

**191. Wilhelm Epstein und Julius Müller: Ueber den Einfluss der Säuren und Alkalien auf das Leberferment.**

(Eingegangen am 10. Mai; verlesen in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Die von uns gefundene Thatsache, dass es einzelne Fälle von Zuckerharnruhr giebt, bei denen der innere Gebrauch der Carbonsäure in kurzer Zeit den Zuckergehalt des Urins und die übrigen diabetischen Symptome, wenngleich nur vorübergehend, beseitigt, veranlasste uns, darüber Untersuchungen anzustellen, ob und wodurch dieses Factum sich erklären lässt.

Unter Anderem fragten wir uns, ob die Carbonsäure hemmend auf die Umwandlung des Leberglycogens in Zucker einwirke?

Wir studirten zunächst die Einwirkung der Carbonsäure auf die aus dem Körper entfernte Leber. Wir benutzten die Lebern von Kaninchen, bei denen wir durch eine entsprechende Nahrung für einen reichlichen Glycogengehalt gesorgt hatten. Wir überzeugten uns von der Gegenwart von Glycogen durch Jodkaliumlösung. Die Thiere wurden durch Verbluten getödtet, die Lebern ganz frisch in Arbeit genommen. Sie wurden aufs Feinste zerkleinert und dieser Leberbrei wurde in verdünnte Carbonsäurelösung (1:300) gebracht. Die bekannte Umsetzung des Glycogens in Zucker ging aber in dieser und concentrirteren Carbonsäurelösungen ganz ungehindert vor sich. Erst bei einer Concentration von 1:10 wurde die Umsetzung des Glycogens in Zucker, wahrscheinlich in Folge der Eiweissgerinnung, gehindert. Die Carbonsäure entfaltete aber, auch in den Verdünnungen von 1:300, eine stark fäulnisswidrige Wirkung. Es gelang uns daher, selbst in der starken Sommerhitze des vorigen Jahres, den so carbolisirten Leberbrei, Wochen ja Monate lang zu conserviren, wodurch es uns möglich war, eine Reihe von Versuchen über die Einwirkung anderer Körper auf das Leberferment in seinen Beziehungen zum Glycogen zu machen, welche sonst wegen der eintretenden Fäulniss unausführbar gewesen wären.

Wir operirten mit Salzen, Alkalien und Säuren und fanden, dass Salze, z. B. schwefelsaures Natron, Chlornatrium, beide in 5 procentiger Lösung (welcher wir stets 1 pCt. Carbonsäure hinzufügten) die Umsetzung des Leberglycogens weder beeinträchtigen noch verlangsamen, dass Alkalien die Umsetzung verlangsamen, dass dagegen Säuren auch in bedeutender Verdünnung die Umsetzung völlig hemmen, in noch grösserer sehr verlangsamen. Welche Säuren wir benutzten, war für den Effect gleich. Wir gebrauchten Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure und Milchsäure. Ein einschlägiger Versuch möge hier kurz angeführt werden. Zwei glycogenreiche ganz frische Kaninchenlebern wurden sorgfältig zerkleinert, 25 Grm. derselben

wurden zur quantitativen Bestimmung des Glycogens nach der Brücke'schen Methode (Sitzungsber. der Wiener Akad., 63. Bd., Abthl. 2, Februar 1871) benutzt. Wir erhielten 10.52 pCt. Glycogen. Weitere 25 Grm. desselben Leberbreies wurden, nachdem sie in einer wässrigen Carbonsäurelösung von 1 pCt. drei Tage lang gelegen hatten, nach derselben Methode behandelt. Der Glycogengehalt betrug 0. Die Umsetzung in Zucker war vollständig erfolgt. Eine dritte, gleich grosse Portion Leberbrei wurde, nachdem sie in verdünnter Schwefelsäure (von 1:100) drei Tage lang aufbewahrt gewesen war, auf ihren Glycogengehalt nach derselben Methode untersucht. Wir fanden 10.44 pCt. Glycogen; also nahezu so viel wie in der frischen Leber. Das völlig gleiche Resultat wurde mit einer vierten Portion des Leberbreies von 25 Grm. erhalten, welche drei Tage lang in verdünnter Essigsäure (1:100) gelegen hatte.

