—	—	—
1/1000	+	○○	○	—	○○	○○	○○	—
1/2500	+	—	—	—	○○	—	—	—
1/5000	—	○○	○○	○○	○○	○○	○○	—
1/7500	—	+	○○	○○	—	○○	○○	○○
1/10 000	—	—	○○	○○	—	○○	○○	○○
1/20 000	—	—	++	○○	—	+	○○	○○
1/40 000	—	—	—	○○	—	+++	+	○○
1/60 000	—	—	—	+	—	—	—	+
1/80 000	—	—	—	—	—	—	—	++
1/100 000	—	—	—	—	—	—	—	+++
Kontrolle	+++	—	—	+++	+++	—	—	+++

fähigen Bacillen mehr nachgewiesen werden, ohne daß diese Konzentration die Grenze darstellt. Auch nach $1/2$ und 3 Stunden ist die Wirkung des Eucupinotoxins noch doppelt so groß als die des Eucupins, dann aber nähern sich die Werte allmählich, und nach 22 Stunden sind die Unterschiede völlig verschwunden. Deutlich wird diese Verschiedenheit in der zeitlichen Wirkung, wenn wir das Ergebnis des Versuches in 2 Kurven darstellen, in der die Abscisse die Zeit, die Ordinate die Stärke der abtötenden Wirkung darstellt.



Kurve 2.

Es wird also deutlich, daß der zeitliche Anstieg der Wirkung bei dem Eucupinotoxin ein viel rascherer ist als bei dem Eucupin. Da es sich hier um eine Wirkung bei Gegenwart von Körperflüssigkeit handelt, so ist diese Feststellung von besonders praktischer Bedeutung,

denn auch bei einer Anwendung etwa zu örtlichen Desinfektionen im Organismus wird es vor allem auf eine rasche Wirkung ankommen.

Diese prompte und sichere Wirkung des Eucupinotoxins auf den Diphtheriebacillus zeigt auch der folgende Versuch am Meerschweinchen, der den vorhergehenden Reagensglasversuch bestätigt und ergänzt.

Zur Infektion wurden 0,2 ccm Bouillonabschwemmung von einer eintägigen Kultur des Diphtheriestammes Enoch auf Löffler Serum benutzt. Die Kulturmenge wurde in einer Reordspritze aufgezogen und dann mit 0,9 ccm einer wäßrigen Lösung von Eucupinotoxin in der Spritze gemischt. Unmittelbar darauf wird der Inhalt der Spritze einem Meerschweinchen subcutan am Bauch injiziert. Ein Kontrolltier erhält nur Kultur. Die Art der Behandlung und ihren Erfolg zeigt das folgende Protokoll des Versuchs vom 21. 6.:

1. Graues Tier, 160 g, 0,2 Kultur, 0,9 Eucupinotoxin 1:1000

22. 6. munter, glatt,

26. 6. munter, glatt, entlassen.

2. Rechter Vorderfuß blau, 160 g, 0,2 Kultur, 0,9 Eucupinotoxin 1:10000:

22. 6. munter, glatt,

26. 6. munter, glatt, entlassen.

3. Nr. 75, 270 g, 0,2 Kultur, Kontrolle:

22. 6. krank,

23. 6. krank, dünne teigige Schwellung auf dem Bauch,

24. 6. tot gefunden, ausgedehntes sulzig-glasiges Ödem auf Brust und Bauch, Nebennieren rot.

Die beiden 160 g schweren Tiere, die die Diphtheriekultur mit Eucupinotoxin 1:1000 und 1:10000 erhielten, waren also am nächsten Tage munter und glatt und blieben es in der folgenden Beobachtungszeit von 5 Tagen. Eine Infektion trat bei ihnen nicht ein. Dagegen war das erheblich schwerere Kontrolltier bereits am 1. Tag krank, starb in der Nacht vom 2. zum 3. Tag und zeigte das für die Diphtherieinfektion des Meerschweinchens typische Sektionsbild. Innerhalb des Körpers eines infektionsempfänglichen Versuchstieres konnte also eine sicher tödlich wirkende Diphtheriebacillenmenge noch durch eine Eucupinotoxin-Verdünnung 1:10000 unschädlich gemacht werden, so daß die Infektion des Tieres völlig verhindert wurde.

Die aus den Reagensglasversuchen bekannte rasche und starke Wirkung des Eucupinotoxins bleibt diesem also auch im Tierkörper erhalten.

2. Versuche mit Milzbrandbacillen.

Zu den Versuchen über Milzbrand stand ein Laboratoriumsstamm zur Verfügung, der in älteren Kulturen Sporen bildete.

Die Technik der Versuche entsprach völlig derjenigen bei der Diphtherie, doch wurde die Prüfung ausschließlich in Ascitesbouillon (100 Bouillon, 20 Ascites) vorgenommen. Die Abimpfung von den einen Tag im Brutschrank gehaltenen Versuchsröhrchen erfolgte auf Agarplatten. Das Wachstum auf den Impfstrichen am folgenden Tage wird in den folgenden Protokollen angegeben werden. Als Impfmateriale für die Desinfektionsversuche wurden teils frische, teils auch, um die Wirkung auf die Sporen deutlich werden zu lassen, alte Bouillonkulturen gewählt. Die Menge des Impfmateriale betrug stets 2 Tropfen.

Die Ergebnisse der Versuche decken sich im allgemeinen mit den früher mitgeteilten über Gasbrandbacillen.

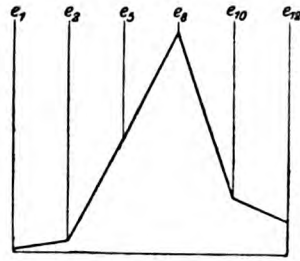
Tabelle VI.

Nr.	Alter der Impfkultur	Chinin hydrochl.	Optochin hydrochl.	Eucupin bihydrochl.	Isoctylhydrocuprein bihydrochl.	Decylhydrocuprein bihydrochl.	Dodecylhydrocuprein bihydrochl.
1.	1 Tag		1/5000+++	1/1000- 1/25000+ 1/50000+++	1/50000- 1/75000++ 1/100000+++		
2.	3 Tage	1/500- 1/1000+++	1/2000- 1/4000+++	1/30000- 1/40000++	1/20000- 1/30000+ (4 Kolonien) 1/40000+ (3 Kolonien)	1/10000- 1/20000+	1/6000- 1/8000+ 1/10000+++
3.	1 Tag			1/30000- 1/35000+++	1/60000- 1/70000+++		
4.	9 Tage			1/10000- 1/20000+++	1/30000- 1/40000+++		

Die Wirkung des Chinins auf Milzbrandbacillen ist also nur sehr gering und wird von der des Optochins kaum übertroffen. Steigt man jedoch in der homologen Reihe weiter an, so zeigt bereits die Amylverbindung, das Eucupin, etwa 10 mal

größere Wirkung. Verdünnungen von 1:10000 bis 1:30000 töten hier die Milzbrandbacillen ab. Die Desinfektionskraft des Isoctylhydrocupreins übertrifft dann nochmals diejenige des Eucupins etwa um das Doppelte, denn hier töten noch Verdünnungen von 1:20000 und 1:60000 die eingesäten Milzbrandbacillen ab. Die Verbindungen mit 10 und 12 Kohlenstoffatomen, das Decyl- und Dodecylhydrocuprein, sind dann bereits wieder viel schwächer und stehen unter dem Eucupin.

Ähnlich wie bei den Versuchen mit Gasbrandbacillen ist also das Isoctylhydrocuprein (Vuzin) auch bei Eiweißzusatz das am stärksten wirksame Glied der homologen Hydrochininreihe für Milzbrandbacillen. Die Kurve der Desinfektionskraft unterscheidet sich demnach von derjenigen, die aus den Diphtherieversuchen in Ascitesbouillon gewonnen wurde. Denn der Gipfel der Wirksamkeit liegt nun nicht mehr bei der Amylverbindung (C_5), sondern bei der Octylverbindung (C_8). (S. Kurve 3.)



Kurve 3.

Die Gasbrandbacillen und die Milzbrandbacillen, anaerobe und aerobe pathogene Sporenbildner, stimmen also dadurch überein, daß sie auch bei Gegenwart von Körperflüssigkeit im Nährboden von der Octylverbindung der Hydrochininreihe stärker angegriffen werden als von der Amylverbindung. Sie unterscheiden sich jedoch auch wiederum et was durch ihr Verhalten gegenüber dem sogenannten Toxin der Alkaloide. Es konnte früher gezeigt werden, daß die Wirkung des Eucupinotoxins auf den Gasbrandbacillus im eiweißhaltigen Nährboden diejenige des Eucupins nur wenig übertrifft und daß die Desinfektionskraft des Isoctylhydrocupreinotoxins unter den gleichen Bedingungen sogar schwächer ist als diejenige des Isoctylhydrocupreins. Beim Milzbrandbacillus übertrifft auch im eiweißhaltigen Kultursubstrat die Wirkung des Toxins stets diejenige des zugehörigen Hydrocupreins.

Zwei vergleichende Versuchsreihen zeigen dies deutlich. Die Untersuchung der nach 24 Stunden beimpften Agarplatten

fand hier aus äußeren Gründen immer erst nach 48 Stunden statt.

Tabelle VII.

Wirkung auf Milzbrandbacillen in Ascitesbouillon.

Nr.	Alter der Impfkultur	Eucupin bihydrochl.	Eucupinotoxin hydrochl.	Isoctylhydrocuprein bihydrochl.	Isoctylhydrocupreinatoxin hydrochl.
1.	1 Tag	1/30 000— 1/35 000+++	1/50 000— 1/60 000+++		
2.	9 Tage	1/10 000— 1/20 000+++	1/30 000— 1/40 000+++	1/30 000— 1/40 000+++	1/40 000— 1/50 000+++

In seinem Verhalten gegenüber dem Eucupinotoxin unterscheidet sich also der Milzbrandbacillus sowohl vom Diphtheriebacillus wie vom Gasbrandbacillus in gewisser Weise. Doch kommt auch hier wiederum dem Eucupinotoxin, ähnlich wie bei den Diphtheriebacillen, eine raschere Wirkung zu als dem Eucupin. Es konnte nämlich gezeigt werden, daß nach ein-tägigem Aufenthalt im Brutschrank die Wirkung des Toxins auf die Bakterien bereits ihren Höhepunkt erreicht hat, während in einem gleichzeitigen Eucupinversuch bis zum 2. Tag noch eine erhebliche Zunahme der Desinfektionswirkung beobachtet wurde.

In dem folgenden Vergleichsversuch mit Eucupin und Eucupinotoxin in Ascitesbouillon wurde sowohl nach 1-tägigem wie nach 2-tägigem Aufenthalt der Röhren im Brutschrank auf Agar abgeimpft mit folgendem Ergebnis.

Tabelle VIII.

	Eucupin bihydrochl.		Eucupinotoxin hydrochl.	
	1 Tag	2 Tage	1 Tag	2 Tage
1/20 000	○	○	○	○
1/25 000	1 Kol.	○	—	—
1/30 000	3 Kol.	○	○	○
1/35 000	+++	+++	—	—
1/40 000	9 Kol.	+++	○	○
1/45 000	+++	—	—	—
1/50 000	+++	—	○	○
1/60 000	—	—	+	+++
1/70 000	—	—	+++	+++

Nach 1 tägigem Aufenthalt im Brutschrank hat also das Eucupinotoxin bereits das Maximum seiner Wirkung mit der Grenze bei der Verdünnung 1:50000 erreicht. In den folgenden 24 Stunden findet eine weitere Steigerung nicht mehr statt, ja in dem Röhrchen 1:60000, das zuerst noch eine gewisse Hemmung gezeigt hatte, kommt es nun sogar zu starkem Wachstum der Milzbrandbacillen. Anders bei dem Eucupin. Hier sind nach einem Tag in dem Röhrchen 1:25000 und 1:30000 noch einige Keime der Vernichtung entgangen, und erst nach 48 Stunden sind auch diese letzten spärlichen Keime abgetötet.

Genau wie bei den Diphtheriebacillen kommt also auch gegenüber dem Milzbrandbacillus dem Eucupinotoxin eine raschere und sicherere Wirkung zu, so daß auch hier sich das Interesse bezüglich der praktischen Anwendung vor allem dieser Verbindung zuwendet.

3. Versuche mit Tetanusbacillen.

Als viertes pathogenes Bakterium, das gegenüber den höheren Homologen der Hydrochininreihe eine erhebliche Empfindlichkeit zeigt, wurde schließlich der Tetanusbacillus ermittelt.

Zu den Versuchen stand ein Stamm zur Verfügung, der aus den Sporen eines festen, mit Ammonsulfat ausgefällten Tetanustoxins gezüchtet wurde. Die Prüfung der Desinfektionswirkung der Chinaalkaloide erfolgte mit derselben Technik, wie sie früher schon für die Gasbrandbacillen verwendet wurde, nämlich in 1% Traubenzuckeragar mit oder ohne Zusatz von 20% Ascitesflüssigkeit. Von einer 1% wäßrigen Lösung des zu prüfenden Alkaloids und daraus frisch hergestellten weiteren Verdünnungen wurden geeignete Mengen, höchstens 1,0 in Jenaer Röhrchen gefüllt, wenn nötig mit 1% Traubenzuckerbouillon auf das Volumen 1,0 gebracht. Dann wurden die Röhrchen mit 9,0 1% Traubenzuckeragar oder mit 2,0 Ascites und 7,0 Traubenzuckeragar auf 10,0 aufgefüllt. Die dadurch entstehenden Endverdünnungen sind in Folgendem angegeben.

Das Ergebnis der orientierenden Versuchsreihen zeigte, daß sich der Tetanusbacillus im wesentlichen genau so verhält wie

der Gasbrandbacillus. Die absoluten Hemmungswerte im Traubenzuckeragar entsprechen im allgemeinen den mit derselben Technik gefundenen für diesen anderen Anaerobier.

Tabelle IX.

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit von Eucupin bihydrochl., Isoctylhydrocuprein bihydrochl. auf den Tetanusbacillus in 1% Traubenzuckeragar. Bestimmung des Wachstums nach 2tägiger Bebrütung.

	Eucupin	Isoctylhydrocuprein
1/40000	○	○
1/60000	○	○
1/80000	1 kleine Gasblase, 1 Kolonie	○
1/100000	mehrere Kolonien	○
Kontrolle	sehr zahlreiche Kolonien.	ein kleines Gasbläschen

Vergleichende Bestimmung der Wirksamkeit von Eucupin bihydrochl., Isoctylhydrocuprein bihydrochl. auf den Tetanusbacillus in 1% Traubenzuckeragar mit 20% Asciteszusatz. Bestimmung des Wachstums nach 2tägiger Bebrütung.

	Eucupin	Isoctylhydrocuprein
1/10000	○	○
1/20000	2 Einzelkolonien	○
1/40000	Gasbläschen und mehrere gaslose Kolonien	einzelne kleinste Gasbläschen
1/60000	do.	kleine Gasbläschen und gaslose Kolonien
1/80000	do.	do.
Kontrolle	do.	

Eine Eucupinverdünnung 1:60000 und eine Verdünnung des Isoctylhydrocupreins 1:80000 unterdrücken also das Wachstum des Tetanusbacillus auf Traubenzuckeragar in diesem Versuche völlig. Wiederum ist also die Octylverbindung der Amylverbindung etwas überlegen. Ein am gleichen Tage mit 1% Traubenzuckeragar unter Zusatz von 20% Ascites ganz analog angestellter Versuch zeigt nun, daß genau wie beim Gasbrandbacillus durch Eiweißzusatz zwar die absoluten Desinfektionswerte vermindert werden, daß jedoch immer noch die Octylverbindung der Amylverbindung überlegen bleibt.

Dieselbe Überlegenheit der Isoctylverbindung auch im eiweißhaltigen Medium zeigen auch die beiden folgenden Versuche in

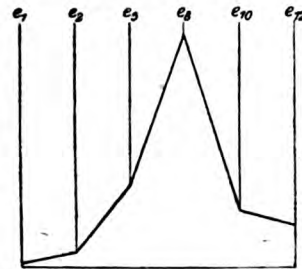
Ascites-Traubenzuckeragar, in denen gleichzeitig ein Überblick über die Wirksamkeit des Chinins und der Hydrochininreihe gegeben wird. In der Zusammenstellung der Ergebnisse ist stets nur die letzte hemmende und die erste nicht mehr hemmende Konzentration angegeben. Die quantitativen Unterschiede ließen sich bei der gewählten Technik nur ganz grob abschätzen und bleiben daher hier unberücksichtigt.

Tabelle X.

Nr.	Chinin hydrochl.	Optochin hydrochl.	Eucupin bihydrochl.	Isoctylhydrocuprein bihydrochl.	Decylhydrocuprein bihydrochl.	Dodecylhydrocuprein bihydrochl.
1	1/1000 –	1/2500 –	1/20 000 –	1/60 000 –		
2	1/2500 +	1/5000 +	1/30 000 +	1/50 000 – 1/60 000 +	1/10 000 – 1/20 000 +	1/7500 – 1/10 000 +

Diese sowie die vorhergehenden Versuche im eiweißhaltigen Kultursubstrat zeigen, daß ebenso wie beim Milzbrand- und beim Gasbrandbacillus auch beim Tetanusbacillus Chinin und Optochin nur wenig wirksam sind. Dagegen ist die Desinfektionskraft des Eucupins bereits recht gut, wird aber durch diejenige des Isoctylhydrocupreins noch beträchtlich übertroffen. Die Decyl- und Dodecylverbindung sind bereits wieder schwächer und stehen unter dem Eucupin. Will man die Ergebnisse der Tetanusversuche in Ascites-Traubenzuckeragar kurvenförmig darstellen, so sieht man eine deutliche Übereinstimmung mit der in der gleichen Größenordnung gehaltenen Kurve für die Wirksamkeit der Hydrochininreihe auf den Milzbrandbacillus in Ascitesbouillon und gleichzeitig auch mit dem an einem großen Material gewonnenen Gesamtergebnis der Untersuchungen an Gasbrandbacillen.

Nachdem diese Versuche gezeigt hatten, daß den höheren Homologen der Hydrochininreihe eine sehr erhebliche abtötende Wirkung auf die untersuchten Bacillen auch



Kurve 4.

bei Gegenwart von Eiweiß bzw. Körperflüssigkeit zukommt, so war damit die Grundlage für die Anwendung zur spezifischen Desinfektion auch im erkrankten Körpergewebe gegeben. Wir waren früher in der Lage, für den Gasbrandbacillus durch den Tierversuch die Möglichkeit einer Abtötung der Bacillen durch das Heilmittel auch innerhalb des Körpers eines hochempfindlichen Versuchstieres eingehend darzutun. Damit erschien für diese zur Zeit dringendste Frage die experimentelle Unterlage für praktische Versuche gegeben. Zugleich aber war damit erwiesen, daß diejenigen Chinaalkaloide, um die es sich hier handelt, auch innerhalb des Körpergewebes ihre Wirksamkeit ganz ähnlich wie im Reagensglas ausüben. Es besteht also kein grundlegender Unterschied darin, ob man die Wirkung des Eucupins und des Isoctylhydrocupreins auf einen bestimmten Infektionserreger in einem eiweißhaltigen Nährmedium oder in einem infektionsempfänglichen Körpergewebe prüft. Die ausgedehnten Tierversuche mit Gasbrandbacillen geben somit eine gewisse Möglichkeit, unter Ausschaltung des zur Zeit in größerem Umfange für die sämtlichen Bacillen nicht durchführbaren Schutz- und Heilversuchs, im lebenden Organismus von dem desinfizierenden Wert von Heilmitteln aus der Hydrochinreihe im Reagensglas auf ihre Desinfektionswirkung im Körpergewebe orientierende Schlüsse zu ziehen. Dieser Schluß — lediglich die abtötende Wirkung des Eucupinotoxins auf Diphtheriebacillen konnte oben in einem Meerschweinchenversuch dargetan werden — der sich daneben noch auf das ausgedehnte Erfahrungsmaterial über die Behandlung der lokalen Pneumokokken-erkrankungen mit Optochin stützt, ist hier um so eher berechtigt, als die Praxis auch bei Diphtherie, Milzbrand und Tetanus in erster Linie eine lokale Desinfektion verlangt. Hier, wo es möglich ist, das spezifische Desinfiziens direkt an den Ort der räumlich eng begrenzten bacillären Erkrankung hinzubringen, kommen die Fragen der Resorption, der Verteilung im Körper und des Transportes zur Stätte der Wirksamkeit, wie sie vor jeder inneren Desinfektion von der Blutbahn aus durch den Tierversuch aufgeklärt werden müssen, erst in zweiter Linie in Betracht.

Die Frage, auf welche Weise die starke Desinfektionskraft des Isoctylhydrocupreins gegenüber dem Tetanusbacillus zu

einer Prophylaxe des Wundstarrkrampfes insbesondere auch nach Kriegsverletzungen nutzbar gemacht werden kann, muß Hand in Hand mit den Bestrebungen der Verhinderung der Gasbrandinfektion gelöst werden. Denn wir haben ja hier Mittel in der Hand, die sämtliche praktisch wichtigen Wundinfektionserreger, seien es nun aerobe Kokken oder anaerobe Bacillen, noch in starken Verdünnungen abzutöten.

Für die lokale Behandlung der Diphtherie wird nach den obigen Versuchsergebnissen vor allem das Eucupinotoxin, das sich auch in den etwa in Betracht kommenden Lösungen von 1 bis 5‰ gut hält, in Betracht kommen. Es muß angenommen werden, daß die bisherigen praktischen Ergebnisse mit der Eucupinbehandlung der Keimträger und der Erkrankten sich durch die Einführung dieses zwar nicht stärker, aber dafür bedeutend rascher wirksamen Mittels verbessern lassen. Denn bei einem solchen wird es bedeutend weniger störend sein, wenn der Sekretstrom der Schleimhaut das aufgebrauchte Heilmittel schon bald wieder von der Stätte der Wirksamkeit abschwemmt. Darüber hinaus läßt aber die Wirksamkeit selbst sehr starker Eucupinverdünnungen auf den Diphtheriebacillus auch an die Möglichkeit einer inneren Desinfektion vom Blutweg aus denken. Denn nach den Erfahrungen Biers¹¹⁾ können Dosen von Eucupinum basicum (dieses Präparat kommt nach den bisherigen Erfahrungen für die innerliche Darreichung in erster Linie in Betracht) von 2,0 bis 2,5 g pro die ohne Nebenwirkung vertragen werden, und es ist nicht ausgeschlossen, daß auch noch größere Mengen gegeben werden können.

Die praktische Anwendung des Eucupinotoxins bei der Behandlung der Milzbrandkarbunkel wird sich an die Technik und Erfahrungen Biers^{10b)} bei der Behandlung der eitrigen Abscesse mit Chininderivaten anlehnen können. Da auch beim Milzbrand genau wie bei der Diphtherie die lokale Erkrankung das Primäre ist und die Sepsis erst sekundär entsteht, so müßte natürlich diese örtliche Desinfektion vor allem vorgenommen werden. Für eine etwaige weitere Allgemeinbehandlung mit Eucupinum basicum kommen die gleichen Erwägungen wie oben in Betracht.

Bei den nahen morphologischen und biologischen Beziehungen, die zwischen Gasbrand und Tetanusbacillen bestehen

lag die Vermutung nahe, daß ihr Verhalten gegenüber der Hydrochinreihe als Gruppenreaktion aufgefaßt werden könnte. Dagegen spricht jedoch ein Versuch, der mit einem als aerobe Verunreinigung gefundenen grampositiven beweglichen Sporenstäbchen, dessen Aussehen sich in nichts von einem typischen Gasbrandbacillus unterscheidet, angestellt wurde.

Dieses Stäbchen vermehrte sich nämlich hemmungslos in Bouillonverdünnungen 1:200 von Chinin, Optochin, Eucupin, Isoctyl-, Decyl- und Dodecylhydrocuprein. Dieser Versuch zeigt auch, daß eine gemeinsame Eigenschaft der vier untersuchten, empfindlichen Bacillenarten des Diphtherie-, Gasbrand-, Milzbrand und Tetanusbacillus, nämlich ihre mehr oder minder ausgesprochene Färbbarkeit nach Gram nicht in einem inneren Zusammenhang mit der großen Empfindlichkeit gegen die höheren Homologen der Hydrochinreihe besteht. In demselben Sinne spricht auch die Tatsache, daß sich der gramnegative Meningokokkus kaum anders der Reihe gegenüber verhält, als die grampositiven Streptokokken und Staphylokokken. Immerhin aber bleibt es bemerkenswert, daß sich von den bisher beschriebenen vier pathogenen grampositiven Bacillenarten die Reihe der gramnegativen Bacillen scharf abhebt. Alle diese verschiedenen Arten erwiesen sich nämlich als äußerst widerstandsfähig gegenüber der ganzen Hydrochinreihe. Die folgenden diesbezüglichen Versuche betrafen die Stäbchen der Typhuskoligruppe (4 Typhusstämmen, 1 Paratyphus A-, 2 Paratyphus B-Stämmen, 3 Kolistämmen), den Y-Ruhrbacillus, den Pneumobacillus Friedländer und den Bacillus pyocyaneus (2 Stämme).

Die Prüfung erfolgte stets so, daß in 2 ccm Nährbouillon in der üblichen Weise Verdünnungen der zu prüfenden Heilmittel hergestellt werden, die darauf mit einem Tropfen frischer Bouillonkultur beimpft wurden. Nach eintägigem Aufenthalt im Brutschrank wurde dann die Wirkung der zugesetzten Chinaalkaloide durch Abimpfen auf Agar, bzw. bei der Typhus- und Ruhrgruppe auf Endoagar, geprüft.

Es zeigte sich dabei, daß mit Ausnahme der Typhusbacillen sämtliche geprüften pathogenen Stäbchen sich in Chinin, Optochin, Eucupin, Isoctyl-, Decyl- und Dodecylhydrocuprein-Verdünnungen 1:1000 ungehemmt vermehren können. Lediglich einige der geprüften Typhusstämmen wurden in Chinin 1:1000

abgetötet, während aber auch hier bereits Verdünnungen 1:2000 unwirksam blieben.

Diese Versuche beweisen, daß die Wirkung des Eucupins und des Isoctylhydrocupreins auf Diphtherie-, Gasbrand-, Milzbrand- und Tetanusbacillen als spezifische Desinfektionswirkung anzusehen ist, und nicht auf einer allgemeinen, unspezifischen Giftwirkung auf lebende Organismen schlechthin beruht. Denn nur so ist es erklärlich, daß der empfindliche Typhusbacillus selbst in Verdünnungen 1:1000 noch wachsen kann, während andererseits sporenhaltige Bacillen wie der Gasbrand-, Milzbrand- und Tetanusbacillus selbst durch 40mal kleinere Konzentrationen abgetötet werden.

Überblickt man nunmehr das bisher vorliegende Untersuchungsmaterial über das Verhalten menschenpathogener Infektionserreger bakterieller Natur gegenüber dem Chinin und der Hydrochinreihe mit 2 bis 12 Kohlenstoffatomen in der Seitenkette, so ergibt sich folgendes:

Als relativ unempfindlich gegenüber der Hydrochinreihe erwiesen sich

1. der Typhusbacillus,
2. der Paratyphus A-Bacillus,
3. der Paratyphus B-Bacillus,
4. der Kolibacillus,
5. der Dysenteriebacillus Y,
6. der Bacillus Pyocyaneus,
7. der Bacillus pneumoniae Friedländer.

Als empfindlich dagegen erwiesen sich

1. der Diphtheriebacillus,
2. der Gasbrandbacillus,
3. der Tetanusbacillus,
4. der Milzbrandbacillus.

Diesen letzteren schließen sich die folgenden pathogenen Kokken an:

1. der Pneumococcus (mit einer Exaltation der Wirkung beim Optochin),
2. der Streptococcus,
3. der Staphylococcus,
4. der Meningococcus,
5. der Micrococcus melitensis.

Eine gewisse Mittelstellung nehmen die Vibrionen ein. Frühere Versuche von Morgenroth und Tugendreich mit *Vibrio cholerae* und *Vibrio Nasik* hatten gezeigt, daß diese beiden Mikroorganismen durch Eucupinkonzentrationen von 1:10000 abgetötet werden, während das Isoctylhydrocuprein bereits wieder sehr schwach wirksam ist, so daß Konzentrationen von 1:1000 bis 1:5000 keine Abtötung unter den üblichen Bedingungen in 24 Stunden zustande bringen. Dasselbe ergab sich auch in unsern Versuchen, die noch den *Vibrio Dunbar* und den *Vibrio Finckler* mit einbezogen.

Vom Influenzabacillus ist bisher nur bekannt, daß er gegen Optochin ziemlich unempfindlich ist, keine Untersuchungen liegen vor über den Gonokokkus¹⁾ und die säurefesten Stäbchen.

Faßt man nunmehr das Gesamtergebnis nochmals zusammen, so ergibt sich, daß den Gliedern der homologen Hydrochinreihe mit 5 bis 8 Kohlenstoffatomen in der Seitenkette sehr erheblich desinfizierende Wirkungen auf vier verschiedene pathogene Bacillen neben ihrer Wirksamkeit auf pathogene Kokken zukommt. Die dabei erreichten Desinfektionswerte übertreffen bei weitem diejenigen der unspezifischen äußeren Desinfizientien, wie z. B. des Sublimats. Sie unterscheiden sich von diesen weiterhin dadurch, daß sie auch bei Eiweißzusatz sowie im infektionsempfänglichen Organismus selbst wirksam bleiben und charakterisieren sich dadurch als innere Desinfizientien im Sinne Ehrlichs. Ihre Wirkungsgröße wird allein von derjenigen des Optochins, also der Äthylverbindung aus derselben Reihe, auf die Pneumokokken übertroffen. Ein weiterer Unterschied von dieser Exaltation in der Wirkungskurve der Hydrochinreihe besteht darin, daß die Amyl- und Octylverbindung nicht so streng auf eine Bakterienart eingestellt ist, sondern mehrere verschiedene Kokken und Bacillen umfaßt, dagegen bei einer großen Anzahl anderer im wesentlichen gramnegativen bacillären Infektionserreger unwirksam ist. Von theoretischer Bedeutung ist es weiterhin, daß die Wirkung der Amyl- und Octylverbindung auf die erwähnten Organismen durch eine Reihe

¹⁾ Die klinisch beobachtete Wirkung des Optochins bei Ophthalmoblenorrhoe spricht für eine nicht unerhebliche Beeinflussung des Gonokokkus durch Optochin.

chemischer Einflüsse im Molekül nicht gestört wird. Vor allem leidet die spezifische Wirkung durch die Aufhebung der Ringbindung am N in dem Chinuglidinrest des Moleküls, das heißt also durch die Überführung in das sogenannte Toxin, teils überhaupt nicht, teils nur mäßig, wird aber niemals so wie etwa die Pneumokokkenwirkung des Optochins durch diese chemische Umwandlung vernichtet. Im Gegenteil kommt den Toxinen hier häufig eine viel raschere und promptere Wirkung als den zugehörigen Hydrocupreinen zu, so daß sie insbesondere für die Lokalbehandlung von Diphtherie und Milzbrand in den Vordergrund des Interesses treten.

Literatur.

- 1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. **3**, 1917.
- 1^a) Izar, Pathologica **121**, 1913.
- 2) Händel u. Bärthlein, Centralbl. f. Bakteriol., I. Teil, Ref. 57, S. 196.
- 3) Wright, Lancet 14. u. 21. Dezbr. 1912.
- 4) Cavara, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. **54**, 1915.
- 5) } Unveröffentlichte Versuche von Horowitz aus dem Labora-
- 6) } torium von Morgenroth.
- 7) Morgenroth u. Kaufmann, Charité-Annalen **37**.
- 8) Loeser, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Therapie.
- 9^a) Morgenroth u. Tugendreich, diese Zeitschr.
- 9) Schaeffer, Berl. klin. Wochenschr. **38**, 1916.
- 10) Morgenroth u. Bieling, Berl. klin. Wochenschr. **1917**, Nr. 30; Bieling, Zeitschr. f. Immunitätsforschg.
- 10^a) s. Roos, Zeitschr. f. Immunitätsforschg. **15**, 487, 1912.
- 10^b) Bier, Berl. klin. Wochenschr. **30**, 1917.
- 11) Leschke, Berl. klin. Wochenschr. **46**, 1916.
- 12) Unveröffentl. Versuche Morgenroths.
- 13) Nachmann, Centralbl. f. Bakt. Orig.-Bd. **77**, 1915.

Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum II.

Von

Joh. Feigl und Rud. Deussing.

(Aus dem chemischen Laboratorium und der Infektionsabteilung des
Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 15. September 1917.)

Beiträge und Erweiterungen zum gegenwärtigen Stande der Kenntnis von der pathologischen Hämatinämie.

In der vorangehenden Mitteilung über das Auftreten von Hämatin im Blutserum des Menschen sind toxikologisch-pharmakologische Vorkommnisse bei akuten und chronischen Vergiftungen mit typischen Methämoglobinbildern d. i. „Blutgiften“ beschrieben worden¹⁾. Das systematische Bild dieser Gruppen hämatinämischer Erscheinungen zeigt sich von zwei Seiten. Einmal — bei akuten, zumeist sehr schweren Vergiftungen kommt Hämatin in Mengen vor, die zwar absolut erheblich und zum Teil erstaunlich hoch sind, die aber oft neben dem gleichzeitigen, energischen Entstehen von Methämoglobin doch nur sekundärer Natur zu sein vorgeben, womit zwar nichts über den zeitlichen Verlauf der Bildung gesagt sein soll, da beide Umwandlungsstoffe des originären Farbstoffes der Erythrocyten sofort beim Angriff des Giftes beobachtet worden sind.

Neben diesen Verhältnissen, die unter dem Drucke größter Einwirkungen gesehen werden, z. B. hoher Dosen von Ka-

¹⁾ Joh. Feigl, Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum I. Pharmakolog-toxikol. Fälle, diese Zeitschr. 85, 171, 1918.

liumchlorat usw.¹⁾, zeigt sich unter Umständen ein anderes Bild. Handelt es sich um Erscheinungen mäßiger Schwere, so kann die Untersuchung ein Bild liefern, auf dem das Hämatin weit überwiegt, im Serum eventuell allein vorkommt, und das Blut geringe Mengen oder gar kein Methämoglobin erkennen läßt²⁾. Auch für diese Form der Hämatinämie bieten die bisherigen Ergebnisse ausreichendes Belegmaterial. Es sei an die Chromatvergiftung in der Untersuchungsreihe von O. Schumm sowie an kürzlich von dem einen von uns (F.) beschriebene Intoxikationen erinnert³⁾. Nimmt man aus der Gruppe bestimmte, gelegentlich beobachtete Erscheinungen heraus, so kann es zur nahezu isolierten Hämatinämie kommen, d. h. die Methoden zeigen im Serum keine anderen spektrochemischen Reaktionen als die des Hämamins, welches demnach weit überwiegend vorhanden sein muß.

Befunde dieser Art findet man oft bei Ablauf bzw. Heilung schwererer oder mittlerer Vergiftungen. So sagt O. Schumm anlässlich seiner Untersuchung über Chromatvergiftung:

„Beim Menschen kann eine ausgesprochene Hämatinämie vorkommen, bei der das Serum tagelang eine von anderen Blutfarbstoffen nahezu freie Blutlösung darstellt.“

Mit gewissem Rechte kann man beiden Vorkommnissen eine Komplikation gegenüberstellen, bei der es im Verlaufe des toxischen Vorganges, zumeist anfänglich, zu einer ausgesprochenen Hämoglobinämie kommt. Eine solche Kombination von den übrigen absondern und systematisch isolieren zu wollen, ist indes, wie besonders die experimentell-toxikologischen Studien zur Hämatinämie erweisen, ein vergebliches Beginnen. Zumeist findet man O₂Hb zusammen mit Ht bei anscheinend geringeren Intoxikationen, ja gewisse minimale Mengen, z. B. von Chlorat, können im Serum nur Hämoglobin, also den Ausdruck einer Hämolyse zur Anschauung bringen. Jedenfalls kann man zur Zeit wohl sagen, daß bei eigentlichen Intoxi-

¹⁾ Joh. Feigl, Über das Auftreten von Hämatin im Blute bei Vergiftung mit Chloraten, diese Zeitschr. 74, 5/6, 394 bis 313, 1916, (wie ¹⁾).

²⁾ Besonders beim Abklingen schwerer, mit mittlerer Bildung von Hämatin einhergehender Vergiftungen.

³⁾ O. Schumm, Hämatinämie bei toxischem Blutkörperchenzerfall. Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 1, 1, 1912.

kationen mit Blutgiften die Kombination Hämoglobin-Hämatin auf Ausnahmefälle beschränkt ist, wenschon vielleicht die Giftmengen eben oberhalb der Toleranz diese Komplikation zeigen. Man findet oft anfänglich ein Verwalten des O_2Hb , das allmählich zurücktritt und von Ht abgelöst wird. Verf. sah und beschrieb dieses bei Chloratvergiftung, Schumm äußerte sich entsprechend¹⁾. In den wenigen Diskussionen zu dieser Frage, nämlich, ob Hämatin dem Methämoglobin oder Oxyhämoglobin genetisch oder gar zeitlich erkennbar folgen müsse, eventuell von Bilirubin endlich abgelöst, liegt nicht genug deskriptives Material vor, um bestimmte Perspektiven über den Ablauf anschaulich zu machen. Hämatin kann in der Kombination O_2Hb -Bil fehlen. Wie dem auch sei, man muß bei der Empfindlichkeit der spektroskopischen Erkennbarkeit von O_2Hb und Ht doch nur daran denken, daß letzteres ein Spaltstück des ersteren ist, und daß Bilirubin z. B. einer älteren, hier nur überschläglich genannten Betrachtung von Stadelmann zufolge, als Einheit das dreißigfache Quantum von O_2Hb voraussetzt²⁾.

Während man also bei eigentlichen Intoxikationen zugeben darf, daß Hämatin ein oft scheinbar nur untergeordnetes Zwischenglied der Umsatzvorgänge ist, sind es Ausnahmefälle, in denen die Beziehung zum Oxyhämoglobin durchsichtiger erscheint. Für die Frage der Umwandlung einmal von ausgetretenem O_2Hb (über Ht zu Bil) scheinen uns also physiologische bzw. pathologisch-physiologische Anlässe und Voraussetzungen, wenschon es in dem Belieben einer weiter ausgebildeten bezüglichen Anschauung liegen kann, auch hier von vorausgehenden toxischen (chemisch) Faktoren zu reden, fruchtbarere Grundlagen zu liefern. Bekanntlich wird mit der Annahme physiologischer Beträge von Methämoglobin im Blute

¹⁾ Joh. Feigl, l. c. über Chloratvergiftung siehe 408. Versuche mit Giftmengen an deren Schwellwert (nach Kobert). O. Schumm, l. c. bei Joh. Feigl, Hämatin (1918), und derselbe, Hämatin als pathologischer Bestandteil des Blutes. Zeitschr. für physiol. Chemie 1916, 97, 1, 47, „Über die Beziehungen zwischen dem Auftreten von O_2Hb , MtHb, Ht, Bil im Blutserum“.

²⁾ E. Stadelmann (nach experimentellen Untersuchungen von H. Gorodecki), Über die Folgen subcutaner und intraperitonealer Hämoglobininjektionen, Arch. für exp. pathol. Pharmakol. 27, 93, 1890.

vielfach gerechnet¹⁾. Ob dieses in den Körperchen steckt oder vielmehr ins Serum übergetreten ist, kann nicht endgültig entschieden werden; wahrscheinlicher ist vielleicht das zweite. Es gibt nun Faktoren, die diese Methämoglobinbildung steuern und schaffen²⁾. Ihre Bestimmung würde vermehrte Bildung, vielleicht Nachweisbarkeit von MtHb. nach sich ziehen. Danach würde also die Frage des Nachweises von MtHb im Serum bei pathologisch-physiologischen Anlässen Bedeutung haben. Versuche in dieser Richtung haben einstweilen keinen Erfolg gehabt; vielmehr gelang es dem Verf. nur, Hämatin zu entdecken. Das Experimentalfeld war ein Gepäckmarsch, bei dessen Absolvierung einzelne Teilnehmer neben mehr oder weniger O₂Hb auch geringe Mengen Ht im Serum zeigten³⁾. Senach hätte man also schließen können (immer unter beschränkender Berücksichtigung der relativen Nachweisgrenzen), daß pathologische Übertritte von O₂Hb unter schnellem Abbau über Ht erledigt werden. Nun wurden später Tierexperimente auf serologischer Grundlage mit dem Ziele der Erzeugung von mäßigen bis starken Hämoglobinämien gemacht, bei denen tatsächlich öfter Methämoglobin (und O₂Hb) bei 2 von 9 Fällen zweifelsfrei, sonst Ht neben O₂Hb im Serum zum Nachweise gelangten⁴⁾. O. Schumm⁵⁾ beobachtete ferner bei 2 Fällen von paroxysmaler Hämoglobinurie einen mit MtHb und O₂Hb ohne Ht, einen anderen (künstlich erzeugter) Anfall mit O₂Hb (natürlich) mit O₂Hb und Ht.

¹⁾ Auch jüngst noch in experimentellen Anordnungen bei P. Hari, Beiträge zur Lichtabsorption des Oxyhämoglobins, diese Zeitschr. 82, 3/4, 229 bis 281, 1917.

²⁾ P. Hari bewies jüngst durch spezielle Versuche, daß in (verdünnten) Lösungen bei soda-alkalischer Reaktion die Bildung von MtHb aus O₂Hb ohne die Anwesenheit von Bakterien vor sich geht. Vielleicht kann diese Beobachtung zum Verständnis der Umsetzungsvorgänge von hämolytischen O₂Hb im Serum herangezogen werden, wenn man noch Schwankungen in OH-Ionenkonzentration, der „Alkaleszenz“, die für zahlreiche Intoxikationen studiert wurden, mit einrechnet.

³⁾ Joh. Feigl, Untersuchungen an den Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches I Hämoglobinämie, Hämatinämie usw., diese Zeitschr. 1916.

⁴⁾ Versuche, z. T. mit Unterstützung von Fr. Graetz, noch nicht veröffentlicht, weiter zurückliegend.

⁵⁾ O. Schumm, Hämatin als pathologischer Bestandteil des Blutes, Zeitschr. f. physiol. Chem. 97, 1, 42, 1916.

Die Möglichkeit feineren Eindringens in das gegenseitige Verhalten dieser Umsatzstoffe bieten also vermutlich unter den eigentlichen pathologischen Zuständen gewisse mit Hämolyse eingeleitete Formen. Auf ihre Untersuchung wurde deshalb viel Aufmerksamkeit verwandt.

O. Schumms zusammenfassende Darstellung der bisherigen Beobachtungen bedürfen in gewissen Punkten der Nachuntersuchung, wenschon das klinische Material umfassend ist und auch zumeist genügend einzelne Fälle enthält¹⁾. Von anderer Seite ist zu der Gesamtfrage bisher nicht Stellung genommen worden²⁾. Wie wir hier sagen können, sind unsere Angaben vorherrschend und fast durchweg als Bestätigungen aufzufassen, wenschon bei der gelegentlich begrenzten Zahl von Einzelfällen die Statistik noch offene, z. T. neue Möglichkeiten bietet.

Hämolytischer Ikterus³⁾; 7 Fälle mit je 2 bzw. auch 3 bzw. auch 5 Einzelbeobachtungen. In 6 Fällen fand sich Hämatin, ein paarmal in mehrfacher Prüfung die Höchstmenge Ht3, zumeist Ht und Ht2. Ein Fall gab nur bei einer von drei Prüfungen eben erkennbare Reaktion. Weitere 6 einmalig gesehene Seren zeigten in 3 Fällen Ht. Ht-Befunde sind also häufig, wenn auch einmalige Prüfung Zufallstreffer bietet.

Perniziöse Anämie⁴⁾. Schottmüllers ursprünglicher (vorgreifender) Hinweis wurde durch das umfangreichere Material von O. Schumm gestützt. Wir können auf annähernd 24 Fälle zurückblicken, die häufiger untersucht wurden. In keinem Falle dieser Reihe vermißten wir jemals Ht, wenschon seine Menge schwanken, und selbst der Nachweis versagen kann. Die höchste Menge war Ht8. Eine ältere Reihe von 8 Fällen, je einmal untersucht, zeigte dreimal kein Ht; sie ist durch obige Versuche überholt. Ein geheilter Fall (Jüngling) hatte sich bis auf Ht12 erhoben und sank in Stufen ab. Hämatin

¹⁾ O. Schumm, l. c. 1916.

²⁾ J. Feigl, l. c. 1918.

³⁾ O. Schumm, 2 Fälle mit Ht+ und Ht2+. Unsere Beobachtungen, zum Teil gemeinsam mit E. Querner, sind hier nur summarisch mitgeteilt 1 Fall von F. Reiche. C. Hegler berichtete schon 1910 über MtHb bei Icterus haemolyt. (siehe Schumm).

⁴⁾ O. Schumm, 10 Fälle mit 8 positiven Befunden. Beobachtungen vorläufig mitgeteilt, zum Teil gemeinsam mit E. Querner.

im Serum einerseits und Hämoglobingehalt des Blutes andererseits nach Sahli brauchen nicht etwa in bestimmten Beziehungen zu stehen, etwa umgekehrter Proportionalität. Unsere Reihe läßt die Berechtigung der Annahme zu, daß Ht bei noch mäßigem O_2 Hb-Gehalt vorkommen, bei niedrigem fehlen kann (60% mit Ht 4; andererseits 23% mit Ht 0). Doch sind diese Extreme für sich selten. Ohne hier ins einzelne zu gehen, dürfen wir sagen, daß wir der Deutung von O. Schumm zu folgen berechtigt sind, der die Voraussetzung von schubweisem Zerfall geschaffen hat¹⁾ Diese Auffassung hat, O. Schumm folgend, Lorey²⁾ im Anschluß an H. Schottmüllers³⁾ vorläufige Äußerung, sowie Hymans v. d. Bergh mit Snapper⁴⁾ unterstrichen.

Gegen diese 24 (+8) Fälle traten in ihrer Gesamtheit, hier nicht mehr differenziert, 48 Fälle von Anämien und Leukämien auf, bei denen Ht auch im wiederholten Prüfungsgange fehlte⁵⁾.

Dagegen weichen unsere Reihen von den bisherigen Feststellungen von O. Schumm in zwei Punkten ab.

Bei Polycythämie wurde 1 Fall von 5 Fällen (2 weitere Ht+) (3 von 11 Beobachtungen positiv) Ht 2+ ohne Möglichkeit einer anderweitigen Begründung befunden, auch technische Einwände eingehend gewürdigt⁶⁾. Für 1 Fall (von 4)

¹⁾ O. Schumm, l. c., klinische Erörterung notwendig, s. später.

²⁾ Lorey, Klinische Bedeutung des Nachweises von Hämatin im Blute, Vortrag Wissenschaftl. Demonstration Krkh. Hbg.-Eppendorf 1916, 3. Juni. Hamb. Ärzte-Korresp. 28, 298, 1916, 9. Juli.

³⁾ H. Schottmüller, Über Ikterus im allgemeinen und bei Extrauterin gravidität im besonderen, Münch. Med. Wochenschr. 5, 1914.

⁴⁾ Hymans van den Bergh und J. Snapper, Über anhepatische Gallenfarbstoffbildung. Berl. Klin. Wochenschr. 42, 1915.

⁵⁾ Fälle, größtenteils von E. Querner, ferner auch von H. Luce, III. Inn. Abt. freundlicherweise überwiesen. Ausnahme s. später.

⁶⁾ O. Schumm 3 Fälle negativ. In einer neueren Untersuchung von M. Ludin, Beitrag zur Kenntnis der Symptomatologie und Therapie der primären Polycythämie, Zeitschr. f. klin. Med. 84, 5/6, 460 bis 476, 1917, fand der Verf. eine starke Resistenzherabsetzung der roten Blutkörperchen. Frühere Befunde von Heudorfer, Lutembacher, Vaquez und Landry lauteten ähnlich, doch fand Ludin so hohe Beträge „nirgends notiert“. Ergebnisse von Weber und Laundby waren normal, von Chauffard, Froizier, Straßer und Neumann u. a. (s. bei Ludin) sogar vermehrt.

von Hodgkin (7⁰/₀ der öfteren Beobachtungen) war Ht dringend wahrscheinlich zu machen¹⁾.

Über paroxysmale Hämoglobinurie berichten wir an 5 Fällen (14 Proben) 4 (11) mit Hämatin, 2 (9) mit Methämoglobin bei fast stets hohem O₂Hb-Gehalt²⁾.

Bei einer Beobachtung (von 17) an Addison (8 Fälle) wurde Ht 2 + gefunden³⁾.

Bei 5 Fällen von akuter gelber Leberatrophie, — es wurden, zum Teil häufig, der ganzen Entwicklung lückenlos folgend, Seren untersucht, — fand sich einmal Ht 2 +, einmal Ht, d. h. in ca. 3⁰/₀ der Prüfungen überhaupt⁴⁾.

Bei Echinokokkus (unsere Fälle mit öfterer Beobachtung) wurde Ht einmal dringend wahrscheinlich gemacht, einmal Ht 2 + gefunden⁵⁾.

Die übrigen, zum Teil zahlreichen Beobachtungen, darunter auch die einzelnen Ergebnisse von O. Schumm, bestätigen wir nach dem heutigen Stande durchgehend. Untersuchungen über Malaria lieferten fast das gleiche Zahlenverhältnis wie von diesem Autor angegeben⁶⁾. In Spezialfragen, deren spektrochemische Erschließung O. Schumms Verdienst, deren klinisch-pathologische E. Fraenkel bzw. anderen dortigen Mit-

¹⁾ O. Schumm 2 Fälle negativ.

²⁾ O. Schumm 2 Fälle (s. oben). J. Feigl bzw. E. Querner s. später (1918).

³⁾ O. Schumm 2 Fälle negativ. Verf. hat auf eine Demonstration von V. Kafka zurückgegriffen, diese Zeitschr. 76, 1/2, 1916, l. c. K. demonstrierte ohne Rückhalt experimenteller Ergebnisse ein abnorm (bräunlich, etwa wie bestimmte Ht-Sera aussehend) gefärbtes Addisonserum mit Schlußfolgerungen zur Theorie des Bronzepigments. Ärztlicher Verein zu Hamb., Sitzung vom 6. März 1916, Diskussion zum Vortrage von Th. Fahr und F. Reiche über Morb. Addisonii. Verf. hat seither mit vielfältiger Unterstützung von Herren außerhalb hiesiger Anstalt Addisonsera geprüft, mehrfach die von K. beschriebene Farbnuance gesehen und auf Ht untersucht. Über die Natur der Pigmente s. später.

⁴⁾ Joh. Feigl und H. Luce, Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie, I u. II, diese Zeitschr. 1917, Festschrift für Joh. Orth. O. Schumm weist darauf hin, daß Befunde über die Hämatinreaktion bei Leberatrophie fehlten. Joh. Feigl und H. Luce daselbst 1918.

⁵⁾ Siehe ⁶⁾ O. Schumm.

⁶⁾ O. Schumm, unter 50 Fällen 23 positiv, 8 zweifelhaft positiv, 19 negativ. Neue Befunde mit Rücksicht auf Strahlenwirkung (mit P. Reinhard) im Gange.

arbeitern gebührt, haben wir nicht eingegriffen, zumal sie endgültig geklärt zu sein scheinen. Es handelt sich um Sepsis mit Bae. emphysem. (E. Fraenkel) sowie um Eklampsie bei Schwangerschaft, um extrauterine Gravidität (Brütt, Schottmüller¹).

Ferner wurde 1 Fall von Purpura (mehrfache Beobachtung) einmal mit schwach positivem, aber zweifelsfreiem Ht beobachtet²).

In bezug auf die Verhältnisse bei hämorrhagischer Diathese stimmen wir übrigens mit O. Schumm überein.

Im Jahre 1916 hatten wir häufig Gelegenheit, uns überwiesene Sera von verschüttet gewesenen Sommekämpfern zu untersuchen. Wir fanden erst $\frac{1}{2}$ Woche, ja noch 4 Wochen später Ht (2+), Ht+ und deutlich erkennbar sowie Bil, auf Grund der Annahme großer Blutergüsse und der klinisch uns übermittelten Auffassung bzw. Feststellung von dem Fehlen weiterer Grundlagen für Ht-Bildung.

Gewisse Bedeutung erlangt die Prüfung von Seren bei Typhus, wo in rund 15⁰/₀ der Beobachtungen Ht auftreten kann. Auch MtHb wurde in einem Falle deutlich erkannt³).

Scharlach und Masern gaben von 22 bzw. 24 Fällen je einmal Ht₂ und Ht, letztere einmal MtHb in geringer Menge⁴).

Eine besondere, eingehende Untersuchungsreihe führten wir auf Anregung des einen von uns (Deussing) an Diphtherie aus⁵). Dabei war der Gedanke leitend — und seine eindringlichere Verfolgung erschien in diesem Falle aussichtsreich —, die Beziehungen zwischen O₂Hb und Ht, später auch zu Bil,

¹) O. Schumm bzw. Brütt.

²) O. Schumm 1 Fall negativ.

³) O. Schumm meistens negativ, in einigen Fällen zweifelhaft bis schwach positiv.

⁴) O. Schumm Ht-Reaktion negativ.

⁵) Der eine von uns (Deussing) wird hierüber a. a. O. eingehender berichten.

Anmerkung: Anhangsweise kann hier in Kürze berichtet werden, daß Verf. mehrfach Gelegenheit hatten, serologisches Material (Wa. R. in Liquor cerebrosp.) von Fr. Graetz zu beobachten, wo in unverhältnismäßig kleiner Frist (ca. $\frac{1}{4}$ bis $\frac{3}{4}$) völlige Ht-Bildung unter sonst normalen Verhältnissen eintritt, die Substanzen des Liquors also die Ursache enthalten mußten. Diese hier beiläufig gestreifte Tatsache sollte weiter beobachtet werden.

sei es nach Mengen und Beträgen, sei es nach dem zeitlichen Erscheinen und Vergehen, zu beobachten. Sollte O_2Hb stets von Ht begleitet ev. abgelöst sein, oder sollten gar beide nach Mengen in bestimmteren Verhältnissen, vielleicht zum Bil, stehen? Zu dieser, von uns schon 1914 anlässlich der zitierten Untersuchungen an Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches besprochenen, später auch von O. Schumm diskutierte Frage kann beschreibendes Material geliefert werden, das in nachstehender Tabelle I aufgeführt ist.

Die Pathologie des Ht-Vorkommens bei Diphtherie läßt sich hier vorläufig wie folgt darstellen (Deussing).

Tabelle I.

Zusammenfassung von Ergebnissen an 140 Fällen bzw. 224 Einzelprüfungen von Diphtherieseren, geordnet nach einzelnen bzw. kombinierten Befunden in absoluten und prozentischen Zahlen.

Untersuchung	Ergebnisse in Zahlen	
	absolut	prozentisch
Keine Befunde	24	11,0
Befunde		
Abnorme Serumfarbe	150	67,0
O_2Hb , überhaupt, +	149	67,0
++	31	14,0
Ht, überhaupt, ++	50	22,0
+	3	1,3
Bil, überhaupt, +	51	22,0
++	3	1,3
O_2Hb allein } alle Grade	113	50,0
Ht " }	5	2,2
Bil " }	12	5,0
O_2Hb + Ht	30	13,0
O_2Hb + Bil	24	11,0
Ht + Bil	5	2,2
O_2Hb + Ht + Bil	13	5,0

Anmerkungen: ¹⁾ Grade der Befunde: + bedeutet hier Intensität oberhalb des Begriffes „eben erkennbar positiv“ bis entschieden ++, ++ bedeutet positiv, für Ht auch Ht(+) und H(2+), für O_2Hb 2,0 cm bis 0.2 cm Schichtdicke. Bilirubin durch direkte Oxydation nachgewiesen (s. später).

²⁾ 57 Fälle wurden im Verlauf der Erkrankung mehrfach untersucht, 37 zweimal, 15 dreimal, 4 viermal und 1 fünfmal. In gewissen Reihen trat Ht erst nach Hämolyse und Bil noch später auf; doch sind die Zahlenverhältnisse noch nicht als typisch zu bewerten.

³⁾ Bei einmaliger Untersuchung schwerer Fälle der geschilderten (s. unten) Artung kann man 50% auf Vorkommen geringer Mengen

In dem vorliegenden Untersuchungsmaterial sind Diphtherien aller Schweregrade enthalten. In erster Linie wurden schwerste und schwere Fälle berücksichtigt, dann aber zum Vergleich auch leichtere, also mittelschwere Formen und einzelne leichte.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, findet sich in einer großen Zahl der Fälle eine auf das Auftreten von Oxyhämoglobin im Serum beschränkte Hämolyse. In einer weiteren Reihe treten Spuren von Hämatin neben dem O_2Hb auf und in einer 3. Reihe von wenigen Fällen größere Mengen von Hämatin, Werte über Ht_3 nicht beobachtet wurden.

Besonders interessiert die Frage, wovon die Verschiedenheit der Befunde abhängt, da es sich gezeigt hat, daß gleich schwere Fälle in ganz verschiedener Weise von Hämolyse begleitet sein können, oder auch ohne dieses einhergehen. Es ergibt sich die Tatsache, daß durchaus nicht jede schwere Diphtherie hämolytische Wirkungen hervorbringt, daß andererseits auch leichtere, mittelschwere Fälle von Hämolyse begleitet sind. Es bestehen also beträchtliche Unterschiede im Charakter der einzelnen Diphtheriefälle hinsichtlich der Kombination mit Hämolyse.

Es läßt sich im allgemeinen folgendes sagen:

Schwerste, innerhalb der ersten Krankheitswoche zum Tode führende Diphtherien (*Di. gravissima*) gehen am häufigsten mit hämolytischen Erscheinungen einher, können aber auch bisweilen ganz davon frei sein.

Schwere Intoxikationen diphtherischer Natur, von nicht sehr intensiven lokalen Prozessen ausgehend, also Formen, bei denen eine nicht so schwere *Di.-Angina* von schwerer Intoxikation begleitet und gefolgt ist, zeigen seltene und geringgradige hämolytische Wirkungen.

Schwere lokale Prozesse, bei denen aber die diphtherische Intoxikation an Bedeutung zurücktritt, neigen ebenfalls zu hämolytischen Erscheinungen.

Mittelschwere Fälle zeigen dann stärkere hämolytische Wirkungen, wenn bei ihnen der lokale Prozeß sehr erheblich und intensiv verläuft.

Daraus geht hervor, daß der Charakter der lokalen Rachenerkrankung eine wichtige Rolle spielt. Je lebhafter die Entzündungsercheinungen, Rötung, Schwellung, Ödem, um so stärker die Neigung zu hämolytischen Wirkungen. Je torpider, schleichender die lokale Erkrankung, um so weniger Hämolyse, wenn auch die diphtherische Intoxikation dabei sehr erheblich sein kann. Es scheint also die diphtherische Intoxikation nicht so sehr maßgebend zu sein als die Intensität der lokalen Erkrankung; und dieser Umstand gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit, daß bekanntlich die schwersten und intensivsten Rachenerkrankungen sehr häufig von Mischinfektionen mit septischen Krankheits-

O_2Hb und 10% an O_2Hb in Graden + bis ++ rechnen. Ht findet sich in 15% (20%) „eben erkennbar positiv“ und 2% nach Beträgen von $Ht+$ bis $Ht++$, letzteres kaum 0,3%. Bilirubin überhaupt rund 22%, stärker 2,0%.

erregern, Streptokokken, Staphylokokken, Pneumokokken usw. begleitet sind.

Bei der Berücksichtigung dieser Tatsache muß man annehmen, daß der Kombination von Diphtherie mit Mischinfektionen besonders lebhafte hämolytische Wirkungen entsprechen. Dafür sprechen die Beobachtungen an den schwersten Diphtheriefällen, bei denen sowohl Mischinfektionen wie Hämolyse am häufigsten vorliegen, und auch an weniger schweren Formen, bei denen ebenfalls die Rolle der Mischinfektion ausschlaggebend erscheint, während die reinen diphtherischen Intoxikationen bei weniger schweren Lokalerkrankungen selten von Hämolyse begleitet zu sein pflegen.

Dadurch wird vielleicht auch das wechselvolle von vornherein unberechenbare Verhalten der verschiedenen Diphtherien zur Hämolyse erklärbar, insofern als reine Diphtherien und Mischinfektionen nicht sicher von vornherein zu unterscheiden sind. Nur bei schweren lokalen Erkrankungen kann man Begleitinfektionen voraussetzen, und diese Formen zeigen ja auch am häufigsten hämolytische Symptome. Wenn diese Annahmen richtig sind, wäre in der Hämolyse bei Diphtherie ein Hinweis auf Mischinfektion zu sehen.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen in dieser Richtung werden an anderer Stelle noch zu würdigen sein.

Von Interesse ist ferner noch die Beobachtung, daß die bei schwersten Diphtherien auftretenden Symptome einer hämorrhagischen Diathese, Symptome schwerster septischer Infektion, von vornherein keine Beziehungen zu den Befunden hämolytischer Erscheinungen zu haben brauchen, und zwar dann nicht, wenn die hämorrhagische Diathese erst nach Ablauf der akutesten und schwersten lokalen Rachenprozesse auftritt. Nur wenn, wie bei foudroyant verlaufenden septischen Diphtherien, die hämorrhagische Diathese schon während des Höhepunktes der lokalen entzündlichen Veränderungen auftritt, sind hämolytische Symptome im Serum häufig. Im übrigen aber hat die hämorrhagische Diathese mit den hämolytischen Vorgängen nichts zu tun. Auch diese Tatsache weist auf die Bedeutung der lokalen Affektion für die Hämolyse bei Diphtherie hin.

Die Serumbehandlung, der man bei der ätiologischen Würdigung der Hämolyse bei Diphtherie gedenken muß, fehlen ebenfalls alle Beziehungen zur Hämolyse. Wir konnten auf Grund zahlreicher Untersuchungen ausschließen, daß die Hämolyse eine Folge der Serumbehandlung ist.

Es kommen vielmehr als Ursachen der hämolytischen Symptome bei Diphtherie in erster Linie die Wirkungen schwerer lokaler Infektionen in Betracht, bei denen die mit der Diphtherie einhergehenden Mischinfektionen eine hervorragende Rolle zu spielen scheinen.

Zusammenfassung.

Was nun zunächst die Reihe der Beobachtungen an pathologischen Seris hinsichtlich des Gehaltes von Hämatin angeht, so handelte es sich für uns darum, an Hand eines größeren Materials zur Frage des Vorkommens von Ht an sich aus deskriptiven Rücksichten Stellung zu nehmen. Zu den Befunden von O. Schumm (und den an den betreffenden Arbeiten mitbeteiligten Forschern) haben sich Stimmen aus der Literatur bisher nicht vernehmen lassen. Es handelt sich auch weniger um Gegenprüfungen, da ein grundsätzlich andersgearteter Weg zum Nachweise von Hämatin zur Zeit nicht betreten werden kann. Andererseits ist selbst das Material großer Anstalten bei konsequenter Durchforschung in einzelnen Gebieten relativ eng; das zeigt selbst die im ganzen ziemlich umfangreiche Zusammenstellung (ca. 500 Fälle) von O. Schumm.

Aus der Zusammenfassung von Einzelbefunden in zunächst rein systematischem Interesse lassen sich u. a. Gesichtspunkte herleiten, die für die theoretische Kenntnis der Frage — Umfang des Vorkommens überhaupt — wie für die praktische Verwertung — etwaige diagnostische bzw. differentialdiagnostische Bedeutung — bestimmend werden können.

Zunächst wäre also zu sagen, daß das Vorkommen von Hämatin in menschlichen Blutseris bei Krankheitszuständen viel weiter verbreitet ist, als man ursprünglich hätte annehmen dürfen. Die Beträge, in denen es bei den gegebenen Verhältnissen des Nachweises für sich wie in Konkurrenz mit O_2Hb , $MtHb$ usw. zur Erkennung und genähert quantitativen Schätzung gelangt, schwanken in weiten Grenzen¹⁾. Es ist richtig und durch die bisher vorliegenden

¹⁾ Hämatinämien geringeren Grades lassen sich in Seren, die kein oder nur wenig O_2Hb bzw. auch $MtHb$ bzw. auch Bil enthalten, leicht erkennen. Wenig Ht neben mäßigen Beträgen O_2Hb sind u. E. in mäßigen Schichtdicken zu untersuchen; der Erfolg wird erschwert oder ausgeschlossen durch viel (besonders relativ!) O_2Hb . Sehr viel O_2Hb neben wenig Ht können nicht mit Erfolg geprüft werden. Hämatinreiche Sera werden im Untersuchungs gange nach der Reduktion zu Hämochromogen nur bei quantitativer Schätzung in der Skala von O. Schumm verdünnt. Ist der erste Hämochromogenstreifen bei 4,0 cm

Tatsachen genügend erhärtet, daß es bei Gruppen oder Arten von Krankheiten fast oder durchaus fehlt, ferner daß es zu mäßigen und geringen Beträgen in geringen Prozentzahlen von Beobachtungsreihen vorkommen kann und somit den Anschein mehr gelegentlicher als spezifischer, charakteristischer Natur zur Schau trägt, endlich, daß es bei einzelnen Zuständen in hohen Trefferzahlen und mäßigen bis achtbaren Beträgen zur Darstellung kommt. Indes muß einschränkend betont werden, daß auch heute noch einzelne Krankheiten kaum ausreichend beforscht sind. Man vergleiche zu diesem Zwecke die Beobachtungsreihen von O. Schumm und uns, die beide an sich ein in der Zahl nur unwesentlich verschiedenes Material umfassen. Grundsätzlich anders, nämlich durch positiven Ausfall der Hämatinreaktion, charakterisieren sich Beobachtungen bei Polycythämie.

(Schumm 3 Fälle negativ, ? Beobachtungen, dagegen fanden wir von 5 Fällen mit 11 Beobachtungen Ht 2 +, Ht +, Ht +.)

Ferner fanden wir bei Morbus Addisonii

8 Fälle 17 Beobachtungen, 1mal Ht 2 +, 1mal eben erkennbar gegen 2 Fälle, ? Beobachtungen negativ, O. Schumm.

Hämatin in nachweisbaren, nicht gleichgültigen Beträgen. Prüfungen bei Purpura haemorrhagica wurden ebenfalls einmal positiv erwiesen.

(1 Fall mit dreifacher Prüfung gegen 1 Fall negativ, O. Schumm.)

Bei Scharlach, Masern, Diphtherie erwiesen wir das Vorkommen geringer Mengen in nicht gar zu seltenen Fällen.

Zur Bewertung dieser Abweichungen glauben wir einstweilen mit gewisser Reserve mitteilen zu können, daß unsere Meinung, Ht könne auch dort, wo bisher nicht erkannt, vorkommen (im Ausmaße größerer Beobachtungsreihen an zahlreicheren Fällen), manche Fingerzeige gefunden hat. Für vor-

Schicht noch deutlich wahrnehmbar, so ist $\langle \text{Ht} + \rangle$ gesetzt, bei 2,0 cm $\langle \text{Mt} 2 + \rangle$ usw. Mittelstufungen und Verdünnungen nach Erfordernis. Vorschriften genau beschrieben bei O. Schumm, l. c. 1913, 1916. O. Schumm weist noch daauf hin, daß die Möglichkeit einer Täuschung hinsichtlich des ersten Hämochromogenstreifens durch den Streifen des reduzierten Hb besteht. Auch relativ hohe Mengen von MtHb können Ht dem Nachweise entziehen. In einzelnen Fällen wurde filtriertes, sonst abgegossenes Serum unter den notwendigen Kautelen behandelt. Die Schwierigkeit der O_2Hb -Erkennung ist groß; sie zwingt zu äußerster Vorsicht, die Sicherheit ruht auf spez. Erfahrung.

stehende Krankheitszustände muß also die Möglichkeit der Hämatinbildung mit nicht gleichgültiger Wahrscheinlichkeit der Treffer eingeräumt werden. Ferner mögen auch erkennbare oder unbekannte Komplikationen von pathologischen Verhältnissen gelegentlich das Auftreten von Ht zur Folge haben da, wo ein „reiner“ Fall es durchaus vermissen läßt oder ließ.

Im Rahmen der Arbeit von O. Schumm bisher fehlend, treten neu zur Statistik hinzu Echinococcus mit seltenerem, und akute gelbe Leberatrophie mit sehr seltenem Vorkommen (3 Fälle bzw. 3 Fälle, 7 bzw. 50 Beobachtungen).

Auf die ferneren, neu begonnenen Fragen gehen wir weiter unten ein.

Eine direkte, auch prozentuale Übereinstimmung mit den Ergebnissen von O. Schumm erzielten wir bei Malaria und in vielen der (hier nicht als mitteilenswert angesehenen) negativen Reihen. Die Befunde bei paroxysmaler Hämoglobininurie und bei hämolytischem Ikterus sind u. E. erhebliche Erweiterungen der bisherigen Statistik, Bestätigungen und Präzisierungen der Ansichten über Treffwahrscheinlichkeit.

Unsere Reihenuntersuchungen an perniziöser Anämie glauben wir so auslegen zu dürfen, daß einmal das Vorkommen von Ht deskriptiv eindringlicher als bisher geschildert wird, indem 24 bzw. fernere 8 Fälle der Statistik eingefügt werden, und indem der Nachweis von Ht in jedem einzelnen Falle bei fortlaufender Untersuchung mindestens einmal gelang, so daß also hier Ht, abgesehen von hohen Beträgen, in höchster Wahrscheinlichkeit zu treffen ist. Indes konnte gezeigt werden, daß es etwa indirekt proportional zum Hämoglobingehalt nicht steht. Demgegenüber umfaßt, Schumms Angaben bestätigend, die Reihe über Anämien und Leukämien 48 Fälle, wiederholte Prüfungen mit negativen Befunden. (Weiteres später.)

Die Systematik der Hämatinämie ist durch erweiterte kasuistische Erhebungen gefördert, bisherige Befunde sind größtenteils bestätigt, ferner auch ergänzt worden. Es fragt sich nunmehr, ob die neu hinzutretenden Ergebnisse der Frage der praktischen Verwertbarkeit dienstbar gemacht werden können — über die bisher eingenommenen Standpunkte hinaus. Bei dem augenfälligsten Material beginnend, haben wir im Gebiete der Anämien zu der mehrfach, anfangs mit vermutlich zu gering-

wertigen, sachlichen Grundlagen erörterten Frage nach der diagnostischen Bedeutung der Hämatinämie bei perniziöser Anämie Stellung zu nehmen. Mehrere Jahre währende Erfahrungen und die nunmehrige Übersicht gestatten u. E., wohl endgültig im bejahenden Sinne über diese Möglichkeit zu entscheiden. In reichlich einem halben Dutzend von Fällen haben wir glatte differentialdiagnostische Erfolge erzielt. Die Einzelheiten des diesbezüglichen Auftretens und Verschwindens, der Mengen und Beziehungen des Hämamins sind mehrfach behandelt worden, worauf verwiesen sei. So einfach und schlagend liegen die Argumente nicht überall¹⁾.

