

Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin.

Bd. XXXVI. (Dritte Folge Bd. VI.) Hft. 1.

I.

Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.

I.

Das Vorkommen von Leucin und Tyrosin im normalen Körper *).

Von Dr. med. S. Radziejewsky aus Posen.

(Auszug aus einer von der medicinischen Facultät zu Berlin mit dem
akademischen Preise gekrönten Arbeit.)

Mit der Untersuchung verschiedener frischer Organe begann ich wesentlich nach der Methode von Neukomm, wobei ich meine Aufmerksamkeit besonders auf die Abwehr cadaveröser Zersetzung, die in der Folge einfach als Fäulniss bezeichnet werden sollen, richtete.

Thiere, wenn möglich, wurden die dampfend warmen Untersuchungsobjecte herausgenommen, unter Alkohol mit der Scheere zerschnitten und in das drei- bis vierfache Volumen Spiritus hineingeschüttet. Nach 24 Stunden wurde die Reaction der Gewebe auf folgende Weise geprüft. Ein Tropfen des spirituosen Extracts wurde auf Lakmuspapier ausgebreitet und die Farbe des inneren

*) In Bezug auf die Gesichtspunkte, welche mich bei dieser Untersuchung leiteten, erlaube ich mir auf einen historischen Aufsatz — Deutsche Klinik 1865. No. 43 — zu verweisen.

Kreises als die entscheidende betrachtet; bisweilen bediente ich mich auch des Curcumapapiers oder eines mit Malvenextract gefärbten Reagenspapiers; die schärfste Reaction aber war diese: Auf 2 Uhrgläser wurden einige Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit ausgebreitet, und von der Peripherie her vermittelst der Pincette vorsichtig einige Tropfen der blauen Lakmustinctur dem einen, und der rothen dem anderen Glase hinzugefügt; der an der Berührungsstelle entstehende Farbenwechsel bestimmte die Reaction. War diese so festgestellt, so wurden die Gewebe mit einem Hackmesserr fein zerhackt und mit obiger Quantität Alkohol zu einem sehr feinen Brei angerührt; resistenter Gewebe wie das der Lunge und der Muskeln wurden vorher mit Sand und dann erst mit Alkohol zerrieben. Der Brei wurde wiederum auf 24 Stunden fortgestellt, um die in Spiritus löslichen Stoffe aufzunehmen, vor Allem also Leucin und Tyrosin, welche bei Anwesenheit anderer löslichen Stoffe ebenfalls vom Alkohol extrahirt werden.

Nach dieser Zeit wurde die Masse von neuem auf ihre Reaction geprüft und colirt; die auf der Leinwand zurückbleibenden festen Bestandtheile wurden sorgfältig ausgepresst, während durch nochmalige Filtration durch Papier die Colatur klar und durchsichtig wurde. Dieser Extract, dessen Reaction wiederum geprüft wurde, wurde unter Zusatz einer Spur Essigsäure, um die Albuminate vollkommener coaguliren zu lassen, auf dem Wasserbade abgedampft, bis er unter bräunlicher Färbung die Syrupsconsistenz annahm. Hatte der Syrup eine dunklere braune Farbe als etwa die des gewöhnlichen Biers, so gelang es nie, nur durch Stehenlassen ihn zur Krystallisation zu bringen; hatte er dagegen diese braune oder eine noch hellere Farbe, so krystallisierte regelmässig bereits nach 24 Stunden aus diesem Syrup das etwa vorhandene Leucin und Tyrosin heraus. Diese Krystalle wurden durch Behandlung mit starkem heissen Alkohol, worin Tyrosin unlöslich ist, von einander geschieden, auf einem Filter gesammelt und durch Aether von adharentem Fett gereinigt. Leucin war dann für die betreffenden Reactionen hinreichend rein; Tyrosin wurde nochmals mit heissem Wasser ausgezogen und zur Scheidung von anderen Stoffen in kohlensaurem Ammoniak gelöst, aus dem es freiwillig herauskrystallisiert. War dagegen auch nicht mit Hülfe des Mikroskops im Syrup Leucin oder Tyrosin zu entdecken, so wurde er

in Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit Bleizucker versetzt und filtrirt; der Rückstand auf dem Filter wurde unberücksichtigt gelassen, das Filtrat dagegen, wo nöthig, durch Ammoniak neutralisiert und mit Bleiessig behandelt. Den hieraus entstehenden Niederschlag werde ich fortan Bleipräcipitat nennen, sowie sein Filtrat das Bleifiltrat. Dieses mit Schwefelwasserstoff von Blei befreite Filtrat wurde abgedampft und auf Harnstoff, Leucin und Tyrosin geprüft; der Bleiniederschlag wurde in Wasser suspendirt, ebenso entbleit und ebenfalls zum Syrup abgedampft, der gewöhnlich Harnsäure, Taurin, bisweilen auch Leucin enthielt, das mit zu Boden gerissen war.