Bei dieser Concentration der Säuren wird die Umsetzung des Glycogens in Zucker vollkommen gehemmt. Bei bedeutenderen Verdünnungen der Säure, z. B. Milchsäure u. s. w. (1:1000) wird die Umsetzung des Glycogens sehr behindert und erst nach vielen Tagen beendet.

Um zu constatiren, ob die Säuren das Ferment der Leber dauernd oder nur vorübergehend unwirksam machen, wurden die verschiedenen den Leberbrei enthaltenden Säuremischungen nach einigen Tagen, wo ihr Glycogengehalt ganz unverändert erschien, alkalisch gemacht. Die Umsetzung vollzog sich dann, wenn auch langsam, so doch vollständig. Diese verdünnten Säuren tödten das Leberferment also nicht. Je länger indessen die Säuren, selbst in grosser Verdünnung, auf das Ferment einwirken, um so langsamer geht nach dem Alkalischemachen die Zuckerbildung vor sich, ja sie kann nach langer Dauer ganz ausbleiben.

Tiegel (Pflüger's Archiv 1872, 6. Bd., S. 249 fig.) leugnet ein eigentliches, isolirbares Leberferment und bringt die Umsetzung des Glycogens der Leber mit dem Untergang der rothen Blutkörper in Verbindung. Unsere Versuche ergaben, dass sich trotz der Zerstörung der rothen Blutkörperchen durch Säuren doch das Glycogen in der Leber dauernd erhält und dass sich später die Umsetzung desselben, nachdem die Blutkörperchen Tage, ja Wochen lang zerstört sind, einleiten lässt, wenn der Leberbrei alkalisch gemacht wird. Tiegel suchte seiner Ansicht durch Experimente eine festere Stütze zu geben, aus denen sich ergab, dass in entbluteter Leber die Umsetzung des Glycogens in Zucker nicht eintritt. Wir haben diese Entblutungsversuche nach den Tiegel'schen Angaben theils mit reinem Wasser, theils mit Kochsalzlösung von 0.6 pCt. bei 12 Kaninchenlebern wiederholt. Nur bei einer einzigen mit gewöhnlichem Wasser entbluteten Leber ist es uns gelungen, das von Tiegel an-

gegebene Resultat zu erhalten. Hier erhielt sich das in dem Leberbrei sehr reichlich vorhandene Glycogen mehrere Monate in der oben angegebenen Carbonsäurelösung, ohne in Zucker überzugehen. Bei allen übrigen entbluteten Lebern vollzog sich die Umsetzung ebenso schnell wie bei nicht entbluteten Lebern. Eine sichere Deutung dieses vereinzelt Falles wagen wir vorläufig nicht; indessen muss hervorgehoben werden, dass dieser Leberbrei sehr entschieden sauer reagirte, was wir in den andern Fällen, in diesem Grade wenigstens, nicht beobachteten. Wurde der Leberbrei, in dem sich das Glycogen Monate lang erhielt, schwach alkalisch gemacht, so vollzog sich nach einigen Tagen die Umsetzung des Glycogens in Zucker vollständig.

