

## XX.

## Ueber das Peptotoxin Brieger's.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

Von Prof. E. Salkowski.

Vor einigen Jahren hat L. Brieger mitgetheilt, dass nach seinen Untersuchungen bei der Pepsinverdauung des Fibrins regelmässig eine in Wasser sehr leicht lösliche giftige Base „das Peptotoxin“ entstehe, welche aus den eingedampften Verdauungslösungen nach einer entsprechenden Behandlung durch Amylalkohol ausgezogen werden könne. Die erste Mittheilung hierüber erfolgte in der Zeitschr. f. physiol. Chem. VII. S. 274 (1882 bis 1883) unter dem Titel „Zur Kenntniss der Fäulnissalkaloide“, die zweite, abgesehen von der Einleitung fast gleichlautende, in der Monographie „Ueber Ptomaine“, Berlin 1885. S. 14 u. ff.

Diese höchst interessanten und überraschenden Angaben über die Bildung giftiger Basen bei der Verdauung des Eiweiss bezw. Fibrin haben, soviel mir bekannt, von keiner Seite eine Nachprüfung erfahren, es ist auf dieselben im Ganzen auch wenig Bezug genommen worden. Das ist um so auffallender, als die von verschiedenen Autoren [Schmidt-Mülheim<sup>1</sup>), Fano<sup>2</sup>) u. A.] constatierte Giftigkeit des Albumosen-Peptongemisches, sowie der einzelnen isolirten Albumosen [W. Kühne und Politzer<sup>3</sup>)] bei direkter Einführung in die Blutbahn nach der Entdeckung von Brieger in einem anderen Lichte erscheinen musste.

Nach der Auffindung des Peptotoxins lag der Gedanke nahe, dass auch die Albumosen und Peptone nicht als solche giftig wirken, sondern nur insofern sie mit Peptotoxin verunreinigt sind. Diese Consequenz ist allerdings keine zwingende, denn es wäre immerhin noch denkbar, dass beide Ursachen zusammen wirken, dass also das aus der Pepsinverdau-

<sup>1</sup>) Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abth. 1880. S. 33.<sup>2</sup>) Ebendas. 1881. S. 277.<sup>3</sup>) Verhandl. d. naturhist. Vereins zu Heidelberg. N. F. III. S. 286.

ung resultirende Albumosenpeptongemisch einerseits wegen seines Gehaltes an Peptotoxin giftig wirkt, andererseits zugleich, weil den Albumosen an sich bei direkter Einführung in die Blutbahn eine deletäre Wirkung zukommt. Ist also diese Consequenz auch keine zwingende, so sollte man doch erwarten, dass diejenigen Autoren, welche sich nach Brieger mit Versuchen über die toxische Wirkung der Albumosen und Peptone beschäftigt haben, zu der Frage Stellung nehmen würden. Dieses ist aber nicht geschehen: auch Neumeister, der letzte Autor, welcher die Giftigkeit der Albumosen untersucht hat, nimmt auf die Angaben Brieger's keine Rücksicht. In der That eine höchst auffällige Erscheinung, dass zwei eng mit einander zusammenhängende Thatsachen niemals in Beziehung zu einander gebracht worden sind!

Auch Brieger selbst spricht sich nicht über die ihm gewiss naheliegende Frage aus, ob durch sein Verfahren zur Darstellung des Peptotoxins aus dem Albumosengemisch gleichzeitig eine „Entgiftung“ der restirenden Albumosen bewirkt werde.

Mehr gelegentlich erwähnt Brieger das verschiedene Verhalten des Witte'schen Peptons und des von ihm dargestellten. Brieger sagt a. a. O. S. 18:

„Bei dieser Gelegenheit möchte ich bemerken, dass die zuletzt von mir benutzten trockenen Witte'schen Peptonpräparate „schon an und für sich keine giftigen Wirkungen entfalteten. Bis „zu 20 g davon subcutan injicirt vertrugen selbst schwächere „Kaninchen ohne jede bemerkbare Reaction. Bei Fröschen, denen „bis 15 g in den Rückenlymphsack injicirt wurde, war kein Effect „wahrnehmbar. Das von mir hingegen aus Fibrin dargestellte „Pepton tödete in Dosen von 2,0 g hypodermatisch stets kräftige „Kaninchen in kürzester Zeit. Von den aus diesem wässrigen „Peptonextract mittelst Aethylalkohol entzogenen Massen waren „etwa 1,5 g nöthig, um bei Kaninchen tödtlichen Ausgang zu erzielen.“

Da, soviel man weiss, das Witte'sche Pepton durch Fällung mit Alkohol dargestellt wird, so glaube ich annehmen zu müssen, dass Brieger die Ungiftigkeit des Witte'schen Peptons im Gegensatz zu der Giftigkeit seines Präparates betont hat, um zu zeigen, dass bei der Fällung mit Alkohol eine

Entgiftung des Peptons, oder wie wir jetzt richtiger sagen, der Albumosen eintritt. Ich glaube diese Annahme zu Briege's Gunsten darum machen zu müssen, weil im anderen Falle, d. h. wenn man die Präparate von Witte und Briege nach der Art ihrer Darstellung als gleichstehend ansieht, für Briege offenbar eine sehr dringende Veranlassung vorgelegen hätte, sich über die Ursache der Differenz näher auszulassen. Wenn bei der Pepsinverdauung desselben Materials — Fibrin — und Verarbeitung der erhaltenen Lösung nach demselben Verfahren der eine von 2 Darstellern — Witte — zu einem ungiftigen Präparat gelangt, der andere — Briege — zu einem giftigen, so kann man den Verdacht nicht unterdrücken, dass die Giftigkeit des Präparates von Briege eine accidentelle Erscheinung sei, von irgend welchen den Verdauungsvorgang begleitenden, aber nicht nothwendig dazu gehörigen Nebenumständen abhängt oder mit anderen Worten, dass das giftige Präparat verunreinigt, das ungiftige rein sei. Da Briege sich über die Ursache der Differenz der Wirkung nicht ausspricht, so glaube ich annehmen zu müssen, dass er sein Präparat und das Witte'sche nicht als bezüglich der Darstellung gleich ansieht, die Unwirksamkeit des Witte'schen Peptons vielmehr als Beweis der Entgiftung durch die Extraction mit Alkohol anführt.

Freilich spricht die weitere Angabe von Briege, dass von seinem „Pepton“ zur Tötung eines Kaninchens 2 g erforderlich waren, von „den durch Alkohol ausgezogenen Massen“ 1,5 g, nicht eben dafür, dass durch die Behandlung mit Alkohol eine wesentliche Concentrirung des giftigen Princips erreicht worden ist.

Was nun die thatsächlichen Angaben Briege's über die Ungiftigkeit des Witte'schen „Peptons“ und die Giftigkeit des durch Verdauung des Fibrins direct erhaltenen Albumosengemisches betrifft, sowie weiterhin die Frage, ob sich die Albumosen durch Behandlung mit Alkohol entgiften lassen, so habe ich mich nicht eingehender damit beschäftigt, da die Frage nach der Natur und Beschaffenheit des Peptotoxins für mich im Vordergrunde stand, ich will indessen doch die von mir darüber angestellten Versuche hier anführen. Die Versuche über die Giftigkeit der Albumosen sind ebenso, wie die späteren, das

eigentliche Peptotoxin betreffenden, vorwiegend an Fröschen<sup>1)</sup> angestellt.

### I. Versuche mit Witte'schem Pepton.

Die Versuche Brieger's genau in der Form anzustellen, in der er sie angegeben hat, habe ich mich ausser Stande gesehen; es ist mir nicht klar, wie man es anstellen soll, um Fröschen 15 g Witte'sches Pepton in den Rückenlymphsack zu bringen. 15 g trockenes Witte'sches Pepton kommen annähernd dem halben Volumen eines mittelgrossen Frosches gleich; die Angabe ist daher in der That so auffallend, dass ich sehr geneigt bin, einen Druckfehler anzunehmen. Wenn ich aber auch eine Möglichkeit gesehen hätte, den Versuch auszuführen, würde ich mich doch nicht zur Ausführung haben entschliessen können: es hat offenbar gar keinen Zweck, einem Frosch eine Quantität Albumose beizubringen, die beinahe dem ganzen Trockengewicht des Thieres gleichkommt: man kann unmöglich annehmen, dass eine solche Quantität auch nur zu einem erheblichen Bruchtheil resorbirt wird, und wenn sie resorbirt würde, würden irgend welche Wirkungen nichts beweisen: es wird schwerlich gelingen, eine Substanz ausfindig zu machen, von der man einem Thiere so grosse Quantitäten ohne Schaden beibringen kann. Meiner Ansicht nach kann man einem Frosch nicht mehr, wie etwa 2 ccm Flüssigkeit in den Rückenlymphsack bringen. Dadurch wird natürlich die Quantität des Albumosengemisches, welche beizubringen noch in dem Bereich der Möglichkeit liegt, erheblich beschränkt.

1) Versuch I. 0,6188 g<sup>2)</sup> Witte's Pepton einem mittelgrossen Frosch

1) Ueber die Gründe, die mich zur Wahl der Frösche als Reagens auf Giftwirkungen bestimmte, siehe weiter unten.

2) Die Quantität der injicirten Substanz wurde stets auf folgendem, allerdings etwas umständlichem Wege bestimmt. Die Substanz wurde in einer Platinschale von bekanntem Gewicht genau abgewogen, mit Wasser übergossen, längere Zeit auf dem Wasserbad zur Lösung erwärmt, dabei die Lösung gleichzeitig so weit concentrirt, dass das Volumen ungefähr 2 ccm betrug. Nunmehr wurde die Lösung möglichst vollständig injicirt. Dann in die Spritze 2mal Wasser aufgezogen, das Spülwasser in die Schale entleert, dann die Lösung abgedampft und die Schale nach längerem Trocknen gewogen: die Differenz zwischen der ersten und zweiten Wägung ergiebt die Quantität der injicirten Substanz. Die Angaben gelten für aschenhaltige Substanz.

injicirt: anscheinend keine Symptome; nach etwa 2mal 24 Stunden tott gefunden, Sectionsbefund negativ.

2) Versuch II. 0,724 g. Keine Symptome, die folgenden Tage gesund, am 4. Tage tott gefunden. Im Rückenlymphsack mehrere Cubikzentimeter blutig-seröser Flüssigkeit.

3) Versuch III. 0,806 g einem ziemlich grossen Frosch injicirt. Nach 3 Stunden geringe Herabsetzung der Motilität, Parese des einen Vorderbeins; am Abend nur noch schwache Lebenszeichen, am nächsten Tage tott gefunden. Wassergehalt des verwendeten Witte'schen Peptons 8,24 pCt., Aschengehalt 2,88 pCt.

## II. Versuche mit Serum eiweiss.

Durch Kochen von Lösungen des käuflichen Serumalbumins erhaltenes auscoagulirtes, gut gewaschenes Eiweiss mit pepsinhaltiger Salzsäure (genauere Angaben hierüber siehe weiter unten) durch 1tägige Digestion bei 38—40° verdaut, neutralisiert, erhitzt, abfiltrirt, gleiche Volumina der Lösung abgemessen, ein Theil direct eingedampft und völlig getrocknet: Präparat A = ganzes Albumosengemisch, der andere Theil eingedampft, mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit Alkohol und Aether gewaschen, völlig getrocknet und von Aetherresten befreit: Präparat B = Alkoholfällung.

### Präparat A.

- 1) Versuch IV. 0,404 g. Keine Wirkung (4 Tage beobachtet).
- 2) Versuch V. 0,571 g. Keine Wirkung (4 Tage beobachtet).
- 3) Versuch VI. 0,755 g. Gleichfalls keine Wirkung (4 Tage beobachtet).

### Präparat B.

- 1) Versuch VII. 0,581 g. Keine Wirkung. Frosch nach 9 Tagen noch ganz munter (nicht weiter beobachtet).
- 2) Versuch VIII. 0,566 g. Keine Symptome, nach etwa 3mal 24 Stunden tott gefunden. Reichliches serös-blutiges Transsudat im Rückenlymphsack. Herz mit fast ungefärbtem Serum gefüllt. Lymphherzen stark erweitert, prall gefüllt mit wasserheller Flüssigkeit.

## III. Versuche mit Eieralbumin.

Auscoagulirtes, gut gewaschenes Eieralbumin mit Pepsin-Salzsäure verdaut u. s. w. — Bezeichnung der Präparate wie oben.

### Präparat A. (Ganzes Albumosengemisch.)

- 1) Versuch IX. 0,420 g einem kleinen Frosch injicirt: deutliche Depressionserscheinungen, am nächsten Tage tott gefunden, Sectionsbefund negativ.

2) Versuch X. 0,781 g einem grossen Frosch injicirt: keine Symptome, nach 4mal 24 Stunden noch lebend, nach 5mal 24 Stunden todt gefunden. Serös-blutiges Transsudat im Rückenlymphsack.

Präparat B. (Alkoholfällung.)

1) Versuch XI. 0,755 g einem sehr grossen Frosch injicirt. Nach etwa 40 Stunden todt gefunden. Reichliches serös-blutiges Transsudat im Rückenlymphsack.

2) Versuch XII. 0,454 g einem mittelgrossen Frosch injicirt, leichte Depressionserscheinungen, nach 2mal 24 Stunden todt gefunden. Serös-blutiges Transsudat im Rückenlymphsack.

3) Versuch XIII. 0,403 g. Mittelgrosser Frosch. Keine Wirkung. Frosch bleibt am Leben.

Von weiteren Versuchen habe ich Abstand genommen, da eine Entscheidung über die Frage, ob eine Entgiftung des Albumosengemisches durch Behandlung mit Alkohol eintritt oder nicht, durch subcutane Injection bei Fröschen offenbar nicht herbeizuführen ist, es hierzu vielmehr der intravenösen Injection bei Säugethieren bedarf, ich vor Allem aber über das Peptotoxin in's Klare kommen wollte.

Jedenfalls kann man aber aus den vorliegenden Versuchen nicht folgern, dass man Fröschen grössere Quantitäten Witte'schen oder anderen Peptons ohne Schaden beibringen kann, und jedenfalls sprechen die Versuche nicht für die Entgiftung der Albumosen durch Alkohol, eher dagegen.

Zum Vergleich des von mir dargestellten „Pepton“ (d. h. Albumosengemisch mit wenig Pepton) mit dem von Brieger erhaltenen habe ich indessen noch einige Versuche an Kaninchen angestellt<sup>1)</sup>.

I. Versuche mit Pepton aus Eieralbumin.

Auscoagulirtes, gut gewaschenes Eieralbumin mit Pepsin + Salzsäure verdaut u. s. w. Bezeichnung der Präparate, wie oben.

Präparat A. (Ganzes Albumosengemisch.)

Versuch XIV. Kaninchen von 730 g Körpergewicht erhält 2,205 g<sup>2)</sup> subcutan: Keine Wirkung.

<sup>1)</sup> Die Abhandlung von Boulengier, Denayer und Devos (Peptonémie et peptonurie experimentales. Mémoire de l'acad. roy. de méd. Belgique. Tom. X) habe ich nicht mehr berücksichtigen können.

<sup>2)</sup> Die Quantität des injicirten Peptons ist in derselben Weise, wie oben in den Versuchen an Fröschen festgestellt.

## Präparat B. (Alkoholfällung.)

Versuch XV. Kaninchen von 880 g Körpergewicht erhält 2,182 g subcutan: Keine Wirkung.

## II. Versuche mit Pepton aus ausgekochtem Fibrin.

Das Fibrin mit Pepsin + Salzsäure verdaut u. s. w. Bezeichnung der Präparate, wie oben.

## Präparat A. (Ganzes Albumosengemisch.)

1) Versuch XVI. Kaninchen von 830 g erhält 2,586 g subcutan: Keine Wirkung.

