

XIX.

Zur Frage über die sogenannte künstliche Umwandlung chondrogenen Knorpels in collagenen.

Von Max Schultze, ord. Prof. der Anatomie in Bonn.

Die Mittheilungen von Friedleben in der Zeitschrift für wissensch. Zoologie, Bd. X. p. 20 und die von Trommer in dem letzten Hefte dieses Archives, nach welchen Knorpel durch Behandeln mit verdünnter Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure aus dem chondrogenen in den collagenen Zustand umgewandelt werden soll, veranlassen mich, an eine denselben Gegenstand betreffende Beobachtung zu erinnern, welche ich vor längerer Zeit veröffentlicht habe und den genannten Forschern unbekannt geblieben zu sein scheint.

In dem von mir in Liebig und Wöhler, Annalen der Chemie 1849, Bd. LXXI publicirten Aufsätze, „über die Einwirkung von Zucker und Schwefelsäure auf organische Substanzen“, in welchem ich die Bedeutung der durch diese Agentien an Eiweissstoffen hervorzurufenden rothen Färbung als mikrochemisches Reagens auf Eiweissstoffe erörtert habe, findet sich auf p. 275 die Notiz: „Sehr auffallend war aber, dass der so behandelte (mit verdünnter Kalilauge bei 30—40° C. digerirte) Knorpel, nachdem die Kalilauge vollständig aus demselben entfernt war, beim Kochen mit Wasser kein Chondrin mehr gab, sondern einen Leim, welcher sich in seinen chemischen Eigenschaften dem Glutin ganz gleich verhielt, auch noch gelatinirte.“

Es handelt sich bei dieser Beobachtung allem Anschein nach um dieselbe Veränderung des Knorpels, welche Friedleben und Trommer durch Einwirkung von Säuren erzielten. Dieselbe ist in Schlossberger's Versuch einer allgemeinen und vergleichen-

den Thierchemie p. 35 citirt, und als der erste gelungene Versuch einer künstlichen Umbildung von Chondrogen in Collagen bezeichnet.

Ich legte einigen Werth auf diese Beobachtung und liess sie Ausgangspunkt einer Reihe von Versuchen sein, deren spätere Veröffentlichung ich versprach. Mittlerweile hat sich der Stand der Frage nach der während der Verknöcherung eintretenden Umwandlung des Chondrin gebenden in den Glutin gebenden Knorpel durchaus verändert. Damals konnte man an einen directen chemischen Uebergang beider Knorpelarten denken, und es schien von Interesse, diesen Uebergang auch ausserhalb des Organismus einzuleiten. Die neueren Arbeiten, zumal H. Müller's genaue Beobachtungen über den histiologischen Vorgang beim Verknöcherungsprocess lassen keinen Zweifel, dass der chondrogene Knorpel durch ein ganz neues Gewebe, die osteoide Bindschubstanz, wenigstens zum grössten Theile verdrängt wird. Dass diese collagen sei, scheint uns nicht zweifelhaft. Jedenfalls ist Friedleben den versuchten Beweis ihrer chondrogenen Natur schuldig geblieben, wie auch schon Trommer hervorgehoben hat.

Es muss fraglich erscheinen, ob die Natur überhaupt jemals die Umwandlung von chondrogener in collagene Substanz anstrebt, ob eine solche überhaupt möglich ist. Jedenfalls dürfte es sich bei derartigen Versuchen um Darstellung von Zersetzungsproducten handeln auf Wegen, die der Organismus während des Lebens nicht einschlägt. Dennoch wird solchen Versuchen ein Werth gewiss um so weniger abgesprochen werden können, als gerade die verschiedenen leimgebenden Körper und Leimarten vom chemischen Gesichtspunkte aus wenig studirt sind. In dieser Ueberzeugung erlaube ich mir die von mir im Jahre 1849 angestellten Versuche, deren weitere Ausführung damals verhindert wurde, hier in ihrem unvollständigen Zustande nach meinen damaligen Notizen mitzutheilen.