Von der Ansicht ausgehend, dass die Umsetzung des Glycogens einem in den Leberzellen vorhandenen Ferment zuzuschreiben sei, versuchten wir, dieses Ferment möglichst zu isoliren. Die Leber, sowohl die entblutete wie die nicht entblutete, wurde sehr fein zerkleinert, schwach carbolisirt, gehörig ausgebreitet, bei 30° vollständig getrocknet. Die trockene Masse wurde zerrieben, mit Glycerin übergossen drei Tage stehen gelassen, dann filtrirt, aus dem Filtrat das Ferment durch Alkohol gefällt und der Niederschlag mit Glycerin wieder aufgenommen. Wir erhielten auf diese Weise eine opalisirende Ferment-Glycerinlösung, welche meist innerhalb 24 Stunden Glycogen in wässriger Lösung umsetzte. Durch directes Ausziehen der frischen Leber mit Glycerin wollte es uns nicht gelingen, ein so wirksames Ferment zu erhalten. Das wirksame Ferment verhält sich gegen Lösungen von Glycogen ebenso, wie wir es oben bei der Leber selbst angegeben haben. Salze verhinderen die Umsetzung nicht, Alkalien verlangsamen sie und Säuren hemmen resp. verzögern die Umsetzung des Glycogens in noch grösserer Verdünnung, als dies beim frischen Leberbrei der Fall war. Wir konnten hier auch bei einer Verdünnung der Milchsäure von 1:1500 bis 2000 noch eine Beeinträchtigung der Umsetzung des Glycogens constatiren, welche erst vor sich ging, sobald die Flüssigkeit alkalisch gemacht wurde. Wir benutzten  $\frac{1}{2}$  procentige, schwach carbolisirte Glycogenlösung mit 5 pCt. Fermentglycerinlösung und fügten zu je 50 Grm. der so erhaltenen Flüssigkeit Milchsäure in entsprechender Menge, um Concentrationen derselben von 1:100 bis 1:2000 zu erlangen. Längstens nach 36 Stunden hatte sich in den einfachen Glycerinlösungen die Umsetzung in Zucker vollzogen, bei der alkalisch gemachten dauerte die Umsetzung 3—4 Tage, bei den angesäuerten blieb sie ganz aus, resp. ging bei den ganz verdünnten sehr langsam vor sich. Wurden die sauren Mischungen nachträglich alkalisch gemacht, so wandelte sich das Glycogen in Zucker um.

War durch diese Versuche der hemmende Einfluss, welchen auch die geringsten Säuremengen auf die Wirkung des

Leberferments haben, sichergestellt, so lag die Vermuthung nahe, dass auch die Kohlensäure die Umsetzung des Glycogens in Zucker hindere. Würde diese Vermuthung richtig sein, so liesse sich daraus bei dem überaus reichlichen Gehalt der Leber an venösem Blut die schnelle Umsetzung des Glycogens *post mortem* aufs einfachste erklären. Ferner würden sich daraus auch für gewisse Fragen in der Pathologie der Zuckerharnruhr gewisse Anhaltspunkte ergeben, auf welche näher einzugehen, hier indess nicht der Ort ist.

Versuche mit Leberbrei, durch welchen Kohlensäure geleitet wurde, misslangen. Als wir aber Glycogenlösungen mit Leberferment länger in der eben angegebenen Verdünnung in der Weise mit Kohlensäure in Verbindung brachten, dass wir mit dieser Mischung getränkte Glaswolle in Cylinder aufhingen, welche mit sorgfältig gewaschener Kohlensäure angefüllt waren, so liess sich die Umsetzung des Glycogens in einer Reihe von Fällen so lange sistiren, als die atmosphärische Luft sorgfältig abgeschlossen blieb. Indessen war dieses Resultat kein constantes.

Diese von uns gemeinsam geführten Untersuchungen wurden durch die Wegberufung des einen von uns unterbrochen. Da zur Zeit eine gemeinsame Fortführung der Versuche nicht möglich ist, wir aber glaubten, dass die Resultate derselben nach mancher Richtung nicht ganz uninteressant sein dürften, haben wir uns zur Veröffentlichung in der vorliegenden Form entschlossen, behalten uns aber die Verfolgung der einzelnen Punkte vor, welche wir oben als nicht vollkommen sichergestellt bezeichnet haben.

### 192. Jos. Boehm: Ueber die Function des Kalkes bei Keimpflanzen der Feuerbohne.

Mit der Untersuchung über die organische Leistung einiger Aschenbestandtheile höherer Pflanzen beschäftigt, kam ich bald zur Ueberzeugung, dass, um hiebei zu einem befriedigenden Resultate zu gelangen, vorerst die Frage zu entscheiden ist, ob die mineralischen Nährstoffe nur zur Bildung von organischer Substanz dienen, oder auch beim Aufbaue des Zelleibes aus bereits assimilirten Nährstoffen betheiligt sind.

Zur Beantwortung dieser Frage erschien die Thatsache, dass aus grossen und kleinen Feuerbohnen und aus solchen, bei denen ein Samenlappen entfernt wurde, unter normalen Verhältnissen Pflanzen gezogen werden können, die sich an Ueppigkeit durchschnittlich nicht von einander unterscheiden, den Weg zu weisen. Falls die Aschenbestandtheile zur Umbildung der organischen Substanz in Theile des Pflanzenleibes nothwendig sind, wäre es wohl zu vermuthen, dass