Für Icterus haemolyticus z. B. besteht schon allein nach den in Betracht kommenden, offensichtlich überwiegend geringeren Mengen Ht, wie nach der geringeren Wahrscheinlichkeit eines Treffers nur die Möglichkeit einer gelegentlichen Unterstützung. Für die perniziöse Anämie dagegen sind die hohen Beträge von Ht und die weite Verbreitung desselben im strengen Gegensatz zu den übrigen Anämien von vornherein günstige Faktoren, die innerhalb des klinischen Komplexes schnell entscheidend zu beurteilen gestatten. Bei paroxysmaler Hämoglobinurie kann vielleicht u. U. der Befund die Schwere (und Art) des Falles mit charakterisieren²⁾. Bei Malaria liegen endgültige Meinungen über die Bedeutung des Auftretens und Schwindens von Ht aus dem Serum heute noch nicht vor. Über septische Ätiologien, speziell der oben gestreiften Art, haben E. Fraenkel und O. Schumm berichtet. Mit diesen Ergebnissen ist der Stand der Frage zur Zeit kaum erschöpft.

Es wäre nun zu erörtern, ob die geringgradigen, mehr oder weniger vereinzelt Befunde in anderen Krankheitszuständen praktische Bedeutung haben oder vielleicht erlangt werden. Zur Zeit muß man eine solche bestreiten; ist doch das ganze

¹⁾ Die in engstem Zusammenhange zu der besprochenen Frage der Hämatinämie (für sich, wie in Beziehung zum Auftreten von O₂Hb und MtHb) stehenden Aufgaben über Verhalten, Nachweis und Wechselbeziehungen des Bilirubins (besonders in der Technik der Diazoreaktion nach Hymans — van der Bergh und Snapper) werden hier nicht allgemein berührt. Verf. und E. Querner werden hierüber bald a. a. O. berichten.

²⁾ Diese Beobachtung bei künstlich hervorgerufenem Anfall, beschrieben von O. Schumm, l. c. (1916).

Gebiet erst der deskriptiven Untersuchung allmählich unterworfen worden.

In jedem Falle aber wird man u. E. darauf gefaßt sein müssen, Ht auch bei zahlreichen anderen Zuständen zu begegnen, ohne daß relative Seltenheiten und geringe Beträge auf spezifische Grundlagen hinweisen müßten, wie solche z. B. bei Intoxikationen, Malaria, perniziöser Anämie in Betracht kommen. Vor allem wird weiter, auch in Reihenuntersuchungen einzelner Fälle, gesammelt und der Möglichkeit des Nachweises gewisser Komplikationen (klinisch und pathologisch) gedient werden müssen, welch' letztere u. U. die Ursachen für das (zunächst unerklärte) Auftreten von Ht verstehen lehren kann. Natürlich kann man in Trefferergebnissen, 3⁰/₀, 5⁰/₀ selbst 10⁰/₀ Ht, Voraussetzungen zur Entwicklung einer (selbst nur unterstützenden) Differentialdiagnose erblicken wollen. Anders liegt es schon da, wo (Malaria, Icterus haemolyticus usw.) die Möglichkeit positiver Befunde die Hälfte und mehr der Prüfung umgreift. Geradezu ideal gestaltet sich die Lage bei der perniziösen Anämie, wenschon eine einmalige Prüfung nach wie vor mit dem Fehlen der Reaktion rechnen muß. Immerhin sind ferner auch die geringen Einzelbeobachtungen größerer Reihen bei gewissen Krankheitszuständen nicht ohne Bedeutung; das erweisen u. E. schon die Differenzen zwischen den Reihen von O. Schumm und uns, die Erweiterungen brachten. Sonach müssen wir, wie schon gesagt, mit fernerer Ausbreitung der Befunde rechnen.

Von wirklichem Werte dürften dagegen auch spärliche oder isolierte Vorkommnisse dort werden können, wo es ein auch aus anderen Voraussetzungen hergeleitetes Problem ist, innerhalb eines summarisch formulierten Krankheitsbegriffs einzelne bestimmte, individualisierbare Bilder abzugrenzen, zu umschreiben und mit näher eingehenden Symptomen auszustatten. In gewissem Sinne entsprechen die Untersuchungen des einen von uns (Deussing) diesen Verhältnissen.

Auch für Schwere und Grad von Erkrankungen werden Hämatinbefunde bezeichnend werden können.

So war es z. B. von hohem Interesse, bei starker bis stärkster Überlastung durch Geharbeit gelegentlich neben beträchtlicher Hämolyse auch Hämatin anzutreffen, obschon es

damals und bis heute nicht gelang (auch auf experimentellem Wege), die eigentliche Ursache greifbar darzustellen, weil der Symptomenkomplex ein so vielseitiger ist¹⁾.

Die Bearbeitung unseres eingangs eigentlich an erste Stelle — seiner theoretischen Bedeutung wegen — gerückten Problems hat bisher keine Wege zu befriedigenden Ausblicken oder gar der Lösung erkennen lassen, wenschon rein deskriptiv manche Beobachtung ihm zugute kommen dürfte — es handelt sich um Parallelität oder zeitliche wie genetische Verknüpfung der Hämatinämie mit der Hämolyse und Hämoglobinämie. Nach wie vor fanden sich in unseren Fällen Ht und O₂Hb neben- und nacheinander, ja ohne einander. Der Versuch, mit der für die einschlägige Frage ein bestechend günstiges Material bietenden Reihenuntersuchung bei bestimmt gearteten Diphtherien, hat die erstrebten Früchte zunächst nicht getragen. Über die Aufgabe, Zusammenhänge zwischen Ht und Bilirubin (durch die Methodik verschiedener Darstellung) aufzufinden, müssen nach wie vor besondere Arbeiten angestellt werden.

Schlußsätze.

Es wird über umfangreiche (rund 700 Fälle) Untersuchungen berichtet, die zum Zwecke des Nachweises von Hämatin in pathologischen Blutseris angestellt wurden²⁾.

Negative Ergebnisse (vgl. O. Schumm, 1916) wurden nur in speziellen, besonders wichtigen Fällen (Anämien, Leukämie) aus differentialdiagnostischem Interesse beschrieben.

Die positiven Ergebnisse wurden in Beziehung zu der von O. Schumm geschaffenen Statistik über die Hämatinämie ab-

¹⁾ Die derzeitigen Ergebnisse (l. c. 1916) von Joh. Feigl und E. Querner bzw. Joh. Feigl mit A. V. Knack und H. Koopmann wurden von O. Schumm — es fehlte damals eine Publikation — auf Grund kurzer Angabe in einer Diskussionsbemerkung zum Vortrage von A. V. Knack, Brightsche Nierenerkrankung im Kriege (l. c. 1916) unter Krankheiten der Harnorgane registriert (l. c. S. 38). U. E. gehören diese Befunde nicht in die fragliche Aufstellung, wie die spätere Publikation erwiesen haben dürfte. Jedenfalls werden sie nach den aufgefundenen Zusammenhängen in einer Systematik der Hämatinämie kaum dort gesucht werden können.

²⁾ Die Sammlung wird fortgesetzt und erweitert, worüber später zu berichten sein wird. Zahl mit Ausschluß der toxikologischen Anlässe (l. c.).

gehandelt. Übereinstimmung fand sich u. a. ziemlich genau bei Malaria. Nicht prinzipiell anders, aber der Mitteilung der ev. Befunde nach modifiziert, stellen sich die Beobachtungen über hämolytischen Ikterus, Typhus ein, ihrerseits auch negative Ergebnisse. In Gegensatz zu den Angaben von O. Schumm treten unsere Feststellungen bei Polycythämie mit möglicherweise prinzipieller Grundlage für Vorkommen einer Hämatinämie, Addison, Scharlach, Masern, mit vermutlich mehr gelegentlichen Voraussetzungen.

Neu hinzutretend zum bisherigen Stande der Kenntnis sind unsere Beobachtungen bei akuter gelber Leberatrophie, Echinokokkus, Diphtherie und solche speziellerer Natur.

Über die Frage des Vorkommens von Hämatin bei perniziöser Anämie wird an breitem Material in Reihenuntersuchungen berichtet. Die schon einmal von anderer Seite zunächst vermutete, dann außerdem bestimmter geäußerte Möglichkeit eines differentialdiagnostischen Wertes wird durch verschiedene Angaben bestätigt und zur Tatsächlichkeit erhoben.

Man muß u. E. mit weiterer Ausbreitung des Vorkommens von Ht rechnen.

Die Analyse und Schätzung der Mengen geschah nach früheren Angaben.

Die Beziehungen der Hämatinämie werden erörtert. Genetische Zusammenhänge zwischen O_2 Ht und Ht im Serum ließen sich auch an neuen Materialien kaum nachweisen. Eine besondere Untersuchung über Diphtherie wurde mit bestimmten, pathologisch wichtigen und deshalb a. a. O. speziell von dem einen von uns (Deussing) näher zu erörternden Ergebnissen durchgeführt.

Naturgemäß können Untersuchungen der vorliegenden Art nur bei Verfügung über ein ausgedehntes Material angestellt werden. Die Verf. sind sowohl Herren auswärtiger und anderer hiesiger Anstalten, darunter militärischer Lazarette, wie auch den Oberärzten des Allgem. Krankenhauses Barmbeck, Herren Prof. Dr. F. Reiche und Dr. H. Luce, besonders dem Sekundärarzte Dr. E. Querner (Fälle der Aufnahme) für stetige freundliche Unterstützung durch Überweisung von Untersuchungsmaterial zu großem Danke verpflichtet.

Desaminierung und Harnstoffbildung im Tierkörper.

Von

Wilhelm Löffler.

(Aus der Medizinischen Klinik der Universität Basel.)

(Eingegangen am 25. August 1917.)

Mit 3 Figuren im Text.

I.

Das Problem der Harnstoffbildung im Organismus, das seit Wöhlers Synthese dieses Körpers die Forschung beschäftigt, bietet noch heute eine Reihe von ungelösten Fragen. Wenn auch die Vorgänge bei der Entstehung des Harnstoffs bei oberflächlicher Betrachtung als zum größten Teil gelöst erscheinen könnten, so bestehen bei näherem Zusehen doch noch eine Reihe von ungeklärten Punkten und Schwierigkeiten, über die man sich mit Hilfe von Hypothesen hinwegzuhelfen versucht. Zahlreiche Beobachtungen über die Harnstoffbildung im Organismus, die sich den Vorstellungen, die man sich über diesen Vorgang machte, harmonisch einzureihen schienen, gewannen im Lichte neuer Methoden andere Bedeutung. In dem zentralen Problem der Harnstoffbildung treffen sich die Hauptfragen des Stoffwechsels, die des Eiweißabbaues und der Eiweißsynthese im Organismus, diejenigen nach dem Übergang stickstoffhaltiger in stickstofffreie Körper und umgekehrt.

Zwei Ziele hauptsächlich werden bei der Erforschung der vitalen Harnstoffbildung unter Anwendung der verschiedensten Methoden erstrebt.

1. Die Art der Reaktion kennen zu lernen, die den Übergang von Eiweiß und stickstoffhaltigen Eiweißabkömmlingen in Harnstoff vermitteln, und die Bedingungen festzustellen, unter denen sich diese Vorstufen in Harnstoff umwandeln.

2. Den Ort oder die Orte der Harnstoffbildung im Organismus zu finden.

Gemäß den Schwierigkeiten der Fragen war die Methodik, die zu ihrer Beantwortung herangezogen wurde, vielgestaltig. Im folgenden soll ein kurzer Überblick über die Entwicklung und den gegenwärtigen Stand der Harnstofffrage gegeben werden.

Art der Harnstoffbildung: Daß das Eiweiß die Hauptquelle des Harnstoffs sein mußte, war schon bekannt, bevor man sich über den Aufbau des Eiweißmoleküls adäquate Vorstellungen bilden konnte.

Um über den Reaktionsverlauf bei der vitalen Harnstoffbildung Aufschluß zu erhalten, wurden zunächst stickstoffhaltige Substanzen verfüttert und injiziert und festgestellt, ob eine entsprechende Zunahme des Harnstoffs im Urin auftrat. In erster Linie erwiesen sich eine Anzahl von Ammoniumsalzen¹⁾ als Harnstoffbildner, und anfängliche große Unterschiede in den Versuchsergebnissen wurden später als durch die Natur des Anions²⁾ der einzelnen Ammoniumverbindungen begründet, aufgeklärt.

Die Erkenntnis, daß auch Aminosäuren bei Verfütterung in Harnstoff übergehen, kann als der nächste Schritt bezeichnet werden. Glykokoll und Leucin³⁾ an Hunde verfüttert, hatten eine ihrem Stickstoffgehalt entsprechende Vermehrung der Harnstoffausscheidung zur Folge. Tyrosin⁴⁾ wurde zu einem beträchtlichen Teil wieder als solches ausgeschieden und hatte nur ein geringeres Ansteigen des Harnstoffs im Urin bewirkt, während die Harnstoffvermehrung nach Eingabe von Asparaginsäure⁴⁾ und Alanin⁵⁾ wieder dem Gesamtstickstoff dieser Verbindungen entsprach. Noch auffallender war die Feststellung, daß der locker gebundene Stickstoff des Acetamids⁶⁾ nicht zur Harnstoffbildung verwertet wird. Auch Formamid und Oxaminsäure⁶⁾ (Oxalsäureamid) werden unverändert wieder ausgeschieden, trotzdem aller Stickstoff des Asparagins⁷⁾, also auch der amidartig gebundene, zur Harnstoffbildung verwertet wird. Schon damals wurde deshalb betont, daß allein aus der chemischen Konstitution einer Substanz allgemeine Schlüsse auf ihre Umwandlung in Harnstoff nur unter großem Vorbehalt gezogen werden dürfen. Nach Injektion von Aminosäuren ergaben sich ähnliche Verhältnisse wie

¹⁾ v. Knieriem, Zeitschr. f. Biol. 13, 256, 1877. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 1, 1877.

²⁾ Hallervorden, Arch. f. experim. Pathol. 10, 126. — Walter, ibid. 7, 148.

³⁾ Neneky und Schultzen, Zeitschr. f. Biol. 8, 124, 1872.

⁴⁾ v. Knieriem, ibid. 10, 263, 1874.

⁵⁾ Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 100.

⁶⁾ Halsey, ibid. 25, 225.

⁷⁾ v. Knieriem, l. c.

nach Verfütterung, indem Glykokoll sehr leicht, Alanin und Leucin schon schwieriger und Tyrosin nur in geringer Menge in Harnstoff umgewandelt wurden¹⁾.

Mit Umgehung des tierischen Organismus suchte man auf rein chemischem Wege Aufschluß über den Reaktionsverlauf bei der Harnstoffbildung zu gewinnen. Es gelang Hofmeister²⁾ mit Hilfe von Kaliumpermanganat bei Gegenwart von Ammoniak eine große Zahl stickstoffhaltiger und stickstofffreier Verbindungen in Harnstoff umzuwandeln, vor allem wieder Eiweiß und eine Reihe von Aminosäuren. Auf Grund seiner in vitro ausgeführten Untersuchungen betont Hofmeister die Wichtigkeit des oxydativen Moments bei der Reaktion. Die Versuche erlauben aber keine eindeutigen Schlüsse über den Reaktionsverlauf.

Um für das Studium der vitalen Harnstoffbildung einfachere Verhältnisse zu schaffen, wurde die Reaktion an isolierten überlebenden Organen verfolgt und die Veränderungen untersucht, die dabei Substanzen erleiden, die in Versuchen am intakten Tier sich als Harnstoffbildner erwiesen hatten. Schröder³⁾ gelang es in einer klassischen Arbeit zu zeigen, daß Ammoniumcarbonat und die Ammoniumsalze solcher Säuren, die im Organismus zu Kohlensäure verbrennen, in der isolierten Leber in Harnstoff übergehen. Nach Zusatz von Glykokoll, Alanin, Leucin und Asparaginsäure zur Durchströmungsflüssigkeit einer überlebenden Leber beobachtete Salaskin⁴⁾ Harnstoffneubildung. Aus den gleichen Aminosäuren und außerdem aus Serin und Glutaminsäure konnte ich⁵⁾ bei der Durchströmung der Leber Harnstoffneubildung feststellen, während die Ausschläge, die unter gleichen Bedingungen für Cystin, Taurin und Tyrosin erhalten wurden, so gering waren, daß eine Harnstoffneubildung aus diesen Substanzen am isolierten Organ noch fraglich ist. Sie findet jedenfalls lange nicht in dem für andere Aminosäuren beobachteten Umfang statt.

Über die intimeren Vorgänge bei der Harnstoffbildung erlauben auch die bisherigen Untersuchungen am überlebenden Organ keine eindeutigen Schlüsse, so daß man auf Hypothesen angewiesen ist. Während Ammoniumcarbonat direkt in Harnstoff übergehen kann, nach einer Reaktion, die, allerdings unter wesentlich anderen als den im Tierkörper gegebenen Bedingungen, in vitro stattfindet, ist ein direkter Übergang von Aminosäuren in Harnstoff etwa durch intramolekuläre Umlagerung kaum möglich. Aminosäuren können aber in ähnlicher Weise als Harnstoffbildner fungieren, wie Ammoniumsalze, wenn die NH_2 -Gruppen aus

1) Stolte, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 15.

2) Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 37, 426. — Eppinger, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 481.

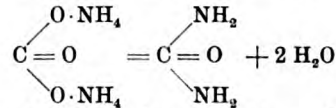
3) Schröder, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 15, 364, 1882.

4) Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 128.

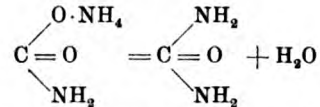
5) Löffler, diese Zeitschr. 76, 55.

dem Molekül abgespalten werden, und diese als Ammoniak einer Umwandlung in Harnstoff unterliegen. Der Übergang der Aminosäuren müßte danach über die Zwischenstufe des Ammoniaks erfolgen.

Demgemäß betrachten die drei hauptsächlichsten Theorien über den Reaktionsverlauf bei der vitalen Harnstoffbildung Ammoniak entweder als ausschließliche oder doch als integrierende, unmittelbare Vorstufe des Harnstoffs. Während Schmiedeberg¹⁾ den Übergang von Ammoniumcarbonat in Harnstoff als einfache Wasserabspaltung auffaßt, wie sie auch im Organismus in anderen Reaktionen beobachtet wird,



und Drechsel²⁾ noch Ammoniumcarbaminat als Zwischenstufe einschaltet,



legt Hofmeister das Hauptgewicht auf die oxydativen Vorgänge beim Reaktionsverlauf, indem er annimmt, daß bei der Oxydation stickstoffhaltiger Körper entstehende CONH_2 -Gruppen sich mit ebenfalls oxydativ entstehenden NH_2 -Gruppen zu Harnstoff zusammenlagern. Diese beiden Anschauungen unterscheiden sich jedoch nicht in prinzipieller Weise. Nach der Vorstellung Salkowskis³⁾ lagern sich Ammoniak und Cyansäure im Organismus zu Harnstoff zusammen, nach einer Reaktion, die auch außerhalb des Körpers leicht erfolgt.

$\text{NH}_3 + \text{CONH} = \text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Diese Theorie scheint gegenwärtig am wenigsten gestützt, denn es gelang weder bei Tieren, die mit Ammoniak vergiftet waren, durch Zufuhr von Cyansäure die Vergiftung zu beheben⁴⁾, noch konnte Cyansäure als intermediäres Stoffwechselprodukt nachgewiesen werden. Ammoniak dagegen läßt sich in den Organen, im Blut und im Harn jederzeit nachweisen. Ammoniak ist demnach ein Produkt, das im intermediären Stoffwechsel auftritt; wenn auch nur unvollständig bekannt ist, welcher Anteil des Eiweißstickstoffes beim Abbau der Aminosäuren die Stufe des Ammoniaks durchlaufen muß.

Über den Anteil, den Purinkörper⁵⁾, Guanidinderivate, wie Methylguanidin, Kreatin, Kreatinin, Sarkosin und Aminohexosen wie Glucosamin an der Harnstoffbildung haben, ist nichts bekannt. Einige dieser

¹⁾ Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 8, 1, 1878.

²⁾ Drechsel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 1890, 3096; Ber. d. Sächs. Ges. d. Wissensch. 5, 171, 1875.

³⁾ Salkowski, l. c.

⁴⁾ Hofmeister, l. c.

⁵⁾ Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 8, 404.

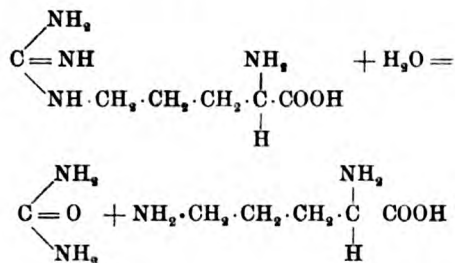
Substanzen sind schon als Harnstoffbildner angesprochen worden und können vielleicht als solche in Betracht kommen.

Endlich ist noch die Möglichkeit der Bildung von Ureidosäuren¹⁾,

deren einfachste die Hydantoinensäure $\text{CO} \begin{array}{l} \text{NH}_2 \\ \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH} \end{array}$ ist, zu er-

wähnen und deren eventueller Übergang in Harnstoff. Besonders solche stickstoffhaltige Substanzen, die sich als schlechte Harnstoffbildner erwiesen haben, wie Tyrosin²⁾, Taurin³⁾ und Sarkosin⁴⁾ sind nach Verfütterung aus dem Harn als entsprechende Uraminosäuren isoliert worden; zum Teil handelt es sich dabei wohl um Kunstprodukte, die bei der Verarbeitung des Harns entstanden sind. Die Bildung der Ureidosäure galt als Stütze der Cyansäuretheorie, ihre Entstehung ist aber ebensogut mit den anderen Theorien in Einklang zu bringen.

Daß Harnstoffbildung auch noch auf andere Weise stattfinden kann, zeigt die direkte hydrolytische Abspaltung desselben aus Arginin durch Arginase⁵⁾.



Dieser Vorgang erfolgt auch *in vitro* unter der Einwirkung eines in verschiedenen Organen enthaltenen Fermentes, Arginase. Dies ist die einzige bekannte rein fermentative Entstehung von Harnstoff. Die Reaktion ist streng an die chemische Konstitution des Arginins gebunden. Der Guanidinkomplex wird von der Arginase nicht angegriffen, ebenso ist sie dem Kreatin und dem Kreatinin gegenüber wirkungslos⁶⁾. Von der großen Menge des im Organismus entstehenden Harnstoffs kann nur der kleine Teil, der dem Abbau des Arginins entstammt, nach dieser Reaktion gebildet werden. Dem Arginin entstammt auch der Harnstoff, der bei der Hydrolyse von Eiweiß mit Säure erhalten wird. Während

¹⁾ Lippich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 68, 277, 1910.

²⁾ Blendermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 234. — Dakin, Journ. of Biol. Chem. 8, 25.

³⁾ Philosophow, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 131.

⁴⁾ Schultzen, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 5, 578.

⁵⁾ Kossel und Dakin, *ibid.* 41, 321; 42, 131.

⁶⁾ Dakin, Journ. of Biol. Chem. 3, 435; vgl. auch Gottlieb und Stangassinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 1.

nun sowohl oxydative Prozesse, wie z. B. die Oxydation von Aldehyden¹⁾, durch Organbrei und sogar durch Organextrakte bewerkstelligt werden können, andererseits auch Kuppelung unter Wasseraustritt, wie die Indophenolblausynthese, in isolierten Zellkomplexen und Zellen nachgewiesen werden können, sind wir vorläufig für das Studium der Harnstoffbildung aus allen Vorstufen mit Ausnahme des Arginins auf das intakte Organ angewiesen.

Alle Versuche, mit Hilfe von Organbrei eine Harnstoffbildung zu erhalten, haben, soweit mit guter Methodik ausgeführt, ein negatives Resultat gehabt²⁾. Es ist sogar noch strittig, ob überhaupt noch Ammoniakabspaltung aus Aminosäuren, Desaminierung³⁾, die als erster Schritt der Harnstoffbildung aus Aminosäuren aufgefaßt wird, unter der Einwirkung von Organbrei erfolgt, da das Auftreten von Ammoniak bei diesen Versuchen noch nicht Ammoniakabspaltung aus den zugesetzten Aminosäuren zu bedeuten braucht.

Mit der Frage des Reaktionsverlaufes bei der Harnstoffbildung ist daher fast untrennbar verknüpft diejenige nach dem Orte, an dem diese Vorgänge sich abspielen.

Ort der Harnstoffbildung: Versuche, Aufschluß über die Harnstoffbildung zu erhalten durch vergleichende Bestimmung des Harnstoffgehaltes der Organe und des Blutes, mußten resultatlos verlaufen, denn sie beruhten auf unrichtiger Fragestellung. Auch die neuerdings gemachte Feststellung, daß der Harnstoffgehalt aller Organe ein und desselben Tieres zu einer gegebenen Zeit prozentual nahezu gleich ist, mit Ausnahme des Fettgewebes mit niedrigem und des uropoetischen Systems mit hohem Harnstoffgehalt, gibt über den Ort der Harnstoffbildung keinen Aufschluß, da der Harnstoff im Maße seiner Entstehung von seiner Bildungsstätte ausgeschwemmt wird. Schröder ist es, wie schon erwähnt, durch Untersuchung isolierter überlebender Organe gelungen, die Leber als Bildungsstätte des Harnstoffs zu erweisen und die Bedingungen zu ermitteln, unter denen kohlen-saures Ammonium in der isolierten Leber in Harnstoff umgewandelt wird. Unter identischen Bedingungen bildeten Nieren und Muskulatur aus kohlen-saurem Ammonium keinen Harnstoff, trotzdem diese Organe lange Zeit lebensfähig bleiben, und die Niere z. B. nach Bunge und Schmiedeberg⁴⁾ noch 2mal 24 Stunden nach der Entnahme aus dem Organismus die Hippursäuresynthese bewerkstelligen kann. Eine mangelhafte Vitalität der Organe

¹⁾ Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14, 288. — Jaquet, ibid. 29, 326.

²⁾ Löwi, Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 54. — Jacoby, ibid. 30, 149; vgl. Jacoby, Ergebnisse der Phys. 1, 532.

³⁾ Lang, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 321. — Löffler, Diese Zeitschr. l. c. — Kossel und Dakin, l. c.

⁴⁾ Bunge und Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 6, 233, 1877.

kann daher nicht den Grund für das Ausbleiben der Harnstoffbildung darstellen. Schröder¹⁾ stützte seine Befunde weiter durch den Nachweis, daß nach Ausschaltung der Nieren der Harnstoffgehalt des Blutes relativ wenig, bei Ausschaltung der Nieren und gleichzeitiger intravenöser Injektion von Ammoniumsalzen verbrennlicher Säuren etwa 10mal so stark anstieg, daß die Harnstoffanreicherung im Blute aber ausblieb, trotz Injektion von Ammoniumsalzen, wenn gleichzeitig mit der Niere auch die Leber ausgeschaltet wurde. Eine indirekte Stütze dieser Befunde besteht in dem Nachweis, daß Ammoniak normalerweise bei Vögeln in Harnsäure übergeht [Schröder²⁾], und daß nach Minkowski³⁾ bei Ausschaltung der Leber an Gänsen 50 bis 60% des Harnstickstoffs als Ammoniak zur Ausscheidung kommt, also bei Ausfall der Leberfunktion nicht in Harnsäure umgewandelt wird. Alle diese miteinander in Einklang stehenden Beobachtungen weisen der Leber bei der Harnstoffbildung eine dominierende Rolle zu, so daß Schröder zu der Feststellung kommt: „Aller Harnstoff, der die Vorstufe des kohlen sauren Ammons durchläuft, wird in der Leber gebildet, und das ist vermutlich die Hauptmasse desselben.“

Auch nach anderer Methodik, auf indirektem Wege, wurden Befunde erhoben, nach denen die Leber als wesentliches, wenn nicht einziges harnstoffbildendes Organ anzusprechen war. Wird das harnstoffbildende Organ ausgeschaltet, so muß erwartet werden, daß die Vorstufen des Harnstoffs, besonders das Ammoniak, nicht mehr in Harnstoff umgewandelt werden können und in vermehrtem Maße in den Körperflüssigkeiten und in den Ausscheidungsprodukten auftreten.

Auf Grund dieser Überlegung studierten Hahn, Massen, Nencki, Pawlow und Zaleski⁴⁾ in einer Reihe von Arbeiten die Folgen der Leberausschaltung bei Hunden durch Verbindung der Vena portae mit der Vena cava nach Eck, und erhoben eine Reihe wichtiger Befunde über das Verhalten des Ammoniaks, das zweifellos mit dem Harnstoff im Organismus in enger Wechselbeziehung steht. Bei einzelnen Tieren trat in der Zeit nach der Operation ein eigentümliches Vergiftungsbild auf, das durch Zufuhr stickstoffreicher Nahrung verstärkt oder erst ausgelöst wurde. Ammoniumcitrat erwies sich vom Magen aus für die operierten Tiere giftiger als für normale. Die Vergiftung wurde anfangs als Carbaminsäure, — später als Ammoniakintoxikation aufgefaßt. Während der Ammoniakgehalt des Pfortaderblutes normaler Tiere konstant 3 bis 4mal so hoch gefunden wurde, wie der des Lebervenenblutes, zeigten die Fistelhunde zur Zeit der Vergiftungserscheinung im Venenblut so hohe Ammoniakwerte wie normale Tiere im Pfortaderblut. Die Ammoniakausscheidung im Urin erwies sich als vermindert, die Harnstoff-

¹⁾ Schröder, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **19**, 373.

²⁾ Schröder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**, 228, 1878.

³⁾ Minkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **21**, 41, 1886.

⁴⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **32**, 161; **38**, 215, 1892;

ausscheidung als etwas herabgesetzt; kurz, alles schien für eine Ammoniakvergiftung infolge Ausfalls der harnstoffbildenden Tätigkeit der Leber zu sprechen und sich harmonisch in das Bild einzureihen, das man sich von der ammoniakentgiftenden, harnstoffbildenden Funktion der Leber machte.

Aber bei gleichzeitiger Anlegung der Venenfistel und Unterbindung der Arteria hepatica oder bei nachfolgender Exstirpation der Leber ergaben sich schon andere Verhältnisse. Nencki und Pawlow¹⁾ fanden bei den nach kurzer Zeit zugrunde gehenden Tieren nur geringe Ammoniakvermehrung im Blute, so daß sie auch die Beteiligung anderer Organe als der Leber bei der Ammoniakentgiftung und Harnstoffbildung postulieren.

Hochgradige Leberverödung durch Injektion von Säure in die Gallenwege [Lieblein²⁾] führte bei Hunden in 30 bis 40 Stunden zum Tode, ohne daß sich weder in der ersten Periode anscheinend ungestörten Befindens, noch in dem nach ca. 24 Stunden einsetzenden Koma im Harn eine deutliche Veränderung im Verhältnis von Harnstoff zu Ammoniak erkennen ließ. Die tödliche Intoxikation ist hier das Primäre, nicht die Störung der harnstoffbildenden Funktion. Es zeigt sich in diesem Falle keine Störung der Harnstoffbildung im Organismus, und die tödliche Vergiftung nach dieser Art der Leberausschaltung beruht auf anderer Ursache.

Aus den systematischen Versuchsreihen von Biedl und Winterberg³⁾ geht hervor, daß auch bei den Hunden mit Eckscher Fistel dem Ammoniak bei Zustandekommen der Intoxikationserscheinungen nicht die hervorragende Rolle zukommt, die man ihm anfangs zugeschrieben hatte. Zwar stieg der Ammoniakgehalt des Blutes bei intravenöser Injektion von Ammoniumsätzen bei Hunden mit Eckscher Fistel auf bedeutend höhere Werte an, als bei denselben Tieren 2 bis 4 Wochen vor der Operation unter sonst gleichen Bedingungen. Wurde gleichzeitig die Arteria hepatica unterbunden, so war der Ammoniakanstieg noch etwas deutlicher ausgesprochen; jedoch schon 10 Minuten nach der Injektion waren die Werte erheblich niedriger und schon nach 30 Minuten zur Norm zurückgekehrt, auch wenn gleichzeitig die Nierengefäße unterbunden worden waren. Die nachträgliche Untersuchung der Leber durch Injektion ergab eine nahezu vollständige Ausschaltung aus dem Kreislauf. Es müssen demnach noch andere Organe an der Beseitigung der abnormen Ammoniakmengen beteiligt sein, wenn man nicht auf eine Speicherung des Ammoniaks in den Organen rekurrieren will. Eine Ausscheidung durch die Lungen⁴⁾ ist nach allen Untersuchungen als

¹⁾ Nencki und Pawlow, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 38, 215.

²⁾ Lieblein, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 33, 318.

³⁾ Biedl und Winterberg, Arch. f. d. ges. Physiol. 88, 140.

⁴⁾ Böhme und Lange, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 2, 364. — Magnus, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 48, 100.

ausgeschlossen zu betrachten. Nach Leberverödung durch Säure fanden auch Biedl und Winterberg den Ammoniakgehalt des Blutes nicht vermehrt; injizierte Ammoniumsälze vertrugen diese Tiere wie normale.

Eine weitere Einbuße erlitt die Theorie der ausschließlichen Entgiftung des Ammoniaks durch die Leber durch die Befunde, daß der Ammoniakgehalt des Pfortaderblutes lange nicht die Höhe der von den russischen Forschern erhaltenen Werte erreicht. Biedl und Winterberg erhielten für 100 ccm Pfortaderblut im Mittel noch 0,89 mg Ammoniak gegenüber 0,62 mg des venösen Blutes. Die niedrigen Werte wurden von Nencki und Zaleski später bestätigt, die für das Pfortaderblut 1,45 mg, für das arterielle Blut 0,35 mg erhielten. Bei Berücksichtigung dieser niedrigen Ammoniakzahlen für das Pfortaderblut kann von einer Ammoniakintoxikation bei der Leberausschaltung nicht mehr die Rede sein. Endlich haben die Ammoniakwerte durch Folin und Denis¹⁾ noch eine weitere wesentliche Reduktion erfahren, indem der Ammoniakgehalt des Pfortaderblutes 0,2 mg pro 100 ccm und der des arteriellen Blutes auf 0,02 mg bestimmt wird. Gleichzeitig wurde die wichtige Feststellung gemacht, daß das Pfortaderblut seinen Ammoniakgehalt ausschließlich den Venen des Dickdarms verdankt, daß es sich also um Ammoniak handelt, das bei Fäulnisvorgängen im Darm gebildet wird.

Die Hunde mit Venen fisteln erlauben nur, Befunde über die unmittlere Rolle der Leber den Resorptionsprodukten aus dem Darm gegenüber zu erheben; über die Stellung der Leber im Gesamtstoffwechsel gestatten sie keine Schlüsse. Wie Enderlen, Hotz und Magnus Alsleben²⁾ gezeigt haben, erleidet bei den Fistelhunden keine der der Leber zugeschriebenen Funktionen eine wesentliche Einbuße. Das Vergiftungsbild der Tiere mit Venen fisteln muß mit Folin als eines der wenigen sicheren Beispiele intestinaler Autointoxikation angesehen werden, einer Vergiftung, bei deren Zustandekommen dem Ammoniak sicher keine dominierende Rolle zukommt.

Endlich waren die Erfahrungen bei Leberkrankheiten nicht dazu angetan, die Erkenntnis über die harnstoffbildende Funktion der Leber eindeutig zu fördern, denn je nachdem sich die Untersucher auf den Standpunkt Schröders, der hauptsächlichlichen Harnstoffbildung aus Ammoniak in der Leber, stellten oder nicht, führten analoge Beobachtungen zu einander diametral entgegengesetzten Deutungen³⁾. Bei Lebercirrhose fand sich allerdings eine mehr oder minder ausgesprochene Vermehrung des Harnammoniaks und eine geringe Verminderung der Harnstoffaus-

¹⁾ Folin und Denis, Journ. of Biolog. Chem. 11, 87, 161.

²⁾ Enderlen, Hotz und Magnus Alsleben, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 3, 223.

³⁾ Stadelmann, Arch. f. klin. Med. 38, 526. — Favitzsky, ibid. 45, 429.

scheidung. Weintraud¹⁾ konnte jedoch zeigen, daß auch bei schwerster Cirrhose große Dosen von zitronensaurem Ammonium restlos in Harnstoff übergeführt werden.

Auch Ammoniumphosphat und Sulfat, entsprechend 2 g Ammoniak pro die, wurden in den Versuchen von Rumpf und Kleine²⁾ bei Cirrhose ebensogut umgewandelt, wie beim normalen Menschen. Andererseits gelang es Münzer³⁾, durch Verabfolgung von Natrium bicarbonicum bei Cirrhose das Harnammoniak zur Norm zurückzudrängen und damit seinen Ursprung auf abnorme Säurebildung und nicht auf mangelhafte Harnstoffsynthese zurückzuführen. Auch die schwersten Leberschädigungen, akute gelbe Leberatrophie und Phosphorvergiftung, zeigten keine so ausgesprochene Verminderung der Harnstoffausscheidung, daß sie sichere Schlüsse erlaubten. Auch hier hat die Untersuchung der isolierten Leber wieder eine Entscheidung gebracht, indem Fiske und Karsner⁴⁾ die Umwandlung von Ammoniumcarbonat auch in der verfetteten Leber einer phosphorvergifteten Katze ungestört fanden.

Neben der Wahrscheinlichkeit, daß außer der Leber auch andere Organe das Ammoniak entgiften können, weisen einige Befunde darauf hin, daß auch die Harnstoffbildung an andern Orten als in der Leber vor sich gehen kann, wenn auch eindeutige Befunde, die denen Schröders als gleichwertig gegenübergestellt werden könnten, noch ausstehen. Durch Ligatur der Aorta und der Vena cava oberhalb des Zwerchfells zerlegte Kaufmann⁵⁾ ein Tier in zwei funktionelle Hälften und konnte durch künstliche Atmung die kraniale Hälfte eine Stunde überlebend erhalten. Der Harnstoffgehalt des Blutes zeigte in fast allen seinen Versuchen eine geringe Zunahme; in einzelnen Fällen fand eine Anreicherung von 4 bis 10 mg in 100 ccm Blut statt. Damit ist ein Hinweis gegeben, daß auch in andern Organen Harnstoffbildung erfolgen kann. Folin und Denis und ihre Schüler⁶⁾ fanden, daß bei Katzen eine Stunde nach intravenöser Injektion von Aminosäuren eine Harnstoffvermehrung im Blute auftrat, die gleich ausgesprochen war, ob die Leber im Kreislauf belassen oder durch Ligaturen ausgeschaltet wurde. Auch bei vollständiger Ausschaltung der Leber fanden Fiske und Summer⁷⁾ nach Injektion von Glykokoll in die Blutbahn ein Ansteigen der Harnstoffwerte im Blut und in der Muskulatur im Verlauf einer Stunde. So stieg z. B. in einem Fall der Harnstoffstickstoff von 38 auf 53 mg pro 100 ccm Blut, von 53 auf 58 mg pro 100 g Muskel.

¹⁾ Weintraud, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 32.

²⁾ Rumpf und Kleine, Zeitschr. f. Biol. 34, 91 (Versuchsreihe 3).

³⁾ Münzer und Winterberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 33, 164.

⁴⁾ Fiske und Karsner, Journ. of Biolog. Chem. 18, 381.

⁵⁾ Kaufmann, Arch. de physiol. 26, 531, 1894.

⁶⁾ Folin und Denis, Journ. of Biolog. Chem. 13, 141.

⁷⁾ Fiske und Summer, ibid. 18, 285.

Nach dieser im vorstehenden kurz skizzierten Entwicklung der Frage der Harnstoffbildung im Organismus ergeben sich noch zahlreiche Lücken und Widersprüche. Als wichtigste Ergebnisse lassen sich zusammenfassen:

1. Ammoniumcarbonat und Ammoniumsalze verbrennlicher Säuren, sowie eine Reihe von Aminosäuren werden im Organismus in Harnstoff übergeführt. Der intimere Vorgang des Reaktionsverlaufes ist noch nicht genau bekannt. Ammoniak bzw. Ammoniumcarbonat sind auch bei der Bildung von Harnstoff aus Aminosäuren die wahrscheinlichen Zwischenprodukte.

2. Als Ort der Reaktion kommt in erster Linie die Leber in Betracht; für kein anderes isoliertes Organ ist der Nachweis einer harnstoffbildenden Fähigkeit in ähnlicher Weise gelungen wie für die Leber.

3. Ammoniak verschwindet auch bei vollständiger Leberausschaltung aus dem Blute. Tierexperimentelle und klinische Befunde sprechen dafür, daß auch nach partieller oder totaler Ausschaltung der Leber eine Harnstoffbildung im Organismus stattfinden kann.

Die beiden Probleme über Ort und Art der Harnstoffbildung sind aufs engste miteinander verknüpft. Resultate in der einen Richtung fördern die Erkenntnis in der andern. Je mehr harnstoffbildende Substanzen bekannt werden, desto eher lassen sich aus gemeinsamen Merkmalen Schlüsse auf den Reaktionsverlauf ziehen. Und je genauer der Reaktionsverlauf der Harnstoffbildung in der Leber aus einzelnen Substanzen bekannt ist, desto eher ist die Untersuchung einer etwaigen harnstoffbildenden Fähigkeit auch anderer Organe möglich.

Die intimeren chemischen Vorgänge bei der Harnstoffbildung lassen sich am besten am isolierten Organ studieren, hier sind die übersichtlichsten Verhältnisse gegeben, und nur hier lassen sich Nebenreaktionen mit einiger Sicherheit abschließen.

Die Erforschung der Harnstoffbildung im überlebenden Organ hat bisher die quantitativen Verhältnisse wenig berücksichtigt, und daraus entspringt für viele Befunde eine gewisse Unsicherheit, besonders da die Folgerungen ausschließlich auf Grund der Harnstoffanreicherung gezogen worden

sind. Die Mengen neugebildeten Harnstoffs aus Ammoniumsalzen sind nun in einzelnen Fällen allerdings so groß gegenüber Kontrollversuchen, daß sie mit Sicherheit teilweise auf das zugesetzte Ammoniak bezogen werden können. Die quantitativen Beziehungen zwischen den beiden Substanzen fehlen jedoch, und doch wäre gerade aus einer Kenntnis derselben Aufschluß über den Reaktionsverlauf zu erwarten.

Noch komplizierter liegen die Verhältnisse für die Aminosäuren. Auch hier sind es einzig Harnstoffbestimmungen, die über den Abbau und die Umwandlung der eingegebenen Aminosäuren orientieren; die quantitative Verfolgung des Reaktionsverlaufes in der überlebenden Leber steht noch aus, so daß wir nicht wissen, ob beide NH_2 -Gruppen des Harnstoffs von der Aminosäure geliefert werden, oder ob die eine aus stickstoffhaltigen Substanzen stammt, die der Leber oder dem Blut entnommen sind. Dabei sind die Gesamtmengen von Harnstoff, die aus einzelnen Aminosäuren gebildet werden, meist lange nicht so bedeutend, wie die aus Ammoniumcarbonat entstehenden. Als wichtiges Moment aber sei hervorgehoben, daß die desamidierten Reste der Aminosäuren, deren Isolierung einen einwandfreien Beweis für die Umwandlung darstellen würde, bisher keine Berücksichtigung gefunden haben.

Zweck der vorliegenden Untersuchung ist es, an der überlebenden Leber festzustellen, ob unter Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse und durch Verfolgung nicht nur der Harnstoffbildung aus zugesetzten Substanzen, sondern auch durch Nachweis der Abnahme dieser Verbindungen oder der entstehenden stickstofffreien Abbauprodukte die feineren Verhältnisse im Reaktionsverlauf einer besseren Analyse zugänglich gemacht werden können.

Zur Methodik.

Zu den Durchströmungen wurden die Lebern von Hunden benützt. Die Tiere hatten 4 bis 6 Tage vor dem Versuch keine Nahrung mehr erhalten. Sie wurden durch einen kräftigen Schlag auf den Kopf betäubt oder mit Äther narkotisiert und durch Verbluten aus den Carotiden getötet. In den späteren Versuchen wurden Kanülen in die eine Carotis und in die Vena jugularis eingebunden. Die Entblutung durch die Kanülen erfolgte vollständiger als aus dem durchschnittlichen Gefäß. Das Tier kann dann von der Jugularis aus mit Ringerlösung

gespült werden. Diese Art der Entblutung hat den Vorteil, daß der größte Teil des Blutes aus dem Körper entfernt werden kann, dadurch wird die Gefahr der Gerinnelbildung in den Lebervenen, die auch bei sehr raschem Arbeiten bestehen kann, viel geringer; ich habe den Eindruck, die Lebern der auf solche Weise entbluteten Tiere seien im allgemeinen gleichmäßiger durchströmt gewesen und hätten weniger Stauung gezeigt als die Lebern der nicht gespülten Tiere. Die Leber, die nach Unterbindung aller Gefäße in situ mit Kanülen in die Vena portae und Cava sup. versehen worden war, wurde zuerst mit Ringerlösung durchströmt, der portionenweise das defibrinierte und filtrierte Blut des gleichen Tieres zugesetzt wurde. Nach Zusatz der gesamten Blutmenge wurde die Flüssigkeit mindestens zweimal durch die in einer feuchten Kammer liegende Leber geleitet, bevor die erste Probe entnommen wurde. Eine einmalige Durchströmung der Leber beanspruchte bei einem Abfluß von 250 bis 400 ccm aus der Vena cava meist nur ca. 4 bis 5 Min.

Als Apparat diente ein im Prinzip nach Neubauer gebauter. Als von besonderem Wert erwies sich eine Präzisionspumpe, wie sie von Jaquet¹⁾ zum vollständigen Entbluten seiner Versuchstiere verwendet worden ist. Die Pumpe erlaubt eine außerordentlich feine Regulierung des Hubes, der bei großer Tourenzahl sehr klein gewählt werden kann. Dadurch kann der Druck in der Vena portae, der durch einen kleinen Windkessel kontinuierlich gemacht wird, niedrig erhalten werden, so daß

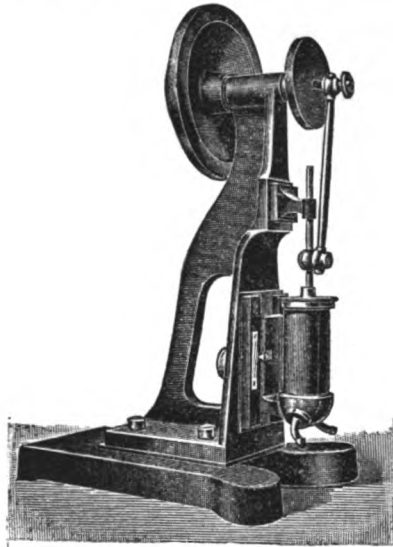


Fig. 1.

¹⁾ Jaquet, Korresp.-Blatt f. Schweizer Ärzte 1898, 4.

die Leber meist erst in spätern Stadien des Versuches stärkere Stauung zeigt. Als Arterialisator dient eine große, in einem Thermostaten stehende Woulffsche Flasche, durch deren untern Tubus der Sauerstoff eingeleitet wird. Die Zuleitung von Sauerstoff war so kräftig, daß stets $\frac{4}{5}$ des Gefäßes mit Schaum gefüllt waren. Das in kräftigem Strahl zuströmende Blut wurde gegen die Wand der Flasche geleitet, so daß es sich in dünner Schicht über den halben Umfang der Flasche verteilte. Der Sauerstoffverbrauch ist bei dieser Methodik bedeutend größer als beim Mandelschen¹⁾ Durchblutungsapparat, aber die Arterialisierung ist eine gute.

Die Versuche gelangten in zweifacher Art zur Ausführung.

1. Die Durchströmung wurde in Gang gesetzt, und nach 10 bis 20 Min., je nach der Durchflußgeschwindigkeit der Flüssigkeit, wurde eine Kontrollprobe entnommen und dann die zu untersuchende Substanz auf einmal oder langsam in den Arterialisator zugeführt. In einigen Versuchen wurde die Durchströmung erst eine halbe bis eine Stunde in Gang gehalten und dabei in Abständen von 30 Min. Kontrollproben der Durchströmungsflüssigkeit entnommen, und erst dann die zu untersuchende Substanz beigefügt, deren Umwandlung wiederum durch Entnahme der Proben in Abständen von 30 Min. kontrolliert wurde. In kurz dauernden Versuchen spielt die Verdunstung keine Rolle, bei längerer Dauer der Durchblutung wurde nach Maßgabe der festgestellten Verdunstung destilliertes Wasser in kleinen Portionen zugesetzt. Am Schluß der Versuche, die 1 bis $3\frac{1}{2}$ Stunden dauerten, wurde das Gewicht der in der Leber retinierten Flüssigkeit bestimmt und in Rechnung gezogen, oder die Leber wurde mit einer dem retinierten Volumen gleichen Menge Ringerlösung nachgespült.

2. Zur Untersuchung der harnstoffbildenden Fähigkeit der Leber unter verschiedenen Bedingungen wurden Doppeldurchströmungen ausgeführt in der Weise, daß die während einiger Zeit durchströmte Leber nach Abschluß des ersten Versuches sogleich mit neuer Durchströmungsflüssigkeit wieder zu einer Durchblutung angesetzt wurde. Die Leber wurde mit dem retinierten Quantum Ringerlösung nachgespült, der Apparat mit destilliertem Wasser ausgewaschen, und nach ca. 10 Minuten konnte mit der folgenden Durchströmung begonnen werden.

Durch Anwendung dieser Doppeldurchströmung können besser vergleichbare Werte gewonnen werden, als wenn die Resultate verschiedener Durchblutungen verglichen werden, da nur in Doppeldurchblutungen die Größe des durchströmten Leberbezirkes und alle andern individuellen Faktoren des Organs identisch sind. Die Leistungsfähigkeit der Leber bleibt auf viele Stunden hinaus erhalten, und eine Schädigung durch die erste Durchströmung ist im allgemeinen nicht nachweisbar. Wird die Versuchsanordnung so getroffen, daß *ceteris paribus* die erste Durchblutung unter einer der Harnstoffbildung ungünstigen Bedingung ausgeführt wird, die zweite Durchblutung unter Elimination dieses hem-

¹⁾ Freise, diese Zeitschr. 54, 474, 1913.

menden Faktors, so erweist eine stärkere Harnstoffbildung in der zweiten Periode sicher einen hemmenden Einfluß in der ersten. Dieser kann dann nur in der einzigen eingeführten Variablen seinen Grund haben.

Zur Harnstoffbestimmung wurde die Ureasemethode ¹⁾ angewendet, die darauf beruht, daß Harnstoff durch die Urease in Ammoniumcarbonat verwandelt wird; dieses wird mit Kaliumcarbonat durch einen Luftstrom in titrierte Säure übergetrieben und bestimmt. Vermöge der absoluten Spezifität der Urease gibt diese Methode für Harnstoff durchaus zuverlässige Werte. Es ist zudem gegenwärtig die einzige Methode, die als absolut quantitativ betrachtet werden kann. Alle indirekten Methoden charakterisieren den Harnstoff nicht mit absoluter Sicherheit, und da der Harnstoffbestimmung stets eine mehr oder weniger weitgehende Isolierung desselben vorausgehen muß, sind alle mit mehr oder weniger großen Verlusten verbunden. Die Harnstoffbestimmung mittels Urease kann jedoch unbedenklich direkt am Blut ausgeführt werden. Dem Blut zugesetzte Harnstoffmengen werden quantitativ wieder ermittelt, wie ich mich in vielen Versuchen überzeugen konnte.

Zur Verarbeitung gelangten je 10, 20, 50 ccm der einzelnen Flüssigkeitsproben. Alle Bestimmungen sind doppelt ausgeführt und nur bei sehr guter Übereinstimmung der zusammengehörigen Werte berücksichtigt. Als Reaktionsgefäße dienten große Reagensröhren, ähnlich den von van Slyke und Kullen angegebenen. Entsprechend den größern, in meinen Versuchen manchmal zur Bestimmung verwendeten Flüssigkeitsmengen wählte ich größere Reaktionsgefäße von 30 cm Länge und 2 $\frac{1}{2}$ cm Weite aus dickwandigem Glas. Um die Schaumbildung möglichst unschädlich zu machen, wurde oberhalb der Mitte eine spindel-förmige Erweiterung auf 5 cm Durchmesser angebracht. Die Reaktionsgefäße ruhen in einem schweren Klotz aus Eichenholz, der den Röhren entsprechende, 6 cm tiefe Bohrungen enthält. Die Gefäße sind durch Gummistopfen verschlossen, die in doppelter Bohrung zwei Glasröhrchen tragen; das eine mit ca. 1,5 cm messender bauchiger Erweiterung versehen, endet dicht unterhalb des Stopfens, das andere endet am Boden des Gefäßes und trägt hier eine kugelige Erweiterung mit mehreren feinen Öffnungen. 10 bis 40 ccm der Blutproben werden in den Reaktionsgefäßen mit 5 ccm 6%iger Kaliumdihydrophosphatlösung und zur Verhinderung von Schaumbildung mit einigen Tropfen Octylalkohol oder 1 bis 2 ccm Amylalkohol versetzt. Zur Zersetzung des Harnstoffs werden 0,4 bis 0,5 g Urease („Arlco“) in Wasser gelöst, zugefügt und das Reaktionsgemisch in gut verschlossenen Röhren mit einer in gleicher Weise zusammengesetzten Vorlage verbunden, die 20 bis 50 ccm $\frac{n}{100}$ - oder $\frac{n}{50}$ -Schwefelsäure und einige Tropfen Octylalkohol oder Amylalkohol enthält und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 25 bis 30° gehalten. Dann wird

¹⁾ Kiesel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 169. Zemplen, *ibid.* 79, 229. Marshall, Journ. of Biolog. Chem. 14, 283, 15, 487 u. 495. van Slyke und Cullen, Proc. Soc. Biolog. Chem. 1913, 29. Dec. Journ. of Biol. Chem. 19.

während 1 bis 2 Min. ein mäßiger, vorher durch Schwefelsäure von Ammoniak befreiter Luftstrom durch die Röhren geleitet, um die geringen Mengen aus der Flüssigkeit entwichenen Ammoniaks in die vorgelegte Säure zu treiben. Darauf werden in die Reaktionsgefäße 20 ccm gesättigter Kaliumcarbonatlösung oder bei Verwendung von 30 bis 50 ccm Durchströmungsflüssigkeit 20 bis 30 g Kaliumcarbonat in Substanz gebracht, und während 1 bis 2 Stunden ein kräftiger Luftstrom durch den Apparat geleitet. Zur Bestimmung des Ammoniakgehaltes der Flüssigkeit wird das Blut in gleicher Weise behandelt, nur fällt hier der Zusatz der Urease weg.

Stets wurden bei der Bestimmung von Harnstoff und Ammoniak ein und derselben Flüssigkeit alle Proben gleich behandelt, also auch die Röhren ohne Ureasezusatz gleich lang wie die mit Urease versetzten bei 25 bis 30° gehalten.

In den Vorlagen wurde mit $\frac{1}{100}$ - oder $\frac{1}{50}$ - Natronlauge unter Anwendung von alizarinsulfosaurem Natrium als Indikator die Menge des übertriebenen Ammoniaks titrimetrisch bestimmt. Die Proben ohne Ureasezusatz geben den Gehalt der Flüssigkeit an präformiertem oder zugesetztem unverändertem Ammoniak, die Proben mit Ureasezusatz geben das präformierte plus das aus Harnstoff durch Urease gebildete Ammoniak. Der Harnstoffgehalt der Flüssigkeitsproben wird angegeben durch den Ammoniakwert der mit Urease behandelten Probe, vermindert um den Ammoniakwert der ohne Zusatz des Fermentes mit Kaliumcarbonat behandelten Flüssigkeit.

Es sei hier schon bemerkt, daß die Zahlen für den Ammoniakgehalt des Blutes keinen Anspruch darauf erheben können, absolute Werte darzustellen; denn das Blut auch der Kontrollproben ist nie sofort nach der Entblutung des Tieres zur Untersuchung gekommen, sondern erst am Schluß der Durchströmungsversuche zusammen mit den einzelnen Proben und der Schlußflüssigkeit. Während dieser Zeit ist das Kontrollblut im warmem Laboratorium gehalten worden. Die Harnstoff- und Ammoniakbestimmungen sind stets noch am gleichen Tage wie die Durchströmung ausgeführt worden.

Eine der Harnstoffbestimmung vorausgehende Enteiweißung der Flüssigkeit hat sich als überflüssig erwiesen. Aus zahlreichen Kontrollversuchen hat sich ergeben, daß nach dem geschilderten Verfahren nach Zusatz von bekannten Mengen von Harnstoff und Ammoniumsalzen zu Blutspuren stets exakte Werte erhalten werden.

Auch nach der Enteiweißung des Blutes werden natürlich unter sich übereinstimmende Resultate erhalten, doch ist die Enteiweißung, sowohl bei Anwendung von verdünnter Essigsäure, als auch bei Koagulation mit Alkohol, stets mit geringen Verlusten an Harnstoff und Ammoniak verbunden, da kleine Mengen dieser Substanzen im Koagulum sehr hartnäckig retiniert werden. Da die vorangehende Enteiweißung der Flüssigkeit also keinen Vorteil bietet, wurde sie nicht angewendet.

Fäulnisprozesse sind bei der unmittelbar nach dem Versuch er-

folgenden Verarbeitung der Flüssigkeiten nicht zu fürchten. Ich habe mich wiederholt überzeugt, daß auch mit Blutproben, die 1- bis 2mal 24 Stunden in der Eiskammer gehalten worden sind, die gleichen Harnstoffwerte erhalten werden wie bei direkter Verarbeitung.

Die Urease muß als absolut spezifisch auf Harnstoff wirkend angesehen werden. Im Hinblick auf die Bildung substituierter Harnstoffe bei meinen Versuchen habe ich Methyl-, Dimethyl-, Äthyl-, Phenyl- und Diphenyl-Harnstoff mit Urease behandelt; dabei hat keine Ammoniakabspaltung stattgefunden. Auch die Ureidosäuren, deren Bildung neben Harnstoff a priori nicht auszuschließen war, haben in Kontrollen mit Urease nicht reagiert.

Besondere Isolierungsmethoden werden bei den entsprechenden Versuchen angegeben.

II.

Durchströmungsversuche ohne Zusatz stickstoffhaltiger Substanzen zum Blute.

Leerversuche.

Als Grundlage für die Untersuchung der Harnstoffbildung in der Leber gilt nach dem Vorgange Schröders der Durchleitungsversuch an der Hungerleber, die mit dem Blute des zugehörigen Tieres durchströmt wird. Schröder¹⁾ konnte bei Durchblutung der Leber von Tieren, die 2 bis 3 Tage gehungert hatten, keine Harnstoffbildung nachweisen, auch Salaskin²⁾ fand keine nennenswerte Anreicherung der Durchströmungsflüssigkeit an Harnstoff; ebenso konnte ich³⁾ früher bei analogen Kontrollen keine bedeutende Mehrbildung von Harnstoff im Verlauf von 2 Stunden finden. In allen diesen Versuchen ist der Harnstoff mehr oder weniger vollständig isoliert oder indirekt nach Schöndorff⁴⁾ bestimmt worden. Da sich die Harnstoffbildung bei Leerversuchen als sehr gering erwies, konnte eine Mehrbildung von Harnstoff unbedenklich als Synthese desselben aus den der Perfusionsflüssigkeit zugesetzten Substanzen angesehen werden.

Wiewohl die genannte Tatsache, daß eine Hungerleber keinen Harnstoff bildet, fest begründet erschien, hielt ich es

¹⁾ Schröder, l. c.

²⁾ Salaskin, l. c.

³⁾ Löffler, l. c.

⁴⁾ Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 62, 1.

doch nicht für überflüssig, in meinen Versuchen, die möglichst quantitativ sein sollten, nochmals genaue Kontrollen auszuführen, um festzustellen, wie weit diese Annahme auch bei Anwendung der neuen Methode berechtigt ist. Diese Untersuchung war um so mehr angezeigt, als erst neuerdings Jansen¹⁾ auch in der Hungerleber Harnstoffbildung festgestellt hat. Dies mochte zum Teil darin liegen, daß Jansen für seine Untersuchungen die Urease zur Verfügung stand, die auch kleinere Differenzen als die andern Methoden scharf zum Ausdruck bringt.

Die mit der Harnstoffbestimmung gleichzeitig ausgeführten Ammoniakbestimmungen gaben nicht nur Aufschluß über das Verhältnis zwischen neugebildetem Harnstoff und Ammoniak, sondern erlaubten auch Schlüsse über eventuelle bakterielle Zersetzungen in der Leber; diese waren zum vornherein bei länger dauernden Versuchen nicht auszuschließen, da nicht steril gearbeitet werden konnte.

Fäulnis müßte sich nun vorzugsweise durch Ammoniakbildung anzeigen. Bei dem Vorkommen von Fäulnisvorgängen wären gewisse Einwände berechtigt, da bakterielle Tätigkeit die Harnstoffwerte beeinflussen könnte, sei es, daß bereits gebildeter Harnstoff in Ammoncarbonat umgewandelt wird, sei es, daß durch Fäulnis entstandenes Ammoniak die Harnstoffvorstufen und damit die Harnstoffbildung vermehrt. Daß die Harnstoffbildung in der Leber noch mehrere Stunden nach dem Tode erhalten ist, hatte schon Salomon²⁾ gezeigt, ohne jedoch auf die vorgenannten Bedenken besondere Rücksicht zu nehmen.

Leerversuch 1.

Hund 11 kg, 4 Tage ohne Futter. Durchströmung mit 1250 ccm Ringerlösung + 460 ccm Blut. Durchblutung gut. Abstrom 350 bis 400 ccm in der Min.

9 Uhr 30 Min. Beginn der Durchströmung.

9	"	45	"	Probe I (110 ccm) in 100 ccm	Harnstoff	Ammoniak
				Durchströmungsflüssigkeit . .	9,1 mg	1,67 mg
11	"	15	"	Probe II (35 ccm) in 100 ccm		
				Durchströmungsflüssigkeit . .	11,0 "	1,3 "

¹⁾ Jansen, Journ. of physiol. Chem. 21, 557.

²⁾ Salomon, Virchows Archiv 97, 149.

12 Uhr 45 Min. Probe III (Schluß) in 100 ccm	Harnstoff	Ammoniak
Durchströmungsflüssigkeit . . .	12,5 mg	1,4 mg
Probe I total in 1600 ccm . . .	145,6 "	26,7
Schluß " " 1650 " (ein- schließlich Spülwasser) . . .	200,5 "	23,1 "
Neugebildeter Harnstoff in 3 Std.	54,9 mg	

Eine Hungerleber hat also bei Durchströmung mit dem Blut des gleichen Tieres im Verlauf von 3 Stunden 54,9 mg Harnstoff gebildet. Die Harnstoffbildung ist in der zweiten Hälfte des Versuchs eher etwas geringer (1,5 mg in 100 ccm) als in der ersten (1,9 mg in 100 ccm). Dies ist deshalb von Wichtigkeit, weil danach die beobachtete Harnstoffbildung in der Hungerleber kaum auf Fäulnisprozesse im durchströmten Organ zu beziehen ist, denn in diesem Fall müßte sich die Anreicherung in der zweiten Hälfte des Versuches deutlicher zeigen als in der ersten. Eine Abnahme der Leistungsfähigkeit des Organs in bezug auf Harnstoffbildung bei eintretenden Zersetzungs Vorgängen müßte sich aber an einem Ansteigen des Ammoniakgehaltes der Durchströmungsflüssigkeit erkennen lassen. Der NH_3 -Gehalt der Flüssigkeit zeigt im Versuch eine auffallende Konstanz.

Leerversuch 2.

Kaninchen 2200 g. Leber 50 g. Durchströmung mit 1020 ccm Ringerlösung + 280 ccm Blut (50 ccm Kaninchen- und 230 ccm Rinderblut). Kurz nach Zusatz des Rinderblutes macht sich rasch vorübergehende erschwerte Leberpassage bemerkbar. 15 Min. nach Beginn Entnahme von 150 ccm Kontrollflüssigkeit. Dauer 2 Stunden. Durchströmung gut. Abfluß 150 ccm in der Minute.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollblut	19,5 mg	1,53 mg
" 100 " Schlußvolumen	21,0 "	2,5 "
Im Gesamtblut zu Beginn (1150 ccm)	224,3 "	17,6 "
" " nach 2 Std. inkl. Spüfl. (1280 ccm)	248,8 "	32,0 "
Harnstoffneubildung in 2 Stunden	24,5 mg	
Ammoniakvermehrung		15,4 mg

Im Hinblick auf spätere Versuche wurde die Leber sofort zu einer zweiten Durchströmung angesetzt.

1200 ccm Ringerlösung + 100 ccm Rinderblut. Abstrom 225 ccm in der Minute. 10 Minuten nach Beginn Entnahme der Kontrollflüssigkeit 150 ccm. Dauer $2\frac{1}{2}$ Stunden. Allmählicher Zusatz von 1 g Benzylalkohol in 100 ccm Wasser.

	Harnstoff	Ammoniak
Im Gesamtblut zu Beginn (1150 ccm)	87,9 mg	16,7 mg
" " am Schluß inkl. Spülwasser (1380 ccm)	<u>84,4 "</u>	<u>23,0 "</u>
Harnstoffneubildung	— 3,5 mg	
Ammoniakvermehrung		6,3 mg

Im Verlauf der ersten Durchströmung haben sich in 2 Stunden 24,5 mg Harnstoff gebildet, die Zunahme pro 100 ccm Flüssigkeit ist naturgemäß sehr gering, die Gesamtzunahme aber doch deutlich in Anbetracht der kleinen Leber. Während der zweiten Durchströmung, bei der im Hinblick auf die Durchströmungen mit Aminin Benzylalkohol zugesetzt wurde, hat keine Harnstoffneubildung stattgefunden.

Die zweite Durchströmung zeigt ebenfalls, daß Fäulnisprozesse die Harnstoffbildung nicht stark beeinflussen können, da der zweite Versuch 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Tod des Tieres begann und weitere 2 $\frac{1}{2}$ Stunden dauerte.

Leerversuch 3.

Hund 7 kg, hat 7 Tage gehungert. Leber 181 g, 1300 ccm Ringerlösung + 350 ccm* Blut. Zusatz von 0,3 g Harnstoff. Abstrom 400 ccm in der Minute. Durchblutung sehr gut. Beginn 9 Uhr 25 Min., Dauer $\frac{1}{2}$ Stunde.

	Harnstoff	Ammoniak
9 Uhr 45 Min. Probe I in 100 ccm	34,4 mg	1,6 mg
10 " 15 " " II " 100 "	37,9 "	1,4 "
" I total 1550 cm	533,2 "	24,8 "
Schluß " 1550 "	<u>587,5 "</u>	<u>21,7 "</u>
Harnstoff neugebildet	54,3 mg	

Die Leber hat also im Verlauf einer halben Stunde 54,3 mg Harnstoff gebildet.

Um eine eventuelle Ausschwemmung von Harnstoff aus der Leber möglichst zu verhindern, war der Durchströmungsflüssigkeit 0,3 g Harnstoff zugesetzt worden. Trotz des hohen Anfangswertes für Harnstoff hat eine Anreicherung der Flüssigkeit an Harnstoff stattgefunden.

Leerversuch 4.

Hund 5,8 kg, hat 6 Tage gehungert. Leber 156 g. Durchströmung mit 900 ccm Ringerlösung + 330 ccm Blut. 150 ccm Kontrollblut 15 Min. nach Beginn entnommen. Dauer 2 Std. 15 Min. Abstrom 450 ccm in der Minute.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollblut	14,1 mg	1,5 mg
" 100 " Schlußflüssigkeit	27,6 "	1,5 "
In der Flüssigkeit zu Beginn (1180 ccm)	166,4 "	17,7 "
" " Schlußflüssigkeit (1100 ccm)	<u>303,6 "</u>	<u>16,5 "</u>
Harnstoffneubildung in 2 Std. 15 Min.	137,2 mg	

Die Leber eines Hundes, der 8 Tage gehungert hat, hat also in 2 Stunden 15 Min. bei der Leerdurchblutung 137 mg Harnstoff gebildet.

Leerversuch 5.

Durchströmung der Leber eines säugenden Hundes ohne Zusatz. Hund 13,5 kg, hat 4 Tage gehungert. Leber 250 g. Durchströmung mit 1450 ccm Ringerlösung + 670 ccm Blut. Abstrom 450 ccm in der Minute. Dauer 3 Std. 15 Min. Durchblutung sehr gut. 10 Min. nach Entnahme von 250 ccm Kontrollblut.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrolle	12,8 mg	3,8 mg
in 100 ccm Schlußflüssigkeit	22,5 "	4,3 "
in der Flüssigkeit zu Beginn total (1870 ccm)	239,0 "	71,1 "
in der Schlußflüssigkeit total (1870 ccm) . .	420,0 "	80,4 "
Harnstoffneubildung	181,0 mg	
Ammoniakvermehrung		9,3 mg

In der Leber eines Hundes in der Lactationsperiode (das Tier hatte vor 5 Wochen geworfen) haben sich im Verlauf von 3 Std. 15 Min. 181 mg Harnstoff gebildet. Auffallend ist in diesen Versuchen der hohe Anfangswert für das Ammoniak. Das Tier war für eine Durchströmung mit Zusatz eines Ammoniumsalses bestimmt gewesen, wegen des reichlichen Vorhandenseins von Milch in der Brustdrüse konnte das Tier nicht als hungernd *sensu strictiori* betrachtet werden, deshalb wurde von einem Zusatz des Salses abgesehen. Auch das unverdünnte Blut des Tieres zeigte einen relativ hohen Harnstoffwert von 40 mg in 100 ccm.

Der interessante Befund Salomons¹⁾, daß eine Hammel-leber noch 7 Stunden nach dem Tode des Tieres bei der Durchblutung aus kohlensaurem Ammonium Harnstoff zu bilden imstande ist, ist wohl heute weniger wichtig als die Feststellung, wie sich eine Leber mehrere Stunden nach dem Tode bei einer Leerdurchströmung verhält, und ob sich dabei der Einfluß zersetzender Prozesse geltend macht. Um für Fäulnisprozesse günstige Bedingungen zu bieten, wurde eine Leber erst 4¹/₂ Stunden nach der Entnahme durchströmt. Zuerst wurde eine Leerperiode ausgeführt und dann die harnstoffbildende Fähigkeit nach Zusatz von Ammoniumcarbonat geprüft.

Versuch 6.

Eine Leber von 190 g, die vorher zu einer Durchströmung gedient hatte (Versuch 20), wurde 3 Stunden nach der Entnahme mit 1000 ccm Ringerlösung durchströmt, Beginn 1 Uhr. Die Entnahme der 1. Kontrollprobe erfolgte erst 1¹/₄ Std. nach Beginn der 2. Durchströmung. Nach der ersten Periode Zusatz von 1,25 g Ammoniumcarbonat.