Diese Methode habe ich bei allen meinen Untersuchungen angewandt, ohne dass ich in der nun folgenden Darstellung derselben jede einzelne Operation namentlich erwähnen werde; bediente ich mich einer anderen Darstellungweise, so werde ich die Abänderungen an geeigneter Stelle anführen.

Zur Erkennung des Leucin diente seine charakteristische Gestalt unter dem Mikroskop, die uns concentrische, scharf contouirte Kugeln zeigt, angefüllt mit feinen, radienartig angeordneten Nadeln, seine Fähigkeit bei 170° C. zu sublimiren, der unverkennbare Geruch nach Valeronitryl beim Erhitzen mit Braunstein und verdünnter Schwefelsäure; Tyrosin machte sich kenntlich durch die feinen radiären Doppelgarbenbüschel und die R. Hoffmann'sche Reaction mit salpetersaurem Quecksilberoxyd.

Erste Reihe.

Von vier noch lebenden Kaninchen wurde die Brust- und Bauchhöhle geöffnet und folgende Organe auf die geschilderte Weise untersucht: vom ersten Kaninchen Leber, Milz, Niere; vom zweiten Herzmuskel, Lunge, Leber, Niere; vom dritten Herzmuskel, Lunge, Leber, Milz, Niere; vom vierten Herzmuskel, Lunge, Leber, Niere. Von einem Kaninchen wurde auch der Inhalt des gesamten Intestinaltractus mit Ausnahme des Dickdarmes mit Alkohol ausgezogen und im Uebrigen nach der bekannten Methode behandelt; seine Reaction war natürlich sauer. Die übrigen Extracte waren nach 24 Stunden mehr minder stark alkalisch und wurden, ein jeder für sich, untersucht; in den abgedampften Bleifiltraten konnte weder Leucin noch Tyrosin nachgewiesen werden.

Da ich vermutete, die Schuld an diesem negativen Resultate liege an der geringen Menge des Untersuchungsmaterials, so wählte ich jetzt hierzu Hunde, denen vorher eine Fistel zur Gewinnung des Pankreassafes angelegt wurde und tödete sie, sobald sie ihrem Ende nahe waren. Erster Hund: Herzmuskel, Lunge, Leber, Milz, Pankreas, Niere wurden mit Alkohol extrahirt; ihre Auszüge reagirten schwach alkalisch, und enthielten keinen von beiden Körpern. Dasselbe war der Fall bei einem zweiten Hunde, dessen Herzmuskel, Lunge, Pankreas, Niere geprüft wurden; die Extracte waren neutral. Von einem dritten Hunde wurden Pankreas, Milz, Nieren untersucht; die Reaction der extrahirten Gewebe war schwach alkalisch. Durch ein Versehen säuerzte ich beim Abdampfen den alkoholischen Extract des Pankreas anstatt mit Essigsäure, mit Bleizucker an, und erhielt so eine unerwünschte Fällung von Albuminaten, Chlornatrium u. s. w. Erst nach zwei Tagen, während welcher Zeit der Extract im warmen Zimmer geblieben war, trennte ich den Niederschlag durch Filtration, dampfte das Filtrat ab und bemerkte nach 36 Stunden auf der Oberfläche desselben Leucinhäutchen, die gereinigt sämtlichen Reactionen unterworfen wurden; das Mikroskop zeigte zwischen den Leucinkugeln Haufen von Tyrosin ähnlichen Garbenbündeln, die nicht genauer geprüft werden konnten. Musste man nicht bei diesem Auftreten von Leucin an eine Entstehung durch Fäulniss denken? Milz und Nieren desselben Thieres zeigten bei ununterbrochener Untersuchung keine Spur dieses Körpers.

Im Sommer des folgenden Jahres wurden bei einem fünften noch lebenden Hunde Leber, Milz und Nieren herausgeholt: die Extracte reagirten schwach alkalisch, in der Milz und den Nieren war Leucin nicht zu finden. Der Extract der Leber — ich hatte die ganze Masse des Organs in Arbeit genommen — war von gelber, klarer Farbe und ergab abgedampft einen hellbraunen Syrup. Schon zwei Tage nachher erblickte ich auf diesem eine sehr dünne Membran, die sich unter dem Mikroskop und durch chemische Reactionen als aus Leucin bestehend ergab. Bei längerem Stehen des Sirups nahm weder die Menge des Leucin zu, noch krystallisierten aus ihm andere organische Körper heraus.