2) Versuch XVII. Kaninchen von 650 g erhält 2,105 g. Zunächst keine Wirkung. Am Abend desselben Tages ist das Thier deutlich affeirt, am nächsten Tage liegt es auf der Seite, am zweitnächsten todt gefunden. Sectionsbefund: äusserst reichliches sulziges Oedem unter der Haut, die Venennetze der Haut stark mit Blut gefüllt. Dasselbe hat in weiter Umgebung der Einstichsstelle eine intensiv grüne Färbung (Schwefelmethäoglobin). Der Harn dieses Kaninchens gab directe Biuretreaction.

Wassergehalt des verwendeten Peptons 6,31 pCt., Aschengehalt 8,82 pCt.

## Präparat B. (Alkoholfällung.)

1) Versuch XVIII. Kaninchen von 770 g Körpergewicht erhält 2,197 g subcutan: Keine Wirkung.

2) Versuch XIX. Kaninchen von 720 g Körpergewicht erhält 2,015 g subcutan; Keine Wirkung.

Wassergehalt des Präparates 3,92 pCt., Aschengehalt 3,21 pCt.

Sämtliche Thiere, mit Ausnahme des in Versuch XVII benutzten, waren nach 4 Wochen noch ganz munter. Der Tod des Thieres XVII mag durch zu hohe Dosis des Peptons im Verhältniss zum Körpergewicht verursacht sein. Dafür spricht der Umstand, dass der Harn dieses Thieres directe Biuretreaction gab, der der anderen nicht. Möglicherweise ist auch ein Theil der Albumosen direct in eine Hautvene gelangt. Auch die Möglichkeit einer Fäulnisswirkung des Peptons ist nicht ausgeschlossen.

Dieses Ergebniss steht mit den von Brieger für sein Pepton gemachten Beobachtungen, nach denen 2 g subcutan „stets kräftige Kaninchen in kürzester Zeit“ tödete, in striktem Widerspruch und erweckt den Verdacht, dass das Präparat von Brieger verunreinigt gewesen sei.

Betrachtet man nun aber auch die Entstehung des Peptotoxins ganz losgelöst von der Frage der Giftigkeit der Albumosen bei der directen Einführung in die Blutbahn, so erscheint sie immer noch interessant genug. Der Organismus bildet ohne Zweifel ohne Zuthun von Bakterien Substanzen, die zu den Giften zu rechnen sind — Gautier's „Leucomaine“<sup>1)</sup>; einer der

<sup>1)</sup> Vergl. R. Wurtz, Les leucomaines du sang. Thèse de Paris. 1889.

hervorragendsten unter diesen Körpern ist das von G. Salomon im Harn entdeckte Paraxanthin, dessen Wirkung dieser Autor näher studirt hat<sup>1)</sup>) —, allein diese Substanzen entstehen durch die Lebensprozesse lebender Zellen, also durch Protoplasmawirkungen, welche denen der Bakterien an sich gleichzusetzen sind, wenn auch die Producte wesentlich abweichen; bei dem Peptotoxin Brieger's handelt es sich dagegen um die Wirkung eines löslichen Fermentes — Enzyms — auf Eiweiss. Die Entstehung erheblicher Mengen einer leicht löslichen toxischen Substanz bei der Verdauung ist ferner vom teleologischen Standpunkte aus nicht verständlich. — Nachdem es mir bei einem gelegentlichen schon vor längerer Zeit angestellten Versuch nicht gelungen war, Peptotoxin zu erhalten, schien mir von den angeführten Gesichtspunkten aus eine ausführliche Bearbeitung der Frage angezeigt.

Auf meinen Wunsch übernahm dieselbe ursprünglich Dr. Kumagawa aus Tokio. Als sich derselbe indessen im August 1889 veranlasst sah, in seine Heimath zurückzukehren, und ich die Protocolle seiner Versuche einer genaueren Durchsicht unterzog, erschienen mir die Versuche, obwohl ich der Ausführung derselben alle Aufmerksamkeit zugewendet hatte, doch noch bei Weitem nicht ausreichend zu einem abschliessenden Urtheil in einer controversen Angelegenheit, bie und da auch die Angaben nicht ausführlich genug; ich sah mich daher genöthigt, nicht allein die Redaction zu übernehmen, sondern auch zahlreiche Versuche anzustellen, so dass mein Anteil an der Arbeit allmählich der bei Weitem überwiegende wurde<sup>2)</sup>). Dass hierüber verhältnissmässig lange Zeit vergangen ist, erklärt sich neben anderweitiger Inanspruchnahme aus dem Umstand, dass es mir nicht möglich war, die Versuche ohne Unterbrechung durchzuführen, und zwar einerseits wegen des einförmigen und ausserordentlich ermüdenden Charakters der Versuche, und andererseits, weil das fortgesetzte Arbeiten mit Amylalkohol sich äusserst lästig erwies; ich war daher genöthigt, die Arbeit ab und zu für einige Zeit zu unterbrechen. Bei der Ausführung der vorliegenden Untersuchung, sowie weiterer sich an dieselbe anschliessender Arbei-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. XIII. S. 187.

<sup>2)</sup> Um den Anteil von Dr. Kumagawa zu kennzeichnen, werde ich die von ihm herrührenden Versuche mit M. K. bezeichnen.

ten, über welche später berichtet werden soll, bin ich in der Lage gewesen, Mittel aus der Gräfin Bose-Stiftung verwenden zu können, für deren Bewilligung ich dem Curatorium der Stiftung meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Die Nachprüfung der Angaben von Briege, um die es sich in erster Linie handelte, wird leider dadurch sehr erschwert, dass seine Angaben ausserordentlich summarisch sind und, zum Theil in Folge übergrosser Kürze, vielfachen Zweifeln Raum lassen. Ganz besonders gilt dieses von der Beschreibung der Darstellung des Peptotoxins, welche vielfach Stadien der Bearbeitung überspringt. Da auf den Wortlaut hier viel ankommt, sehe ich mich genötigt, den von der Darstellung handelnden Theil der Abhandlung von Briege verbo tenus zu reproduciren; ich halte mich dabei an den Wortlaut der Monographie, weil sie jüngeren Datums ist, als die Arbeit in der Zeitschr. f. physiol. Chemie. Meinen Bemerkungen werde ich der Einfachheit halber unter dem Text Raum geben. Es heisst in der Monographie S. 14 letzte Zeile, sowie S. 15:

„Es wurden 200 g nasses Fibrin 24 Stunden lang bei Bluttemperatur der „Wirkung des Magensaftes [aus dem Magen eines eben geschlachteten Schweines entnommen<sup>1)</sup>]“ ausgesetzt. Das auf diese Weise gewonnene Pepton<sup>2)</sup> „war faulnissfrei und enthielt weder Indol, noch Phenol, noch aromatische „Oxysäuren. Dieses rasch bis zum dickflüssigen Syrup eingedampfte Pepton<sup>3)</sup>“

<sup>1)</sup> Dem Wortlaut nach sollte man annehmen, dass zu den Versuchen der natürliche Magensaft des Schweins gedient hat, ich vermüthe indessen, dass es nicht die Absicht Briege's war, dieses zu sagen, dass vielmehr, wie gewöhnlich, der salzsaure Auszug der Schleimhaut angewendet wurde. Die Verwendung des natürlichen Magensaftes würde nicht ohne Bedenken sein.

<sup>2)</sup> Mit einem etwas kühnen Sprung spricht Briege hier von „Pepton“, während wir bis jetzt doch erst an der auf diese Weise gewonnenen Lösung der Eiweisskörper angelangt sind.

<sup>3)</sup> „Pepton“ ist hier offenbar wiederum im Sinne von „Lösung der Verdauungsproducte“ gebraucht. Es fehlt bei dieser Beschreibung eine wesentliche Procedur, nehmlich die Neutralisirung der Verdauungsfüssigkeit und Abscheidung des nur gelösten Eiweiss. Ich darf wohl annehmen, dass Briege diese Procedur nicht versäumt, sondern nur der Kürze wegen nicht angegeben hat; im anderen Fall musste die beim Eindampfen sich mehr und mehr concentrirende Salzsäure erheblich verändernd auf das peptonisirte Eiweiss einwirken, von anderen Uebelständen ganz abgesehen.

„wurde nun mit Aethylalkohol<sup>1)</sup> gekocht, der nach dem Verdunsten des „Aethylalkohols bleibende Rückstand mit Amylalkohol<sup>2)</sup> längere Zeit digerirt, wobei nun der Amylalkohol Substanzen aufnahm, die beim Verdunsten desselben als amorphe braune Massen zurückblieben, die auf „Frösche schon in ganz geringen Mengen giftig wirkten<sup>3)</sup>. Zur weiteren<sup>4)</sup> Reinigung dieses Extractes kann man ihn (sic! S.) mit neutraler Bleiacetat-lösung behandeln<sup>5)</sup>, aus dem Filtrat das Blei mit Schwefelwasserstoff entfernen, wiederholt dasselbe mit Aether ausschütteln, nochmals mit Amylalkohol extrahiren, denselben verjagen, und den Rückstand wiederum mit „Wasser aufnehmen und filtriren. Es bleibt dann in der entfärbten wässrigen Lösung die giftige Substanz zurück, welche allerdings nur äusserst schwierig im Vacuum zur Krystallisation gebracht werden kann. Dieselbe geht sowohl aus saurer, als auch aus alkalischer Lösung in Amylalkohol über, in der Kälte viel schwieriger, als beim Erwärmen. Sie ist absolut unlöslich in Aether, Benzol und Chloroform, in Wasser dagegen äusserst löslich. Merkwürdig ist die grosse Widerstandsfähigkeit dieses Körpers, weder Kochen, noch längeres Durchleiten von Schwefelwasserstoff, noch starke Alkalien vermögen den toxischen Körper zu verändern.“

Es folgt nun die Beschreibung des Verhaltens dieser gereinigten Lösung zu Alkaloidreagentien, welche, als hier zunächst nicht interessirend, übergangen werden kann. Es heisst dann S. 16 weiter:

„Wenige Tropfen der verdünnten wässrigen Lösung genügten, um „Frösche innerhalb 15 Minuten zu tödten. Die Frösche verfielen dabei in „einen lähmungsartigen Zustand, wurden unempfindlich gegen sensible Reize. „Leicht<sup>6)</sup> fibrilläre Zuckungen wurden wahrnehmbar an den Extremitäten-„muskeln. Die Pupillen zeigten keine weiteren Veränderungen und unmerk-

<sup>1)</sup> Angaben über Stärke und Quantität des Aethylalkohols, sowie darüber, ob der alkoholische Auszug heiss oder nach dem Erkalten abfiltrirt wurde, fehlen leider.

<sup>2)</sup> Dasselbe, wie für den Aethylalkohol gilt auch — abgesehen von der Stärke — für den Amylalkohol.

<sup>3)</sup> Es ist nicht ersichtlich, wie diese amorphen braunen Massen den Fröschen beigebracht wurden. Thatsächlich ist nehmlich der beim Verdampfen des Amylalkoholauszuges bleibende Rückstand, der bei Anwendung von Fibrin von bräunlich-gelber, bei Anwendung von Eieralbumin von rein gelber Farbe ist, im Wasser zum grössten Theil unlöslich.

<sup>4)</sup> „weiteren“?

<sup>5)</sup> Die „amorphen braunen Massen“ sind hier als Extract bezeichnet. „Amorphe braune Massen“ kann man nicht wohl mit Bleiacetat fällen. Es ist also wohl anzunehmen, dass diese Massen zuerst mit Wasser ausgezogen bzw. aufgenommen wurden.

<sup>6)</sup> Wohl Druckfehler für „leichte“.

„lich gingen die Thiere dabei zu Grunde. Nur in den seltensten Fällen erholten sich die Frösche bei noch kleineren Gaben und wurden ebenso munter, wie vorher. Von dem möglichst gereinigten, zum Syrup verdampften Extract bedurfte es 0,5—0,1 g, um Frösche innerhalb 15—20 Minuten zu tödten<sup>1)</sup>, während Kaninchen von ca. 1 kg Körpergewicht nach der subcutanen Einspritzung von 0,5, bisweilen erst von 1 g des Extracts starben. Etwa 15 Minuten nach der Injection trat allmählich eine Lähmung der hinteren Extremitäten auf, das Thier verfiel in einen soporösen Zustand, sank um und war todt.“

Ich kann hiermit diesen der Reproduction der Angaben von Brieger gewidmeten Abschnitt vorläufig schliessen, ich kann es aber nicht thun, ohne die Art der Reproduction, die für Manchen vielleicht etwas Befremdendes haben wird, nochmals zu rechtfertigen.

Es lag mir daran, den Nachweis zu führen, dass ein genaues Arbeiten nach der Beschreibung von Brieger bei allem guten Willen unmöglich ist, weil hierzu die Angaben Brieger's zu wenig erschöpfend sind und zu vielen Zweifeln Raum lassen, dass ich also zu Interpretationen genötigt war. Man würde mir Unrecht thun, wenn man meine kritischen Auseinandersetzungen als kleinliche Wortklaubereien auffassen oder ihnen irgend ein anderes Motiv unterschieben wollte, als den dringenden Wunsch, etwaige Abweichungen von dem Verfahren zu begründen und meinen berechtigten Zweifeln Ausdruck zu geben.

Ueber die Ausführung der Versuche ist Folgendes zu bemerken. Als Material diente theils frisches, theils ausgekochtes Fibrin, Eieralbumin, auscoagulirtes Eiweiss aus käuflichem, getrocknetem Blutserum, in einem Falle auch Fleisch in verschie-

<sup>1)</sup> Die Angabe, dass zur Tödtung eines Frosches 0,5—0,1 g des gereinigten Extractes erforderlich waren, ist nicht recht in Einklang zu bringen mit der Angabe „wenige Tropfen der verdünnten wässrigen Lösung genügen, um Frösche innerhalb 15 Minuten zu tödten“. 0,5 g ist nun vielleicht Druckfehler für 0,05, aber auch damit ist die Schwierigkeit nicht geboten. Nehmen wir an, die „verdünnte“ Lösung sei selbst 20procentig gewesen (bezogen auf den syrupösen Rückstand) und setzen „wenige Tropfen“ = 5, so gelangen wir immer nur zu 0,05 des syrupösen Extractes, während nach Brieger öfters 0,1 g erforderlich waren, ja selbst 0,5, wenn dieses nicht ein Druckfehler ist. Auch die Dosis des „gereinigten Extractes“ für Kaninchen erscheint enorm hoch.

denen Formen. Die Quantität war im Allgemeinen grösser, als bei Brieger. Vom feuchten Fibrin wurde in der Regel nicht 200 g, sondern 0,5 bis 1 kg zum Versuch genommen, was nach früheren vielfachen Versuchen rund 100 bezw. 200 g trockenem Eiweiss entspricht, ebenso entsprechende Mengen der anderen Eiweisskörper. — Die Verdauungssalzsäure hatte stets die Concentration von 10 ccm officineller Salzsäure auf 1 Liter Wasser. Fast alle Versuche sind mit Finzelberg'schem Pepsin angestellt, nur einige zu besonderen Zwecken mit dem Auszug von Magenschleimhaut. Es geschah dieses einerseits der Schwierigkeit wegen, welche die Beschaffung eines zuverlässig ganz frischen, dem eben getöteten Thiere entnommenen Magens in Berlin macht, andererseits weil eine aus dem Pepsin in der gleich anzugebenden Weise hergestellte Verdauungslösung in jedem Falle sehr viel reiner ist, d. h. sehr viel weniger andere Substanzen ausser dem Ferment enthält, als ein salzsaurer Auszug der Magenschleimhaut. Das Pepsinpulver wurde so lange mit Wasser gewaschen, bis jede Spur von Milchzucker entfernt war, dann mit einem Theil der später zu verwendenden Verdauungssalzsäure bei Zimmertemperatur oder auch im Wärmschrank 24 Stunden digerirt, filtrirt und der Auszug zur Herstellung der Verdauungsmischung mit verwendet<sup>1)</sup>. Auf 1 Liter Verdauungssalzsäure wurde stets 1 g Pepsinpulver angewendet. Das Verhältniss zwischen Eiweiss und künstlichem Magensaft war fast stets so gewählt, dass auf 100 g trockenes Eiweiss (also auf 500 g Fibrin) 2,5 Liter künstlicher Magensaft kam, nur beim Eiweiss aus Eieralbumin mehr. Die Wirkung war in jedem Falle eine sehr gute: nach 24 Stunden waren die angewendeten Eiweissmaterialien regelmässig so gut, wie vollständig gelöst, und auch der bei Weitem grösste Theil des Eiweiss in Albumosen und Pepton übergeführt.