¹⁾ Salomon, Virchows Archiv 97, 149.

	Harnstoff	Ammoniak
Kontrollblut total (1425 ccm)	139,0 mg	20,6 mg
Schlußvolumen total (1400 ccm)	155,0 "	43,4 "
Harnstoffneubildung	16,0 mg	
Ammoniakneubildung		22,8 mg

1000 ccm der Durchströmungsflüssigkeit wurden mit Essigsäure auf dem Wasserbad enteiweißt, das Filtrat mit den einzelnen Waschwassern bei sodaalkalischer Reaktion stark eingeengt, mit Schwefelsäure kongosauer gemacht und mit Äther extrahiert; nach dem Verdunsten des über Natriumsulfat getrockneten Äthers verbleiben 0,53 g Benzoesäure, auf die Gesamtmenge der Flüssigkeit berechnet 0,74. Die Harnstoffneubildung ist sehr gering geblieben, während der Ammoniakgehalt der Flüssigkeit einen stärkeren Anstieg erkennen läßt.

In allen Leerversuchen zeigt sich in der überlebenden Leber eines hungernden Tieres mehr oder weniger ausgesprochene Harnstoffbildung. Es kann sich bei der Anreicherung der Durchströmungsflüssigkeit an Harnstoff nur zu einem geringen Teil um Ausschwemmung desselben aus der Leber handeln, denn wie Marshall und Davis¹⁾ gezeigt haben, erfolgt die Diffusion intravenös injizierten Harnstoffs sehr rasch durch die Gewebe; der Ausgleich ist im Verlauf einiger Minuten vollständig. Er muß sich in den Leerversuchen bei der Entnahme der Kontrollprobe schon vollzogen haben. Auch genügt die in der Leber präformierte Harnstoffmenge (ca. 30 mg in 100 g) nicht, um die manchmal bedeutende Anreicherung im Blute zu erklären. Zudem ist die Anreicherung auch deutlich in Versuch 3, bei dem durch Zusatz von Harnstoff zur Durchströmungsflüssigkeit ihr Harnstoffgehalt auf einen hohen physiologischen Wert gebracht worden ist, und das Blut vor Entnahme der Kontrolle die Leber 5 mal passiert hatte. Wenn trotzdem eine halbe Stunde nach Entnahme der Kontrolle in der Flüssigkeit mehr Harnstoff gefunden wird, so kann dieser nur aus unbekanntem Vorstufen, die in Blut und Leber auch eines Hungertieres vorhanden sind, gebildet werden. Diese Vorstufen können nur zum Teil präformiertes Ammoniak sein. Wenn es sich auch in Versuch 5 streng genommen vielleicht nicht um ein Hungertier handelt, so findet doch in allen Leerdurchströmungen von Hungerlebern eine deutliche Harnstoffvermehrung in der Durchströmungsflüssigkeit statt. Daß diese

¹⁾ Marshall u. Davis, Journ. of Biolog. Chem. 18, 53.

Vermehrung früher wenig oder gar nicht beobachtet wurde, liegt zum Teil an der Methodik der Harnstoffbestimmung, indem mit Hilfe der Urease auch kleine Schwankungen des Harnstoffgehaltes in der Flüssigkeit nachgewiesen werden können, die bei den andern Methoden wohl innerhalb der Fehlergrenzen zu liegen kommen. Diese Harnstoffproduktion zeigt sich mehr oder weniger ausgesprochen auch in den meisten Kontrollen, die bei späteren Versuchen noch angeführt werden; gelegentlich, und zwar meist bei Tieren, die nur 2 bis 3 Tage gehungert haben, kann sie auch ganz ausbleiben. Bei der auf 100 cem Blut berechneten, gering erscheinenden, auf die Gesamtmenge des Blutes aber deutlich ins Gewicht fallenden Harnstoffbildung in der Hungerleber wird man mit der Annahme einer Harnstoffneubildung aus einer mit dem Blute durch die Leber geleiteten Substanz sehr vorsichtig sein müssen, vorausgesetzt, daß die Mengen des neugebildeten Harnstoffs nicht erheblich größer sind, als bei Durchströmung einer gleich großen Hungerleber. Ein strikter Beweis dafür, daß eine gegebene Substanz in Harnstoff übergeht, ist erst darin zu sehen, daß entweder eine Abnahme dieser Substanz oder Umwandlungsprodukte derselben sich nachweisen lassen, und erst wenn beide Ausschläge gleichsinnig erfolgen, ist eine Harnstoffbildung als sicher zu betrachten.

Auf Grund dieser Beobachtungen hat sich der Schwerpunkt der Frage der Harnstoffbildung im isolierten Organ etwas verschoben. Noch immer ist es von größter Wichtigkeit nachzuweisen, daß die neugebildete Substanz tatsächlich Harnstoff, ist, und da kann von allen indirekten Methoden die Bestimmung mit Urease wohl allein den Anspruch erheben, eindeutige Resultate zu geben. Harnstoffanreicherung an sich in der Durchströmungsflüssigkeit braucht aber nicht Harnstoffbildung aus der zugesetzten Substanz zu bedeuten.

Dieser Gedanke war für alle nachfolgenden Versuche maßgebend; nur wenn die Harnstoffneubildung von einer Abnahme der zugesetzten N-Quelle begleitet war, oder wenn unmittelbare Umwandlungsprodukte derselben nachgewiesen werden konnten, wurden diese Substanzen als Harnstoffbildner angesprochen.

III.

Ammoniak und Harnstoff.

Durch die im vorstehenden beschriebenen Leerversuche schien eine genügende Basis geschaffen, um die gestellte Aufgabe, mit Hilfe von Durchströmungsversuchen einen bessern Einblick in das Wesen der vitalen Harnstoffbildungen zu erhalten, in Angriff zu nehmen. Zunächst wurde das Verhalten einiger Ammoniumsalsze untersucht, da für diese die Verhältnisse am übersichtlichsten liegen. Hierdurch war vor allem Aufschluß über die Dignität der verschiedenen Ammoniumsalsze zu erwarten und über die damit eng verknüpfte Frage der Abhängigkeit der Harnstoffbildung von dem Säuregehalt des Mediums. Da bei der Bildung von Harnstoff aus Ammoniumsalszen von Mineralsäuren und unverbrennlichen organischen Säuren freie Säure auftreten muß, konnte in dem gleichen Versuche neben der Harnstoffbildung auch ihre Abhängigkeit von der Gegenwart der Säure untersucht werden. Beide Fragen sind in Versuchen am Menschen und am Tier schon wiederholt bearbeitet worden. Die dabei erhaltenen Resultate waren zunächst keineswegs eindeutig.

Ammoniumchlorid ist die erste einfache Substanz, deren Übergang in Harnstoff im Organismus durch v. Knieriem¹⁾ beobachtet worden ist. Schon vor Knieriem hatten Neubauer²⁾ und Lohrer³⁾ das Schicksal von Ammoniakalszen im Organismus verfolgt. Während Neubauer von 10 g Salmiak, die in 5 Tagen von einem Menschen eingenommen wurden, 0,957 g im Harn wieder erscheinen sah, konnte Lohrer im Selbstversuch von 7,5 g Salmiak im Verlauf von 3 Tagen nur ca. $\frac{1}{8}$ des im eingenommenen Salz enthaltenen Ammoniaks im Harn wiederfinden. Vom eingenommenen Ammoniumsulfat erschien der größte Teil des Ammoniaks im Harn wieder, während nach Einnahme des Citrates nur $\frac{2}{3}$ des NH_3 zur Ausscheidung gelangten und der Harn sauer blieb. Über das Schicksal des nicht zur Ausscheidung gelangenden NH_3 spricht sich Lohrer nicht aus. Auch später wurden noch einander widersprechende Befunde erhoben — Harnstoffbildung aus Ammoniumchlorid bei Verfütterung an Kaninchen [Salkowski⁴⁾], Wiedererscheinen von 80% des als chlorwasserstoffsäures Salz zugeführten Ammoniaks im Harn

¹⁾ v. Knieriem, l. c.

²⁾ Neubauer, zitiert nach v. Knieriem und nach Lohrer.

³⁾ Lohrer, Inaugural-Dissertation Dorpat (1862).

⁴⁾ Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 1.

bei Hunden [Feder]¹⁾ — bis sich ergab, daß die Autoren unter verschiedenen Bedingungen gearbeitet hatten und Schmiedeberg²⁾ und Walter³⁾ die Wichtigkeit der Säuren im Ammoniakstoffwechsel hervorhoben. Sie haben gezeigt, daß Säurezufuhr per os bei Hunden zu gesteigerter Ammoniakausscheidung im Harn führt, daß aber nicht die ganze Menge der zugeführten Säure durch das ausgeschiedene Ammoniak neutralisiert wird. Pflanzenfresser (Kaninchen) und Fleischfresser (Hunde) erwiesen sich der Säurevergiftung gegenüber verschieden. Während der Pflanzenfresser, dem nur beschränkte Mengen von Ammoniak zur Verfügung stehen, die zugeführte Säure durch seinen Alkalivorrat neutralisiert und dadurch zu tödlicher Alkaliverarmung gebracht werden kann, sind Hunde der Säure gegenüber resistenter, denn sie verwenden ausgiebig Ammoniak zur Neutralisation. Diese Befunde ergeben die außerordentliche Wichtigkeit, die dem Anion des zugeführten Ammoniumsalzes bei seinen weiteren Umwandlungen zukommt. Es kann deshalb nach Schmiedeberg und Walter nicht gleichgültig sein, ob das Ammoniak als Salz einer verbrennlichen organischen Säure oder als Mineralsalz verabreicht wird. Eine Bestätigung bildeten die Befunde von Munk⁴⁾, dem es gelang, durch gleichzeitige Verabfolgung von Natriumacetat, das im Organismus zu Carbonat verbrennt, bei Hunden, die Ammoniakausscheidung nach Salmiakverfütterung auf die Hälfte herabzusetzen. Für das Ammoniumcitrat wies Coranda⁵⁾ im Selbstversuch fast vollständigen Übergang in Harnstoff nach. Ammoniumcarbonat wurde in den Versuchen Hallervordens⁶⁾ von Hunden fast vollständig in Harnstoff umgewandelt.

Er betont dabei auf Grund seiner Resultate und derjenigen Walters, daß vermehrte Ammoniakausscheidung vermehrte Säurebildung im Organismus bedeute, und daß dem stets disponiblen Ammoniak eine wesentliche Bedeutung bei der Säureneutralisation zukomme. Nun ergaben aber die Untersuchungen von Rumpf und Kleine⁷⁾ über das Verhalten der verschiedenen Ammoniumsalze, daß nach Eingabe derselben die Ausscheidung des Ammoniaks und der zugehörigen Säure keineswegs gleichzeitig erfolge. Während die organischen Ammoniumsalze, in mäßigen Dosen eingenommen, beim Menschen die Ammoniakausscheidung im Harn kaum erhöhen, also vollständig umgewandelt werden, zeigen die Ammoniumsalze der Mineralsäuren ein anderes Verhalten. Während von 7 g Formiat z. B. nur 1,76% als Ammoniak ausgeschieden werden, gelangen von 6 g des sauren Phosphates 30%, des Sulfates 36%

¹⁾ Feder, Zeitschr. f. Biol. **13**, 256.

²⁾ Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **8**, 1.

³⁾ Walter, *ibid.* **7**, 148.

⁴⁾ Munk, Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**, 29.

⁵⁾ Coranda, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **12**, 76.

⁶⁾ Hallervorden, Arch. f. experim. Pathol. **10**, 126; **38**, 59, 1897; Virchows Archiv **143**, 705.

⁷⁾ Rumpf u. Kleine, Zeitschr. f. Biol. **34**, 65, 1894.

und des Chlorids 43% als Ammoniak zur Ausscheidung. Die entsprechenden Säuren werden nicht gleichzeitig eliminiert, es findet gewissermaßen ein „Zerreißen der eingeführten anorganischen Ammoniumverbindung statt, indem der saure Komponent sehr viel rascher zur Ausscheidung gelangt als der gleichzeitig eingeführte Ammoniakkomponent“. Wird der Organismus durch Zufuhr anorganischer Ammoniumsalze überschwemmt, so erfolgt jedoch eine Ammoniakausscheidung im Harn, die die Zufuhr übertrifft; so trat in einem Versuche von Rumpf und Kleine nach Fütterung von Ammoniumsulfat und Phosphat entsprechend 11,6 g Ammoniak pro die bei einem 13 kg schweren Hunde 17 bzw. 12 g Ammoniak im Harn auf, während die gesamte N Ausscheidung sank, die Harnstoffbildung also beeinträchtigt war. Aber auch organische verbrennliche Säuren machen ihren Einfluß auf die Umwandlungsfähigkeit ihrer Ammoniumsalze geltend, sobald die Zufuhr eine gewisse Grenze überschreitet. Nach den Intoxikationsversuchen Marforis¹⁾ können von Hunden in der Stunde pro kg Körpergewicht 29 mg Ammoniak als Carbonat, 60 bis 102 mg als Lactat und 61,1 bis 84,7 als Tartrat entgiftet werden. Bei Kaninchen liegt unter gleichen Bedingungen die Grenze erheblich tiefer, indem von ersterem Salze nur zwei Drittel, von den beiden letzteren Salzen nur je die Hälfte der vom Hunde entgifteten Menge vertragen werden. Werden sehr große Mengen organischer Ammoniumsalze zugeführt, so kann unter Umständen auch durch diese ein toxisch bedingter Eiweißzerfall bewirkt werden. So ist von Poulsson²⁾ auch nach Einspritzung organischer Ammoniumsalze bei Fröschen eine über die Zufuhr vermehrte Stickstoffausscheidung in Form von Harnstoff beobachtet worden.

Auch bei der vielfach studierten Retention der Ammoniaksalze, falls dieselbe als einzige Stickstoffquelle der Nahrung verabreicht werden, kommt der Einfluß der Säurekomponenten zum Ausdruck. Wie bekannt, wird unter bestimmten Bedingungen ein Teil der zugeführten Ammoniumsalze weder ausgeschieden, noch zu Harnstoff umgewandelt, sondern retiniert und anscheinend zur Eiweißsynthese verwertet³⁾. Es gelingt viel leichter, mit einem organischen Ammoniumsalz oder mit dem Carbonat Stickstoffretentionen zu erzielen als mit dem Chlorid⁴⁾. Letzteres Salz scheint für den Organismus von allen in Betracht kommenden Ammoniumsalzen die größte Toxizität zu besitzen; in größerer Menge verabreicht, kann es zu einer Stickstoffausscheidung führen, die weit über die zugeführte Stickstoffmenge hinausgeht, und die kaum anders denn als toxischer Eiweißzerfall unter dem Einfluß des Salmiaks aufgefaßt werden kann.

Diese verschiedene Dignität der einzelnen Ammoniumsalze, die

¹⁾ Marfori, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **33**, 71, 1894.

²⁾ Poulsson, *ibid.* **20**, 245, 1892.

³⁾ Grafe u. Schläpfer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**, 1. — Abderhalden, *ibid.* **78**, 1. — Embden u. Schmitz, *diese Zeitschr.* **38**, 393.

⁴⁾ Underhill, Journ. of Biol. Chem. **15**, 327, 337, 341.

durch das Anion bedingt wird, läßt es wünschenswert erscheinen, die Veränderung zu studieren, die anorganische Ammoniumsalsze bei der Durchströmung der isolierten Leber erleiden. Bis jetzt ist außer Ammoniumcarbonat nur die Umwandlung von Ammoniumsalszen verbrennlicher organischer Säuren in der Leber verfolgt worden. Es ist jedoch von Bedeutung festzustellen, wie sich das isolierte Organ den Ammoniumsalszen der Mineralsäuren oder unverbrennlicher organischer Säuren gegenüber verhält, ob es trotz der Gegenwart des Säureions eine Umwandlung des Ammoniaks bewerkstelligt, oder ob die Säure einen Schutz gegen die Veränderung bietet.

Während die Rolle des Ammoniaks als neutralitätsregulierender Faktor fast allgemein anerkannt wird, ist der Mechanismus dieser Regulation noch durchaus nicht klargelegt. Die täglichen Schwankungen im Ammoniakgehalt des Harnes sind von Loeb, Camerer und Gammeltoft¹⁾ mit dem Verhalten der Salzsäure bei der Verdauung in Verbindung gebracht worden. Die auf der Höhe der Verdauung auftretende Ammoniakverminderung im Harn und die einige Stunden später auftretende Vermehrung wurde auf Ausscheidung der Salzsäure in den Magen und ihre spätere Rückresorption bezogen. Hasselbalch²⁾ konnte das Zusammentreffen der verminderten Ammoniakausscheidung mit dem Maximum der Kohlenhydratverbrennung beobachten. Er stellt eine konstante Beziehung zwischen der Wasserstoffionenkonzentration des Harns und seinem Ammoniakgehalt fest und weist auf die strenge Abhängigkeit der beiden Größen hin. Er stellt die Hypothese auf, die Ammoniakproduktion aus Eiweiß werde aufs feinste reguliert, je nach dem Bedarf des Organismus an Ammoniak, und setzt sich damit in Gegensatz zur früheren Auffassung, daß nicht die Ammoniakproduktion, sondern die Ammoniakumwandlung nach Maßgabe der Bedürfnisse des Organismus erfolge, und daß bei allen Zuständen von Säuerung des Organismus, wie sie z. B. physiologischerweise bei der Muskelaktion und pathologischerweise beim Diabetes auftritt, das stets disponible Ammoniak der Harnstoffbildung entzogen werde.

Es ist nicht bekannt, welcher Anteil des Eiweißstickstoffes bei seinem Abbau und bei der Umwandlung in Harnstoff die Stufe des Ammoniaks durchläuft. Man hat versucht, aus der maximalen Ammoniakausscheidung bei Acidose im extremen Hunger das Mindestmaß des Stickstoffes zu berechnen, das im intermediären Stoffwechsel seinen Weg über das Ammoniak nehmen muß. [Nebelthau³⁾, Magnus-Levy⁴⁾.] Der Ammoniakstickstoff des Harns betrug in einem Fall von extremer Inanition beim Menschen 66% des Gesamtstickstoffes. Diese Zahl kann als Minimum

¹⁾ Loeb, Zeitschr. f. klin. Med. 56. — Camerer, diese Zeitschr. 43.
— Gammeltoft, Zeitschr. f. Physiol. Chem. 75, 57.

²⁾ Hasselbalch, diese Zeitschr. 74, 18; 74, 48.

³⁾ Nebelthau, Centralbl. f. klin. Med. 1897, 977.

⁴⁾ Magnus-Levy, in v. Noordens Handbuch d. Pathol. des Stoffwechsels, 2. Aufl., S. 115.

angesehen werden für die Menge des Eiweißstickstoffs, der die Stufe des Ammoniaks passiert.

Da Ammoniumchlorid nach seinem Verhalten bei Fütterung und Injektion als das giftigste der in Betracht kommenden Salze zu bezeichnen ist und daher die typischen Eigenschaften anorganischer Ammoniumsalze am reinsten zum Ausdruck bringen sollte, wurde zu den Perfusionen in erster Linie dieses Salz gewählt.

Es steht nach diesen Ausführungen fest, daß sowohl Ammoniumcarbonat, die Salze verbrennlicher organischer Säuren, wie auch die Ammoniumsalze von Mineralsäuren im Gesamtorganismus in Harnstoff umgewandelt werden. Während aber alle organischen Ammoniumsalze fast restlos in Harnstoff übergehen, bestehen für die Salze der Mineralsäuren große Differenzen. Diese beruhen dem Anschein nach auf einer Vergiftung durch die gleichzeitig mit Ammoniak zugeführte Mineralsäure, die einen Teil des Ammoniaks der Harnstoffbildung entzieht, sei es, daß sie dasselbe zu ihrer Neutralisation zurückhält, sei es, daß die Wasserstoffionenkonzentration von einer bestimmten Konzentration an das Harnstoffbildungsvermögen des Organismus schwächt. Diese Fragen, die bei der Untersuchung am ganzen Tier schwer zu entscheiden sind, lassen sich an der isolierten Leber besser in Angriff nehmen.

Leberdurchströmung unter Zusatz von anorganischen Ammoniumsalzen zur Durchströmungsflüssigkeit.

Durchströmung einer Kaninchenleber unter Zusatz von Ammoniumchlorid zur Durchströmungsflüssigkeit.

Versuch 8.

Kaninchen 2200 g, hat 3 Tage vor dem Versuch gehungert. Leber 50 g Durchströmung mit 1200 ccm Ringerlösung + 100 ccm Blut. Abstrom 300 ccm in der Minute. Kontrolle 100 ccm 15 Min. nach Beginn. Dauer 3 Stunden. Im Verlauf von 2 $\frac{1}{2}$ Stunden Zufuhr von 1,5 g Ammoniumchlorid in destilliertem Wasser.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	11,7 mg	1,0 mg
„ 100 „ Schlussflüssigkeit	14,0 „	38,5 „
„ der Kontrollflüssigkeit total (1200 ccm) . . .	140,0 „	12,0 „
„ „ Schlußflüssigkeit (1200 ccm)	168,0 „	462,0 „
Harnstoffneubildung	28,0 mg	
Restammoniak		450,0 mg
Ammoniak zugesetzt in 1,5 NH ₄ Cl		473,0 „
Ammoniakabnahme		23,0 mg

Die Abnahme von Ammoniak ist etwas größer, als der Neubildung von Harnstoff entspricht, doch muß der Versuch bei der geringen Menge des neugebildeten Harnstoffs als negativ gelten, indem die Harnstoffbildung diejenige im Leerversuch nicht übersteigt.

Für die folgenden Versuche wurden Hunde gewählt wegen der größeren Blutmenge, die dabei zur Verfügung steht. Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie bei den Leerversuchen. Stets wurde der Harnstoffgehalt der Flüssigkeit zu Beginn der Durchströmung bestimmt, darauf das zu untersuchende Ammoniumsalz zugesetzt und nach Verlauf von $\frac{1}{2}$, 1 oder 2 Std. weitere Proben entnommen. Um bessere Übersicht über die Harnstoffbildung zu gewinnen, wurden in einer Reihe von Versuchen vor dem Zusatz der auf ihren Übergang in Harnstoff zu prüfenden Substanz ein oder zwei Leerperioden von je 30 Min. ausgeführt und nach der Zugabe des Ammoniumsalzes wieder Proben in Abständen von 30 Min. entnommen. In diesen Versuchen kann die auf Kosten der Substanz erfolgende Mehrbildung von Harnstoff sehr gut verfolgt werden. In allen Versuchen ist die Abnahme des Ammoniakgehaltes der Flüssigkeit bestimmt worden. Ein Vergleich von Harnstoffneubildung und Ammoniakabnahme erlaubt Schlüsse über die gegenseitige Abhängigkeit der beiden Größen.

Durchströmung einer Hundeleber unter Zusatz von Ammoniumchlorid zur Durchströmungsflüssigkeit.

Versuch 9.

Hund 17,2 kg, sehr adipöses Tier, hat 7 Tage gehungert. Leber 234 g Durchströmung mit 700 ccm Blut + 650 ccm Ringerlösung. Zusatz von 0,25 g Harnstoff. Durchströmung gut; Abfluß 150 ccm in der Minute. Nach einer Leerdurchströmung von 30 Min. werden 25 ccm Ammoniumchloridlösung entsprechend 213 mg Ammoniak zugesetzt.

Periode		Harnstoff	Ammoniak
	9 Uhr 40 Min. Beginn, 1350 ccm Flüssigkeit.		
I	9 " 55 " 100 ccm Probe 1; in 100 ccm	40,0 mg	1,2 mg
	10 " 25 " 100 " " 2; " 100 "	47,4 "	1,5 "
II	10 " 26 " Zusatz von 25 ccm NH_4Cl - Lösung, enthaltend		<u>213,0 "</u>
	10 " 56 " 100 ccm Probe 3 in 100 ccm	64,0 "	9,2 "
	1250 ccm Flüssigkeit enthalten nach Entnahme von Probe 1	500,0 "	15,0 "
	1250 ccm Flüssigkeit enthalten vor Entnahme von Probe 2	593,0 "	19,1 "

	Harnstoff	Ammoniak
Zunahme in Periode I (pro 100 ccm = 7,4 mg) total	<u>93,0 mg</u>	4,1 mg
1150 ccm Flüssigkeit enthalten nach Entnahme von Probe 1	545,0 "	17,3 "
1175 ccm Flüssigkeit enthalten vor Entnahme von Probe 3	<u>752,0 "</u>	<u>108,0 "</u>
Zunahme in Periode II pro 100 ccm = 17,5 mg total	206,0 mg	

Die Berechnung der Abhängigkeit der Harnstoffbildung von der Ammoniakabnahme gestaltet sich in folgender einfacher Weise:

	Ammoniak
Es wurde Ammoniumchlorid zugesetzt entsprechend	213,0 mg
In der Flüssigkeit (1150 ccm) zu Beginn der zweiten Periode war 1,5 mg NH_3 in 100 ccm enthalten, daher total des präformierten Ammoniaks	<u>17,3 "</u>
Gesamtmenge des zu Beginn der II. Periode in der Flüssigkeit enthaltenen Ammoniaks	230,3 mg
In 100 ccm Flüssigkeit am Ende der II. Periode sind enthalten 9,2 mg Ammoniak, in der Gesamtflüssigkeit von 1173 ccm	<u>108,1 "</u>
Danach beträgt die Ammoniakabnahme der Flüssigkeit . . .	122,2 mg
Aus 122,2 mg Ammoniak können 215,6 Harnstoff gebildet werden.	
Die Menge des in der 2. Periode gebildeten Harnstoffs beträgt 206 mg.	

In der Leerperiode haben sich 93 mg Harnstoff gebildet. Nach Zusatz des Ammoniumchlorids ist die Harnstoffbildung bedeutend gestiegen: Die Menge des neugebildeten Harnstoffs entspricht in der II. Periode nahezu der Menge des aus der Flüssigkeit verschwundenen Ammoniaks. Es scheint gezwungen, dem Resultat eine andere Deutung zu geben, als die, der Harnstoff habe sich auf Kosten des zugesetzten Ammoniumchlorids gebildet. Auffallend ist, daß die Harnstoffbildung aus andern Substanzen, die in der ersten Periode deutlich war, offenbar durch die Gegenwart von reichlich Ammoniaksalz zurückgedrängt wird. Diese kurzdauernden Versuche erlauben eine exakte Bilanz zu ziehen, da Flüssigkeitsverluste durch Verdunstung dabei nicht in Betracht kommen. Die Durchströmungsflüssigkeit reagierte auch in der II. Periode gegen Lackmus neutral, trotzdem kein Zusatz von Natriumbicarbonatlösung erfolgte. Die aus 122,2 mg umgewandeltem Ammoniak freigegebenen 262 mg Salzsäure waren also durch Bestandteile des Blutes neutralisiert worden. In gleicher Weise ist in Versuch 10 verfahren worden, nur sind hier 3 Leerperioden und 3 Perioden nach Zusatz des Ammoniumchlorids beobachtet worden.

Versuch 10.

Hund 20 kg, 6mal 24 Stunden gehungert. Leber 380 g Durchströmung mit 1900 ccm Ringerlösung + 660 ccm Blut = 2560 ccm Flüssigkeit. Zusatz von 0,30 g Harnstoff. Abstrom 300 ccm in der Minute. Leber ziemlich stark gestaut. Entnahme von Proben in Abständen von 30 Min. Nach 1½ Std. allmählicher Zusatz von 25 ccm Ammoniumchloridlösung, enthaltend 425 mg Ammoniak; im Verlauf der nächsten Perioden bis 12 Uhr 5 Min.

Periode

I	{	9 Uhr 40 Min. Probe 1	120 ccm;	in 100 ccm	24,6 mg Harnstoff	2,3 mg NH ₃
II	{	10 " 10 " " 2	120 " " 100 "	29,1 " "	3,1 " "	
III	{	10 " 40 " " 3	120 " " 100 "	32,4 " "	2,4 " "	
IV	{	11 " 07 " " 4	120 " " 100 "	36,9 " "	2,2 " "	
		Allmählicher Zusatz der Ammoniumchloridlösung.				
V	{	11 Uhr 35 Min. Probe 5	120 ccm;	in 100 ccm	44,4 mg Harnstoff	9,3 mg NH ₃
VI	{	12 " — " " 6	120 " " 100 "	52,5 " "	10,8 " "	
		12 " 30 " " 7	120 " " 100 "	58,8 " "	10,3 " "	

	Harnstoff	Harnstoff
Zunahme in der I. Periode in 100 ccm	4,5 mg;	total in 2440 ccm 110 mg
" " " II. " " 100 "	3,3 " "	" " 2320 " 77 "
" " " III. " " 100 "	4,5 " "	" " 2200 " 99 "
Neugebildeter Harnstoff in den drei Leerperioden		286 mg
Zunahme in der IV. Periode in 100 ccm	7,5 mg;	total in 2080 ccm 156 mg
" " " V. " " 100 "	8,1 " "	" " 1960 " 159 "
" " " VI. " " 100 "	6,3 " "	" " 1840 " 116 "
Neugebildet nach Zusatz von NH ₄ Cl		431 mg

Die Abhängigkeit der Harnstoffbildung von der Ammoniakabnahme ergibt sich aus folgender Berechnung:

Ammoniak entsprechend dem zugesetzten NH ₄ Cl	425 mg
Ammoniakgehalt der Gesamtflüssigkeit nach Entnahme von	
Probe 4 (2080 ccm) in 100 ccm 2,2 mg; total	46 "
Gesamtmenge des NH ₃	471 mg
Ammoniakgehalt der Probe 5 11,0 mg, der Probe 6 13,0 mg . .	24 "
" " Flüssigkeit am Ende der Periode 6 in	
100 ccm 10,3 mg; total (in 1840 ccm)	190 "
Unverändertes Ammoniak	214 mg
Umgewandeltes Ammoniak (Gesamt-NH ₃ minus unverändertes NH ₃)	257 "
Aus 257 mg Ammoniak können sich 453 mg Harnstoff bilden.	

In den Perioden nach Zusatz der Ammoniumchloridlösung haben sich 431 mg Harnstoff gebildet.

Trotz der verhältnismäßig großen, mit der Harnstoffneubildung verbundenen Abnahme des Ammoniakgehaltes der Flüssigkeit, ist durch die freiwerdende Salzsäure von 552 mg

entsprechend 257 mg NH_3 keine merklich saure Reaktion der Durchströmungsflüssigkeit aufgetreten. Auch in diesem Versuch entsprechen sich annähernd Harnstoffneubildung und Ammoniakabnahme. Die Harnstoffbildung aus andern Substanzen scheint auch hier wieder durch die Gegenwart von reichlich Ammoniumchlorid zurückgedrängt worden zu sein. Die Harnstoffbildung in den drei ersten Leerperioden erreicht auch in diesem Fall beträchtliche Werte. Um eine möglichst große Harnstoffbildung aus Ammoniumchlorid zu erzielen, wurde ein langdauernder Versuch ausgeführt.

Durchströmung unter Zusatz von Ammoniumchlorid.

Versuch 11.

Hund 19 kg, Leber 440 g, 4 Tage gehungert. Durchströmung mit 980 ccm Ringerlösung + 800 ccm Blut; Abstrom 300 ccm in der Minute. Kontrolle 100 ccm $\frac{1}{3}$ Stunde nach Beginn entnommen. Allmählicher Zusatz von 2,3 Ammoniumchlorid entsprechend 731 mg NH_3 in 200 ccm Ringerlösung. Kein Zusatz von NaHCO_3 . Dauer 3 Stunden. Schlußvolumen 1850 ccm. Durchströmung gut.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	17,4 mg	
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	52,1 „	
„ Kontrolle total	292,3 „	28,6 mg
„ Schlußflüssigkeit total	<u>965,0 „</u>	<u>337,0 „</u>
Harnstoff neugebildet	672,6 mg	
Unverändertes Ammoniak		308,4 mg
NH_3 zugesetzt in 2,3 g NH_4Cl		<u>731,0 „</u>
Umgewandeltes Ammoniak		422,6 mg
Aus 422,6 mg Ammoniak könnten sich 775 mg Harnstoff bilden.		

Es ist also mehr Ammoniak aus der Flüssigkeit verschwunden, als der Harnstoffneubildung entspricht, und zwar beträgt der Verlust an NH_3 59 mg. Über das Schicksal dieses Ammoniaks kann aus dem Versuch nichts geschlossen werden, doch muß eine Umwandlung zu nicht amidartigen Körpern stattgefunden haben.

Die erhebliche Harnstoffbildung ist mit Sicherheit zum größten Teil auf Kosten des Ammoniumchlorids erfolgt, denn sie ist verbunden mit einer beträchtlichen Abnahme desselben. Die Durchströmungsflüssigkeit blieb während des Versuches gegen Lackmus neutral; es mußten also genügend Substanzen vorhanden sein, um die 907 mg Salzsäure, die entsprechend dem umgewandelten 422,6 mg Ammoniak während der Durchströmung frei geworden sind, zu neutralisieren; als neutrali-

sierende Substanzen dürften neben dem Natriumbicarbonat und Phosphat hauptsächlich die Eiweißkörper¹⁾ in Betracht kommen.

Trotz der bekannten Wichtigkeit der Oxydation bei der Harnstoffbildung wurde versucht, ob bei einer Leberdurchströmung mit Ringerlösung ohne Blutzusatz, also unter ungünstigen Oxydationsverhältnissen, aus Ammoniumchlorid Harnstoffbildung erfolgt, da die Ringerlösung für die Isolierung der Reaktionsprodukte weit günstigere Bedingungen bietet als das Blut. Zur Neutralisation der freiwerdenden Säure wurde in diesem Fall mit dem Ammoniumsalz Natriumbicarbonat zugesetzt.

Durchströmung unter Zusatz von Ammoniumchlorid.

Versuch 12.

a) Mit Ringerlösung allein.

b) Mit Blut und Ringerlösung.

Hund 24,5 kg, 4 Tage gehungert, Leber 328 g. Durchströmung mit 1500 ccm Ringerlösung ohne Blutzusatz. Abstrom 300 ccm in der Minute. Entnahme von 150 ccm Kontrollflüssigkeit 15 Min. nach Beginn. Allmählicher Zusatz von 1,2 g NH_4Cl , enthaltend 381 mg NH_3 + 1 g Natriumbicarbonat in 100 ccm destilliertem Wasser. Dauer 1 Stunde.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	6,0 mg	1,4 mg
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	19,2 „	17,9 „
„ der Kontrollflüssigkeit total 1350 ccm	81,0 „	18,4 „
„ „ Schlußflüssigk. total 1480 ccm (inkl. Spülfl.)	<u>284,0 „</u>	<u>246,0 „</u>
Harnstoffzunahme	203,0 mg	
Rest-Ammoniak (Gesamt- NH_3 in der Schlußflüssigkeit minus präformiertes NH_3)		227,6 mg
Zugesetztes NH_3		<u>381,0 „</u>
Umgewandeltes NH_3		153,4 mg

Aus 153,4 mg Ammoniak können sich 270 mg Harnstoff bilden. Ein Teil des fehlenden Ammoniaks findet sich in der Durchströmungsflüssigkeit im zweiten Versuch²⁾; es kann also nicht die gesamte Ammoniakabnahme auf die Harnstoffneubildung bezogen werden.

Die gleiche Leber wurde sofort zu einer weitem Durchströmung angesetzt: 900 ccm Blut + 500 ccm Ringerlösung. In der Leber retiniert

¹⁾ Loeb, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 233. J. Loeb, American Journ. of Physiol. 3, 327. Zsili, Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 72. Brailsford Robertson, Journ. of Biolog. Chem. 6, 313.

²⁾ da eine gründliche Spülung des Apparates zwischen den beiden Versuchen nicht möglich ist und die Leber wegen der Gefahr der Ausschwemmung von Harnstoff nicht ausgiebig gespült werden darf.

200 ccm, total 1600 ccm Flüssigkeit. Abstrom 430 ccm in der Minute. Kontrolle 150 ccm. Allmählicher Zusatz von 1,2 g NH_4Cl in 100 ccm destilliertem Wasser. Entnahme von 150 ccm Kontrollflüssigkeit 15 Min. nach Beginn. Dauer 1 Stunde.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	24,3 mg	4,7 mg
" 100 " Schlußflüssigkeit	42,9 "	12,6 "
Kontrollflüssigkeit total 1450 ccm	352,0 "	70,0 "
Schlußflüssigkeit total 1660 ccm (inkl. Spülwasser)	712,0 "	209,0 "
Harnstoffzunahme	<u>360,0 mg</u>	
Restammoniak		139,0 mg
Zugesetztes NH_3		<u>381,0 "</u>
Umgewandeltes Ammoniak		242,0 mg

Aus 242 mg Ammoniak könnten sich 427 mg Harnstoff bilden. Die Ammoniakabnahme ist in diesem Falle also größer als der Harnstoffanreicherung entsprechen würde.

Harnstoffbildung bei Durchströmung mit Ringerlösung hat stattgefunden, es kann sich nicht um Ausschwemmung handeln; diese ist in den ersten 15 Min. des Versuches erfolgt, so daß in der Kontrollflüssigkeit 81 mg Harnstoff enthalten waren; mehr präformierten Harnstoff hatte die Leber kaum zur Verfügung (nach Marshall enthalten 100 g Hundeleber 30 g Harnstoff). Die Durchströmung mit Ringerlösung allein gibt Aufschluß über den Umfang und die Geschwindigkeit der Harnstoffausschwemmung; die 81 mg sind bei einer dreimaligen Passage der Gesamtlüssigkeit durch die Leber abgegeben worden.

Die Harnstoffbildung in Versuch b) ist bei Zusatz von Blut zur Durchströmungsflüssigkeit unter sonst gleichen Bedingungen erheblich größer, wie auch vorausszusehen war.

Da das Chlorid, das als das giftigste der in Betracht kommenden Ammoniumsalze angesehen werden muß, auch unter ungünstigen Bedingungen in der isolierten Leber eine teilweise Umwandlung in Harnstoff erleidet, war zu erwarten, daß auch andere anorganische Ammoniumsalze für die Leber als Harnstoffbildner in Betracht kommen würden. Es wurden noch Durchströmungen ausgeführt unter Zusatz des Sulfates und des Nitrates zur Flüssigkeit.

Durchströmung mit Ammoniumsulfat.

Versuch 13.

Hund 5300 g, hat 4 Tage gehungert, Leber 169 g. Durchströmung mit 1500 ccm Ringerlösung + 150 ccm Blut. Durchblutung sehr gut; Abstrom 400 bis 450 ccm pro Min. $\frac{1}{2}$ Stunde nach Beginn des Versuches Entnahme von 150 ccm Kontrollflüssigkeit. Im Verlauf von $1\frac{1}{2}$ Stunden Zusatz von Ammoniumsulfatlösung, enthaltend 258 mg Ammoniak.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	4,5 mg	0,34 mg
" 100 " Schlußflüssigkeit	15,3 "	9,8 "
" der Flüssigkeit zu Beginn (1500 ccm)	67,5 "	5,1 "
" " Schlußflüssigkeit (1650 ccm inkl. Spülwasser)	<u>251,0 "</u>	<u>150,6 "</u>
Harnstoffneubildung	183,5 mg	
Rest des zugesetzten Ammoniaks		145,5 mg
Zugesetztes Ammoniak		<u>258,0 "</u>
Umgewandeltes Ammoniak		113,5 mg

Trotz der verdünnten Durchströmungsflüssigkeit haben sich aus Ammoniumsulfat 183 mg Harnstoff gebildet, die Abnahme der Flüssigkeit an Ammoniak ist nur wenig größer als dem neugebildeten Harnstoff entspricht, indem sich aus 113,5 mg Ammoniak 200 mg Harnstoff bilden können. Die Flüssigkeit ist während des Versuches gegen Lackmus neutral geblieben.

Durchströmung unter Zusatz a) von Ammoniumnitrat,
b) von Ammoniumacetat.

Versuch 14.

a) Hund 5400 g, hat 4 Tage gehungert, Leber 154 g. Durchströmung mit 1500 ccm Ringerlösung + 100 ccm Blut. Abfluß 300 ccm in der Minute. Durchströmung sehr gut.

8 Uhr 45 Min. Entnahme von 150 ccm Kontrollblut 20 Min. nach Beginn der Durchströmung; bleiben 1450 ccm für den Versuch.

8 Uhr 50 Min. Allmählicher Zusatz von 104 ccm Ammoniumnitratlösung, enthaltend 262 mg Ammoniak.

10 Uhr 20 Min. Schlußvolumen inkl. Spülflüssigkeit 1540 ccm.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollblut sind enthalten	6,45 mg	0,17 mg
" 100 " Schlußflüssigkeit sind enthalten	20,1 "	116,0 "
" der Flüssigkeit zu Beginn (1450 ccm)	97,8 "	2,5 "
" " " am Ende des Versuchs (1540 ccm)	<u>246,2 "</u>	<u>178,0 "</u>
Harnstoffzunahme	148,4 mg	
Rest des zugesetzten Ammoniaks		175,5 mg
Zugesetztes Ammoniak		<u>262,0 "</u>
Umgewandeltes Ammoniak		86,5 mg

Aus 86,5 mg Ammoniak können 153 mg Harnstoff gebildet werden.

b) Die gleiche Leber wurde sofort zu einer weiteren Durchströmung angesetzt.

10 Uhr 30 Min. Durchströmung mit 1500 ccm Ringerlösung + 100 ccm Blut. In der Leber retinierte 100 ccm; Gesamtflüssigkeit daher = 1700 ccm.

10 Uhr 38 Min. Entnahme von 150 ccm Kontrollflüssigkeit. Es bleiben für den Versuch 1550 ccm.

10 Uhr 40 Min. Allmählicher Zusatz von 180 ccm Ammoniumacetatlösung, enthaltend 258 mg Ammoniak. Durchströmung sehr gut.

12 Uhr 10 Min. Schlußvolumen inkl. Spülflüssigkeit 1940 ccm.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit sind enthalten . . .	7,2 mg	1,0 mg
" 100 " Schlußflüssigkeit " " . . .	12,15 "	10,3 "
Kontrolle total 1550 ccm	111,6 "	15,8 "
Schluß II total 1940 ccm (inkl. Spülwasser) . . .	<u>235,7 "</u>	<u>199,5 "</u>
Neugebildeter Harnstoff	<u>124,1 mg</u>	
Rest des zugesetzten Ammoniaks		183,7 mg
Zugesetztes Ammoniak		<u>258,0 "</u>
Umgewandeltes Ammoniak		74,3 mg

Aus 74,3 mg Ammoniak können 131 mg Harnstoff gebildet werden.

Die gleiche Leber hat also unter identischen Bedingungen aus Ammoniumnitrat ebensoviel Harnstoff gebildet, wie aus der entsprechenden Menge Ammoniumacetat.

Als Ammoniumsalz einer unverbrennlichen organischen Säure wurde das Benzoat gewählt. Der Benzoesäure konnte neben der eigentlichen Säurewirkung noch eine spezifisch toxische Aktion zukommen.

Versuch 15.

Hund 28 kg, 4 Tage ohne Futter, Leber 577 g. Durchströmung mit 1100 ccm Blut + 1000 ccm Ringerlösung. Abstrom 200 ccm in der Minute. I. Leerperiode; in der II. Periode Zusatz von 25 ccm Ammoniumbenzoatlösung entsprechend 226 mg Ammoniak.

Periode

		Harnstoff	Ammoniak
	11 Uhr 05 Min. Beginn der Durchströmung.		
I.	{ 11 " 20 " 100 ccm Kontrolle; in 100 ccm	38,6 mg	1,8 mg
	{ 11 " 50 " 180 " " " 100 "	47,0 "	1,9 "
II.	{ 11 " 52 bis 54 Min. Zusatz von 25 ccm Ammoniumbenzoatlösung entsprechend		266,0 "
	{ 12 " 30 Min. 180 ccm Kontrolle; in 100 ccm	65,3 "	5,8 "
IV.	{ 1 " 05 " 80 ccm Kontrolle; in 100 ccm	72,3 "	5,1 "
	{ 1 " 35 " 100 ccm Kontrolle; in 100 ccm	73,1 "	5,2 "
V.	{ 1 " 36 " Zusatz von 1 g Natriumbicarb.		
	{ 2 " 05 " 100 ccm Kontrolle; in 100 ccm	79,2 "	4,8 "

In 1945 cem Flüssigkeit zu Beginn der II. Periode				38 mg
präformiertes NH ₃ zugesetztes NH ₃				266 "
Gesamt-NH ₃ zu Beginn der II. Periode				304 "
" NH ₃ am Ende der II. Periode (1945 cem)				114 "
Harnstoffzunahme	pro 100 cem	total;	NH ₃ -Abnahme	total
in Periode I (2000)	8,4 mg	168 mg;	" "	"
" " II (1945)	18,3 "	357 "	" "	190 mg
" " III (1765)	7,0 "	124 "	" "	112,4 mg
" " IV (1685)	0,8 "	13 "		
" " V (1585)	6,1 "	97 "		

Die große Leber eines 4 Tage hungernden Hundes hat also bei der Leerdurchströmung in den ersten 30 Min. 168 mg Harnstoff gebildet. Nach Zusatz von Ammoniumbenzoat steigt in der folgenden Periode von 38 Min. die Harnstoffbildung sehr stark an und erreicht 357 mg, während der Ammoniakgehalt der Flüssigkeit um 190 mg abnimmt. Die Ammoniakabnahme ist etwas geringer, als der Neubildung von Harnstoff entspricht (190 mg Ammoniak entsprechen 335 mg Harnstoff). Im Verlauf dieser Periode machte sich eine rasch zunehmende Acidität der Flüssigkeit gegen Lackmus bemerkbar. Die Flüssigkeit reagierte zu Beginn der Perioden gegen Lackmus neutral, in der Mitte der Perioden wurden 5 bis 6 Tropfen 1%iger Natriumcarbonatlösung, gegen Ende 15 Tropfen gebraucht, um 10 cem der Lösung gegenüber Lackmus zu neutralisieren. Während der Periode III reagierte die Flüssigkeit gegen Lackmus stark sauer. Die Harnstoffbildung ist gering und die NH₃-Abnahme nicht mehr entsprechend. In der IV. Periode hat die Harnstoffperiode sistiert (10 cem Durchströmungsflüssigkeit brauchten 22 Tropfen 1%ige Natriumbicarbonatlösung zur Neutralisation gegen Lackmus), um in der V. Periode nach Zusatz von 1 g Natriumbicarbonat wieder schwach einzusetzen, trotzdem die Reaktion der Flüssigkeit noch sauer blieb.

Es hat also aus dem Ammoniumsalz der unverbrennlichen organischen Säure Harnstoffbildung stattgefunden, und dabei ist die Säure frei geworden. Erst nachdem die Säuerung so hohe Grade erreicht hatte, daß die Flüssigkeit gegen Lackmus stark sauer reagierte, hat die Harnstoffbildung sistiert, um in geringerem Maße bei teilweiser Neutralisation der Durchströmungsflüssigkeit wieder aufzutreten.

Bei der Regulation der Aciditätsverhältnisse im Organismus kommt dem Ammoniak unstreitig eine Rolle zu; denn das Auftreten von Säuren im normalen wie im pathologischen Stoffwechsel ist stets von vermehrter Ammoniakausscheidung durch den Harn begleitet. In den vorstehenden Versuchen findet eine Harnstoffbildung aus den Ammoniumsalzen der untersuchten

Mineralsäure und der Benzoesäure statt, trotzdem gleichzeitig Säuren frei werden.

Die im vorgehenden Versuch festgestellte Hemmung der Harnstoffbildung durch freie Säure war die Veranlassung, auch die Harnstoffbildung aus anorganischen Ammoniumsalzen bei Gegenwart freier Säure zu untersuchen, um festzustellen, wie weit dabei der hemmende Einfluß, wie er bei der Benzoesäure zum Ausdruck kommt, sich geltend macht.

Durchströmung mit Ammoniumchlorid unter Zusatz von Salzsäure.

Versuch 16.

Hund 10,5 kg, Leber 210 g, Durchströmung mit 680 ccm Blut + 1020 ccm Ringerlösung, Zusatz von 0,3 g Harnstoff, Abstrom 400 ccm in der Minute.

Periode		Harnstoff	Ammoniak
I	10 Uhr 10 Min. Probe I. 100 ccm; in 100 ccm	32,8 mg	2,6 mg
	10 " 40 " " II. 190 " ; " 100 "	37,8 "	2,4 "
II	11 " 10 " " III. 90 " ; " 100 "	39,8 "	2,6 "
	Zusatz von 0,670 g NH_4Cl entsprechend 213 mg NH_3 , dazu + 15 ccm n-HCl-Lösung = 0,8 g HCl in 70 ccm Flüssigkeit.		
III	11 Uhr 42 Min. Probe IV. in 100 ccm	52,5 mg Harnstoff,	11,3 mg Ammoniak.
	11 Uhr 43 Min. Zusatz von weitem 5 ccm n-HCl in 25 ccm destill. Wasser.		

Die Durchströmung wird nach wenigen Minuten, offenbar durch Gerinnselbildung und Embolien sehr schwierig und muß nach 5 Min. unterbrochen werden; Entnahme einer Probe des nur noch aus der Vena cava abtropfenden Blutes.

11 Uhr 52 Min. Probe V. 100 ccm in 100 ccm 53,1 mg Harnstoff und 10,7 mg Ammoniak.

Zunahme in der I. Per. von 30 Min. in 100 ccm 5,0 mg total 80 mg Harnst.
 " " " II. " " 30 " " 100 " 2,0 " " 30 " "

Zusatz der sauren Ammoniumchloridlösung.

Zunahme in der III. Per. von 30 Min. in 100 ccm 12,7 " " 180 " "

Wird Harnstoffzunahme und Ammoniakabnahme auf Ende der III. Periode 11 Uhr 42 Min. (Durchströmungsflüssigkeit zu Beginn der Periode 1420 Ende 1440 ccm) berechnet, da die letzte Periode bei der sehr mangelhaften Durchströmung des Organs nicht mehr in Betracht kommt, so ergibt sich

Ammoniak entsprechend dem zugesetzten Chlorid	213 mg
Präformiertes Ammoniak	37 "
Gesamtammoniak	<u>250 mg</u>

Rest des zugesetzten Ammoniaks	158 "
Umgewandeltes Ammoniak	92 mg

Die Harnstoffbildung ist in den beiden Leerperioden wiederum deutlich ausgesprochen. Trotz der Gegenwart von so viel freier Säure, daß die Durchströmungsflüssigkeit gegen Lackmus deutlich sauer reagierte, ist in der III. Periode nach Zusatz des Ammoniumchlorids sofort eine deutliche Mehrbildung von Harnstoff erfolgt.

Aus 92 mg Ammoniak können 160 mg Harnstoff gebildet werden. Es hatten sich also 20 mg Harnstoff mehr gebildet, als dem verschwundenen Ammoniak entspricht.

Der Versuch läßt sich mit Versuch 8 vergleichen, in dem eine etwas größere Leber in 30 Min. aus dem gleichen zugesetzten Ammoniumchlorid ohne Säurezusatz 206 mg Harnstoff bildete.

Um den Einfluß der Säurewirkung besser verfolgen zu können, wurde eine Doppeldurchströmung ausgeführt, und zwar erfolgte zuerst eine Durchströmung unter Zusatz von Ammoniumsulfat + Schwefelsäure, dann eine solche unter Zusatz des Sulfates gleichzeitig mit Natriumbicarbonat.

Durchstömung mit Ammoniumsulfat.

- a) Unter Zusatz von Schwefelsäure.
- b) Unter Zusatz von Natriumbicarbonat.

Versuch 17.

Hund 7400 g, Leber 179 g, Durchströmung mit 1510 ccm Ringerlösung + 140 ccm Blut. Abstrom 420 ccm in der Minute. Entnahme von 150 ccm Kontrollflüssigkeit 25 Min. nach Beginn der Durchströmung. Im Verlauf von 1 Std. Zusatz von 100 ccm einer angesäuerten 1%igen Ammoniumsulfatlösung entsprechend 265 mg Ammoniak und enthaltend 15 ccm $\frac{1}{1}$ -freier Schwefelsäure. Dauer der Durchströmung $1\frac{1}{2}$ Stunden.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	9,0 mg	1,7 mg
" 100 " Schlußflüssigkeit	13,8 "	14,0 "
" der Durchströmungsflüssigkeit zu Beginn total		
1500 ccm	135,0 "	19,0 "
" der Schlußflüssigkeit total 1570 ccm (inklusive		
Spülwasser)	217,0 "	220,0 "
Harnstoffneubildung	82,0 mg	
Rest-Ammoniak		201,0 mg
Ammoniak entsprechend dem zugesetzten Sulfat		265,0 "
Ammoniak umgewandelt		64,0 mg

Es scheint sich weniger Harnstoff gebildet zu haben, als der verschwundenen Ammoniakabnahme entspricht. Das fehlende Ammoniak findet sich jedoch in der Durchströmungsflüssigkeit des zweiten Versuchs;

da ein gründliches Auswaschen des Apparates in der Pause nicht möglich ist und die Leber nicht ausgiebig gespült werden darf, wegen der Gefahr der Ausschwemmung von Harnstoff und Ammoniak.

b) Die gleiche Leber wurde sofort nach dem ersten Versuch zu einer weitem Durchströmung angesetzt. In der Leber retiniert 150 ccm Flüssigkeit. Zusatz von 1550 ccm Ringerlösung + 150 ccm Blut. Abstrom 400 ccm in der Minute. Kontrolle 10 Min. nach Beginn der Durchströmung entnommen. Im Verlauf von 1 Std. Zusatz von 100 ccm 1% Ammoniumsulfatlösung entsprechend 265 mg Ammoniak und enthaltend 0,6 g Natriumbicarbonat.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollblut	6,9 mg	3,1 mg
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	14,6 „	12,5 „
„ Kontrollflüssigkeit total (1700 ccm)	117,3 „	52,7 „
„ Schlußflüssigkeit „ (1860 „) inkl. Spülwasser	272,0 „	233,0 „
Harnstoffneubildung	154,7 mg	
Restammoniak		180,3 mg
Ammoniak zugesetzt		265,0 „
Ammoniak umgewandelt		84,7 mg

Aus 84,7 mg Ammoniak können sich 149 mg Harnstoff bilden.

In diesem Versuche kommt die hemmende Wirkung der Säure, wie sie bei der Durchströmung mit Ammoniumbenzoat beobachtet worden ist, deutlich zum Ausdruck.

Dieselbe Leber hat unter gleichartigen Bedingungen aus der gleichen Menge Ammoniumsulfat bei Gegenwart von freier Schwefelsäure 82 mg, bei Gegenwart von Natriumbicarbonat 154 mg Harnstoff gebildet. Danach kommt der Mineralsäure doch ein gewisser hemmender Einfluß zu, der in dem ersten Versuch nicht zur Darstellung zu bringen war.

Schließlich wurde noch eine Durchströmung mit Ammoniumlactat unter Zusatz von Milchsäure ausgeführt, um festzustellen, ob auch der verbrennlichen Säure ein Einfluß auf die Harnstoffbildung zukommt.

Durchströmung mit Ammoniumlactat.

Versuch 18.

a) Unter Zusatz von Milchsäure.

b) Unter Zusatz von Natriumbicarbonatlösung.

a) Hund 21,5 kg, Leber 500 g, Durchströmung mit 375 ccm Hundeblood + 1875 ccm Ringerlösung. Abstrom 360 ccm in der Minute. 14 Min.

nach Beginn Entnahme von 150 ccm Kontrollblut. Zusatz von 25 ccm Ammoniumlactatlösung, enthaltend 400 mg Ammoniak und 15 ccm n-Milchsäure. Die Flüssigkeit reagiert gegen Lackmus schwach sauer. Dauer 1½ Stunden.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollblut	19,7 mg	1,19 mg
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	32,0 „	14,1 „
„ der Durchströmungsflüssigkeit zu Beginn (1725 ccm)	340,0 „	18,1 „
„ der Schlußflüssigkeit (1900 ccm inkl. Spülwasser)	610,0 „	268,0 „
	<hr/>	<hr/>
Harnstoff neugebildet	270,0 mg	
Rest des zugesetzten Ammoniaks		249,9 mg
Von 400 mg Ammoniak umgewandelt		150,1 „

Aus 150 mg Ammoniak können sich 266 mg Harnstoff bilden. Ein kleiner Teil des Harnstoffs ist aus andern Vorstufen entstanden, denn ein Teil des „umgewandelt“ berechneten Ammoniaks findet sich in der Durchströmungsflüssigkeit zu Beginn des zweiten Versuchs.

b) Die gleiche Leber wird sofort zu einer zweiten Durchströmung angesetzt: Retinierte Flüssigkeit 190 ccm, dazu 375 ccm Blut und 1500 ccm Ringerlösung, total 2065 ccm. Abstrom 340 ccm in der Minute. 10 Min. nach Beginn Entnahme von 150 ccm Kontrolle. Dauer 1½ Stunden. Zusatz von 25 ccm Ammoniumlactatlösung enthaltend 400 mg Ammoniak.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollblut	13,5 mg	2,8 mg
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	28,2 „	15,9 „
„ der Durchströmungsflüssigkeit total zu Beginn 1915 ccm	258,5 „	44,0 „
„ der Schlußflüssigkeit total (1870 ccm)	527,3 „	298,0 „
	<hr/>	<hr/>
Harnstoff neugebildet	268,8 mg	
Rest des zugesetzten Ammoniaks		254,0 mg
Von 400 mg Ammoniak umgewandelt		146,0 „

Aus 146 mg Ammoniak können sich 257 mg Harnstoff bilden.

Ein deutlicher hemmender Einfluß auf die Harnstoffbildung, wie er bei Zusatz der Mineralsäure zur Durchströmungsflüssigkeit zum Ausdruck kommt, läßt sich bei Zugabe der verbrennlichen organischen Säure nicht nachweisen. Ob dies durch ein Verbrennen der Milchsäure oder durch die weniger starke Dissoziation derselben bedingt ist, läßt sich aus dem Versuch nicht schließen.

Es bleibt aber trotz der nachgewiesenen Hemmung durch unverbrennliche Säuren bemerkenswert, daß die Harnstoffbildung in

der Leber noch erfolgt, wenn die Durchströmungsflüssigkeit gegen Lackmus schon sauer reagiert, Verhältnisse abnormer Säuerung, wie sie intra vitam wohl kaum je auftreten können. Diese ganz unerwartet geringe Empfindlichkeit der Harnstoffbildung in der Leber gegenüber der sauren Reaktion scheint von Bedeutung für die Frage der Säureneutralisation durch NH_3 .

Die Rolle, die dem Ammoniak zur Aufrechterhaltung der optimalen Reaktion der Körpersäfte zugeschrieben wird, kommt an der isolierten Leber nicht deutlich zum Ausdruck. Während für den Gesamtorganismus angenommen wird, daß jede im Stoffwechsel auftretende vermehrte Säurebildung physiologischer oder pathologischer Natur oder die Säurezufuhr von außen sofort durch das stets disponible Ammoniak neutralisiert werde, und daß das Ammoniaksalz der betreffenden Säure zur Ausscheidung gelange, ergibt sich für die Leber, daß Ammoniak offenbar trotz der Gegenwart unverbrennlicher Säuren der Harnstoffbildung anheimfällt. Die Leber bekämpft also in erster Linie die Ammoniakvergiftung, trotzdem dadurch eine Säureintoxikation entstehen kann.

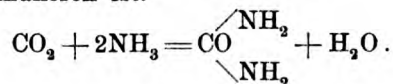
Die untersuchten Ammoniumsalze anorganischer Säuren (das Chlorid, das Sulfat, das Nitrat) und unverbrennlicher organischer Säuren (das Benzoat) haben sich wie die Salze verbrennlicher Säuren und das Carbonat in der überlebenden Leber als Harnstoffbildner erwiesen. Der Harnstoffneubildung steht in einzelnen Versuchen eine nahezu entsprechende Abnahme an Ammoniak gegenüber. Das beweist, daß der ganze Harnstoffstickstoff dem zugesetzten Ammoniumsalz entstammt; diese Tatsache ist von Wichtigkeit im Hinblick auf die Theorien der Harnstoffbildung. Entsteht der Harnstoff aus zwei verschiedenen N-haltigen Molekülen, asymmetrisch, etwa nach Salkowskis Anschauung aus Ammoniak und Cyansäure, so müßte bei Durchströmung mit einem Ammoniumsalz das eine Stickstoffatom vom Organ geliefert werden und nur das zweite Stickstoffatom vom zugeführten Ammonsalz. Die Abnahme des Ammoniakgehaltes der Durchströmungsflüssigkeit müßte geringer sein, nur die Hälfte des Wertes erreichen, der nach dem neugebildeten Harnstoff berechnet wird. Entsteht aber der Harnstoff nach Schmiedebergs Theorie durch Wasserabspaltung

aus Ammoniumcarbonat, so muß der ganze Stickstoffgehalt des neugebildeten Harnstoffs aus dem zugeführten Ammoniumsalz gedeckt werden; dies ist in den Versuchen tatsächlich der Fall. Nur in einzelnen Versuchen ist etwas mehr Ammoniak verschwunden, als der Harnstoffneubildung entspricht; die Versuche lassen über das Schicksal dieses Ammoniaks nichts erschließen; immerhin ist es möglich, daß der Prozeß der Aminosäurebildung aus Oxysäuren oder Ketosäuren oder aus Kohlenhydraten bei reichlichem Vorkommen von Ammoniak im Blute (speziell die Bildung des Alanins, die nach Embden¹⁾ und seinem Mitarbeiter in der glykogenreichen Leber reichlich erfolgt), auch in der Hungerleber in geringem Umfange stattfindet, wie auch der kohlenhydratarm ernährte Organismus Stickstoffansatz aus Ammoniumsalzen bewerkstelligen kann [Ringer und Taylor²⁾].

Von der isolierten Leber eines hungernden Hundes wird jedoch der weitaus größte Teil des umgewandelten Ammoniaks zur Harnstoffproduktion verwendet und auf diese Weise entgiftet.

Bei der Durchströmung der Leber mit Ammoniumcarbonat oder -salzen organischer Säuren, die im Körper zu Kohlensäure verbrennen, wird neben dem Stickstoffanteil des Harnstoffs gleichzeitig der Kohlenstoffanteil geliefert; dies trifft nicht zu für die organischen Ammoniumsalze. Von ihnen kann nur die Stickstoffkomponente abstammen. Die Carbonylgruppe muß von Bestandteilen des Organs oder des Blutes geliefert werden.

Da es gleichgültig ist, an welchen Säurerest gebunden das Ammoniak der Leber zugeführt wird, ergibt sich, daß die Fähigkeit, in Harnstoff überzugehen, eine allen Ammoniumsalzen gemeinsame Reaktion ist. Offenbar ist die Harnstoffbildung eine Reaktion zwischen Ammoniak und Kohlensäureanhydrid, die in einfachster und richtigster Weise folgendermaßen zu formulieren ist:



Der Dehydratisierungsvorgang, der dieser Gleichung zugrunde liegt, vollzieht sich unter dem Einfluß der Leberzellen.

¹⁾ Embden, diese Zeitschr. 29, 423; 38, 393. — H. Fellner, 38, 414.

²⁾ Ringer u. Taylor, Journ. of Biolog. Chem. 14, 407.

Diese Gleichung schließt die Bildung eines Zwischenproduktes von Carbaminsäure aus. Daß Carbaminsäure als Zwischenprodukt tatsächlich nicht auftritt, ist durch meine Versuche, in denen in saurer Durchströmungsflüssigkeit Harnstoffbildung erzielt wurde, erwiesen worden.

Diese Erklärung stimmt auch völlig überein mit den interessanten chemischen Versuchen, über die Fichter¹⁾ erst kürzlich berichtet hat. Fichter und seine Mitarbeiter haben durch systematische Studien des chemischen Gleichgewichts, das der Reaktion von Basaroff²⁾ (Überführung von carbaminsaurem Ammoniak in Harnstoff durch Erhitzen auf 135°) zugrunde liegt, festgestellt, daß die von Basaroff erzielte Harnstoffbildung über das Ammoncarbonat geht, indem sich Carbaminsäure unter Anlagerung von Wasser zuerst in Ammoniumcarbonat umwandeln muß, ehe überhaupt eine Harnstoffbildung möglich wird. Das gebildete Ammoncarbonat dissoziiert bei der von Basaroff gewählten Reaktionstemperatur von 135° unter Austritt eines Moleküls Wasser in Ammoniak und Kohlensäure, die sich unter Austritt eines weiteren Wassermoleküls zu Harnstoff vereinigen.

Dieser Vorgang, der sich in vitro unter Anwendung höherer Temperaturen vollzieht, ist im Organismus und in der überlebenden Leber, wie so viele andere Anhydrierungsvorgänge, — ich verweise nur auf die Hippursäurebildung und Polypeptidsynthese — auch in wässriger Lösung möglich.

Neben der chemischen Analogie besteht auch insofern eine Ähnlichkeit mit dem Prozeß der Hippursäurebildung, als auch hier sich ein Entgiftungsvorgang vollzieht. Denn wie bei der Hippursäurebildung die giftige Benzoesäure durch Paarung mit Aminoessigsäure entgiftet wird, wird hier umgekehrt das giftige Ammoniak durch Kuppelung mit Kohlensäure in den auch in großen Dosen noch unschädlichen Harnstoff verwandelt.

Harnstoff ist entgiftetes Ammoniak.

¹⁾ Fichter, Steiger und Stanisch, Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft, Basel 28, II, 66.

²⁾ Basaroff, Journ. f. prakt. Chem. 1, 283.

IV.

Amine und Harnstoff.

Wenn die Versuche im vorstehenden Kapitel in der so eingehend bearbeiteten Frage der Harnstoffbildung aus Ammoniumsalzen neue Schlüsse erlauben, so ist dies auf den Umstand zurückzuführen, daß, wie bereits betont, in den Durchströmungsversuchen nicht bloß die Harnstoffneubildung, sondern auch das stickstoffhaltige Ausgangsmaterial, die Ammoniumsalze, genau kontrolliert wurden. Es erschien natürlich verlockend, dieses Prinzip auf die weit wichtigere Frage der Harnstoffbildung aus Aminosäuren auszudehnen.

Es wären durchaus nicht nur für die Harnstoffbildung, sondern auch für den intermediären Eiweißstoffwechsel wichtige Aufschlüsse zu erwarten. Solange nur einseitig die Harnstoffneubildung gemessen wird, können Einwände, wie die erst neuerdings von Fiske und Karsner¹⁾ erhobenen, wonach die Harnstoffneubildung bei Aminosäuredurchblutung der überlebenden Leber überhaupt fraglich erscheint, nicht mit Entschiedenheit zurückgewiesen werden, zumal auch meine Kontrollversuche ergeben haben, daß ohne Zusatz irgendeiner Stickstoffquelle eine Harnstoffbildung in der Leber stattfinden kann.

Genau Bestimmungen der Abnahme der Aminosäuren vermöchten diese Zweifel eindeutig zu lösen.

Aber auch über die Bedeutung der Aminosäuren selber könnten durch so ausgeführte Versuche wertvolle Einblicke gewonnen werden. Weiß man von der großen Zahl der bisher isolierten Aminosäuren doch kaum viel mehr, als daß sie alle als Eiweißbausteine funktionieren, daß einzelne, wie Glykokoll, Alanin, mehr banale Natur besitzen und nur als Füllmaterial dienen, während anderen eine spezifische Rolle zukommt und einige, wie Tryptophan, Tyrosin und Histidin, als lebenswichtig erkannt wurden²⁾.

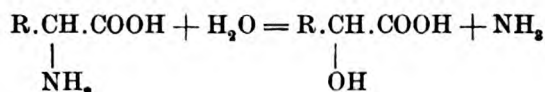
Leider sind die Methoden zur Bestimmung von Amino-

¹⁾ Fiske und Karsner, Journ. of Biolog. Chem. 18, 381.

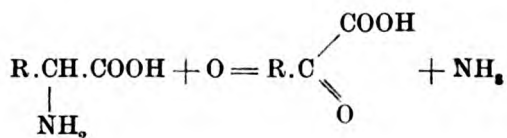
²⁾ Osborne und Mendel, Journ. of Biolog. Chem. 17, 325.

säuren noch keineswegs in genügender Weise ausgearbeitet, um ohne weiteres in meiner Versuchsanordnung Verwendung zu finden. Es würde sich um Bestimmungen von relativ kleinen Aminosäuremengen handeln, und da kleine Ausschläge zu maßgebenden Schlüssen führen können, muß vor allem die Methode quantitativ sein; dies kann aber höchstens vom Verfahren von van Slyke¹⁾ behauptet werden, das darauf beruht, daß der allen Aminosäuren gemeinsame α -Aminostickstoff mit salpetriger Säure abgespalten und volumetrisch bestimmt wird. Diese Methode ist wohl sehr genau, aber wenig spezifisch; wenn mit ihrer Hilfe auf die Quantität von Aminosäuren geschlossen werden soll, so müssen Ammoniak und Harnstoff vorher abgetrennt werden. Dies hätte aber in meinen Versuchen eine wesentliche Komplikation bedeutet und die Resultate auch deshalb wenig eindeutig gemacht, weil der während der Perfusion der Leber durch Eiweißabbau etwa neuentstehende Aminostickstoff mitbestimmt würde und die Resultate trüben könnte.

Auch ein anderer, auf den ersten Blick gangbar erscheinender Ausweg bot wenig Aussicht auf Erfolg. Nimmt man nämlich an, daß die Desaminierung der Aminosäuren nach einer der folgenden Gleichungen erfolgt,



oder



so könnte man durch Bestimmung der entstandenen stickstofffreien Oxy- oder Ketosäuren einen Aufschluß über die Abnahme der Aminosäuren erwarten. Fischer und Neubauer²⁾, sowie Knoop und Kertess³⁾, haben diesen Weg beschritten;

¹⁾ van Slyke, *ibid.* 9, 185. — *Biochem. Arbeitsmethoden* 6, 278.

²⁾ Fischer und Neubauer, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 67, 230.

³⁾ Knoop und Kertess, *ibid.* 71, 252.

aber gerade aus den so interessanten Arbeiten ist die Unzulänglichkeit dieser Methodik ersichtlich, da die entstandenen stickstofffreien Abbauprodukte nicht einheitlich und nur schwer isolierbar sind, und da sie zum Teil weiter verändert und verbrannt werden, was namentlich für die meisten natürlichen Aminosäuren der Fall ist.

Alle diese Schwierigkeiten habe ich dadurch zu umgehen versucht, daß ich in erster Linie nicht die Aminosäuren selbst, sondern ihre Decarboxylierungsprodukte, die proteinogenen Amine, meinen Versuchen zugrunde gelegt habe. Die proteinogenen Amine entstehen durch Decarboxylierung der Aminosäuren nach folgender allgemeiner Gleichung:



So entstehen z. B.

- aus Glykokoll Methylamin,
- „ Alanin Äthylamin,
- „ Leucin Isoamylamin,
- „ Tyrosin p-Oxyphenyläthylamin.