Die Menge des bei mehreren Untersuchungen gewonnenen Pankreassafes (kaum eine halbe Unze) war zu gering und mit Blut

zu sehr verunreinigt, um mit Aussicht auf Erfolg untersucht zu werden.

Zweite Reihe.

Noch immer in der Ansicht, dass das schwankende Resultat durch die zu geringe Masse des Untersuchungsobjectes veranlasst werde, ging ich jetzt zu grösseren Mengen über und zwar zuerst zum Pankreas und zu der Milz des Schweins. Obgleich ich beim Schlachten zugegen war, konnte ich doch erst 30 Minuten nach der Tödtung des Thieres die allerdings noch sehr warmen Organe bekommen, um sie sofort unter Alkohol in kleine Stücke zu zerschneiden. Diese kurze Verzögerung hatte bereits hingereicht, um eine schwach saure Reaction in beiden Organen hervorzurufen. Die Untersuchung des Pankreas schlug durch einen Zufall fehl. Der zum Syrup abgedampfte Extract der Milz, ihrem Gewichte nach 94 Grm., zeigte bereits nach 24 Stunden Leucinkristalle, die mit siedendem Wasser ausgeschöpft und nochmals mit kohlensaurem Ammoniak umkristallisiert wurden; die Menge war hinreichend, um allen Reactionen zu genügen. In der ammoniakalischen Lösung zeigten sich einzelne in ihrer Gestalt Tyrosin ähnliche Kristalle; dass sie nicht etwa mit Gypsikristallen verwechselt waren, geht aus ihrer Löslichkeit in Wasser und in kohlensaurem Ammoniak hervor; chemische Reaction war nicht auszuführen.

Einige Organe des Ochsen nahm ich sodann in Arbeit: Pankreas, Milz und Nieren. Die verschiedenen Manipulationen des Fleischers, ehe er die Baucheingeweide herausnahm, dauerten ungefähr eine halbe Stunde, ein Zeitraum, der bei dem gleichartigen Betriebe solcher Gewebe wohl auch bei dem Scherer-Witte'schen Versuch in Würzburg verstrichen sein wird. In Folge dieses Zeitverlustes reagirte von den betreffenden Theilen, obgleich sie, wie immer, im Schlachthause selbst sofort unter Spiritus zerschnitten wurden, der spirituose Extract des Pankreas und der Milz bereits sauer, der der Nieren neutral.

Das Filtrat des pankreatischen Extractes war von schön gelblicher Farbe und wurde auf dem Wasserbade unter Abscheidung der Fette, die obenauf schwammen, bis zur Syrupsconsistenz abgedampft. Der Syrup wurde mit Aether ausgewaschen, sodann in Wasser gelöst, die Lösung mit Bleiessig, sodann mit Bleizucker

u. s. w. behandelt. Das entbleite Bleifiltrat wurde abgedampft und ergab nach einigen Tagen eine ziemliche Menge von Leucin.

Die Milz wurde circa 5 Minuten später als das Pankreas herausgenommen. Der gelbliche Extract wurde aufgekocht und an 4—5 Mal filtrirt, um die zu Boden fallenden Stoffe und die beim Kaltwerden sich ausscheidenden Fette zu entfernen. Als schliesslich der braungefärbte Syrup ganz allmäglich erkaltete, bildete sich schon nach einer halben Stunde eine Schicht von der Dicke einer Linie, die nur als aus Leucinkugeln bestehend sich erwies.

Der Extract der Niere von neutraler Reaction ergab für die vorliegende Frage ein negatives Resultat.

Bei den letzten Versuchen hatte ich bemerkt, dass ein sehr wesentliches Hinderniss für die Krystallisation der betreffenden Körper die in grosser Menge rückbleibenden Fette seien, dass die Krystallisation hinwiederum begünstigt werde durch eine sehr allmäliche Temperaturverminderung der zu krystallisirenden Masse. Um jenes zu erreichen, liess ich das abdampfende Filtrat 5 bis 6 Mal erkalten und sammelte das sich abscheidende Fett auf dem Filter; dieses erlangte ich dadurch, dass ich den Extract auf dem warmen Wasserbade mit diesem gleichmässig und daher sehr langsam abkühlen liess. Bei allen folgenden Versuchen beobachtete ich diese Vorsichtsmaassregeln.