Nach 24 Stunden wurden die Mischungen mit Natriumcarbonat annähernd neutralisiert, bis zum beginnenden Sieden erhitzt, dann genau neutralisiert, von dem ausgeschiedenen unveränderten Eiweiss abfiltrirt und zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem

<sup>1)</sup> In einigen Fällen wurde auch das gewaschene Pepsin direct der Verdauungsmischung hinzugesetzt; dies ist dann besonders angegeben.

Wasserbad zum dicken Syrup verdunstet, dieser in einen grossen Kolben übertragen — was nur schwierig und meistens mit etwas Verlust ausführbar war, auf dem Wasserbad mit etwa 500 ccm 90 procentigem Alkohol unter starkem Schütteln ausgekocht. Je nachdem der Syrup mehr oder weniger concentrirt war, ging dabei mehr oder weniger desselben in Lösung; wenn sich sehr viel gelöst hatte, wurde noch absoluter Alkohol hinzugefügt; es ist überhaupt ganz zweckmässig, die Extraction in eine Fällung umzuwandeln, indem man den Syrup in nicht zu viel Alkohol in der Hitze löst und dann diese alkoholische Lösung durch Zusatz von mehr starkem event. absolutem Alkohol fällt. Ganz genaue Vorschriften lassen sich für diese Extraction nicht geben, da für die Art des Verfahrens der Wassergehalt des durch Eindampfen erhaltenen Syrup mit bestimmend ist<sup>1)</sup>). Filtrirt man nun den alkoholischen Auszug ganz heiss, so hat man in demselben noch sehr grosse Mengen Albumosen und Peptone in Lösung, welche für die nachfolgende Extraction mit Amylalkohol mindestens nicht günstig sind; ich habe es daher vorgezogen, erst nach dem Erkalten zu filtriren. Dass beim Erkalten auch etwa vorhandene Basen sich ausscheiden, hat man nicht zu befürchten. Der filtrirte alkoholische Auszug wurde verdunstet, der syrupöse Rückstand im Kolben unter Zusatz von etwas Wasser mit etwa 200 ccm Amylalkohol 4—5 Stunden auf dem Wasserbad unter vielfachem heftigen Schütteln digerirt. Der Wasserzusatz erleichtert die Einwirkung des Amylalkohols sehr wesentlich: ohne diesen ist die Masse zäh und sehr schwierig mit Amylalkohol zu extrahiren. In zwei Fällen wurde die Extraction mit heissem Amylalkohol, der öfters abgegossen und auf's Neue erhitzt wurde, im Schütteltrichter ausgeführt: es wäre vielleicht ganz zweckmässig, die Extraction stets auf diesem Wege vorzunehmen.

Auf die Reinheit des Amylalkohols wurde besonderer Werth gelegt. Aller Amylalkohol, den ich anwendete, wurde nochmals rectificirt und nur der bei etwa 131° siedende Antheil verwendet. Diese Rectification wurde theils von mir selbst, theils in

<sup>1)</sup> In einzelnen Fällen ist ein etwas anderes Verfahren eingeschlagen. Hierüber geben die einzelnen Versuche Aufschluss.

der Kahlbaum'schen Fabrik ausgeführt<sup>1</sup>). Wiederholt wurden 200 bis 300 ccm dieses Amylalkohols auf dem Wasserbad verdampft, die Schale mit einer kleinen Quantität heissen Wassers ausge-spült und dieses einem Frosch injicirt: es trat keinerlei Wirkung ein. Ja selbst der bei der Rectification von je 1 Liter des ursprünglichen Amylalkohols gebliebene äusserst geringfügige Rückstand (durch Verdampfen des im Siedekolben restirenden Amylalkohol auf dem Wasserbad erhalten) äusserte mit Wasser aufgenommen und einem Frosch injicirt, keine Wirkung. Die Einführung einer toxischen Substanz mit dem Amylalkohol war also keinenfalls zu befürchten. Ich möchte aber betonen, dass der Amylalkohol auch weit reiner war, als es v. Udransky<sup>2</sup>) für den käuflichen Amylalkohol angiebt. Er gab mit Wasser geschüttelt keine starke Trübung, sondern nur eine ganz vorübergehende Opalescenz, färbte sich weder mit kalter concentrirter, noch mit heißer verdünnter Natronlauge gelb, nahm ebenso keine Gelbfärbung beim Stehenlassen nach Zusatz von Salzsäure an, verhielt sich also in diesen Beziehungen so, wie v. Udransky es für den furfuolfreien Amylalkohol angiebt. Allerdings war er nicht ganz furfuolfrei, wie die Reaction mit  $\alpha$ -Naphtol und Schwefelsäure ergab, aber der Furfuolgehalt war doch sehr gering, so gering, dass beim Vermischen mit concentrirter Schwefelsäure nicht die von Udransky beschriebenen Erscheinungen, sondern nur eine gelbe Färbung eintrat, welche im Lauf einiger Tage an Intensität zunahm unter gleichzeitigem Auftreten eines starken grünen Reflexes.

Es fragt sich nun, ob man den Amylalkoholauszug heiss abtrennen oder erst erkalten lassen soll. Wenn man den Amylalkoholauszug heiss abtrennt und erkalten lässt, so sieht man, dass er sich beim Erkalten trübt und eine weisse pulvige Substanz in geringer Quantität ausfallen lässt. Diese Ausscheidung besteht aus Albumosen und Pepton, und ist, wie ich mich durch mehrfache Versuche an Fröschen überzeugt habe, ganz ohne

<sup>1</sup>) Nur in den Versuchen von Dr. Kumagawa ist der Amylalkohol zwar auch nochmals überdestillirt, aber nicht genau auf den Siedepunkt geachtet. Aber auch in diesem Falle wurde ein erheblicher Theil in der Retorte zurückgelassen und nicht überdestillirt.

<sup>2</sup>) Zeitschr. f. physiol. Chem. XIII. S. 249.

Wirkung auf Frösche, d. h. in der Quantität, wie man sie bei Verwendung von etwa  $\frac{1}{2}$  kg Fibrin bezw. der entsprechenden Quantität anderer Eiweisskörper erhält. Da die Abscheidung der Albumosen und des Peptons aus den auf ihre Giftigkeit zu prüfenden Auszügen sehr wünschenswerth ist und nur schwierig gelingt, so ist es zweckmässig, den Amylalkoholauszug nicht heiss abzutrennen, sondern erst nach völligem Erkalten; in der Regel blieb der Kolben zu diesem Zweck bis zum nächsten Tage stehen. Der Amylalkoholauszug sah dann gelblich und ganz klar aus; in einzelnen Fällen ist der Amylalkoholauszug auch sofort abgegossen worden, an dem Resultat bezüglich der Giftigkeit ändert dieses nichts.

Der Amylalkoholauszug wurde im Wasserbad völlig verdunstet: es blieb dann stets ein bräunlich-gelber oder beim Eieralbumin strohgelber bis citronengelber Rückstand, welcher die unteren Partien der Schale als glänzender Firniss überzog, in der Hitze weich, nach dem Erkalten hart erschien. Diese harzartige Masse schliesst immer noch viel Amylalkohol ein, wie man bemerkt, wenn man sie mit heissem Wasser übergiesst und dieses zum Sieden erhitzt. Es entweicht dann reichlich Amylalkohol, durch den Geruch bemerkbar, während die harzartige Masse zu ölichen Tropfen erweicht. Dieser harzartige Körper kann Brieger nicht entgangen sein: vermutlich deckt sich derselbe mit seinen „braunen amorphen Massen“ — Brieger erwähnt aber nicht, dass diese Substanz in Wasser unlöslich, in Alkohol dagegen löslich ist, und das ist gerade das Bemerkenswerthe.

Es hat sich nun gezeigt, dass dieser harzartige Körper auch nach möglichster Reinigung toxicische Eigenschaften hat und in einer Quantität von 0,1 bis 0,15 g in durch Natriumcarbonat schwach alkalisirtem Wasser gelöst, Frösche tödtet<sup>1)</sup>). Daraus ergiebt sich die Nothwendigkeit, diesen Körper aus den Flüssigkeiten, die man auf ihre Giftwirkung prüfen will, möglichst zu entfernen, ehe man sie injicirt, wenn man nicht Täuschungen unterliegen will. Diese Abscheidung ist nun nicht ganz leicht zu erreichen. In allen Fällen wurde zunächst der beim Ver-

<sup>1)</sup> Genaueres hierüber weiter unten.

dunsten des Amylalkoholauszuges bleibende Rückstand zur Entfernung des Amylalkohols mit Wasser übergossen und zur Trockne gedampft, dann nochmals unter gutem Durchröhren mit Wasser erhitzt und erst nach 20 bis 24 Stunden filtrirt. Man erhält so eine meistens ganz klare hellgelbe Lösung. Dieselbe giebt starke Albumosen-Reaction, sie ist auch keineswegs ganz frei von gelöstem Harz, man kann sie trotzdem direct zur Injection benutzen, wenn die injicirte Quantität nur einen relativ kleinen Bruchtheil der aus 100 g trockenem Eiweiss erhaltenen Lösung darstellt, also etwa 20—25 g trockenen Eiweiss entspricht. In diesem Falle ist die in der Lösung vorhandene Quantität Albumosen und Harz zu gering, um für sich eine Wirkung auszuüben. Anders dagegen, wenn man beabsichtigt, die ganze aus 50—100 g trockenem Eiweiss resultirende Lösung einem Frosch zu injiciren, in diesem Falle ist es jedenfalls räthlich, die erwähnte Lösung zu reinigen, man kann sonst gelegentlich durch Nebenwirkungen, welche nichts mit dem „Peptotoxin“ zu thun haben, getäuscht werden. Diese Nebenwirkungen brauchen nicht nothwendig einzutreten, aber auch schon die Möglichkeit dieser Complication genügt, um dieses Verfahren zu contraindicens.

Es scheint mir unvermeidlich, auf die Natur und Quantität der in der oben erwähnten klaren gelben Lösung enthaltenen Substanzen etwas näher einzugehen.

Dampft man die Lösung auf dem Wasserbad ein, so zeigt sie bei einiger Concentration die sehr auffällige Eigenschaft, sich beim Abnehmen vom Wasserbad sofort milchig zu trüben, was Albumosenlösungen, wenigstens das bei der Verdauung resultirende Gemisch von Albumosen, nicht thun. Die concentrirte Lösung wird ferner durch 90prozentigen Alkohol nicht gefällt, es entsteht vielmehr eine klare hellgelbe alkoholische Lösung. Dampft man diese Lösung oder die ursprüngliche wässrige auf dem Wasserbad völlig zur Trockne, so hinterbleibt eine spröde gelbe Masse, deren Gewicht aus 100 g Eiweiss durchschnittlich 0,5—0,6 g beträgt, mitunter aber auch etwas mehr. Uebergiesst man diese mit Wasser, so wird die Oberfläche milchig-weiss; setzt man mehr Wasser hinzu und erwärmt längere Zeit, so löst sich die Substanz grössttentheils auf, es bleibt jedoch stets etwas harzige Substanz ungelöst. Filtrirt man die

Lösung nach 24stündigem Stehen, dampft das Filtrat ein und behandelt den Rückstand mit Wasser, so wiederholt sich dieselbe Erscheinung, und es gelingt nicht, alles Harz auf diesem Wege abzuscheiden. Immerhin kann man diesen Weg benutzen, um zu einer reineren Lösung zu gelangen, nur ist es zweckmässig, ehe man eine solche Lösung injicirt, sich von dem Gewicht ihres Trockengehaltes zu überzeugen, da derselbe mitunter doch so hoch ist, dass er an die Grenze der toxischen Wirkung der Albumosen bei subcutaner Injection selbst streift.

Ein zweiter Weg zur Reinigung der Lösungen bietet sich naturgemäss dar: die Wiederholung der Ausschüttelung mit heissem Amylalkohol. Brieger hat dieselbe angewendet — wie oft unter seinen 10 Versuchen ist nicht angegeben —, Brieger hat jedoch der 2. Ausschüttelung eine Fällung der Lösung mit neutralem Bleiacetat vorausgeschickt. Meine Lösungen gaben, abweichend von den Angaben Brieger's mit neutralem Bleiacetat nichts oder nur eine ganz leichte Trübung, es hätte also keinen Zweck gehabt, sie mit Bleiacetat zu versetzen.

Verdunstet man diesen zweiten Amylalkoholauszug — er mag in der Folge der secundäre heissen zum Unterschied von der in manchen Fällen angewendeten wiederholten Extraction des Alkoholextractrückstandes mit Amylalkohol — so hinterlässt er wiederum einen harzigen Rückstand. Dieser wurde mit heissem Wasser behandelt, nach 24 Stunden filtrirt, das Filtrat eingedampft, der Rückstand wurde mit Wasser ausgezogen und nach 24 Stunden filtrirt.

Auch so ist das Harz nicht vollkommen ausgeschlossen, allein seine Quantität ist soweit reducirt, dass sie nicht in Betracht kommt. Die schliesslich erhaltene Lösung giebt nehmlich beim Verdampfen nur einige Centigramm bis höchstens ein Decigramm Rückstand, selten noch etwas mehr (aus 100 g trockenem Eiweiss), der wieder nur zum Theil in Wasser löslich ist. Die Lösung enthält immer noch etwas Albumosen, sie giebt deutliche Biuretreaction, wenn man viel Natronlauge und sehr vorsichtig Kupfersulfat anwendet. Bei der geringen Menge ist aber sowohl eine Wirkung des Harzes, als der Albumosen ausgeschlossen, und eine Wirkung, welche diese Lösung zeigt, ist unbedenklich auf eine specifische Giftwirkung durch basische

Substanzen zu beziehen. Im Gegensatz zu Brieger ist es mir, beiläufig bemerkt, also nicht gelungen, die Albumosen völlig zu eliminiren, es ist übrigens auch nicht abzusehen, wie dieses nach dem Verfahren von Brieger der Fall sein sollte; da die Albumosen durch neutrales Bleiacetat nicht gefällt werden und in Amylalkohol etwas löslich sind. Bei den kleinen Quantitäten ist allerdings die Albumose durch die Biuretreaction nur bei sehr sorgfältiger Ausführung derselben erkennbar, und es kommt auch einigermaassen darauf an, wie viel von den Lösungen man zur Anstellung der Biuretreaction verwendet. Brieger scheint ferner weit grössere Mengen von diesem gereinigten Extract erhalten zu haben. Er spricht von Quantitäten von  $\frac{1}{2}$  und 1 g. Ein Gramm würde nach meinen Versuchen etwa 1 kg trockenem Eiweiss oder gegen 5 kg Fibrin entsprechen, während B. Alles in Allem nach seinen Angaben nur etwa 2 kg Fibrin, nehmlich 10mal 200 g Fibrin zu den Versuchen verwendet zu haben scheint.