1. Experiment.

Rippenknorpel eines Kalbes wurden fein zerschnitten und mit destillirtem Wasser ausgewaschen, darauf in stark verdünnter Kalilauge bei 45° C. $\frac{1}{4}$ Stunde lang digerirt. Der Knorpel hatte eine kaum merkbare bräunliche Färbung ange-

nommen, ebenso die Kalilauge; Zucker und Schwefelsäure färbte die Knorpelzellen wie im frischen Zustande roth, die Intercellularsubstanz war auch von den feinsten Schnitten von der Kalilauge noch nicht angefressen. Die filtrirte Kalilösung gab mit Essigsäure eine Trübung, welche erst bei grossem Ueberschuss der Säure verschwand, durch Kaliumeisencyanür wieder hervorgerufen und nach einigen Stunden als Niederschlag abgesetzt wurde. Einen sehr starken Niederschlag gab in der mit Essigsäure neutralisirten Kalilösung Gerbsäure — ein Zeichen, dass ziemlich viel organische Substanz gelöst war.

Der gut ausgewaschene Knorpel wurde 10 Stunden lang mit Wasser gekocht, wonach Alles bis auf einen feinpulverigen Rückstand, welcher aus Knorpelzellen bestand, gelöst war. Zucker und Schwefelsäure färbte die Zellen nicht roth, sondern hellbräunlich. Die Leimlösung war selbst nach dem Filtriren noch trübe, gelatinirte nach dem Eindampfen und Erkalten zu einer farblosen Gallerte, und verhielt sich, wie aus folgenden Reactionen hervorgeht, einer Glutininlösung ähnlich. Sie gab

einen Niederschlag mit	keinen Niederschlag mit
Gerbsäure (wie Glutin)	Essigsäure
Alkohol	Alaun
Pikrinsalpetersäure	basisch und neutralem essigsauren Bleioxyd
Chlorwasser	Oxalsäure
Jodtinctur	Sublimat
salpetersaurem Quecksilberoxydul (grauschwarze starke Trübung)	salpetersaurem Silberoxyd
Salzsäure und Kaliumeisencyanür	schwefelsaurem Kupferoxyd
Salzsäure und Kaliumeisencyanid (in beiden letzteren Fällen der Niederschlag löslich im Ueberschuss der Kaliumeisencyan-Verbindung.)	schwefelsaurem Eisenoxyd und Oxydul
	Chromsäure
	Chlorbarium

2. Experiment.

Kehlkopf und Luftröhrenknorpel eines Kalbes wurden mit einem Hobel sehr fein zerschnitten, in verdünnter Kalilauge bei 50° C. 10 Minuten lang digerirt und mit vielem Wasser ausgewaschen. Die Knorpelzellen zeigten sich unter dem Mikroskop gut erhalten, dagegen war die Grundsubstanz an den Rändern der Stücke deutlich aufgelöst.

Der Knorpel wurde darauf 8 Stunden mit Wasser gekocht, die Lösung zum Theil eingedampft — gelatinirte nicht beim Erkalten. In der nicht eingedampften Lösung gab

einen Niederschlag	keinen Niederschlag
Gerbsäure (starker, zusammengeballter Niederschlag)	Essigsäure (Trübung, die sich beim Zusatz von mehr Säure löst)
Pikrinsalpetersäure	Alaun
Jodtinctur (geringer Niederschlag)	Alkohol
	Oxalsäure

3. Experiment.

Kehlkopf und Rippenknorpel eines Kalbes und Rindes wurden auf ganz dieselbe Weise behandelt wie beim vorigen Experiment. Nach dem Digeriren mit Kalilauge waren die Knorpel braun geworden und die dünnsten Lamellen hatten sich fast ganz aufgelöst, so dass nur noch die sehr durchsichtig gewordenen Knorpelzellen zurückgeblieben waren. Diese, wie die Zellen in den noch festeren Knorpelstücken wurden beim Behandeln mit Zucker und Schwefelsäure noch recht intensiv roth. Die vom Knorpel abfiltrirte Kalilauge gab mit Gerbsäure einen sehr starken Niederschlag, mit Essigsäure neutralisirt dagegen nur eine sehr geringe Trübung, die im Ueberschuss wieder verschwand, durch Kaliumeisencyanür und -cyanid nicht wieder hervortrat.