Dritte Reihe.

Die vorhergehenden Untersuchungen, die das Endresultat noch keineswegs feststellten, beschloss ich in der Art fortzusetzen, dass ich sämmtliche Theile eines Thieres, das leicht zu erlangen, und dessen Organe von hinreichendem Gewicht waren, im Zusammenhang untersuchte. Ich wählte hierzu die Organe des Kalbes; wie früher, war ich beim jedesmaligen Schlachten zugegen, zerschnitt im Schlachthause selbst die betreffenden Theile unter Alkohol und brachte sie dann erst in das Laboratorium.

Pankreas, Schild- und Thymusdrüse wurden 20 Minuten, nachdem das Thier getötet war, herausgenommen. Der alkoholische Extract stellte nach wiederholtem Filtriren eine schmutziggraue Flüssigkeit dar; die Reaction des Thymusextractes war neutral, die des Pankreas schwach sauer, ebenso die der Schilddrüse. Schon nach wenigen Tagen zeigte sich im braunen Syrup von al-

len drei Extracten, am meisten im Pankreas, am wenigsten in der Thymusdrüse, Leucin; von Tyrosin war keine Spur zu sehen.

Der spirituöse Extract der Milz von neutraler Reaction hatte eine grauweisse Farbe, nach der Filtration eine gelbliche. Bereits eine halbe Stunde, nachdem er zur Syrupsconsistenz abgedampft war, zeigte sich eine dicke Haut, die in zwei Tagen bedeutend zunahm und nur aus Leucin bestand.

Gland. submax. und parotis, 88,5 Grm. schwer, lieferten einen neutralen grauweissen Extract, der zum Syrup eingeengt nur wenig Leucinkugeln zeigte, aber nach mehreren Tagen deren hinreichend hatte, um durch die Scherer'sche Reaction und Valeronitrylbildung, abgesehen von der mikroskopischen Form, sich als Leucin constatiren zu lassen.

Lungen, 130 Grm. schwer; das Filtrat schwach gelb, nach der Fettausscheidung grünlich. Die Reaction neutral. Der Syrup zeigte nach zweitäigem Stehen kleine dünne Häutchen, die mikroskopisch dem Leucin ähnliche Formen darzubieten schienen. Nachdem aber zur weiteren Reinigung der Syrup in Wasser gelöst, mit Bleiessig u. s. w. behandelt war, konnten Leucinkristalle auch nach noch so langem Stehen nicht mehr wiedergesehen werden.

Nieren, 103 Grm. schwer; der Extract hellgelb, schwach alkalisch, zeigt abgedampft ein dünnes Häutchen, das im Laufe von drei Tagen sich so stark vermehrte, dass es den Boden der kleinen Schüssel anfüllte. Es wurde als Leucin erwiesen.

Lymphdrüsen, 34 Grm. wiegend, wurden mit Alkohol extrahirt und zeigten neutrale Reaction. Nach drei Tagen wurde der Brei, immer von gleicher Reaction colirt und filtrirt, so dass der Extract eine klare, weisse Farbe hatte. Innerhalb dreier Tage wurde er zur Syrupsconsistenz abgedampft, Krystallformen waren alsdann auch nach mehrtäigem Stehen noch nicht sichtbar. Es wurde desshalb eine grössere Menge (105 Grm. Mesenterialdrüsen) zur Untersuchung genommen; im Schlachthause wurden sie mit Spiritus begossen und bei mässigem Frost (7° C.) in das Freie gestellt. Am folgenden Tage wurden sie im Freien zerhackt und mit dem doppelten Volumen Alkohol zerrieben. Nach zwei Tagen zeigte der Brei eine schwach alkalische Reaction, er wurde colirt, filtrirt, so dass er klar, hellgelb wurde, und zur Syrupsconsistenz abgedampft. Der Syrup zeigte eine braune Farbe; er wurde mit

dem der zuerst untersuchten Menge vereinigt und zur Krystallisation während einer Woche weggestellt. Als auch dann hierin kein Leucin bemerkbar wurde, wurde er in Wasser gelöst und auf die bekannte Weise behandelt; das Bleifiltrat, beträchtlich entfärbt, hatte eine hellgrüne Farbe, als es vom Blei befreit und zum Syrup eingeengt war, eine citronengelbe. Schon beim Abdampfen bildete sich ein dünnes Hütchen, das Leucinkristalle zeigte, nach mehrätigem Stehen wurde es so stark, dass die mit heissem starken Alkohol ausgewaschenen Leucinkristalle die Wände eines Reagensglases etwa ein Zoll hoch bedeckten.