Es erübrigt noch etwas über die wässrige Flüssigkeit zu sagen, welche bei der secundären Extraction mit Amylalkohol übrig bleibt. Sie ist im Wesentlichen jedenfalls eine Lösung von Albumosen. Dampft man sie ein, so löst sich der Rückstand zwar etwas langsam, aber fast klar in Wasser; abweichend von dem gewöhnlichen Albumosengemisch ist dieser Rückstand aber nicht nur in Wasser, sondern auch in Alkohol von 80 bis 90 pCt. ziemlich leicht löslich. Die genauere Verfolgung dieser auffälligen Beobachtung habe ich einstweilen aufgeschoben.

Ich bemerke noch, dass diese Ausführungen über die Natur des ersten Harzes, der in Wasser löslichen Antheile desselben u. s. w. zum grossen Theil auf speciell für diesen Zweck angestellten Versuchen und Beobachtungen beruhen, deren Mittheilung in extenso mir entbehrlieb erscheint. Dagegen halte ich es für erforderlich, noch die Beweise für zwei im Vorhergehenden aufgestellte Behauptungen mitzutheilen, nehmlich 1) dafür, dass eine aus Amylalkoholextract-Verdampfungsrückstand erhaltene wässrige Lösung direct angewendet giftig wirkt, dagegen nicht mehr, wenn man durch wiederholtes Eindampfen Reste von Amylalkohol und den grössten Theil des Harzes entfernt, dass also scheinbar giftige Wirkung constatirt wird, welche aber nur auf Verunreinigung der injicirten Flüssigkeit mit Harz und Resten von

Amylalkohol beruht; 2) dafür, dass unter Umständen die erste wässrige Lösung giftig wirkt, die durch die secundäre Amylalkoholextraction erhaltene dagegen nicht.

ad 1. A. Der Verdampfungsrückstand des Alkoholauszuges aus einem Versuch mit Eieralbumin (Versuch XXVI) wurde 3mal hinten einander mit Amylalkohol behandelt, zum 2. und 3. Mal zur Erleichterung der Extraction etwas Wasser hinzugesetzt, alle drei Amylalkoholauszüge getrennt verdampft, aus dem ersten und zweiten durch wiederholte Behandlung mit Wasser, wie oben angegeben, der Amylalkohol vollständig und das Harz möglichst entfernt.

Die wässrige Lösung des ersten Auszuges auf 10 ccm gebracht, die Hälfte = 5 ccm hinterliess beim Eindampfen 0,176 g festen Rückstand. Die Lösung desselben einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

Ebenso war die ganze Lösung des ebenso behandelten zweiten Auszuges ohne Wirkung. Der dritte Amylalkoholauszug wurde anders („abnorm“) behandelt, nehmlich sofort, nachdem der Amylalkohol anscheinend vollständig verdampft war, der Rückstand mit wenig Wasser übergossen, auf freiem Feuer unter starkem Rühren mit dem Glasstab erhitzt und etwa die Hälfte der nach dem Erkalten stark getrübten Flüssigkeit sofort injicirt: schnelle Abnahme der Motilität, vollständige Paralyse, Tod nach 1 Stunde.

B. Der Verdampfungsrückstand des Alkoholauszuges aus einem Versuch mit 250 g Fibrin (aus Versuch XXIV) stammend, wurde 5mal hinten einander mit Amylalkohol extrahirt. Die Auszüge No. 1 und No. 4 wurden „normal“ behandelt, No. 2, No. 3 und No. 5 dagegen sofort injicirt, d. h. der Rückstand der beim Verdunsten des Amylalkoholauszuges geblieben war, mit Wasser erhitzt und die etwas erkalte, stark trübe Lösung injicirt. Gleichzeitig sollte durch den Versuch festgestellt werden, ob es von Einfluss ist, wenn der Amylalkohol heiss oder nach dem Erkalten von der wässrigen Flüssigkeit abgetrennt wird. Es ergab sich so folgende Tabelle:

	Amylalkohol abgetrennt	Verfahren	Wirkung
No. 1	heiss	normal	0
No. 2	heiss	abnorm	nach 10 Min. Paralyse, nach 2 Stdn. todt.
No. 3	kalt	abnorm	unvollständige Paralyse nach $\frac{1}{2}$ Stunde, nach 24 Stunden todt.
No. 4	heiss	normal	0
No. 5	heiss	abnorm	schwache Wirkung, Frosch bleibt am Leben.

Es ist also gleichgültig, ob man den Amylalkohol sofort, also heiss von der wässrigen Flüssigkeit trennt, oder erst am nächsten Tage nach völligem Erkalten, dagegen ist von entscheidender Bedeutung, ob man „normal“ verfährt oder „abnorm“, d. h. nach Entfernung des Amylalkohols und möglichster Entfernung des Harzes oder ohne das.

Es ist übrigens wohl selbstverständlich, dass die Demonstration der Giftigkeit bei abnormem Verfahren nicht ausnahmslos gelingt, augenscheinlich sind daran Reste des Amylalkohols wesentlich mitbeteiligt. Entweichen diese beim Erhitzen des Rückstandes mit Wasser zum Sieden vollständig, so kann man eine toxische Wirkung nicht erwarten.

ad II. A. Versuch XX. 100 g käufliches getrocknetes Blutserum in lauwarmem Wasser gelöst, unter schwachem Ansäuern mit Salzsäure auscoagulirt, das Coagulum gut ausgewaschen, dann mit 2,5 Liter künstlichem Magensaft verdaut u. s. w., mit Alkohol ausgezogen, der Auszug verdunstet und mit Amylalkohol behandelt, der Auszug verdunstet, der Rückstand mit Wasser erwärmt, nach 20 Stunden filtrirt und eingeengt, die ganze Quantität injicirt: der Frosch wird bald paralytisch, ist nach 3 Stunden todt.

B. Versuch XXI. Wiederholung des Versuches XX, die beim Ausziehen des Verdampfungsrückstandes des Amylalkoholauszuges erhaltene Lösung wird jedoch auf's Neue mit heissem Amylalkohol behandelt, der Auszug verdunstet, in Wasser gelöst filtrirt, verdampft, in Wasser aufgenommen und das Verdampfen und Aufnehmen in Wasser nochmals wiederholt. Die ganz schliesslich erhaltene Lösung injicirt: Keine Wirkung.

Ich gehe nunmehr zur Mittheilung der eigentlichen Versuche über, indem ich dabei bemerke, dass diese Versuche nicht genau in derselben Reihenfolge angeführt sind, in der sie angestellt wurden, aber vollständig.

### I. Versuche mit Fibrin.

Da Brieger zu seinen Versuchen ausschliesslich Fibrin verwendet hat, so waren wir genöthigt, zuerst gleichfalls Fibrin zu benutzen, obwohl ich mir von vornherein bewusst war, dass für die vorliegende Frage das Fibrin kein besonders günstiges Material darstellt. So grosse Vorzüge das Fibrin hat für den Nachweis von Verdauungsfermenten, für die Anstellung von Vorlesungsversuchen über Verdauung, für die Isolirung der einzelnen Verdauungsproducte — obwohl auch für diese Fälle die allzu einseitige Benutzung des Fibrins zu mancherlei missverständlichen Auffassungen und unberechtigten Verallgemeinerungen geführt hat —, so wenig verdient es eine vorzugsweise Berücksichtigung im vorliegenden Falle. Wenn man grössere Mengen Fibrin aus dem Schlachthause bezieht, ist man nie ganz sicher, ob es sich nicht schon in beginnender Fäulniss befindet, die sich mitunter schon durch den Geruch deutlich kundgibt.

Es ist einleuchtend, dass nur frisches Fibrin für Versuche angewendet werden darf, welche die Entstehung von giftigen Substanzen durch den Verdauungsprozess demonstrieren sollen. Ist man über diesen Punkt nicht ganz sicher, so bleibt es, wenn man schliesslich Giftwirkungen erhält, stets zweifelhaft, ob die toxische Substanz wirklich erst bei der Verdauung entstanden ist, oder nicht vielmehr schon in dem angewendeten Material präformirt war. Man kann freilich leicht auch aus dem Fibrin ein nach dieser Richtung vorwurfsfreies Material herstellen, indem man dasselbe energisch mit Wasser event. angesäuertem Wasser auskocht und gut abpresst. Da aber Briege ungekochtes Fibrin benutzt hat, so war es nicht zu umgehen, zunächst solches, und nur zu besonderen Zwecken ausgekochtes Fibrin anzuwenden.

Auch nach einer zweiten Richtung hin ist das Fibrin nicht einwandfrei. Das Fibrin enthält stets etwas Lecithin, welches bei der Magenverdauung Neurin liefern muss. Möglicherweise kommt auch noch eine zweite Verunreinigung des Fibrins in Betracht. Alle Gewebe des Körpers, auch das Blut, enthalten Spuren giftiger basischer Substanzen, denen Gautier die generelle Bezeichnung „Leucomaine“ beigelegt hat. Bei der bekannten Eigenschaft des Fibrins, lösliche Substanzen auf sich zu fixiren und einzuschliessen, ist es nicht gerade undenkbar, dass das Fibrin auch mit derartigen Leucomainen verunreinigt ist. Nach alledem würde es nicht Wunder nehmen können, wenn man bei der Verdauung und weiteren Verarbeitung mehrerer Kilogramm Fibrin soviel toxische Substanz isoliren könnte, dass sie hinreicht um einen Frosch zu tödten. Derartige Versuchsergebnisse würden durchaus nicht die Entstehung giftiger Substanzen bei der Verdauung beweisen. Es bedarf hierzu nothwendig einer Begrenzung nach oben hin. Briege macht über die Quantität der von ihm erhaltenen Giftsubstanz — nicht in dem Sinne der absoluten Gewichtsmenge, sondern in Bezug auf ihren toxischen Werth — keine Angabe. Da er aber bei der Beschreibung seines Verfahrens zur Darstellung des Peptotoxins 200 g feuchtes Fibrin zu Grunde legt und man nach seiner Angabe, dass ganz geringe Mengen des hieraus gewonnenen Extractes auf Frösche giftig wirken, zu der Annahme berechtigt

ist, dass er das aus dieser Quantität erhaltene Extract doch wenigstens an zwei Fröschen versucht hat, so präzisirt sich für uns die Fragestellung dahin, ob bei der Pepsinverdauung von vollkommen frisch scheinendem Fibrin so viel toxische Substanz entsteht, dass eine, 100 g feuchtem Fibrin<sup>1)</sup> entsprechende, Quantität Extract im Stande ist, einen Frosch zu tödten<sup>2)</sup>. Diese Frage wird durch die folgenden Versuche beantwortet, die sich auf frisches Fibrin, sowie auf bereits faulig gewordenes, dann mit angesäuertem Wasser ausgekochtes u. s. w. beziehen. Es sei dabei noch bemerkt, dass sehr häufig auch grössere Quantitäten in Anwendung kamen, als sie der obigen Fragestellung entsprechen.

Versuch XXII (M. K.).

1 kg Fibrin, 3 Ltr. künstl. Magensaft. Volumen der schliesslich erhaltenen wässrigen Lösung = 20 ccm. 3 ccm (= 30 g Eiweiss) bleiben beim Frosch subcutan injicirt ohne jede Wirkung. 10 ccm =  $\frac{1}{2}$  kg Fibrin = 100 g Eiweiss einem Kaninchen unter die Haut gespritzt, äussern keinerlei Wirkung.

Versuch XXIII (M. K.).

Ein noch ganz frischer Schweinemagen, einem eben geschlachteten Thier entnommen, sowie ganz frisches Fibrin, wurden sofort nach der Ueberführung in das Laboratorium in folgender Weise verarbeitet. Der Magen wurde in 2 symmetrische Hälften getheilt (Schnitt durch die grosse und kleine Curvatur), dann die Schleimhaut abpräparirt und gehackt.

Mischung A.

500 g Fibrin (= 100 g Eiweiss), 3 Ltr. Verdauungssalzsäure, die Schleimhaut des halben Magens. 24 Stunden digerirt. Alles Fibrin gelöst. Weitere Behandlung wie gewöhnlich. Da der erste Alkoholauszug beim Verdunsten einen sehr beträchtlichen Rückstand hinterliess, wurde er nochmals mit Alkohol aufgenommen, der filtrirte Auszug verdunstet, der Rückstand mit Amylalkohol anhaltend digerirt, abgetrennt, filtrirt, verdunstet, mit Wasser behandelt. Von der filtrirten, neutral reagirenden Lösung = 6 ccm erhält ein Frosch 2 ccm (= 33,3 g Eiweiss), ein anderer 3 ccm (= 50 g Eiweiss). Beide blieben vollständig munter, irgend welche Vergiftungssymptome wurden nicht beobachtet.

<sup>1)</sup> Nach zahlreichen früheren Bestimmungen enthalten 100 g feuchtes Fibrin rund 20 g trockenes Eiweiss.

<sup>2)</sup> Ganz vorwiegend an Fröschen sind die Versuche mit den isolirten Lösungen aus dem Grunde angestellt, damit auch nicht die kleinste Giftmenge der Aufmerksamkeit entgehe.

## Mischung B.

Zur Controle war die andere Hälfte der Magenschleimhaut ohne Fibrin mit 3 Liter Verdauungssalzsäure angesetzt und 24 Stunden gleichzeitig mit Mischung A digerirt. Dieser Versuch sollte für den Fall, dass A giftig wirkte, entscheiden, ob die giftige Wirkung etwa von der Magenschleimhaut ausging. Obwohl dieses nun nicht der Fall, der Controlversuch als solcher also entbehrlich war, wurde doch die erhaltene Lösung ebenso wie A verarbeitet. Etwa  $\frac{2}{3}$  der erhaltenen wässrigen Lösung einem Frosch injicirt, erwies sich völlig ungiftig.

## Versuch XXIV.

Von einer grösseren Quantität Fibrin, die nicht völlig frisch erschien, wurden 3 Portionen A, B, C, jede zu 250 g = 50 Eiweiss abgenommen.

A wurde wie gewöhnlich digerirt, normales Verfahren. Die ganze Quantität der schliesslich erhaltenen Lösung einem Frosch injicirt: Keinerlei Wirkung.

B. Für den Fall, dass sich bei A giftige Wirkung herausstellen sollte, war eine zweite Portion Fibrin mit 1 Liter Wasser und 1 ccm Salzsäure 3 Stunden lang im Dampfstrom erhitzt worden, dann am nächsten Tage noch 1 Liter Wasser und 1 ccm Salzsäure hinzugesetzt, auf freiem Feuer erhitzt und gut abgepresst. Dieses Fibrin diente zur Verdauung. Normales Verfahren. Zur Trockne gedämpft ergab die Lösung 0,36 g Trockenrückstand. Die ganze Quantität in Wasser gelöst und einem Frosch injicirt. Derselbe erschien nach einiger Zeit etwas afficirt, erholte sich jedoch bald wieder und zeigte Abends (nach 6 Stunden) ganz normales Verhalten, ebenso an den folgenden Tagen.

C. Frisches Fibrin ohne vorherige Behandlung. Secundäre Amylalkohol-extraction. Die schliesslich erhaltene Lösung gab 0,136 g Trockenrückstand. Die ganze Quantität injicirt. Keine Wirkung.

## Versuch XXV.

Von einer grösseren Quantität anscheinend ganz frischen Fibrins wurden 2 Portionen zu 250 g = 50 g Eiweiss abgenommen.

A direct verdaut, wie gewöhnlich verarbeitet; secundäre Amylalkohol-extraction. Trockengehalt der schliesslich resultirenden Lösung 0,0826 g (Trockengewicht des rohen Harzes 0,1914). Die Lösung in 2 Hälften getheilt, jede Hälfte einem Frosch injicirt: Keine Wirkung; nach 3 mal 24 Stunden noch lebend, nach 4 mal 24 Stunden beide tot gefunden. Reichliches serös-blutiges Transsudat im Rückenlymphsack bei beiden Thieren.