Die vollkommen ausgewaschenen Knorpel wurden 12 Stunden lang mit Wasser gekocht. Etwa die Hälfte des Knorpels war gelöst. Die klare Flüssigkeit gelatinirte nicht beim Eindampfen und Erkalten, reagirte sauer und gab

einen Niederschlag mit	keinen Niederschlag
Gerbsäure (wie Glutin)	Essigsäure
Pikrinsalpetersäure	Oxalsäure
Chlorwasser	Alaun
Chromsäure	salpetersaures Silberoxyd
Jodtinctur	schwefelsaures Eisenoxydul
neutralem essigsauren Bleioxyd (starke Trübung)	schwefelsaures Kupferoxyd
basisch-essigsaurem Bleioxyd (geringe Trübung)	Sublimat
Alkohol (aus der concentrirten Lösung)	

Der Rückstand an Knorpel wurde weitere 10 Stunden gekocht, worauf er sich bis auf die Knorpelzellen gelöst hatte. Diese hingen zuweilen in grösseren Lappen zusammen, durch eine feinkörnige Substanz verbunden, ohne Zweifel ein Rest der Grundsubstanz. Mit Zucker und Schwefelsäure trat eine gelbrothe, keine rosenrothe Färbung, wie im frischen Knorpel, auf. Die etwas trübe Lösung gelatinirte nicht beim Eindampfen und Erkalten, reagirte sauer, gab

einen Niederschlag mit	keinen Niederschlag mit
Gerbsäure wie Glutin	Essigsäure
Pikrinsalpetersäure	Oxalsäure
Chromsäure	Alaun
Jodtinctur	und den anderen vorhin angeführten Substanzen.
Alkohol	
basisch-essigsaurem Bleioxyd	
salpetersaurem Quecksilberoxydul.	

4. Experiment.

Rippenknorpel vom Kalbe wurde fein zerschnitten, mit Wasser ausgewaschen und mit Ammoniak, welches zur Hälfte mit Wasser verdünnt worden, bei 40° C.

$\frac{1}{4}$ Stunde lang digerirt. Der Knorpel war anscheinend nicht verändert, der Ammoniak hatte nur Spuren einer organischen Substanz gelöst, wurde durch Gerbsäure nicht gefällt.

Der Knorpel wurde nach vollständigem Auswaschen mit Wasser gekocht. Schon nach 6 Stunden hatte sich Alles bis auf die Knorpelzellen gelöst. Die trübe Lösung gelatinirte beim Eindampfen. Sie gab

einen Niederschlag

mit

Essigsäure (im Ueberschuss nicht löslich)

Gerbsäure wie Chondrin

Oxalsäure

Salzsäure

Weinsteinsäure

Bernsteinsäure

Benzoësäure

Alaun, kurz verhielt sich durchaus wie eine Chondrinlösung.

5. Experiment.

Kehlkopf- und Rippenknorpel vom Kalbe und Rinde wurden fein gehobelt und mit einer Mischung von $\frac{2}{3}$ Essigsäure und $\frac{1}{3}$ Wasser übergossen und bei 50° C. $\frac{1}{4}$ Stunde digerirt. Die abfiltrirte Säuremischung gab keinen Niederschlag mit Gerbsäure, Kaliumeisencyanür oder -cyanid. Der dem Ansehen nach nicht veränderte Knorpel verhielt sich gegen Zucker und Schwefelsäure wie frischer. Mit Wasser ausgewaschen, dann gekocht, löste er sich in 8 Stunden bis auf einen geringen Rückstand auf. Die etwas bräunliche Lösung gelatinirte nicht, reagirte sauer und gab

einen Niederschlag

keinen Niederschlag

mit

Gerbsäure wie Chondrin

Pikrinsalpetersäure

salpetersaurem Quecksilberoxydul

Chlorwasser

Jodtinctur

Alkohol

basisch-essigsäurem Bleioxyd

neutralem essigsäurem Bleioxyd

(letzteres erst in concentrirter Leimlösung einen Niederschlag).