Sie enthalten demnach an denselben Kohlenstoffskeletten wie die Aminosäuren eine primäre Aminogruppe, so daß aus den bei Perfusion mit proteinogenen Aminen entstehenden Abbauprodukten Analogieschlüsse auf das Verhalten der Aminosäuren gezogen werden dürfen.

Die Verwendung der proteinogenen Amine bietet aber in methodischer Hinsicht aus zwei Gründen große Vorteile. Die Amine mit niedriger Kohlenstoffzahl, wie Methylamin, Äthylamin, Trimethylamin sind, wie das Ammoniak, leicht flüchtig und titrierbar und infolgedessen wie dieses bestimmbar. Die kohlenstoffreichen Amine, wie das p-Oxyphenyläthylamin, Phenyläthylamin, Benzylamin, die die günstige Eigenschaft der großen Flüchtigkeit nicht mehr besitzen, liefern beim Abbau in der überlebenden Leber über die betreffenden Alkohole wenig verbrennliche Carbonsäuren, Oxyphenyllessigsäure, Phenyllessigsäure, Benzoesäure, die aus der Perfusionsflüssigkeit leicht isoliert und bestimmt werden können.

Endlich erlauben die biologischen Eigenschaften einzelner Amine die Abnahme des Amingehaltes der Perfusionsflüssigkeit zu verfolgen.

Amine, wie z. B. β -Imidazolyläthylamin und p-Oxyphenyläthylamin besitzen nämlich auf die überlebende glatte Muskulatur eine intensive Wirkung; am überlebenden Meerschweinchendarm läßt sich dieselbe leicht demonstrieren. Diese Wirkung kann, wie dies von Guggenheim und Löffler¹⁾ festgestellt worden ist, Schlüsse über das Verhalten der Amine im Tierkörper erlauben, die in quantitativer Hinsicht einwandfrei sind. Wenn ich aber auch von dieser wenig quantitativen biologischen Prüfung absehe, so gewähren die oben erwähnten beiden Möglichkeiten, nämlich sowohl die Bestimmung des unveränderten flüchtigen Amins, wie auch die Isolierung der als Oxydationsprodukt entstandenen Carbonsäure, die von mir neben der Harnstoffneubildung geforderten quantitativen Anhaltspunkte.

Das Schicksal der Amine in der überlebenden Leber war aber nicht nur von Bedeutung im Hinblick auf ihre nahe Verwandtschaft mit den Aminosäuren, sondern besitzt auch um seiner selbst willen Interesse; denn Bildung und Resorption der proteinogenen Amine spielen im Stoffwechsel gewiß eine Rolle. Nicht nur nehmen wir mit manchen unserer Nahrungsmittel verschiedene Amine auf, sie bilden sich auch durch bakterielle Tätigkeit im Darm und gelangen von da aus zur Resorption, und schließlich werden als Hormone aminartige Körper in den Kreislauf abgegeben.

a) Flüchtige Amine.

Trotzdem die hier untersuchten niedrigen primären Amine sich sehr leicht und reichlich aus allen tierischen und pflanzlichen Produkten durch bakterielle und fermentative Zersetzungsprozesse bilden, sind nur vereinzelte biochemisch untersucht worden. Salkowski²⁾ verabreichte Methyl- und Äthylamin per os an Kaninchen und Hunde; der Nachweis von asymmetrischem Methyl- bzw. Äthylharnstoff sollte den Beweis liefern, daß die Harnstoffsynthese im Sinne der früher disku-

¹⁾ Guggenheim und Löffler, diese Zeitschr. 72, 340.

²⁾ Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 1.

tierten Salkowskischen Theorie erfolgt. Schmiedeberg¹⁾, der diese Versuche unter Herbeiziehung des Amylamins wiederholte, konnte, wie Salkowski, auch nur eine äußerst geringe Menge asymmetrischen Methyl- bzw. Äthylharnstoffs nachweisen. Er betonte aber auch gleichzeitig die geringe Beweiskraft dieser Versuche für die Salkowskische Theorie. Amylamin wurde in der Folge von Guggenheim und Löffler²⁾ verfüttert und subcutan verabreicht. Es wurde dabei festgestellt, daß der kohlenstoffhaltige Rest auch nach Verabreichung relativ großer Dosen vollständig verbrennt. In der überlebenden Leber ist dies nicht der Fall; Valeriansäure, das Desaminierungsprodukt des Amins, ließ sich leicht in relativ großen Mengen nachweisen. Über das biochemische Verhalten von Trimethylamin finden sich in der Literatur auffallenderweise keine Angaben, auch nicht über Propylamin.

Durchströmung mit Methylaminchlorhydrat.

Versuch 19.

Die Versuchsanordnung und Verarbeitung der Durchströmungsflüssigkeit war dieselbe wie beim Ammoniumchlorid. Um möglichst einwandfreie Resultate zu erhalten, wurde zuerst angestrebt, neben Harnstoff nicht bloß die Gesamtheit der flüchtigen Basen zu bestimmen, sondern diese auch noch in Ammoniak und Methylamin zu trennen. Ein geeignetes Verfahren zur Erreichung dieses Zieles fand ich in der Methode von François³⁾, welche darauf beruht, daß Ammoniak mit Quecksilberoxyd in alkalischer Lösung eine unlösliche Verbindung eingeht und so leicht von den nicht reagierenden, substituierten Ammoniakderivaten getrennt werden kann.

Nachdem ich dieses Verfahren in langwierigen Versuchen meinen Zwecken angepaßt hatte, stellte sich heraus, daß diese Komplikation nicht nötig war, da der Ammoniakgehalt der Durchblutungsflüssigkeit sich in Leerversuchen nicht vermehrt, selbst dann nicht, wenn spontan eine ziemlich reichliche Harnstoffneubildung feststellbar ist. Auch bei Durchblutung mit Aminen findet sich kein freies Ammoniak; dieses wird vielmehr sofort zur Harnstoffsynthese verwertet. Daß dies tatsächlich stimmt, ließ sich durch die ebenfalls von François ausgearbeitete, empfindliche qualitative Reaktion auf Ammoniak und Amine nach-

¹⁾ Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 8, 1.

²⁾ Guggenheim und Löffler, l. c.

³⁾ François, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 144, 563, 857.

weisen. Diese Reaktion beruht auf der Anwendung eines modifizierten Neßlerschen Reagens¹⁾.

Eine Methylamin oder ein anderes Amin plus Ammoniak enthaltende Flüssigkeit wird mit dem gleichen Volumen des Reagens versetzt: in der Kälte reagiert nur Methyl-, Äthylamin usw. unter Bildung eines hellgelben Niederschlages; erst wenn die Flüssigkeit zum beginnenden Sieden erhitzt wird, tritt der durch das Reagens bewirkte, für Ammoniak charakteristische braune Niederschlag auf; der Niederschlag bildet sich bei Gegenwart aller Ammoniumsalze mit Ausnahme des Carbonats. Da nun bei der Einwirkung von Urease auf Harnstoff Ammoniumcarbonat entsteht, muß das Ammoniak erst durch einen Überschuß von Kaliumcarbonat mit dem Luftstrom in Salz- oder Schwefelsäure übergetrieben werden. In der vorgelegten Flüssigkeit läßt sich dann Ammoniak neben flüchtigen Aminen nachweisen.

Hund 25 kg, hat 4 Tage gehungert. Leber 358 g, Durchströmung mit 1000 ccm Blut + 1000 ccm Ringerlösung. Abstrom 300 ccm in der Minute. Entnahme von 300 ccm Kontrollflüssigkeit 15 Min. nach Beginn. Allmählicher Zusatz von 200 ccm Methylaminchlorhydratlösung entsprechend 1590 mg Methylamin. Dauer 3 Stunden.

In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	16,7 mg Harnstoff,	0,6 mg Ammoniak
" 100 " Schlußflüssigkeit .	32,5 " "	57,3 " Methylamin
" der Flüssigkeit zu Beginn (1700 ccm)	284,0 " "	11,2 " Ammoniak
" der Flüssigkeit am Schluß (2000 ccm inkl. Spülfl.) .	650,0 " "	1147,0 " Methylamin
Harnstoff neugebildet in 3 Std.	366,0 "	
Ammoniak, präformiertes in 1700 ccm Flüssigkeit		
11,2 mg entspricht		20,0 " " ²⁾
Methylamin zugesetzt		1590,0 "
Gesamt-methylamin		1610,0 "
Methylamin am Schluß in 2000 ccm		1147,0 "
Methylamin verschwunden		463,0 "

463 mg Methylamin entsprechen 448 mg Harnstoff; es haben sich neugebildet 366 mg.

Da neben der Harnstoffbildung gleichzeitig eine Abnahme

¹⁾ Reagens von François: im Liter sind enthalten genau: 22,7 g Merkurijodid, 33 g Kaliumjodid und 35 g Natriumhydroxyd, das frei von Ammoniak sein muß.

²⁾ In den Versuchen mit flüchtigen Aminen wurde die geringe Menge des in der Flüssigkeit präformierten Ammoniaks stets mit dem entsprechenden Wert des in Frage stehendenamins in Rechnung gezogen.

des Methylamins nachweisbar ist, kann Methylamin als Harnstoffbildner angesprochen werden.

Offenbar wird die Methylgruppe auf oxydativem Wege abgespalten, wie auch Pohl¹⁾ festgestellt hat, daß Methylalkohol bzw. Methylamin im Organismus zu Ameisensäure verbrennt; wahrscheinlich sind die hier freigewordenen kleinen Mengen sofort zu CO₂ oxydiert worden, indem sich in der enteweißten Flüssigkeit keine Ameisensäure nachweisen ließ.

Aus den Flüssigkeitsproben am Schluß der Durchströmung ließ sich nach Zusatz von Kaliumcarbonat durch den Luftstrom nur Methylamin austreiben; daneben konnten auch nach dem Eindampfen der in Schwefelsäure aufgefangenen Destillate mit dem Reagens von François nur Spuren von Ammoniak qualitativ nachgewiesen werden, ebenso wie in der Kontrollflüssigkeit. Die Durchströmungsflüssigkeit enthält also am Schluß des Versuchs nicht mehr Ammoniak als zu Beginn.

Es sei hier noch bemerkt, daß bei der Bestimmung der flüchtigen Amine die Dauer der Luftdurchleitung erheblich länger gewählt werden muß als beim Ammoniak. Die in Betracht kommenden Mengen von Trimethylamin und Methylamin waren in Kontrollversuchen in 2¹/₂ Stunden quantitativ ausgetrieben, für Äthylamin bedurfte es 5 Stunden bei gleicher Stärke des Luftstroms. Ich habe mich noch besonders davon überzeugt, daß die Salze der Basen unter den Bedingungen des Durchströmungsversuchs absolut nicht flüchtig sind.

Durchströmung unter Zusatz von Äthylaminchlorhydrat.

Versuch 20.

Hund 10,6 kg, hat 3 Tage gehungert. Leber 190 g. Durchströmung mit 900 ccm Blut + 900 ccm Ringerlösung. Zusatz von 0,12 g Harnstoff. Abstrom 350 ccm.

Periode		Harnstoff	Ammoniak
	10 Uhr Beginn		
I	{ 10 Uhr 15 Min. Probe 1 100 ccm; in 100 ccm	26,7 mg	0,26 mg
	{ 10 " 45 " " 2 100 " " 100 "	27,0 "	0,77 "
II	{ Zusatz von 100 ccm Äthylaminchlorhydrat-		
	{ lösung enthaltend		1780,0 mg Äthylamin
	11 Uhr 15 Min. Probe 3 100 ccm; in 100 ccm	31,5 "	102,6 " "

¹⁾ Pohl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31, 281.

Periode	Harnstoff	Ammoniak
III { 11 " 15 " Zusatz v. 100 " Äthylamin- chlorhydratlösung enthaltend		750,0 mg Äthylamin
11 Uhr 45 Min. Probe 4 100 ccm in 100 ccm	36,3 "	132,3 " "
Harnstoffgehalt der Fl. 1700 n. Entnahme v. Pr. 1	454,0 "	
" " " bei " " " 1	459,0 "	
Harnstoffzunahme in der I. Periode	5,0 "	
" " (1600) nach Entnahme v. Pr. 2	432,0 "	1780 " "
" " (1700) bei " " " 2	536,0 "	1744 " "
" " der II. Periode	104,0 "	36 " Äthylamin- abnahme
Harnstoffgehalt der Fl. (1600) n. Entnahme v. Pr. 3	504,0 "	1641 " "
Zusatz von Äthylaminchlorhydrat entsprechend . .		750 " "
		2391 " " zu Beginn der III. Periode
Harnstoffgehalt der Fl. (1700) bei Entnahme von Pr. 3	617,0 "	2249 " "
Harnstoffzunahme in der III. Periode	113,0 "	152 " Äthylamin- abnahme

Das Resultat mit Äthylamin kann als identisch mit dem für Methylamin erhaltenen bezeichnet werden. Auch hier ist eine Harnstoffneubildung begleitet von einer Abnahme der flüchtigen Amine; auch hier konnte keine flüchtige Säure nachgewiesen werden.

Durchströmung unter Zusatz von Propylaminchlorhydrat.

Versuch 21.

Mittelgroßer Dachshund, hat 3 Tage gehungert. Leber 150 g Durchströmung mit 1000 ccm Ringerlösung + 250 ccm Blut. Durchströmung gut. Im Verlauf von 2 Std. Zusatz von 50 ccm einer Lösung enthaltend 3 g Propylaminchlorhydrat und 2,6 g Natriumbicarbonat.

Periode	Harnstoff
9 Uhr Beginn der Durchströmung.	
I { 9 " 15 Min. Kontrolle 1 (100 ccm) in 100 ccm	3,3 mg
II { 11 " 15 " " 2 (50 ") " 100 "	12,6 "
12 " 15 " " 3 Schluß " 100 "	18,9 "
In der Gesamtflüssigkeit zu Beginn (1150 ccm)	38,0 "
In der Gesamtflüssigkeit vor Entnahme von Kontrolle 2 (1150 ccm)	145,0 "
Zunahme an Harnstoff in Periode I	107 mg
In der Gesamtflüssigkeit nach Entnahme von Kontrolle 2 (1100 ccm)	138,0 "
In der Gesamtflüssigkeit vor Entnahme von Kontrolle 3 (1100 ccm)	208,0 "

Zunahme an Harnstoff in Periode II	70 mg
Gesamtzunahme an Harnstoff in 3 Std.	<u>177 mg</u>

Aus der entweißten Durchströmungsflüssigkeit ließen sich ca. 1 g einer nach Essigsäure riechenden Säure isolieren.

Durchströmung unter Zusatz von Isoamylamin.

Versuch 22.

Hund 13,7 kg, 2 $\frac{1}{2}$ Tage ohne Futter, Leber 180 g, Durchströmung mit 1800 ccm Ringerlösung + 300 ccm Blut. Abstrom 400 ccm in der Minute. Im Verlauf der Durchströmung allmählicher Zusatz von 4 g Isoamylaminchlorhydrat und 3 g Natriumbicarbonat in 50 ccm Wasser. Kontrollblut 30 Min. nach Beginn der Durchströmung entnommen. Dauer 3 Stunden.

In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	4,5 mg Harnstoff
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	24,0 „ „
„ der Flüssigkeit zu Beginn (2000) total . . .	90,0 „ „
„ der Schlußflüssigkeit (1950 ccm)	<u>398,0 „ „</u>
Harnstoffneubildung in 3 Std.	308,0 mg „

Im Verlauf der Durchströmung trat starker Geruch nach Valeriansäure auf. 100 ccm des Schlußvolumens wurden mit Schwefelsäure entweißt, bei sodaalkalischer Reaktion im Vakuum eingeengt, mit Schwefelsäure ausgeäthert, der über Natriumsulfat getrocknete Äther abgedunstet. Es hinterblieb eine bräunlich-gelbe, stark nach Valeriansäure riechende saure Flüssigkeit, die sich mit Wasser nur schwer mischte. Die Flüssigkeit wurde mit Wasser aufgenommen, mit etwas Tierkohle gekocht und filtriert, in einem aliquoten Teil des Filtrates wurde der Säuregehalt titriert, es ergaben sich 0,56 g Valeriansäure in 1000 ccm Schlußvolumen, d. h. 1,1 g in der Gesamtschlußflüssigkeit. Der größte Teil der wässrigen Valeriansäure wurde mit Salzsäure kongosauer gemacht und mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung über Natriumsulfat getrocknet, der Äther abgedunstet und die restierende klare Säure aus dem Ölbad destilliert. Der größte Teil ging zwischen 140 und 160° über. Es liegt demnach Valeriansäure vor.

Aus den vorstehenden Versuchen über das Verhalten der primären flüchtigen Amine bei der Durchströmung der überlebenden Leber ergibt sich, daß die primären Amine desaminiert werden, aus dem Ammoniak wird Harnstoff gebildet. Es findet keine oder nur sehr geringe Bildung von substituiertem Harnstoff statt. Die Alkylreste werden oxydiert, die niedrigen ver-

brannt, die höheren werden in der Leber nur bis zur Carbon-säure, mit gleich viel Kohlenstoffatomen im Molekül wie das Amin, oxydiert und nicht weiter verbrannt. Da aber Amylamin im Gesamtorganismus verbrannt wird, so muß angenommen werden, daß die Verbrennung der längern Kohlenstoffketten nicht so rasch erfolgt und wahrscheinlich noch andere Organe als die Leber dabei beteiligt sind, möglicherweise findet auch eine synthetische Verwertung der entstandenen Säure statt.

Nachdem sich die flüchtigen primären Amine als Harnstoffbildner in der überlebenden Leber erwiesen hatten, wurde Trimethylamin als tertiäres Amin untersucht. Trimethylamin hat nur in pharmakologischer Hinsicht Bearbeitung gefunden. Es ist anscheinend giftiger als Ammoniak und weniger toxisch als Cholin, als dessen Abbauprodukt Trimethylamin im Organismus vor allem in Betracht kommt.

Die Untersuchung des Verhaltens von Trimethylamin in der überlebenden Leber war noch besonders deshalb angezeigt, weil Cholin unter den gleichen Bedingungen nur sehr wenig verändert wird, trotzdem die Base bei intravenöser Injektion am intakten Tier rasch und vollständig entgiftet wird, indem nur geringe Mengen derselben im Urin zur Ausscheidung gelangen. Nur mit Hilfe der sehr empfindlichen biologischen Reaktion für Cholin, die darauf beruht, daß das Acetylprodukt desselben eine äußerst kräftige Wirkung auf den überlebenden Meerschweinchendarm ausübt, ist Guggenheim und mir¹⁾ der Nachweis gelungen, daß ganz geringe Cholinmengen auch durch die Leber entgiftet werden.

Durchströmung unter Zusatz von Trimethylaminlactat.

Versuch 23.

Hund 23 kg, hat 3 Tage gehungert. Leber 300 g Durchströmung mit 1150 ccm Blut + 1750 ccm Ringerlösung. Abstrom 350 ccm in der Minute. Entnahme der Kontrolle 300 ccm $\frac{1}{2}$ Stunde nach Beginn der Durchströmung. Zusatz von 100 ccm Trimethylaminlactatlösung entsprechend 1844 mg Trimethylamin. Dauer $2\frac{1}{2}$ Stunden.

In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	25,0 mg Harnstoff	1,1 mg Ammoniak
„ 100 „ Schlußflüssigkeit .	44,2 „	48,4 „ Trimethylamin

¹⁾ Guggenheim u. Löffler, diese Zeitschr. 74, 208.

In der Gesamtflüssigkeit zu Beginn (2400)		600,0 mg Harnstoff	24,6 mg Ammoniak
" " Gesamtflüssigkeit am Schluß (2400)		1062,0 "	1173,0 " Trimethylamin
Harnstoffneubildung		462,0 mg.	
In der Flüssigkeit präformiertes NH ₃ (24,6 mg) entsprechen			92,0 mg Trimethylamin
Rest des zugesetzten Trimethylamins		1081,0 mg	"
Trimethylamin zugesetzt		1844,0 "	
Umgewandeltes Trimethylamin		763,0 mg	
Aus 763 mg konnten sich 393 mg Harnstoff bilden.			

Die Harnstoffneubildung bei gleichzeitiger Abnahme des Gehaltes der Flüssigkeit an flüchtiger Base beweist, daß auch Trimethylamin in der überlebenden Leber als Harnstoffbildner in Betracht kommt. Auch in diesen Versuchen konnte mit dem Reagens von François keine vermehrte Ammoniakbildung nachgewiesen werden; das aus Trimethylamin gebildete Ammoniak mußte im Maße seiner Entstehung zur Harnstoffbildung verwendet worden sein. Der Nachweis von Ameisensäure in der entweißten Durchströmungsflüssigkeit ist nicht gelungen.

In einem weitem Versuch wurde die Harnstoffbildung und Trimethylabnahme in $\frac{1}{3}$ stündlichen Perioden verfolgt.

Durchströmung unter Zusatz von Trimethylaminchlorhydrat.

Versuch 24.

Hund 6,1 kg, hat 4 Tage gehungert. Leber 174 g. Durchströmung mit 700 ccm Blut + 750 ccm Ringerlösung, Zusatz von 0,2 g Harnstoff. Abstrom 150 ccm in der Minute. Durchströmung sehr gut. Nach Entnahme der II. Probe Zusatz von 20 ccm Trimethylaminchlorhydratlösung, enthaltend 1445 mg Trimethylamin.

Periode	10 Uhr 45 Min. Beginn.	Harnstoff	Ammoniak
I	11 " 00 " Probe 1	100 ccm; in 100 ccm	32,5 mg 0,7 mg
	11 " 30 " " 2	70 " " 100 "	32,4 " 0,6 "
II	11 " 30 " Zusatz von 20 ccm Trimethylaminchlorhydratlösung = 1416 mg Trimethylamin		
	12 " 00 " Probe 3	100 ccm; in 100 ccm	38,7 mg 88,2 mg
III	12 " 30 " " 4	100 " " 100 "	43,0 " 82,3 "
	12 " 30 " " 5	100 " " 100 "	50,0 " 70,8 "
IV		pro 100 ccm	total
			19*

Harnstoffneubildung in Periode I	0 mg	0 mg	
" " " II	6,3 "	82,0 "	(1300 ccm)
" " " III	5,3 "	64,0 "	(1200 ")
" " " IV	7,0 "	77,0 "	(1100 ")
Harnstoffneubildung		<u>223,0 mg</u>	
Trimethylaminabnahme:			
Trimethylamin zugesetzt	1416 mg		
" präformiert (NH ₃)	46 "		
" zu Beginn der II. Periode	<u>1462 mg</u>		
" Ende " II. "	1147 "	Abnahme	315 mg
" Beginn " III. "	<u>1058 mg</u>		
" Ende " III. "	988 "	"	70 "
" Beginn " IV. "	<u>905 mg</u>		
" Ende " IV. "	779 "	"	<u>126 "</u>
Abnahme des Trimethylamins total			511 mg

Auch in diesem Versuch steht der Harnstoffneubildung eine Trimethylaminabnahme gegenüber.

Trimethylamin ist das einzig bekannte Beispiel der Harnstoffbildung aus einem tertiären Amin. Diese Reaktion kann auch als Entmethylierung aufgefaßt werden; sie stellt ein Gegenstück dar, zu den von His und von Hofmeister¹⁾ beobachteten Methylierungen im Tierkörper.

Das Verhalten des Trimethylamins in der überlebenden Leber entspricht vollständig den Beobachtungen, die man über den bakteriellen Abbau des Cholins gemacht worden sind. Bei der Fäulnis von Cholin durch Mischkulturen sowie durch Reinkulturen konnten neben Ammoniak Methyl- und Dimethylamin als Abbauprodukte nachgewiesen werden. Die hier nachgewiesene Harnstoffbildung aus Trimethylamin, die zweifellos über Ammoniak erfolgt, bietet ein Beispiel dafür, daß auch die Leberzellen imstande sind, analog einzelligen Organismen Entalkylierungsprozesse zu bewirken.

b) Nicht flüchtige Amine.

Die substituierten, schwer oder nicht flüchtigen Amine sind schon vielfach Gegenstand der Untersuchung gewesen, besonders p-Oxyphenyläthylamin und β -Imidazolyläthylamin. Dabei ist aber weniger das Verhalten der Aminogruppen verfolgt

¹⁾ Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **33**, 198, 1894. — His, ibid. **22**, 253, 1887.

worden; im Vordergrund des Interesses stand die Entgiftung dieser pharmakodynamisch aktiven Substanzen selbst. Vom gleichen Gesichtspunkt aus haben Guggenheim und ich¹⁾, das Phenyläthylamin untersucht und seinen Abbau zu Phenyl-essigsäure festgestellt. Benzylamin, das der synthetischen Phenylaminoessigsäure entspricht, ist bis jetzt noch nicht an der überlebenden Leber untersucht worden. Von Schmiedeberg ist dieses Amin, wie die einfachen Amine, im Hinblick auf seine Theorie der Harnstoffbildung an Hunde verfüttert worden; im Urin konnte nach Eingabe der Base kein Benzylharnstoff nachgewiesen werden, was der Schmiedebergschen Theorie entspricht.

Durchströmung unter Zusatz von Benzylamin.

Versuch 25.

Hund 10 kg, hat 4 Tage gehungert. Leber 230 g. Durchströmung mit 1000 ccm Ringerlösung + 500 ccm Blut. Entnahme der Kontrolle 15 Min. nach Beginn des Versuches (100 ccm). Im Verlauf von 2 Std. allmählicher Zusatz einer Lösung enthaltend 3 g Benzylamin in 150 ccm Flüssigkeit, das Amin war durch Einleitung von Kohlendioxyd in Carbonat umgewandelt worden. Abstrom 300 ccm in der Minute. Dauer 3 Stunden.

	Harnstoff
In 100 ccm Kontrollblut	7,2 mg
„ 100 „ Schlußvolumen	15,6 „
„ der Flüssigkeit nach Entnahme der Kontrollen (1400 ccm)	101,0 „
„ „ Schlußflüssigkeit (1560 ccm)	<u>243,0 „</u>
Harnstoffzunahme in 3 Stunden	142,0 mg

1200 ccm des Schlußvolumens wurden mit Schwefelsäure auf dem Wasserbad enteweißt. Die vereinigten, bei sodaalkalischer Reaktion eingengten Filtrate wurden nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Äther extrahiert. Nach dem Verdunsten des Äthers verbleiben 0,5 g leicht graugelb gefärbte Krystalle. Sie sublimierten zw. 150 bis 170° als lange farblose Tafeln vom Schmp. 113° (Schmp. der Benzoesäure 121°); auf die Gesamtmenge der Flüssigkeit berechnet ergaben sich 0,65 g Benzoesäure.

Eine Vermehrung des Ammoniakgehaltes der Perfusionsflüssigkeit am Schluß des Versuches gegenüber der Kontrollflüssigkeit war nicht

¹⁾ Guggenheim u. Löffler, diese Zeitschr. 72, 333, 1916.

nachweisbar. Die Harnstoffneubildung und das Auftreten von Benzoesäure einerseits, das Fehlen einer Ammoniakvermehrung andererseits, lassen keine Zweifel darüber, daß der aus Benzylamin abgespaltene Ammoniak sofort in Harnstoff umgewandelt worden ist.

Sehr übersichtlich gestalten sich die Verhältnisse für p-Oxyphenyläthylamin, da hier mittels der biologischen Methode neben den neugebildeten Produkten die Abnahme des Amingehaltes der Durchströmungsflüssigkeit nachgewiesen werden kann.

Durchströmung mit p-Oxyphenyläthylamin.

Versuch 26.

Hund 7250 g, hat 4 Tage vor dem Versuch gehungert, Leber 180 g. Durchströmung mit 900 ccm Ringerlösung + 400 ccm Blut, Zusatz von 0,3 g Harnstoff. Die Leber scheint nicht ganz gleichmäßig durchströmt, zeigt fleckige Zeichnung, schwillt jedoch bei Verschuß der Vena hepatica gleichmäßig an. Ziemlich starke Stauung; Abstrom 400 ccm in der Minute. Starke venöse Färbung des abströmenden Blutes. Arterialisierung sehr gut. Nachdem die Durchströmung eine Stunde im Gang ist, Zusatz von 1,56 g p-Oxyphenyläthylaminchlorhydrat in 100 ccm Wasser gelöst. Durch die äquivalente Menge Natriumcarbonat war die Base in Freiheit gesetzt worden. Im Verlauf des Versuches werden 0,8 g Natriumbicarbonat allmählich zugesetzt zur Neutralisation der entstehenden Säure.

Pe-riode	Probe	Zeit		Harnstoff	Ammoniak
I	1	9 Uhr 45 Min.	100 ccm; in 100 ccm Durchströmungsfl. sind	enthalten.	45,0 mg 1,19 mg
	2	10 " 15 "	100 " " 100 " " " "	" " "	46,4 " 1,45 "
II	3	10 " 45 "	100 " " 100 " " " "	" " "	48,0 " 1,70 "
		10 " 47 "	Zusatz d. p-Oxyphenyläthylaminlösung 100 ccm enthält. 1,56 g		
III	4	10 " 50 "	60 ccm; in 100 ccm Durchströmungsfl. sind	enthalten.	45,2 mg 1,61 mg
	5	11 " 50 "	70 " " 100 " " " "	" " "	58,2 " 1,70 "
IV	6	12 " 50 "	70 " " 100 " " " "	" " "	66,0 " 1,78 "
	V	7 1 " 10 "	(Schluß) " 100 " " " "	" " "	69,3 " 1,87 "

Harnstoffzunahme	in 100 ccm	total
Periode I	1,4 mg	16,8 mg (1200 ccm)
" II	1,6 "	17,6 " (1100 ")
" III	13,0 "	135,2 " (1040 ")
" IV	7,8 mg	75,7 " (970 ")
" V (20 Min.)	3,3 "	29,3 " (900 ")
Harnstoffzunahme total (III, IV, V)		<u>240,2 mg</u>

Aus den zur Umwandlung in Harnstoff disponiblen 1,48 g p-Oxyphenyläthylamin können sich 233 mg Harnstoff und 1,18 g Paraoxyphenylessigsäure bilden.

Eine erhebliche Anreicherung der Flüssigkeit an Ammoniak hat nicht stattgefunden. Das Ammoniak ist also im Maß seiner Abspaltung in Harnstoff umgewandelt worden. 750 ccm der Flüssigkeit wurden mit verdünnter Essigsäure in der Hitze enteweißt, die vereinigten Filtrate und Washwasser eingedampft, mit Schwefelsäure kongosauer gemacht und ausgeäthert, solange der Ätherextrakt noch Millonsche Reaktion zeigte. Der getrocknete Äther hinterließ beim Verdunsten p-Oxyphenylessigsäure, die in Vakuum getrocknet 0,800 g wog; auf 1000 ccm bezogen 1,0 g. Nach dem Umkrystallisieren zeigten die Krystalle den Schmp. 145°. (Schmp. der p-Oxyphenylessigsäure 148°.)

Proben von Kontrolle IV und der Schlußflüssigkeit wurden am überlebenden Darm auf ihre Wirksamkeit geprüft¹⁾. K. IV erwies sich bei Ermittlung der minimal wirksamen Dose als etwa 10 mal so aktiv, wie die Schlußflüssigkeit, d. h. entsprechend der Bildung der p-Oxyphenylessigsäure, war der größte Teil des Amins aus der Durchströmungsflüssigkeit verschwunden.

Die Abnahme des Amingehaltes zeigt sich auch deutlich in folgenden Kurven.

In Fig. 2 wurde die Wirkung von 2 ccm der Schlußflüssigkeit durch 2 ccm der Probe IV deutlich superponiert; in Fig. 3 wurden die Proben in umgekehrter Reihenfolge zugegeben. Während 2 ccm der Probe IV eine deutliche Wirkung erzielten, ist diejenige der nachher zugesetzten 2 ccm der Schlußflüssigkeit nur noch angedeutet.

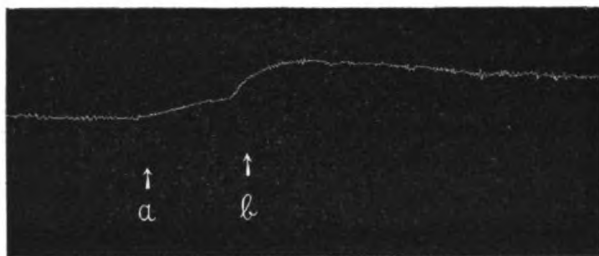


Fig. 2.

- a) Wirkung von 2 ccm Schlußflüssigkeit.
 b) " " 2 " der Probe IV auf den in 100 ccm Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm.

¹⁾ Guggenheim und Löffler, diese Zeitschr. 72, 303, 325.

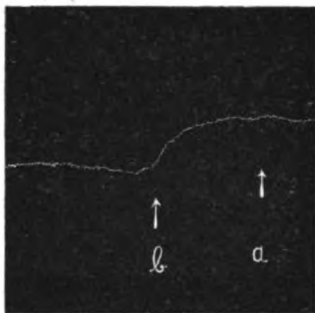


Fig. 3.

b) Wirkung von 2 cem der Probe IV.

a) " " 2 " " Schlußflüssigkeit auf den in 100 cem Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Da die Harnstoffbildung aus p-Oxyphenyläthylamin sehr übersichtliche Verhältnisse bietet, wurde noch ein Versuch an der Kaninchenleber ausgeführt.

Durchströmung mit p-Oxyphenyläthylamin am Kaninchen.

Versuch 27.

Kaninchen 1800 g, Leber 60 g. Durchströmung mit 1100 cem Ringerlösung, enthaltend 1,7 g p-Oxyphenyläthylaminchlorhydrat in 10 cem Wasser. Zusatz von 30 cem Blut des gleichen Tieres. Entnahme von je 60 cem Proben in Abständen von je 1 Stunde. Jede $\frac{1}{2}$ Stunde Zusatz von 5 cem 2%iger NaHCO_3 -Lösung. Die Flüssigkeit bleibt während des Versuches gegen Lackmus neutral.

Schlußvolumen 900 cem (Proben 180 cem).

Probe	Zeit	Harnstoffbildung in 100 cem	NH_3 mg in 100 cem	Gesamt-Harnstoff mg	Gesamt-Ammoniak mg	Harnstoffbildung	Ammoniakabspaltung
I	0	3,6	2,0	39,6 in 1100 cem	22,4	—	—
II	1 Std.	3,0	11,6	—	—	—	—
III	2 "	3,0	18,5	—	—	—	—
IV	3 "	3,3	15,3	29,7 in 900 cem	117,7	—	113,3 mg
NH_3 in Probe II 7,0;			in Probe III 11,0 . .		18,0		
					135,7		

700 cem der Durchströmungsflüssigkeit wurden mit $\frac{1}{100}$ -Essigsäure enteweißt, filtriert, im Vakuum konzentriert und bei kongosaurer Re-

aktion mit Äther ausgeschüttelt. Es bleiben nach dem Verdunsten des über Natriumsulfat getrockneten Äthers 0,75 g gelblichbraun gefärbte p-Oxyphenylelessigsäure. Schmp. nach dem Umkrystallisieren 146°.

Trotzdem in diesem Versuch die Desaminierung nach der reichlich isolierten p-Oxyphenylelessigsäure ausgiebig erfolgt ist, hat keine Harnstoffneubildung stattgefunden. Das abgespaltene Ammoniak findet sich als solches in der Durchströmungsflüssigkeit. Das Ausbleiben der Harnstoffbildung ist wohl auf den geringen Blutgehalt der Durchströmungsflüssigkeit zurückzuführen und nicht auf eine prinzipielle Verschiedenheit des Verhaltens der Pflanzenfresser dem Fleischfresser gegenüber.

Während die Desaminierung der Amine in der Leber auch ohne Zusatz von Blut zur Durchströmungsflüssigkeit rasch und ausgiebig erfolgt, stellt die Harnstoffsynthese aus dem abgespaltenen Ammoniak offenbar an das Oxydationsvermögen des Organs bedeutend höhere Anforderungen. Diese beiden Prozesse verlangen nach den bisherigen Untersuchungen die Mitwirkung intakter Organe. Auch die Oxydation der desaminierten Reste über die Alkohole zur entsprechenden Carbonsäure scheint an die Intaktheit des Organismus gebunden zu sein, während die Oxydation von Aldehyden, wie z. B. das Salicylsäurealdehyd nach Jaquet¹⁾, auch durch schwer geschädigte und durch abgetötete Organe, sowie durch Organextrakte bewerkstelligt werden kann.

Durchströmung unter Zusatz von Phenyläthylaminchlorhydrat.

Versuch 28.

Mittelgroßer Hund, hat 3 mal 24 Stunden gehungert. Durchströmung 2790 ccm Ringerlösung und 410 ccm Blut. Durchströmung sehr gut. Im Verlauf der Durchströmung allmählicher Zusatz von 4 g Phenyläthylaminchlorhydrat. Die Reaktion der Durchströmungsflüssigkeit wurde durch Zusatz von Natriumbicarbonatlösung (total 2 g NaHCO₃) neutral erhalten. Dauer 3¹/₂ Stunden.

	Harnstoff	Ammoniak
In 100 ccm Kontrollflüssigkeit	10,8 mg	1,53 mg
„ 100 „ Schlußflüssigkeit	24,6 „	3,1 „

¹⁾ Jaquet, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 29, 386.

	Harnstoff	Ammoniak
In der Durchströmungsflüssigkeit total zu Beginn		
(1100 ccm)	118,8 mg	16,8 mg
„ der Schlußflüssigkeit (1390 ccm inkl. Spülwasser)	<u>341,9 „</u>	<u>43,1 „</u>
Harnstoffneubildung in $3\frac{1}{2}$ Stunden	223,1 mg	
Ammoniakvermehrung		26,3 mg

1000 ccm der Schlußflüssigkeit wurden auf dem Wasserbad unter Zusatz von Essigsäure enteweißt, die vereinigten Filtrate und Waschwasser wurden auf ein kleines Volumen eingengt, mit Schwefelsäure kongosauer gemacht und mit Äther ausgeschüttelt, der über Natriumsulfat getrocknete Äther hinterließ 0,14 g blättrige Krystalle, die aus heißem Wasser umkrystallisiert den Schmp. 75° zeigten (Schmp. der Phenylelessigsäure $76,5^{\circ}$).

In diesen Versuchen hat neben der Harnstoffneubildung, in sehr geringem Maße allerdings, eine Anreicherung der Flüssigkeit an Ammoniak stattgefunden. Der größte Teil des abgespaltenen Ammoniaks ist aber auch hier sofort in Harnstoff umgewandelt worden.

Während alle hier untersuchten primären Amine in der überlebenden Leber desaminiert worden sind, bilden einzelne Vertreter dieser Gruppen eine Ausnahme. In den gemeinsamen Versuchen mit Guggenheim¹⁾ konnte gezeigt werden, daß Imidazolyläthylaminchlorhydrat in der überlebenden Leber nur in geringem Maße verändert wird; es konnte nach der Perfusion ein Teil der zugesetzten Base als Pikrat wieder isoliert werden. Mit Hilfe der biologischen Methode gelang es aber, eine deutliche Abnahme des Amingehaltes der Durchströmungsflüssigkeit festzustellen. Für Substanzen, die nur in so geringem Maße in der Leber verändert werden, kann die Harnstoffbildung in der Durchströmungsflüssigkeit keinen Anhaltspunkt mehr für etwaige Veränderungen der zugesetzten Verbindungen bieten. Das Beispiel des Imidazolyläthylamins bestätigt die alte Erfahrung, daß allgemeine Schlüsse über Harnstoffbildung in der Leber aus der Konstitution einer Verbindung nicht ohne weiteres gezogen werden dürfen, indem andere, dem Imidazolyläthylamin völlig analog gebaute Amine in der überlebenden Leber leicht desaminiert werden.

Wenn wir aus den bei den Aminen gemachten Beobachtungen Rückschlüsse auf das Verhalten der Aminosäuren ziehen,

¹⁾ l. c.

so darf dies natürlich nur mit einigem Vorbehalt geschehen. Diese Analogie wäre erst erwiesen, wenn es gelänge, auch für die Aminosäuren die eingangs erwähnten Lücken in der Methodik auszufüllen, d. h. die stickstofffreien Reste, die beim Abbau der Aminosäuren entstehen bzw. die nicht umgewandelten Aminosäuren zu bestimmen. Dies ist bis jetzt nur für die eine von Fischer und Neubauer untersuchte Substanz, Phenylaminoessigsäure, gelungen. Das von ihnen erhaltene Resultat entspricht allerdings den hier gemachten Voraussetzungen; eine Übertragung der für andere Amine erhaltenen Resultate auf Aminosäuren ist aber trotzdem nicht ohne weiteres zulässig.

Zusammenfassung der Resultate.

Die an der überlebenden Leber mit Hilfe der Urease-methode bei der Leerdurchströmung und bei der Durchströmung mit Ammoniumsalzen und Aminen in bezug auf Harnstoffbildung erhaltenen Resultate lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Durchströmung einer Hungerleber ohne Zusatz einer stickstoffhaltigen Substanz kann zu erheblicher Harnstoffanreicherung der Durchströmungsflüssigkeit führen. Die Menge des so gebildeten Harnstoffs kann bis 280 mg betragen.

Neubildung von Harnstoff allein erlaubt daher keine Schlüsse auf den Charakter einer der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzten Substanz als Harnstoffquelle. Der Beweis dafür, daß eine gegebene Substanz in Harnstoff übergeht, ist erst darin zu sehen, daß entweder eine der Harnstoffbildung entsprechende Abnahme dieser Substanz, oder stickstofffreier Umwandlungsprodukte derselben sich nachweisen lassen, ohne daß gleichzeitig eine erhebliche Anreicherung der Flüssigkeit an Ammoniak stattfindet.

2. Die überlebende Leber vermag nicht nur Ammoniumcarbonat oder Ammonsalze organischer Säuren, sondern auch die Ammoniumsalze von Mineralsäuren und unverbrennlichen organischen Säuren in Harnstoff zu verwandeln. Die dabei entstehenden Säuren verhindern die Harnstoffbildung nicht.

Es findet aus den zugesetzten Ammonsalzen auch Harnstoffbildung statt, wenn die Perfusionsflüssigkeit von vornherein

angesäuert wird; die Säurereaktion hemmt die Harnstoffbildung, verhindert sie aber nicht.

Die Harnstoffbildung bei saurer Reaktion schließt das Auftreten von carbaminsaurem Ammonium als Zwischenprodukte aus.

Die Aminogruppe primärer Amine wird in der Leber abgespalten und in Harnstoff umgewandelt. Die entamidierten Reste scheinen bei den kohlenstoffärmeren Aminen vollständig verbrannt zu werden (Methyl, Äthylamin), die den kohlenstoffreicheren Aminen (Amyl-, Benzyl-, p-Oxyphenyl-, Phenyläthylamin) entsprechenden Carbonsäuren werden jedoch in der überlebenden Leber nur zum Teil oder gar nicht oxydiert.

Die Bildung substituierter Harnstoffe bzw. asymmetrische Harnstoffbildung konnte nicht beobachtet werden.

Trimethylamin wird in der Leber bis zu Ammoniak entmethyliert und dieses in Harnstoff umgewandelt.

Über die Natur der Giftwirkung des Suprarenins.

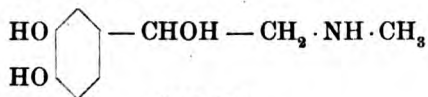
Von

Oscar Loew.

(Eingegangen am 21. September 1917.)

Das Suprarenin hat durch seine starke Giftwirkung sowohl als auch durch seine intensive und spezifische Reizwirkung auf Nerven — besonders auf das sympathische Nervensystem — ein ganz besonderes Interesse in physiologischer und therapeutischer Beziehung erweckt. Schon $\frac{1}{10}$ eines Milligramms genügt, ein Kaninchen von 1 kg Gewicht zu töten. In einer Verdünnung von 1 Teil auf 1 bis 2 Milliarden Teile Blut kann es noch Gefäßverengung herbeiführen (Trendelenburg).

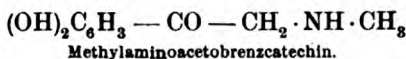
Aber auch in rein chemischer Hinsicht verdient es eine ganz besondere Beachtung, denn von einem Stoff mit so intensiver Wirkung muß auch eine hohe kinetische Labilität¹⁾ vorausgesetzt werden, vermöge deren er leicht Eingriffe in das lebende Protoplasma ausüben kann. Die chemische Struktur, die durch die Synthese von Stolz bestätigt wurde, ergibt sich aus folgendem Formelbild:



Suprarenin.

¹⁾ Ich habe mehrfach darauf hingewiesen, daß man unterscheiden muß zwischen potentieller und kinetischer Labilität und daß die letztere Art befähigt ist, thermische Energie von niederer Temperatur in chemische Energie umzuwandeln. Die Labilität im Nitroglycerin, in organischen Peroxyden, in Diazoverbindungen ist eine potentielle, die Labilität in Aldehyd-, Keton-, Cyan-Gruppen eine kinetische. Weiteres hierüber in meiner Schrift: Die chemische Energie der lebenden Zellen, Kap. 9.

Die Muttersubstanz des Suprarenins ist das Methylaminoacetobrenzcatechin, die ich im folgenden nur kurz als „das Keton“ schlechtweg bezeichnen will.



Die chemisch-pharmakologischen Beobachtungen von Loewi und Meyer (1905), Schubenko (1903), Dakin (1905), Barger und Dale (1910), Harold, Nierenstein und Roaf (1910) haben im wesentlichen folgendes ergeben:

1. Das dem Suprarenin entsprechende Keton wirkt dem Suprarenin ähnlich, aber schwächer.

2. Werden in der Aminogruppe zwei Wasserstoffatome statt eines durch Methylgruppen ersetzt, so nimmt das Suprarenin nicht wesentlich an Wirkung ab, aber das Keton wird dadurch unwirksam, ein Beweis, daß nicht nur den Aminowasserstoffatomen, sondern auch den beiden Wasserstoffatomen der Oxymethylengruppe CH OH eine physiologische Bedeutung zukommt.

3. Wird in dem Keton statt der Methylgruppe eine Phenylgruppe eingeführt, so ist das Produkt ohne Wirkung auf Blutdruck, Puls und Atmung. Somit schwächt der negative Charakter der Phenylgruppe die Energie des ganzen Ketonkomplexes ab.

4. Werden die zwei Hydroxylgruppen der Brenzcatechingruppe alkyliert, so verliert das Suprarenin seine Wirkung, ein Beweis, daß auch die Wasserstoffatome der Phenylhydroxyle sich bei der Wirkung beteiligen.

5. Der Ersatz von Brenzcatechin durch Pyrogallol im Suprarenin bedingt keine Erhöhung der Wirkung.

In rein chemischer Hinsicht ist zunächst die außerordentliche Schwerlöslichkeit des Suprarenins und seines Ketons in Wasser sehr auffallend. Man möchte deshalb wohl auf eine Art von Polymerie schließen, aber es liegen hierfür noch keine stichhaltigen Beobachtungen vor. Nach gütiger Privatmitteilung aus der wissenschaftlichen Abteilung der Höchster Farbwerke „lösen 1000 cem neutrales, luftfreies, destilliertes Wasser bei Zimmertemperatur von 20 bis 25° und einstündiger Einwirkung bei Lichtabschluß 0,095 g der reinen, mehrmals über das weinsaure Salz umkristallisierten Suprareninbase“. Also ein Teil löslich in 10526 Teilen Wasser!

Das Suprarenin bekundet eine außerordentliche Empfindlichkeit gegen alkalisch reagierende Substanzen. Hierüber bemerkt der Prospekt der Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning, Höchst a. M.: „Sämtliche Nebennierenpräparate zeigen ebenso wie eine ganze Reihe von pflanzlichen Alkaloiden eine große Empfindlichkeit gegen die geringsten Spuren von freiem Alkali. Ihre Lösungen werden selbst durch den Kontakt mit den Glaswandungen der Vorratfläschchen in ihrer Haltbarkeit beeinflußt, zum Teil sogar zersetzt. Die gewöhnlichen Glasgefäße

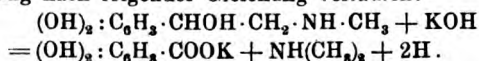
des Handels geben an neutrale Flüssigkeiten stets Alkali ab, wemgleich dies nur äußerst geringe Mengen sind. Eine Ausnahme davon machen nur die extra harten Jenenser Geräteglassorten.“ — Weiter teilte jene wissenschaftliche Abteilung gütigst mit: „Läßt man auf Suprarenin verdünnte Alkalilösung einwirken bei Gegenwart von Luft, so tritt durch Aufnahme des Luftsauerstoffs in die alkalische Flüssigkeit eine Oxydation des Suprarenins ein. Stark konzentrierte Alkalilösungen spalten beim Kochen aus dem Suprarenin Methylamin und Protokatechusäure ab“¹⁾.

Zu meinen Versuchen hat mir die Firma Meister Lucius & Brüning, Höchst, gütigst Suprareninpräparate und das Keton des Suprarenins zur Verfügung gestellt, wofür ich auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank aussprechen möchte.

Meine chemischen Beobachtungen in bezug auf die Veränderungen, die das Suprarenin in Berührung mit Luft und Alkali erleidet, sind kurz folgende:

Wenn man 10 ccm einer 0,4⁰/₁₀₀-Lösung von Suprarenin (als Bitartrat gelöst) mit 2 ccm ⁿ/₁₀-Kaliumhydroxydlösung mischt, so tritt in 2 bis 3 Sekunden eine rote Färbung auf, die in ein paar Sekunden wieder verschwindet. Gießt man nun die Lösung aus der Probierröhre in ein Kölbchen und schüttelt heftig mit Luft, so wird sie wieder rot. Gießt man sie zurück in die Proberöhre, so wird sie bei dem geringeren Luftzutritt sofort wieder entfärbt. Dieses kann man 3- bis 4 mal mit demselben Effekt wiederholen, aber dann tritt die Rotfärbung durch Schütteln mit Luft nicht mehr ein. Die Lösung ist nun schwach gelblich. Bleibt nun diese Flüssigkeit 24 Stunden an der Luft stehen, so ist sie tiefbraun geworden. Es kann hieraus wohl geschlossen werden, daß sowohl jene rote als auch diese braune Verbindung Oxydationsprodukte sind. — Jene rote Farbe tritt nicht auf, wenn etwas Hydroxylamin zur Lösung gesetzt wird. Es weist dies darauf hin, daß das primäre Oxydationsprodukt momentan weiter in das Keton resp. Ketoxim verwandelt wird, wenn Hydroxylamin anwesend ist. Ferner ist von Interesse, daß auf Zusatz von einigen Tropfen konzentrierter Kalilauge zur hochverdünnten Suprareninlösung anstatt jener hochverdünnten Kalilösung kein roter Körper, sondern sofort eine gelbe Substanz mit grüner Fluorescenz entsteht. —

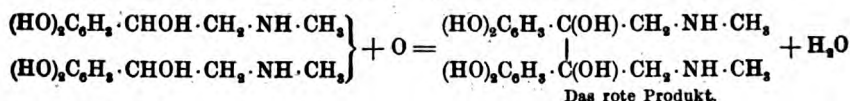
¹⁾ Falls sekundäre Prozesse den Verlauf nicht stören würden, müßte die Zersetzung nach folgender Gleichung verlaufen:



Wird zu jener oben erwähnten, an der Luft tiefbraun gewordenen Lösung etwas starke Kalilauge gesetzt, so wird das tiefe Braun in Hellgelb verwandelt, aber ohne Spur jener grünen Fluorescenz.

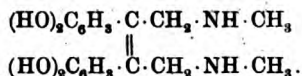
Alle diese Erscheinungen liefert das entsprechende Keton nicht, es liefert mit verdünntem oder konzentriertem Kali lediglich eine gelbe Färbung ohne grüne Fluorescenz. — Jener rote Körper ist offenbar ein äußerst labiles Oxydationsprodukt.

Wenn wir uns nach berechtigten Analogieschlüssen ein Bild machen wollen von den eben erwähnten Veränderungen des Suprarenins, so würden sich folgende Formelbilder ergeben:



Das rote Produkt geht offenbar durch weitere Oxydation in das Keton des Suprarenins über.

Der gelbe Körper mit grüner Fluorescenz, der in der sehr verdünnten Lösung des Suprarenins durch starke Kalilösung erzeugt wird, ist offenbar kein Oxydations-, sondern ein Kondensationsprodukt und dürfte vielleicht der folgenden Struktur entsprechen:



Da nun die Oxydation in alkalischer Lösung so außerordentlich gefördert wird, ist es klar, daß Wasserstoffatome in dem Molekül des Suprarenins eine große Labilität in Berührung mit Alkali erlangen. Besonders kommen aber hier die zwei Wasserstoffatome der Oxymethylengruppe in Betracht. Verschiedene Beispiele könnten hier angeführt werden, daß dieses sehr häufig auch in anderen Fällen zutrifft. So wird Glucose in Gegenwart von Ätzkali zu einem starken Reduktionsmittel; Oxanthranol geht in Berührung mit Alkali und Luft in Anthrachinon und Wasserstoffsperoxyd über (Manhot). Es ließ sich daher auch vermuten, daß das Suprarenin bei Gegenwart von Alkali eine stark reduzierende Wirkung ausüben könnte, und in der Tat werden Methylenblau und Indigolösung in Berührung mit alkalischer Suprareninlösung leicht entfärbt. Der labile Wasserstoff tritt hier direkt an

die Farbstoffe und liefert die Leukoverbindungen, und diese Wirkung zeigt sich noch bei sehr hoher Verdünnung.

Es wurden 5 ccm einer 0,2⁰/₁₀₀-Lösung von Suprarenin (als Bitartrat) mit 5 ccm einer hochverdünnten Methylenblaulösung gemischt, wobei selbst nach einiger Zeit keine Veränderung in der Nuance der Blaufärbung sichtbar wurde. Sie blieb ebenso blau wie die Kontrollösung. Nun wurde 1 ccm einer ⁿ/₁₀-KOH-Lösung zugefügt und ebenso zur Kontrollösung. Es ergab sich nach 10 Min. Stehen dort Entfärbung, hier aber keine Spur Veränderung. — Mit indigosulfonsaurem Natrium gelingt der Versuch in derselben Weise, nur muß man hier die Mischung kurze Zeit schwach erwärmen. Es bleibt lediglich ein ganz schwaches Gelb übrig.

Die Reduktion dieser Farbstoffe wird zwar auch durch das Keton des Suprarenins herbeigeführt, jedoch nicht mit derselben Leichtigkeit, man muß hier mehr Wärmeenergie zuführen. Es wurde eine schwach blaue Methylenblaulösung zu 20 ccm der 1⁰/₁₀₀-Lösung der essigsäuren Ketonbase gesetzt, hierauf 1 ccm ⁿ/₁₀-Kaliumhydroxydlösung, dann erwärmt. Nach 15 Minuten Stehen war dann die Lösung entfärbt, während bei der ebenso behandelten Kontrollösung ohne Keton der Farbton gar nicht verändert war. Bei dem analogen Versuch mit indigosulfonsaurem Natron muß fast bis zum Sieden erhitzt werden, um die Entfärbung herbeizuführen. Auch hier war nur eine schwach gelbe Färbung übrig geblieben. Die Ketonbase reduziert Silbernitrat bei gewöhnlicher Temperatur, sie gibt ferner mit Eisenchlorid eine blaue Färbung, die beim Erhitzen unter Bildung von Ferroverbindung verschwindet.

Auch andere Aminoketone zeigen ja bekanntermaßen Reduktionsfähigkeit¹⁾ und außerdem eine Neigung zur Umlagerung unter Ringbildung. Das Diaminoaceton wird rasch in eine amorphe Substanz verwandelt, wenn es aus dem salzsauren Salze in Freiheit gesetzt wird (Rügheimer und Mieschel). Das Escaminoacetophenon geht bald nach seiner Abscheidung aus

¹⁾ Aber auch unter ganz anderen Umständen werden manchmal Wasserstoffatome bedeutend labilisiert, wie z. B. daraus hervorgeht, daß das Tetrahydrochinolin, mit salpetersaurem Silber in einer Schale verrieben, in Flammen ausbricht (Tafel).

seinen Verbindungen unter Verlust seiner basischen Eigenschaften, Verdoppelung seines Moleküls und Ringbildung in einen orangefarbenen Körper über (Victor Meyer). Ebenso unbeständig ist das Aminodimethylaceton, das stark reduzierende Eigenschaften besitzt (Conrad und Hock). — Beim Keton des Suprarenins wird offenbar durch den Eintritt einer Methylgruppe in die Aminogruppe die Ringbildung erschwert.

Zur Labilisierung der Wasserstoffatome im Molekül des Suprarenins tragen aber auch die Hydroxylgruppen der Brenzcatechingruppe bei. Wenn immer an doppelt gebundenen Kohlenstoffatomen ein Hydroxyl zu einem Wasserstoffatom benachbart ist, wird ein labiler Zustand geschaffen, da die Gruppe $C(OH)=CH$ eine Tendenz hat, in die Gruppe $CO-CH_2$ überzugehen. Solche Umlagerung der Enolgruppe in die Ketongruppe ist ja schon häufig beobachtet. Und beim Benzolring tritt dieses ja besonders deutlich im Phloroglucin hervor, das ja auch in der Ketonform reagieren kann¹⁾.

Die Labilisierung der Wasserstoffatome im Pyrogallol wird durch die Gegenwart von Alkali intensiv entwickelt, was aus der bekannten raschen Autoxydation der alkalischen Pyrogallol-lösung an der Luft hervorgeht. — Das Brenzcatechin verhält sich zwar ähnlich wie das Pyrogallol, aber die Sauerstoffaufnahme der alkalischen Brenzcatechinelösung verläuft langsamer als dort. Beide Stoffe entfärben in mäßig konzentrierter Lösung Methylenblau und indigosulfonsaures Natron, sobald Alkali zugesetzt wird. Aber in sehr verdünnter Lösung und in Gegenwart von nur wenig Alkali ist diese Entfärbungskraft weit schwächer als bei Suprarenin und seinem Keton. — Als 20 ccm einer 1⁰/₁₀₀-Lösung von Brenzcatechin mit etwas Methylenblau schwach gefärbt wurde, erfolgte auf Zusatz von 2 ccm ⁿ/₁₀-KOH-Lösung und kurzem Erwärmen auf 60° keine Entfärbung, auch nicht nach einstündigem Stehen, sondern erst bei 88 bis 90°.

Es war noch von Interesse, die reduzierende Kraft einer alkalischen Glucoselösung mit derjenigen von Brenzcatechin und von Suprarenin-Keton zu vergleichen. Vergleicht man Lösungen

¹⁾ Wenn man eine 1⁰/₁₀ige Lösung von Brenzcatechin mit etwas Kalilauge versetzt, so entsteht im ersten Moment (wie durch $FeCl_3$) eine grüne, beim Pyrogallol eine violette Färbung, welche Färbungen aber durch die bald eintretende Bräunung rasch zerstört werden.

von 1% Glucose und 1% Brenzcatechin auf die reduzierende Kraft bei Gegenwart von Alkali, so ergibt sich eine stärkere Wirkung der Glucose. Es wurden je 10 ccm dieser Lösungen mit 10 ccm einer verdünnten Methylenblaulösung (von der Farbintensität der Kupfersulfatlösung, wie sie zur Herstellung von Fehlings Lösung dient) und 1 ccm $\frac{n}{10}$ -KOH versetzt, so findet innerhalb 10 Minuten bei Zimmertemperatur keine Veränderung statt. Erhitzt man aber einen Moment auf 80° und läßt dann stehen, so ist die blaue Glucoselösung innerhalb 5 Minuten völlig entfärbt, aber nicht die Brenzcatechinelösung. Wird zu letzterer noch 1 ccm $\frac{n}{10}$ -KOH gesetzt und auf 80° erhitzt, so ist zwar eine Verblässung des Blauen, aber keine vollständige Entfärbung innerhalb 30 Minuten eingetreten.

Wird eine Glucoselösung von 1%₀₀ angewandt und 5 ccm jener Methylenblaulösung, sowie 1 ccm $\frac{n}{10}$ -KOH zugesetzt und einen Moment auf 80° erhitzt, so ergibt sich zwar noch eine beträchtliche Abnahme des Farbentons, aber innerhalb 15 Min. noch nicht eine vollständige Entfärbung. — Vergleicht man die reduzierende Wirkung einer alkalischen 1%igen Glucoselösung (10 Mol.) bei gewöhnlicher Temperatur mit einer 0,1%igen alkalischen Lösung des Suprareninketons (1 Mol.), so ergibt sich eine bedeutende Überlegenheit dieses Ketons trotz seiner 10 mal größeren Verdünnung. Es wurden je 10 ccm einer 1% Glucoselösung und 10 ccm einer 0,1%-Ketonlösung (als Acetat gelöst) mit je 10 ccm obiger Methylenblaulösung und je 1 ccm $\frac{n}{10}$ -KOH-Lösung gemischt und bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Nach 25 Minuten bei 20° war die Ketonlösung entfärbt, die Glucoselösung aber noch ganz unverändert¹⁾. Die Labilisierung der Wasserstoffatome in der alkalischen Lösung jenes Ketons muß also im Verhältnis zur alkalischen Glucoselösung als sehr bedeutend bezeichnet werden; daß aber das Suprarenin selbst noch weit stärker reduzierend wirkt als sein Keton, daß also die Labilisierung der Wasserstoffatome noch wesentlich bedeutender ist als in seinem Keton, wurde bereits oben er-

Im freien Suprarenin bewirkt bei Abwesenheit von freiem wäht.

¹⁾ Ebensowenig äußern Saccharose, Glycerin und Tartrate entfärbende Wirkung.

Alkali natürlich auch die alkalische Seitenkette desselben eine Steigerung des Labilitätsgrades der Phenolwasserstoffatome, wenn auch schwächer, als es verdünntes Kali tut. Zudem sind die beiden Wasserstoffatome der Oxymethylengruppe ebenfalls stark labilisiert, wie daraus hervorgeht, daß das Suprarenin noch weit leichter Methylenblau und Indigo entfärbt als sein zugehöriges Keton. Daß die stärker toxische Wirkung des Suprarenins gegenüber seinem Keton auf der verstärkten Reduktionswirkung beruht, ergibt sich daraus von selbst.

Zur Untersuchung der Frage, ob das Suprarenin unter dem Einfluß von Alkali erst einen Giftcharakter annimmt, oder der Giftcharakter verstärkt wird, eignen sich am besten niedere Organismen. Eines der geeignetsten subtilsten Objekte ist nach meinen Erfahrungen der Zellkern von *Spirogyra majuscula*¹⁾. Viele Substanzen dringen sehr leicht in diese Zellen ein und rasch bis zum Zellkern vor, dessen linsenförmige Gestalt in der Mitte jeder Zelle durch Stränge von lebendem Protoplasma aufgehängt am Cytoplasma und sehr gut sichtbar ist. Auch die kleinste Veränderung in seiner Lage und Form kann bei 6- bis 900facher Vergrößerung sehr leicht beobachtet werden.

Versuch 1. Eine 1⁰/₁₀₀-Lösung von Suprarenin, als Bitartrat gelöst, wurde einerseits mit Fäden von *Spirogyra majuscula*, andererseits mit etwas Schlamm, der reich an verschiedenen Organismen war, versetzt. Nach zwei Stunden war nirgends Giftwirkung zu erkennen. Jedoch als eine ebensolche Lösung, der noch 1⁰/₁₀₀ Kaliumcarbonat zugesetzt war, auf diese Organismen wirkte, trat die Giftwirkung bald hervor. Die Zellkerne bei *Spirogyra* waren schon nach 20 Minuten contrahiert, meist in der Richtung der kleinen Achse des linsenförmigen Kernes²⁾, während das Cytoplasma und der Chlorophyllkörper noch nicht

¹⁾ Siehe hierüber auch meine Mitteilung in dieser Zeitschr. 74, 376. Lange bevor andere Giftwirkungen an Zellen wahrgenommen werden können, zeigt sich die Schädigung am Zellkern, der sich z. B. durch Brilliantgrün (bei 0,01⁰/₁₀₀ Konzentration) schon in 3 Minuten kugelig zusammenzieht.

²⁾ Die Contraction der Kernlinse zu einer Scheibe statt zu einer Kugel findet meist dann statt, wenn bei dem schädlichen Einfluß die Plasmastränge erstarren ohne abzureißen. Die Contraction des Kernes kann dann nur in der Richtung der kleinen Achse erfolgen.

merklich angegriffen waren. Im Kontrollversuch mit 1⁰/₁₀₀ Kaliumcarbonat allein ergab sich nicht die geringste Wirkung in dieser Zeit. Auf Infusorien, Flagellaten und Diatomeen wirkte jene alkalische Lösung von Suprarenin in zwei Stunden noch nicht tödlich, wohl aber in 24 Stunden, während bei Abwesenheit von Alkali die niederen Organismen zum großen Teil noch lebend waren.

Ebensolche Lösungen wurden nun nach mehrstündigem Stehen auf das 5fache verdünnt. Hier waren erst nach 24 Stunden in der alkalischen Lösung die Zellkerne in den meisten Zellen von Spirogyra contrahiert, und zwar in der Richtung der großen Achse, wobei das Cytoplasma durch den Zug der angehefteten Plasmastränge des Kernes meist eine gewisse Einschnürung an diesen Haftstellen erfuhr. Die niederen Organismen des Diatomeenschlammes waren nicht geschädigt worden. Wurden aber erst nach 24 Stunden Stehen der Lösung die Algenfäden eingelegt, so ergab sich, daß die Giftwirkung vollständig verschwunden war. Die fortschreitende Oxydation unter dem Einfluß von Alkali zerstört also die Giftnatur wieder. Das wurde mehrmals beobachtet¹⁾.

Versuch 2. Es wurde eine 1⁰/₁₀₀-Lösung von Suprarenin (in Form des Bitartrats) einige Minuten mit etwas kohlen-saurem Kalk geschüttelt. Das alkalisch reagierende Filtrat ergab eine Giftwirkung auf den Zellkern von Spirogyra innerhalb 15 Min. Diese Lösung wurde nach längerem Stehen auf das 10fache verdünnt. In dieser (100 ccm) ergab sich selbst nach zwei Tagen nicht die geringste Giftwirkung. Oscillaria, Diatomeen, Flagellaten und Infusorien führten noch ihre normalen Bewegungen aus. Der Zellkern von Spirogyra ließ keine Spur eines schädlichen Einflusses erkennen. Auch fernerer Zusatz von 0,3⁰/₁₀₀ Kaliumcarbonat änderte das Resultat nicht. Allerdings muß bei allen diesen Versuchen beachtet werden, daß das freigesetzte Suprarenin, weil sehr schwer löslich, nur zum kleinen Teil zur Wirkung kommen konnte.

¹⁾ Darauf beruht es jedenfalls auch, daß das Suprarenin, per os gegeben, so viel schwächer wirkt, als bei intravenöser Injektion. Der alkalisch reagierende Darmsaft wird bedeutend verändernd auf das Suprarenin wirken, bevor es resorbiert wird.

Versuch 3. Es wurde eine $0,4 \frac{0}{100}$ -Lösung von Suprarenin als Bitartrat mit sehr wenig kohlensaurem Kalk, etwa 10 Min. lang geschüttelt, die schwach rötlich gewordene Lösung filtriert und mit dem gleichen Volumen einer $0,4 \frac{0}{100}$ -Lösung von Kaliumcarbonat versetzt und sofort eine Anzahl Spirogyrafäden eingelegt. Nach 2 Stunden waren die meisten Zellkerne in der Richtung der großen Achse contrahiert, die Plasmastränge meist abgerissen und da, wo sie nicht abrissen, war infolge der Kerncontraction eine Einbuchtung des Cytoplasma an der Heftstelle der Plasmastränge zu erkennen. Diatomeen und Flagellaten waren zu dieser Zeit noch in Bewegung. Die Kontrolllösung von $0,2 \frac{0}{100}$ Kaliumcarbonat erwies sich selbst nach 2 Tagen als vollständig ungiftig; Oscillaria, Diatomeen, Flagellaten und Infusorien führten noch ihre normalen Bewegungen aus, der Zellkern von Spirogyra war nicht im geringsten geschädigt. Es scheint also, daß nicht nur das freie Suprarenin bei Gegenwart von Alkali, sondern auch die primäre rote Oxydationsstufe sehr giftig wirkt.

Versuch 4. Hierzu diente eine Probe derselben Spirogyraart, aber von anderer Herkunft und viel kräftigerem Aussehen, reicher an Chlorophyll, Eiweiß und Stärkemehl als die oben verwendeten Proben. Aber das Resultat war im wesentlichen das gleiche. Eine Anzahl Fäden wurden in einer $0,4 \frac{0}{100}$ -Lösung von Suprarenin, als Bitartrat gelöst, eingelegt, sowohl bei Gegenwart von $0,4 \frac{0}{100}$ Kaliumcarbonat als auch bei Abwesenheit desselben. Nach 2 Stunden waren bei Gegenwart von Alkali fast alle Kerne kugelförmig contrahiert und nach 24 Stunden alle Zellen auch in den übrigen Teilen abgestorben, der Turgor vollständig verschwunden und sowohl Cytoplasma und Chlorophyllband contrahiert. Bei Abwesenheit von Alkali aber waren nach 2 Stunden noch alle Zellkerne normal; die meisten sogar noch nach 24 Stunden. Auch keinerlei andere Störung war in diesen Zellen wahrzunehmen. Das Bitartrat des Suprarenins ist somit nur ein äußerst schwaches Gift. Erst durch Alkalizusatz wird dieses Salz in Gift verwandelt.

Versuch 5. Dieser wurde mit der freien Base des Handels ausgeführt. Die verwendete Probe enthielt jedoch schon eine Spur des rötlichen Oxydationsprodukts, was nicht über-

raschen kann, weil bei der Darstellung der freien Base aus ihren Salzen sie mit Ammoniak ausgefällt wird. Die rötlich gefärbte wässrige Lösung, die beim Schütteln von 0,05 g Base mit 50 ccm destilliertem Wasser erhalten wurde, erwies sich auch bei Abwesenheit von Alkali giftig für Spirogyra. Die Zellkerne contrahierten sich nach 2 Stunden schon in etwa der Hälfte der Zellen. Durch Zusatz von 1⁰/₁₀₀ Kaliumcarbonat wurde die Giftwirkung erheblich beschleunigt, denn schon nach 40 Minuten waren die Zellkerne fast sämtlich contrahiert. Wurde jene alkalifreie Lösung auf das 10fache verdünnt, so war selbst nach 24 Stunden keine Giftwirkung mehr zu erkennen.