Lungen wurden von Neuem untersucht; 729 Grm. wurden zum Frieren in das Freie gestellt. Das Zerhacken am folgenden Tage war hierdurch wesentlich erleichtert. Nach zwei Tagen zeigte die Masse eine schwach alkalische Reaction, sie wurde sofort zu einem Brei zerrieben, am folgenden Tage colirt und filtrirt, das grünlich-gelbe Filtrat innerhalb dreier Tage abgedampft. Die sich jetzt ausscheidenden Kochsalzkristalle wurden mechanisch entfernt, der gelbe Syrup, der auch nach mehrätigem Stehen kein Leucin zeigte, in Wasser gelöst und mit den Bleisalzen behandelt. Leider verbrannte das Bleifiltrat, so dass das Resultat dieser Untersuchung nur dadurch von einiger Bedeutung ist, dass der Syrup die Farbe zeigte, bei der sonst, sobald Leucinkristalle überhaupt da sind, sie schnell herausschiesseen.

Um aber Sicherheit über die Existenz des Leucin in den Lungen zu gewinnen, wurden von Neuem 652 Grm. unter allen Vorsichtsmaassregeln zum Frieren hinausgestellt. Das Wetter wurde aber indessen milder. Die daher nur theilweis gefrorenen Lungen wurden daher sorgfältig zerhackt und in das doppelte Volumen Alkohol geworfen. Nach zwei Tagen konnten anscheinend einige Leucinkristalle mit vielen heterogenen Bestandtheilen vermengt gezeigt werden. Um diese zu entfernen, wurde der Syrup in Wasser gelöst und der gewohnten Untersuchungsweise unterworfen; im farblosen Bleifiltrat war Leucin nie zu finden, im Bleiniederschlag Harnsäure vorräthig. Die Nichtexistenz der beiden fraglichen Körper in den Lungen glaube ich so nachgewiesen zu haben.

Pankreas wurde zum zweiten Male untersucht, da bei der ersten Untersuchung die Reaction des Extractes bereits sauer war. 32 Grm. wurden im Schlachthause zerschnitten und in Spiritus

gelegt. Nach drei Tagen zeigte der Extract eine neutrale Reaction; die ganze Masse wurde jetzt fein zerrieben, colirt, filtrirt und — das neutrale Filtrat war klar und weiss — abgedampft. Schon nach wenigen Tagen zeigte sich eine geringe Menge von Leucinformen neben viel Fett im Syrup. Die Quantität reichte nicht zu allen Reactionen aus und von Neuem wurden 69 Grm. dieses Organs, nachdem sie vom Fette gereinigt in der Kälte gefroren und im Freien zerbackt waren, zum Brei zerrieben, colirt und filtrirt. Das neutrale Filtrat war klar und farblos, beim Abdampfen wurde es orangegelb. Der Syrup wurde mit dem der erst untersuchten Masse zusammen in Wasser gelöst und wiederum eingeengt. Schon nach 24 Stunden zeigte sich eine dünne Haut, die abgehoben und gereinigt die Form und die Reactionen des Leucins gab; in der Mutterlauge bildete sich auch nach längerem Stehen immer nur Leucin.

Die Leber, 500 Grm. schwer, reagirte im alkoholischen Extract neutral; ebenso zeigte das klare, goldgelbe Filtrat neutrale Reaction. In drei Tagen wurde es zu einem schwarzbraunen, zähen Syrup abgedampft, in dem nur Chlornatriumkrystalle aufschossen; desshalb wurde dieser in Wasser gelöst und in bekannter Weise behandelt. Das Bleifiltrat selbst war zwar nur schwach gelb, der Syrup aber wieder so dunkel, dass ich ihn, um die Farbstoffe zu entfernen, mit Kohle trocken verrieb und sodann mit heissem Wasser extrahirte. Auf der Oberfläche des abgedampften Auszuges bildete sich eine dünne hellbraune Schicht, die unter dem Mikroskop sehr grosse Krystalle von wunderlichem Aussehen zeigte. Sie hatten den Anschein von dicht aneinander gedrängten Stachelkränzen; in der That aber waren es Kugeln, die mit feinen radiär verlaufenden Nadeln angefüllt waren, deren peripherisches Ende stark hervortrat, während der grössere centrale Theil blass war und nur bei stärkerer Vergrösserung hervortrat. Die chemischen Reactionen stellten die Identität der Krystalle mit Leucin fest; bei langem Stehen der Mutterlauge kehrten immer nur diese Krystalle wieder.