Essigsäure

Chromsäure

Alaun

Sublimat

schwefelsaures Kupferoxyd

schwefelsaures Eisenoxydul

salpetersaures Silberoxyd

6. Experiment.

Rippenknorpel eines Kalbes wurden fein zerschnitten und ausgewaschen, darauf 12 Stunden in zur Hälfte mit Wasser verdünnter Essigsäure bei gewöhnlicher Temperatur und dann $\frac{1}{4}$ Stunde bei 50° C. behandelt. Die abfiltrirte Essigsäure enthielt nur eine sehr geringe Menge fester durch Gerbsäure und Kaliumeisencyanür

und -cyanid nicht fällbare Substanzen aufgelöst, die zum grössten Theile aus essigsaurem Kalk bestanden.

Der ausgewaschene Knorpel löste sich beim Kochen schon nach 4 Stunden zu einer trüben, beim Eindampfen nicht gelatinirenden Flüssigkeit. Diese gab

einen Niederschlag mit	keinen Niederschlag mit
Gerbsäure wie Chondrin	Essigsäure (Trübung im Ueberschuss löslich)
Pikrinsalpetersäure	Oxalsäure (ebenso)
salpetersaur. Quecksilberoxydul	Salzsäure und Kaliumeisencyanür
Alkohol	Chromsäure
basisch-essigsaurem Bleioxyd (im Ueberschuss nicht löslich)	Alaun
neutralem essigsauren Bleioxyd (im Ueberschuss leicht löslich)	Sublimat
schwefelsaurem Eisenoxyd	Jodtinctur
schwefelsaurem Eisenoxydul	schwefelsaurem Kupferoxyd
	Weinsteinsäure
	Bernsteinsäure
	Benzoësäure.

7. Experiment.

Rippenknorpel eines Kalbes wurden fein zerschnitten, ausgewaschen und mit verdünnter Salzsäure (1 Th. auf 9 Th. Wasser) bei 50° C. $\frac{1}{4}$ Stunde digerirt. Die Säure enthielt neben Kalk nur Spuren von organischer durch Gerbsäure als Trübung sich ausscheidender Substanz.

Der dem Ansehen nach nicht veränderte Knorpel wurde ausgewaschen und ausgekocht, dann mit neuem Wasser angesetzt und 3 Stunden gekocht, worauf sich Alles bis auf einen geringen Rückstand gelöst hatte. Eine eigenthümliche schmierige Substanz, welche auch schon bei dem vorigen Essigsäure-Experiment beobachtet worden, giebt der Lösung eine Emulsionstrübung. Der Leim gelatinirte nicht beim Eindampfen.

Die Lösung gab einen Niederschlag mit	keinen Niederschlag mit
Gerbsäure (wie Chondrin)	Essigsäure
Pikrinsalpetersäure	Alaun
Alkohol	Oxalsäure
Jodtinctur	Weinsteinsäure
salpetersaurem Quecksilberoxydul	Salzsäure
basisch-essigsaurem Bleioxyd (im Ueberschuss nicht löslich)	Chromsäure
neutralem essigsauren Bleioxyd (im Ueberschuss leicht löslich)	Sublimat
	schwefelsaurem Kupferoxyd
	schwefelsaurem Eisenoxyd
	schwefelsaurem Eisenoxydul
	salpetersaurem Silberoxyd

Von dem eingedampften syrupdicken Leim wurde ein alkoholisches Extract bereitet, aus welchem weder Leimzucker noch Leucin krystallisirte. Doch roch das Eingedampfte ganz eigenthümlich süsslich, nicht nach Leim, so dass es schien, als müsse der Leim bereits wesentlich verändert sein.