Auch mit der Ketonbase des Suprarenins, dem Methylaminoacetobrenzcatechin, wurde ein Versuch ausgeführt. Eine Lösung von 0,5⁰/₁₀₀ der Base (als Acetat gelöst), erwies sich als ganz unschädlich in 2 Stunden für Spirogyra. Selbst nach 2 Tagen waren nur wenige Zellen in ganz geringem Grade angegriffen, indem der Zellkern aus seiner normalen Lage gerückt und etwas gequollen war. Aber auch diese in geringem Maße angegriffenen Zellen hatten noch ihren vollen Turgor. Im Cytoplasma und Vakuole vieler Zellen war jedoch eine geringe Menge einer flockigen Ausscheidung zu sehen, die offenbar für das Leben der Zellen ohne Einfluß war. Wesentlich das gleiche Resultat wurde beobachtet, als zu jener Lösung noch 0,5⁰/₁₀₀ Kaliumcarbonat gesetzt wurde. Innerhalb 3 Stunden waren die Zellen von Spirogyra nicht im geringsten, und nach 2 Tagen nur sehr wenige in geringem Grade angegriffen. Amöben, Infusorien, Flagellaten, Diatomeen, Rotatorien, Copepoden und Ostracoden waren nach 3 Stunden noch in lebhaften normalen Bewegungen begriffen. Nach 2 Tagen war hier zwar das Leben erloschen, aber es mußte zweifelhaft bleiben, ob hier nicht die zahlreichen Bakterien des zur Verwendung gelangten Diatomeenschlammes zur Bildung eines Giftstoffes beigetragen haben.

Zusammenfassung.

Suprarenin in Form eines Salzes ist für das neutrale Protoplasma niederer pflanzlicher und tierischer Organismen nur ein sehr schwaches Gift. Dagegen sind das freie Suprarenin und das erste (rote) Oxydationsprodukt desselben starke Gifte,

was besonders auffällig am Zellkern von Spirogyra beobachtet werden kann. Gegenwart von Alkali steigert diese Giftwirkung. Mit der fortschreitenden Sauerstoffaufnahme der alkalischen Suprareninlösung aus der Luft und Bildung eines braunen Produktes verschwindet die Giftnatur wieder.

Die Giftwirkung des Suprarenins¹⁾ und ihre Steigerung in alkalischer Lösung wird durch die Labilisierung seiner Wasserstoffatome bedingt, infolgedessen der Komplex eine sehr starke Reduktionswirkung äußert, was in dem so empfindlichen Protoplasma von Ganglienzellen erhebliche Störungen erzeugen muß. Da das Blut eine alkalische Reaktion besitzt und auch das Protoplasma der Nervenzellen im lebenden Zustande wahrscheinlich schwach alkalisch reagiert, erklärt sich die gesteigerte Giftwirkung bei den höheren Tieren gegenüber der weit schwächeren Giftwirkung der niederen pflanzlichen und tierischen Organismen.

Das dem Suprarenin entsprechende Keton hat ebenfalls reduzierende Wirkung, die aber schwächer ist als die des Suprarenins. Diesem Befund entspricht die schwächere Reiz- und Giftwirkung jenes Ketons auf Wirbeltiere. Für niedere tierische und pflanzliche Organismen ist dieses Keton nur ein schwaches Gift.

¹⁾ Der Umstand, daß das freie Suprarenin auch bei Abwesenheit von Alkalien für niedere Organismen weit giftiger als die Salze desselben sind, erklärt sich daraus, daß im freien Suprarenin die Wirkung der alkalischen Seitenkette auf die Labilisierung der Wasserstoffatome sich äußern kann.

Untersuchungen an Menschen über Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Blut der Pulmonalarterie und über Messung des Minutenvolumens des Herzens.

Von

Privatdozent L. S. Fridericia.

(Aus dem tierphysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen
[Vorstand: Prof. Aug. Krogh]).

(Eingegangen am 22. September 1917.)

Mit 1 Figur im Text.

I. Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Blut der Pulmonalarterie während des Ruhezustandes.

Nach und nach haben zahlreiche Untersuchungen viel Aufklärung über die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung in der Alveolärluft der Lungen beim Menschen gegeben, und dies sowohl unter normalen wie unter pathologischen Verhältnissen. Dadurch hat man aller Wahrscheinlichkeit nach zugleich eine gründliche Kenntnis von der Spannung der Luftarten im arteriellen Blut des Menschen erhalten. Im Gegensatz hierzu ist die Kenntnis von der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im venösen Blut, das vom rechten Ventrikel durch die Pulmonalarterie in die Lungen strömt, sehr spärlich. Nur wenige Untersuchungen sind hierüber veröffentlicht worden, und die wenigen, die vorliegen, haben mehrere technische Mängel. Trotzdem besitzen solche Untersuchungen großes Interesse. Unter anderm geben sie uns ein Mittel an die Hand, um zu bestimmen, wie groß der Bruchteil des Sauerstoffes im arteriellen Blut ist, der im Körper verbraucht wird. Die Untersuchungen bieten aber verschiedene technische Schwierigkeiten.

Mehrere Physiologen haben an Versuchstieren tonometrische Bestimmungen der Spannungen der Luftarten im venösen Blut vorgenommen, das durch ein Katheter vom rechten Herzventrikel geholt wurde. Untersuchungen nach diesem Prinzip lassen sich nicht an Menschen machen. Die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Blut der Pulmonalarterie kann aber auch nach demjenigen Prinzip bestimmt werden, das dem Pflügerschen Lungenkatheter zugrunde liegt, und dadurch wird es möglich, solche Untersuchungen an Menschen anzustellen.

Pflügers Lungenkatheter war, wie bekannt, ein Tamponkatheter, das in einem Bronchienast durch eine Tracheotomieöffnung heruntergeführt wurde. Ihr Tampon sperrte die Luftpassage durch den Bronchienast und schloß dadurch einen Teil der einen Lunge ab. Pflüger und seine Schüler gingen davon aus, daß die Luftarten in den Alveolen des abgeschlossenen Lungenteils allmählich dieselben Spannungen wie die Luftarten im Blut erhalten müßten. Der abgesperrte Lungenlappen sollte als Tonometer fungieren. Wenn Diffusionsgleichgewicht zwischen der abgesperrten Luft und dem Blut eingetreten war, konnte man die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im venösen Blut des rechten Herzventrikels durch Analysieren derjenigen Luftproben bestimmen, die durch das Lungenkatheter vom abgeschlossenen Lungenteil genommen wurden.

Nur unter zwei Voraussetzungen können Untersuchungen nach dem Prinzip des Lungenkatheters über die Spannung der Luftarten im Pulmonalarterienblut Aufklärungen geben. Erstens muß nämlich vorausgesetzt werden, daß der Luftwechsel zwischen Blut und Lungenluft nach dem bekannten physischen Diffusionsgesetz vor sich geht, und zweitens muß man voraussetzen, daß im Alveolärepithel selbst oder im Blut, das durch die Lungencapillare fließt, kein meßbarer Sauerstoffverbrauch oder Kohlensäureproduktion besteht. Den zahlreichen Arbeiten von Aug. Krogh und seinen Schülern zufolge muß man zur Zeit davon ausgehen, daß der Luftwechsel in den Lungen durch Diffusion geschieht. Mehr Zweifel erregt die Frage über die Größe des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlensäureproduktion im Lungengewebe und im Capillärblut der Lungen. Nach Untersuchungen von Evans und Starling¹⁾ scheint der Sauerstoffverbrauch der Lunge sehr gering zu sein. Morawitz' Untersuchungen²⁾ machen es äußerst fraglich, ob selbst bei starker Asphyxie Oxydationsprozesse im Blut vor sich gehen können. Außerdem ist die frühere experimentelle Grundlage für die Annahme, daß bedeutende Oxydationsprozesse stattfinden können, nach Untersuchungen über den Coronarkreislauf von Henriques³⁾ und von Evans und Starling¹⁾ weggefallen. Es ist deshalb zur Zeit berechtigt, davon auszugehen, daß in kurzdauernden Versuchen keine meßbaren Oxydationsprozesse im Lungengewebe oder im Capillärblut der Lungen stattfinden.

Unserer heutigen Kenntnis über die respiratorischen Prozesse in den Lungen entsprechend, muß man deshalb annehmen, daß Versuche mit Pflügers Lungenkatheter Aufklärung über die Spannung des Sauerstoffs und der Kohlensäure im Pulmonalarterienblut geben können. Die Methode wurde von Pflügers Schülern Wolffberg⁴⁾ und Nußbaum⁵⁾ nur bei Hunderversuchen angewandt. Erst im Jahre 1905 versuchten Loewy und v. Schroetter die Lungenkathetermethode an Menschen⁶⁾ zur Anwendung zu bringen. Ihre Versuche wurden beinahe auf dieselbe Weise wie die älteren Tierversuche ausgeführt, und das Verfahren war sehr eingreifend. Zuerst wurde die Larynx- und Trachealschleimhaut der Versuchsperson cocainisiert, darauf wurde ein Bronchoskop heruntergeführt, und das Verzweigungsverhältnis der Bronchien wurde einer Untersuchung unterworfen; endlich wurde ein Silberkatheter in einen Bronchienast von 2. oder 3. Ordnung herabgeführt (zuweilen sogar im rechten Hauptbronchus), und der Bronchienast wurde durch einen aufblähbaren Tampon, der um das Silberkatheter oberhalb seiner Mündung angebracht war, geschlossen. Dadurch war die Luft in einem größeren Lungenabschnitt abgesperrt. Die Absperrung wurde lange fortgesetzt, im längsten Versuch 42 Minuten, und während derselben wurde eine Serie von Luftproben vom geschlossenen Lungenteil durch das Katheter genommen. Im ganzen wurden 35 Versuche an 10 Personen ausgeführt. Man sollte jetzt erwarten, daß die Analysen von den herausgenommenen Luftproben zeigen würden, wie die Sauerstoffspannung im Verlauf eines Versuchs sank und die Kohlensäurespannung in der eingeschlossenen Lungenluft stieg, bis beide Spannungen ein Niveau erreichten, auf dem sie sich konstant verhielten. Wenn ein solcher Gleichgewichtszustand erreicht war, hatte die eingeschlossene Luft die gleiche Sauerstoff- und Kohlensäurespannung wie das Pulmonalarterienblut. Nach Loewys und v. Schroetters Versuchstabellen wurde jedoch ein solches Spannungsgleichgewicht nur in 5 von 35 ausgeführten Versuchen erreicht. Die Verfasser selbst rechnen, daß 30 von ihren Resultaten brauchbar sind, indem sie nur diejenigen Versuche kassieren, bei denen ein Mißgeschick vorgefallen war. Es ist selbstverständlich jetzt unmöglich, festzustellen, was die Ursache davon war, daß eine konstante Zusammensetzung der eingesperrten Luft so selten erreicht wurde. Die Verfasser selbst führen an, daß sie einige Versuche für unbrauchbar ansehen, weil der Tampon den Bronchus nicht vollständig abgeschlossen hat, und daß man unter solchen Verhältnissen eine fortlaufende Veränderung der abgesperrten Luft finden wird.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate von denjenigen 5 Versuchen von Loewy und v. Schroetter angeführt, in denen die Analysen zeigten, daß Spannungsgleichgewicht zwischen der abgesperrten Lungenluft und dem Pulmonalarterienblut eingetreten war.

In meinen Untersuchungen, die später angeführt werden, finde ich ganz ähnliche Werte für die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut. Dies ist tatsächlich verblüffend. Denn in Loewys

Versuchs-Nr.	Die Krankheit der Versuchsperson	Schlußzusammenstellung der eingesperrten Luft	
		Kohlensäure	Sauerstoff
12	Pneumonie	5,5 bis 6,2%	5,0 bis 5,5%
14	(selbe Person)	6,6 " 6,9 "	5,4 " 5,5 "
23	} Larynxstenose. Botulismus	6,0 " 6,2 "	5,2 " 5,5 "
24		Larynxstenose	5,6 " 5,8 "
28	Tb. pulmon. et laryngis	5,2 "	5,2 "

und v. Schroetters Versuchen wird dasjenige Blut, das den nicht respirierenden Lungenlappen passiert, nicht arterialisiert, und da die Versuche bis 42 Minuten lang dauern, muß das Arterienblut allmählich sauerstoffärmer werden, als es normalerweise ist. Man sollte deshalb erwarten, daß auch die Sauerstoffspannung im Venenblut abnorm würde. Es ist ebenfalls überraschend, daß die Krankheiten, an denen Loewys und v. Schroetters Versuchspersonen litten, anscheinend ohne Einfluß auf die Resultate waren.

Im Jahre 1909⁷⁾ wurde von Plesch eine neue Versuchsreihe über die Luftspannungen im Pulmonalarterienblut des Menschen veröffentlicht. Plesch kann Loewys und v. Schroetters Methode nicht beistimmen, hauptsächlich weil sie so große Eingriffe erfordert; er benutzt anstatt dessen eine Technik, die auf demselben Prinzip wie die Lungenkatheterversuche basiert, in der Hauptsache jedoch neu ist. Bei Lungenkatheterversuchen fungiert der abgesperrte Lungenteil als Tonometer. Plesch versucht die Lungen in ihrer Gesamtheit als Tonometer anzuwenden, indem er die Versuchspersonen in einen geschlossenen Gummisack hin und zurück tief atmen läßt. Wenn der Versuch lange genug fortgesetzt würde, müßte die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung in der Lungenluft und in der Luft im Sacke zuletzt mit den Spannungen im Blut der Pulmonalarterie identisch sein. Dies läßt sich aber nicht erreichen, denn Plesch lenkt unsere Aufmerksamkeit darauf, daß, wenn das Blut der Pulmonalarterie nicht eine abnorme Zusammensetzung haben soll, der ganze Versuch kürzere Zeit dauern muß als ein normaler Kreislauf; während eines Versuchs darf dasselbe Blut nicht 2mal die Lungen-capilläre passieren. Plesch gibt an, daß ein Versuch deshalb nicht über 20 Sekunden dauern soll. Es ist Pleschs Verdienst, diejenigen Prinzipien klar bezeichnet zu haben, nach denen die Luftspannungen im Blut der Pulmonalarterie beim Menschen sich bestimmen lassen; er ist aber in seinen Versuchen, auf Grundlage dieser Prinzipien eine Technik auszuarbeiten, auf Schwierigkeiten gestoßen, die er nur teilweise überwunden hat. Plesch gebraucht zwei verschiedene Methoden. Die erstere besteht einfach darin, die Versuchsperson nach einer maximalen Inspiration während ca. 20 Sekunden einige Male in einen leeren Gummibeutel ein- und ausatmen zu lassen. Der Versuch wird mit einer maximalen Expiration abgeschlossen, wonach der Sack geschlossen wird. Wie Plesch bemerkt, ist aber natürlich keine Rede davon, daß die Sauer-

stoffspannung in den ca. 3,5 l Luft, die die Lungen zu Anfang des Versuchs enthalten haben, nach Verlauf von 20 Sekunden zu einer Spannung herabsinken kann, die derjenigen des Pulmonalarterienblutes gleichkommt. Der Versuch muß deshalb mehrere Male wiederholt werden, ohne daß die Luft im Sack erneuert wird. Vor und am Schluß jedes neuen Versuchs nimmt die Versuchsperson eine maximale Expiration vor. Aber auch diese Wiederholungen führen nicht zum Ziel, denn Plesch macht darauf aufmerksam, daß zu Anfang jeder Wiederholung die Beutelluft mit der Residualluft der Versuchsperson gemischt wird, die ca. 16% Sauerstoff enthält, und die Mischung erhält dadurch eine so hohe Sauerstoffspannung, daß sie während der Versuchszeit nicht mit dem Pulmonalarterienblut ins Gleichgewicht kommen kann, selbst nicht, wenn die Beutelluft zu Anfang des Versuches noch vom vorhergehenden Versuch aus sauerstoffarm war. Plesch legt deshalb die Versuche auf eine andere Art an. Vor Anfang des Versuches füllt er den Beutel mit Stickstoff und läßt die Versuchsperson diese aus- und einatmen, und zwar nachdem sie erst maximal expiriert hat. Hierdurch wird die Residualluft stark verdünnt, und bei diesem Verfahren muß es geschehen können, daß die Luft im Beutel mit dem Pulmonalarterienblut in Spannungsgleichgewicht kommt. Die Methode gibt jedoch keine Möglichkeit festzustellen, ob dies wirklich geschieht. Denn der Versuch kann ja nicht mit derselben Beutelluft wiederholt werden. Bei Wiederholungen kehrt gleich das frühere Verhältnis zurück, nämlich daß die Beutelluft mit der sauerstoffreichen Residualluft vermischt wird. Plesch führt seine meisten Versuche (21 von 28) mit dieser Methode aus. In den Versuchen hat die Zusammensetzung der Beutelluft sicher oft die Kohlensäurespannung des Pulmonalarterienblutes angegeben und vielleicht auch ab und zu dessen Sauerstoffspannung. Die angewandte Methode gibt aber, wie gesagt, keine Möglichkeit zur Beurteilung, welche von den in der Regel stark schwankenden Versuchsergebnissen die richtigen sind. Plesch wendet gewöhnlich den höchsten der gefundenen Kohlensäurewerte und den niedrigsten der Sauerstoffwerte an. Die Mischung der Residualluft und des Stickstoffs im Beutel hat aber sicher oft einen Sauerstoffprozent besessen, der so niedrig war, daß in der Versuchszeit kein Spannungsgleichgewicht zwischen der Luft und dem Blut eintreten konnte. Die niedrigsten der gefundenen Sauerstoffwerte sind deshalb nicht sicherer als die höchsten.

Plesch geht bei seinen letzten Versuchen zu einer anderen Methode über. Er läßt das Mundstück, durch das die Versuchsperson respiriert, durch ein T-Rohr mit 2 Beuteln in Verbindung treten, einem großen, der ca. 10 l und einem kleinen, der 3 bis 4 l faßt. Vor dem Versuch wird der große Beutel mit Stickstoff gefüllt, während der kleine leer bleibt. Die Versuchsperson atmet während des Versuchs zuerst in den großen Beutel aus und ein, aber während der letzten Sekunden des Versuchs wird dieser geschlossen, und es wird in den kleinen Beutel respiriert. Der Versuch kann jetzt wiederholt werden, da die Luft im

kleinen Beutel nicht erneuert wird, während der große Beutel wieder mit Stickstoff gefüllt wird. Jetzt wird wiederum zuerst im großen Beutel respiriert, zuletzt im kleinen mit dem Luftrest vom vorigen Mal. Zwischen den Wiederholungen wird die Luft im kleinen Beutel analysiert. Bei dieser Methode ist eine Möglichkeit vorhanden, die Resultate zu kontrollieren, denn in denjenigen Fällen, wo die Zusammensetzung der Luft des kleinen Beutels sich von einer Wiederholung zu andern nur wenig verändert hat, müssen die Sauerstoff- und Kohlensäurespannungen ihrem Inhalte nach denjenigen des Pulmonalarterienblutes sehr nahe gewesen sein. Mit dieser Methode wurden 7 Versuche ausgeführt. In einem (Nr. 61) stieg der Sauerstoffprozent im kleinen Beutel von Wiederholung zu Wiederholung; es wurde also kein Gleichgewicht erreicht. In einigen der übrigen schwankt die Zusammensetzung der Beutelluft die ganze Zeit stark. In 2 Versuchen (Nr. 57 und 59) wurde kein Gleichgewicht in Anbelang der Kohlensäure erreicht. Die Resultate der 6 Versuche sind in nachstehender Tabelle angeführt.

Versuchs-Nr.	Die Krankheit der Versuchsperson	Die Zusammensetzung der Beutelluft	
		Kohlensäure	Sauerstoff
56	Insuff. aortae	4,76 bis 5,33 %	4,93 bis 5,42 %
57	Morb. Basedowi	stets steigend	4,73 " 5,01 "
58	Stenosis mitralis	5,06 bis 5,11 %	4,70 " 5,70 "
59	Stenosis pulmonalis	stets steigend	5,44 " 5,48 "
60	Nephritis chron.	6,11 bis 6,28 %	5,44 " 5,56 "
62	Morb. Basedowi	5,02 " 5,12 "	5,46 " 5,51 "

Keiner dieser Versuche ist an Gesunden ausgeführt worden, die gefundenen Werte sind aber von derselben Größenordnung wie Loewy und v. Schroetters und die meinigen.

Meines Wissens sind keine anderen Versuche zur Bestimmung sowohl der Sauerstoff- wie der Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut bei Menschen veröffentlicht worden. Die Kohlensäurespannung allein ist in einigen Versuchsreihen von Porges, Leimdörfer und Marcovici⁸⁾, die Pleschs Methode anwandten, bestimmt worden, wie auch in einigen kürzlich veröffentlichten Untersuchungen von Johanne Christiansen, C. G. Douglas und J. S. Haldane⁹⁾. In der zuletzt genannten Arbeit war die Technik folgende: Die Versuchsperson expirierte zuerst maximal, inspierte danach von einem Beutel oder Spirometer eine Mischung von atmosphärischer Luft und Kohlensäure (gewöhnlich 6 bis 8% Kohlensäure) und hielt den Atem an; nach ca. 5 Sekunden wurde ca. 1 l ausgeatmet, und es wurde eine Probe der zuletzt ausgeatmeten Luft genommen; nach einem weiteren Aufenthalt wurde wieder ausgeatmet, und es wurde wiederum eine Probe der Alveolarluft genommen; in einigen Versuchen wurde zuletzt bis zur Residualluft in einem dritten Tempo ausgeatmet, nachher wurde von neuem eine Luftprobe genommen. Die Technik ist ungefähr mit derjenigen, die

ich gebraucht habe, identisch, nur wurde in den englischen Versuchen keine graphische Registrierung der Versuchszeit und der Bewegungen des Spirometers vorgenommen. Bei 4 normalen Menschen wurden Kohlensäurespannungen zwischen 6,3 und 6,8% gefunden. Die Sauerstoffspannung wurde nicht bestimmt. Während der Versuche muß der Sauerstoffgehalt in der Lungenluft über 10 bis 12% betragen haben, da atmosphärische Luft, mit Kohlensäure untermischt, eingeatmet wurde. Die Verfasser zeigen in ihrer Arbeit, daß die Höhe der Sauerstoffspannung auf die Fähigkeit des Blutes, die Kohlensäure zu binden, einwirkt, und daß man eine niedrigere Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut beim Einatmen von sauerstoffarmer Luft als beim Einatmen von sauerstoffreicher Luft findet; danach müssen die Kohlensäurespannungen, die sie bei ihren Untersuchungen an Normalen finden, etwas höher sein als die wirklichen Spannungen im Pulmonalarterienblut. Die wirkliche Kohlensäurespannung kann man nach ihren Untersuchungen nur dann finden, wenn die Lungenluft während des Versuches nicht nur dieselbe Kohlensäurespannung, sondern auch dieselbe Sauerstoffspannung wie das Pulmonalarterienblut hat. Dies ist in meinen Versuchen der Fall gewesen.

Meine Versuche sind nach demselben Prinzip wie Pleschs ausgeführt, meine Versuchstechnik weicht aber stark von der seinigen ab. Das Versuchsprinzip geht darauf aus, die Spannung von Sauerstoff und Kohlensäure tonometrisch in demjenigen Blut, das den Lungen zuströmt, zu bestimmen, indem die Lungen hierselbst als Tonometer angewandt werden. Jede Bestimmung muß, wie schon Plesch angegeben hat, nicht länger als die Hälfte der Kreislaufzeit dauern. Damit der Ausgleich der Luftspannungen zwischen Lungenluft und Blut in so kurzer Zeit vor sich gehen kann, müssen die Lungen zu Anfang des Versuches mit einer Luftmischung gefüllt sein, in der die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung dem Pulmonalarterienblut so nahe wie möglich liegt. Die Methodik der Versuche schließt sich derjenigen nahe an, die in „dem tierphysiologischen Laboratorium“ zu andern Respirations- und Kreislaufuntersuchungen angewandt wurde. Es wurde ein Spirometer nach dem Aeroplethysmographprinzip angewandt; das Spirometer ist von Prof. A. Krogh konstruiert worden, der kürzlich dessen Einrichtung und Anwendung¹⁰⁾ beschrieben hat. Das Spirometer ist mit einer rotierenden Trommel, auf der seine Bewegungen aufgeschrieben werden, verbunden. Gleichzeitig registriert ein Chronograph die Zeit auf der Trommel in $\frac{1}{100}$ Minute. 0,001 Minute kann abgelesen werden. Vor

jedem Versuch läßt man das leere Spirometer eine Nulllinie auf die Trommel schreiben. Der schädliche Raum des Spirometers (d. h. Luftgehalt in der Nullstellung) ist bestimmt. An den Kurven, die es durch seine Bewegung aufschreibt, können die relativen Veränderungen in ihrem Luftgehalt während der Versuche ausgemessen werden, und hiervon werden ihre Veränderungen des absoluten Raumgehalts mit einer Genauigkeit von 10 ccm berechnet. Bei meinen Versuchen war das Spirometer mit einem Metallmundstück mit Dreiwegventil [siehe ¹⁰⁾] durch eine ca. 1,5 m lange weite Gummischlange (22 mm Durchmesser) verbunden. Der Raumgehalt der Schlange und des Mundstücks wird mit einer Genauigkeit von ca. 10 ccm bestimmt. Vom Mundstück ging ein Bleirohr mit capillärer Ausbohrung aus, durch die man Proben von der Luft in der Gummischlange nehmen konnte. Die Luftproben wurden in einem Haldane-Apparat nach Kroghs Modell analysiert. Zu den Analysen wurden 10 ccm genommen; auf der Bürette des Analyseapparates ließ sich 0,001 ccm ablesen [Probe und Analyse in ¹⁰⁾ beschrieben].

Ein Versuch ging nun in folgender Weise vor sich: Die Nase der Versuchsperson wird zusammengedrückt, und sie nimmt das Mundstück in den Mund. Das Ventil des Mundstücks steht solcherweise, daß die Luftwege der Person mit der Atmosphäre in Verbindung stehen. Nach einiger Zeit wird der Spirometerregistrierungsapparat in Gang gesetzt, die Versuchsperson expiriert maximal, das Ventil des Mundstücks wird gedreht, und sie füllt ihre Lungen maximal vom Spirometer aus mit sauerstoffarmer und kohlenstoffreicher Luft von ausprobiertem Zusammensetzung (siehe unten). Hierdurch wird die Residualluft der Person mit einigen Litern Spirometerluft vermischt; sie hält jetzt den Atem einige Sekunden an und expiriert darauf schnell einen Teil des Luftgehalts der Lungen in das Spirometer hinaus. Die Schlange zwischen Mundstück und Spirometer enthält die zuletzt expirierte Luft (Alveolärluft) von dieser wird eine Probe genommen. Ohne inspiriert zu haben, hält die Versuchsperson wieder den Atem an, diesmal 8 bis 10 Sekunden, und sie expiriert darauf schnell soviel wie möglich vom Rest des Luftgehalts ihrer Lungen in das Spirometer hinein. Das Ventil wird gedreht, so daß die Person

atmosphärische Luft einatmen kann, und es wird eine Probe von der Schlange hinter dem Mundstück von der Alveolärluft der zweiten Expiration genommen.

Die beiden partiellen Expirationen müssen so groß sein, daß sie den schädlichen Raum in den Respirationswegen (jeder wenigstens 1 l) vollständig ausspülen. Der eigentliche Versuch dauert vom Schluß der ersten bis zum Schluß der zweiten partiellen Expiration. Die Analysen der beiden Luftproben geben Aufklärung über die Zusammensetzung der Lungenluft vor und nach dem Versuch. Durch Vergleich der Analyse-resultate kann man, ganz wie in anderen Tonometerversuchen, sehen, ob die Spannungen der Luftarten in der Lungenluft während des Versuchs zugenommen oder abgenommen haben, und folglich ob die Spannungen beim Schluß des Versuchs die oberen oder unteren Annäherungswerte für die gesuchten Spannungen im Pulmonalarterienblut angeben.

Die Zusammensetzung der Luft im Spirometer zu Anfang des Versuchs ist der wichtigste Punkt. Der Versuch beginnt damit, daß 2 bis 3 l dieser Luft mit der Residualluft der Person gemischt wird, und diese Mischung soll eine Sauerstoff- und Kohlensäurespannung haben, die dem Pulmonalarterienblut so nahe wie möglich liegt. Im einleitenden Versuch muß herausgefunden werden, welche Zusammensetzung von Spirometerluft die zweckmäßigste ist. Diese Voruntersuchungen müssen bei jeder Versuchsperson unter den gegebenen Versuchsbedingungen wiederholt werden. Die Voruntersuchungen, deren Anzahl nicht ganz gering ist, haben nur ein technisches Interesse und sind im folgenden nicht referiert worden. In den meisten Versuchsreihen erwies es sich am praktischsten, eine Spirometerluft mit 1 bis 2% Sauerstoff und 6 bis 7% Kohlensäure anzuwenden. Die Mischungen wurden von Stickstoff aus einem Behälter (enthält immer etwas Sauerstoff und muß analysiert werden) mit atmosphärischer Luft und Kohlensäure hergestellt, letztere aus Calciumcarbonat gewonnen.

Während des Versuchs wurden, wie erwähnt, die Bewegungen des Spirometers wie eine Kurve aufgezeichnet. Da die Versuchsperson während des Versuchs ganz dieselben Respirationsbewegungen macht wie zur Bestimmung des Minuten-volumens des Herzens nach Krogh und Lindhards erster

Methode [„Residualmethode“¹¹], sehen die Kurven wie diejenigen von Versuchen über das Minutenvolumen aus, und ihre Messung geschieht auf gleiche Weise wie diese. Die Versuchsdauer wird gemessen, d. h. die Zeit vom Schluß der ersten bis zum Schluß der zweiten Expiration [wie bei Krogh nicht ganz vom Schluß an; siehe ¹⁰]. Da die Residualluft der Versuchsperson bestimmt wurde [nach dem von Krogh¹⁰) angegebenen Verfahren], und da die Personen, wie erwähnt, vor jedem Versuch bis zur Residualluft expirierten, konnte man bei Messung der Registrierungskurve des Spirometers berechnen, wieviel Luft die Lungen der Versuchsperson in jedem Zeitpunkt des Versuchs enthielten. Hieraus ließ sich wiederum berechnen, wieviel Sauerstoff und Kohlensäure die Versuchsperson während jeden Versuches aufgenommen oder abgegeben hatte.

Ein Beispiel wird am besten das Verfahren illustrieren. Als Beispiel sind 2 Ruheversuche, an Person A. ausgeführt, angewandt (siehe Tabelle II).

Versuch Nr. 24. Den 22. V. 1914, 3 Uhr 25 Min. nachmittags. Barometer 768,7 mm.

Versuchsperson A. (junger Mann) hat, auf dem Feldbett liegend, unmittelbar vor den Versuchen 1 Stunde geruht. Die letzteren werden ausgeführt, während er noch im Bett liegt.

Luftanalyse nach der 1. Expiration: 6,23% CO₂ und 6,11% O₂.

Luftanalyse nach der 2. Expiration: 6,43% CO₂ und 6,21% O₂.

Die Zeit zwischen den Expirationen beträgt 0,139 Min.

Der Luftgehalt des Spirometers vor dem Versuch: 5,49 l.

„ „ „ „ nach der 1. Expiration: 3,90 l.

Da A.s Residualluft zu 1,19 l bestimmt worden ist und er, wie erwähnt, vor dem Versuch zur Residualluft expiriert hat, haben seine Lungen während selbigen Versuches (zwischen der 1. und 2. Expiration): $5,49 \div 3,90 + 1,19 = 2,78$ l Luft [gemessen bei 768,7 mm und Zimmertemperatur*)] enthalten.

*) Anm.: Da in der Vorperiode ein geringer Austausch von Sauerstoff und Kohlensäure zwischen der Lungenluft und dem Blut stattfindet, wird ein Fehler im gefundenen Volumen vorhanden sein. In allen folgenden Versuchen ist der Fehler indessen so klein (wenige cem), daß er keine Rolle spielt.

Während des Versuchs (in der Zeit zwischen der 1. und 2. Expiration) ist in seinen Lungen ausgeschieden worden:

2,78 (0,0643 ÷ 0,0623) = 0,0055 l. Bei 0° und 760 mm: 5,2 ccm
Kohlensäure

und (ebenfalls ausgeschieden):

2,78 (0,0621 ÷ 0,0611) = 0,0028 l. Bei 0° und 760 mm: 2,7 ccm
Sauerstoff.

Am Schluß des Versuchs betrug die Kohlensäurespannung in der Lungenluft 6,43% = 46,4 mm und die Sauerstoffspannung 6,21% = 44,9 mm.

Die Frage ist jetzt die, ob diese beiden Werte die Spannungen im Pulmonalarterienblut angeben, oder mit anderen Worten, ob die Luft in den Lungen während des Versuchs erreicht hat, mit dem Blut in Diffusionsgleichgewicht zu kommen. Daß dies, jedenfalls in betreff des Sauerstoffes, der Fall gewesen sein muß, zeigt ein neuer Versuch, $\frac{1}{2}$ Stunde später ausgeführt, während A. immer noch auf dem Feldbett lag:

Versuch Nr. 25. Den 22. V. 1914, 4 Uhr nachmittags.

Barometer 768,7 mm. Versuchsperson A. in ruhender Lage.

Luftanalyse nach der 1. Expiration: 6,32% CO₂ und 6,43% O₂.

Luftanalyse nach der 2. Expiration: 6,56% = 47,3 mm CO₂ und 6,25% = 45,2 mm O₂.

Die Zeit zwischen den Expirationen: 0,137 Min.

Der Luftgehalt der Lungen zwischen den Expirationen: 2,83 l.

Während des Versuchs

2,83 (0,0656 ÷ 0,0632) = 0,0068 l abgegeben,
reduziert = 6,5 ccm CO₂

2,83 (0,0643 ÷ 0,0625) = 0,0051 l aufgenommen,
reduziert = 4,8 ccm O₂.

Zu Anfang des Versuchs 24 war die Sauerstoffspannung in der Lungenluft niedriger als diejenige des Pulmonalarterienblutes, so daß während des Versuchs 2,7 ccm Sauerstoff vom Blut abgegeben wurde; dadurch betrug die Sauerstoffspannung in der Lungenluft am Schluß des Versuchs 44,9 mm. Zu Anfang des Versuchs 25 war die Sauerstoffspannung in der Lungenluft, im Gegensatz zum vorigen Versuch, höher als diejenige

des Pulmonalarterienblutes, denn während des Versuchs nahm das Blut 4,8 ccm Sauerstoff auf, und am Schluß des Versuchs betrug die Sauerstoffspannung in der Lungenluft 45,2 mm. Diesen beiden Versuchen zufolge läßt sich mit Sicherheit schließen, daß die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut bei A. 45 mm betragen haben muß.

In betreff der Kohlensäure sind die beiden Versuche nicht ganz so beweisend, da während beider Kohlensäure vom Blut abgegeben worden ist.

Die hier beschriebene Versuchsmethode bietet mehrere ins Auge fallende Vorteile vor den früher, speziell von Plesch, angewandten.

1. Bei jeder Bestimmung werden 2 Luftproben genommen, eine zu Anfang des Versuchs und eine am Schluß. Dadurch erfährt man, wie im Tonometerversuch, ob die Werte am Schluß des Versuchs die oberen oder unteren Annäherungswerte für die gesuchten Spannungen angeben.

2. Die Registrierung der Versuchsdauer und der Spirometerbewegungen machen es möglich, den Füllungsgrad der Lungen während des Versuchs und auch die Aufnahme oder das Ausscheiden von Sauerstoff und Kohlensäure zu berechnen.

Bei der Bestimmung der Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut würde es das Ideal sein, ein Versuchspaar wie das oben beschriebene (Versuch 24 und 25) anstellen zu können; hier ist während des einen Versuchs eine geringe Menge Sauerstoff ausgeschieden, während des andern etwas aufgenommen worden; dadurch hat man einen oberen und unteren Annäherungswert für die Sauerstoffspannung gefunden, und diese liegen sehr nahe beieinander. Soviel Glück hat man indessen nur selten. Vor Anfang eines Versuchs enthalten die Lungen eine Residualluft mit ca. 15 bis 16⁰/₀ Sauerstoff, während des Versuchs wird diese mit einigen Litern Spirometerluft gemischt, die Mischung wird einige Sekunden in den Lungen gehalten, und ein Teil derselben wird expiriert. Eben in diesem Zeitpunkt soll die Sauerstoffspannung in den Lungen etwas über, beziehungsweise etwas unter derjenigen des Pulmonalarterienblutes sein. Durch Variieren der Zusammensetzung der Spiro-

meterluft kann man indessen nur eine Annäherung an dieses Ideal erreichen, da die Sauerstoffspannung in den Lungen am entscheidenden Zeitpunkt von mehreren Faktoren abhängig ist, die man nur teilweise beherrschen kann, z. B. von der Menge Spirometerluft, die die Versuchsperson einatmet. Es ist deshalb nötig, sich Kenntnis darüber zu verschaffen, wie groß der Spannungsunterschied zwischen dem Sauerstoff in der Lungenluft und dem Pulmonalarterienblut höchstens ist, das in der Versuchszeit unter den gegebenen Bedingungen ausgeglichen werden kann.

Zu Anfang meiner Untersuchungen habe ich hierüber mehrere Versuche ausgeführt. Die Versuche waren infolge einiger technischer Unvollkommenheiten nicht ganz wohl gelungen, gaben aber doch immerhin etwas Aufklärung. Indessen will ich nicht näher auf diese Versuche eingehen. Es zeigte sich nämlich nach Abschluß meiner Versuchsreihen über die Luftspannungen im Pulmonalarterienblut, daß eine graphische Darstellung der Versuchsergebnisse ausreichend gute Aufklärungen über die Ausgleichungsschnelligkeit zwischen den Spannungen im Blut und in der Lungenluft gab. Ganz besonders war die längste der ausgeführten Versuchsreihen in dieser Beziehung erläuternd. Im folgenden soll dargestellt werden, auf welche Weise.

Diese Versuchsreihe wurde an Person A. (junger Mann, 27 Jahre, Gewicht 65 kg, Höhe 1,77 m) ausgeführt, und ihre Resultate sind in Versuchstabelle II wiedergegeben. Die Reihe besteht aus 18 Ruheversuchen; vor jedem Versuch hatte A. $\frac{1}{2}$ Stunde ruhend auf einem Feldbett zugebracht, und die Versuche wurden ausgeführt, während er noch lag. Die Residualluft bei A. ist in 2 Versuchen (den 18. IX. 1914) zu 1,14 l und 1,24 l, Mittel 1,19 l, bestimmt worden. Tabelle II enthält 15 Kolonnen. In den ersten 3 sind die Laufnummern, die Versuchsdaten (und -stunden) wie auch der Barometerstand während der Versuche aufgeführt. In Kolonne 4 ist die Zeit zwischen der 1. und 2. Expiration (Versuchszeit) angegeben und in Kolonne 5 der Luftinhalt der Lungen nach der 1. Expiration (während des Versuchs). In den Kolonnen 6 und 7, 11 und 12 ist das Kohlensäure- und Sauerstoffprozent der Lungenluft am Schluß der 1. und ebenfalls am Schluß der

2. Expiration angeführt, und in Kolonne 8 und 13 die Kohlensäure- und Sauerstoffspannung in mm nach der 2. Expiration. In Kolonne 9 und 14 ist die Menge Sauerstoff und Kohlensäure in ccm, zu 0° und 760 mm reduziert, angeführt, die während des Versuchs aufgenommen oder abgegeben worden ist. Die Berechnung dieser Werte ist auf die Seite 316 bis 318 beschriebene Weise geschehen. Die gefundenen Werte sind durch + bezeichnet, wenn die Luftart im Blut aufgenommen worden ist und durch -, wenn dieselbe vom Blut zur Lungenluft abgegeben worden ist.

Diejenige Menge Kohlensäure oder Sauerstoff, die in der Versuchszeit (Kolonne 9 und 14) vom Blut aufgenommen oder abgegeben ist, gibt ein Maß dafür, wie nahe bei Anfang jeden Versuchs die Spannungen der Luftarten in der Lungenluft den gesuchten Spannungen im Blut gewesen sind; je höher z. B. die Sauerstoffspannung der Lungenluft über derjenigen des Pulmonalarterienblutes zu Anfang des Versuchs gewesen ist, desto mehr Sauerstoff wird während des Versuchs im Blut aufgenommen worden sein. Dies gilt jedoch nur unter zwei Voraussetzungen vollaus, nämlich 1., wenn die Strömungsschnelligkeit des Blutes in allen Versuchen dieselbe gewesen ist und 2., wenn alle Versuche gleich lang gedauert haben. Beide Voraussetzungen gewinnen nur in denjenigen Versuchen Bedeutung, wo kein vollständiger Ausgleich zwischen den Luftspannungen im Blut und der Lungenluft geschehen ist.

Die Notwendigkeit der ersten Voraussetzung ist leicht verständlich. Wenn man sich zwei Versuche denkt, während welcher alle Bedingungen gleich sind (gleiche Versuchsdauer, gleiche Sauerstoffspannungen in der Lungenluft und im Blut am Anfang des Versuchs), wo die Strömungsschnelligkeit des Blutes aber verschieden ist, dann wird, falls die Sauerstoffspannung der Lungenluft in beiden Versuchen höher gewesen ist als diejenige des Blutes, während des Versuchs mit der größten Strömungsschnelligkeit mehr Sauerstoff aufgenommen (wenn nicht in beiden Versuchen ein vollständiger Spannungsausgleich zwischen Blut und Luft eingetreten ist). Es kann nicht festgestellt werden, ob die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes in den verschiedenen Versuchen gleich gewesen ist. Da die äußeren Versuchsbedingungen gleich gewesen sind, sind die

Unterschiede kaum groß. Und die Unterschiede müssen ja sehr groß sein, wenn die Menge des aufgenommenen oder abgegebenen Sauerstoffs (pr. Zeiteinheit) nicht wenigstens ein annäherungsweise Maß für den Unterschied zwischen den Sauerstoffspannungen in der Lungenluft und im Blut geben sollte. Außerdem soll gleich erwähnt werden, daß der Spannungsausgleich in den Lungen anscheinend in den meisten Versuchen ziemlich vollständig gewesen ist, und in diesen Fällen sind Verschiedenheiten in der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes gleichgültig.

Die Notwendigkeit der zweiten Voraussetzung, daß nämlich die Versuchsdauer die gleiche sein muß, wenn Versuche mit unvollständigem Spannungsausgleich verglichen werden sollen, ist ja auch einleuchtend. In einem kurzdauernden Versuch wird weniger Sauerstoff aufgenommen oder abgegeben werden können als in einem langdauernden, selbst wenn in ersterem am Anfang der Versuche größerer Sauerstoffspannungsunterschied zwischen Blut und Lungenluft gewesen ist als in letzterem. Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß die Versuchsdauer in den Versuchen nicht überall ganz gleich gewesen ist. Dies Verhältnis wird indessen leicht durch Bestimmung der Kohlensäure- und Sauerstoffaufnahme oder -abgabe per Sekunde korrigiert. Dies ist gemacht worden, und die gefundenen Werte sind in Kolonne 10 und 15 angeführt. Diese Werte sind natürlich nur berechnete Durchschnittsgrößen, denn in Wirklichkeit wird ja in den ersten Sekunden eines Versuchs mehr Sauerstoff und Kohlensäure ausgewechselt als in den

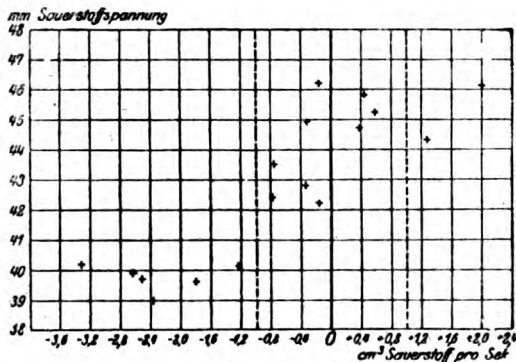


Fig. 1.

letzten, wo schon ein teilweiser Ausgleich des Spannungsunterschiedes stattgefunden hat (der Ausgleich geschieht nach einer asymptotischen Kurve).

Die Zahlen in Kolonne 10 und 15 geben also ein annäherndes Maß für den Spannungsunterschied zwischen Lungenluft und Pulmonalarterienblut zu Anfang jeden Versuches.

In Fig. 1 ist eine graphische Darstellung der Sauerstoffspannungsbestimmungen in Tabelle II gegeben. Die Versuchsergebnisse sind in ein Koordinatensystem eingeführt, dessen Ordinate die Sauerstoffspannung in der Lungenluft am Schluß des Versuches (in mm) und dessen Abscisse die Menge des aufgenommenen oder abgegebenen Sauerstoffes per Sekunde während des Versuches (in ccm, zu 0° und 760 mm reduziert) angeben. An einer willkürlichen Stelle der Abscisseachse ist ein Nullpunkt abgesetzt, links hiervon sind die Werte für abgegebenen, rechts für aufgenommenen Sauerstoff per Sekunde angeführt.

Es zeigt sich nun, daß Fig. 1 gute Anhaltspunkte gibt zur Entscheidung, in welchen Versuchen Spannungsausgleich zwischen Blut und Lungenluft stattgefunden hat und in welchen nicht. In Fig. 1 zerfallen die Versuche in 3 Gruppen, die durch punktierte Linien getrennt sind. Die erste Gruppe am weitesten links enthält alle die Versuche, während deren per Sekunde mehr als 1 ccm Sauerstoff vom Blut an die Lungenluft abgegeben worden ist; in diesen Versuchen ist die Sauerstoffspannung in der Lungenluft am Schluß der Versuche niedrig gewesen (39,0 bis 40,2 mm). Umgekehrt in der dritten Gruppe (am weitesten rechts), die diejenigen Versuche enthält, während deren das Blut mehr wie 1 ccm Sauerstoff per Sekunde aufgenommen hat; hier ist die Schlußspannung des Sauerstoffes recht hoch (44,3 bis 47,2 mm). Gruppe 2 (in der Mitte) enthält die Versuche mit geringem Sauerstoffaustausch (weniger als 1 ccm per Sekunde). Hier liegen die gefundenen Spannungswerte innerhalb eines Gürtels zwischen den Werten 42,2 und 46,2 mm. Freilich liegen die Werte der Sauerstoffspannung auch hier durchschnittlich etwas niedriger in denjenigen Versuchen, wo das Blut Sauerstoff abgegeben hat; der höchste und der niedrigste Wert in dieser Gruppe wird aber in den zwei Versuchen gefunden, während deren so gut wie kein Sauerstoffaustausch stattgefunden

hat. In diesen beiden Versuchen (Nr. 22 und 28) hat die Lungenluft also gleich von Beginn der Versuche beinahe genau die gleiche Sauerstoffspannung wie das Pulmonalarterienblut gehabt, und der Spannungsausgleich ist deshalb sicher vollständig gewesen. Die beiden Versuche sind mit einem Zwischenraum von 14 Tagen vorgenommen worden, aber unter so ähnlichen Versuchsbedingungen, wie man sie nur schaffen kann und auch zur selben Zeit des Tages. Sie zeigen deshalb, daß unter den gegebenen Verhältnissen keine vollständige Konstanz der Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut gefunden wird; mit Variationen von 4 mm muß man rechnen. Kleine Variationen in der Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes können auch, wie später erwähnt werden soll, bei derselben Versuchsperson innerhalb weniger Stunden eintreten. Die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes bei einer bestimmten Person im Ruhezustand kann deshalb nur als Durchschnittszahl von einer Reihe von Werten angegeben werden, die doch nur wenig voneinander abweichen.

In denjenigen Versuchen, die zur Gruppe 2 der Figur gehören, sind zum Spannungsausgleich zwischen Blut und Lungenluft die besten Bedingungen vorhanden gewesen. In den zwei Versuchen Nr. 22 und 28 hat, wie erwähnt, ein solcher Ausgleich sicher vollständig stattgefunden. Nun liegen indessen alle die übrigen Sauerstoffspannungswerte in Gruppe 2 zwischen denjenigen Werten, die in Versuch 22 und 28 (42,2 mm und 46,2 mm) gefunden wurden. Die Werte in Gruppe 1 liegen dagegen alle unter 42,2 mm; und von den Werten in der kleinen Gruppe 3 liegt einer über 46,2, ein anderer beträgt 46,1. Die Annahme scheint mir deshalb berechtigt zu sein, daß der Ausgleich zwischen den Sauerstoffspannungen des Blutes und der Lungenluft in den Versuchen der Gruppe 2 vollständig, in denjenigen der Gruppe 1 und vermutlich auch der Gruppe 3 unvollständig gewesen sind.

Folglich kann man die Versuchsergebnisse in allen denjenigen Versuchen als brauchbar betrachten, wo das Blut in den Lungen während des Versuches weniger als 1 ccm Sauerstoff per Sekunde aufgenommen oder abgegeben hat. In solchen Versuchen ist der Span-

nungsausgleich vollständig gewesen. Wie erwähnt, haben diejenigen Versuche in Gruppe 2, in denen das Blut Sauerstoff aufgenommen hat, durchschnittlich etwas niedrigere Werte gegeben als diejenigen, während deren Sauerstoff abgegeben wurde. Zur Bestimmung des Durchschnittswertes der Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut bei einer Person im Ruhezustand muß man deshalb, wenn irgend möglich, ungefähr ebenso viele Versuche mit Sauerstoffaufnahme wie mit Sauerstoffabgabe besitzen. Dies ist hier der Fall gewesen. Die Durchschnittszahl für die Sauerstoffspannung in den 9 Versuchen in Gruppe 2 ist 44,2 mm. Die Mittelzahl zwischen dem höchsten und niedrigsten Wert der Gruppe beträgt auch 44,2*).

In Fig. 1 finden wir eine Andeutung davon, daß der Sauerstoff schneller von der Lungenluft ins Blut passiert, als den umgekehrten Weg macht. In allen Versuchen, wo das Blut mehr als 1 ccm Sauerstoff per Sekunde abgegeben hat, ist, wie erwähnt, der Schlußwert der Sauerstoffspannung abnorm niedrig, der Ausgleich also unvollständig, umgekehrt aber kommen auf der Figur Versuche vor, bei denen das Blut bis 2 ccm Sauerstoff per Sekunde aufgenommen hat, ohne daß deshalb der Schlußwert der Sauerstoffspannung höher als in denjenigen Versuchen liegt, wo der Ausgleich ein vollständiger gewesen ist. Indessen eignet sich die Versuchsmethode schlecht dazu, etwas Sicheres über das Verhältnis zu beweisen, und ich habe die Sache überhaupt nur erwähnt, weil sie mit Oinumas¹²⁾ und Barcroft's¹³⁾ Untersuchungen über die Schnelligkeit der Sauerstoffaufnahme und -abgabe des Blutes so gut übereinstimmt. Sie fanden gerade, daß das Blut bei niedrigen Sauerstoffspannungen schnell Sauerstoff aufnimmt, aber langsam abgibt; z. B. bei 40 mm Sauerstoffspannung und 40 mm Kohlensäurespannung gibt das Blut eine bestimmte Menge Sauerstoff ab, etwas mehr als halb so schnell wie dasselbe es aufnimmt.

In betreff der Kohlensäure geben die Versuche in Tabelle II weniger gute Aufklärungen über die Schnelligkeit des Spannungs-

*) Prof. Aug. Krogh hat kürzlich eine kurzgefaßte Darstellung meiner Methode zur Bestimmung der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut [¹⁰⁾ S. 558] gegeben. Die hier von Prof. Krogh vorgeschlagene Korrektur der Versuchsergebnisse habe ich nicht benutzt, da sie nach obigem überflüssig ist.

ausgleiches. Alle Versuchsergebnisse, ausgenommen die des Versuches 31 (40,7 mm), liegen zwischen 42,9 mm und 49,5 mm Kohlensäurespannung, gleichgültig ob während der Versuche wenig oder viel Kohlensäure per Sekunde aufgenommen oder abgegeben ist. Wahrscheinlich beruht dies darauf, daß Kohlensäure weit schneller diffundiert als Sauerstoff, und daß die Kohlensäurespannung des Pulmonalarterienblutes etwas mehr als dessen Sauerstoffspannung schwankt. Der Durchschnittswert der Kohlensäurespannung für alle Versuchsreihen beträgt 46,05 mm. Wenn man die Durchschnittswerte von den 11 Versuchen allein nimmt, in denen weniger als 1 ccm per Sekunde aufgenommen oder abgegeben worden ist, erhält man den Wert 45,96 mm, also ganz den gleichen. Wenn man zur Bestimmung des Durchschnittswertes der Kohlensäurespannung des Pulmonalarterienblutes nur diejenigen Versuche, in denen der Kohlenstoffaustausch unter 1 ccm per Sekunde gewesen ist, benützt, erhält man auf keinen Fall Versuche, in denen der Spannungsausgleich zwischen Blut und Lungenluft unvollständig gewesen ist.

Die Betrachtung der graphischen Darstellung der Versuchsreihe in Tabelle II hat zu folgenden Resultaten geführt:

1. Die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut bei einer Versuchsperson im Ruhezustand ist nicht ganz konstant, trotz Gleichheit in den äußeren Vorbedingungen. In dieser Reihe hat die Sauerstoffspannung 4 mm geschwankt, die Kohlensäurespannung 6,6 mm.

2. Die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut bei einer Versuchsperson unter gegebenen Versuchsbedingungen muß deshalb als Mittelzahl von einer Reihe von Versuchen bestimmt werden.

3. Wenn die Versuche mit der hier angewandten Methodik ausgeführt werden, kann man zur Berechnung dieser Mittelzahlen nur Resultate von solchen Versuchen gebrauchen, während deren weniger als 1 ccm Sauerstoff oder Kohlensäure per Sekunde aufgenommen oder abgegeben ist. Am zweckmäßigsten ist es, wenn ebenso viele Versuche mit Aufnahme wie mit Abgabe der erwähnten Luftarten vorhanden sind.

4. Das Blut scheint unter den gegebenen Verhältnissen den Sauerstoff schneller aufzunehmen als abzugeben.

Außer der Versuchsreihe in Tabelle II ist an derselben Person A. c. 4 Monate später eine neue Versuchsreihe über die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut unter denselben Versuchsbedingungen (liegende Stellung und vor den Versuchen eine halbstündige Ruhe) ausgeführt worden. Die Resultate sind in Tabelle IV aufgeführt. In dieser Versuchsreihe beträgt der Durchschnittswert für die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes in den Versuchen, wo unter 1 cm Sauerstoff per Sekunde aufgenommen oder abgegeben worden ist, 44,9 mm, für dessen Kohlensäurespannung 46,6 mm, also dieselben Werte wie in der früheren Versuchsreihe (44,2 und 46,0 mm).

Tabelle I enthält eine Versuchsreihe, die an einem andern jungen Mann P. (20 Jahre, Gewicht 74 kg, Höhe 1,72 m Residualluft 1,03 l) ausgeführt wurde. Auch diese Versuche wurden in liegender Stellung nach halbstündiger Ruhe ausgeführt. Die Durchschnittswerte betragen für die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut 40,7 mm, für die Kohlensäurespannung 45,2 mm.

Unter den Versuchen an P ist eine Reihe von 6 Versuchen zu finden, die am selben Tag, und zwar im Laufe von 3 Stunden (Nr. 8—13) ausgeführt worden sind. Während der Versuche lag P. beständig auf einem Feldbett, und zwischen 2 Versuchen waren wenigstens 20 Minuten vergangen. In allen 6 Versuchen war der Austausch von Sauerstoff und Kohlensäure weniger als 1 cm³ per Sekunde. Die Versuchsergebnisse waren folgende:

Versuchs-Nr.	8	9	10	11	12	13
Zeit(Nachmittag)	2 ²⁰	2 ⁴⁰	3 ⁰⁰	4 ³⁰	4 ⁵⁰	5 ³⁰
Versuchsdauer	0,196 Min.	0,184 Min.	0,185 Min.	0,206 Min.	0,266 Min.	0,265 Min.
Kohlensäurespannung	46,1 mm	45,0 mm	45,7 mm	45,0 mm	44,2 mm	43,5 mm
Sauerstoffspannung	41,0 mm	39,1 mm	38,5 mm	38,8 mm	39,2 mm	42,1 mm

Die Reihe zeigt, wie relativ klein die Schwankungen in den Werten der Kohlensäure- und Sauerstoffspannung im Pul-

monalarterienblut innerhalb kürzerer Zeit ist, nämlich beziehungsweise 2,6 und 3 mm.

Tabelle V enthält Versuche an einem Mann mittleren Alters L. (44 Jahre, Gewicht 63 kg, Höhe 1,71 m, Residualluft 1,22 l). In dieser Versuchsreihe hat betreffende Person eine sitzende Stellung eingenommen. Während 3 dieser Versuche hat er je in 3 Tempi ausgeatmet, mit Probenahme nach jeder partiellen Expiration, anstatt wie sonst in zwei. Die Tabelle zeigt, daß diese Änderung im Verfahren keine Vorteile bietet. Für L. beträgt der Durchschnittswert der Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes 35,1 mm, dessen Kohlensäurespannung 45,3 mm.

In den 4 Versuchsreihen sind die Variationen in den Versuchsergebnissen von selber Größe gewesen. Die Sauerstoffspannung schwankt in Tabelle I 4,8 mm, in II 4 mm, in IV 5,8 mm und in V 3,1 mm. Dies bedeutet Schwankungen von ca. 5% nach beiden Seiten der Mittelzahl. Die Schwankungen sind eher kleiner als in den Werten von anderen Funktionsmessungen einer Person unter gleichen äußeren Verhältnissen, z. B. Ruhestoffwechsel. Es ist deshalb berechtigt, bei jeder einzelnen Versuchsperson mit einem Mittelwert der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut während des Ruhezustandes zu rechnen.

Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Resultate.

Versuchsperson	Lage	Kohlensäurespannung des Pulmonalarterienblutes			Sauerstoffspannung		
		Max.	Min.	Durchschn.	Max.	Min.	Durchschn.
P.	liegend	47,3 mm	42,4 mm	45,2 mm	43,3 mm	38,5 mm	40,7 mm
A. (Mai-Juni)	"	49,5 "	42,9 "	46,0 "	46,2 "	42,2 "	44,2 "
A. (Spt.-Okt.)	"	48,8 "	45,2 "	46,6 "	48,3 "	42,5 "	44,9 "
L.	sitzend	46,5 "	43,9 "	45,3 "	36,7 "	33,6 "	35,1 "

Die Durchschnittswerte für die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes zeigen für die 3 Versuchspersonen untereinander größere Unterschiede als die Durchschnittswerte für die Kohlensäurespannung.

II. Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut während Muskelarbeit.

Über diese Frage habe ich nur eine einzelne Versuchsreihe ausgeführt. Obgleich ihre Resultate selbstverständlich nicht generalisiert werden können, will ich sie doch anführen, da es mir vorkommt, daß sie einiges Interesse haben. Es liegt nur ein einziger Versuch vor, in dem beim Menschen eine direkte Bestimmung der Kohlensäure- und Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut während der Muskelarbeit vorgenommen worden ist. Der Versuch ist von Loewy und v. Schroetter⁶⁾ mit ihrer früher erwähnten Lungenkathetermethode ausgeführt worden, und dessen Resultat ist als Nr. 14 in der auf Seite 3 angeführten Tabelle verzeichnet, die über die wohlgelungenen Resultate dieser Verfasser berichten. Während des Versuches führte die Versuchsperson eine Arbeit aus, die darin bestand, ein Gewicht von 5 kg dreimal in der Minute zu einer Höhe von 70 cm emporzuheben (= wenigstens 10,5 kgm per Minute), was ja eine sehr geringe Arbeit ist. Es wurde im Pulmonalarterienblut eine Kohlensäurespannung zwischen 6,6 und 6,9⁰/₀ (= 47 bis 49 mm) und eine Sauerstoffspannung zwischen 5,4 und 5,5⁰/₀ (= 38 bis 39 mm) gefunden. Loewy und v. Schroetter geben an, daß diese Werte nicht von denjenigen abweichen, die bei Personen im Ruhezustand gefunden werden; und daß sie darin recht haben, ist aus der Tabelle Seite 4 ersichtlich und ebenfalls aus meinen Versuchstabellen I, II, IV, V.

Über die Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut während der Muskelarbeit weiß man, abgesehen vom Resultat dieses einen Versuches, nichts. In den letzten Jahren sind dagegen zahlreiche Untersuchungen über die Kohlensäurespannung in der Alveolärluft während der Muskelarbeit gemacht worden. Haldane und Priestley¹⁴⁾ fanden, daß die Kohlensäurespannung der Alveolärluft bei moderater Muskelarbeit erhöht, bei anstrengender Arbeit aber herabgesetzt wurde. Später zeigten Krogh und Lindhard¹⁵⁾, daß Haldanes Methodik sich nicht dazu eignete, die Zusammensetzung der Alveolärluft während der Muskelarbeit zu bestimmen; ihre Bestimmungen nach neueren Methoden, in Verbindung mit

Tabelle I.

Ruheversuche (liegend), Versuchsperson P. ♂ 20 Jahre, Höhe: 172 cm, Gewicht: 74 kg, Sauerstoffkapazität des Blutes: 19,1 Volumenprozent, Residualluft: 1,03 l. März bis April 1914.

1. Versuchs-Nummer	2. Datum	3. Baro- meter mm	4. Versuchs- dauer Min.	5. Luftinhalt der Lungen l	6. Kohlensäure				7. Sauerstoff				15. An- merkung	
					6. nach der ersten Expiration %	7. nach der zweiten Expiration mm	8. auf- genommen + oder abgegeben ÷ während des V. r. suches ccm	9. per Sek. ccm	11. nach der ersten Expiration %	12. nach der zweiten Expiration mm	13. auf- genommen + oder abgegeben ÷ während des V. r. suches ccm	14. per Sek. ccm		
1.	11./3.	755,3	0,142	2,47	6,19	6,27	44,4	1,9	0,22	5,18	5,45	38,6	6,3	0,74
2.	11./3.	755,3	0,168	3,19	5,80	6,32	44,7	1,54	1,54	7,75	6,90	48,9	+25,4	+2,52
3.	12./3.	756,4	0,156	3,12	6,44	6,43	45,6	+0,3	+0,03	5,79	6,10	43,3	+9,1	+0,97
4.	12./3.	756,4	0,184	2,96	6,10	6,31	44,8	+5,8	+0,52	5,94	5,76	40,9	+4,9	+0,44
5.	12./3.	756,4	0,140	2,48	6,56	6,41	45,5	+3,4	+0,40	6,04	6,10	43,3	+1,4	+0,17
6.	18./3.	751,0	0,130	3,01	5,82	6,02	42,4	5,6	0,72	5,16	5,54	39,0	+10,6	+1,36
7.	18./3.	751,0	0,150	3,12	6,15	6,24	43,9	2,6	0,29	5,92	5,83	41,0	+2,6	+0,29
8.	19./3.—200 h	7:0,5	0,196	3,02	6,76	6,55	46,1	+5,8	+0,49	5,70	5,83	41,0	+3,6	+0,31
9.	19./3.—240 h	750,5	0,184	3,21	6,53	6,40	45,0	+3,9	+0,35	5,78	5,65	39,1	+3,9	+0,35
10.	19./3.—300 h	750,5	0,185	2,92	6,60	6,49	45,7	+3,0	+0,27	5,48	5,47	38,5	+2,3	+0,08
11.	19./3.—400 h	750,5	0,206	2,76	6,41	6,40	45,0	+0,3	+0,24	5,61	5,52	38,8	+2,3	+0,19
12.	19./3.—400 h	750,5	0,266	2,99	6,15	6,29	44,2	3,9	0,24	5,72	5,56	39,2	+4,4	+0,28
13.	19./3.—500 h	750,5	0,265	2,99	6,33	6,17	43,5	+4,4	+0,28	5,91	5,99	42,1	+2,5	+0,16
14.	1./4.—200 h	759,5	0,228	3,79	6,06	6,33	45,1	9,6	0,70	5,78	5,75	41,0	+1,0	+0,17
15.	1./4.—300 h	759,5	0,149	2,79	6,80	6,63	47,3	+4,4	+0,49	5,94	5,89	42,0	+1,3	+0,15

22

Tabelle II.

Ruheversuche (liegend), Versuchsperson A. ♂ 27 Jahre, Höhe: 177 cm, Gewicht: 65 kg, Sauerstoffkapazität des Blutes: 19,3 Volumenprozent, Residualluft: 1,19 l. Mai bis Juni 1914.

1. Versuchs- Nummer	2. Datum	3. Baro- meter mm	4. Versuchs- dauer Min.	5. Lufthalt der Lungen l	6. Kohlensäure				7. Sauerstoff				15. An- merkung	
					nach der ersten Expiration o/o	nach der zweiten Expiration mm	auf- genommen + abgegeben - während des Ver- suches ccm	per Sek. ccm	nach der ersten Expiration o/o	nach der zweiten Expiration mm	auf- genommen + abgegeben - während des Ver- suches ccm	per Sek. ccm		
16.	4./5.—3 ⁰⁰ h	756,0	0,172	3,18	6,94	6,95	49,3	- 0,3	- 0,08	7,38	6,65	47,2	+21,6	+2,09
17.	4./5.—4 ⁰⁰ h	756,0	0,141	3,79	6,27	6,85	48,6	-20,4	-2,42	6,98	6,50	46,1	+17,0	+2,01
18.	15./5.	770,0	0,138	3,13	6,78	6,37	46,1	+12,2	+1,48	4,60	5,56	40,2	-27,5	+3,32
19.	15./5.	770,0	0,154	2,80	6,64	6,48	46,8	+4,3	+0,47	4,82	5,47	39,6	-16,6	+1,79
20.	18./5.	768,7	0,197	2,38	7,09	6,52	47,9	+12,9	+1,09	6,60	6,35	45,8	+5,1	+0,43
21.	18./5.	768,7	0,158	2,77	6,21	6,32	45,6	-2,4	-0,25	5,39	5,87	42,4	+7,4	+0,78
22.	20./5.—2 ⁰⁰ h	768,7	0,130	1,89	6,41	6,53	47,2	-2,2	-0,28	6,33	6,40	46,2	-1,2	-0,15
23.	20./5.—4 ⁰⁰ h	768,7	0,134	3,13	6,85	6,54	47,3	+9,2	+1,14	4,83	5,51	39,7	-20,2	+2,51
24.	22./5.—3 ⁰⁰ h	768,7	0,139	2,78	6,23	6,43	46,4	-5,2	-0,22	6,11	6,21	44,9	-2,7	-0,32
25.	22./5.—4 ⁰⁰ h	768,7	0,137	2,83	6,32	6,56	47,3	-6,5	-0,79	6,43	6,25	45,2	+4,8	+0,58
26.	29./5.	761,6	0,141	2,72	5,89	6,14	43,9	-6,4	-0,76	4,70	5,59	39,9	-22,3	+2,64
27.	29./5.	761,6	0,136	2,96	6,01	6,22	44,5	-5,8	-0,71	4,74	5,45	39,0	-19,4	+2,37
28.	3./6.	758,6	0,164	2,70	5,49	6,07	43,2	-12,1	-1,21	5,89	5,94	42,2	-1,7	-0,17
29.	3./6.	758,6	0,139	2,88	5,81	6,03	42,9	-5,9	-0,73	5,25	5,64	40,1	-10,4	+1,25
30.	5./6.	750,6	0,156	2,64	6,48	6,65	46,8	-4,2	-0,45	5,95	6,08	42,8	-3,2	-0,34
31.	8./6.—3 ⁰⁰ h	757,7	0,131	2,74	4,97	5,72	40,7	-19,3	-2,46	6,62	6,23	44,3	+10,1	+1,29
32.	8./6.—4 ⁰⁰ h	757,7	0,136	2,73	7,50	6,96	49,5	+13,6	+1,61	6,40	6,28	44,7	+3,1	+0,38
33.	8./6.—4 ⁰⁰ h	757,7	0,141	3,11	6,55	6,31	44,9	+7,5	+0,33	5,89	6,11	48,5	+6,4	+0,76

Tabelle III.
Arbeitsversuche (auf Kroghs Fahrrad-Ergometer), Versuchsperson A. (siehe Tabelle II), Juni bis Sept. 1914.

1. Versuchs-Nummer	2. Datum	3. Barometer mm	4. Versuchsdauer Min.	5. Luftgehalt der Lungen l	6. Kohlensäure				7. Sauerstoff				16. Die Arbeitsgröße kg/m	Anmerkungen		
					6. nach der ersten Expiration %	7. nach der zweiten Expiration %	8. nach der zweiten Expiration mm	9. während des Ver- suches ccm	10. auf- genommen + oder abgegeben -; per Se- kunde ccm	11. nach der ersten Expiration %	12. nach der zweiten Expiration %	13. nach der zweiten Expiration mm			14. während des Ver- suches ccm	15. auf- genommen + oder abgegeben -; per Se- kunde ccm
34.	13./6.	764,3	0,070	3,60	6,42	6,76	48,5	-11,5	-2,74	3,98	4,28	30,7	-10,2	-2,43	222	
35.	13./6.	764,3	0,081	3,65	8,54	8,20	58,9	+11,7	+2,41	4,30	4,50	32,3	-6,9	-1,42	228	
36.	13./6.	764,3	0,068	2,91	7,13	7,20	51,7	-1,9	-0,47	4,56	4,50	32,3	+1,6	+0,39	220	
37.	15./6.	762,4	0,079	2,44	6,42	6,83	48,9	-9,4	-1,98	5,49	4,76	34,1	+16,8	+3,55	186	
38.	15./6.	762,4	0,077	2,91	7,08	7,09	50,7	-0,3	-0,06	4,92	5,11	36,6	-5,2	-1,12	205	
39.	15./6.	762,4	0,074	2,99	6,73	6,96	49,8	-6,5	-1,46	5,52	5,45	39,0	+1,9	+0,43	197	
40.	31./8.	766,5	0,063	2,58	7,51	7,38	53,1	+3,2	+0,85	4,91	5,08	36,5	-4,2	-1,11	201	
41.	31./8.	766,5	0,086	2,42	8,95	8,15	58,6	+18,4	+3,57	4,54	4,79	34,4	-5,7	-1,10	185	
42.	31./8.	766,5	0,097	3,27	8,83	8,12	58,4	+2,0	+3,77	4,48	4,82	34,6	-10,5	-1,81	188	
43.	2./9.	766,7	0,070	2,74	7,55	7,68	55,2	-3,4	-0,85	5,31	5,07	36,4	+6,3	+1,50	212	Arbeit von 10 Minuten vor dem Versuch
44.	2./9.	766,7	0,070	2,97	9,23	8,47	61,4	+21,4	+5,09	4,69	5,08	36,6	-11,0	-2,62	215	dto.
45.	2./9.	766,7	0,061	3,12	7,28	7,48	53,8	-5,9	-1,61	5,30	5,31	38,2	-0,3	-0,08	251	dto.
46.	4./9.	758,7	0,071	2,84	7,61	7,70	54,8	-2,4	-0,56	5,62	4,67	33,2	+25,0	+5,88	225	dto.
47.	4./9.	758,7	0,084	2,77	7,06	6,91	49,2	+3,9	+0,77	4,88	5,32	37,8	-11,4	-2,26	222	dto.

Tabelle IV.
 Ruheversuche (liegend), Versuchsperson A. (siehe Tabelle II), September—Oktober 1914.