Die Hoden von zwei Kälbern gaben ein neutrales farbloses Filtrat, der Syrup war schwarzbraun und zeigte auch nach zweiwöchentlichem Stehen keine Spur von Leucin. Er wurde in Wasser gelöst und mit den Bleisalzen behandelt. Das Bleifiltrat lieferte

einen gelben Syrup, in dem man nach noch so langem Stehen keine Spur der gesuchten Körper wahrnahm. Das Resultat bleibt aber ungewiss wegen der geringen Quantität des untersuchten Organs.

Gehirn, 459 Grm. schwer, lieferte ein neutrales, schwach grün gefärbtes Filtrat. Beim Abdampfen schäumte es stark, schied viele albuminöse Gerinnsel ab und nahm eine citronengelbe Färbung an, bis es am vierten Tage die Consistenz eines Syrups von dunkelbrauner Farbe annahm. Da nach fast einer Woche sich hierin keinerlei Krystalle zeigten, so wurde die wässrige Lösung des Syrups nach gewohnter Weise weiter untersucht; das Bleifiltrat hatte eine helle Farbe, eingeengt gab es einen citronengelben Syrup. Auch hierin war nach vier Tagen noch keine Spur von Leucin. Der Syrup wurde also von Neuem gelöst und eingeengt; hierbei vertrocknete er zu einer festen schwarzen Masse, die in Wasser gelöst und durch Kohle nur wenig entfärbt, nach zwei Wochen auf der Oberfläche kleine dünne Hütchen zeigte, die zwar dem Leucin an Gestalt und in den Löslichkeitsverhältnissen gleich waren, aber in den chemischen Reactionen von ihm abwichen.

Zum zweiten Mal wurde ein Gehirn, 442 Grm. schwer, untersucht. Das Filtrat war blassgelb, neutral, in drei Tagen wurde es zum rothgelben Syrup abgedampft, der sich bald mit einer dünnen Haut bedeckte. Die Menge der Krystalle vermehrte sich während fünf Tage bedeutend und zeigte die Wetzsteinform des Kreatinins sowie dessen Chlorzinkreaction; in der Mutterlauge konnte niemals Leucin gezeigt werden.

Herzmuskel, 274 Grm. schwer, wurde in das Freie zum Frieren gelegt, fein zerhackt und mit Alkohol extrahirt. Das Filtrat war hellgelb, die Reaction neutral. Schon beim Abdampfen schied sich Kreatin in immer stärker anwachsender Menge aus; in der Mutterlauge war weder nach längerem Stehen, noch, als sie in Wasser gelöst und mit den Bleisalzen gefällt war, Leucin oder Tyrosin wahrzunehmen.

Als Seitenstück will ich in Kürze das Ergebniss einer Untersuchung der Muskeln am Rumpf und den Extremitäten eines frisch getöteten Kaninchens hier anreihen. Sie wurden mit möglichst grösster Geschwindigkeit zerschnitten, mit Alkohol extra-

hirt und zum Syrup abgedampft. Dieser wurde in gewöhnlicher Weise weiter untersucht und ergab nur Kreatinin im Bleifiltrat.

Das beim Schlachten eines Kalbes langsam hervorsprudelnde Blut (518 Grm.) fing ich im dreifachen Volumen Alkohol auf, so dass es hierin eine Masse von breiiger, körniger Beschaffenheit bildete, die gehörig umgerührt und drei Tage hindurch bei strenger Kälte hinausgestellt wurde. Alsdann wurde sie nochmals sorgfältig umgeschüttelt, sodann filtrirt. Das schwach alkalische, blassröhliche Filtrat wurde in vier Tagen unter häufiger Entfernung der gerinnenden Albuminate abgedampft mit der Vorsicht, dass in der Zwischenzeit es jedesmal vom Wasserbade weg in den Hof gestellt wurde.

Der Syrup war schmutzig grün und wurde, da er keine Neigung zur Krystallbildung zeigte, nach bekannter Weise weiter behandelt. Auch das von Blei befreite Filtrat, das vollkommen farblos war und einen gelben Syrup lieferte, zeigte nach noch so langem Stehen keinen der beiden Körper.