B. Für den Fall, dass A giftig wirken sollte, war die Portion B durch anhaltendes Kochen mit angesäuertem Wasser (1 ccm Salzsäure auf 1 Liter Wasser) gereinigt. Verarbeitung wie gewöhnlich. Secundäre Amylalkohol-extraction. Trockenrückstand der schliesslich erhaltenen Lösung 0,0500 g (Trockengewicht des Harzes 0,1804). Die Lösung in 2 Hälften getheilt, jede Hälfte einem Frosch injicirt: keine Wirkung, die Thiere sind noch nach 8 Tagen am Leben.

## Versuch XXVI.

500 g frisches Fibrin mit 2,5 Liter künstlichen Magensaft verdaut, weitere Verarbeitung, wie gewöhnlich. Die Amylalkohollösung wird in 2 gleiche Theile getheilt, A und B.

A nur auf dem Wasserbad eingedampft, dann sofort mit heissem Wasser übergossen, auf freiem Feuer erhitzt, dabei mit dem Glasstab stark gerührt, bis das Volumen auf etwa 2 ccm reducirt ist. Die eben erkaltete, stark geträubte Flüssigkeit wird einem Frosch eingespritzt; nach einer halben Stunde deutliche Lähmungserscheinungen, dann Prostration, nach 3 Stunden Tod.

B wird gleichfalls auf dem Wasserbad eingedampft, dann normales Verfahren (aber keine secundäre Amylalkoholextraction). Trockengehalt der schliesslich resultirenden Lösung 0,1140 g. Der Rückstand löst sich nur theilweise in Wasser, die filtrirte Lösung einem Frosch injicirt: dieselben Symptome wie bei A, der Frosch ist in 3 Stunden todt.

Ich bemerke noch, dass das abnorme Verfahren bei der Verarbeitung von A eingeschlagen wurde in der Voraussetzung, dass B keine toxische Substanz ergeben würde. Diese Voraussetzung bestätigte sich aber nicht.

## Versuch XXVII.

200 g Fibrin = 40 g Eiweiss, welches gekocht, dann  $1\frac{1}{2}$  Jahre in Chloroformwasser in einer Glasstöpselflasche aufbewahrt gewesen war und in Folge von Abduisten von Chloroform fauligen Geruch angenommen hatte, wurde zuerst gründlich ausgewaschen, dann mit 1 Liter Wasser und 1 ccm Salzsäure mehrere Stunden im strömenden Dampf erhitzt, dann nochmals ausgekocht, abgepresst und zum Verdauungsversuch benutzt. Normales Verfahren. Die ganze schliesslich resultirende Lösung einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

## Versuch XXVIII (M. K.).

1 kg frisches Fibrin wurde 3 Tage lang neben dem Wärmschrank stehen gelassen — es verbreitete stark fauligen Geruch —, dann gut durchgemischt und in 2 gleiche Portionen A und B getheilt.

A. 500 g Fibrin = 100 g Eiweiss wurden mit 4 Liter schwach mit Salzsäure angesäuertem Wasser ausgekocht, das Filtrat neutralisiert, eingedampft und sonst so, wie die Verdauungslösungen behandelt. Das Volumen der schliesslich erhaltenen Lösung betrug ungefähr 5 ccm. Je 2 ccm = 40 g Eiweiss tödten einen Frosch in 2 Versuchen unter den typischen Erscheinungen.

Das bei der Extraction mit dem salzsäurehaltigen Wasser erhaltene gereinigte Fibrin wieder verdaut und wie gewöhnlich verarbeitet. Das Volumen der schliesslich erhaltenen Lösung betrug 5 ccm. Je 2 ccm derselben = 40 g Eiweiss einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

Die Portion B, 500 g Fibrin = 100 g Eiweiss, direct verdaut u. s. w. Die schliesslich erhaltene wässrige Lösung = 5 ccm erwies sich schwach giftig: 2 ccm bewirkten beim Frosch die typischen Vergiftungerscheinungen,

am nächsten Tage hat sich das Thier jedoch vollständig erholt. Das Gift scheint also durch die Verdauung abgeschwächt zu sein.

#### Versuch XXIX.

1 kg Fibrin wird mit 5 Liter künstlichem Magensaft 46 Stunden digerirt, dann wie gewöhnlich behandelt, die syrupöse Lösung des Alkoholextract-verdampfungsrückstandes jedoch vor der Behandlung mit Amylalkohol mit Natriumcarbonat leicht alkalisirt. Ferner diente zu dieser Extraction furfuol-freier Amylalkohol. Secundäre Amylalkoholbehandlung; auch vor dieser wird, wiewohl der Rückstand schwach alkalisch reagirt, noch etwas Natrium-carbonat hinzugesetzt. — Volumen der schliesslich erhaltenen Lösung: 10 ccm. Mit dieser Lösung werden folgende Versuche angestellt:

- 1) Ein Kaninchen von 830 g Körpergewicht erhält 1 ccm subcutan: Keine Wirkung.
- 2) Dasselbe Thier erhält am zweitnächsten Tage noch 5 ccm subcutan: Keine Wirkung.
- 3) Ein Frosch erhält 1 ccm: Keine Wirkung.
- 4) Derselbe Frosch erhält am zweitnächsten Tage noch 2 ccm: Keine Wirkung.

#### Versuch XXX.

Von demselben Fibrin werden 400 g gründlich mit Wasser ausgekocht, mit 2 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden digerirt. Verarbeitung wie gewöhnlich mit dem stets benutzten Amylalkohol. Secundäre Amylalkohol-extraction. Vor jeder Extraction wird mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  alkalisirt. Die Hälfte der schliesslich erhaltenen Lösung je einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

Eine Uebersicht über die mit Fibrin angestellten Versuche ergiebt Folgendes:

1) Von 8 an Fibrin verschiedenen Ursprungs angestellten Versuchen hat einer ein positives Resultat ergeben, insofern ein aus frischem Fibrin in normaler Weise dargestelltes, 50 g trockenem Eiweiss entsprechendes, Extract einen Frosch in 3 Stunden tödete, 7 ein negatives.

2) Rechnet man die einzelnen Verdauungsversuche, so sind deren 12 angestellt (der Versuch mit gefaultem Fibrin scheidet hier natürlich zunächst aus), davon hat nur einer<sup>1)</sup> eine toxisch wirkende Substanz ergeben, und das, trotzdem in 2 Versuchen (XXIX und XXX) auch auf die Möglichkeit Rücksicht genommen war, dass das Peptotoxin vielleicht besser aus alkalischer Lösung in den Amylalkohol übergehen möchte.

<sup>1)</sup> Der in Versuch XXV nach 4 Tagen eingetretene Tod des Versuchsthiereos kommt hier nicht in Betracht.

Da Brieger ausdrücklich angiebt, dass er den Versuch mit Fibrin 10mal wiederholt habe und immer mit positivem Erfolge (es ist leider nicht angegeben, ob das Fibrin in allen Versuchen von verschiedener Herkunft war, oder ob es sich in einzelnen Fällen um mehrere Antheile handelte, welche demselben Fibrinquantum entnommen waren), so ist dieses Resultat dem von Brieger erhaltenen durchaus entgegengesetzt. Im Gegensatz zu Brieger müssen wir den Satz aufstellen: bei der Pepsinverdauung des Fibrins bildet sich keine basische, giftige, in Wasser lösliche, durch Amylalkohol ausziehbare Substanz. Geschieht dieses, so können nur accidentelle Verhältnisse daran Schuld sein. Dieses ist in unseren 8 bzw. 12 Versuchen einmal vorgekommen; ich zweifele nicht daran, dass in diesem einen Fall das Gift in dem Fibrin präformirt war. Leider habe ich in diesem Fall keinen Controlversuch mit demselben, aber durch Auskochen u. s. w. gereinigten, Fibrin angestellt, ich muss also den stricten Beweis für die Richtigkeit dieser Erklärung schuldig bleiben.

Es schien mir auch nicht angebracht, noch eine vielleicht sehr grosse Zahl neuer Versuche anzustellen, nur um die Richtigkeit meiner Erklärung für diesen seltenen Ausnahmefall zu beweisen.

Ueber die Natur dieses nur in seltenen Fällen und auch nur in geringen Quantitäten im Fibrin enthaltenen Giftes — aus 250 g Fibrin liess sich nur so viel erhalten, um einen Frosch in 3 Stunden zu tödten! — lassen sich freilich nur Vermuthungen aufstellen. Zieht man in Betracht, was wir früher über die weite Verbreitung von Spuren toxischer Substanzen im Thierkörper ausgeführt haben, so ist an sich die Giftigkeit des Fibrins nicht gerade überraschend, man sollte eher erwarten, dass dieses häufiger der Fall sein müsste. Welche Verhältnisse nun gerade in einzelnen Fällen den Gehalt des Fibrins an toxischen Substanzen soweit erhöhen, dass man durch das Extract, welches aus der völligen Lösung von 250 g Fibrin durch Verdauung und der nachfolgenden Bearbeitung resultirt, einen Frosch tödten kann, das entzieht sich zunächst unserer Kenntniss.

Ich kann mich nicht ganz der Discussion der Frage entziehen, wie die so gänzlich abweichenden Resultate Brieger's

zu erklären seien. Es ist wohl möglich, dass Brieger häufiger auf „giftiges“ Fibrin gestossen ist, wie wir, vollständig hierauf wird man die Differenz nicht zurückführen können. Wenn wir unter 12 Fällen oder auch nur 8 Fällen einmal „giftiges“ Fibrin gefunden haben, so ist es geradezu undenkbar, dass dieses bei Brieger ausnahmslos 10mal hinter einander der Fall gewesen sein soll. Es müssen nothwendig noch andere Gründe für die Differenz vorhanden sein, über die sich allerdings nur Vermuthungen aufstellen lassen. In einem Theil der Versuche mag Brieger sich durch Reste von Amylalkohol, welche das Harz bezw. die trübe harzhaltige Flüssigkeit noch eingeschlossen ent-hält, haben täuschen lassen, auch das Harz selbst mag nach den früheren Erörterungen betheiligt gewesen sein. Das trifft aber nur für diejenigen Fälle zu, in denen ein ungereinigtes Extract zur Anwendung kam, nicht in solchen, in denen das Extract vorher gereinigt war. Wie oft unter den 10 Versuchen diese Reinigung zur Anwendung gekommen ist, giebt Brieger leider nicht an. Für diese Fälle ist kaum eine andere Erklärung denkbar, als dass Brieger nicht genügenden Werth auf absolut frische Beschaffenheit des verwendeten Fibrins gelegt hat. Dass ein nicht genügend frisches Fibrin bei der von ihm eingeschlagenen Verarbeitung giftige Producte liefern kann, ist an sich sehr wahrscheinlich, es spricht dafür auch der oben angeführte Versuch XXVIIIA, bei welchem dem faulenden Fibrin ohne Verdauung durch Extraction mit angesäuertem Wasser u. s. w. schliesslich durch Amylalkohol giftig wirkende Substanz entzogen werden konnte, dennoch habe ich es nicht für überflüssig gehalten, darüber noch besondere Versuche anzustellen, bei denen theils unzweifelhaft faulig riechendes Fibrin zur Anwendung kam, theils die Verdauung so lange fortgesetzt wurde, bis sich Schimelpilze entwickelt und die Lösung einen deutlich fauligen Ge-ruch angenommen hatte.

#### Versuch XXXI (M. K.).

1 kg Fibrin = 200 g Eiweiss, welches einige Tage in der warmen Jahreszeit (Mai 1888) ohne Cautelen aufbewahrt gewesen war und einen unzweifelhaft fauligen Geruch zeigte, wurde mit 4 Liter Verdauungsflüssigkeit versetzt und bei 40° digerirt. Die Verdauungsflüssigkeit war hergestellt worden durch 22stündige Digestion von einer Schweinemagenschleimhaut mit

4 Liter Verdauungssalzsäure und Coliren durch Leinwand. Der Auszug war von schleimiger Consistenz und hatte einen sehr widerwärtigen, wiewohl nicht fauligen Geruch. Nach 2tägiger Digestion war noch lange nicht alles Fibrin gelöst. Die Mischung hatte einen äusserst widerwärtigen und fauligen Geruch. Die weitere Verarbeitung war wie gewöhnlich. Der beim Verdunsten des Amylalkoholauszuges gebliebene Rückstand wurde mit 30 ccm Wasser extrahirt, nach völligem Erkalten filtrirt. Je 1 ccm = 6,7 g Eiweiss der klaren gelbfärbten Lösung wurde Fröschen unter die Haut gespritzt. Dieselben starben regelmässig nach 20—30 Minuten unter Lähmungserscheinungen. Etwa 3 Minuten nach der Injection trat eine allgemeine Erschlafung des ganzen Körpers ein: der Frosch reagierte auf Reize mühsam, schliesslich überhaupt nicht mehr durch Bewegungen; ab und zu traten leichte fibrilläre Zuckungen in den Extremitäten auf. Die Reflexerregbarkeit war zu keiner Zeit gesteigert. Dann stand die Respiration still und der Tod erfolgte ganz unmerklich in 20—30 Minuten. Der Versuch wurde an 4 Fröschen wiederholt, bei allen traten dieselben Erscheinungen ein, die mit der von Brieger gegebenen Schilderung der Wirkung des Peptotoxins übereinstimmen.

#### Versuch XXXII.

1 kg anscheinend frisches Fibrin = 200 g trockenem Eiweiss mit 5 Liter künstlichem Magensaft im offenen Cylinder 6 Tage bei 40° digerirt. Das Fibrin ist vollständig gelöst, die Flüssigkeit riecht faulig, die Oberfläche ist mit Schimmelpilzen bedeckt. Weitere Verarbeitung wie gewöhnlich. Von der schliesslich erhaltenen Lösung wird die Hälfte = 100 g trockenes Eiweiss einem Frosch injicirt. Nach 1½ Stunden wird das Thier matt, nach einigen Stunden paralytisch, nach 6 Stunden todt. Die zweite Hälfte äusserte dieselben Wirkungen. Dieser Versuch ist allerdings nach den früheren Erörterungen nicht als ganz beweisend zu erachten.

#### Versuch XXXIII.

1 kg schwach faulig riechendes Fibrin = 200 g trockenem Eiweiss mit 5 Liter künstlichem Magensaft 6 Tage bei 40—41° digerirt. Fauliger Geruch der Lösung, leichte Schimmelbildung. Verarbeitung, wie gewöhnlich. Volumen der schliesslich erhaltenen Lösung = 10 ccm; 2 ccm = 40 g Eiweiss tödten einen Frosch unter den Erscheinungen der Paralyse in einigen Stunden.

Es unterliegt also keinem Zweifel, dass sowohl aus bereits fauligem Fibrin, als auch bei Fortsetzung des Verdauungsversuchs bis zu beginnender Fäulniss toxische Substanzen durch Ausziehen mit Amylalkohol gewonnen werden können.

Man könnte nun gegen die Ableitung der giftigen Substanzen von der Wirkung von Mikroorganismen in den eben mitgetheilten Versuchen einwenden, dass ein Nachweis hierfür nicht vorliegt, dass somit die Versuche als positiv im Sinne Bri-

ger's ausgefallen zu betrachten seien. In der That ist aber an dem Bestehen bakteritischer Zersetzung in solcher Verdauungsflüssigkeit, die sichtbare Entwicklung von Schimmelpilzen und übeln, fauligen Geruch darbieten, gar nicht zu zweifeln.