1. Versuchs-Nummer	2. Datum	3. Barometer mm	4. Versuchsdauer Min.	5. Luftgehalt der Lungen l	6. Kohlensäure				11. Sauerstoff				Anmerkungen
					nach der Expiration %	nach der zweiten Expiration mm	auf- genommen + oder abgegeben - während des Ver- suches ccm	per Se- kunde ccm	nach der Expiration %	nach der zweiten Expiration mm	auf- genommen + oder abgegeben - während des Ver- suches ccm	per Se- kunde ccm	
48.	16./9.	758,7	0,118	2,94	7,74	51,3	+14,6	5,88	44,8	-11,1	-1,57		
49.	16./9.	758,7	0,161	2,93	6,87	4,8	+0,6	6,27	42,8	+7,1	+0,73		
50.	25./9.—2 ³⁰ h	740,0	0,138	3,10	7,41	50,5	+13,2	6,50	43,7	+13,3	+1,61		
51.	25./9.—3 ⁴⁰ h	770,0	0,169	2,75	7,30	52,8	+101,7	6,02	44,0	-1,8	-0,18		
52.	25./9.—2 ³⁰ h	735,5	0,173	3,05	6,52	45,2	-1,1	6,11	42,5	-1,6	-0,15		
53.	28./9.—4 ⁰⁰ h	735,5	0,161	2,61	7,25	43,2	+23,2	6,78	46,6	+0,3	+0,03		
54.	30./9.—2 ⁵⁵ h	763,0	0,137	2,58	5,80	45,0	-11,9	6,59	43,8	+11,7	+1,42	59	
55.	30./9.—3 ⁴⁰ h	763,0	0,132	2,92	6,40	47,2	-5,2	6,55	45,1	+6,9	+0,87	56	
56.	9./10.—3 ⁰⁰ h	766,0	0,155	2,71	5,62	45,1	-9,0	6,40	44,8	+4,6	+0,49	65	
57.	9./10.—3 ⁴⁵ h	766,0	0,125	2,99	5,97	45,4	-9,9	6,91	48,3	+5,7	+0,76	65	

Puls: 60
 " 54
 " 66
 " 59
 " 56
 " 65
 " 65

Tabelle V.

Ruheversuche (sitzend), Versuchsperson L. ♂ 44 Jahre, Höhe: 171 cm, Gewicht: 68 kg, Sauerstoffkapazität des Blutes: 17,8 Volumenprozent, Residualluft: 1,22 l. Oktober 1914.

1.	2.	3.	4.	5.	Kohlensäure				Sauerstoff				Anm	n		
					Baro- meter dauer	Versuchs- dauer	Luftgehalt der Lungen	nach der ersten Expiration	nach der zweiten Expiration	aufge- nommen (+) oder ab- gegeben (-)	während des Ver- suchs	per Sek.			nach der ersten Expiration	nach der zweiten Expiration
Versuchs-Nr.	Datum	mm	Min.	l	%	%	mm	ccm	ccm	%	%	mm	ccm	ccm		
58.	10. 10.	768,5	0,115	3,81	6,06	6,36	46,0	÷ 10,8	÷ 1,56	5,68	5,02	36,2	+ 24,0	+ 3,47		Puls: 65
59.	10./10.	768,5	0,159	4,51	6,41	6,44	46,5	÷ 1,3	÷ 0,14	5,12	4,97	35,9	+ 6,5	+ 0,68		" 66
60.	12./10.-3 ^{30h}	760,5	0,105	3,53	5,45	6,00	42,8	÷ 18,2	÷ 2,89	5,00	4,75	33,9	+ 7,3	+ 1,16		Puls 66 (Kreislaufversuch
64.	17./10.-2 ^{30h}	765,0	0,146	3,63	5,70	6,12	44,0	÷ 14,4	÷ 1,64	5,40	4,99	35,8	+ 13,9	+ 1,58		" 69) am selben Tag.

1.	2.	3.	4.	5.	Kohlensäure				Sauerstoff				An- merkungen										
					Versuchs- dauer	Versuchs- dauer	Luft- gehalt der Lungen	nach der dritten Expiration	nach der zweiten Expiration	aufgenommen (+) oder abgegeben (-)	während des Versuchs	per Sekunde		nach der dritten Expiration	nach der zweiten Expiration	aufgenommen (+) oder abgegeben (-)	während des Versuchs	per Sekunde					
Versuchs-Nr.	Datum	mm	Min.	l	%	%	mm	ccm	ccm	%	%	mm	ccm	ccm	ccm	ccm							
61.	12.10.-2 ^{30h}	760,5	0,085	0,0775	4,21	7,3	6,31	6,54	6,25	44,6	7,4	4,7	÷ 1,5	+ 1,01	4,68	4,75	5,00	35,7	4,1	÷ 8,5	÷ 0,80	÷ 1,84	68
62.	14.10.-2 ^{30h}	764,5	0,079	0,0764	0,01	1,94	7,29	6,44	6,33	45,4	28,4	1,6	+ 5,98	+ 0,37	6,22	5,14	5,12	36,7	44,0	+ 0,3	+ 9,37	+ 0,07	65
63.	14.10.-3 ^{00h}	764,5	0,079	0,0854	0,02	2,24	5,64	6,01	6,12	43,9	17,8	2,4	÷ 3,75	÷ 0,47	4,72	4,73	4,69	33,6	0,2	+ 1,0	÷ 0,04	+ 0,20	63

Puls
Kreislauf-
versuch
am selben
Tag

Lindhards späteren Versuchen¹⁶⁾ zeigen, daß die Variationen in der alveolären Kohlensäurespannung während der Muskelarbeit kleine und wechselnde sind. Hierdurch läßt sich aber gar nichts in betreff des Verhältnisses der Kohlensäure im venösen Blut der Pulmonalarterien berechnen.

Über die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut während der Muskelarbeit hat man auf indirektem Weg durch Krogh und Lindhards Untersuchungen über das Minutenvolumen des Herzens im Ruhezustand und während der Arbeit^{11) 16)} Aufklärungen erlangt. In Lindhards zahlreichen Versuchen zeigt es sich, daß während der Muskelarbeit ein größerer Bruchteil vom Sauerstoff des Blutes in den Capillären verbraucht wird als bei Muskelruhe (dasselbe hat sich früher bei Zuntz und Hagemanns Versuchen an Pferden¹⁷⁾ gezeigt). Hiernach dürfte man erwarten, die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut während der Muskelarbeit herabgesetzt zu finden.

Die 14 Versuche, die ich über diese Frage ausgeführt habe, sind in Tabelle III angeführt. Alle Versuche sind an der früher erwähnten Versuchsperson A. (siehe Tabelle II und IV), die nicht trainiert war, ausgeführt worden. Während des Versuches führte A. eine Arbeit aus, indem er auf Kroghs Fahrrad-Ergometer [von Krogh beschrieben¹⁸⁾] ritt. Die Arbeit war soweit möglich in allen Versuchen gleichartig (ca. 200 kg/m per Minute), indem das Fahrrad-Ergometer immer gleich belastet war (1 kg). Da A. nicht in allen Versuchen mit genau derselben Fahrschnelligkeit fuhr, variierte die gemessene Arbeit zwischen 185 und 251 kg/m per Minute. In den Versuchen 34 bis 42 (Tabelle III) fuhr A. 3 bis 4 Minuten, bevor die Spannungsbestimmungen ausgeführt wurden, in den Versuchen 43 bis 47 10 Minuten. Dieser Unterschied ist ohne Einfluß auf die Resultate gewesen.

Die ausgeübte Muskelarbeit war nicht besonders anstrengend, aber doch ca. 20 Mal größer als diejenige in Loewy und v. Schroetters erwähntem Versuch. Versuche mit sehr großen Arbeitsleistungen mißrieten, da die Versuchsperson während dieser den Atem nicht so lange anhalten konnte, wie die Versuche es erforderten.

Die Bestimmung der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung

im Pulmonalarterienblut wurde auf dieselbe Art wie in den Ruheversuchen vorgenommen, nur wurden die Luftproben in evakuierten Behältern aufgesammelt, um dadurch Zeit zu sparen. Die Versuchsdauer betrug 3,7 bis 5,8 Sekunden, in den meisten Versuchen ungefähr 4,5 Sekunden. Die Ruheversuche dauerten ca. 10 Sekunden. Die kurze Versuchsdauer war notwendig, da A. während der Muskelarbeit nur kurze Zeit imstande war, den Atem anzuhalten; auch aus theoretischen Gründen ist die kurze Versuchszeit günstig, da ein Versuch, wie erwähnt, wenn möglich nicht länger als die Hälfte der Kreislaufzeit dauern darf.

Wegen der größeren Strömungsschnelligkeit des Blutes muß der Ausgleich zwischen den Luftspannungen in der Lungenluft und im Blut schneller in Arbeitsversuchen als in Ruheversuchen vor sich gehen. Eine graphische Darstellung der Versuchsergebnisse in Tabelle III gibt indessen keine Aufklärungen. Die gefundenen Werte für die Sauerstoffspannung fallen innerhalb derselben Grenze, gleichgültig ob viel oder wenig Sauerstoff per Sekunde zwischen dem Blut und der Lungenluft ausgewechselt worden war. Versuch 34 muß doch ausgenommen werden, in demselben wurde per Sekunde besonders viel Sauerstoff vom Blut (2,43 ccm) abgegeben, und die Sauerstoffspannung war niedriger wie gewöhnlich (30,7 mm). In allen übrigen Versuchen liegen die gefundenen Sauerstoffspannungen zwischen 32,3 mm und 39,0 mm, und diese beiden Werte sind in den Versuchen 36 und 39 gefunden, wo der Sauerstoffaustausch zwischen Blut und Lungenluft per Sekunde so klein (0,39 und 0,43 ccm) gewesen ist, daß sicher Spannungsausgleich erreicht wurde. Die Mittelzahl von allen gefundenen Werten für die Sauerstoffspannung beträgt 35,2 mm (wenn Versuch 34 außer Betracht gelassen wird, bekommt man 35,5 mm. Die Auslassung hat also keine Bedeutung).

Was die Kohlensäurespannung anbelangt, so scheint kein Spannungsausgleich in den Versuchen 41, 42 und 44 eingetreten zu sein. In diesen 3 Versuchen hat das Blut über 3 ccm Kohlensäure per Sekunde aufgenommen, und die Versuche haben besonders hohe Werte für die Kohlensäurespannung (58,4 mm bis 61,0 mm) gegeben. In Versuch 35 ist ebenfalls eine außergewöhnlich hohe Kohlensäurespannung (58,9 mm) gefunden

worden, obgleich die Kohlensäureaufnahme des Blutes per Sekunde nicht völlig so hoch (2,4 ccm) gewesen ist. Werden die Versuche 41, 42 und 44 außer Betracht gelassen, beträgt der Mittelwert für die Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut 52,2 mm. Die Resultate der 3 Versuchsreihen, die an Person A. angestellt wurden, sind in folgender Tabelle angeführt:

Versuchsperson A.	Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut			Sauerstoffspannung			
	Max.	Min.	Durchschn	Max.	Min.	Durchschn.	
Ruhe {	Mai-Juni	49,5 mm	42,9 mm	46,0 mm	46,2 mm	42,2 mm	44,2 mm
	Sept.-Okt.	48,8 "	45,2 "	46,6 "	48,3 "	42,5 "	44,9 "
Arbeit (Jun.-Spt.)	58,9 mm	48,5 mm	52,2 mm	39,0 mm	30,7 mm	35,2 mm	

Die Variationen in der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut ist größer in den Arbeitsversuchen wie in denjenigen der Ruhe (10 und 12% zu beiden Seiten der Mittelzahl gegenüber 6 und 7%). Dies ist sehr natürlich, da die ausgeübte Muskelarbeit, wie erwähnt, während der verschiedenen Versuche nicht ganz die gleiche war.

Nach obiger Tabelle herrscht kein Zweifel darüber, daß die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes bei A. während der angewandten Muskelarbeit herabgesetzt ist. Der Durchschnittswert der Sauerstoffspannung liegt nicht allein in den Arbeitsversuchen 9 mm niedriger als in den Ruheversuchen, sondern der Maximumwert eines Arbeitsversuches beträgt 39,0 mm, während der Minimumwert eines Ruheversuches 42,2 mm ist. Dies bestätigt also Kroghs und Lindhards Resultate, die auf ganz anderem Weg erreicht worden sind. Es stimmt dagegen nicht mit Loewy und v. Schroetters Versuch überein.

Die Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut ist, nach der Tabelle zu urteilen, bei A. in der Regel höher bei Muskelarbeit als im Ruhezustand, der Unterschied ist aber weniger ausgesprochen als in betreff des Sauerstoffes. Bei den Durchschnittszahlen für die Kohlensäurespannung ist nur ein Unterschied von 6 mm vorhanden, und das Maximum für die Kohlensäurespannung während der Ruhe (46,5 mm) liegt etwas höher als das Minimum während der Arbeit (48,5 mm). Hierdurch

wird das Resultat von Loewy und v. Schroetters oft genanntem Versuch in betreff der Kohlensäure verständlich.

III. Über Messung des Minutenvolumens des Herzens beim Menschen.

Vor wenigen Jahren haben Aug. Krogh und Lindhard eine Methode zur Messung des Minutenvolumens des Herzens beim Menschen¹¹⁾ ausgearbeitet. Die Methode ist auf einem Prinzip basiert, das Bornstein¹⁸⁾ angegeben hatte, und sie besteht in kurzen Zügen aus folgendem: Von einem Spirometer atmet die Versuchsperson ein paarmal atmosphärische Luft ein, zu der ca. 14⁰/₁₀ Stickstoffoxydul (N₂O) gesetzt ist; nach der letzten Einatmung haucht die Versuchsperson etwas Luft in das Spirometer aus, hält den Atem einige Zeit an und expiriert den Rest der Luft in ihren Lungen aus. Die Zeit, in der der Atem angehalten wird, ist die eigentliche Versuchsperiode (von 4 bis 12 Sekunden); dieser Zeitraum wird genau gemessen. Von der Luft, die vor und nach der Versuchsperiode ausgeatmet wird, werden Proben analysiert; diese Analysen zeigen, daß in der Versuchsperiode, während der der Atem angehalten wurde, etwas vom Stickstoffoxydul aus der Luft verschwunden ist. Dies beruht darauf, daß das Blut, das in der Versuchszeit durch die Lungen geflossen ist, etwas Stickstoffoxydul absorbiert hat. Da indessen diese Luftart nicht am Hämoglobin gebunden wird, sondern nach dem physischen Absorptionsgesetz im Blutplasma absorbiert wird, und da das Blut sich wegen des Baues der Lungen mit Stickstoffoxydul bei dem anwesenden Partialdruck sättigen will, kann man ausrechnen, wieviel Blut in der Versuchszeit die Lungen passiert hat, wenn man nur weiß, wieviel Stickstoffoxydul in dieser Zeit absorbiert (verschwunden) ist, wie hoch die Spannung des Stickstoffoxyduls in der Lungenluft gewesen ist und wie groß der Absorptionskoeffizient des Blutes für Stickstoffoxydul ist. Wenn man die Blutmenge kennt, die während der Versuchszeit die Lungen passiert hat, wird das Minutenvolumen des Herzens hierdurch berechnet. Krogh und Lindhard nehmen am gefundenen Wert eine Korrektion vor. Das Minutenvolumen ist nämlich bestimmt worden, während die Versuchsperson den

Atem anhielt, also unter abnormen Verhältnissen. Wenn man voraussetzt, daß die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes unter identischen Versuchsbedingungen konstant ist, muß das Minutenvolumen mit der Sauerstoffaufnahme für dieselbe Versuchsperson unter denselben Verhältnissen und innerhalb kurzer Zeiträume proportional sein. Die Sauerstoffaufnahme der Versuchsperson wird während des Kreislaufversuches bestimmt. Durch Bestimmung seiner normalen Sauerstoffaufnahme während der Versuchsbedingungen läßt sich der gefundene Wert für das Minutenvolumen des Herzens korrigieren oder, wie Krogh und Lindhard es nennen, auf die normale Sauerstoffaufnahme reduzieren. Was die Technik und die Einzelheiten der Methode anbelangt, wird auf Kroghs und Lindhards Arbeiten^{10) 11) 16)} hingewiesen.

In letzter Zeit ist Krogh und Lindhards Methode zu mehreren Untersuchungsreihen über wichtige physiologische und pathologische Fragen^{16) 20) 21)} angewandt worden. Es sind indessen nie Kontrollversuche über die Korrektheit der Methode vorgenommen worden.

Jede Kontrolluntersuchung besteht darin, die gleiche Größe durch zwei voneinander unabhängige Methoden zu bestimmen. Wenn man bei einer Versuchsperson das Minutenvolumen des Herzens teils nach Krogh und Lindhards Methode, teils unter denselben Vorbedingungen nach einer ganz anderen Methode bestimmen könnte, würden die Resultate kaum übereinstimmen, wenn eine der Methoden systematische Fehler enthielte.

Krogh und Lindhards Methode beruht, wie erwähnt, auf Bornsteins Prinzip: Absorption des Blutes in den Lungen von einer indifferenten Luftart. Es ist indessen die Möglichkeit vorhanden, das Minutenvolumen des Herzens bei Menschen nach einem ganz anderen Prinzip zu messen, ein Prinzip, das Adolf Fick im Jahre 1870²²⁾ angab. Ficks Prinzip beruht auf folgendem: Wenn man den prozentischen Sauerstoffgehalt im Blut, das den Lungen zuströmt, und im Blut, das davon abfließt, sowie auch die Menge des Sauerstoffes, die in einer gegebenen Zeit aufgenommen worden ist, kennt, kann man hieraus die Menge desjenigen Blutes, das die Lungen in dem Zeitraum passiert, berechnen.

Gréhant und Quinquaud²³⁾ und später Zuntz und Hagemann¹⁷⁾ bestimmten das Minutenvolumen des Herzens bei Tieren nach der Fickschen Methode. Bei Untersuchungen an Menschen waren Loewy und v. Schroetter die ersten, die das Prinzip in ihren früher erwähnten Arbeiten⁶⁾ anwandten. Ihre Versuche wurden mit einer außergewöhnlichen Energie und Umsicht durchgeführt; wenn ihre Resultate jetzt nicht befriedigen, beruht dies zum Teil auf Beobachtungen in betreff der Sauerstoffbindung des Blutes, die einem späteren Datum als die Versuche angehören. Loewy und v. Schroetter bestimmten die Sauerstoffmengen im Blut der rechten und linken Herzseite auf indirektem Weg; teils bestimmten sie die Sauerstoffspannungen im Pulmonalarterienblut und im Blut der Pulmonalvenen, teils das Verhältnis zwischen Menge und Spannung vom Sauerstoff im Blut. Hieraus ließen sich die prozentischen Sauerstoffmengen im arteriellen und venösen Blut bestimmen. Endlich wurde die Sauerstoffaufnahme der Versuchspersonen bestimmt.

Die Sauerstoffmenge im arteriellen Blut ist unter normalen Verhältnissen ziemlich leicht mit leidlicher Genauigkeit zu bestimmen, wenn bloß die Sauerstoffkapazität des Blutes bekannt ist; und diese kann aus dem Hämoglobingehalt des Blutes berechnet werden. Die arterielle Sauerstoffspannung ist im Ruhezustand der Sauerstoffspannung der respirierenden Lungenalveolen beinahe gleich, und das Hämoglobin des arteriellen Blutes ist bei dieser Spannung so nahe daran, mit Sauerstoff gesättigt zu sein, daß ein kleiner Fehler bei der Bestimmung der alveolären Sauerstoffspannung keine große Bedeutung erhält*). Aber die besondere Versuchsmethodik (Herunterführen eines Lungenkatheters), die Loewy und v. Schroetter anwandten,

*) Loewy und v. Schroetter berechneten die alveoläre Sauerstoffspannung nach Bohrs Formel von der Zusammensetzung der Expirationsluft und der Größe des schädlichen Raumes der Respirationswege. Sie bestimmten indessen nicht den schädlichen Raum bei ihren Versuchspersonen, sondern rechneten mit einigen ziemlich willkürlichen Durchschnittszahlen. Dies kann sehr große Fehler bei der Bestimmung der Luftspannungen in den Alveolären geben, wie ja Krogh und Lindhard gezeigt haben¹⁵⁾. Unter normalen Verhältnissen haben aber diese Fehler, wie gesagt, eine geringe Bedeutung für die Berechnung der Sauerstoffmenge des arteriellen Blutes.

bewirkte, daß die Schwierigkeiten bei der Bestimmung der Sauerstoffspannung im arteriellen Blut während dieser speziellen Versuche unüberwindlich wurden. Während der Versuche wurde nämlich nicht alles Blut, das die Lungen passierte, arterialisiert, da kein normaler Luftwechsel in demjenigen Teil der Lunge vor sich ging, der durch den Tampon des Lungenkatheters abgesperrt war. Da es nicht bekannt ist, ein wie großer Bruchteil des Blutes die Capilläre des abgesperrten Lungenteils passiert, kann der Sauerstoffgehalt des Arterienblutes gar nicht berechnet werden; und da jeder Versuch vielemal länger dauerte als ein Kreislauf, kann dieses Verhältnis auch Einfluß auf den Sauerstoffgehalt des venösen Blutes ausüben. Loewy und v. Schroetter wissen deshalb selbst auch nicht, wie sie ihre Versuche berechnen sollen, und sie kommen unter einer Voraussetzung zu dem Resultat, daß das Blut während der Versuche 20,6% ihres Sauerstoffes in den Capillären verloren hat, unter einer anderen Voraussetzung bleibt die gleiche Größe in denselben Versuchen 34,2%.

Loewy und v. Schroetter verwandten viel Arbeit darauf, durch Blutproben von ihren Versuchspersonen das Verhältnis zwischen Sauerstoffspannung und -menge durch Tonometerversuche zu bestimmen. Leider aber haben diese Bestimmungen nur geringen Wert, da die Verfasser nicht den großen Einfluß der Kohlensäure auf das Verhältnis zwischen Sauerstoffmenge und Sauerstoffspannung im Blut²⁴⁾ kannten. In den meisten Tonometerversuchen ist die Kohlensäurespannung im Tonometer nicht bestimmt.

Loewy und v. Schroetter waren die ersten, die Ficks Prinzip zu Kreislaufbestimmungen an Menschen benützten, man kann aber sehen, daß ihre Versuche keinen Anspruch auf große Genauigkeit machen können.

Plesch führte spätere Bestimmungen an Menschen in seiner früher erwähnten Arbeit⁷⁾ nach demselben Prinzip aus. Seine Bestimmungen der Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut sind oben angeführt. Plesch rechnet, daß die Sauerstoffspannung im Arterienblut 16 bis 18% Sauerstoff entspricht und 98% der Sauerstoffkapazität des Blutes beträgt, was allerdings etwas zu hoch geschätzt ist; Barcroft und Cooke^{25) 13)} bestimmten die Sauerstoffspannung von Blut, das

direkt von der Arteria radialis eines Menschen genommen war, und fand, daß ihr Sauerstoffgehalt 94⁰/₁₀₀ der Sauerstoffkapazität des Blutes entsprach. Plesch nahm bei seinen Versuchspersonen keine Versuche über das Verhältnis zwischen Sauerstoffspannung und Sauerstoffmenge vor, sondern begnügte sich damit, colorimetrisch die Sauerstoffkapazität des Blutes zu bestimmen und danach die Sauerstoffmenge im Blut der Pulmonalarterien der Sauerstoffspannung entsprechend nach Bohr, Hasselbalch und Kroghs Kurven²⁴) zu berechnen. Eine solche Berechnung kann nur ziemlich grobe Annäherungswerte geben, denn Barcroft hat gezeigt¹⁸), daß die Sauerstoffbindungskurve (das Verhältnis zwischen Sauerstoffspannung und -menge im Blut) bei verschiedenen Personen untereinander variiert und daß diese Variationen nicht nur auf den Variationen in der Kohlensäurespannung beruhen.

Die Genauigkeit, mit der beim Menschen das Minutenvolumen des Herzens nach Ficks Prinzip bestimmt werden kann, hängt, wie man sehen wird, von der Messung folgender vier Größen ab:

- I. Die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut;
- II. Die Sauerstoffspannung im arteriellen Blut (Pulmonalvenenblut);
- III. Die Sauerstoffmengen im Arterien- und Venenblut bei den gefundenen Spannungen;
- IV. Die Sauerstoffaufnahme der Versuchsperson.

In einem früheren Abschnitt ist die Bestimmung der Größe I von 3 Personen beschrieben worden und zwar von A., P. und L. im Ruhezustand. Durch diese Untersuchungen lernte ich eine der Größen kennen, die bestimmt werden muß, wenn man das Minutenvolumen des Herzens nach Ficks Methode messen will, und eben die Größe, zu deren Bestimmung man im voraus keine durchgearbeiteten Methoden hatte. Die Bestimmungen der Größen II, III und IV verursachen mit den Methoden, die uns jetzt zu Gebote stehen, keine größeren Schwierigkeiten. Ich hatte deshalb das Mittel in Händen, das Minutenvolumen des Herzens nach Ficks Prinzip mit weit größerer Genauigkeit messen zu können, als Loewy und v. Schroetter oder Plesch es konnten, und dabei zugleich

Kontrollversuche über Krogh und Lindhards Methode vornehmen zu können.

Solche Kontrolluntersuchungen wurden an 2 der Versuchspersonen, nämlich A. und L., vorgenommen. Bei beiden wurde das Minutenvolumen des Herzens im Ruhezustand gemessen, zuerst nach Ficks Prinzip, danach mit Krogh und Lindhards Methode. Die zwei Bestimmungsarten eignen sich gut zur gegenseitigen Kontrolle, denn sie sind ganz unabhängig voneinander, sowohl im Prinzip wie in den einzelnen Messungen. Keine der ausgeführten Messungen ist gemeinsam für beide Methoden, dies geht aus nachstehender Beschreibung hervor.

Die Bedingungen für einen Vergleich der Resultate waren außerdem besonders gut. Die Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens nach dem Fickschen Prinzip beruht zum großen Teil auf den Bestimmungen der Luftspannungen im Pulmonalarterienblut; unter diesen Bestimmungen machten aber meine Versuchspersonen, wie erwähnt, die gleichen Respirationsbewegungen (Expiration in zwei Tempi nach tiefer Inspiration), die zur Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens nach Krogh und Lindhard ausgeführt wurden. Ich werde später hierauf zurückkehren.

Im nachstehenden wird zuerst die Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens nach Ficks Prinzip bei Versuchsperson A. beschrieben. Die vier Größen, die man notwendigerweise bei dieser Bestimmung messen muß, wurden oben erwähnt.

I. Die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut während der Ruhe. Die Bestimmungen bei A. werden in Tabelle II und IV gefunden und sind auf Seite 319 bis 326 erwähnt. Der Durchschnittswert für die Sauerstoffspannung betrug in der ersten der ausgeführten Versuchsreihen 44,2 mm, in der zweiten 44,9 mm. Der Unterschied der beiden Werte ist bedeutungslos. Da die letztere Reihe kurze Zeit vor den Kreislaufbestimmungen an A. nach Krogh und Lindhards Methode ausgeführt wurde, wird der Wert dieser Reihe: 44,9 mm, gebraucht.

II. Die Sauerstoffspannung im arteriellen Blut (Pulmonalvenenblut) ist bei normaler Respiration nach Barcroft¹³) eine Unerheblichkeit niedriger als die Sauerstoffspannung in der Alveolärluft der Lungen. Da das Blut bei dieser

Spannung beinah mit Sauerstoff gesättigt ist, kann man, ohne einen Fehler von praktischer Bedeutung zu begehen, damit rechnen, daß das Arterienblut die Sauerstoffspannung der Alveolärluft besitzt. Die Zusammensetzung der Alveolärluft bei A. während des Ruhezustandes ist nach Haldanes Methode¹⁴⁾ bestimmt worden (die Bestimmung wurde von Prof. A. Krogh ausgeführt). Die Resultate waren folgende:

In der Alveolärluft	Nach norm. Inspiration	Nach norm. Expiration	Durchschnitt	Barometer
Sauerstoff . .	14,03%	13,82%	14,1 ⁰ / ₀ = 101 mm	} 761,5
Kohlensäure .	5,55%	5,82%	5,7 ⁰ / ₀ = 41 mm	

III. Die Sauerstoffmenge in A.s Blut bei den gefundenen Sauerstoffspannungen. Wie schon erwähnt, hat Barcroft gefunden¹³⁾, daß die Bindungskurve des Sauerstoffs im Blut der verschiedenen Individuen nicht gleich ist, abgesehen von den Verschiedenheiten, die durch Variationen im Hämoglobingehalt und in der Kohlensäurespannung hervorgerufen werden. Selbst mit dem gleichen Hämoglobingehalt, derselben Sauerstoffspannung und derselben Kohlensäurespannung kann das Blut von zwei Menschen oft verschiedene Sauerstoffmengen binden. Man kann deshalb keine Durchschnittskurve für die Bindung des Sauerstoffs zur Bestimmung des prozentischen Sauerstoffgehaltes bei bekannten Luftspannungen benutzen, sondern man muß am Blut jedes einzelnen Individuums die Bestimmungen vornehmen.

Bei Versuchsperson A sind die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterien- und Pulmonalvenenblut während der Ruhe bekannt. Durch direkte Untersuchungen an A.s Blut wird man finden, wieviel Sauerstoff sein Blut bei diesen Spannungen enthält.

Prof. Aug. Krogh hat mir die Freundlichkeit erwiesen, die nötigen Untersuchungen auszuführen.

Die Untersuchungen wurden am 1. XI. 1914 vorgenommen, d. h. kurze Zeit nach der Bestimmung der Luftspannungen der Pulmonalarterien bei A. und kurze Zeit vor den Kreislaufbestimmungen nach Kroghs und Lindhards Methode. Die Bestimmungen an A.s Blut wurden mit derjenigen Methodik vorgenommen, die Barcroft bis ins einzelne angegeben und

beschrieben hat¹³⁾ (S. 297 ff.). Das Verfahren ist im Prinzip folgendes: Ein paar ccm Blut werden in einem geschlossenen Behälter (Tonometer) bei 15° mit einer Menge Luft geschüttelt, in der Sauerstoff und Kohlensäure diejenigen Spannungen haben, bei denen der Sauerstoffgehalt des Blutes bestimmt werden soll. Wenn Gleichgewicht zwischen der Sauerstoffspannung des Blutes und der Tonometerluft vorhanden ist, wird eine Probe der Luft analysiert. Ca. 1 ccm vom Blut wird in den einen Behälter der Barcroft-Apparate getan und zwar zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes des Blutes bei der Differentialmethode, und der Apparat wird in einen Wasserthermostat bei 15° gesetzt. Zuerst wird jetzt der Unterdruck B bestimmt, der im Apparat entsteht, wenn er in abgeschlossenem Zustand geschüttelt wird und das Blut dadurch ganz mit Sauerstoff bei 15° gesättigt wird. Danach wird der Druck im Apparat mit der Atmosphäre ins Gleichgewicht gebracht, er wird wieder abgeschlossen, und man bestimmt den Überdruck C, der im Apparat entsteht, wenn aller Sauerstoff aus dem sauerstoffgesättigten Blut durch Schütteln mit Ferridcyankalium bei 15° herausgetrieben worden ist. $(C \div B) : C \cdot 100$ gibt die prozentische Sauerstoffsättigung des Blutes an, und $B : C \cdot 100$ gibt in Prozenten der Sauerstoffkapazität des Blutes an, wieviel dem Blute fehlte, um mit Sauerstoff gesättigt zu sein. Bei Barcrofts Verfahren ist es überflüssig, die gefundenen Werte für Temperatur und Druck zu korrigieren. Dagegen muß man darauf Rücksicht nehmen, daß die Versuche nicht bei Körpertemperatur ausgeführt werden, und es ist eine Korrektion für denjenigen Sauerstoff notwendig, der im Blutplasma absorbiert wird.

Prof. Krogh nahm 4 Bestimmungen am Blut von A. vor, 2 über seinen Sauerstoffgehalt bei den Luftspannungen im Pulmonalarterienblut und 2 über den Sauerstoffgehalt bei den Luftspannungen der Alveolärluft (derjenigen des Pulmonalvenenblutes entsprechend). Die Resultate waren folgende:

A. Bestimmung der prozentischen Sauerstoffsättigung bei A. bei Luftspannungen, die derjenigen seines Pulmonalarterienblutes während der Ruhe entsprechen (44,9 mm Sauerstoff und 46,6 mm Kohlensäure). Im Körper besitzen die Luftarten des Blutes diese Spannungen bei 37°; die Tonometerbestimmungen werden bei 15° gemacht; bei dieser Temperatur werden die

Sauerstoff- und Kohlensäurespannungen von beziehungsweise 41,7 und 43,3 mm die gleiche Sauerstoffaufnahme im Blut bewirken, wie die oben erwähnten Spannungen bei 37°.

Versuch 1. Die Luftspannungen im Tonometer: 42,8 mm Sauerstoff und 43,5 mm Kohlensäure. A.s Blut fehlt an voller Sauerstoffsättigung (Größe B:C 100): 25,5⁰/₀.

Versuch 2. Luftspannungen im Tonometer: 42,5 mm Sauerstoff und 43,7 mm Kohlensäure. Dem Blut mangelt an Sauerstoffsättigung: 24,6⁰/₀.

Die Mittelzahl für die Sauerstoffspannungen im Tonometer beträgt 42,6 mm, während die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes bei 15° 41,7 mm entspricht. Für diesen Unterschied kann man die gefundenen Werte nach Barcrofts Kurven korrigieren, wenn man zuerst die Konstante K in A. V. Hills Gleichung der Bindungskurve des Sauerstoffs¹³⁾²⁶⁾ berechnet. Für die Person A. wird K nach dem obengenannten Versuch $2,5 \cdot 10 \div 4$, und die gesuchte Korrektion wird danach 0,6⁰/₀ ausmachen.

Also fehlt bei A. das Pulmonalarterienblut an voller Sauerstoffsättigung

$$\left(\frac{25,5 + 24,6}{2} \right) + 0,6 = 25,6^0/0.$$

B. Bestimmung der prozentischen Sauerstoffsättigung des Blutes bei A. den Luftspannungen der Alveolärluft entsprechend (101 mm Sauerstoff und 41 mm Kohlensäure). Zwei Versuche ergaben für die Größe B:C 100 die Werte 2,7⁰/₀ und 1,1⁰/₀; Mittelzahl 1,9⁰/₀. So viel fehlte dem Pulmonalvenenblut bei A. zur völligen Sauerstoffsättigung.

Die gefundenen Resultate zeigen, daß $25,6 \div 1,9 = 23,7^0/0$ von einer Sauerstoffmenge, die der Sauerstoffkapazität des Blutes entspricht, bei A. während der Ruhe in den Geweben verbraucht und in die Lungen aufgenommen wird. Diese Größe muß für den Unterschied im Sauerstoffgehalt des Plasmas korrigiert werden sowohl im arteriellen wie im venösen Blut: $23,7 + 0,2 = 23,9^0/0$. Streng genommen gilt die ganze Berechnung nur, wenn die Sauerstoffkapazität im Blut der Pulmonalarterien und Pulmonalvenen gleich gewesen ist. Und dies ist wohl nicht vollständig der Fall (Unterschied im Wassergehalt). Wenn das Arterienblut, wie es hier der Fall ist, fast sauerstoffgesättigt

ist, wird dies Verhältnis doch ohne Bedeutung sein [Barcroft¹⁸) S. 299].

Die Größe 23,9⁰/₀ bezeichnet, was Krogh und Lindhard bei A. im Ruhezustand den Ausnützungskoeffizient des Blutes genannt haben [Krogh¹⁰) S. 555].

Um die absoluten Werte der Sauerstoffmengen in A.s Blut zu berechnen, muß dessen Sauerstoffkapazität bestimmt werden. Frau Dr. Marie Krogh ist so freundlich gewesen, diese mit einem standardisierten Haldaneschen Hämoglobinometer auszuführen. Drei Bestimmungen (vom 13. XI., 8. XII. u. 22. XII. 1914) ergaben Werte, die den Sauerstoffkapazitäten von 19,6 bis 19,2 und 19,1 Volumenprozent Sauerstoff entsprachen. Die Mittelzahl ist 19,3 Volumenprozent*). Da der Ausnützungskoeffizient bei A. 0,237 (23,7⁰/₀) beträgt, werden 100 ccm von A.s Blut bei der Passage durch die Lungen $19,3 \cdot 0,237 = 4,57$ ccm Sauerstoff aufnehmen.

IV. A.s Sauerstoffaufnahme im Ruhezustand (liegende Stellung) ist in 3 Versuchen von Prof. Krogh bestimmt worden. Hierzu wird ein Respirationsapparat von der Regnaulttype [von Prof. Krogh¹⁸) beschrieben] angewandt. Die Versuche gaben folgende Werte für A.s Sauerstoffverbrauch pro Minute im Ruhezustand: 291 ccm — 273 ccm — 278 ccm. Hiernach beträgt A.s Sauerstoffaufnahme durchschnittlich 281 ccm pro Minute.

Jetzt sind alle Größen bestimmt, die nach Ficks Prinzip in der Messung des Minutvolumens des Herzens während der Ruhe und in liegender Stellung sich ergeben.

Da A.s Sauerstoffaufnahme unter diesen Verhältnissen 281 ccm pro Minute beträgt und 100 ccm seines Blutes 4,57 ccm Sauerstoff in den Lungen aufnehmen, ist sein Minutenvolumen $281 : 4,57 \cdot 100 = 6150$ ccm oder verkürzt: 6,2 l. Der Ausnützungskoeffizient seines Blutes betrug, wie oben erwähnt, 0,237.

Nachdem bei A. das Minutvolumen des Herzens nach Ficks Methode bestimmt war, nahm ich eine Reihe Bestimmungen von derselben Größe nach Krogh und Lindhards Methode vor. Das Prinzip für diese Methode ist oben beschrieben worden.

*) Eine Bestimmung am 14. IX. 1914, von einem weniger geübten Untersucher ausgeführt, hatte den Wert 17,5 Volumenprozent gegeben. In Anbetracht der Übereinstimmung zwischen den drei andern Resultaten muß man diesen Wert für fehlerhaft ansehen.

Die Einzelheiten dieser Methode sind in letzter Zeit so oft beschrieben worden, daß es genügt, auf diese Beschreibungen^{10) 11) 16) 21)} hinzuweisen.

In ihrer ersten Mitteilung über die Methode¹¹⁾ gebrauchten Krogh und Lindhard während der Versuche zwei verschiedene Verfahren; sie nannten diese beziehungsweise die Gleichgewichts- und die Residualmethode. Versuche nach der Gleichgewichtsmethode wurden auf die Weise ausgeführt, daß die Versuchsperson in einer Vorperiode drei mitteltiefe Respirationen vom erwähnten Spirometer, das mit einer Mischung von atmosphärischer Luft und Stickstoffoxydul gefüllt ist, machte; nach der letzten Expiration wird eine Probe von ihrer ausgeatmeten Lungenluft genommen; danach hält er den Atem in ca. 0,2 Minuten an und atmet dann so tief wie möglich in das Spirometer aus; von dieser letzten Expirationsluft wird wieder eine Probe genommen. — Diese Gleichgewichtsmethode unterscheidet sich am wenigsten von normalen Respirationsverhältnissen und ist deshalb von Lindhard und Lundsgaard in deren späteren Versuchen angewandt worden. — Bei der Residualmethode geht der Versuch solcherweise vor sich, daß die Versuchsperson zuerst maximal in das Zimmer hinaus expiriert, danach vom Spirometer tief mit der Mischung des Stickstoffoxyduls inspiriert, den Atem in einer Vorperiode anhält, einen Teil des Lungeninhaltes in das Spirometer hinaus expiriert, wieder den Atem in den ca. 0,2 Minuten der Versuchsperiode anhält und zuletzt maximal in das Spirometer hinaus expiriert.

Man wird bemerken, daß die Versuchsperson bei den Kreislaufbestimmungen nach der Residualmethode genau die gleichen Respirationsbewegungen vornimmt, wie in meinen Versuchen zur Bestimmung der Luftspannungen im Pulmonalarterienblut (Beschreibung S. 319 bis 327). Um die Versuchsbedingungen während der beiden verschiedenen Bestimmungen des Minutenvolumens am selben Individuum so gleichartig wie möglich zu machen, habe ich die Krogh-Lindhardschen Minutenvolumenbestimmungen nach der Residualmethode vorgenommen und nicht nach der häufiger benützten Gleichgewichtsmethode.

Tabelle VI enthält acht solche Bestimmungen des Minutenvolumens des Herzens an Person A. Während der Versuche

Tabelle VI.

Kreislaufversuche nach Krogh und Lindhards Methode. Ruheversuche (liegend).
 Versuchsperson A. (s. Tabelle II). November 1914.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.		9.	10.	11.
						Das Minutenvolumen des Herzens				
Versuchs-Nr.	Datum	Barometer	Versuchsdauer	Der Luftinhalt der Lungen	Sauerstoffaufnahme während des Versuchs	direkt gemessen	zur normalen Sauerstoffaufnahme reduziert	Ausnützung des Sauerstoffs des Blutes	Pulsfrequenz	Das Schlagvolumen des Herzens
1.	18./11.-2 ⁴⁵ h	771	0,126	2,84	519	14,00	7,6	19,2	68	112
2.	18./11.-3 ⁰⁰ h	771	0,158	2,97	494	11,03	6,2	23,2	62	100
3.	18./11.-3 ²⁰ h	771	0,140	4,01	560	13,57	6,8	21,2	63	108
4.	18./11.-3 ³⁵ h	771	0,166	2,32	431	12,06	7,9	18,6	55	143
5.	25./11.-2 ⁰⁰ h	756	0,179	3,07	550	15,67	8,0	18,3	71	113
6.	25./11.-2 ¹⁵ h	756	0,133	2,90	535	8,19	4,3	33,8	71	61
7.	25./11.-2 ³² h	756	0,155	3,76	529	12,51	6,6	21,9	68	97
8.	25./11.-2 ⁵⁰ h	756	0,158	3,26	472	15,00	8,9	16,3	68	131

lag A. auf einem Feldbett und ruhte wenigstens 15 Minuten vor jeder Bestimmung, ganz wie bei den Untersuchungen über die Luftspannungen in seinem Pulmonalarterienblut. In 6 von den Versuchen stimmen die Resultate gut überein; 2 der Versuche (Nr. 6 und 8) haben Werte für das Minutenvolumen des Herzens und für die Ausnützung des Sauerstoffes des Blutes gegeben, die teilweise von den übrigen abweichen. Da aus meinem Versuchsprotokoll nicht hervorgeht, daß besondere Unregelmäßigkeiten in diesen beiden Versuchen vorgekommen sind, werden sie bei der Berechnung der Durchschnittszahlen mitgezählt.

Die direkt gemessenen Minutenvolumina in den Versuchen sind zu A.s normaler Sauerstoffaufnahme auf die von Krogh und Lindhard angegebene Weise^{10) 11)} umgerechnet worden.

Im Durchschnitt beträgt das Minutenvolumen des Herzens bei A. in liegender Stellung und bei normaler Sauerstoffaufnahme nach Krogh und Lindhards Methode: 6,8 l und der Ausnützungskoeffizient für den Sauerstoff in seinem Blut 0,216.

Bei der Versuchsperson L. ist auch das Minutenvolumen des Herzens sowohl nach Ficks Prinzip wie nach Krogh und Lindhards Methode bestimmt worden. Das Verfahren ist

genau dasselbe wie bei den Versuchen an A., nur nahm L. bei den Kreislaufbestimmungen eine sitzende Stellung ein, gleichwie auch bei den Bestimmungen der Luftspannungen des Pulmonalarterienblutes. Die Resultate waren folgende:

Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens bei L. nach Ficks Prinzip:

I. Die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes betrug im Durchschnitt 35,1 mm, ihre Kohlensäurespannung 45,3 mm.

II. In der Alveolärluft der Lungen bei L. Sauerstoffspannung 101 mm, Kohlensäurespannung 36,8 mm.

III. Die Sauerstoffmengen in L.s Blut, die den gefundenen Sauerstoff- und Kohlensäurespannungen entsprechen:

Prof. Krogh nahm am 4. XI. 1914 vier Bestimmungen an L.s Blut nach Barcrofts Methode vor, zwei bei den Spannungen des Pulmonalarterienblutes, zwei bei denen der Alveolärluft).

Die Spannungen des Pulmonalarterienblutes bei 37° (35,1 mm Sauerstoff und 45,3 mm Kohlensäure) entsprechen bei 15° 32,7 mm Sauerstoff und 42,2 mm Kohlensäure.

Versuch 1. Die Luftspannungen im Tonometer: 33,8 mm Sauerstoff und 42,2 mm Kohlensäure. Bei diesen Spannungen fehlte dem Blut 33,3% zur Sauerstoffsättigung.

Versuch 2. Im Tonometer: 34,6 mm Sauerstoff und 43,2 mm Kohlensäure. Dem Blut fehlte 34,1% zur Sauerstoffsättigung.

Die Mittelspannung im Tonometer der beiden Versuche betrug also 34,2 mm. Die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes entsprach bei 15° 32,7 mm. Der Unterschied wird nach Barcrofts Kurven und Hills Gleichung (siehe S. 345) korrigiert. Die Konstante K für L.s Blut beträgt $2,6 \cdot 10^{-4}$. Die Korrektur der Sauerstoffsättigung macht hiernach 2,2% aus. Bei den Luftspannungen des Pulmonalarterienblutes fehlt dem Blute L.s $33,7 + 2,2 = 35,9\%$ zur Sauerstoffsättigung.

Die Spannungen in L.s Alveolärluft betragen bei 37° 101 mm Sauerstoff und 36,8 mm Kohlensäure, das bei 15° 93,8 mm Sauerstoff und 34,2 mm Kohlensäure entspricht.

In 2 Versuchen (im Tonometer: 94,3 mm Sauerstoff und 34,4 mm Kohlensäure) fand Dr. Krogh, daß L.s Blut bei diesen

Spannungen 3,4 und 1,3⁰/₀, also durchschnittlich 2,3⁰/₀ der Sauerstoffsättigung fehlte.

Vom Sauerstoff des Blutes wurde bei L. $35,9 \div 2,3 = 33,6\%$ in den Geweben ausgenützt. Für den Unterschied wurde im arteriellen und venösen Sauerstoffgehalt des Plasmas korrigiert: $33,6 + 0,2 = 33,8\%$. Der Ausnützungskoeffizient für L.s Blut beträgt also 0,338.

Die Sauerstoffkapazität von L.s Blut (von Frau M. Krogh bestimmt) entsprach 17,8 Volumenprozent Sauerstoff. Bei der Passage durch die Lungen nehmen 100 ccm von L.s Blut $17,8 \cdot 0,338 = 6,02$ ccm Sauerstoff auf.

IV. L.s Sauerstoffaufnahme im Ruhezustand in sitzender Stellung beträgt 250 ccm pro Minute.

Das Minutenvolumen des Herzens bei L. in sitzender Stellung beträgt also $250 \cdot 6,02 \cdot 100 = 4150$ ccm oder 4,2 l.

Tabelle VII.

Kreislaufversuche nach Krogh und Lindhards Methode. Ruheversuche (sitzend).
Versuchsperson L. (s. Tabelle V). Oktober 1914.

1. Versuchs-Nr.	2. Datum	3. Barometer mm	4. Versuchsdauer Min.	5. Der Luft- inhalt der Lungen l	6. Sauerstoffaufnahme während des Versuchs des Versuchs ccm	7. 8. Das Minutenvolumen des Herzens		9. Ausnützung des Sauerstoffs des Blutes %	10. Pulsfrequenz pr. Min.	11. Das Schlagvolumen des Herzens ccm
						direkt ge- messen l	zur normalen Sauerstoff- aufnahme reduziert l			
9.	14./10.-2 ⁴⁰ h	764,5	0,139	3,97	846	13,32	3,94	37,0	66	60
10.	14./10.-3 ¹⁵ h	764,5	0,142	3,11	520	8,52	4,18	34,0	63	66
11.	17./10.-2 ²⁵ h	765,0	0,133	3,64	710	10,90	3,84	36,5	71	54
12.	17./10.-3 ¹⁵ h	765,0	0,159	3,19	543	7,83	3,60	38,7	70	51

Tabelle VII enthält 4 Kreislaufbestimmungen an L. in sitzender Stellung nach Krogh und Lindhards Methode (Residualmethode, siehe S. 337) gemacht. Die Resultate stimmen untereinander gut überein. Der Durchschnittswert beträgt für das Minutenvolumen des Herzens 3,9 l, für den Ausnützungskoeffizient vom Sauerstoff des Blutes 0,365.

Bei jeder der Versuchspersonen sind auf zwei verschiedenen Wegen Werte gefunden worden, teils für die Ausnützung des

Sauerstoffes im Blut, teils für das Minutenvolumen des Herzens. Um zu entscheiden, welche Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Werten zu erwarten ist, muß man darüber klar sein, mit welcher Genauigkeit sie bestimmt sind.

Zuerst soll die Bestimmung des Ausnützungskoeffizienten für den Sauerstoff des Blutes erwähnt werden.

Bei Krogh und Lindhards Methode hängt diese Bestimmung von zwei Messungen ab:

1. Der Sauerstoffkapazität (Hämoglobingehalt) des Blutes der Versuchsperson. Diese ist, als Mittelzahl mehrerer Untersuchungen, von einem besonders geübten Untersucher mit Hilfe von Haldanes Hämoglobinometer bestimmt worden. Die Genauigkeit der Bestimmung ist ca. 1⁰/₀.

2. Dem Verhältnis zwischen der Menge des Sauerstoffes und der Menge des Stickstoffoxyduls, die während des Versuches in den Lungen absorbiert werden. Dies Verhältnis bestimmt man durch a) 2 Luftanalysen; die Genauigkeit derselben ist eine solche, daß die Analysenfehler höchstens Abweichungen von 5⁰/₀ im Resultat¹¹⁾ ausmachen können; — b) das Verhältnis ist von den Faktoren abhängig, die kontrolliert werden sollen (speziell die Absorption von Stickstoffoxydul).

Bekannte Fehlerquellen können also im ganzen Fehler von 6⁰/₀ in den Werten des Ausnützungskoeffizienten für den Sauerstoff des Blutes, nach Krogh und Lindhards Methode bestimmt, herbeiführen.

Die Bestimmung des Ausnützungskoeffizienten nach der andern von den hier angewandten Methoden (wird im folgenden der Kürze halber Methode F genannt) hängt 1. von zwei Bestimmungen der prozentischen Sauerstoffsättigung des Blutes bei gegebenen Sauerstoff- und Kohlensäurespannungen nach Barcrofts Methode ab. Nach Messungen von Barcroft und Burn²⁷⁾ kann die Methode einen maximalen Fehler von 3⁰/₀ des Resultates geben, also für beide Bestimmungen zusammen von 6⁰/₀; — 2. von der Bestimmung der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung in der Alveolärluft der Lungen. Fehler in dieser Bestimmung werden nur einen höchst unbedeutenden Einfluß auf das Resultat haben, da das Blut bei den Luftspannungen der Alveolärluft beinahe sauerstoffgesättigt ist; — 3. von der Bestimmung der

Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut, welches der Faktor ist, der kontrolliert werden soll.

Bekannte Fehlerquellen können im Wert des Ausnützungskoeffizienten für den Sauerstoff des Blutes nach Methode F Fehler von 6⁰/₀ hervorbringen.

Es muß hervorgehoben werden, daß keine derjenigen Messungen, die nach Krogh und Lindhards Methode in der Bestimmung des Ausnützungskoeffizienten sich ergeben, auch nur das geringste mit den Messungen nach Methode F gemeinsam haben (die Sauerstoffkapazität des Blutes erfolgt nur nach der Messung nach Krogh und Lindhard, nicht bei der Bestimmung des Ausnützungskoeffizienten nach Methode F).

Bei Vergleich der Bestimmungen nach den beiden Methoden können also bekannte Fehlerquellen Abweichungen der Werte bis zu 12⁰/₀ erklären.

Bei A. wurde während der Ruhe für den Ausnützungskoeffizient nach Krogh und Lindhards Methode der Wert von 0,216 gefunden, nach Methode F 0,237. Die gegenwärtige Abweichung beträgt 10⁰/₀ des niedrigsten Wertes. — Für L. betragen die Werte beziehungsweise 0,365 und 0,338, die Abweichung voneinander 8⁰/₀. Bei A. hat Methode F den höchsten der beiden Werte für den Ausnützungskoeffizient gegeben, bei L. den niedrigsten. Es liegen also keine Zeichen vor, daß die unbekannt Faktoren, die Einfluß auf die beiden Bestimmungen haben, einen meßbar systematischen Fehler hervorgebracht haben.

Die Bestimmungen des Minutenvolumens des Herzens hängen in Wirklichkeit von ganz denselben Messungen ab, wie die Bestimmungen des Ausnützungskoeffizienten für den Sauerstoff des Blutes.

Nach Krogh und Lindhards Methode hängt die Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens nur 1. vom Verhältnis zwischen der während des Versuches in den Lungen aufgenommenen Sauerstoffmenge und der aufgenommenen Stickstoffoxydulmenge ab. Dieser Wert wird in den Tabellen von Krogh und Lindhards Arbeiten unter der Bezeichnung: „Sauerstoffmenge aufgenommen pro Liter Blut“, angeführt; in Lundsgaards Tabellen²¹⁾ wird der reziproke Wert derselben angeführt und Stromäquivalent genannt. Die Messung des Luftgehaltes

der Lungen während des Versuches und der Versuchszeit ist nicht in dem Wert des Minutenvolumens enthalten, der zu normaler Sauerstoffaufnahme [siehe Lundsgaard²¹) S. 61] reduziert worden ist. 2. Von der Sauerstoffaufnahme während der Ruhe.

Nach Methode F hängt die Bestimmung des Minutenvolumens von folgendem ab:

1. Von dem Ausnützungskoeffizienten des Blutes,
2. von der Sauerstoffkapazität des Blutes (Hämoglobingehalt) und
3. von der Sauerstoffaufnahme während der Ruhe.

Die Messung der Sauerstoffaufnahme während der Ruhe wird in derselben Weise bei beiden Methoden vorgenommen. Bei der Bestimmung des Minutenvolumens erhält man Werte für die Sauerstoffkapazität des Blutes nur mit Hilfe der Methode F, nicht mittels der von Krogh und Lindhard. Umgekehrt erhält man diese Größe bei der Bestimmung des Ausnützungskoeffizienten mittels Krogh und Lindhards Methode und nicht bei Methode F.

Die Resultate der Bestimmungen des Minutenvolumens zeigen deshalb ganz natürlich dieselben wechselseitigen Abweichungen, wie die Bestimmungen des Ausnützungskoeffizienten: 10⁰/₀ für die Messungen an A. nach beiden Methoden (6,2 und 6,8 l), 8⁰/₀ für die Messungen an L. (4,2 und 3,9 l). Hier hat Methode F die höchste der beiden Bestimmungen von derselben Größe bei L. gegeben, die niedrigste bei A.

Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Resultate:

	Das Minutenvolumen des Herzens		Der Ausnützungskoeffizient für den Sauerstoff des Blutes	
	A. (liegend)	L. (sitzend)	A. (liegend)	L. (sitzend)
Methode F (Ficks Prinzip)	6,21	4,21	0,237	0,338
Krogh und Lindhards Methode	6,81	3,91	0,216	0,365
Die gegenseitige Abweichung der Methode . .	+ 10%	÷ 8%	÷ 10%	+ 8%

Die Kontrollversuche mittels Krogh und Lindhards Methode zur Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens bei Menschen sind also befriedigend ausgefallen. Freilich sind nur 2 Personen

untersucht worden, aber die Kreislaufverhältnisse während der Ruhe weichen bei den 2 Personen ziemlich stark voneinander ab. Die eine (A.) hat einen schnellen Kreislauf und in dem Arterienblut einen entsprechend niedrigen Ausnutzungskoeffizienten für den Sauerstoff, die andre (L.) einen langsamen Kreislauf und einen hohen Ausnutzungskoeffizient. Da A. und L. dieselbe Pulsfrequenz im Ruhezustand haben (nach Tab. VI, VII durchschnittlich beziehungsweise 66 und 67 pro Minute), hat das Herz bei A. ein größeres Schlagvolumen während der Ruhe (98 ccm) als bei L. (60 ccm).

Diese Verschiedenheiten zwischen den zwei Versuchspersonen sind mit beiden Methoden gefunden worden. Bei beiden Methoden hat ein Wert als Durchschnitt von einer Reihe Bestimmungen ermittelt werden müssen. In Methode F ist diese Größe die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut, in Krogh und Lindhards Methode das Verhältnis zwischen der Menge Sauerstoff und der Menge Stickstoffoxydul, die das Blut während der Versuche in den Lungen aufnimmt. Es scheint aus meinen Versuchen hervorzugehen, daß die Sauerstoffspannung im Pulmonalarterienblut etwas unter gleichartigen äußeren Versuchsbedingungen variiert. Es ist unmöglich zu entscheiden, ob diese Variationen allein die Schwankungen im Verhältnis zwischen Sauerstoff- und Stickstoffoxydulaufnahme in Versuchen nach Krogh und Lindhard erklären, oder ob auch reelle Schwankungen im Minutenvolumen des Herzens gefunden werden, die diese letzteren Messungen beeinflussen. Das letztere ist wohl das Wahrscheinlichste.

Man muß bei beiden angewandten Methoden voraussetzen, daß die Luftarten im Blut, das die Lungen verläßt, im Spannungsgleichgewicht mit der Alveolärluft steht. Daß dies praktisch gesehen (in betreff des Sauerstoffes) bei normalen Menschen der Fall ist, zeigen die früher erwähnten Untersuchungen von Barcroft und Cooke²⁵⁾13). Wie sich die Verhältnisse unter pathologischen Zuständen mit Veränderungen in den Lungen stellen (Lungen- und Herzkrankheiten), kann man ohne nähere Untersuchung nicht wissen.

Resümee.

1. Es wird bei Menschen eine Methode zur Bestimmung der Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im venösen Blut, das vom rechten Herzventrikel durch die Pulmonalarterien in die Lungen fließt, beschrieben. Die Methode bietet vor denjenigen Methoden, die frühere Untersucher angewandt haben, folgende Vorteile:

a) In jedem einzelnen Versuche kann man sehen, ob die gefundenen Sauerstoff- und Kohlensäurespannungen obere oder untere Annäherungswerte an die gesuchten Spannungen sind.

b) Es wird der Füllungsgrad der Lungen und die Ausscheidung oder Aufnahme von Sauerstoff oder Kohlensäure pro Sekunde während jeden Versuches bestimmt.

Es wird gezeigt, daß Versuche, während deren die Versuchsperson weniger als 1 ccm Sauerstoff oder Kohlensäure pro Sekunde aufgenommen oder abgegeben hat, als wohlgelungen betrachtet werden können und ihre Resultate folglich brauchbar sind.

2. Mit der Methode sind 64 Versuche an 3 Versuchspersonen ausgeführt worden.

3. Es zeigt sich, daß die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut bei einer Person im Ruhezustand nicht ganz konstant ist, trotz der Gleichartigkeit der äußeren Versuchsbedingungen. Die Schwankungen sind jedoch klein (2,6 bis 6,6 mm was die Kohlensäure, und 3,1 bis 5,8 mm was den Sauerstoff betrifft). In einer Versuchsreihe vom selben Tag sind die Schwankungen besonders klein.

Die Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut bei einer Versuchsperson unter gegebenen Versuchsbedingungen muß deshalb als Mittelzahl von einer Reihe von Versuchen bestimmt werden.

4. Während der Ruhe sind bei den 3 untersuchten Personen folgende Durchschnittswerte für die Sauerstoffspannung des Pulmonalarterienblutes gefunden worden: 40,7 mm — 44,5 mm — 35,1 mm, für dessen Kohlensäurespannung: 45,2 mm — 46,3 mm — 45,3 mm.

Die Werte für die Sauerstoffspannung weichen bei den 3 Personen mehr voneinander ab als die Werte für die Kohlensäurespannung.

5. Während einer genau gemessenen Muskelarbeit (die ca. 200 kg/m pro Minute beträgt) ist eine niedrigere Sauerstoffspannung gefunden worden (35,2 mm gegen 44,5 mm) und eine höhere Kohlensäurespannung (52,2 mm gegen 46,3 mm) im Pulmonalarterienblut als bei derselben Person in Ruhe.

6. Bei zwei Versuchspersonen ist das Minutenvolumen des Herzens im Ruhezustand nach Ficks Prinzip bestimmt worden. Hierzu hat man unter anderm die gefundenen Werte für Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Pulmonalarterienblut der Versuchsperson benutzt, gleichzeitig eine Reihe Bestimmungen von Sauerstoffbindung in ihrem Blut (von Aug. Krogh nach Barcrofts Methode ausgeführt).

Bei denselben Personen ist das Minutenvolumen des Herzens im Ruhezustand nach der von Krogh und Lindhard ausgearbeiteten Methode bestimmt worden.

Die beiden Methoden, die im Prinzip und in den einzelnen Messungen ganz voneinander unabhängig sind, gaben Resultate, die innerhalb der Fehlergrenze der angewandten Analysenmethoden übereinstimmen.

Dies sind die ersten Kontrolluntersuchungen, die über die Genauigkeit von Krogh und Lindhards Methode zur Bestimmung des Minutenvolumens des Herzens bei Menschen ausgeführt worden sind.

Ich schulde Prof. Aug. Krogh überaus großen Dank für die Erlaubnis, sein Laboratorium und seine Apparate benutzen zu dürfen, sowie für stete Anleitung während der Versuche und für seine Freundlichkeit, die Barcroftschen Bestimmungen von Sauerstoff- und Kohlensäurebindungen im Blut meiner Versuchspersonen auszuführen. — Außerdem danke ich Frau Dr. Marie Krogh, die die Hämoglobinbestimmungen in der Arbeit ausgeführt hat und Cand. pharm. Andresen, der einige der Luftanalysen gemacht hat.

Literatur.

¹⁾ C. Lovatt Evans and E. H. Starling, *The Journ. of Physiol.* **46**, 413, 1913.

²⁾ P. Morawitz, *Arch. f. klin. Med.* **103**, 253, 1911.

³⁾ V. Henriques, *diese Zeitschr.* **56**, 230, 1913.

- 4) Siegfried Wolffberg, Arch. f. d. ges. Physiol. **4**, 465, 1871 und **6**, 23, 1872.
- 5) Moritz Nußbaum, Arch. f. d. ges. Physiol. **7**, 296, 1873.
- 6) A. Loewy u. H. v. Schroetter, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie **1**, 197, 1905.
- 7) Johann Plesch, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie **6**, 1909.
- 8) O. Porges, A. Leimdörfer u. E. Marcovici, Zeitschr. f. klin. Med. **73**, 389, 1911 und **77**, 447, 1913.
- 9) Johanne Christiansen, C. G. Douglas and J. S. Haldane, Journ. of Physiol. **48**, 244, 1914.
- 10) Aug. Krogh, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden. Herausgegeben von Emil Abderhalden, **8**, 529, 1915.
- 11) Aug. Krogh u. J. Lindhard, Skandinav. Arch. f. Physiol. **27**, 111, 1912.
- 12) Oinuma, The Journ. of Physiol. **43**, 364, 1911.
- 13) Joseph Barcroft, The respiratory function of the blood (Cambridge 1914).
- 14) J. S. Haldane and Priestley, The Journ. of Physiol. **32**, 225, 1905.
- 15) Aug. Krogh and J. Lindhard, Skandinav. Arch. f. Physiol. **30**, 390, 1913 und The Journ. of Physiol. **47**, 30 u. 112, 1913.
- 16) J. Lindhard, Arch. f. d. ges. Physiol. **161**, 233, 1915.
- 17) N. Zuntz u. O. Hagemann, Landwirtschaftl. Jahrb. **27**, Suppl. 3, 1898.
- 18) Aug. Krogh, Skandinav. Arch. f. Physiol. **30**, 375, 1913.
- 19) Bornstein, Arch. f. d. ges. Physiol. **132**, 307, 1910.
- 20) J. Lindhard, Skandinav. Arch. f. Physiol. **30**, 73 u. **94**, 1913.
- 21) Christen Lundsgaard, Undersøgelse over Hjaertets Minutvolumen hos Patienter med Hjaertesygdomme. Disputats 1915.
- 22) Adolph Fick, Sitzungsber. d. phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg **1870**, 16 (zit. n. Nagels Handb.).
- 23) Gréhant et Quinquaud, Compt. rend. Soc. Biol. Ser. 8, **3**, 159, 1886.
- 24) Chr. Bohr, K. A. Hasselbalch u. Aug. Krogh, Skandinav. Arch. f. Physiol. **16**, 390, 1907.
- 25) Joseph Barcroft and Cooke, Journ. of Physiol. **47**, 1913 (Proceed. of Physiol. Soc.).
- 26) A. V. Hill, Journ. of Physiol. **40**, 4, 1910.
- 27) Joseph Barcroft and Burn, The Journ. of Physiol. **45**, 493, 1913.

Über die Einwirkung der Aldehyde auf die Urease.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem Biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit
in Berlin.)

(Eingegangen am 30. September 1917.)

Wenn es auch zunächst noch nicht möglich ist, mit den Methoden der Chemie die Konstitution der Fermente zu ermitteln, so kann man doch versuchen, auf indirekten Wegen etwas über die reaktionsfähigen Gruppen der Fermentmoleküle zu erfahren. In früheren Arbeiten¹⁾ habe ich gezeigt, daß die Fermente mit Metallen inaktive, komplexe Verbindungen eingehen, aus denen man die Fermente wieder in aktiver Form abspalten kann.

Um Wiederholungen zu vermeiden, will ich hier nicht die früher erhaltenen Resultate im einzelnen aufzählen, verweise vielmehr auf die betreffenden Mitteilungen. Für den weiteren Fortschritt schien es nunmehr notwendig, aktive und zugleich gut charakterisierte chemische Gruppierungen auf Fermente einwirken zu lassen, um über die Verbindungsfähigkeit der Fermente Klarheit zu gewinnen. Selbstverständlich kann man sofort a priori erklären, daß solche Versuche keine entscheidenden Ergebnisse liefern können, weil die Resultate vieldeutig ausfallen müssen. Aber es konnten — unabhängig von der Möglichkeit verschiedener Deutung — doch interessante Befunde erhoben werden.

¹⁾ Studien zur allgemeinen Vergiftungslehre I bis V, diese Zeitschr. 76 u. 77, 1916.

In dieser Mitteilung schildern wir Versuche über die Einwirkung von Aldehyden auf die Soja-Urease. Die Eignung der Urease bedarf ja keiner besonderen Begründung, aber auch die Heranziehung der Aldehyde ist wohl ohne weiteres einleuchtend. Die Aldehyde verdienen für unseren Zweck Beachtung, weil sie sehr reaktionsfähige Körper sind, die charakteristische Verbindungen eingehen. Es wurden Versuche mit Formaldehyd, Acetaldehyd, Benzaldehyd und Salicylaldehyd angestellt.

Die allgemeine Versuchsanordnung war die gleiche wie in allen früheren Ferment-Vergiftungsversuchen. In jede Probe kommen 20 ccm einer 2⁰/₀igen Harnstofflösung, 1 ccm Toluol und 10 ccm einer 0,3⁰/₀igen Fermentlösung. Die Gesamtflüssigkeit wird immer auf dasselbe Volumen gebracht. Die Resultate werden ohne Umrechnung direkt in ccm ¹/₁₀ Normallösung angegeben.

I.

Zu den Versuchen mit Formaldehyd diente reines (ca. 38⁰/₀iges) Formaldehyd, das fast säurefrei war. Bei den in Betracht kommenden Verdünnungen ist jedenfalls praktisch die Spur Ameisensäure ohne Bedeutung¹⁾. Die übrigen Aldehyde wurden in der reinsten Form der Handelspräparate benutzt.

Formaldehydversuche.

Menge des Formaldehyds	Mit Formaldehyd	Ohne Formaldehyd
38 mg	1,6 2,1	63,1
7,6 "	8,7	} 55,7
3,8 "	17,2	
3,8 "	24,9	} 64,3
1,9 "	38,6	
0,38 "	56,0	
0,038 "	57,2 57,6	65,4 65,6
0,014 "	69,2	61,5
0,014 "	55,5 57,5	55,5 56,7
0,007 "	61,2	65,8 67,9
0,007 "	61,2 62,2	63,4 64,5

¹⁾ Der Gehalt der Ausgangslösung an Ameisensäure ist nur auf 0,18⁰/₀ zu berechnen.

Acetaldehydversuche.

Menge des Acetaldehyds	Mit Acetaldehyd	Ohne Acetaldehyd
1,0 ccm	4,2	66,0
	5,6	
0,5 "	5,7	67,6
	7,0	
0,1 "	17,5	58,6
	17,7	59,1
0,1 "	19,4	50,0
	19,5	
0,1 "	21,8	58,0
	23,6	59,0

Benzaldehydversuche.

Menge des Benzaldehyds	Mit Benzaldehyd	Ohne Benzaldehyd
0,1 ccm	2,4	63,1
	3,1	64,8
0,05 "	20,0	57,9
	25,9	
0,02 "	53,0	59,2
	54,7	

Salicylaldehydversuche.

Menge d. Salicylaldehyds	Mit Salicylaldehyd	Ohne Salicylaldehyd
0,1 ccm	0,1	52,4
	0,3	
0,1 "	4,8	60,8
	6,2	61,1
0,1 "	9,1	59,5
0,05 "	9,6	60,2
	10,2	60,6
0,04 "	16,9	59,5
0,02 "	17,3	65,8
	18,1	65,9

Alle 4 untersuchten Aldehyde schädigen demnach die Soja-Urease. Am wirksamsten scheint der Formaldehyd zu sein. Besonders stark ist allerdings auch die Formaldehydwirkung nicht, zum Beispiel gar nicht vergleichbar mit der Wirkung von Metallverbindungen wie Quecksilbersublimat.

II.

Um in den Mechanismus der Aldehydwirkung einzudringen, war es notwendig, Versuche mit Aldehydverbindungen anzustellen, in denen die Aldehydgruppe durch Synthese verstopft und ihres eigenartigen Charakters beraubt ist. Durch solche Versuche muß man entscheiden können, ob in den untersuchten Körpern der Aldehydecharakter für die Wirkung entscheidend ist. Ist das der Fall, so scheint es einigermaßen berechtigt, eine Synthese zwischen dem Ferment und dem Aldehyd anzunehmen. Die große Neigung der Aldehyde zu Synthesen macht sie für derartige Versuche besonders geeignet. Da der Formaldehyd unter den Aldehyden eine Sonderstellung einnimmt, hielt ich es nicht für zweckmäßig, ihn für diese Versuche zu verwenden. Aber auch bei den übrigen Aldehyden mußte in bezug auf ihre Verwendbarkeit streng gesichtet werden. So kam ich denn dazu, die Cyanhydrinverbindungen des Acetaldehyds und des Benzaldehyds zu benutzen. Hier sind die experimentellen Bedingungen günstig, auch waren mir aus früheren Versuchen die Wirkungen der Cyangruppe bekannt. Endlich sind die Cyanhydrinverbindungen der Aldehyde in ihrem Aufbau übersichtliche und eindeutige Verbindungen.