Möglichst frische Galle (70 Grm.) wurde im Schlachthause selbst in einem mit Bleizucker gefüllten Gefäss aufgefangen. Die Flüssigkeit reagirte alkalisch, filtrirt gab sie bei Zusatz von Bleiessig keine Fällung mehr; das von Blei freie Filtrat war vollkommen klar. Der bräunliche Syrup lieferte unter anderem zwei Linien lange weisse Nadeln organischer Natur, die nicht näher zu bestimmen waren; von den Leucinformen zeigte sich keine.

Vierte Reihe.

Nochmals wurden beim Hunde Lunge, Milz und Nieren in grösserer Quantität untersucht, indem ich die betreffenden Organe von zwei Thieren zusammen unmittelbar nach ihrem Tode in Spiritus warf und hier zerschnitt und wie immer weiter verfuhr.

Lungen, 161 Grm. schwer, wurden nach vier Tagen erst bei neutraler Reaction colirt und filtrirt; der grünlichgelbe Extract wurde in zwei Tagen abgedampft; der Syrup war braun. Nach neun Tagen wurde dieser in Wasser gelöst, mit Bleizucker gefällt etc. Das letzte vollkommen klare Filtrat lieferte abgedampft einen gelben Syrup, in dem Leucin nicht sichtbar wurde; das Bleipräcipitat ergab eingeengt einiges Taurin.

Milz, 56 Grm., wurde bei neutraler Reaction am dritten Tage

colirt und filtrirt; das gelbliche Filtrat am folgenden Tage bei stets gleicher Reaction abgedampft. Der braune Syrup ergab nach zwei Tagen eine bedeutende Menge Leucin.

Nieren, 113 Grm., wurden nach drei Tagen bei neutraler Reaction colirt, ausgepresst und filtrirt. Der citronengelbe Extract wurde in zwei Tagen abgedampft, der Syrup zeigte später kuglige, Leucin ähnliche Krystalle. Der Syrup wurde untersucht; im Bleifiltrate konnten aber Leucinkrystalle nicht mehr gefunden werden.

Speichel und Harn, die ich frisch vom Kalbe nicht gewinnen konnte, untersuchte ich beim Menschen.

Der Speichel einer an Salivation leidenden Frau, 60 Grm., wurde vollkommen abgedampft, der Rückstand mit heissem Alkohol extrahirt und wieder eingeengt. Der gelbliche Syrup wurde sodann in Wasser gelöst und mit den Bleisalzen behandelt. Leucin trat auch dann nicht auf.

Frisch entleerter Harn (400 Ccm.) von saurer Reaction wurde bis auf $\frac{1}{3}$ seines Volumens abgedampft, der dunkelbraune Rest mit dem doppelten Volumen Alkohol extrahirt und wiederum abgedampft. Der so gewonnene Syrup wurde in Wasser gelöst und mit Bleizucker resp. Bleiessig behandelt. Nur Harnstoff schied sich aus in grosser Masse, von Leucin war auch nach vielen Tagen keine Spur sichtbar.

Fünfte Reihe.

Blut und Harn, von denen ich gezeigt habe, dass sie normal keinen der beiden Körper enthalten, untersuchte ich nach der bei den betreffenden Objekten schon vorher angegebenen Methode pathologisch verändert; da dieses Mal das Resultat ein positives war, so war das frühere negative jedenfalls nicht die Folge der Untersuchungsmethode.

Blut aus den Herzkammern eines Mannes entnommen, der an Rheum. art. acut. gestorben war, wurde getrocknet, zerrieben, mit einer grossen Menge Wasser gekocht und heiss alsdann filtrirt. Das Filtrat wurde bis auf einen kleinen Rückstand verdampft, mit einer mässigen Wassermenge aufgenommen, mit neutralem und basisch essigsaurem Bleioxyd gefällt. Das letzte Filtrat gab eingeengt einen braunen Syrup, worin Leucin nachgewiesen wurde. Es ist schwer in diesem Falle zu entscheiden, einen wie grossen

Antheil an diesem Auftreten des Leucin die unglaublich schnelle Fäulniss des Blutes und welchen die pathologische Beschaffenheit desselben hat.

Harn *) (400 Cem.) von saurer Reaction, von einem Individuum stammend, das seit langer Zeit an mechanischem Icterus leidet, wurde vollkommen abgedampft, in hinreichender Menge von Alkohol gelöst, filtrirt und sodann mit den Bleisalzen behandelt, die ihn so entfärbten, dass das Bleifiltrat nur schwach gelb war. Abgedampft konnte hier kein Leucin entdeckt werden; im Bleipräcipitate aber zeigten sich Taurinkristalle.