Nach zahlreichen Erfahrungen kann ich mit Bestimmtheit behaupten, dass bei Anwendung von Finzelberg's Pepsin die Verdauungslösungen, wenn man sie einige Tage stehen lässt, niemals Leucin und Tyrosin enthalten, keinen Geruch zeigen und keine Entwicklung von Schimmelpilzen, dass dagegen stets Leucin und Tyrosin gefunden wird, sobald sich Schimmelpilze entwickeln und sich übler Geruch einstellt. Nach 6 Tagen Digestion bei 40° ist dieses wohl ausnahmslos der Fall. Ich muss mich unbedingt der von Kühne gegen Hoppe-Seyler und seine Schüler vertretenen Ansicht anschliessen, dass Leucin und Tyrosin nicht Producte der Pepsinverdauung sind, sondern entweder durch rein accidentelle Fäulnissprozesse entstehen oder in den angewandten Materialien, namentlich der Magenschleimhaut, präformirt sind, als solche oder als Verbindungen, welche sehr leicht Leucin und Tyrosin liefern. Benutzt man eine gereinigte Pepsinlösung, ein vorwurfsfreies Eiweissmaterial und setzt man die Verdauung nicht bis zum Auftreten übeln Geruchs fort, so findet man in den Verdauungslösungen niemals Leucin und Tyrosin<sup>1</sup>).

Die Berechtigung des Einwandes, dass es sich in den vorhin angeführten Versuchen noch um eine nicht durch Bakterienwirkung complicirte, also normale Pepsinverdauung gehandelt habe, kann ich danach nicht zugeben.

Nach dieser Richtung wird nun aber das Fibrin immer ein missliches Material bleiben, der Eine wird ein Fibrin noch für

<sup>1</sup>) Brieger sagt S. 17 der Monographie: „Regelmässig wurden nicht unerhebliche Mengen Leucin neben geringen Mengen Tyrosin, sowohl im Aethyl- als im Amylalkoholauszug gefunden, die allmäthlich durch ihre geringere Löslichkeit in Wasser ausgeschieden werden konnten.“ Man darf hieraus nicht schliessen, dass sein Fibrin oder die Magenschleimhaut faulig waren, da er nicht mit gereinigten Pepsinlösungen, sondern mit Auszügen von Magenschleimhaut arbeitete, welche stets Leucin enthalten bzw. liefern. Beiläufig bemerkt, ist übrigens von dieser Abscheidung des Leucin und Tyrosin bei der Beschreibung der Darstellung des Peptotoxins gar nicht die Rede.

frisch erachten, an dem der Andere schon Zeichen von Fäulniss vorfindet. Die Culturmethoden lassen sich nicht zur Entscheidung heranziehen, denn vollkommen frei von Bakterien ist das angewendete Fibrin schwerlich jemals. Diese Schwierigkeiten fallen fort, wenn man sterilisiertes Fibrin anwendet, oder noch besser, gut ausgekochtes Fibrin, welches nicht allein steril ist, sondern auch frei von etwa schon in ihm vorhandenen Stoffwechselproducten von Bakterien und den präformirten „Leucomainen“. Derartig gereinigtes Fibrin ist nun auch in einigen unserer Versuche in Anwendung gekommen, und es hat sich gezeigt, dass man selbst notorisch faules Fibrin ohne Schaden zu diesen Versuchen anwenden kann, dass man auch aus diesem, wenn man es vorher genügend reinigt, kein Peptotoxin erhält. Wenn Brieger Versuche mit solchem durch Auskochen gereinigten Fibrin angestellt hätte, so würde er sich von der Unrichtigkeit seiner Annahme, einer Bildung giftiger Producte aus dem Fibrin bei der Pepsinverdauung, leicht haben überzeugen können.

Brieger's Angaben beschränken sich nun auf das Fibrin und konnten für dieses nicht bestätigt werden, es war aber nicht ausgeschlossen, dass vielleicht andere Eiweisskörper, welche leicht rein zu erhalten sind, zur Entstehung von Peptotoxin Veranlassung geben, jedenfalls erschien es mir nicht überflüssig, Versuche mit Eierweiss und Serumweiss anzustellen. Zur Wahl des ersten bestimmte unter Anderem das praktische Interesse, das sich gerade an diesen Eiweisskörpern knüpft, ausserdem die leichte Zugänglichkeit desselben; käufliches Serumalbum bzw. das aus diesem dargestellte, coagulirte Albumin wurde aus Gründen gewählt, die später erörtert werden sollen. Das eben erwähnte praktische Interesse, das sich an das Eiweiss knüpft, führte dazu, den ersten Versuch direct mit dem Weissen von hartgekochten Eiern vorzunehmen.

## II. Versuche mit Eieralbumin.

### Versuch XXXIV (M. K.).

Von 30 hartgekochten Eiern wird das Weisse<sup>1)</sup> sorgfältig vom Dotter getrennt, feingehackt und mit 3 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden bei 40° digerirt. Verarbeitung wie gewöhnlich. Das Volumen der schliesslich

<sup>1)</sup> entspricht etwa 70 g trockenem Eiweiss.

erhaltenen Lösung = 5 ccm. 3 ccm entsprechend 42 g Eiweiss, einem Frosch unter die Haut gespritzt, hatten nicht die geringste Wirkung.

#### Versuch XXXV (M. K.)

Von 30 Eiern wurde das Albumen sorgfältig vom Dotter getrennt, in einem Cylinder mit Wasser durchgeschlagen, mit Salzsäure neutralisiert, von dem entstehenden Niederschlag abfiltrirt. Das klare Filtrat wurde unter Umrühren in kochendes Wasser eingetragen, der Niederschlag mit heissem Wasser gründlich ausgewaschen, dann mit 2 Liter Verdauungssalzsäure und 3 g Pepsin 24 Stunden bei 40° digerirt. Weitere Verarbeitung wie gewöhnlich. Der ganze Wasserauszug wurde einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

#### Versuch XXXVI.

Das Albumen von 14 Eiern wird nach starker Verdünnung mit Wasser durch ein Tuch colirt, dann unter Zusatz von Essigsäure auf dem Wasserbad erhitzt, das auscoagulirte Eiweiss mit heissem Wasser gründlich gewaschen und mit 2 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden bei 40° digerirt; Alles gelöst. Weitere Verarbeitung zunächst wie gewöhnlich; der beim Verdunsten des Alkoholauszuges bleibende Rückstand wurde jedoch nochmals mit absolutem Alkohol extrahirt, der Auszug verdunstet. Es resultirte also 1) ein Auszug in absolutem Alkohol = A, 2) der von diesem nicht gelöste Theil des ersten Alkoholauszuges = B. Beide wurden in Wasser gelöst und mit Amylalkohol behandelt.

1) Amylalkoholauszug aus A. Die resultirende wässrige Lösung = 10 ccm.

a) 2 ccm einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

b) 5 ccm verdampft = 0,176 g. Trockenrückstand (also für die ganze Quantität 0,352 g) in Wasser gelöst (Lösung etwas trüb) einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

2) Amylalkoholauszug aus B. Die resultirende wässrige Lösung = 10 ccm.

a) Je 2 ccm in 2 Versuchen einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

b) Die restirenden 6 ccm eingedampft: Trockenrückstand = 0,160 g (also für die ganze Quantität von 10 ccm 0,267 g). Der Trockenrückstand löst sich etwas trüb in Wasser. Die ganze Lösung einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

Das bei der Extraction des Amylalkohol-Verdampfungsrückstandes mit Wasser ungelöst gebliebene Harz wird in etwas Wasser unter Zusatz einiger Tropfen von Natriumcarbonatlösung einem Frosch injicirt: der Frosch erscheint schwer afficirt (Prostration), ist jedoch erst in 6 Stunden todt.

#### Versuch XXXVII.

Wiederholung des vorigen Versuches, jedoch werden die Verdampfungsrückstände der Alkoholauszüge nach dem Lösen in Wasser vor dem Ausschütteln mit Amylalkohol leicht alkalisirt (mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).

1) Amylalkoholauszug aus A. Die wässrige Lösung (es bleibt reichlich Harz zurück) hinterlässt beim Eindampfen 0,345 g Trockenrückstand. Der selbe löst sich unvollständig in Wasser. Die Hälfte der filtrirten Lösung einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

2) Amylalkoholauszug aus B. Die ganze erhaltene wässrige Lösung wird durch Eindampfen auf 2 ccm reducirt und einem Frosch eingespritzt: Keine Wirkung.

Nunmehr wird der im Kolben gebliebene Rückstand nach Zusatz von etwas Wasser auf's Neue mit Amylalkohol behandelt. Die ganze erhaltene wässrige Lösung wird einem Frosch eingespritzt: Keine Wirkung.

#### Versuch XXXVIII.

Das auscoagulirte und gut ausgewaschene Eiweiss von 20 Eiern wird mit 2,5 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden bei 40° digerirt. Weiteres Verfahren wie gewöhnlich. Der Amylalkoholauszug heiss abgegossen und in 2 gleiche Hälften getheilt: A und B.

A wird auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, der Rückstand mit heissem Wasser übergossen und unter starkem Durchröhren mit einem Glasstab auf freiem Feuer erhitzt und dabei auf ein kleines Volumen reducirt. Die ganze eben erkaltete, stark trübe Lösung wird einem Frosch injicirt: geringe Herabsetzung der Motilität, allmählich stärker werdend, aber keine vollständige Lähmung. Am nächsten Tage Verhalten des Frosches normal.

Der an der Schale haften gebliebene harzige Rückstand wird unter Zusatz von 10 Tropfen Natriumcarbonat-Lösung in Wasser gelöst, die Hälfte der ganz klaren Lösung einem Frosch injicirt: nach einer halben Stunde nicht sehr erhebliche Störung der Motilität, die allmählich zunimmt, aber nach 2 Stunden noch nicht zu vollkommener Lähmung geführt hat, am nächsten Tage todt gefunden.

B normal behandelt. Rückstand der wässrigen Lösung = 0,1804 g. Lösung desselben ziemlich trüb. Die ganze Quantität injicirt: Keine Wirkung.

Der harzige Rückstand unter Zusatz von 10 Tropfen Natriumcarbonatlösung in Wasser gelöst, die Hälfte einem Frosch injicirt: langsam auftretende Lähmung, am nächsten Tage todt gefunden.

#### Versuch XXXIX.

Das auscoagulirte und gut ausgewaschene Eiweiss von 20 Eiern wird mit 2,5 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden bei etwa 40° digerirt. Weitere Behandlung wie gewöhnlich. Die wässrige Lösung hinterlässt 0,365 g Trockenrückstand. Der Rückstand löst sich trüb in Wasser. Die Lösung wird ohne vorherige Filtration zum zweiten Mal mit Amylalkohol geschüttelt; der Amylalkoholauszug verdampft und mit Wasser (heiss) behandelt, nach 24 Stunden abfiltrirt. Diese Lösung hinterlässt beim Verdampfen 0,0628 g. Dieser Rückstand in Wasser gelöst (ein erheblicher Theil bleibt ungelöst) Volumen der Lösung = 4 ccm. Je 2 ccm einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

## Versuch XL.

283 g feuchtes Eiweisscoagulum<sup>1)</sup>), aus 20 Eiern stammend, mit 2,5 Liter künstlichem Magensaft verdaut, weitere Verarbeitung, wie gewöhnlich. Die wässrige Lösung hinterlässt 0,550 g Trockenrückstand. Derselbe in Wasser gelöst, die trübe Lösung mit einem Minimum von Natriumcarbonat zum zweiten Mal mit heissem Amylalkohol behandelt. Amylalkoholauszug verdunstet und mit Wasser behandelt. Die wässrige Lösung hinterlässt 0,0950 g Rückstand; nochmals mit Wasser behandelt, filtrirt, eingedampft. Rückstand 0,0802 g. Die Hälfte der (trüben) wässrigen Lösung einem Frosch injicirt: Keine Wirkung. Die andere Hälfte giebt Biuretreaction, enthält Albumosen, kein Pepton oder nur Spuren.

Sämmtliche Versuche mit Eieralbumin — im Ganzen 7 — ergeben also nicht den geringsten Anhalt für die Annahme der Entstehung einer toxischen basischen Substanz bei der Pepsinverdauung des Eiweisses, sie sind vollkommen negativ verlaufen, wiewohl in einzelnen Versuchen noch die Möglichkeit berücksichtigt worden ist, dass diese Substanz vielleicht nur — abweichend von den Angaben Brierger's — aus der alkalisch reagirenden Lösung in heissem Amylalkohol übergehen möchte.

Kann hierüber also durchaus kein Zweifel sein, so blieb es mir noch wünschenswerth, für den einen am Fibrin constatirten Ausnahmsfall ein Analogon zu finden.

Wenn das Fibrin bei der Ausscheidung aus dem Blut unter Umständen toxische Substanzen auf sich fixiren kann, so liegt der Gedanke nahe, dass diese dann in grösserer Quantität im defibrinirten Blut bezw. dem aus dem Blut hergestellten Serum bleiben werden. Da die Beschaffung so grosser Mengen von Serum, wie sie zu diesen Versuchen erforderlich sind, sehr schwierig ist, so habe ich mich statt dessen des käuflichen sog. Serumalbumins bedient, welches nichts anderes, als eingetrocknetes Blutserum ist. Man durfte erwarten, dass bei der Coagulation der Lösung desselben die Gifte in den Wasserauszug übergehen würden, und eventuell in den Amylalkoholauszug, so dass das restirende coagulirte Eiweiss bei der Verdauung kein Gift mehr lieferte.

<sup>1)</sup> 2,986 g desselben hinterlassen 0,4746 g Trockensubstanz mit minimalem Aschengehalt = 15,92 pCt., also 283 g : 44,997 oder rund 45 g Eiweiss. Danach ist das aus 20 Eier-Albumen erhaltene coagulirte Eiweiss auf 45 g zu veranschlagen.

### III. Versuche mit käuflichem Serumalbumin.

#### Versuch XLI.

Aus 100 g käuflichem Serumalbumin wird das Eiweiss auscoagulirt und gründlich mit heissem Wasser ausgewaschen (da das Serumalbumin sich in Folge längerer Aufbewahrung sehr unvollständig in Wasser löste, musste die Lösung unter Zuhilfenahme von etwas Natronlauge bewirkt werden), dann mit 3 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden bei 38—40° digerirt. Weitere Verarbeitung wie gewöhnlich. Trockengehalt der wässrigen Lösung 0,601 g, der Trockenrückstand wieder in Wasser gelöst. Die Hälfte einem Frosch injicirt: Keine Wirkung. Die andere Hälfte wird bezüglich ihres chemischen Verhaltens geprüft. Sie enthielt reichlich Albumose, dieselbe war jedoch in Alkohol ziemlich leicht löslich, abweichend von dem sonstigen Verhalten der Albumosen.

#### Versuch LXII.

100 g käufliches Serumalbumin<sup>1)</sup> in 2 Liter warmem Wasser gelöst, die Lösung erfolgt leicht und fast vollständig, jedoch nicht ganz klar. Die Lösung wird unter sorgfältiger Neutralisirung mit Salzsäure auscoagulirt, das Coagulum abfiltrirt, mit heissem Wasser gut nachgewaschen und abgepresst.

A. Das auscoagulirte Albumin wurde mit 3 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden digerirt, dann wie gewöhnlich behandelt. Die wässrige Lösung hinterliess 0,523 g Trockenrückstand. Derselbe löste sich etwas trüb in Wasser. 2 Frösche erhielten jeder die Hälfte der Lösung injicirt: Keine Wirkung.

B. Das Filtrat vom auscoagulirten Eiweiss und die vereinigten Waschwässer wurden eingedampft, von einer kleinen beim Eindampfen ausgeschiedenen Quantität coagulirten Eiweiss abfiltrirt, zum Syrup eingedampft (Reaction genau neutral), mit Alkohol ausgezogen, der Alkoholauzug verdunstet und nach Zusatz von etwas Wasser mit heissem Amylalkohol behandelt. Der Amylalkoholauzug wurde wie gewöhnlich behandelt, die daraus erhaltene Lösung mehrmals abgedampft und mit Wasser wieder aufgenommen. Der Trockenrückstand der schliesslich erhaltenen Lösung betrug 0,125 g. Derselbe löst sich etwas trüb in Wasser. Die ganze Quantität einem Frosch injicirt: derselbe zeigt bald Lähmungserscheinung, dann totale Paralyse, ist nach etwa 4 Stunden todt.