Versuche mit Acetaldehydcyanhydrin.

Menge des Cyanhydrins	Mit Cyanhydrin	Ohne Cyanhydrin
1,0 ccm	80,6	} 64,2
	82,4	
0,5 "	92,6	}
	96,4	
0,2 "	65,1	} 54,8
	78,9	
0,1 "	74,8	} 57,6
	75,5	
0,05 "	73,9	} 67,1
	75,4	
0,025 "	68,2	} 67,2
	70,7	

Versuche mit Benzaldehydcyanhydrin.

Menge des Cyanhydrins	Mit Cyanhydrin	Ohne Cyanhydrin
0,1 ccm	2,2 3,4	63,1 64,8
0,1 "	7,3 10,1	} 54,5
0,5 "	43,5 46,5	
0,02 "	54,7 54,9	

Die beiden untersuchten Cyanhydrinverbindungen haben durchaus verschiedene Wirkungen gezeigt. Während Benzaldehydcyanhydrin kaum anders als der Aldehyd selbst auf die Urease einwirkte, war beim Acetaldehydcyanhydrin die Aldehydwirkung nicht nur gänzlich aufgehoben, sondern sogar eine recht intensive Steigerung der Fermentwirkung erkennbar.

Daß Benzaldehydcyanhydrin wie Benzaldehyd wirkt, kann verschieden gedeutet werden. Es ist möglich, daß Wirkungen des Gesamtmoleküls in beiden Fällen den Ausschlag geben. Für die Fermentforschung ist jedenfalls das Verhalten des Acetaldehydcyanhydrins von größerem Interesse. Hier kann man hoffen, einen Einblick in die Reaktionsfähigkeit des Fermentes zu erhalten.

Zunächst muß die Deutung der Versuche experimentell gesichert werden. Es war denkbar, daß der Sojaextrakt aus dem Cyanhydrin den Stickstoff in Form von Ammoniak abspaltet. Besondere Versuche zeigen, daß das nicht der Fall ist. Aber es war auch zu prüfen, ob etwa das Ammoniumcarbonat, das bei der Harnstoffspaltung durch die Urease entsteht, so einwirkt. Aber die Versuche, in denen Ammoniumcarbonat mit Acetaldehydcyanhydrin zusammengebracht wurde, ergaben keine Verseifung des Cyanhydrins und keine Vermehrung des Ammoniaks.

Kontrollversuche.

1. 10 ccm der 0,3%igen Fermentlösung werden mit 1 ccm Acetaldehydcyanhydrin ohne Harnstoffzusatz gemischt.

Es wird gefunden: 0,4

2. Derselbe Versuch mit 0,5 ccm Acetaldehydcyanhydrin.

Es wird gefunden: 0,3

3. 0,4 g Ammonium carbonicum werden 24 Stunden mit 1 ccm Acetaldehydcyanhydrin digeriert, in einem Parallelversuch ohne Cyanhydrin.

Es wird gefunden: Mit Cyanhydrin 48,3

Ohne " 49,5

49,8

4. Wiederholung des Versuchs.

Mit Cyanhydrin 48,0

48,4

Ohne " 49,8

50,0

Acetaldehydcyanhydrin verstärkt also die Fermentwirkung. Es fragt sich nun, wie diese Verstärkungswirkung aufzufassen ist. Früher habe ich gezeigt, daß kleine Dosen Cyankalium deutlich die Ureasewirkung steigern. Zunächst ist der Ausschlag bei der Cyanhydrinwirkung sichtlich stärker als bei der Cyankaliumwirkung. Sodann ist zu bemerken, daß beim Zusammenbringen von Cyankalium und Acetaldehyd mit dem Ferment in wäßriger Lösung, wobei komplizierte Reaktionen möglich sind, die Gegenwart des Cyankaliums eine deutliche Abschwächung der Fermentwirkung neben der Schädigung durch den Aldehyd verursacht. Umgekehrt liegt die Sache wieder beim Salicylaldehyd, bei dem Zusatz von Cyankalium der Aldehydwirkung entgegenarbeitet.

Diese Verhältnisse sind also noch nicht zu übersehen. Wir haben diese Versuche auch nur erwähnt, um alles Versuchsmaterial anzuführen. Wir verzichten daher auch auf die Diskussion naheliegender Hypothesen, inwiefern etwa die Einführung von Aldehyd- resp. Cy-Gruppen die Affinitäten des Fermentes beeinflusst. Halten wir uns an die Tatsache, daß Acetaldehydcyanhydrin die Fermentwirkung im Gegensatz zum abschwächenden Acetaldehyd steigert, so ist es wohl berechtigt, an Valenzen des Stickstoffs, die in Aktion treten, zu denken. Denn sie scheinen am ehesten für eine Reaktion bereitzustehen, wie sich aus der Konstitution des Körpers $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CN}$ ergibt.

Ähnliche Erwägungen lagen mir schon nahe, als ich die Cy-Wirkung auf die Urease früher fand. Ihre chemische Stütze findet die Auffassung in den Forschungen Werners¹⁾ sowie von Schlenk und Holtz²⁾.

Zusammenfassung.

Die Aldehyde schädigen die Ureasewirkung. Die Aldehydwirkung ist wahrscheinlich durch die Entstehung einer Aldehyd-Fermentverbindung zu erklären. Acetaldehydcyanhydrin steigert die Fermentwirkung. Wahrscheinlich treten hier Stickstoff-Valenzen mit dem Ferment in Reaktion.

¹⁾ Neuere Anschauungen auf dem Gebiete der anorganischen Chemie, 3. Aufl., 1913.

²⁾ B. B. 1916, 603.

Neue Beiträge zur deskriptiven Biochemie gewisser Ödemzustände. I.

Untersuchungen an Blut und Serum.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses
Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen 30. September 1917.)

Bereits im Jahre 1915 bot sich für den Verf. Gelegenheit, an einem größeren Kreise von Personen, die an einer eigenartigen Form von „Ödemkrankheit“ litten, biochemische Untersuchungen anzustellen. Damals handelte es sich um russische Kriegsgefangene, die in holsteinischen Arbeitslagern untergebracht waren. Die Ergebnisse des derzeitigen Untersuchungsgebietes wurden von Th. Rumpel¹⁾ bzw. später von Th. Rumpel und A. V. Knack²⁾ eingehend beschrieben. Die Auffassung über die ätiologischen Voraussetzungen der damaligen Ödemkrankheit stand bekanntlich zunächst in zwei streng geschiedenen Extremen zur Diskussion. Während die eine Richtung

¹⁾ Th. Rumpel, Zur Ätiologie der Ödemkrankungen in russischen Gefangenenlagern. Münch. med. Wochenschr. 27, VII, XXX, 102, 1915.

²⁾ Th. Rumpel und A. V. Knack, Dysenterieartige Darmerkrankungen und Ödeme. Deutsche med. Wochenschr. 44, 1342; 45, 1380; 46, 1412; 47, 4440, 1916. — Dazu Th. Rumpel, Über Recurrens und Ödeme. Berl. klin. Wochenschr. 18, 1. Mai, 480 1916. — A. V. Knack, Über Hungerödeme betr. u. a. die Mitteilung von Brudziński und Chelkowski, Über Hungerödeme mit infektiösen Einschlägen bei der galizischen Bevölkerung Przegląd-Lekarski, 54 1915; Centralbl. f. inn. Med. 37, 753, 1916.

in Nocht¹⁾ und Jürgens²⁾ führende Vertreter für die von Anbeginn bis heute mit gewissen Wandlungen nebensächlicher Natur verfochtene Anschauung fand, die auf rein ernährungstoxischen Vorbedingungen fußte, und die daher die fraglichen Erscheinungen mehr oder minder scharf unter den Sammelbegriff der Avitaminosen eingereiht zu sehen strebte, gelang Rumpel der Befund, daß bakterielle Noxen innerhalb des Krankheitsbildes früher oder später eine beträchtliche Rolle gespielt hatten. Es wurden Rekurrensinfektionen nachgewiesen und durch Sektionen Spuren oder deutliche Kennzeichen überstandener dysenterischer Schäden entdeckt (Th. Fahr), wobei letztere Beobachtungen nun dazu führten, auch am Lebenden die fraglichen Störungen zweifelsfrei nachzuweisen.

Auf die Tatsache des mitbestimmenden Einflusses der Infektionen baute Rumpel seine Auffassung von der derzeitigen Ödemkrankheit auf, indem er gleichzeitig den Schluß formulierte, daß allgemeine oder spezielle Inanitionen, auch solche des „avitaminösen“ Charakters von der Natur der „unvollständigen“ Nährstoffe, keineswegs die Pathologie und Pathochemie der Fälle ausschließlich beherrscht hätten. Man wird dieser Auffassung unbedingt darum beipflichten müssen, weil die Resorptionsverhältnisse und die Ausnutzung gewisser Komponenten der Nahrung beträchtlich gestört waren³⁾.

Die biochemischen Ergebnisse des damaligen Arbeitsgebietes sind zum größten Teil in der Publikation von Rumpel und Knack niedergelegt und finden sich sonst in systematischen Mitteilungen des Verf. [Feigl]⁴⁾.

Über die neuesten Erfahrungen an Ödempatienten eines (von Ausländern besetzten) Arbeitslagers sowie aus der hiesigen

¹⁾ B. Nocht, Diskussion zum Vortrage von Th. Rumpel, Über Ödemerkrankungen. Ärztl. Verein zu Hamburg 1917, 3. Juli 1917; Deutsche med. Wochenschr. 1917.

²⁾ Jürgens, Besteht ein Zusammenhang der Ödemerkrankung in Kriegsgefangenenlagern mit Infektionskrankheiten? Berl. klin. Wochenschr. 28. Febr. 109, 210, 1916.

³⁾ Mehrere Reihen eingehender Stoffwechselfersuche von Feigl und Querner bisher nur im Auszuge zitiert von Th. Rumpel und A. V. Knack, l. c.

⁴⁾ s. u.

Zivilbevölkerung berichtete Rumpel¹⁾, während Verf. chemische bzw. biologische Ergebnisse zur Darstellung brachte, und A. V. Knack und J. Neumann eine kurze Zusammenfassung aller Beobachtungen veröffentlichten²⁾.

Nun ist „bekanntlich das eigenartige Bild dieser in Kriegzeiten aufgetretenen Ödemerkrankung eine Erscheinung, die in der Friedenspraxis des Arztes und Pathologen fehlt“. Der Pathochemiker schließt sich dieser Erklärung der Kliniker an und betont, daß alle Untersucher hier an ein Problem herantreten, über das schrittweise neue Kenntnisse zu sammeln sind, da die Grundlagen der renalen und kardialen Ödeme, soweit sie durch gesicherte Ergebnisse dargestellt werden, hier zur Deutung kaum ausreichen. Bisher sind nun trotz der älteren systematischen, teils allgemein pathochemischen, teils ernährungsphysiologischen Arbeiten und der neuen speziellen Mitteilungen über die gleichzeitig von Berliner, Wiener, Duisburger, Bonner und Hamburger Autoren gesehenen und geschilderten Erkrankungen wenige, teils isolierte, teils methodisch ungeklärte, allgemein überhaupt engere Kenntnisse vorhanden, die sich kaum bruchstückweise aneinanderreihen und einheitlich beurteilen lassen. Jedenfalls stand und steht Verf. auf dem Standpunkt, daß — gleichgültig ob die infektiöse Ätiologie oder die Theorie der unvollständigen Nährstoffe, der Avitaminosen³⁾, ob Vermittlungsvorschläge zwischen beiden

¹⁾ Th. Rumpel, Über Ödemerkrankungen. Vortrag im Ärztlichen Verein zu Hamburg 1917, 3. Juli, Auszug in Hamburger Ärztekorr. 1917, XXIX; Deutsche med. Wochenschr. 1917.

²⁾ A. V. Knack und J. Neumann, Beiträge zur Ödemfrage. Deutsche med. Wochenschr. 19. Juli, 29, 901, 1917.

³⁾ Der nach dem Vorgange von C. Funk von vielen Seiten geförderte Standpunkt der Vitaminlehre wird bekanntlich weder von Biochemikern noch von Klinikern durchaus geteilt. Unter den „fehlenden“ oder „ergänzenden“ Stoffen kann man sich schematisch drei Gruppen vorstellen, die auch wir durchgehend berücksichtigten: Gewisse Aminosäuren, Purinderivate und Basen alkaloidischer Natur, ferner die unbekanntes, bisher nicht definierten und isolierten, speziell antiscorbutisch wirkenden Stoffe frischer (junger) Pflanzenteile, mit denen vielleicht die jüngst bei Beschreibung von Trocknungsprozessen auftretenden Faktoren verwandt sind. Die Annahme von Phosphorylkomplexen (Schaumann u. a.) berücksichtigen wir nicht mehr. Lit. s. u. H. Gerhartz (s. u.) spricht von fehlenden Weizenvitaminen, B. Doellner u. Fel. Boenheim denken in erster Linie an

oder die Annahme der Existenz reiner Inanitionsödeme, ob weitere alimentäre Komplikationen, der Auffassung über das beschriebene Krankheitsbild zugrunde gelegt werden — nur eine Weiterbildung der deskriptiven Biochemie durch Einbeziehung neuer Fragestellungen, Konstanten, Methoden bis zu einem tunlichst lückenlosen, gesicherten Tatsachenmaterial zu langsamen Fortschritten über Wesen und Zusammenhänge dieses eigenartigen Gebietes führen könne. Verf. vertritt diesen Standpunkt auch darum, weil er vom ersten Augenblicke an, da er diesen Aufgaben sich zuwandte (1915), der Eröffnung des Problems bereits mit umfangreichen Untersuchungsmethoden entgegentrat, die seitdem (1916, 1917) erweitert wurden¹⁾. Von den Ergebnissen der Literatur wird weiter unten bei den jeweiligen Verknüpfungen die Rede sein. An dieser Stelle mag hervorgehoben werden, daß unter Leitung von H. Schottmüller Wöfling systematisch und umfassend das Hydrämieproblem in Angriff nahm²⁾.

Die zusammenfassende Mitteilung der vorstehend beschriebenen Untersuchungsergebnisse über die Ödemkrankheit glaubte Verf. angesichts erheblicher Überlastung mit neuen, teils verwandten Arbeiten bis heute zurückstellen zu dürfen, nachdem er in eigenen Publikationen (s. u.) mehrfach Befunde dargestellt und bewertet, kurze Beschreibungen gebracht (s. u.) und auszugsweise seine Beobachtungen den Herren A. V. Knack und J. Neumann zur klinischen Behandlung der Frage zur Verfügung gestellt hat. In letzterer Mitteilung haben sich einzelne

grünes Gemüse, Doellner dabei aber vermutlich nicht mit Recht nur an dessen Kalksalze. D. spricht auch, an Stelle bestimmter Methoden und Werte von „dünnflüssigem, wäßrigem, nicht klebrigem“ Blut. — Schiff, Lichtwitz, Lippmann sahen im Mittelpunkt die Salzzustände. — C. Funk, Die Vitamine, Wiesbaden 1916. — F. Roehmann, Die Vitamine in A. Kanitz, Biochemie in Einzeldarstellungen.

¹⁾ Joh. Feigl zum gegenwärtigen Stande der chemischen Blutuntersuchung, Vortrag im ärztl. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 2. Mai 1916, Hbg. Ärzte-Korresp. 20, 223, 1916; Deutsche med. Wochenschr. 1916, 40.

²⁾ Wöfling, Über den Wassergehalt des Blutes unter physiologischen Verhältnissen bei renalem und kardialem Ödem usw., Münch. med. Wochenschr. 64, 869, 1917.

(redaktionelle) Unklarheiten bemerkbar gemacht, deren Präzisierung nunmehr ermöglicht ist.

Ergebnisse älterer Untersuchungen (Lagererkrankung 1915).

Bei den genannten früheren Untersuchungsreihen aus dem Jahre 1915 wurden speziell untersucht, Wassergehalt bzw. Trockenrückstand des Serums, das Reststickstoffgebiet, summarisch bzw. detailliert, die Reduktionsgrößen, Lipide (durch „Lipoid P“) und gegensätzlich der „säurelösliche Phosphor“ (Phosphate), Cholesterin, später die Fettverteilung, Chloridspiegel.

Die Hydrämien (Wassergehalt oberhalb der oberen Grenzen für die Norm bei Nüchternheit) lagen etwa um 100% Zuschuß an Wasser (Durchschnitt) und konnten bis auf 20% steigen [seltene Fälle oder Einzelbeobachtung eines Falles¹⁾]. Das Reststickstoffgebiet bot sich dar, indem der gesamte RN 11 schwerer Fälle (von insgesamt 46 solcher) Werte darbot, die zwischen 60,0 mg und 148 mg für 100 ccm Blut lagen. Für weitere 15 Fälle ergab sich 35,0 mg bis 60,0 mg²⁾. Der Rest (rund 57%) war normal. Die Struktur des R-N bot sich dar in der Stufe von 90 bis 148 mg RN mit 13,0 mg $\overset{+}{\text{UrN}}$ bis 45,0 mg $\overset{+}{\text{UrN}}$, charakterisierte sich also, was hier kurz zu bemerken ist, mit einer mehr oder minder energischen Zurückdrängung der $\overset{+}{\text{Ur}}$ -Fraktion zugunsten der Amino-N-Fraktion. In dieser waren sowohl der reine Amino-N wie auch $\overset{+}{\text{Ur}}$, Kreatinin und Kreatin gelegentlich erhöht. In den schwersten Fällen näherte sich die Struktur des RN, spez. also die der Amino-N-Fraktion durch wahren Amino-N, durch Kreatin (und Kreatinin), durch $\overset{+}{\text{Ur}}$, den Verhältnissen bei schweren Fällen echter Avitaminosen, wie solche von Feigl und Luce erstmalig beschrieben wurden³⁾. Für die — jene extremen Vorkommnisse an Zahl überwiegenden — Fälle dieser höheren Reihe mit Werten von 60,0 mg bis rund 90,0 mg Ges.-RN waren diese Erscheinungen weniger typisch und konnten in einer Verteilung gipfeln

¹⁾ Joh. Feigl, Diskussion zum Vortrage von Th. Rumpel über Ödemerkrankung, Ärtzl. Verein z. Hambg. 3. Juli 1917, unter Ausführungen zur deskriptiven Biochemie von Ödemzuständen. Hambg. Ärzte-Korresp. 29, 313, 22. Juli 1917 u. Deutsche med. Wochenschr. 1917.

²⁾ Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blutserum I, „säurelös. Phosphor bei Gesunden und Kranken“. Diese Zeitschr. 81, 5/6, 398, 1917, „Lagererkrankung“.

³⁾ Joh. Feigl u. H. Luce, Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatrophie I, Reststickstoff des Blutes usw. Weitere Beiträge zur vergleichenden Pathologie des Aminosäurespiegels im Blute. Diese Zeitschrift 79, 3/4, 191, 1917 (Orth-Heft).

mit rund 50% UrN^+ , indem sie sonach — schematisch gesprochen — einen erhöhten (mäßigen in der klinischen Staffe'ung z. B. nach H. Strauß) Ges.-RN darstellten, der seine Hauptfraktionen etwa proportional zur Norm, beide erhöht, enthielt¹⁾. Die darunter liegende Gruppe — 15 Fälle mit RN bis zu 60,0 mg — war nun charakterisiert durch geringe Anstiege des Ges.-RN mit einseitiger oder nahezu einseitiger Erhebung des UrN^+ . Unter den Komponenten des summarischen Amino-N, — der Ur , dem Kreatin, Kreatinin — fanden sich in extremen Fällen starke Erhöhungen, verwandt denen bei echten Avitaminosen, prinzipiell ähnlich denen bei der akuten gelben Leberatrophie, in mäßigen Störungen geringe Erhöhungen, dann besonders des Kreatins und der Aminosäuren²⁾. Ammoniak war in einiger Beziehung zu den Acetonkörpern z. T. erheblich gesteigert. Es handelt sich durchgehend um Nüchternwerte.

Die Lipide, beurteilt nach dem Lecithin oder Lipoid-P. (Greenwald, Feigl), waren herabgesetzt, z. T. ganz erheblich³⁾. Demgegenüber war der säurelösliche P (mit dem Kern anorganischer Phosphate) gesteigert, und zwar in gewisser Höhe proportional mit der Schwere der Fälle. Spätere Untersuchungen von Feigl haben die komplexe Natur des säurelöslichen P. dargetan, die Verhältnisse der Norm charakterisiert und erwiesen, daß bei echten Avitaminosen der nicht anorganische (Orthophosphat) Anteil absolut und relativ ansteigen kann⁴⁾. Für extreme Fälle fand sich die nachfolgende Größe mit 8,0 bis 12,0 mg P und rund 66% anorganischem P, bzw. 33% bis 40% „Restphosphor“ = bis 2,0 bis 3,0 mg. Letztere lagen bei mäßigen Fällen um 20%, schweren um 28% mg.

Damals bauten auf die Verhältnisse des lipoidischen P bzw. des anorganischen P in Rücksicht auf weitere Feststellungen über Neutralfett und Fettsäuren [im Sinne von W. R. Bloor⁵⁾] des Blutes und Plasmas, auf die Kenntnis mangelhafter Fettausnutzung bei hochwertiger, ebenso wie geringerer Nahrung, auf die Verhältnisse der alimentären Fettar-

¹⁾ Joh. Feigl, Gesamtreduktion und Restreduktion des Blutes usw. Diese Zeitschr. 77, 3/4, 199, 1916, Diskussion (A. V. Knack) 16. Mai 1916. Ärztl. Verein Hambg., Hambg. Ärzte-Korresp. 22, 1916.

²⁾ Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken I. Diese Zeitschr. 81, 1/2, 59, 1917, Tab. XI u. Tab. IX.

³⁾ Joh. Feigl, Phosphate I (l. c. 1917) 397, Tab. V u. VI.

⁴⁾ Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blutserum II, säurelöslicher (Gesamt)phosphor, vorgebildetes Orthophosphat und „Restphosphor“ beim Gesunden. Diese Zeitschr. 83, 81, 1917. — Derselbe III (wie II), bei Krankheitszuständen A, diese Zeitschr. 83, 218, 1917.

⁵⁾ W. R. Bloor, Mikroanalytische (nephelometrische) Methoden für Fette und Lipide des Blutes, sowie Ergebnisse. Joh. Feigl, l. c. Phosphate I, 1917 und später.

mut überhaupt Rumpel u. Knack die Auffassung auf, daß den Patienten die Fähigkeit zur Synthese lipoidischer Phosphoryle aus Fettmangel, und wie wir weiter sagen dürfen, der Schaffung nucleinartiger Körper als Ersatz des z. T. rapide eingeschmolzenen Organmaterials verloren gegangen sein müsse. Es wurde bereits damals der letzte Urgrund in der schweren Störung des (statischen) Lipoid- und Fetthaushaltes erblickt — eine Anschauung, der wir konsequent weiter dienstbar zu bleiben strebten, bei kurzer Karenz kommen niedere (!) RN-Zahlen vor.

Cholesterin, und zwar freies, nicht verestertes, wurde häufig vermehrt gefunden, bei initialen Fällen dagegen sichtlich verringert.

Die Reduktionsgrößen¹⁾ (Gesamtreaktion des Blutfiltrats nach Enteiweißung) zeigten sich normal (leichte und mittlere Fälle), und mäßig bis erheblich vermehrt (schwere Fälle). Die Differentialanalyse nach Angaben von Feigl zeigte an Hand der einschlägigen Methoden, unter ihnen auch der Zuckerbestimmung von Benedict und Lewis bzw. Myers und Bailey, daß die wahre Glucose herabgesetzt sein konnte. Hypoglykämien bei Avitaminosen hat Feigl beschrieben. Den Begriff der „scheinbaren“ Hyperglykämien hat seinerzeit O. Schumm geschaffen, indem ihm die Aufklärung gelang mit einer, allerdings nicht objektiven und vor weiterer Prüfung einwandfrei (wie spätere Kontroversen mit Grießbach und Straßner erwiesen) gebliebenen Vergärungsmethodik. [Früherer Begriff der „Restreaktion“ nach Schumm und Hegler²⁾].

Erhöhte Acetonkörper im Blute kamen vor, wurden indes nur gelegentlich analytisch dargestellt. Die alte Methodik der Alkaleszenzbestimmung gab herabgesetzte Werte in einem Teile der (schwereren) Fälle.

Abgewogen gegen die Verhältnisse der Hydrämien, d. i. die Verdünnung des Serums, mußte die Ansicht über die Verminderung der kolloiden Stoffe als solche allgemein aufrecht erhalten werden.

Die Frage, ob es gelänge, diese „mangels jeder Ätiologie dem Kapitel der beriberiähnlichen (Segelschiffsberiberi Nocht) rein ernährungstoxischen Ödemzustände gelegentlich zugewiesenen Erscheinungen“ (Rumpel und Knack) biochemisch mit Hilfe reichlicher Beschreibung statischer und dynamischer Verhältnisse gegen die eigentlichen echten Avitaminosen (Skorbut, Beri-Beri) abzugrenzen und gegensätzlich zu diagnostizieren, wurde ventilert. Wir mußten jedoch einsehen, daß zwar die mäßigen Fälle — z. B. illustriert durch hohen UrN des mäßig erhöhten gesamten RN — in gewissen Gegensatz treten konnten,

¹⁾ Joh. Feigl, l. c. 1916. Natürlich ist der Begriff „Gesamtreaktion“ kein unbedingt eindeutiger. Genauer wäre zu sagen: Gesamtreaktion des enteiweißten Blutextraktes.

²⁾ Lit. bei Joh. Feigl über Gesamtreaktion, Restreaktion und Blutzucker l. c. 1916.

daß aber die schweren, den eigentlichen Avitaminosen nahe-
stehend bzw. ähnlich genannt werden konnten, wie die nam-
haft gemachten Untersuchungsgebiete nach den einschlägigen
Befunden dartaten. Daraus konnte sich u. E. die Meinung ent-
wickeln, daß die ehemaligen bzw. die noch gegenwärtigen, infekti-
ösen Vorbedingungen darin eine Rolle zu spielen vermögen,
indem gerade diese Verhältnisse schaffen, die zur größeren und
vielleicht anders garteten Schädigung führen, als es die „reine
Inanition“ vermag. Später hat auch Brauer¹⁾ an Hand seiner
ausgedehnten Erfahrungen sich dahin ausgesprochen, daß der
bisherige Begriff der Avitaminosen dem Kliniker und Patholo-
gen nicht den Eindruck der Geschlossenheit zu wecken imstande
sei, — daß es Übergänge gäbe, und daß die schweren Fälle
den Eindruck der Mitbeteiligung kräftiger, infektiöser Noxen
darzubieten vermöchten. So glaubten wir denn, daß die schweren
Erscheinungen der auf infektiöse Ätiologie zurückgeführten
Ödemkrankheit etwas für sich Bestehendes seien, zwar den Avi-
taminosen verwandtes (äußerlich: Fehlen der Polyneuritis) und
daß sie mit echten Inanitionsödemem schlechthin auch nicht
identifiziert werden könnten. Dafür scheint auch heute noch
zu sprechen, besonders der durch die jetzigen Untersuchungen
geschaffene Überblick, daß damals eine Einheitlichkeit in gleichen
Fragen nach den Konstanten des intermediären Stoffwechsels
nicht annähernd zu erzielen war. Man sehe das RN-Gebiet
an mit der Gruppe geringer Erhöhungen der Gesamtgröße unter
einseitigem Anstieg des UrN⁺ (Fraktion von RN, Bang) im Gegen-
satz zu der nächsten, mit mäßigem Ges.-RN, gering erhöhtem
UrN⁺, stark angewachsenem Amino-N (summarisch, rein, Ur, Kreatin-)
Gruppe! Das sind verschiedene Bilder, ohne daß die Be-
hauptung gerechtfertigt wäre, jedes erstere müsse etwa nach-
träglich noch in das fernere übergehen, eine Ablauferscheinung
darstellen. Die Schwere der durch die Infektionen gesetzten
Noxen wurde als Maßstab für die Erscheinungen angenommen,
und man kann nachträglich sagen, die Gruppe ohne Befunde
oder mit geringen Ausschlägen habe sich den Verhältnissen
„sogen. reiner Inanitionen“ angeähelt. Es wäre die Frage nach

¹⁾ L. Brauer, Diskussionsbemerkungen zum Vortrage von Th. Rumpel über Inanitionsödem. Ärztl. Verein zu Hamburg, 1. c.

dem Aussehen der fraglichen Verhältnisse ohne Inanition zu stellen. Tatsächlich liegen die Verhältnisse prinzipiell ähnlich, vermehrt um die Einwirkungen durch die letztere.

Was konnten nun die damaligen Beobachtungen über pathologische Abwandlungen der Blutzusammensetzung lehren?

Zweifelsfrei handelte es sich um eine Verarmung an Fetten und Lipoiden, spez. „Lecithin“, im Plasma, wobei natürlich Änderungen im Wassergleichgewicht und den Kolloidphänomenen schlechthin ermöglicht sein würden. Rückgänge waren auch vorhanden in dem Spiegel des Blutzuckers, indem dieser entweder in der Mobilisation gehemmt oder zurückgehalten bzw. nach Ausschüttung des Hauptreservoirs, des Glykogens, unter Beeinträchtigung der Möglichkeit zu anderweitiger Bildung, an sich vermindert sein konnte. Dagegen sprechen die Befunde im RN-Gebiet, und zwar sowohl die geringen und mäßigen Erhöhungen mit Vordrängung der UrN^+ -Fraktion wie die mäßigen und höheren mit der Norm gleichbleibendem Aufbau (Hauptfraktion nach Bang rund 1 : 1) und vorwaltendem Amino-N für Zerfall von proteinartiger bzw. kernhaltiger Substanz¹⁾. Das erstere RN-Bild kann nach Bang als Produkt des Hungers und der Einschmelzung schlechthin gelten, wobei man sich die UrN^+ -Anstiege durch vorwiegenden Amino-N-Verlust der Organe (unter Ur^+ -Bildung) deuten kann, während die beiden übrigen Gruppen gemeinsam eine die Norm übertreffende Ausdehnung des Amino-N zeigen, der also entweder beim Zerfall schlechthin retiniert sein kann, oder dessen einzelne Glieder durch herabgesetzte Toleranz vor weiterer Verbrennung geschützt worden waren. Im zweiten Stadium kann es sich um tiefer eingreifende Zerfallsprozesse handeln — Ur aus Nucleinen usw., die nicht retiniert zu sein braucht, sondern in erhöhten (endogenen) Werten auch im Harn erscheint (Befunde). Indem sich Erscheinungen der zweiten Serie bis zu diesen Manifestationen durchsetzen, kommt man ohne die Annahme tiefer greifender Umstimmungen nicht aus; man wird eine Heterolyse mit der Entstehung von Amino-N spezieller Natur oder eine einseitige Schädigung der desamidierenden Funktion der Leber voraussetzen

¹⁾ I. Bang, Untersuchung über den Reststickstoff des Blutes I, diese Zeitschr. 72, 100, 104, 1915, sowie II bis V ebda.

dürfen¹⁾. Kurzum, es schienen uns die typischen Avitaminosen und die schweren bzw. extremen Fälle jedenfalls im RN-Gebiete, das vorzugsweise als differenzierendes Moment in Betracht stände, weit näher aneinander zu rücken als die „reinen Inanitionen“ und die leichten (infektiös früher gegenwärtig weniger affizierten) Fälle der Lagererkrankung. Diese Meinung kann sich in gewisser Weise auf die Erfahrungen und Ansichten Brauers über Avitaminosen, spez. Skorbut, stützen. Die Frage, ob damit die „beriberiartigen“ Komplexe den reinen Inanitionszuständen näherrücken, kann wohl mit „Nein“ beantwortet werden. Weder für die „Lagererkrankung“, noch für spätere Fälle konnte zwingend eine einseitige oder mehrdeutige Ätiologie avitaminen Charakters wirklich eingeräumt werden. Auch die fehlenden „Weizenvitamine“ (Gerhartz), die fehlenden und medikamentös ersetzbaren „Salze der grünen Gemüse“ (Döllner), die „Eier und Kartoffeln“ (Boenheim) zu „einseitiger“ Ernährung kann man allein kaum als entscheidende Determinanten für die Abwandlung des Stoffwechsels gelten lassen. Eher dürfte schon das Fehlen zweier oder mehrerer „Vitamine“ bzw. die Vertretbarkeit dieser untereinander angenommen werden. Bekanntlich gibt es ja auch, was die Salztheorie der Ödembildung (Schiff, Lichtwitz, Lippmann) angeht, Meinungen und selbst Beobachtungen wie Tatsachen scheinbar durchaus entgegengesetzter Natur. So werden die „Natronödeme“ der Diabetiker auch als „Haferödeme“ gedeutet (s. u.) und den „hohen Salzzufuhren“ solche geringsten Grades als Ursachen gleicher Erscheinungen entgegengestellt (Brauer²⁾. Es scheint wohl sicher, als ob Wirkungen einer sogen. „generellen Inanition“, wenn einmal auf einen primär infektiös geschädigten Organismus (spez. Darm usw.) aufgepfropft, andere (prinzipiell) Bilder in der Charakteristik gewisser statischer Blutbefunde erzeugen, als ohne diese, daß aber die echten Avitaminosen — eben in gewissen Ausdrucksformen des intermediären Stoffwechsels — diesen infektiös vorbereiteten Schädigungen ähnlicher werden. Während somit, dem Gedankengange Brauers sich anpassend, die Möglichkeit einer bakteriellen Ätiologie (vielleicht nur vorgängigen, nicht

¹⁾ Feigl u. Luce, l. c. 1917.

²⁾ Feigl u. Luce, l. c. 1917.

spezifischen Charakters) gewisser Avitaminosen wieder mit gewissem Recht in die Erscheinung tritt, hat sich bisher nicht viel an Argumenten finden lassen, was für eine wesentliche Parallelität der Umstimmungen bei reiner Inanition mit den Verhältnissen der beschriebenen Lagererkrankung selbst in den wechselseitig schwersten und daher typischsten Fällen sprechen könnte.

Neue Untersuchungen (1916, 1917).

Methoden und Voraussetzungen der damaligen Arbeiten wurden mit den sich herausstellenden Lücken, deren Ausfüllung wir erstrebten, für die Aufgabe übernommen, die an uns herantrat, als es sich darum handelte, beschreibende Grundlagen durch geeignete Befunde an Blut und Harn für Ödemkrankheiten zu liefern, die im letzten Winter zur Beobachtung kamen.

Besondere Berücksichtigung verdient die Frage nach der Einheitlichkeit des Materials, die zum großen Teile durch das Alter, in unserem Kreise auch durch Momente der Rasse und Lebensgewohnheiten (spez. der Kost) bestimmt wurde. Knack und Neumann heben das Überwiegen von Männern gegen Frauen und Kinder hervor, sahen den einzigen „sicheren Fall jüngster Jahrgänge“ mit 12 Jahren, noch jüngere als nicht rein beurteilend. Die älteren Lebensabschnitte überwogen, eine Tatsache, die von den Verf. aber nicht in dem Sinne einer Disposition höheren Alters gedeutet wird (unvollständige Statistik: Heeresdienst). Bei Frauen sollten sogar die jüngeren Abschnitte Vorwalten zeigen.

Wir können zwei Gruppen auf schematischer Grundlage trennen. Die erste betrifft Mannschaften eines hiesigen Arbeitslagers (Ausländer) und umfaßt ein ziemlich einheitliches Material (Alter, Ernährungsverhältnisse und -bedürfnisse, körperliche Tauglichkeit), das zum Studium einzelner Erscheinungen der Frage sich als von hohem Werte erwies. Fälle aus der Zivilbevölkerung waren weniger einheitlich und zeigten sich, wie gesagt, reichlich bei älteren Männern.

Untersuchungen im Blute bzw. im Serum.

Physikalisch-chemische Methoden.

Physikalische Methoden der Serumuntersuchung, ausgeführt von A. V. Knack, ergeben für die Dichte durch Herabsetzung

gen des Brechungsindex die Schlußfolgerung, daß eine Hydrämie dieser Erscheinung zugrunde gelegen habe. Kryoskopische Prüfungen an fast allen Fällen, z. T. mehrfach ausgeführt, mußten als normal begutachtet werden¹⁾.

Chemische Methoden.

1. Chemische Methoden wurden zunächst in der Frage der Hydrämie betätigt, indem die optische (indirekte) Bestimmung nicht als allein stichhaltig angesehen werden sollte.

Grundlagen: Makrochemische bzw. mikrochemische [Technik nach Bang²⁾, Torsionswaage, Papierblattabsorption bzw. Wäagebecher, Trocknung im erwärmten Luftstrom von rund 45° in besonderen Apparaten mit Trockenmittel und Luftverdünnung] Analyse des Serumtrockenrückstandes. Aus größeren Reihen, — etwa 60 Gesunde mittleren Alters und weitere Lebensabschnitte in geringeren Zahlen — ergab sich, daß Extreme von 9,0% bis 10,6% Rückstand, demnach „Wassergehalt“ 91,0% bzw. 89,4% anzuerkennen waren, die sich auf Nüchternheit (so weit ein solcher Begriff auf die Tatsache des Nichttrinkers zu beziehen war), Ausgeruhtheit usw. bezogen. Auch Schwankungen am gleichen Individuum mußten festgestellt werden; sie waren beträchtlich, wie die Zahlen an verschiedenen Personen zu gleicher Zeit (morgens), und stehen mit in der Reihe. Das Mittel im großen liegt bei etwa 9,7% bis 9,9% Trockenrückstand bzw. 90,3% bis 90,1% Wasser. Im ganzen decken sich unsere, hier im Auszuge gegebenen Zahlen mit denen Woelfings (die ohne unsere Kenntnis später entstanden); auch die zeitlichen Erscheinungen der Umlagerung des Wasserhaushaltes wurden von uns gleichartig festgestellt. Für uns handelte es sich um die Feststellung der Wasserzulage zum normalen Serum, bzw. danach, um die Schaffung einer rechnerischen Grundlage für die Beurteilung der Ergebnisse. Die Mehrdeutigkeit des methodisch gefaßten Begriffes der Hydrämie beanspruchte Untersuchungen über den tatsächlichen Eiweißgehalt. Dieser war durch selbständige Bestimmung kontrolliert und die Höhe des Eiweißbestandes dem Wassergehalt bzw. Trockenrückstand gegenübergestellt worden.

Befunde über Hydrämien bei Reihe I. (Personen des Arbeitslagers.) Gegenüber äußeren Grenzen des physiologischen Wassergehaltes von 91,0% bzw. 89,4%, entsprechend Trockenrückständen von 9,0% bzw. 10,6% mit Schwankungen um das Reihenmittel (19,8% Rückstand und 90,2% Wasser) von 0,8 Einheiten nach unten wie nach oben (d. i. je 8,2%

¹⁾ Ergebnisse frdl. zur Verfügung gestellt.

²⁾ I. Bang, Die Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Wiesbaden 1915.

der Durchschnittsgröße, Gesamtbreite 1,6 Einheiten) fanden wir zumeist einen Betrag an Wasserzuschuß, der rund 10% betrug und den Trockenrückstand somit auf 8,1% des frischen Serums brachte, dessen Wassergehalt somit 91,9% erreichte. Damit ging einher der Befund, daß die niedrigen Werte für Hydrämie der Reihen zu rund 8,2% d. i. Wassergehalten von 90,8% entsprachen. Wenige Extreme stiegen auf 93,0% Wassergehalt und weniger als 7,0%, bzw. auf 6,8%, selbst 6,2% Rückstand. Im ganzen waren die Befunde, nach obigen Angaben vergleichbar gewonnen, im Ruhezustande ziemlich konstant und erhielten sich noch während der Diurese.

Reihe II (ältere Leute der einheimischen Bevölkerung) zeigte keine durchgehenden Erscheinungen. Es kamen Zahlen von 92,0%, 92,5%, ja selbst 94,0% Wassergehalt vor.

2. In beiden Reihen spielte das (absolute) Absinken der Eiweißkonzentration eine Rolle, untergeordnet in der ersten, mehr jedoch in der letzteren, dort nicht schematisch, sondern in bestimmten pathochemischen Beziehungen. Die Stickstoffgehalte¹⁾ fielen bis 3,0%, Extreme 27% bzw. 2,5% und 0,75%.

3. Beobachtungen über das Gebiet des Reststickstoffs und über seinen Aufbau.

Grundlagen: Methoden, mikrochemisch durch Enteiweißung mit Trichloressigsäure nach J. Greenwald, Destillation und Colorimetrie bzw. mikrochemisch (Absorptionsverfahren) von I. Bang. Grenzzahlen und Durchschnitte beider stimmen leidlich gut überein. Nach Bang wird die obere Grenze im nüchternen, ausgeruhten Zustande zu rund 35 mg für 100 ccm Blut oder Plasma oder Serum beziffert. Die Frage nach dem Spiegel des Ges.-RN ist bekanntlich von O. Folin in dem Sinne eines Anstieges mit dem Lebensalter gedeutet worden, was I. Bang zwar nicht bestätigte, aber nach wie vor für denkbar erklärt. Doch verfügen wir zur Zeit schon nicht über feste Anhaltspunkte für diese Anschauung, beziehen uns deshalb auf eine allgemein gültige Grenze von 35,0 mg. Aufspaltung des RN in eine UrN-Fraktion (Ur, NH₂)⁺ und Amino-N-Fraktion (Aminosäure, Ur, Kreatinin, Kreatin), summarische Amino-N-Fraktion bzw. geläuterter Amino-N. Die Grenzen für UrN betragen 6,0 mg bis 20,0 (Bang), für Amino-N (summarisch) 3,0 mg bis 22,0; im Durchschnitt stehen in Gesamt-RN also beide wie 1,2:1,0²⁾. Siehe J. Feigl 1918.

¹⁾ Joh. Feigl, l. c. 1916, 1917.

²⁾ M. Boeninger, Chemische Blutuntersuchungen, Zeitschr. f. experim. Pathol. 11, I, 1, 1912.

Befunde zu Reihe I. Im Ödemzustande kommen gut 30% erhöhte RN-Werte vor, die zwischen 35,0 mg und 70,0 mg liegen, zumeist sich über 40,0 mg für 100 ccm erheben. Es besteht keine ersichtliche Wandlung bei Liquidation der Ödeme. Hohe Zahlen können sich auch nachher finden, d. h. zunächst erhalten bleiben oder selbst in 5% der Fälle erneut auftreten. Man wird hier an den Einfluß der Ausschwemmung auf bisher retinierte Körper, auf den Umfang des „Katabolismus der Proteine“ denken müssen, ferner auf die Verhältnisse des anorganischen Salzspiegels (s. u.) aufmerksam sein müssen, dessen Auswaschung indirekt mitreißend wirken kann.

Die Strukturen der beobachteten Gesamtreststickstoffwerte waren für Fälle mit normaler, absoluter Höhe normal, bzw. konnten angesichts der Grenzzahlen von Bang für UrN^+ und Amino-N bzw. der Angaben von Folin, anderen amerikanischen Autoren bzw. der Befunde von Feigl nicht anders ausgelegt werden. Doch war im größeren Durchschnitt gegen gesunde, ausgeruhte Männer der UrN^+ zweifellos höher, der Amino-N zurückgedrängt. Die Gliederung der Amino-N-Fraktion zeigte oft geringe, ganz selten relativ hohe Harnsäurewerte, gelegentlich erhöhtes Kreatinin, meist höheres Kreatin, das den normalen Durchschnitt hinter sich ließ und an 10,0 mg für 100 ccm lag bei einzelnen Extremen von 14,0 mg. Amino-N nach van Slyke wie nach Harding und Mac Lean erschien relativ gering. Durchschnitt der reinen Fälle 5,0 mg N. Auf Unterschiede in der Verteilung gerade des letzteren zwischen Serum und Körperchen haben verschiedene Autoren hingewiesen (E. Zunz u. a.), doch spricht Bang von nur unbedeutenden Differenzen¹⁾. Ammoniak-N kommt erhöht vor mit gemeinhin gesteigerten Durchschnittswerten (s. u. Acidose); 0,3 bis 4 mg für 100 ccm gegen 0,1 bis 0,2 mg der Norm²⁾.

Befunde zu Reihe II. Man wird nicht erwarten können, daß ein ziemlich umfangreicher Kreis von älteren Leuten (selbst

¹⁾ Joh. Feigl, l. c. 1916.

²⁾ Joh. Feigl, Biochem. Untersuchungen über den Einfluß von Marschanstrengungen usw. Diese Zeitschr. 1917. — Zahlen nach älterer (!) Methodik Henriques u. E. Christiansen, Untersuchungen über dem Ammoniakgehalt des Blutes II. Diese Zeitschr. 80, 296, 1917.

bis hinauf zu 70 Jahren) im RN-Gebiet Befunde einheitlicher Natur unter vorliegender Fragestellung zu geben vermag. Umstimmungen einzelner Stoffwechselgebiete konnten klinisch erhärtet werden. Doch ist auch hier mit rund 30% an erhöhten RN-Zahlen zu rechnen und in der Struktur ein gemeinhin ähnliches Bild zu finden, wenn von bestimmten pathologischen Erscheinungen abgesehen wird. Auch hier spielte die Inkonstanz des einzelnen Falles eine Rolle. Ammoniak: Grenzen 0,30 mg bis 1,8 mg.

4. Untersuchungen über Gesamtreduktion und Blutzucker, ausgeführt nach Bang sowie nach Lewis und Benedict¹⁾, ergeben sich für Reihe I (internierte, einheitlichere Fälle) zu rund 40% zweifelsfreie, echte Hypoglykämien, deren analytische Darstellung in Rücksicht auf den wahren Anteil des Begriffes der Restreduktion nach Feigl gegengeprüft wurde. Es kamen selbst Zahlen von 0,04% vor, zumeist 0,06%, wo die Norm mit rund 0,08% bis 0,12% anzunehmen war. Anfängliche Werte konnten selbst 0,13 betragen, sie fielen langsam auf 0,9, 0,8 bis 0,7 (s. u.). Für Reihe 2 (ältere Leute der Bevölkerung) zeigte sich, wie nach klinisch-pathologischer Vorkenntnis zu erwarten war, ein ganz inkonstantes Verhalten. Auch hier kamen Senkungen der genannten Grade, aber seltener, vor. Normale und leicht hyperglykämische Werte, die mit andersgearteten Befunden verknüpft, gerechtfertigt erscheinen mußten, überwogen, letztere zu rund 8%.

5. Untersuchungen über Acetonkörper des Blutes. Legt man nach Ergebnissen von Marriott²⁾ bzw. in Anklang an seine Methode sowie an daraus entstehende zahlreichere Befunde des Verfs.³⁾ den — vielleicht einstweilen nur relativen Wert bietenden — Maßstab von Gesamtaceton in oberen Grenz-

¹⁾ Joh. Feigl, l. c. wie¹⁾, Gesamtreduktion und Restreduktion (1916).

²⁾ W. M. Marriott, Nephelometric determination of minute quantities of acetone. Journ. of Biolog. Chem. 16, 289, 1913/14. — Ders., The determination of β -Oxybutyric acid in blood and tissues, ebda. 293. Methodik: Präformiertes Aceton und solches aus Acetessigsäure. Technik: Reagens Scott-Wilson, Nephelometrie.

³⁾ Siehe dazu Joh. Feigl, Über das Vorkommen von Kreatinin und Kreatin im Blute bei Gesunden und Kranken I. Diese Zeitschr. 81, 1/2, 71, 1917.

zahlen zu rund 0,1 mg für 100 cem Blut (präformiertes Aceton + Aceton aus Acetessigsäure) und Oxybuttersäure zu rund 5,0 mg der Fragestellung unter, so kam für Reihe 1 ein Gesamtdurchschnitt von 0,18 mg mit Extrem von 0,38 mg bzw. 7,0 mg mit Extrem 12,0 mg in Frage.

Da andererseits die gegenwärtigen Ernährungsverhältnisse zweifelsfrei auch bei Gesunden Abwandlungen hervorbringen können, ist eine Reihe von 20 Gesunden den Befunden gegenübergestellt worden, ohne daß ein ähnlicher Durchschnitt erzielt wäre. Der Abstand blieb ersichtlich und hielt sich oberhalb einer Anknüpfung an die möglichen Fehlerbreiten.

Reihe II umfaßt natürlich keine einheitlich klärbaren Befunde; nur die Abwertung aller klinischen Beobachtungen läßt auch hier die speziellen Einflüsse inmitten weiterer Ätiologien sich erkennbar abheben. Auch hier kommen Hyperacetonämien zweifelsfrei auf der fraglichen Grundlage vor.

6. Untersuchungen über Fette und Lipoide. Den — namentlich unter dem Gesichtspunkte von Grenzen und Durchschnitten der Norm im nüchternen Zustande bzw. von Abartungen gegen diese — schwierigen Fragestellungen wurde der Kreis neuer Methoden von W. R. Bloor zugrunde gelegt¹⁾. Die Enteiweißung ist eine spezifische²⁾, die analytischen Ermittlungen der „extrahierten Stoffe“ desgl. Beide haben sich seit der betr. Veröffentlichung in der Hand des Verfs. bewährt.

¹⁾ Einze'ne Angaben nach bisherigen Versuchen bei Joh. Feigl, l. c., Phosphate I, 1916, 384.

²⁾ Extraktion unter Enteiweißung mit großem Überschuß von Ätheralkohol, die sich gut bewährt hat und sonach den Enteiweißungsmethoden von A. H. Taylor und H. Florence bzw. Ch. G. L. Wolf im Prinzip ähnelt, l. c. Über gute Erfahrungen berichtet auch J. H. Müller, A comparison of the results by the colorimetric and gravimetric determination of cholesterol. Journ. of Biolog. Chem. 25, 549, 1916 (in Versuchsreihen über Isolierung und Bestimmung des Gesamtcholesterins im Blute). Sie ist namentlich in der auf die Isolierung folgenden Analyse durch Nephelometrie dem Verfahren von Kumagawa-Suto überlegen, das im Prinzip eine Modifikation des Prozesses nach L. Liebermann ist, und die demnach auch so heißen sollte. Sczekély, Über Fettbestimmung nach dem Prinzip der direkten Verseifung. Diese Zeitschr. 42, 5, 412, 1912. Auch die Modifikation des ersteren nach Shimidzu (s. Handbücher) mit vorgängiger Alkoholextraktion bietet keine prinzipielle Besserstellung. (S. u. a. S. Sakai, Zur Frage der Lipämie, diese Zeitschr. 62, 387, 1914.

Grundlagen:¹⁾ Bloor bestimmt direkt zunächst die Phosphorsäure des Lecithins²⁾, verrechnet aus dieser Zahl $\times 8$ — unter Annahme eines Oleo-Stearyllecithins —, das „Lecithinmolekül“ mit seinem Anspruch an Fettsäuren, die dem Werte für den analytischen Begriff „Gesamtfettsäuren“ entzogen werden. Getrennt wird bestimmt Cholesterin³⁾ und 66% desselben für Plasma als verestert angenommen, die demnach erforderte Menge Fettsäure wie eben gesagt dem Gesamtbetrage wiederum entnommen. Für Körperchen wird die Annahme freien Cholesterins eingesetzt⁴⁾. Nunmehr sind die Beträge für gebundene Fettsäuren, soweit sie außerhalb des wahren Fettmoleküls stehen, zusammenzufassen ($0,70 \times$ berechnetes Lecithin bzw. $0,48 \times$ berechnetes verestertes Cholesterin) und von dem „Befunde für Gesamtfettsäuren abzusetzen⁵⁾, wobei das „Neutralfett“ des Plasmas in Zahlen erhalten wird⁶⁾. Für Körperchen werden nur Lecithinfettsäuren von den gesamten abgezogen und wie oben, mit 1,05 multipliziert, zur Berechnung des Fettes verwandt. Ferner finden sich bei Bloor die Begriffe „totales Fett“, eine Summe aus Cholesterin und Gesamtfettsäuren, die auch für uns praktisch wichtige der „gesamten ätherlöslichen Substanz“ (für Plasma) aus Fett, Lecithin, Cholesterin (frei bzw. gesamt) kombinierbar⁷⁾. Diese unmittelbaren Grundlagen erfordern die Anwendung analytischer Methoden des Verfs., die Trennung von Plasma und Körperchen und die Anerkennung bzw. Nachprüfung der einzelnen technischen Arbeiten bzw. statistischen Feststellungen bzw. rechnerischen Voraussetzungen und Annahmen⁸⁾.

¹⁾ Begriffliche Angaben bei W. R. Bloor, The determination of the lipoids („fat“) in human blood. Journ. of Biolog. Chem. 25, 577 ff., spez. 587, 1916. Die Gesamtheit der Fette nennt Overton zellechemisch Lipoide, womit sonst Lecithin und Cholesterin gemeint waren. Leathes nennt die Gesamtheit Fette, Gies Lipine.

²⁾ W. R. Bloor, The determination of cholesterol in small amounts of blood. Journ. of Biolog. Chem. 24, 227, 1916.

³⁾ W. R. Bloor, A method for the determination of lecithin in small amounts of blood. Journ. of Biol. Chem. 22, 1915. A simple method of converting the Dubosq colorimeter in a nephelometer ebd. L. Berczeller, Kritisch-Experimentelles über die Bestimmung der Fette und Lipoide des Blutes. Diese Zeitschr. 44, 193, 1912. (Extraktion und Verseifung geben den höchsten Wert.)

⁴⁾ Die Berechtigung zu diesen Annahmen leitet Bloor aus eigenen Ergebnissen und einer Übersicht der Literatur unter Abwägung der Methoden, Befunde und Auffassungen her, l. c., 3.

⁵⁾ W. R. Bloor, A method for the determination of fat in small amounts of blood. Journ. of Biol. Chem. 17, 377, 1914. (Extraktion, Isolierung, Verseifung, Nephelometrie.)

⁶⁾ Dieses ist sonach eine rechnerische Größe.

⁷⁾ Wichtig zu vergleichender Übersicht bei älteren bzw. methodisch weniger durchgebildeten Untersuchungen.

⁸⁾ Verf. verfügt (unterstützt von Knack, Neumann, Querner)

Bei der von uns als wichtig angesehenen Frage nach den Umstimmungen in den absoluten Beständen bzw. relativen Verhältnissen der einzelnen Fraktionen des Fett-Lipoidgebietes im Blute handelte es sich um die Wahl eines Kreises von Methoden, die hohen Anforderungen an viele Faktoren gerecht werden mußten. Wir meinen darunter besonders die strengen Voraussetzungen mikrochemischer Verhältnisse, eine gewisse Promptheit, Einheitlichkeit, gute technisch-analytische bzw. statistische Grundlagen. Alles dieses findet sich zur Zeit nur in den neuen Methoden von W. R. Bloor, die zudem vor allen übrigen den großen Vorzug haben, die Glieder des gesamten Gebietes aus einem Wurfe unter teils unmittelbarer, analytischer Ermittlung, teils rechnerischer Verkettung darzustellen. Natürlich haftet einem an sich durchaus neuartigen Arbeitsverfahren eine gewisse Unsicherheit hinsichtlich des Vergleichs zu älteren Methoden an, die aber in unserem Falle durch weiter ausgedehnte Untersuchungen fast gänzlich als behoben gelten muß¹⁾. Außerdem stimmt jedoch ein großer Teil der fraglichen Befunde direkt mit den mittleren Werten der sonst gebräuchlichen Methoden überein, was nach Bloor von Fetten, wie von Lecithin bzw. Phosphatidphosphor gilt²⁾, während die Angaben über Cholesterin nicht durchaus einheitlich und zudem abweichend lauten³⁾.

Die Bestimmung des Fettes geschah nach der Methode des Autors nephelometrisch, die des Lecithins nach den gleichen Angaben, jedoch in rein analytisch veränderter — im Prinzip dem Verfahren von J. Greenwald gleicher — Gestalt durch Nephelometrie des Strychninphosphor-

über größere Reihen von Ergebnissen an Gesunden und Kranken bzw. aus der pathologischen Physiologie bzw. in Rücksicht auf die in der Kriegszeit erfolgten Wandlungen an Normalen und Patienten. Hierüber ist später aus speziellen Voraussetzungen zu berichten. Die Befunde und Schlüsse stimmen unbedingt im Prinzip überein, doch fallen heutige Normalzahlen für Blutfett usw. geringer aus. S. a. W. Denis 254.

¹⁾ Mit Ausnahme der Voraussetzungen über die Bindungsverhältnisse des Cholesterins sowie über die Gesamtwerte für letzteres.

²⁾ W. R. Bloor, l. c. 25, 589, 1916, „the total fatty acids and total ether soluble“ valours fall within the wide limit given in the literature“.

³⁾ W. R. Bloor, ebda. Die Cholesterinwerte seiner Methode sind höher als die zumeist mitgeteilten. Ihr Durchschnitt ist 0,17 g in 100 ccm Blut.

molybdates¹⁾. Die Analyse des Cholesterins in vergleichender Anordnung sowohl nach Authenrieth²⁾ unter Vorbereitung durch starke, alkalische Hydrolyse des Blutes sowie nach Bloor ohne diese durch besondere Extraktion³⁾. Beide gründeten sich auf das gleiche reaktive Prinzip und die Colorimetrie. Es wurde für notwendig gehalten, parallel in beiden — abweichenden, mit individuellen Werten abschließenden Analysengängen zu arbeiten, und der nicht unbedingt geklärten Methode Bloors beschreibende Grundlagen zu schaffen⁴⁾. Ferner wurde nach der neuesten Methodik Bloors mikrochemisch-colorimetrischer Artung das freie neben dem verestert gebundenen Cholesterin ermittelt, wobei die Digitonincholesterinbindung nach Windaus das trennende Prinzip darstellt⁵⁾. Nach den Zusammenstellungen von Bloor berechnet sich für 14 gesunde Männer mittlerer Jahre bzw. für 9 gesunde Frauen an Werten der genannten Begriffe im Durchschnitt folgende Zahlen in g für 100 ccm Vollblut bzw. Plasma bzw. Körperchen: Gesamtfettsäuren 0,36 g (Vollblut) bzw. 0,38 g Plasma, 0,36 g Körperchen mit hohen Werten von 0,41 g bzw. 0,43 g bzw. 0,45 g und niedrigen von 0,29 bzw. 0,30 bzw. 0,28 g (Männer) und 0,36 g (Vollblut) bzw. 0,40 g (Plasma) bzw. 0,29 g (Körperchen) und hohen Werten von 0,42 g bzw. 0,47 g bzw. 0,34 g und niedrigen von 0,32 g bzw. 0,35 g bzw. 0,27 g (Frauen).

Diesen Zahlen gegenüber ergab sich an Befunden für Reihe I (internierte Ausländer) 0,20 g als Durchschnitt mit unterem Extrem von 0,12 g, oberem Extrem 0,27 g auf 100 ccm Plasma. Die Werte für Körperchen lagen im Bereich der Norm, diejenigen im Vollblute mäßig unterhalb der Durchschnitte bei Gesunden. Es ist sonach, was das Plasma angeht, von Absenkungen zu reden, die nahezu die Hälfte der Norm im großen Durchschnitt darstellen, während fernere Zahlen noch weit darunter gehen können und im besten Falle um

¹⁾ Autoren: J. Pouget u. D. Chouchak, G. Denigès, J. Greenwald, P. Medinger, vor allem P. A. Kober u. G. Egerer, in deren Händen erst ein praktikables Reagens entstand, dem Silberphosphatverfahren ganz erheblich überlegen. J. Feigl, l. c., Phosphate I (1916).

²⁾ W. Authenrieth u. A. Funk, Über die colorimetrische Bestimmung des Cholesterins im Blute. Münch. med. Wochenschr. 1913, 243.

³⁾ Aus beiden Arbeitsweisen müssen Resultate ohne prinzipielle Koinzidenz hervorgehen (Oxycholesterine, Gallenfarbstoff, Kohlenhydrate und Säuren nach Zersetzungsprodukten).

⁴⁾ Gemeinsam mit Neumann sind methodenkritische bzw. deskriptive Arbeiten fertiggestellt worden, über die demnächst a. a. O. zu berichten sein wird.

⁵⁾ W. R. Bloor, The separate determination of cholesterol and cholesterol esters in small amounts of bloods, Journ. of Biolog. Chem. 27, 107, 1916. Cholesterol aus Cholesterolester in human blood, Journ. of Biolog. Chem. 29, 7, 1917.

30⁰/₀ gegen letzteren abstechen. Die Hydrämien, wie sie durch unsere Methode, die Vergleichswerte liefern kann, sich darstellen, können auf die Grade der statischen Fettverarmung keinen erkennbaren Einfluß (vom Standpunkte der Verdünnung aus) betätigt haben. Mithin muß der Rückgang im Bestande der Fettsäuren eine besondere Ursache haben, die dadurch noch mehr in den Vordergrund tritt, daß durchgehend alle Fälle davon betroffen sind, keineswegs einzelne, wie es im Gebiete des Reststickstoffs nach erhöhten, im Gebiete des Blutzuckers nach herabgedrückten Zahlen zum Befunde erhoben wurde. Über Blutfett bei „Hunger“ wird gestritten (Sakai, Freudenberg).

Für Neutralfett (Fett schlechthin, Bloor) gibt der Autor folgende Normalzahlen aus seiner obengenannten Reihe von gesunden Männern und Frauen: Durchschnitte 0,11 g (Plasma) bzw. 0,07 g (Körperchen), obere Grenzen 0,16 g bzw. 0,15 g, untere 0,04 g bzw. 0,0 g (Männer); ferner 0,16 g (Plasma) bzw. 0,11 g (Körperchen), obere Grenzzahlen 0,20 g bzw. 0,03 g, untere 0,12 g bzw. 0,00 g für 100 ccm Substanz.

Wir fanden im Maximum einmal 0,05 g Fett im Plasma, überwiegend (80⁰/₀) nichts, in den Körperchen dagegen Zahlen, die ebenfalls noch unterhalb der Norm lagen. Die Zahlen weichen weit gegen die bei Gesunden beobachteten Werte ab.

Für Lecithin nennt Bloor bei Männern Durchschnitte von 0,30 g (Vollblut) bzw. 0,22 g (Plasma) bzw. 0,40 g (Körperchen), hohe Extreme von 0,33 g bzw. 0,26 g bzw. 0,44 g, niedere von 0,29 g bzw. 0,20 g bzw. 0,35 g.

Bei unseren Gefangenen der Arbeitslager, Befunde der Reihe I, lagen alle Zahlen noch weit unter einem Drittel der Norm.

Die Zahlen für Cholesterin nach Bloor stellen sich im Durchschnitte auf 0,21 g (Vollblut), 0,22 g (Plasma), 0,19 g (Körperchen), in der oberen Grenze auf 0,25 g bzw. 0,31 g bzw. 0,23 g, in der unteren auf 0,19 g bzw. 0,19 g bzw. 0,17 g. Sowohl diese wie die vorhergehenden Zahlen über Lecithin sind innerhalb mäßiger, unsere Befunde nicht berührender Grade ähnlich bei Männern und Frauen. Bloor nimmt zwei Drittel des Cholesterins als verestert an (Plasma) bzw. alles als frei (Körperchen).

Nach Authenrieth dürfte der Befund von Cholesterin nach bisherigen, nicht sehr umfangreichen Materialien nur 0,12 g bis 0,14 g für 100 ccm Plasma liegen.

Unsere Fälle der Reihe I zeigten im Plasma einen Durchschnittsbefund für Cholesterin schlechthin, der die Norm nach Werten beider Methoden um ein Weniges überschritt — rund

12⁰/₀. Nur 20⁰/₀ des Cholesterins war im größeren Durchschnitt als verestert erweisbar. Die Grenzen waren für erstere Feststellung nach unten der normale Durchschnitt, nach oben 33⁰/₀ über diesen hinaus oder ein Weniges über die obere Grenze der Norm hinaus. Die zweite Beobachtung ergab in niedrigen Reihen fast kein Estercholesterin, nach oben höchstens 18⁰/₀ verestertes. Cholesterin bleibt also hinter den beim Gesunden beobachteten Zahlen nicht nur nicht zurück, erscheint vielmehr, wenn man die Hydrämien mit einrechnet, leicht bis mäßig vermehrt. Dabei zeigt es aber eine weit von der Norm abweichende Struktur, indem es stark überwiegend frei vorkommt und so zu seinem Teile an der allgemeinen Fettverarmung durch Defizit eines ganz beträchtlichen Teiles der normalerweise an ihm haftenden Fettsäuren mitbeteiligt ist.

Auch „Lecithin“ bzw. Cholesterin geben ziemlich geschlossene, einheitliche Befunde durch die ganze Reihe I (Internierte).

Während die Befunde der geschilderten Art (Fette, Lipide) in der ersten Reihe an einem ziemlich homogenen Material zur Darstellung gelangen, verwischen sie sich in der zweiten. Es genügt, statt längerer Zahlenberichte zusammenfassend anzuführen, daß allgemein Fettsäuren (aus Neutralfett, Cholesterinester wie Lecithin) zurückgehen. In allen reinen Fällen jüngerer Personen und älterer ohne spezifische Störungen gleichen die Werte den beschriebenen. Die sonstigen, zum Teil (nach Bloor) höhere Werte erkennen lassend¹⁾, zeigen auch diese bis in den Bereich der Norm abgesenkt. Natürlich nimmt Cholesterin eine besondere Stellung ein, da Arteriosklerosen von Bedeutung sind, vereinzelt Verhältnisse eingreifen. Allgemein ist Cholesterin verhältnismäßig auffallend in freiem, unverestertem Zustande vorhanden. Die Lecithinverarmung bietet sich nach obigen Zahlen auch hier generell dar²⁾. Bei beginnender Karenz wurde ein Absinken des Cholesterins gefunden.

Nach den Versuchen von Mayer und Schaeffer³⁾, die in den Körperchen zwischen Fettsäuren und Lipoid-P. einerseits, zwischen Fettsäuren und Cholesterin andererseits, bestimmte Beziehungen erstmalig

¹⁾ Zahlensache bei Bloor, bes. Diabetes, Chronische Nephritis usw.

²⁾ Angaben bei Bloor.

³⁾ Mayer und Schaeffer, zit. bei Bloor, l. c. 25, 582, 1916.

aufzeigten, sowie von Terroine¹⁾, der bestimmte Verhältnisse ähnlicher Art beschrieb, beobachtete Bloor²⁾ eine gute Konstanz zwischen Fettsäuren und Lecithin während des Resorptionsvorganges. Derselbe Autor stellte in seinen Zusammenfassungen Materialien für die Relationen Lecithin:Cholesterin bzw. Gesamtfettsäuren:Lecithin zusammen. Die Werte für erstere lauten 2,08 bis 2,14 (Körperchen), 0,96 bis 0,82 (Plasma), für letztere 1,70 bis 2,15 (Plasma) und 0,89 bis 0,69 (Körperchen).

Diese konnten in unseren Fällen sich verändern wie folgt. Lecithin:Cholesterin im Plasma Durchschnitt 0,60, Absenkung auf 0,30 und in den Körperchen zumeist normal bleibend. Die zweite Relation sank auf 1,10, ohne daß sich bisher für ihre Auswertung genügend Materialien darbieten.

Über diese Werte und ihre direkten Beziehungen ist zu sagen, daß sie eigentlich nicht an dieser Stelle unter der Auführung und reinen Statistik zahlenmäßiger Ergebnisse abzuhandeln sind. Sie gehören vielmehr in die nächste Stufe der Besprechung, die Zuordnung bzw. Paralleldarstellung der einzelnen Befunde.

Der Methodenkreis zur Untersuchung der Fette und Lipide nach Bloor wurde im Anschlusse an die frühere Untersuchung einer Lagererkrankung durch eine indirekte Prüfung auf Blutlipide bzw. des Lecithins des Serums kontrolliert.

7. Untersuchung der Phosphorverteilung; Lipidphosphor bzw. säurelöslicher Phosphor.

Grundlagen dieses von J. Greenwald methodisch und begrifflich eingeführten Verfahrens wurden von Feigl an Hand eines ausgedehnten Materiales durchgearbeitet³⁾. Der Vorzug beruht in der gegensätzlichen Darstellung der zwei (hauptsächlichen) Bindungsformen des Phosphors. Der fällbare Anteil kann bei der ganz untergeordneten Anteilnahme von Proteinen und Nucleinen geradezu als lipoidgebunden gelten, mithin einen Maßstab für „Lecithin“ bilden. Bisher besteht dieser „Indicator“ nur für sich, ohne daß zu den Werten von Bloor eine Brücke geschlagen wäre. Der „säurelösliche Phosphor“ ist auch für die Norm ein summarischer, komplexer Begriff, den Feigl in ausgedehnten Versuchsreihen zeigte und besonders für einzelne Krankheiten nachwies. Nach Feigl fallen 92% noch unter 4,0 mg, 64% unter 3,0 mg P in größeren Reihen nüchterner gesunder Männer. Seine Struktur kann in gewissen Fällen (akute Glomerulonephritis) derart werden, daß er praktisch anorganisch (Orthophosphat) ist; andererseits (chronische Nephritiden, Avitaminosen usw.) kommen Formen vor, in denen der nicht anorganische Anteil Restphosphor absolut und relativ zu grö-

¹⁾ Terroine ebenda.

²⁾ W. R. Bloor, Journ. of Biol. Chem., 24, 447, 1916.

³⁾ Joh. Feigl, l. c., über Phosphate I 1917; III 1917.

berer Beträgen erwächst. Mithin vermittelt die Methodik der Bindungen des Phosphors, unterstützt durch direkte Analyse des Orthophates, einen weiteren Überblick durch den sogenannten „Restphosphor“.

Nach Greenwald ist die normale Schwelle des Lipoid-P bei 7,0 mg P für 100 ccm Serum zu suchen. Seltene Herabsenkung kann bis 5,0 mg bei nüchternen, ausgeruhten, befriedigend ernährten Gesunden eintreten¹⁾. Die oberen Grenzen werden bei 13 mg liegen, der große Durchschnitt um rund 10,0 mg für 100 ccm Serum. (Feigl 8,0 mg.)

Auf ältere Befunde bei der infektiösen Lagererkrankung (1915) sei hier hingewiesen; rund 66% der Beobachtungen lagen unter 5,0 mg P.

Befunde an Patienten der Reihe I. Sämtliche Werte für Lipoid-P liegen überhaupt unter 5,0 mg P der (siehe oben) tiefsten Senkung bei normalen. Der Durchschnitt war 2,5 mg, mithin vom großen Normaldurchschnitt nur rund 25%. Es waren noch 25% der Fälle mit Werten unter 2,0 mg P beobachtet worden. Die Befunde sind auch, abgesehen von der Hydrämie, eindeutig im Sinne starker Verminderung. Ihnen gegenüber ist der säurelösliche Phosphor stärker erhöht; 66% der Werte liegen über 4,0 mg P, 58% über 5 mg P für 100 ccm Serum. Seine Struktur war der Norm nahe, indem er nur 12% bis 22% an Restphosphor einschloß, Durchschnitt rund 1,6% = rund 0,8 mg P.