8. Experiment.

Rippenknorpel eines Kalbes wurden zerkleinert und ausgewaschen, sodann mit einer mässig concentrirten Lösung von Oxalsäure übergossen, 13 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, sodann $\frac{1}{4}$ Stunde bei 50° C. digerirt. Der sorgfältig ausgewaschene Knorpel, an dem keinerlei Veränderung wahrzunehmen war, wurde gekocht und löste sich innerhalb 3 Stunden auf. Es blieb eine ähnliche schmierige, fettropfenartig auf der Lösung schwimmende Masse zurück, wie bei den vorigen Experimenten. Die Flüssigkeit gelatinirte nicht beim Eindampfen. Sie gab genau dieselben Reactionen wie die Lösung, welche im vorigen Experiment erhalten wurde.

9. Experiment.

Rippenknorpel eines Kalbes wurden ausgewaschen und bei 100° getrocknet. Nach 8 Tagen in Wasser gelegt, nahmen sie das Ansehen wie frischer Knorpel an. Diese wurden in Phosphorsäure, wie sie officinell ist, bei 30° C. $\frac{1}{4}$ Stunde digerirt. Der Knorpel hatte sich dem Ansehen nach nicht verändert, die Säure enthielt viel Kalk. Nach möglichst vollständigem Auswaschen gekocht, löst der Knorpel sich schon in einer Stunde auf, es blieb ausser Knorpelzellen nur die schmierige Substanz wie im vorigen Experiment zurück.

Die Lösung verhielt sich wieder genau wie die im Experiment 7 und 8.

Aus diesen Experimenten, so fragmentarisch sie sind, lässt sich doch, wie ich glaube, so viel schliessen, dass die Veränderung, welche der Knorpel durch Digeriren mit Kalilauge oder den angewandten Säuren erleidet, durchaus noch keine solche ist, dass wir ihn dem Glutin gebenden Knorpel vollständig gleich setzen dürfen. Ganz abgesehen davon, dass die durch Kochen dieses Knorpels erhaltene Lösung bei Anwendung von Säuren nie, bei Anwendung von Kalilauge nur in einem Falle (Experiment 1.) gelatinirte, stimmen die Reactionen derselben mit einer Glutininlösung durchaus nicht in allen Punkten überein. Dem Glutin am nächsten stehen die nach Kalibehandlung erhaltenen, entfernter die nach Säureanwendung dargestellten Flüssigkeiten. Dagegen stimmen die letzteren unter sich sehr genau überein, es mochte Salzsäure, Essigsäure, Oxalsäure oder Phosphorsäure benutzt worden sein. Alle zwar, sowohl die der ersten als die der zweiten Art, stehen

einer Glutinlösung darin nahe, dass sie durch Essigsäure, Oxalsäure und Alaun nicht gefällt werden. Während aber die ersteren gegen Gerbsäure ganz wie Glutin reagiren, werden sie doch durch Sublimat, welches Glutinlösungen stets fällt, nicht verändert. Und die letzteren zeigen nicht einmal gegen Gerbsäure die charakteristische Glutinreaction, indem durch sie nur Trübung, aber kein fester geballter Niederschlag hervorgerufen wird. Ist so schon in den Hauptreactionen eine nicht unerhebliche Differenz vorhanden, so treten in manchen minder charakteristischen vollends grosse Verschiedenheiten auf. So ist z. B. das Verhalten des durch Säureeinwirkung veränderten Knorpelleimes gegen basisch und neutrales essigsaures Bleioxyd durchaus nicht dasjenige des Glutins, sondern vielmehr ganz das des Chondrins geblieben, während wieder die Niederschläge mit salpetersaurem Silberoxyd, schwefelsaurem Kupferoxyd, Eisenoxyd und Eisenoxydul ausbleiben, die doch in jeder Chondrinlösung auftreten.

Man sieht daraus, dass wir es hier, namentlich bei der Säureeinwirkung, durch welche auch der Geruch des Leimes vollständig umgeändert wird und manche Erscheinungen auftreten, welche auf eine gründliche Umsetzung deuten, mit recht complicirten Vorgängen zu thun haben, welche durchaus nicht als einfache Umwandlung des chondrogenen in den collagenen Knorpel angesehen werden dürfen.