#### Versuch XLIII.

Wiederholung des vorigen Versuches mit demselben Material.

A. Die wässrige Lösung hinterlässt 0,553 g Trockenrückstand. Von der etwas trüben Lösung wurde die Hälfte einem grossen Frosch injicirt: derselbe zeigt leichte Lähmungserscheinungen, ist am nächsten Tage noch am Leben. Die Rückenhaut stark aufgetrieben, beim Einschneiden derselben entleert sich reichlich dünnflüssiges Blut bezw. stark blutige seröse Flüssigkeit, am 2. Tage todt gefunden. — Die 2. Hälfte einem sehr klei-

<sup>1)</sup> Anderes Material.

nen Frosch injicirt: Nach einer Stunde Beeinträchtigung der Motilität, nach  $2\frac{1}{2}$  Stunden Paralyse, nach 4 Stunden Tod.

B. Die schliesslich erhaltene wässrige Lösung hinterlässt 0,107 g Trockenrückstand. Die ganze hieraus erhaltene etwas trübe Lösung einem mittelgrossen Frosch injicirt (dabei etwas Verlust): keine deutlichen Symptome ausser geringer Depression des Thieres. Tod unter zeitweise auftretenden Zuckungen erst nach 45 Stunden.

#### Versuch XLIV.

Das aus 50 g käuflichem Serumalbumin<sup>1)</sup> durch Auflösen und Aufkochen u. s. w. erhaltene coagulirte Eiweiss wird mit 2 Liter künstlichem Magensaft verdaut. Die durch Extraction des Amylalkoholrückstandes mit Wasser erhaltene Lösung hinterlässt 0,324 g Trockenrückstand, der sich nur zum Theil in Wasser löst. Die unfiltrirte Lösung mit heissem Amylalkohol behandelt, der Amylalkoholauszug verdunstet, der Rückstand mit Wasser behandelt, filtrirt, die wässrige Lösung hinterlässt beim Eindampfen 0,111 g Trockenrückstand, der sich nur zum Theil in Wasser löst, die ganze Lösung einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

#### Versuch XLV.

Wiederholung des vorigen Versuches. Der Verdampfungsrückstand des Amylalkoholrückstandes bildet beim Erwärmen mit Wasser eine trübe Flüssigkeit, welche auch trüb filtrirt. Beim Erhitzen und nachfolgendem Erkalten der Lösung schied sich eine fettartige Substanz aus, von welcher abfiltrirt wurde; die trotz dieser Abscheidung noch trübe Lösung wurde mit heissem Amylalkohol geschüttelt, der Amylalkoholauszug verdunstet, der Rückstand mit Wasser behandelt. Die filtrirte Lösung hinterlässt beim Verdunsten 0,0494 g Trockenrückstand, der sich nur zum Theil in Wasser löst, die filtrirte Lösung nochmals verdunstet, giebt 0,0310 g Trockenrückstand. Die Lösung desselben einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

#### Versuch XLVI.

Wiederholung des vorigen Versuches.

Wie im vorigen Versuch ist der erste wässrige Auszug des Amylalkoholrückstandes anfangs stark trüb, er klärt sich jedoch unter Abscheidung ölicher Tropfen. Der filtrirte Auszug mit Amylalkohol behandelt und weiterhin so verfahren, wie im vorigen Versuch. Trockenrückstand 0,0266 g, in Wasser gelöst und injicirt: Keine Wirkung. Am Abend desselben Tages erscheint der Frosch ziemlich munter, ist am nächsten Tage tot. Sectionsbefund: starke Blutungen unter der Rückenhaut und seitlich. Frosch im Uebrigen äusserst anämisch, das Herz leer. (Tod durch innere Verblutung?)

Die Versuche mit Serumalbumin bedürfen noch einiger Bemerkungen.

In Versuch XLI und XLII lieferte, ganz entsprechend der

<sup>1)</sup> Drittes Material.

Voraussetzung, die Verdauung des auscoagulirten Serumalbumins keine Giftsubstanz, während (in XLII) eine solche in der beim Coaguliren erhaltenen Flüssigkeit direct nachgewiesen werden konnte. In Versuch XLIII dagegen zeigte sich eine Vertheilung der Giftwirkung auf die Verdauungslösung des coagulirten Albumins und auf das Filtrat und Waschwasser des Coagulums. Man kann dieses Resultat wohl so erklären, dass es nicht in allen Fällen gelingt, das coagulirte Eiweiss ganz frei von Giftsubstanz oder von bei der Verdauung Gift liefernden Substanzen zu erhalten. Das ist auch nicht auffallend, wenn man in Betracht zieht, dass das mir zur Verfügung stehende Serumalbumin eine sehr trübe Lösung bildete<sup>1</sup>), das Filtrat vom Coagulum dagegen klar war. Das auscoagulirte Eiweiss hielt die trübenden Substanzen zurück, es war also nicht reines Eiweiss. Ausserdem war in diesem Fall die Quantität der gleichzeitig injicirten Albumosen nicht unerheblich. Diese durch Amylalkoholbehandlung erhaltenen Albumosen verhalten sich nun, wie oben erörtert, chemisch nicht ganz so, wie gewöhnliche Albumosen, ich halte es für nicht ganz ausgeschlossen, dass dieselben sich auch physiologisch anders verhalten, wie die genuinen Albumosen. — Ob es sich auch in dem letzten Versuch XLVI um eine Giftwirkung handelt, die dann gleichfalls durch die ungenügende Reinheit des Eiweiss zu erklären wäre, oder um eine zufällige Complication, auf welche der Sectionsbefund hindeutet, bleibt zweifelhaft.

Ich schliesse hieran noch zwei in derselben Richtung von Dr. Kumagawa mit Fleisch angestellte Versuche.

#### Versuch XLVII (M. K.).

1 kg frisches Pferdefleisch wurde mit 5 Liter künstlichem Magensaft 24 Stunden bei 40° digerirt. Nach dieser Zeit fand sich nur etwa  $\frac{2}{3}$  des Fleisches gelöst. Weitere Verarbeitung, wie gewöhnlich. Volumen der schliesslich erhaltenen wässrigen Lösung 20 ccm. 2 ccm einem Frosch injicirt. Nach etwa 20 Minuten traten Lähmungserscheinungen ein, jedoch lebte das Thier noch des Abends, am nächsten Tage wurde es tot gefunden. — 2 ccm eingedampft und verascht, die Asche in Wasser gelöst und injicirt: Keine Wirkung.

#### Versuch XLVIII (M. K.).

$\frac{1}{2}$  kg frisches Pferdefleisch wurde gründlich mit heißem Wasser extrahirt. A. Der gut abgepresste Rückstand wurde mit 2 Liter Verdauungs-

<sup>1</sup>) Ueber die Natur dieser Trübung habe ich nicht in's Klare kommen können.

salzsäure und 3 g ausgewaschenem Pepsin 24 Stunden bei 40° digerirt; weitere Verarbeitung, wie gewöhnlich. Die gesammte, schliesslich resultirende Lösung einem Frosch injicirt: Keine Wirkung.

B. Die vereinigten wässrigen Auszüge und Waschwässer eingedampft, mit Alkohol extrahirt, der Alkoholauszug verdunstet, mit Amylalkohol behandelt. Es resultirten schliesslich 5 ccm wässrige Lösung. 2 ccm derselben einem Frosch injicirt, nach etwa 10 Minuten Erschlaffung des ganzen Körpers, Lähmung der Extremitäten, ab und zu Zuckungen, Tod nach 1 Stunde.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass in dem käuflichen Fleisch Substanzen präformirt sind, welche auf Frösche giftig wirken, in den wässrigen Auszug und aus diesem in den Amylalkohol übergehen nach Art von giftigen basischen Substanzen. Befreit man das Fleisch von diesen Substanzen und unterwirft es dann erst der Verdauung, so enthält die Verdauungslösung Nichts von giftigen Producten. Demnach ist man genöthigt, auch die Giftwirkung, welche man erhält, wenn man das Fleisch direct der Verdauung unterwirft, auf das im Fleisch präformirte Gift zu beziehen. Es ist übrigens bemerkenswerth, dass auch hier die Giftwirkung, wie es scheint, durch die Verdauung abgeschwächt wird. Etwas Bestimmtes lässt sich aus den vorliegenden Versuchen darüber nicht entnehmen, weil die Versuche nicht genau parallel angestellt sind.

Ehe ich nun zu einer allgemeinen Betrachtung des Schlussresultates übergehe, mögen hier noch einige vorläufige Angaben über die vielfach erwähnten harzartigen Körper Platz finden, die sich zunächst auf das aus coagulirtem Eieralbumin erhaltene Product beziehen.

Es ist wiederholt erwähnt worden, dass der Amylalkohol- auszug ausnahmslos einen gelben, unter Umständen auch einen bräunlichen, in Wasser unlöslichen harzigen Körper hinterliess. Zur Reinigung wurde der harzige Rückstand nach dem Ausziehen mit Wasser in Alkohol gelöst, die alkoholische Lösung filtrirt, verdampft, der Rückstand in mit Natriumcarbonat alkalisiertem Wasser gelöst, filtrirt, die Lösung mit Salzsäure angesäuert, wobei sich ein bräunlicher flockiger Niederschlag ausscheidet. Der selbe wird abfiltrirt, bis zum Verschwinden der HCl-Reaction im Waschwasser gewaschen, dann auf dem Filter in heissem 90-procentigem Alkohol gelöst, die Lösung im Wasserbad verdun-

stet. Eventuell wird das Lösen in schwachem Alkali u. s. w. noch einmal wiederholt. Die schliessliche Lösung in Alkohol und Verdampfen der Lösung hat nur den Zweck, die Verunreinigung des Präparates mit Papierfasern zu verhüten, die sonst kaum zu vermeiden ist, da der Niederschlag beim Trocknen am Papier festbackt; schliesslich wurde durch Behandlung mit heissem Aether beigemischte Fettsäure bezw. auch Fett entfernt. So dargestellt bildet der Körper oder das Gemisch einen gelben firnissartigen Ueberzug auf der Innenseite der Schale, der äusserst spröde ist und sich daher leicht abkratzen lässt. Nach dem Verreiben in der Reibschale erscheint die Farbe desselben hellgelb. An dem Körper wurden vorläufig folgende Eigenschaften festgestellt:

- 1) Beim Erhitzen erweicht derselbe und schmilzt im Capillarrohr nicht ganz scharf zwischen 165 und 170, schon bei etwa 177 tritt Gasentwicklung ein; über den Schmelzpunkt erhitzt zersetzt er sich unter Bräunung und Entwicklung ammoniakalischer und äusserst widerwärtig, theils nach Amylamin, theils eigenthümlich fäcal riechender Dämpfe, in den kälteren Theilen des Glases bildet sich ein öliges Destillat.
- 2) Beim Erhitzen auf dem Platinblech verbrennt die Substanz mit leuchtender Flamme, ohne Asche zu hinterlassen.
- 3) Die Substanz ist N-haltig und S-haltig.
- 4) Die Substanz ist unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren, Aether; leicht löslich in Alkohol, namentlich beim Erwärmen, sowie in schwacher Alkalilauge, auch in kohlensauren Alkalien. Die alkoholische Lösung trübt sich bei Zusatz von Wasser, allmählich scheidet sich der Körper in Flocken wieder ab. Aus der alkalischen Lösung fällt die Substanz beim Ansäuren wieder aus. Ferner trübt sich die alkalische Lösung bei Zusatz von concentrirter Natronlauge. Dampft man die alkalische Lösung ein, so scheidet sich die Substanz, vielleicht als Natronverbindung, aus.
- 5) In Eisessig löst sich die Substanz leicht mit hellgelber Farbe, die Lösung wird durch Wasserzusatz milchig getrübt.
- 6) In starker Salpetersäure von 1,48 spec. Gew. löst sich die Substanz beim Erwärmen unter Entwickelung von Untersalpetersäure. Die Lösung trübt sich beim Erkalten, wird beim Alkalisiren mit Natronlauge klar und orangefarben.

- 7) Die Substanz giebt keine Biuretreaction.  
 8) Erhitzt man irgend welche Eiweisskörper im trockenen Reagensglas und schiebt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn in das Reagensglas, so färbt sich derselbe kirschoth (Pyrrholreaction). Diese Reaction giebt die Substanz nur unvollkommen.

9) Die Substanz hat schwach giftige Eigenschaften. 0,1 bis 0,15 g in Wasser unter Zusatz von etwas kohlensaurem Natron gelöst, tödtet einen Frosch in einigen Stunden, mitunter erst in 6 Stunden, oder selbst noch später. Der Tod erfolgt unter starker Beeinträchtigung der Motilität, allgemeiner Depression und Paralyse. Nach dem Aufhören der Reflexe auf Reize der Haut und der Cornea findet man das Herz stillstehend.

Die aus den Eiweisskörpern des Fleisches sowie aus dem Fibrin erhaltenen harzigen Substanzen verhalten sich im Wesentlichen ebenso; wenn man Fibrin anwendet, so empfiehlt es sich, dasselbe vorher mehrmals gründlich mit Wasser auszukochen, um beigemischtes Fett und nahestehende Substanzen möglichst zu entfernen.

Was die Entstehung dieser Substanz betrifft — ob es ein chemisches Individuum oder ein Gemisch ist, muss vorläufig dahingestellt bleiben — so liegt es nach den Beobachtungen von v. Udransky<sup>1)</sup>), nach welchen der gewöhnliche Amylalkohol leicht Verharzungsproducte bildet, nahe, auch diese Substanz als durch Verharzung aus dem Amylalkohol selbst gebildet aufzufassen. Gegen diese Annahme spricht der Umstand, dass die Substanz stickstoffhaltig und schwefelhaltig ist, es wäre indessen immerhin nicht unmöglich, dass der Stickstoffgehalt und S-Gehalt nur von einer Beimischung albumosenartiger, in Alkohol löslicher Körper abhängt, deren Abtrennung noch nicht gelungen wäre. Es sprechen aber noch weitere Gründe gegen diese Annahme.

Die Eigenschaft des gewöhnlichen Amylalkohols Verharzungsproducte zu bilden, beruht nach v. Udransky auf dem Gehalt des käuflichen Amylalkohols an Furfurol. Nun war der Gehalt des von mir angewendeten Amylalkohols an Furfurol minimal,

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. XIII. S. 249.

ausserdem aber haben besondere Versuche unter Anwendung eines völlig furfuolfreien Amylalkohols (nach der Vorschrift von Udránsky dargestellt<sup>1)</sup>) ergeben, dass sich bei Anwendung desselben die harzige Substanz gleichfalls bildet.

Dass die Harzbildung nicht von dem Gehalt an Furfurol abhängt, zeigt ausserdem der unverkennbare Geruch nach Amylamin, welcher bei stärkerem Erhitzen der Substanz auftritt: Diese Erscheinung weist darauf hin, dass der Atomcomplex des Amylalkohols in irgend einer Form in der Substanz enthalten ist.

Aus diesen Beobachtungen geht übrigens hervor, dass der Amylalkohol kein so indifferentes Lösungsmittel ist, wie man in der Regel annimmt, dass er vielmehr unter Umständen recht reactionsfähig ist. Es liegen übrigens schon einige Beobachtungen in dieser Richtung vor, so haben Nencki und Sieber<sup>2)</sup> bei der Darstellung von Hämin mit Hülfe von Amylalkohol ein Amylalkoholat des Hämins erhalten<sup>3)</sup>. Diese Thatsachen sind nicht ohne Bedeutung für die Benutzung des Amylalkohols bei forensisch-chemischen Untersuchungen, sie mahnen namentlich zur Vorsicht bei der Verwendung von Fröschen als Reagens auf Gifte und zwar ganz besonders bei der Verarbeitung von Mageninhalt.