Weitere Studien über Phosphate bei Inanition seien hier kurz zum Vergleich angeführt; anfänglich tritt ein Sinken, dann ein Steigen ein, dem alsbald eine Abwandlung in der Natur der Gliederung folgt, dadurch, daß der zunächst relativ sinkende Restphosphor allmählich absolut ansteigt und in Prozenten des Gesamt-P mehr hervortritt, als in der Norm.

In Reihe II stellen sich die Befunde über Lipoidphosphor ähnlich wie oben geschildert, jedoch kommen gewisse Abartungen vor. Man kann auch hier von genereller (nach gewissen pathochemischen Voraussetzungen individualisierter) Lipoidverarmung sprechen und sieht gleichzeitig eine Erhöhung der Werte des säurelöslichen Phosphors, die sich durch die Reihe hindurchzieht, und deren teilweise verwickeltere Deutung an Hand der großen Statistik des Verfs. zu dieser Frage einheitlicher ausfällt.

Die Beobachtungen über Restphosphor fallen hier verschieden aus, ohne das typische Bild zu zeigen. Über seine Pathochemie ist bisher mit Ausnahme des Morbus Brigthii

¹⁾ J. Greenwald, zit. bei Feigl.

und der Avitaminosen sowie einiger Versuche über Hungerstoffwechsel wenig bekannt¹⁾.

8. Die Angaben über Phosphorverteilung bieten uns Gelegenheit, anschließend über die anorganische Zusammensetzung von Blut bzw. Serum zu berichten. Was das Natriumchlorid bzw. Chlorion angeht, so kommen im ganzen normale bis leicht erhöhte Werte für Serum in Frage. Der Durchschnitt liegt bei 630,0 mg; Erhöhungen von 640,0 mg, 660,0 mg werden beobachtet, nur selten finden sich Werte über 680,0 mg, einmal 850,0 mg²⁾. Stets fielen dabei die physikalischen Konstanten, besonders δ , normal aus (A. V. Knack).

Der Eisengehalt lag (nach Biernacki und Jolles beurteilt), nach letzterem im Aderlaßblut bestimmt, bei Reihe I und den reinen Fällen der Reihe II um 0,054⁰/₀, selten bis 0,060⁰/₀ steigend, zeigt sich also gegenüber der Statistik von Jolles zwar nicht herabgesetzt, aber doch im Bereiche niedriger physiologischer Werte, wofür man die Hydrämie als mitbeteiligte Ursache (indirekt) gelten lassen darf.

Die Blutaschenanalyse ergab gegenüber obigen Beobachtungen bisher nicht verwertete Resultate, weshalb auf eingehende Wiedergabe verzichtet wird. Herabgesetzt erscheint hierbei, wie im Serum um rund 18⁰/₀ (Extrem 35⁰/₀) der Gehalt an Kalium⁴⁾ 0,324⁰/₀₀ (bzw. 0,268⁰/₀₀). Aus einer noch nicht abgeschlossenen allgemeineren Versuchsreihe über das Vorkommen des Sulfations im Serum, so wie es sich unter gewissen Schwierigkeiten nach der Methode mit dem

¹⁾ Vorliegende Angaben kurz zitiert aus noch unveröffentlichten Untersuchungsreihen.

²⁾ Der allgemeine Durchschnitt dürfte nach K. O. Larsson ermittelt (Feigl, l. c. über Phosphate I, 1917) um rund 600 mg, zumeist darüber, für 100 cem liegen und bei hoher Salzkonsumtion (s. u.) steigen.

³⁾ Zusammenstellung von 10 Analysen von A. Jolles bei Vierordt, Daten und Tabellen für Med., 3. Aufl., Jena 1906, 199.

⁴⁾ Das Mittel der Analysen von E. Abderhalden und O. Hammarsten sowie älterer Arbeiten wird mit 0,387 bis 0,401⁰/₀₀ des frischen Serums bei normalem Wassergehalt angegeben. Zusammenstellung bei P. Morawitz, Blutserum und Blutplasma in Oppenheimers Hdb. d. Biochemie des Menschen und der Tiere, 2, Chemie der Gewebe und Organe, 97,

Chonohämatokriten von H. J. Hamburger¹⁾ analytisch darstellen läßt, kann berichtet werden, daß eher an eine relative Erhöhung gedacht werden darf, wofür auch die Aschenanalyse sprechen kann. Über den Kalkgehalt ist kurz anzuführen, daß sowohl nach der Methode von Wright²⁾ sowie nach I. Bang³⁾ eine Anreicherung um rund $\frac{1}{5}$ (Durchschnitt, Extrem $\frac{1}{3}$) zuzugeben ist, die zwar unter dem Einflusse der Diät schwankte, sich jedoch allgemein über dem normalen Niveau erhielt. 40% der Fälle zeigen Absenkung um 30% (nach Lyman).

Ferner wurden mit der Methodik der einfachen titrimetrischen Alkaleszenzbestimmung Untersuchungen angestellt. Zwar hat diese Methode viel an Wert eingebüßt, immerhin können ihre Wertausdrücke vermutlich als vergleichbar gelten.

Grundlagen. In Betracht kamen die Verfahren von A. Loewy am lackfarbenen Blute sowie die ältere Methode von Landois, nach v. Jaksch modifiziert, der auch große Reihen von Befunden mitgeteilt hat⁴⁾, sowie endlich aus technischen Interessen noch die Kongulationsmethode von A. Konikoff⁵⁾. Die Normalzahlen kann man annehmen mit rund 440 mg NaOH bzw. mit rund 280 mg (260 bis 300) bzw. rund 220 mg.

Die Befunde lauteten für die reinen Fälle der Reihe I

¹⁾ H. J. Hamburger, Mikrovolumetrische Bestimmung sehr geringer SO_4 -Mengen. Diese Zeitschr. 77, 168, 1916.

²⁾ Wright, On a method of determination of the condition of blood coagulability, Brit. Med. Journ. 1893, II. Weiter: Wright und Panamore und Knapp 1902, 1905. Literatur und nähere Angaben bei R. Neurath, Über die Bedeutung der Kalksalze im Organismus des Kindes unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen auf Grund klinischer Bestimmung des Blutkalkes, Zeitschr. f. Kinderheilkunde 1911, I, 1 bis 42. Die Methode liefert zwar nur relative Werte, aber vorwiegend den „aktiven“ Kalkbestand und könnte nach Wright rechnerisch quantitativ ausgestaltet werden.

³⁾ I. Bang, Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile, Wiesbaden 1915. Exakte Methodik der Seifentitration. Über größere Reihen mit beiden Methoden soll später besonders berichtet werden.

⁴⁾ Zusammenstellung der Konstanten bei K. Vierordt, l. c. 200/201 daselbst Lit. R. v. Jaksch, Über die Alkaleszenz des Blutes bei Krankheiten. Zeitschr. f. klin. Med. 13, 350, 1868.

⁵⁾ A. Konikoff, Einfluß bösartiger Geschwülste auf die Reaktion des Blutes. Biochem. Zentr.-Blatt 16, 57, 1913/14. Kurze Angabe von Ergebnissen aus einer größeren unveröffentlichten Untersuchungsreihe.

bei frischen Zuständen im allgemeinen auf rund 66⁰/₀ der Normalwerte im Durchschnitte mit gewissen tageweisen Abweichungen sowie methodischen Differenzen. Ähnlich, jedoch individualisiert durch die jeweiligen speziellen pathologischen Vorbedingungen, füllen auch Zahlen der Reihe II aus. Es besteht somit nach der Ausdrucksweise der Titrationsmethodik eine nicht unbedeutliche „Säuerung“. Diese wurde im Blute wie im Serum mit weitgehender Konstanz angetroffen.

Die morphologische Blutuntersuchung ergab nach Knack und Neumann¹⁾ Anhaltspunkte für ein ausgesprochenes Vorwalten von Lymphocyten auf Kosten der Polymorphkernigen. Eine relative Lymphocytose beschreibt Sabor als charakteristisch für echte Avitaminosen, was hier der Erwähnung wert ist. Andere Befunde traten nicht hervor. Die Hämoglobinwerte lagen zwischen 70⁰/₀ und 80⁰/₀, Resistenzbestimmungen und Färbeindex ließen kaum außernormalen Erscheinungen erkennen²⁾.

Spektroskopische Untersuchungen an Blut bzw. an Serum zur Aufdeckung von Spuren Ht bzw. MtHb lieferten keine Ergebnisse³⁾.

Das Vorkommen von Bilirubin im Serum muß als unbedeutend, sowohl nach Graden wie nach Trefferergebnissen angesehen werden⁴⁾. Vorkommen oberhalb der Norm in mäßigen Graden zu rund 25⁰/₀.

Das Sauerstoffbindungsvermögen der Erythrocyten war durchweg normal.

Bei den vorstehend beschriebenen Untersuchungsverfahren handelt es sich um statische Verhältnisse, die in der kritischen Zeit bzw. an frischen Fällen zur Anschauung kamen. Zusammenfassend wäre festzustellen, daß

1. allgemein in von den Grundlagen der Norm erheblich abweichenden Graden eine Verarmung der Blutflüssigkeit — vorwiegend des Plasmas — an Fett-

¹⁾ A. V. Knack und J. Neumann, l. c. 1917.

²⁾ Bestimmungen von E. Querner, Ergebnisse freundlichst zur Verfügung gestellt.

³⁾ Untersuchung nach Joh. Feigl, diese Zeitschr. 1917; daselbst ältere Literatur.

⁴⁾ Aus einer größeren Versuchsreihe, deren Ergebnisse gemeinsam mit E. Querner demnächst erscheinen.

säuren herrschte. Diese setzt sich zusammen aus Fehlbeträgen auf seiten des vorwiegend unveresterten Cholesterins, auf seiten des zurückgegangenen Lecithins sowie an zumeist durchaus fehlendem Neutralfett.

Dem Serum fehlten im Durchschnitt für 100 ccm berechnet rund 0,2 g Fettsäuren, mithin in der Gesamtmenge Serum des erwachsenen Menschen allein statisch rund 5,0 g Fettsäuren. Dieses Defizit ist, wie angedeutet, nicht einseitiger Natur, sondern eine Summe von vielartigen Mängeln an heterogenen, sonst der Esterbindung mit Fettsäure teilhaftigen Substanzen.

2. Allgemein, von den Werten der Norm weit abstechend, ist ein Rückgang in dem Bestande von Lecithin (bzw. von lipoidgebundenem Phosphor) zu verzeichnen. Dieser ist früher bereits mit dem Fehlen des Fettsäurepaarlings in ursächlichen Zusammenhang gesetzt worden. Das Defizit gegen die Norm beträgt in der Gesamtserummenge rund 3,0g.

3. Ziemlich verbreitet werden echte Hypoglykämien beobachtet. In rund 33% der Fälle spielen Fehlbeträge von 25% bis 30% (Blutzucker) eine Rolle.

Diesen Erscheinungen treten gegenüber

4. allgemein beobachtete mäßige Steigerungen im Bestande der Acetonkörper.

5. ziemlich verbreitete Erhöhungen der Werte für den gesamten Reststickstoff. In rund 40% der Fälle ist ein gering bis mäßig erhöhter RN mit relativ hohem Anteil an UrN^+ (Fraktion) beobachtet worden, während meistens außerdem der Amino-N (reiner Amino-N, direkt bestimmt) eine Absenkung zeigte. Inkonstant war das Verhalten des vorwiegend verhältnismäßig geringen Harnsäurespiegels, während Kreatinin zumeist an den oberen Grenzwerten lag, Kreatin dabei meist die Norm noch überschritt. Zu Beginn der Inanition sinkt das Kreatinin.

6. zumeist erhöhte Werte für Ammoniak.

7. fast allgemein relative Vermehrung des Cholesterins. Dieses ist zu abnorm geringen Beträgen im veresterten Zustande vorhanden und kann absolut absinken.

Die anorganische Zusammensetzung von Blut und Serum zeigt

8. allgemeine, mäßige Anstiege der Werte für den säurelöslichen Phosphor des Serums, der zumeist eine der

Norm ähnliche Struktur mit also hinaufgerückten Werten für Orthophosphat zeigt, während absolute und relative Vermehrungen der Fraktion des Restphosphors vereinzelt in schwereren Fällen auftreten.

9. geringe, nicht sehr verbreitete Anstiege des Natriumchloridspiegels; selten hohe Zahlen.

10. leichte Anstiege auf seiten des Calciums und des Sulfations, auch Minderung des ersteren.

11. relativ niedrigen Eisengehalt und nicht unbedeutliche Reduktion des Kaliums.

12. in weiteren Gebieten, besonders der Aschenanalyse, bisher nicht befriedigend gedeutete, geringe Abartungen gegen die Norm.

13. die morphologischen Untersuchungsmethoden des Blutes ergeben nach Knack und Neumann außer einer Lymphocytose kaum abnormen Befunde.

14. die Resistenzbestimmung und die Gefrierpunktsdepression ergab normale Werte, die Ermittlung des Brechungsindex (Knack) Hinweise auf Hydrämien.

15. Hb-Werte, Färbeindex, Sauerstoffbindung und Spektroskopie von Blut und Serum waren normal. Bilirubin spielte eine gewisse Rolle in einzelnen Fällen.

16. Allgemein sind (anscheinend mäßige) Hydrämien und nicht unbedeutliche Fehlbeträge in den Werten für die Blutalkalescenz festgestellt worden.

Wie verhielten sich nunmehr die Ergebnisse der fraglichen Untersuchungsgebiete bei klinischer und diätetischer Behandlung?

Die Hydrämien blieben auch während der Diurese erhalten und konnten gewissen wellenförmigen Schwankungen unterworfen sein. Die Fettverarmung (einschließlich der Verhältnisse des gebundenen Anteils im Lecithinmolekül bzw. im Cholesterin) ging in ständiger Ruhe bei der Kriegskost des letzten Winters kaum und dann nur unmerklich zurück. Lipoidrestitution fand nur in geringem Grade statt, während die Werte für Blutzucker ziemlich prompt (im einzelnen wechselnder Verlauf) anstiegen. Im Reststickstoffgebiet bestand keine Konstanz, aber im großen Ganzen doch ein Absinken der Harnstoffzulagen zu normalen

RN-Werten. Doch traten vorübergehend, verknüpft mit der Diurese, gelegentlich wieder Anstiege hervor. Die Komponenten verblieben bei ihrem Verhalten mit gewisser Abtönung gegen die Norm, niedrig wurden Kreatinin und Purin.

Der säurelösliche Phosphor ging oft zurück, Kalium wurde langsam gespeichert, weitere Umsetzungen im Gebiete der Salze waren nicht augenscheinlich. Natriumchlorid verhielt sich zeitlich inkonstant, ohne die früheren höheren Grade wieder zu erreichen. Die Mehrbeträge im Gebiete der Acetonkörper verschwanden bei Bettruhe ziemlich schnell. Die Blutalkalescenz erholte sich nur zum Teile. Die übrigen, vorstehend beschriebenen Ergebnisse stellten sich unwesentlich, physiologisch modifiziert, dar.

Alle letztgenannten Erscheinungen der Rückkehr zur Norm waren erzielt worden im wesentlichen unter Befolgung strenger Forderungen nach Einschränkung des Arbeitsverbrauches an Kalorien, durch Zurückführung auf Ruhestoffwechsel, planmäßiger Ernährung mit der Kriegskost des letzten Winters unter gewissen, praktisch kaum wesentlichen Zulagen. Unterbrechungen der Heilung traten bei Aufgabe der Ruhe ein. Die Kostmaße konnten eine völlige Restitution der statischen Blutzusammensetzung hinauf zu den Verhältnissen der Norm nach unseren Reihenuntersuchungen im Verlauf der Heilung bis zur Entlassung nicht bewirken. Weitere Versuche werden weiter unten beschrieben. Jedenfalls ist nach der Zusammenfassung unserer Ergebnisse ersichtlich, daß es sich größtenteils um tiefergreifende (Fett, Lipoide, Zucker, Säuren), sonst mäßige Umstimmungen (RN, Salze) handelt, die die statischen¹⁾ Verhältnisse der Zusammensetzung von Blut und Serum betreffen, Erscheinungen, die unter den obwaltenden Stoffwechsel- und Kostverhältnissen nur durch den Verbrauch im Ruhezustande langsam und in gewissen Grenzen ausgeglichen werden konnten.

Es fragt sich nunmehr, wie die von uns festgestellten Tatsachen sich im unmittelbaren Vergleiche zu den Ergebnissen anderer jüngerer und jüngster

¹⁾ Der hier und früher gebrauchte Ausdruck „statisch“ möge in dem vorliegenden Werke geduldet werden. (Nüchternheit, Ausgeruhtheit bei Befolgung einheitlicher Ernährungsverhältnisse.)

Arbeiten teils im Dienste des speziellen Problems teils solchen anderer Richtung darstellen.

Was also die gegenwärtig veröffentlichten Arbeiten über das vorliegende Gebiet angeht, so wäre zunächst festzustellen, daß völlig fehlen Untersuchungen über Fette und Lipide, Gliederung, Verteilung und Relationen dieser in Blut und Serum¹⁾. Für Cholesterin gilt das gleiche.

Acetonkörper, Alkaleszenz, speziellere Angaben über Mineralstoffwechsel (Calcium, Kalium, Eisen usw.), Phosphat und Phosphorverteilung sowie Struktur des Gesamtreststickstoffes, besonders hinsichtlich des Harnstoffes, fehlen.

Über Blutzucker berichten noch Maase und Zondek, über Reststickstoff (ohne Gliederung) mit Rücksicht auf Harnsäure dieselben; über Chloride einzelne Autoren (Lichtwitz, Maase und Zondek, Falta und Quittner). In systematischer Beziehung berichten jüngst an der Hand weniger Zahlen Falta und Quittner zum Vergleiche der Chemie von Ödemformen.

Es stehen uns also zur Aufstellung einer vergleichenden Übersicht nur wenige Angaben zur Verfügung²⁾, die aus den gegenwärtigen Arbeiten über „Kriegsödeme“ stammen³⁾. Mit größerer Berechtigung wird man daher auf speziell pathochemische bzw. ernährungsphysiologische Arbeiten der letzten Jahre zurückgreifen.

¹⁾ Die vereinzelte Angabe von H. Gerhartz (siehe unten) wird man kaum in Betracht ziehen dürfen.

²⁾ Die nach entsprechenden (siehe oben) Veröffentlichungen der wesentlichen Tatsachen eigentlich unerfreuliche Verzögerung dieses Gesamtberichtes setzt uns in den Stand, im Dienste des Vergleiches die nachträglich erschienenen Arbeiten mit zu besprechen.

³⁾ Der von C. Maase und H. Zondek in ihrer zweiten Arbeit geprägte Ausdruck „Kriegsödem“ hat den Vorzug gewisser Kürze für ein vermutlich spezielles Krankheitsbild. Unklare Auszüge dieser Arbeit haben bekanntlich auf unbekanntem Wege Aufnahme in die hiesige (Hamburger) Tagespresse gefunden, wobei besonders durch die Definition „Kriegsödem“ bedauerliche Vorstellungen geweckt wurden. Zur Besprechung vor der breiteren Öffentlichkeit des Laienpublikums liegt alles andere eher als ein Anlaß vor, gerade, wo es sich um die Anbahnung bruchstückartiger Kenntnisse und bisher noch differenter Vorstellungen handelt.

Über die Ergebnisse physikalischer Methoden, soweit sie zunächst hier erörtert sind, berichten L. Lichtwitz¹⁾ hinsichtlich erhöhten Kochsalzspiegels und des Gefrierpunktes, sowie W. Falta und H. Quittner²⁾ in gleicher Richtung vom Standpunkte der Salztheorie aus. Demnach stehen unseren zahlreichen Fällen mit häufigeren Untersuchungen nach Knack, der zumeist normale (und hochnormale) Werte fand, einzelne Möglichkeiten mit hinaufgerücktem δ durch Anstiege des Chloridanteiles (anorganische „Achloride“ kaum, RN nur mäßig erhöht) gegenüber. Die in der entsprechenden Methodik der Blutuntersuchung und Kryoskopie repräsentierten Ergebnisse von A. Lippmann³⁾ und Schiff⁴⁾ würden hier Anschluß finden.

Hinsichtlich der methodischen Arbeiten zur Hydrämie berichtet H. Gerhartz⁵⁾ an zwei Fällen mit — bei statischer Benutzung — niedrigeren Zahlen für Rückstand, als wir sie sahen (größere Reihe). Gewisse Angaben finden sich auch bei Maase und Zondek⁶⁾ sowie bei Falta und Quittner, besonders Grundlagen durch systematische Versuche bei Wölfling. Angaben über Eiweiß bzw. über den Gesamtstickstoff machen die Wiener Autoren bzw. Gerhartz. Es will uns nach allem scheinen, als ob vorwiegend verhältnismäßig geringere Wasserzuschläge in Frage kommen, und gleichzeitig das Gesamteiweiß gedrückt ist. Wesentlich scheint noch der Ablauf der Hydrämie bei Liquidation der Ödeme und die Möglichkeit einer ursächlichen Verknüpfung mit dem Salzspiegel, der Acidose und anderen Faktoren.

¹⁾ L. Lichtwitz, Diskussion zum Vortrage von Rumpel, l. c. Hbg. Ärzte-Korr., zwei Fälle „außerordentlichen Grades“, im übrigen nach Methoden und Werten kaum belegt.

²⁾ W. Falta und M. Quittner, Über den Chemismus verschiedener Ödemformen, Wiener klin. Wochenschr. 1917, 20. IX., Nr. 33, 1889.

³⁾ A. Lippmann, l. c. s. a. Brauer (Nocht), Lichtwitz, Feigl bei Rumpel, Über die Ödemkrankheit, Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung 1917, XIV, Nr. 18.

⁴⁾ Schiff, Zur Ödemfrage, Wiener klin. Wochenschr. 1917, XXI.

⁵⁾ H. Gerhartz, Eine essentielle bradykardische Ödemkrankheit, Deutsche Med. Wochenschr. 1917, 26. IV., Nr. XVII, 514.

⁶⁾ C. Maase und H. Zondek, Über eigenartige Ödeme, Deutsche med. Wochenschr. 1917, 19. IX., Nr. XVI, 484.

Über das Gebiet des Gesamtreststickstoffs berichten Feigl¹⁾, Rumpel und Knack²⁾, Knack und Neumann³⁾, Maase und Zondek⁴⁾, Lichtwitz⁵⁾, Falta und Quittner⁶⁾. Verf. hat früher und jetzt summarische Angaben gemacht und sowohl die Tatsache der Erhöhung als auch die Umstimmungen in der Struktur unter verschiedenen Verhältnissen beschrieben⁷⁾. Die Berliner Autoren berichten beide Male über nicht unbeträchtliche Erhöhungen, die annähernd parallel mit unseren gehen, indes statistisch reichlicher ausfallen. Lichtwitz sah keine Anstiege. Die wenigen Zahlen von Falta lassen keine spezielle Deutung zu. Isoliert ist demnach Lichtwitz mit seinen normalen Werten, über deren Voraussetzungen wir uns zu fragen hätten⁸⁾. Die unsrigen, nach Feigl wie Knack und Neumann zeigen für die meisten Fälle mäßige Erhöhungen an. Man wird sonach wohl sagen dürfen, daß der RN Bezeichnendes, aber nichts Generelles bietet, wohl aber für die Schwere der Fälle wichtig ist und meistens erhöht vorkommt, weiterhin nach seinen Wandlungen im Verlaufe der Krankheit einen (indirekten) Maßstab für die Rückbildung darstellen kann.

Tieferen Sinn legt in diese Zahlen erst die Kenntnis der Struktur, die wir früher und jetzt erschlossen haben. Der Schwerpunkt liegt in dem hohen Harnstoffgehalt, der in den meisten Fällen vorherrscht. Hochnormales, selten erhöhtes Kreatinin ist bezeichnend, wichtig aber vor allem der Anstieg des fast stets erhöhten Kreatins, über das die Beziehungen zum Kohlenhydratumsatz bestehen und das die Harnchemie in das entsprechende Licht rückt. Unsere Befunde über Harnsäure lassen Übereinstimmung mit den Werten von Maase und Zondek wie Falta und Quittner zu, gehen jedoch darüber hinaus, indem sie in schweren Fällen einen Anstieg (selten) verzeichnen. Sie dürften also zunächst vorwiegend gering bzw. normal ausfallen. Die von uns gefundenen Anstiege im Ammoniak sind harnchemisch verknüpft mit den eigenen Angaben und denen der Berliner Forscher. Sie gehören sinnge-

1) *) 3) l. c. 4) C. Maase und H. Zondek (2. Mitteilung) Das Kriegsödem, Berl. klin. Wochenschr. 1917, 3. IX., Nr. 36, 861.

5) *) l. c.

7) l. c. so wie oben.

8) Methode, Befunde und Gliederung des RN ungenannt.

mäß mit den Befunden des Begriffes der Alkalescenzverarmung und der Acidose durch Acetonkörper zusammen.

Sonach stellt das RN-Gebiet einen wichtigen Teil der zuzüglichen Kenntnisse und Erkenntnisse dar, die besonders durch Arbeiten über Struktur und Verhalten zu den echten Avitaminosen (Feigl und Luce) erweitert werden.

Über Acetonkörper fehlen uns spezielle Vergleiche. Wir glauben indes an eine allgemeine Bedeutung derselben durch die Inanition und eine spezielle für die Bestimmung der alkalischen Qualitäten des Blutes. Sie stehen doch in Beziehung zu den Zahlen über die Herabsetzung der Blutalkalescenz, bei der auch Vergleichsbefunde aus jetzigen Arbeiten fehlen.

Was den Blutzucker und die Reduktionswerte angeht, so liegen Zahlen vor von Maase und Zondek und von uns. Wir betonten die Möglichkeit zum gehäuften Auftreten von Hypoglykämien, deren analytische Verhältnisse genau geklärt waren¹⁾, und fanden, was hier hervorgehoben werden möge, einen eigenartigen Verlauf. Bestimmte normale Fälle, die keinerlei Anzeichen für Hyperglykämie boten und solche, die nach Remissionen und teilweiser Herstellung durch längere Ruhe und Diätikuren plötzlich wieder Bewegung und Muskelarbeit leisteten, konnten mit leichten bis mäßigen Hyperglykämien beobachtet werden. Die Erscheinung verlor sich allmählich durch die Werte der Norm hindurch und ging in eine zumeist stabile Hypoglykämie über. Im Anfangsstadium können Glykosurien geringen Grade auftreten, was bei der Harnanalyse des näheren zu beschreiben sein wird²⁾. Die Ergebnisse von Maase und Zondek sowie die wenigen Zahlen von Falta sprechen (mit anderen Methoden unter den obwaltenden Ver-

¹⁾ Methodik, die geeignet ist, Senkungen darzustellen.

²⁾ Begriff der scheinbaren Hyperglykämien und der Restreduktion durch reduzierenden Nichtzucker des RN-Gebietes. Verf. hat im Frühsommer bzw. Hochsommer usw. größere Untersuchungsreihen an Hamburgischen Volksschulkindern angestellt, ausgehend von der mehrfach auftauchenden Erörterung kriegsdiabetischer bzw. kriegsglykosurischer Möglichkeiten. Über die einschlägigen Ergebnisse an durchschnittlich 10000 vergleichend untersuchten Kindern aller Altersklassen wird demnächst berichtet werden. Wirkliche Glykosurien fanden sich nicht; die Erklärung erfolgte durch methodenkritische Arbeiten mit Hilfe der Interferenzen der Zuckerreaktionen. Sonst auch abweichende Befunde.

hältnissen wohl direkt vergleichbar) für normale bzw. hochnormale Werte und gewisse Inkonstanz.

Was nun die Fette und Lipoide angeht, so ist es nur eine einzige Zahl von H. Gerhartz¹⁾, die unserem Begriffe des „gesamten ätherlöslichen Anteils“ nach Bloor vielleicht in etwas entsprechen würde, und die deshalb zu berücksichtigen ist. Dieser Befund in Beziehung zu allgemeinen Beobachtungen veranlaßt Gerhartz, aufs bestimmteste Fettmangel aus der Diskussion auszuschließen, wodurch seine Fälle und die Auffassung von denselben in einen Gegensatz zu den Meinungen von Maase und Zondek wie von uns geraten.

Aus dem Methodenkreise und reichen Material Bloors steht uns zum Vergleiche ein Fall zur Hand, der die Bezeichnung „Unterernährung“ trägt und den der Verfasser mit folgenden Angaben beschreibt.

Ätherlösliches (gesamt), Fett, Gesamtfettsäuren im Plasma niedrig. Zahlen 0,57 g bzw. 0,0 g bzw. 0,26 g²⁾. Er kann u. E. bei den in Rede stehenden besonderen Verhältnissen kaum direkt den unserigen gleichgestellt werden, da für unsere Leute eine „Unterernährung“ erst zu beweisen war. Bei unseren Fällen finden sich immerhin ähnliche Zahlen mit Rückgang des Fettes in den Körperchen. Gegen diesen Fall stechen auch die Verhältnisse des Cholesterins ab, wie sie bei uns zur Darstellung gelangten, die dortigen Werte erscheinen normal in absoluter Höhe und auch in der Bindungsform³⁾.

Charakteristisch und durch Beziehungen zur Originalarbeit wie durch unsere eigenen älteren Angaben erläutert (Verf.) sind die Befunde über Phosphorverteilung. Der erste Teil — Lipoid-P — deckt sich im Prinzip mit dem Begriffe des Lecithins, während der zweite zeigt, daß gewisse Umstimmungen im Salzbestande des Blutes durch die fehlende Lipoidsynthese (Rumpel und Knack) den Phosphor betreffen. Offen bleibt die Frage, ob die Werte auch aus alimentär gesteigerten Mengen anorganischer Phosphate hervorgehen oder ob sie destruktiven Vorgängen für

¹⁾ Methodisch unbelegt.

²⁾ l. c., Seite 588, 591.

³⁾ Weitere Angaben beschreibender und vergleichender Natur folgen in einer Mitteilung von Feigl und Neumann sowohl über Cholesterin wie über Fett. S. a. Bloor u. Kundsens 1917, Denis 1917.

die größere Mehrzahl der Beobachtungen entstammen. Nur jene Zahlen, in denen sich ein erhöhter Restphosphor zeigt, können mit Sicherheit der späteren Phase zugeschrieben werden. Immerhin beanspruchen die hohen Zahlen für anorganischen Phosphor im Vergleich zu der Untersuchung von Falta und Quittner Aufmerksamkeit, der wir in weiteren Angaben über die Zusammensetzung von Ödemflüssigkeiten gerecht werden wollen. Gelegentlich kam ein alimentäres Phosphatdefizit in Frage.

Kochsalzwerte, so wie wir sie fanden, treten in gewissen Gegensatz zu den Befunden resp. Äußerungen von Lichtwitz, Falta u. a. Unsere Zahlen waren gelegentlich schon im Ödemzustande leicht erhöht und erreichten die von anderen Autoren beschriebenen Grade während des ganzen Verlaufes nicht. Dagegen konnten wir dartun, daß ein Teil der an die spezielle Pathochemie des Kochsalzes geknüpften Voraussetzungen durch gewohnheitsmäßige bzw. gegenwärtig angeregte, höhere Konsumtion erklärt werden könne¹⁾. Sicher ist, daß die Ödemflüssigkeit reich an Kochsalz und in den betr. Fällen auch reich an Harnstoff war, wozu der „säurelösliche Phosphor“, in fast der gleichen Konzentration wie im Serum, trat.

Man darf an indirekte Einflüsse des Kochsalzes auf das Gleichgewicht der mineralischen Stoffe an Serum und Blut denken. Wir glauben das durch die Abminderung des Kaliums dargetan zu haben. Nach Analysen war von einem weiteren Bedarf derselben in der Nahrung keine Rede. Über die Mineralbefunde stehen uns Vergleiche nicht zu Gebote.

¹⁾ Von unseren Ausländern kann hier berichtet werden, daß sie gewohnheitsgemäß, wenn ihnen Gelegenheit geboten war, Tagesmengen von 40,0 g und 60,0 g zu sich nehmen, um die reichlich genossenen sup-pigen Gerichte — ihr Nahrungsbedürfnis überschritt alle hiesigen Begriffe — zu „würzen“. Unter ihnen war ein Mann, der noch in der Heilung Salz, teils in Substanz, aus der Rocktasche oder dgl. aß und dabei zu Zeiten auf 100,0 g pro Tag gelangte, die anstandslos ausgeschieden wurden. Er bekam auch beim Herumgehen keine Ödeme wieder, obgleich sonst gelegentlich Rückfälle eintraten, ein andermal dieses nicht der Fall war. Im Reihenversuch (Mikro Bang) war der höchste NaCl-Spiegel des Serums 700,0 mg, hielt sich bei normalem δ auf zumeist über 630 mg. Er schied normal aus. Diese Verhältnisse werden des näheren zu beleuchten sein.

Die serologischen und hämatologischen (morphologischen, chemischen, spektroskopischen) Befunde, unter denen das Bilirubin nicht zu vergessen ist, lassen nur teilweise Beziehungen zu anderen Arbeiten erkennen. Die Lymphocytose fand auch Marcello Sabor bei Skorbut und der als avitaminosen Ursprungs definierten „Tibialgie“. [Schrötter¹⁾].

Auch über diese Befunde werden weitere Tatsachen und Erörterungen am Platze sein, auf die zurückzukommen ist.

Es herrscht sonach überwiegend Einklang im Gebiete des Reststickstoffs, soweit bisher beschrieben (Feigl bzw. Maase und Zondek), der Chloride des Serums (Lichtwitz, Falta und Quittner u. a.). Keine prinzipielle Annäherung besteht in einem Teile der Blutzuckerbefunde. Isoliert stehen eigene Angaben größeren Umfanges und wiederholter Feststellung über Fett, Lipoide, Cholesterin, Acetonkörper, Alkaleszenz, Salzabstand u. a. da in methodisch scharf definierter Form. Besondere Ausschläge wurden von Lichtwitz, Falta und Quittner in physikalisch-chemischer Hinsicht gefunden.

Immerhin rundet sich das gegenwärtig geschaffene Bild der deskriptiven Biochemie von Blut und Serum bei der Ödemkrankheit durch neuere Beiträge erheblich ab. Für typische bzw. häufige Erscheinungen wird man ansehen müssen die Erhöhungen des RN-Gebietes bei besonderem Aufbau, die Bewegungen im Blutzuckergehalt von Hyperglykämien hinab zu Hypoglykämien, die Fett- und Lipoidverarmung größeren Ausmaßes, die leichten oder erheblicheren Anstiege des Kochsalzes, die Verschiebungen im Salzbestande, die Säuerung u. a. Seltener Befunde treten in komplizierten Fällen hinzu, wie beschrieben.

Nachdem wir nunmehr Angaben über die Verhältnisse der einzelnen Faktoren und Bausteine unserer beschreibenden Untersuchung machten, wäre nun ihre Verknüpfung bzw. Parallelität zu erörtern. Es ist klar, daß die allgemeine Fett- und Lipoidverarmung auf alle übrigen Umstimmungen treffen muß; daher fragt es sich, wie weitere Befunde zusammenfallen. Hypoglykämien sind reichlich, wenn der RN die typische Inanitionsstruktur mit hohem UrN⁺ ver-

¹⁾ Marcello Sabor, Das Leukocytenbild des Skorbutis und der Tibialgie (Schrötter). Wien. klin. Wochenschr. 1915.

läßt und sich der zweiten Stufe nähert. Kreatin in hohen Werten und hoher Rest-P gliedern sich vorwiegend diesem extremen Bilde, zugleich mit erhöhtem Purin (seltener Befund) an. Erhöhter Reststickstoff mit hohem UrN^+ -Anteil kommt auch bei normalen und erhöhten Blutzuckern und den (relativ) geringsten Absenkungen des Fettes vor. Cholesterin in freier Form, absolut, und das Verhältnis von freiem zu verestertem Cholesterin in höheren Zahlen findet sich ansteigend mit der Schwere des Falles und dem Übergang des Reststickstoffs in anderen Bildern als der reinen Inanition, wobei man eine Heterolyse, auch auf seiten des Cholesterins (Cholesterase nach Cytronberg und Röhmann¹⁾) annehmen kann. Es fallen immerhin die meisten Erscheinungen zusammen, weil viele von ihnen generell bzw. häufig sind.

Ohne auf den Stand der umfangreichen Literatur an dieser Stelle bei einstweiligem Fehlen der dynamischen Versuche und Harnanalyse usw. einzugehen, können einige Beziehungen zu systematischen Arbeiten aufgenommen werden.

Über die mutmaßlichen Ursachen der Befunde wäre in Hinsicht auf die Fragestellung etwa folgendes zunächst zu berichten.

Der Reststickstoff kann bei einer kurzen Inanition Werte der geschilderten Art erreichen (Bang), auch dann, wenn bei Aufrechterhaltung der Fett- und Kohlenhydratzufuhr Eiweiß eingeschmolzen wird. Erfahrungen über Reststickstoff bei lang-

¹⁾ S. Cytronberg, Über die Cholesterase der Blutkörperchen. Diese Zeitschr. 45, 3/4, 281, 1912. — F. Röhmann, dasselbe. Berl. klin. Wochenschr. 42, 1993, 1912. Ausgehend von Beobachtungen dieser prinzipiellen — fermentchemischen — Art gelangte Verf. später dazu, mit Vorstellungen von W. H. Gies experimentell und deskriptiv über Fermentumstimmungen als mitbeteiligter Ursachen der Ödembildung zu arbeiten. Hierüber muß in besonderer Form berichtet werden. Diese Fermentanschauung läßt die Verknüpfung mit der Säuerung bzw. dem Alkalescenzschwund zu und paßt auch sonst zu den bisherigen Ergebnissen. — W. Gies, sowie derselbe mit Tracy und Müller, The influence of proteases on the swelling of fibrin, collagen and elastin particles in alkaline and acid solution. bzw. Studies of enzymes in the development of edema I u. a. Biochem. Bull. 1, 46, 1912; Biochem. Centralbl. 1913 — M. H. Fischer, Das Ödem als kolloidchemisches Problem. Kolloidchem. Beihefte (zur Koll. Zeitschr.) 1, 93, 1910.

fristiger, mäßiger Unterernährung fehlen und liegen somit heute, neugeschaffen, vor. Kreatinin und besonders Kreatin entsprechen der Eiweißdestruktion, wobei nur die relativ geringen Werte für Purin bei vielen Fällen eine Ausnahme zu machen scheinen. Ihre Vorstufen werden, wie die Staffelung in den Strukturen des Reststickstoffgebietes in den drei erörterten typischen Bildern, bis zuletzt geschont. Es ist die Frage aufgetaucht, ob die „unvollständige Ernährung“ (Fehlen von bestimmten Aminosäuren und Vitaminen) bei genügender Qualität und Quantität von Calorien in Reststickstoff-, der Eiweiß- bzw. allgemeinen Inanition ähnliche Bilder erzeugen kann. Dieser Auffassung näherte sich Nocht, indem er meinte, alle Erscheinungen des Stickstoffstoffwechsels auf „avitaminer“ Basis genügend erklärt zu sehen. Tatsächlich existieren Experimentaluntersuchungen, die mit dieser Lehre, wenigstens soweit der RN als Maß des Eiweißverlustes auf der Basis „einseitiger Ernährung“ in Betracht kommt, einigermaßen im Einklang stehen. Es sind die Begriffe der Nahrungsschäden u. a. mit pathologischem Eiweißabbau verknüpft worden, bei denen aber bisher systematische, chemische Blutuntersuchungen nicht an gestellt wurden. Einzelne Versuche des Verfassers sind indes dazu angetan, die Annahme zu stützen. Gewissermaßen exakt beschreiben H. B. Lewis und W. G. Karr¹⁾ im Tiorexperiment die Verhältnisse bei Skorbut durch einseitige Haferkost. In kurzem Verlaufe traten skorbutische Erscheinungen ein unter beträchtlichen Anstiegen des Harnstoffs in Blut und Geweben. Beides blieb aus, wenn Kohl, Orangenfrucht oder Saft, nicht aber, wenn pflanzensaure Salze beigemischt wurden. Die Veränderungen waren unabhängig von allgemeinen Hungerzuständen sowie Wassergaben. Lichtwitz hatte Nocht, der den Standpunkt der unvollständigen Ernährung konsequent vertritt, zwar an sich zugestimmt, aber Anklänge und Beweise vermißt. Diese wurden durch die vorstehende Literatur und durch Versuchsergebnisse des Verfassers in einiger Form, soweit der RN an und für sich sowie als Indicator in Frage steht, geliefert. Es kann also ein Eiweißzerfall durch hohen UrN^+ im

¹⁾ H. B. Lewis u. W. G. Karr, Journ. of Biolog. Chem. 28, 17 bis 25, 1916.

RN sinnfällig werden auf avitaminoser Basis im kurzen Verlaufe und dabei Inanitionsverhältnissen täuschend ähneln. Zur Scheidung mußten also weitere Faktoren herangezogen werden.

Die Befunde über den Blutzucker werden erläutert durch eine Untersuchungsreihe von C. Funk und E. Graf Schoenborn¹⁾. Die Autoren fanden Verhältnisse, die den unsrigen nahestanden durch schnelle Ausschüttung immobilisierter Kohlenhydrate unter hyperglykämischen Erscheinungen, wenn Tieren reichliche Fütterung vitaminfreier, einseitiger Kost zu Gebote stand. Unsere zweite Stufe erreichten ihre Versuche nicht. Wohl aber wurden von Feigl und Schumm pathochemische Hypoglykämien in verwandten Krankheiten, bes. bei Skorbut beschrieben. Was weiter das Blutzuckergebiet angeht und dabei den Kreatinstoffwechsel berührt, sind Befunde von W. Mac Adam, die hinsichtlich der Beziehungen der Kreatinurie zur Hyperglykämie lehren, daß erstere von der Inanition schlechthin unabhängig sein kann, andererseits bei gewissen, oft geringfügigen Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels auftreten kann²⁾. „Hypoglykämie und Kreatinurie gehören geradezu zusammen.“ Nun ist, wie vorgreifend berichtet sei, durch die Harnanalyse häufig Kreatinurie dargetan worden, und Hyperkreatinämie (teils erheblicher, teils genug mäßig) allfällig erkannt worden. Auch bei uns, wie nach Feigl und Luce bei Leberatrophy und Avitaminosen, sind Hypoglykämien und Hyperkreatinämie erkannt worden, nachdem die Methodik dieser Fragen präzisiert worden war. Auch das Blutzuckergebiet zeigte in unseren Fällen keine Züge, die unbedingt wider die Auffassung von Nocht zugunsten der unvollständigen Ernährung im Gegensatz zu allgemeiner Inanition sprechen könnten. Der Verlauf über geringe Steigungen bis hinunter zu Absenkungen findet sich in schwereren Fällen von Avitaminosen, z. Zt. experimentell bei kurzem Verlaufe. Auch das Auftreten im Harn, Anreichern im Blute von seiten des Kreatins — beides in höheren Ausmaßen — kann nicht allein für Inanition sprechen, um so mehr „als Kreatinurie und Stoffwechselstörungen im Zucker-

¹⁾ C. Funk u. E. Graf Schoenborn, Der Einfluß nitraminfreier Kost auf den Kohlenhydratstoffwechsel. Journ. of Physiol. 48, 328, 1914.

²⁾ W. Mac Adam, Die Beziehungen zwischen Kreatinurie und Schwankungen im Blutzuckergehalt. Diese Zeitschr. 69, V, 229, 1915.

gebiete“ zusammengehören. Nun haben letztere funktionell durch gedrückte Toleranz (siehe später) nicht erwiesen werden können; aber an dessen Stelle sind Bewegungen des immobilen Zuckers vermutlich eingeleitet und angeregt worden.

Es fragt sich, ob die Fettverarmung mit der Lehre der unvollständigen Ernährung vereinbar ist. Wenn man dieses zugibt, so müßte man doch einräumen, daß pathochemische bzw. pathologische Anzeichen für die Avitaminosen hätten früher auftreten müssen. Jedenfalls gibt es letztere im Experiment bei nicht ausgeschüttetem Blutfettbestande (Verf.). Diese Sache ist im Moment nicht eindeutig zu klären, immerhin hat es den Anschein, als ob hier ein Angelpunkt für die Scheidung der beiden Gebiete liegt.

Es kann im Moment weder von Erfolg noch von Interesse sein, die pathochemischen Befunde aller Gebiete und Grade differential zu analysieren zwischen den Begriffen der „unvollständigen Ernährung“ und der „allgemeinen Inanition“. Hier greift auch die klinische Beobachtung ein. Ferner fehlt uns z. Zt. die Erörterung weiterer Fragen, der Harnchemie, der Funktionsprüfungen und Belastungsproben, der Verdauungsarbeit, der Fermente des Stoffwechsels. Es genügt zu zeigen, daß es viele Momente im Kreise der bisherigen deskriptiven Biochemie der Ödemkrankheit gibt — soweit Blut in Rede steht —, die beiden Anschauungen gerecht werden können. Dagegen dürften wir hier nicht die Tatsache übergehen, daß gewisse bestimmte Grenzen sich zwischen der infektiös mitbedingten Lagererkrankung und unseren jetzigen Ödemfällen ziehen lassen. Belastungen und Ausnutzungsversuche mit Fett (höchster Qualität) fielen im ersten Falle schlecht aus und zeigten hohe Verluste, im letzteren gab es diese nicht. Daraus ergibt sich, daß die erste Reihe schon in der Frage der Ausnutzung anders und viel schlechter gestellt war, als die zweite, aber es zeigt sich ferner, weshalb unter dem Maßstabe der gleichen Ernährung die erstere ungleich schneller dem kritischen Punkte der Fettverarmung (einseitiges Moment) zueilen mußte, als die zweite. Auf weitere Erörterungen von Beziehungen im vorliegenden Gebiete wird einstweilen verzichtet.

Schlußsätze.

In der vorstehenden Mitteilung ist an Hand älterer (1915) und neuer Ergebnisse (1916, 1917) des Verf. und seiner Mitarbeiter gezeigt worden, daß der bisherige Versuch zur Förderung einer deskriptiven Biochemie der Blutzusammensetzung bei Ödem-erkrankungen ausreicht, um das entworfene Bild als ein un-ge- mein vielfarbiges zu charakterisieren.

Wenn auch mit den vorliegenden Fortschritten in Beziehung zu Befunden anderer Untersucher bei Aufklärung der fraglichen Verhältnisse manche, vermutlich wichtige Feststellung geschaffen sein dürfte, so muß doch zugegeben werden, daß die bisherigen deskriptiven Ergebnisse zur Formulierung einer bestimmt ge-arteten Erklärung von einem einzigen, prinzipiellen Standpunkte nicht ausreichen.

Wie in dem ätiologischen Komplexe dieser, übrigens in Verlauf und Heilung überall und von allen Seiten als durch-weg gutartig bezeichneten, vorübergehenden Erkrankung die ver-schiedensten Fäden aus (zumeist wohl geringgradigen) Störungen zusammenlaufen, so ist hinsichtlich der beschreibenden Biochemie von Blut und Serum auch die Möglichkeit zu verschiedenartigen Deutungen gegeben.

Über Enzyymbildung.

Von
Hans Euler.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

(Eingegangen am 10. November 1917.)

Die im folgenden mitzuteilenden Ergebnisse schließen sich an unsere früheren Untersuchungen über Enzyymbildung¹⁾ an. Nachdem Euler und Johansson zum ersten Male einen regelmäßigen Verlauf der Enzyymbildung zahlenmäßig festgestellt hatten, waren die Versuche von Meyer und Cramér der Frage gewidmet: Wie verändern sich Geschwindigkeit und Maximum der Enzyymbildung mit den der Hefe zugesetzten Nähr- und Reizstoffen?

Zunächst wurde dem Einfluß der Kohlenhydrate die Hauptaufmerksamkeit gewidmet.

¹⁾ Euler und B. af Ugglas, Svenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemi, 3, 1910. — Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 76, 388 und 78, 246; 1912. — 84, 97; 1913. — Euler und Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 79, 274 und 80, 241, 1912. — Euler und Cramér, Zeitschr. f. physiol. Chem. 88, 430, 1914 und 89, 272, sowie diese Zeitschrift 58, 467 und 67, 203, 1914. — Euler und Löwenhamm, Zeitschrift f. physiol. Chem. 97, 286, 1916. — Euler und Griese, Zeitschr. f. physiol. Chem. 100, 59, 1917. — Hinsichtlich der älteren Literatur verweise ich auf die Zusammenstellung von Euler und Johansson in Zeitschr. f. physiol. Chem. 78, 246, 1912, und ferner auf die Arbeiten von Meisenheimer und seiner Mitarbeiter, diese Zeitschr. 51, 122, 1913, sowie auf die Monographie von Pringsheim, Die Variabilität niederer Organismen, Berlin 1910. Aus neuester Zeit liegen bemerkenswerte Mitteilungen über Ureasebildung von M. Jacoby vor. Diese Zeitschr. 79, 35; 80, 357; 81, 332; 83, 74, 1917.

Was das zur Invertasebildung erforderliche Kohlenstoffmaterial betrifft, so hatten wir gefunden, daß nicht nur das Substrat und die Reaktionsprodukte der Invertase eine vermehrte Bildung des Enzyms in der Hefe hervorrufen, sondern daß auch andere Hexosen, besonders Mannose, einen quantitativ und qualitativ ähnlichen Effekt erzeugt. Wesentlich war ferner der Befund, daß in dieser Hinsicht die Zucker nicht durch ein andres kohlenstoffhaltiges Material, wie Salze organischer Säuren — Natriumformiat und Natriumlactat — auch nicht einmal durch den den Hexosen so nahestehenden Mannit ersetzt werden können.

Nun hat Ehrlich in grundlegenden Untersuchungen gezeigt, daß in Hefezellen die Neubildung des Protoplasmas an die Zuckergärung geknüpft ist. Die Hefezelle ist in dieser Hinsicht auf die vergärbaren Zuckerarten angewiesen, während für andere Mikroorganismen, z. B. *Willia anomala*, einerseits Aminosäuren, andererseits unvergärbares Kohlenstoffmaterial, wie Glycerin, sogar Alkohole, zum Aufbau der lebenden Substanz genügt.

Auf Grund dieser Tatsachen ziehen wir aus unseren Versuchen den Schluß, daß die Vermehrung der Invertase nicht durch eine Abspaltung oder Sekretion aus dem Plasma oder sonstigen Zellbestandteilen geschieht, sondern daß es sich hierbei um eine Synthese handelt, zu welcher die durch die Gärung zu liefernde Energie ebenso notwendig ist, wie überhaupt zur Bildung von Protoplasma in Hefezellen¹⁾.

Was dann den Einfluß der Stickstoffnahrung auf die Invertasebildung betrifft, so wurden (1912) Zusätze von Asparagin, Glykokoll und Ammoniumsulfat verglichen.

Die Enzymbildung ging dabei in Nährlösungen vor sich, die im Liter enthielten:

0,25 g MgSO ₄	5 g KH ₂ PO ₄
	20 g Zucker.

¹⁾ Dabei ist wiederum zu betonen, daß das, was experimentell feststeht, die Verstärkung der Enzymwirkung pro Gewichtseinheit Zellsubstanz bzw. pro Zellenzahl ist. Die Verstärkung kann natürlich auf der Vermehrung einer Enzymkomponente oder eines Aktivators beruhen.

Die Vorbehandlung geschah damals mit je 10 g Hefe im Liter Nährlösung. Entgegen der Erwartung zeigte sich, daß die Enzyymbildung in Gegenwart dieser drei Stoffe sich wenig unterschied.

Dabei ergab sich, daß die Hefemenge in allen drei Serien von Beginn des Versuches an abnahm, obwohl sich die Hefe in Lösungen befand, die sämtliche für die Entwicklung erforderlichen Nährstoffe enthielten.

Bei den Versuchen mit Ammoniumsulfat als Stickstoffkomponente lagen die Verhältnisse folgendermaßen:

Vorbehandlung in Stunden	Vergrößerung der Invertasewirkung %	Abnahme d. Gesamt- substanz der Hefe %	Zunahme des N-Gehaltes %
5	40	5	2,5
40	120	16	5,5
90	135	20	8,8

Es war also bei diesen Versuchen ein Verbrauch eines Teiles der Hefezellen eingetreten, bei der ein Teil des Hefen-eiweißes in Lösung ging. Sobald dies eingetreten war, dürften sich in der Lösung die sämtlichen Spaltprodukte des Hefen-eiweißes befunden haben, die demgemäß leicht den Einfluß der zugesetzten Stickstoffkomponenten verdeckt haben können. Man sieht hieraus, wie zahlreiche Feststellungen eine derartige Untersuchung über Enzyymbildung fordert, wenn sie einigermaßen sichere Schlüsse gestatten soll.

Insbesondere ist zur Beurteilung der Vorgänge, die in den Zellen durch Vorbehandlungen chemischer und physikalischer Art eintreten, wünschenswert, die gleichzeitige Änderung mehrerer Enzymgruppen zu untersuchen. Dies ist durch vorbereitende Versuche bezüglich Hefe von Euler und Meyer (l. c. 84, 97); dabei zeigte sich, daß oft mit einer sehr starken Vermehrung der Invertasewirkung eine Schwächung der Gärkraft verbunden war. Die Enzyymbildung kann also in diesen Fällen nicht auf eine allgemeine Erhöhung der Vitalität zurückgeführt werden.

Daß die Enzyymbildung mit dem Wachstum keineswegs parallel zu gehen braucht, zeigten die Versuche von Cramér

und Palm. So verläuft nach Cramérs Versuchen die Invertasebildung in einer lactosehaltigen Nährlösung, in der nur sehr geringes Wachstum stattfindet, quantitativ ebenso, wie in einer Glucoselösung, in der sich die Zellen normal vermehren. Andererseits kommt, wie Johansson und Palm festgestellt haben, nicht selten Wachstum ohne Enzyymbildung vor.

Nimmt man die Vorbehandlung einer Hefe in so großen Mengen Nährlösungen vor, daß die Hefe in denselben rasch wächst, so tritt allerdings, bei Anwesenheit der erforderlichen Nährstoffe regelmäßig eine Verstärkung des Invertasesystems ein. Es wächst dann gleichzeitig die Zellenzahl in der Nährlösung und die enzymatische Wirksamkeit pro Zelle.

Bei dieser Gelegenheit sei auf die Notwendigkeit aufmerksam gemacht, bei derartigen Studien den Zuwachs der enzymatischen Wirksamkeit pro Zellenzahl oder pro Gewichtseinheit Trockensubstanz der Zellen festzulegen. In älteren Arbeiten wird gelegentlich nicht selten von Enzyymbildung gesprochen, wenn in einer Bakterienkultur unter dem Einfluß eines Stoffes oder sonstigen Reizes die betreffende enzymatische Wirksamkeit zunimmt. Die Methodik solcher Versuche ist allerdings außerordentlich einfach, andererseits setzt sich aber dann der beobachtete Effekt aus so vielen verschiedenen Faktoren zusammen, daß sich Schlüsse auf eine Enzyymbildung, wie man diese auch definieren mag, kaum ziehen lassen. Handelt es sich um Arbeiten mit Bakterien, so ist allerdings die quantitative Bestimmung der Bakterien nach jeder einigermaßen exakten Methode¹⁾ — die meisten haben wir im hiesigen Laboratorium eingehend geprüft — außerordentlich zeitraubend und schwierig. Bei Hefen aber läßt sich die Zellenzählung, freilich mit erheblichem Zeitaufwand, mit großer Genauigkeit durchführen.

Bei den im folgenden mitzuteilenden Versuchen wurde nicht, wie in den früheren Arbeiten von Meyer und Johansson Maximum und Verlauf der Enzyymbildung bestimmt, sondern nur die Wirkung einer 20 stündigen Vorbehandlung mit verschiedenen stofflichen Zusätzen; da sich zwischen den einzelnen Aminosäuren keine größeren Unterschiede ergaben,

¹⁾ Vergleiche hierzu Palm, diese Zeitschr. 67, 209, 1914

wurden diese Versuche nicht weiter fortgesetzt. Die Versuche mit Hefenwasser konnten bis jetzt noch nicht abgeschlossen werden.

Die Versuche beziehen sich auf:

Die schon früher (l. c.) untersuchten Substanzen Asparagin und Glykokoll; ferner

Alanin, Glykokoll + Tyrosin, Glykokoll + Cystin und auf die natürliche Mischung von Eiweißabbauprodukten im Hefenwasser.

Von jeder einzelnen Substanz wurden diesmal 3 g per Liter Nährlösung angewandt, die cystinhaltige Lösung per Liter 2 g Glykokoll + 1 g Cystin, die tyrosinhaltige Lösung 1,5 g Glykokoll + 1,5 g Tyrosin. Das Hefenwasser wurde so verdünnt, daß es 3 g Trockensubstanz per Liter enthielt.

Als Kohlenhydrat kam durchweg Rohrzucker in 5⁰/₁₀iger Lösung zur Anwendung. Die übrigen Versuchsbedingungen sind die in den Arbeiten von Palm, Meyer und Johansson angegeben.

Die Versuche wurden ausgeführt mit einer aus einer hiesigen Brauereihefe im hiesigen Laboratorium von Herrn Dozenten P. Palm gezogenen Reinkultur.

Für diese Hefe wurde die Generationszeit¹⁾ durch Zählen der Zellen bestimmt. Es zeigte sich, daß in den ersten drei Tagen²⁾ die Entwicklung sehr annähernd normal verläuft, d. h. dem einfachen Entwicklungsgesetz

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a_t}{a_0}$$

folgt.

Man kann also in diesem Bereich die Entwicklungsgeschwindigkeit durch die Konstanten k ausdrücken. Aus diesen Konstanten wird in einfacher Weise die Generationsdauer berechnet, also die Zeit, in der die Zellenzahl sich verdoppelt.

Nach Zusatz der verschiedenen Aminosäuren wurden unter sonst vollkommen gleichartigen Bedingungen folgende Werte für die Generationsdauer gefunden:

¹⁾ Siehe Euler und Lindner, Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung. Leipzig 1915, S. 252 u. ff.

²⁾ Nach etwa 60 bis 65 Stunden fängt die Entwicklungsgeschwindigkeit an, etwas abzunehmen.

Glykokoll	{ 15,7	Stunden
	{ 16,4	
	{ 15,0	
Glykokoll + Cystin	16,1	"
Glykokoll + Tyrosin	{ 12,0	"
	{ 13,1	
Asparagin	12,5	"
Alanin	14,2	"
Hefenwasser	8,4	"
"	7,6	"

Das Ergebnis ist, daß die einzelnen Aminosäuren sich hinsichtlich ihres Einflusses auf die Generationsdauer nicht sehr erheblich unterscheiden. Doch dürfte Asparagin entschieden ein besserer Nährstoff sein als Glykokoll. Die Reihenfolge der Aminosäuren hinsichtlich dieses Einflusses scheint für verschiedene Hefen nicht die gleiche zu sein. Mit dem früher von uns untersuchten *Saccharomyces Thermantitonum*, der sich in Hefenwasser durch schnelles Wachstum auszeichnet, wurden unter den gleichen Bedingungen wie oben zwei Parallelversuche angestellt, wobei sich bis zur Entwicklungszeit von 40 Stunden für die Generationsdauer die Werte ergaben:

nach Zusatz von Glykokoll . . .	13,7 Stunden
" " " Alanin	13,9 "

Man wird also wohl sagen können, daß die hier untersuchten Aminosäuren keinen spezifischen Einfluß auf die Generationsdauer der Hefe ausüben. Dagegen fördert das Gemisch von Proteinen und Eiweißabbauprodukten im Hefenwasser die Entwicklungsfähigkeit der Hefe bedeutend mehr als die Gegenwart von einer oder zwei Aminosäuren. Dies entspricht ja der bekannten Erfahrung, daß Hefenwasser eine ausgezeichnete Nährlösung für Hefen und zahlreiche andere Mikroorganismen bildet.

Schließlich möge ein Versuch erwähnt werden, der mit Zusatz von Glykokoll angestellt wurde, bei dem aber zu der Nährlösung kein Phosphat zugegeben wurde. Dieselbe enthielt also im Liter außer 3 g Glykokoll:

0,25 g $MgSO_4$
20,00 g Zucker,

ferner wurden 0,5 g Natriumacetat zugesetzt und so viel Essigsäure, daß der H-Ionengehalt genau der gleiche war wie bei den Versuchen mit Phosphat.

Die Kurve, die den Zuwachs der Zellenzahl angibt, verläuft bei diesem Versuch ganz anders als bei den eben angegebenen; schon nach 8 Stunden macht sich eine Verzögerung des Zuwachses bemerkbar, die ständig zunimmt; wir kommen auf diesen Einfluß der Phosphate sowie der Kalium- und Magnesiumsalze auf den Zuwachs und die Enzyymbildung demnächst zurück.

Was nun den Einfluß der oben erwähnten Aminosäuren auf die Invertasebildung bei einer 24 stündigen Vorbehandlung betrifft, so sind unsere Versuchsergebnisse die folgenden:

24 stündige Vorbehandlung unter Zusatz von	Inversionskonstante (Mittel) $k \cdot 10$
Glykokoll	108
Glykokoll (in Abwesenheit von PO_4)	91,5
Alanin	105
Glykokoll + Cystin	116
Glykokoll + Tyrosin	108
Asparagin	114
Hefenwasser	142

Die Inversionskonstante, die mit unvorbehandelter Hefe erhalten wurde, betrug $k \cdot 10^4 = 46$.

Aus den erhaltenen Zahlen kann einstweilen kein anderer Schluß gezogen werden, als daß die Invertasebildung auch unter den in diesen Versuchen von uns gewählten Bedingungen von der Natur der von uns zugesetzten Aminosäuren wenig abhängig ist¹⁾. Dagegen scheint die natürliche Mischung der Abbaukomponenten des Hefeneiweißes, die das Hefenwasser enthält, auf die Invertasebildung sehr günstig einzuwirken.

¹⁾ Mit Leucin hatten wir leider keine Versuche angestellt, die einen Vergleich mit dem von Jacoby gefundenen Einfluß dieses Stoffes auf die harnstoffzersetzende Wirkung von Bakterien (Ureasebildung) gestatten würden (l. o. 83, 74, 1917).

Experimentelles.

1. Wachstumsbestimmungen. Zur Messung der Zellenzahl wurde der Thoma-Zeißsche Zählapparat angewandt, wobei jedesmal zwei Kontrollfüllungen der Kammer vorgenommen und bei jeder Füllung 60 Quadrate gerechnet wurden. In den folgenden Tabellen ist stets nur das Totalmittel der Messungen angegeben; die Mittelwerte der Parallelversuche stimmten meistens innerhalb 1 bis 5⁰/₀ miteinander überein; Versuche mit größeren Abweichungen als 5⁰/₀ wurden verworfen.

1a. Glykokoll.

Stunden:	0	22	24	36	49	72
Zellenzahl:	3,2	7,9	8,6	14,5	25,8	74
	$k \cdot 10^4 = 183.$	Gen.-Dauer: 16,4 Stunden.				

1b. Glykokoll.

Stunden:	0	24	48	72
Zellenzahl:	4,9	15	49	130
	$k \cdot 10^4 = 200.$	Gen.-Dauer: 15 Stunden.		

1c. Glykokoll.

Stunden:	0	24	48	72
Zellenzahl:	5,0	14	45	122
	$k \cdot 10^4 = 192.$	Gen.-Dauer: 15,7 Stunden.		

2. Alanin.

Stunden:	0	23	45	72
Zellenzahl:	3,3	10,6	29,2	109
	$k \cdot 10^4 = 212.$	Gen.-Dauer: 14,2 Stunden.		

3. Glykokoll + Cystin.

Stunden:	0	24	46,5	72
Zellenzahl:	4,6	13	36,5	100
	$k \cdot 10^4 = 188.$	Gen.-Dauer: 16,1 Stunden.		

4a. Glykokoll + Tyrosin.

Stunden:	0	28	48	66
Zellenzahl:	4,6	23,7	71	180
	$k \cdot 10^4 = 250.$	Gen.-Dauer: 12 Stunden.		

4b. Glykokoll + Tyrosin.

Stunden:	0	24	47	70
Zellenzahl:	6,2	22,4	79	198
	$k \cdot 10^4 = 230.$	Gen.-Dauer: 13,1 Stunden.		

5. Asparagin.

Stunden:	0	30	49	72
Zellenzahl:	3,4	18	50	162
	$k \cdot 10^4 = 240.$	Gen.-Dauer: 12,5 Stunden.		

6a. Hefenwasser.

Stunden:	0	21	36	48
Zellenzahl:	3,55	50,5	75	174
	$k \cdot 10^4 = 360.$	Gen.-Dauer: 8,4 Stunden.		

6b. Hefenwasser.

Stunden:	0	16	31	46
Zellenzahl:	4,8	22	81	280
	$k \cdot 10^4 = 395.$	Gen.-Dauer 7,6 Stunden.		

2. Bestimmungen des Zuwachses der Invertase-wirkung. Die ursprüngliche oder während 24 Stunden vorbehandelte Hefe wurde abfiltriert und einige Minuten auf Ton getrocknet. Der dabei erreichte Gehalt an Trockensubstanz wurde jedesmal durch Entwässern eines Teils der Hefe bei 95° bestimmt. Von dieser Hefe wurden 0,25 g in 10 ccm 1%iger NaH_2PO_4 -Lösung aufgeschwemmt und nach 10 Minuten mit 20 ccm einer 20%igen Rohrzuckerlösung versetzt. Nach bestimmten Versuchszeiten wurde die gesamte Reaktion in jedem Kolben mit 10 ccm einer 5%igen Sodalösung abgebrochen. Die Lösung wurde hierauf abfiltriert und im 1-dm-Rohr polarisiert.

Versuchstemperatur 19°.

Alle Inversionsversuche sind auf einen Trockengehalt der Hefe von 35% reduziert.

Herrn Dr. H. Cramér danke ich bestens für die Ausführung dieser Versuche.

1. Unvorbehandelte Hefe.

Trockensubstanz: 37,2%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,76	—	0	6,76	—
15	5,28	52	15	5,45	46
25	4,32	55	25	4,45	52
35	3,60	54	35	3,69	52
∞	-2,16	—	∞	-2,16	—
		54			50

 $10^4 \cdot k$ (Mittel) = 52; red. = 46.2. Glykokoll ohne PO_4 .

Trockensubstanz: 32,8%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,82	—	0	6,82	—
15	4,36	92	15	4,42	90
25	3,15	91	25	3,20	89
35	2,10	92	35	1,99	95
∞	-2,18	—	∞	-2,18	—
		92			91

 $k \cdot 10^4$ (Mittel) = 91; red. = 91,5.

3. Glykokoll.

Trockensubstanz 33,4%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,82	—	0	6,82	—
15	3,95	111	15	4,02	108
25	—	—	25	2,76	104
35	1,37	115	35	1,76	102
∞	-2,18	—	∞	-2,18	—
		113			105

 $k \cdot 10^4$ = 109; red. = 108.

4. Alanin.

Trockensubstanz: 34,2%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,79	—	0	6,79	—
15	4,05	106	15	4,03	107

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
25	2,79	102	25	2,57	111
35	1,45	113	35	1,35	116
∞	-2,17	—	∞	-2,17	—
		<u>107</u>			<u>111</u>

$$k \cdot 10^4 = 109; \text{ red.} = 105.$$

5. Glykokoll + Cystin.

Trockensubstanz: 34,8%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,79	—	0	6,79	—
15	4,00	108	15	3,90	113
25	2,58	110	25	2,47	114
35	1,55	109	35	1,24	120
∞	-2,17	—	∞	-2,17	—
		<u>109</u>			<u>116</u>

$$k \cdot 10^4 = 112; \text{ red.} = 107.$$

6. Glykokoll + Tyrosin.

Trockensubstanz: 34,0%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,73	—	0	6,93	—
15	3,98	107	15	4,04	110
25	2,54	111	25	2,30	122
35	1,32	117	35	1,74	104
∞	-2,15	—	∞	-2,22	—
		<u>112</u>			<u>112</u>

$$k \cdot 10^4 = 112; \text{ red.} = 108.$$

7. Asparagin.

Trockensubstanz: 32,6%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,79	—	0	6,79	—
15	3,70	122	15	4,05	106
25	2,49	114	25	2,62	109
35	1,28	118	35	—	—
∞	-2,17	—	∞	-2,17	—
		<u>118</u>			<u>107,5</u>

$$k \cdot 10^4 = 112,7; \text{ red.} = 114.$$

8. Hefenwasser.

Trockensubstanz: 30,7%.

Min.	α	$k \cdot 10^4$	Min.	α	$k \cdot 10^4$
0	6,63	—	0	6,63	—
15	3,18	145	15	3,77	115
25	1,44	156	25	2,14	125
35	0,93	130	35	1,22	120
∞	-2,11	—	∞	-2,11	—
		<hr/>			<hr/>
		144			120

 $k \cdot 10^4 = 132$; red. = 142.

Autorenverzeichnis.

- Baumgärtel, Traugott.** Über die spektroskopisch-quantitative Bestimmung des Urochromogens. S. 162.
- Bieling, R.** Über die Desinfektionswirkung von Chinaalkaloiden auf pathogene Bacillen. S. 188.
- Deussing, Rud.,** siehe Joh. Feigl.
- Euler, Hans.** Über Enzymbildung. S. 406.
- Feigl, Joh.** Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum. I. S. 171.
- Neue Beiträge zur deskriptiven Biochemie gewisser Ödemzustände. I. Untersuchungen an Blut und Serum. S. 365.
- und Rud. Deussing. Neue Beobachtungen zur Kasuistik des Vorkommens von Hämatin im menschlichen Blutserum. II. S. 212.
- Fellenberg, Th. von.** Über den Nachweis und die Bestimmung des Methylalkohols, sein Vorkommen in den verschiedenen Nahrungsmitteln und das Verhalten der methylalkoholhaltigen Nahrungsmittel im Organismus. S. 45.
- Fellenberg, Th. von.** Über die Konstitution der Pektinkörper. S. 118.
- Fridericia, L. S.** Untersuchungen an Menschen über Sauerstoff- und Kohlensäurespannung im Blut der Pulmonalarterie und über Messung des Minutenvolumens des Herzens. S. 307.
- Herzfeld, E., und R. Klinger.** Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie. II. Die Immunitätsreaktionen. S. 1.
- Jacoby, Martin.** Über die Einwirkung der Aldehyde auf die Urease. S. 358.
- Klinger, R.,** siehe Herzfeld.
- Löffler, Wilhelm.** Desaminierung und Harnstoffbildung im Tierkörper. S. 230.
- Loew, Oscar.** Über die Natur der Giftwirkung des Suprarenins. S. 295.

67575.



Princeton University Library



32101 079671564

Princeton University Library



32101 079671564