Harn (400 Cem.) von saurer Reaction, frei von Eiweiss, einem Individuum entnommen, das an sogenanntem Icterus gravis mit sehr hohen Temperatursteigerungen über 40° C. litt, wurde vollkommen abgedampft und im Uebrigen wie die ersterwähnte Menge untersucht. Auf der Oberfläche des gelb gefärbten Syrups zeigten sich nach wenigen Stunden kleine Häutchen, die unter dem Mikroskop die charakteristischen Leucinformen erkennen liessen. Da der Harnstoff sich auf dem Boden des Gefäßes in festen Massen ablagerte, so konnten diese Krystallhäutchen leicht abgehoben und gereinigt werden. Auch die chemischen Reactionen erwiesen es als Leucin; Tyrosin konnte nicht nachgewiesen werden. Der betreffende Patient selbst wurde nach einigen Wochen geheilt entlassen.

Zum Schluss muss ich noch antecipirend einige Einwürfe gegen meine Untersuchungen widerlegen:

1) „Bei meinen maassgebenden Experimenten stimmte die angegebene Reaction der Gewebe nicht vollkommen mit der als normal festgestellten überein, z. B. in der dritten Reihe ist die des Pankreas neutral, die des Blutes nur schwach alkalisch genannt, während die Alcalicität beider unzweifelhaft ist.“ Die anscheinende Differenz wurde dadurch erzeugt, dass der zu den Untersuchungen benutzte Alkohol nicht immer von gleich neutraler Beschaffenheit war, sondern bisweilen ein wenig sauer reagirte.

2) „Die lange Dauer der einzelnen Untersuchung hat in den mit Erfolg geprüften Organen die Entstehung des Leucins durch Fäulniss bewirkt.“ Die Reaction, deren saure Beschaffenheit wir

*) Die beiden Harnproben verdanke ich der Güte des Hrn. Prof. Dr. Leyden.

als das erste sichtbare Zeichen der Fäulniss bezeichnet haben, wurden bis zum Eindampfen des filtrirten Extractes sorgfältig geprüft, später wurde dieses durch die hinzugefügte Essigsäure verfeitelt. Aber auch dann konnte Fäulniss nicht eintreten, weil Eiweissstoffe früh gefällt und entfernt, die Extracte ausserhalb der Zeit des Abdampfens in einer niederen Temperatur aufbewahrt wurden und nach von mir angestellten Proben die Reaction der alkoholischen Extracte über acht Tage unverändert blieb. Innerhalb dieser Zeit hatte ich aber stets die Filtrate zur Syrupsconsistenz gebracht, in der sie auch bei noch so langem Stehen durch den hohen Concentrationsgrad vor Fäulniss geschützt sind. Es beweist dieses auch der Umstand, dass ich in dem Syrup, worin ich nicht unmittelbar nachher die Bildung der Leucinhäute bemerkte, diese auch nach Wochen noch nicht auffand.

3) „Das Fehlen des Tyrosins in den Organen ist in der Untersuchungsmethode begründet.“ Dass dasselbe bei dem sorgfältigen Zerhacken und Extrahiren der Organe im Gewebe zurückgeblieben sei, ist unmöglich, dass es unter diesen Verhältnissen auch vom Alkohol aufgenommen werde, beweisen die positiven Ergebnisse der Neukomm'schen Untersuchungen.

Fassen wir nun das Resultat meiner Untersuchungen zusammen, so ergibt sich Leucin im Pankreas, in der Milz, in den Lymphdrüsen, Speicheldrüsen, in der Schild- und Thymusdrüse, in der Leber, zweifelhaft in den Nieren; es fehlt in den Hoden (?), Lungen, Herz und anderen Muskeln, im Gehirn, Blut, Urin, Speichel und Galle. Tyrosin ist nirgends nachzuweisen. Also auch für das physiologische Vorkommen des Leucins gilt der Ausspruch von Neukomm, den er für pathologische Verhältnisse aufstellte. Der Fundort für Leucin sind die Stätten des regsten Stoffwechsels, vor Allem die Drüsen.

Die vorstehenden Untersuchungen wurden sämmtlich im chemischen Laboratorium des pathologischen Institutes hierselbst ausgeführt; dem Dirigenten desselben Herrn Dr. W. Kühne öffentlich meinen innigen Dank für die liebenswürdige Bereitwilligkeit auszusprechen, mit der er mir stets sein reiches Wissen und seine Erfahrungen erfolgreichst zur Verfügung stellte, ist nur Auslösung einer längst verfallenen Schuld.