Die obigen Angaben über die Eigenschaften des Harzes sind, wie ich nochmals betone, nur vorläufige, es fehlt noch Manches zur genügenden Charakterisirung, vor Allem die Feststellung der Elementarzusammensetzung, die genauere Analyse der Vergiftungssymptome und manches Andere. Ich gehe darauf hier nicht ein, dagegen sei es mir gestattet, noch eine Versuchsreihe anzuführen, welche sich auf die Bedingungen der Bildung des Harzes bezieht. Dieselbe ist im Anschluss an Versuch XXXIII angestellt, in welchem absichtlich die Verdauung zu lange fortgesetzt war, in der Absicht, durch beginnende Fäulniss zu giftigen basischen Substanzen zu gelangen. Dieselbe zeigt gleichzeitig, wie schwierig und langsam die in Wasser lösliche, in bereits fauligen Verdauungslösungen enthaltene, toxische Substanz in den Amylalkohol übergeht, ein Umstand, auf den auch Brieger für sein Peptotoxin hingewiesen hat.

<sup>1)</sup> von Schuchardt in Görlitz bezogen.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. Bd. 17. S. 2267 u. Arch. f. exp. Path. Bd. 18. S. 401.

Versuch XXXIII. (Fortsetzung.)  
 Erste Serie der Amylalkoholauszüge.

Amylalkoholauszug 1.

Der Rückstand, der beim Verdampfen des Alkoholauszuges erhalten war, wurde auf dem Wasserbad 5 Stunden unter häufigem Schütteln mit Amylalkohol behandelt, der Auszug am nächsten Tage abgetrennt und eingedampft. Der Verdampfungsrückstand wurde mit Wasser erhitzt, nach dem Erkalten filtrirt und das Volumen des Filtrates auf 10 ccm gebracht.

a) Das Gewicht des nicht gelösten harzigen Rückstandes<sup>1)</sup> betrug 1,1924 g. — Die Bestimmung der Quantität geschah folgendermassen: Die Schale wurde sorgfältig mit Wasser nachgespült, das Wasser zum Auswaschen des auf das Filter gelangten Harzes benutzt. Dann wurde dieses in heissem Alkohol gelöst, ebenso das in der Schale befindliche Harz, die Lösungen durch das erwähnte Filter filtrirt, mit Alkohol nachgewaschen, der alkoholische Auszug in einer gewogenen Platinschale verdampft, der Rückstand mehrere Stunden bei 110—115° getrocknet.

b) 2 ccm der wässrigen Lösung tödten einen Frosch in einigen Stunden. — Diese Lösung enthielt übrigens, obwohl sie ziemlich klar war, noch ziemlich viel harzige Substanz, die beim Verdampfen der Lösung und Uebergieissen des Rückstandes mit Wasser ungelöst blieb.

Amylalkoholauszug 2.

Auf den vom Amylalkohol nicht gelösten Rückstand im Kolben wurden 100 ccm Amylalkohol gegossen und ebenso behandelt.

a) Gewicht des Harzes 0,304 g.  
 b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm tödten einen Frosch in einigen Stunden.

Amylalkoholauszug 3.

Der im Kolben gebliebene Rückstand wurde mit 100 ccm Amylalkohol übergossen, ebenso behandelt.

a) Gewicht des Harzes 0,3088 g.  
 b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm bewirkten beim Frosch nach 1 Stunde Lähmungserscheinungen, nach 2 Stunden völlige Prostration, am nächsten Tage ist das Thier tott.

Amylalkoholauszug 4.

a) Gewicht des Harzes 0,1570 g.  
 b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm hatten beim Frosch keine Wirkung

Zweite Serie der Amylalkoholauszüge.

Nachdem durch die 4 malige Extraction mit Amylalkohol die toxische Substanz anscheinend völlig erschöpft und die Bildung von Harz auf ein Minimum herabgesetzt war, wurde nunmehr so viel Wasser in den Kolben gegossen, dass eine zähflüssige Lösung entstand und wieder mit 100 ccm Amylalkohol nach einander behandelt.

<sup>1)</sup> natürlich ist dieses nur Rohproduct.

## Amylalkoholauszug 1 (im Ganzen 5).

- a) Gewicht des Harzes 0,6858 g.
- b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm injicirt: langsam auftretende Schwäche; am Abend ist das Thier noch am Leben, reagirt schwach, am nächsten Tage todt gefunden.

## Amylalkoholauszug 2 (im Ganzen 6).

- a) Gewicht des Harzes 0,3476 g.
- b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm injicirt: langsam auftretende Schwäche, die in allgemeine Paralyse übergeht, Tod nach 7 Stunden.

## Amylalkoholauszug 3 (im Ganzen 7).

- a) Gewicht des Harzes 0,0438 g.
- b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm injicirt, keine Wirkung.

Es war also gelungen, der scheinbar entgifteten Masse auf's Neue toxische Substanz zu entziehen, dadurch, dass man der zu extrahirenden Substanz Wasser zusetzte und auf's Neue mit Amylalkohol behandelte. Ebenso bildete sich auf's Neue harzige Substanz, jedoch weniger, als in der ersten Reihe. Im Ganzen sind in der ersten Reihe gebildet 1,9622 g, in der zweiten 1,0772 g. Ich bemerke ausdrücklich, dass diese Quantitäten aus 1 kg feuchtem Fibrin = rund 200 g Eiweiss ungewöhnlich hohe sind. Es kommt dabei in Betracht, dass das gewogene Harz ein Rohproduct darstellte und dass das Fibrin nicht durch Auskochen gereinigt war. Möglicherweise hat auch die lange Dauer der Verdauung und die beginnende Fäulniss steigernd auf die Ausbeute an harziger Substanz eingewirkt.

## Dritte Serie der Amylalkoholauszüge.

## Amylalkoholauszug 1 (im Ganzen 8).

Nachdem nun wiederum anscheinend Entgiftung erreicht war, wurden zu dem Rückstand 100 ccm Wasser gegossen und mit 100 ccm Amylalkohol behandelt.

- a) Harzige Substanz ziemlich viel; Gewicht leider nicht notirt.
- b) Wässrige Lösung = 10 ccm. 2 ccm injicirt: Keine Wirkung. Die restirenden 8 ccm verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst, wobei harzige Substanz ungelöst bleibt, die ganze Lösung injicirt: geringe Abschwächung der Motilität, das Thier bleibt am Leben.

## Amylalkoholauszug 2 (im Ganzen 9).

Der Amylalkoholauszug in 2 gleiche Theile getheilt, jeder für sich verdampft.

- a) Der Verdampfungsrückstand mit wenig Wasser erhitzt, die eben erkaltete, milchig trübe Lösung einem Frosch injicirt: nach etwa 15 Minuten starke Beeinträchtigung der Motilität, nach 1 Stunde völlige Lähmung, nach 4 Stunden todt.

b) Normales Verfahren. Die ganze schliesslich erhaltene Lösung injiziert: Keine deutlichen Symptome, das Thier bleibt leben.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor:

1) dass die giftige basische Substanz, wenn sie in Folge der Verwendung von bereits fauligem Material oder zu langer Fortsetzung der Verdauung vorhanden ist, nur äusserst langsam von Amylalkohol aufgenommen wird und dass der Uebergang derselben in den Amylalkohol durch die Gegenwart eines Ueberschusses von Wasser befördert wird, ja eine gewisse Quantität Wasser direct erfordert.

2) dass auch die harzigen Substanzen entweder zu ihrer Bildung oder zu ihrem Uebergang in den Amylalkohol einer gewissen Quantität Wasser bedürfen.

3) endlich, dass bei einem etwas sorglosen Verfahren zur Prüfung des durch Verdampfen des Amylalkohols erhaltenen Rückstandes auf etwaige Giftwirkung leicht eine Giftwirkung vorgetäuscht werden kann durch Reste von Amylalkohol, die in dem scheinbar trockenen Rückstand noch vorhanden sind, und durch beigemischte harzige Substanzen.

Vergegenwärtigen wir uns noch einmal die Resultate der vorstehenden Untersuchung, soweit sie sich auf die Entstehung giftiger basischer Substanzen bei der Eiweissverdauung beziehen, so ergiebt sich Folgendes:

Sämtliche Versuche mit Blutfibrin, Eieralbumin, den Eiweisskörpern des Blutserum und des Fleisches sind negativ ausgefallen, mit Ausnahme eines einzigen Versuches, der sich auf ungereinigtes Blutfibrin bezieht. Wie dieser eine positiv ausgefallene Versuch zu erklären sei, ist schon früher erörtert. Andererseits ist es gelungen, scheinbar positive Resultate zu erhalten bei Verwendung von bereits gefaultem Fibrin, von frischem Fleisch, sowie bei der absichtlich zu lange — 6 Tage — bis zur Entwicklung von Mikroorganismen hingezogenen Digestion. Was den positiven Erfolg in letzterem Falle betrifft, so hat man allen Grund, die Bildung von Fäulnissbasen anzunehmen. Für den ersten Fall — faules Fibrin und frisches Fleisch — hat sich mit Bestimmtheit nachweisen lassen, dass das Gift in den angewendeten Materialien bereits präformirt war,

somit mit dem Verdauungsvorgang als solchem nichts zu thun hat. Dieser Nachweis ist in doppelter Weise geführt worden, erstens dadurch, dass sich in dem Auszug von bereits faulem Fibrin, sowie von frischem Fleisch in Amylalkohol lösliche toxische Substanzen fanden, zweitens dadurch, dass dasselbe faulige Fibrin, welches direct verdaut Toxin lieferte, dieses nicht mehr that, nachdem es vorher gründlich mit Wasser bezw. angesäuertem Wasser ausgekocht war. Dasselbe gilt für das frische Fleisch: auch das von wasserlöslichen Körpern befreite Fleisch liefert kein Toxin. Wir kommen somit zu dem Schlussresultat, dass bei der Pepsinverdauung des Eiweiss eine in Wasser und Amylalkohol lösliche, nach den von Brieger für das Fibrin gemachten Angaben isolirbare giftige Substanz nicht entsteht oder mit anderen Worten, dass es ein Peptotoxin<sup>1)</sup> im Sinne Brieger's nicht gibt.

Man könnte nun vielleicht meinen, unsere — negativ ausfallenen — Versuche seien mit besonderen antiseptischen Cautelen angestellt. Das ist indessen nicht der Fall: sie sind nicht unter antiseptischen Cautelen, sondern nur so weit reinlich angestellt, wie dieses im chemischen Sinne erforderlich und üblich ist. Die zur Aufnahme der Mischungen dienenden Glasstöpsel-flaschen<sup>2)</sup> waren nicht sterilisiert, sondern nur in üblicher Weise

<sup>1)</sup> Merkwürdiger Weise sagt Brieger auf S. 17 seiner Monographie:

„Dieselbe toxische Substanz wird auch aus gefaulten Eiweisskörpern, wie Fibrin, Casein, Gehirnsubstanz, Leber, Muskelfleisch gebildet.“

Dieser Auspruch, welcher eine Identificirung eines bei Verdauung entstehenden Toxins mit den durch Fäulniss aus verschiedenen Materialien gebildeten giftigen Substanzen enthält, ist unverständlich im Hinblick darauf, dass Brieger im weiteren Verfolg in derselben Monographie (und zwar im ersten Theil derselben) die Isolirung einer ganzen Reihe giftiger und ungiftiger Basen aus faulenden Gemischen beschreibt, so des von ihm entdeckten Neuridin und Gadinin, ferner des Neurin und Aethylendiamin. Möglicherweise ist dieser Passus irrtümlich aus der Abhandlung von Brieger in der Zeitschr. f. physiol. Chem. VII. S. 274—281 mit herübergenommen. Jedenfalls ist es eine logische Notwendigkeit, nach der Auffindung specifischer Fäulnissbasen die Bezeichnung „Peptotoxin“ auf die bei der Verdauung als solcher etwa entstehenden Toxine zu beschränken.

<sup>2)</sup> Nur die Versuche XXXII und XXXIII sind in offenen Cylindern angestellt.

gereinigt, bei der Einbringung des Eiweisses in die Gefässse wurde die Berührung desselben mit den Fingern nicht vermieden, das destillirte Wasser, welches zur Herstellung der Verdauungssalzsäure diente, war nicht sterilisirt. Es ist also wohl nicht zu bezweifeln, dass in die Verdauungsmischungen vereinzelte Bakterien und Sporen hineingelangt sind<sup>1)</sup>: bei der seit langer Zeit bekannten antiseptischen (entwickelungshemmenden) Wirkung der Salzsäure von der angewendeten Concentration, auch bei Gegenwart von Pepsin, war dieser Umstand offenbar für die kurze Dauer der Versuche bedeutungslos, zu einer Entwicklung dieser vereinzelten Bakterien und Sporen kam es innerhalb der gewöhnlichen Zeit unter diesen Umständen offenbar nicht, mindestens bildeten sie nicht Stoffwechselprodukte in greifbarer Menge. Unsere — negativ ausgefallenen — Versuche sind also nicht in einer von dem gewöhnlichen Modus procedendi abweichenden Weise angestellt worden, sondern nur mit derjenigen Sauberkeit, welche man bei chemischen Arbeiten anzuwenden pflegt.

Durch unsere Versuche ist nun allerdings nicht positiv die Möglichkeit ausgeschlossen, dass es nicht vielleicht auf einem anderen Wege gelingen könnte, aus den Verdauungslösungen eine toxisch wirkende Substanz zu isoliren. Es ist naturgemäss sehr schwer, ja fast unmöglich, eine solche Möglichkeit mit Bestimmtheit auszuschliessen; nach dem allgemeinen Verhalten der hier in Betracht kommenden organischen Basen ist diese Möglichkeit aber doch minimal zu nennen. Nimmt man nun hinzu, dass nach den bereits früher erwähnten Versuchen von Kühne und Politzer, so wie den neuesten Versuchen von Neumeister<sup>2)</sup> auch die durch wiederholte Fällungen u. s. w. rein dargestellten Albumosen und Peptone bei directer Einführung in die Blutbahn giftig wirken — in den Versuchen von Neumeister tödtete bei Einspritzung in die Vena jugularis 1,0 g Protalbumose einen jungen Hund von 2 kg Körpergewicht in einer Stunde; 3,5 g Heteroalbumose ein Kaninchen von 3 kg in einer Viertel-

<sup>1)</sup> Nur 2 Mal habe ich am Ende des Versuches je eine Platinöse auf Nährgelatine im Röhrchen übergeimpft: einmal (Versuch XXXVI) erwies sich die Mischung steril, einmal XXXVII nicht.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Biol. Bd. 24. S. 284.

stunde; 3,0 g Protalbumose ein Kaninchen von 2 kg in 6 Stunden — so wird man sich der Schlussfolgerung nicht entziehen können, dass die toxische Wirkung der Albumosen und Peptone, wenn dieselben in grösserer Quantität in das Blut gelangen, diesen Körpern selbst angehört und nicht von einer beigemischten Substanz, einem gleichzeitig als Neben-product entstandenen Toxin abhängt, eine Anschauung, die vor Brieger von keiner Seite bezweifelt worden ist. Es ist nun für den Organismus durchaus nicht gleichgültig, ob die Albumosen und Peptone an sich giftig wirken oder in Folge ihres Gehaltes an einem leicht löslichen Gift.

Man nimmt jetzt allgemein nach Fr. Hofmeister's Vorgang an, dass die Albumosen und Peptone nicht als solche in das Blut zurückkehren, sondern bereits in der Magen- bzw. Darmwand eine Umwandlung in Eiweiss erfahren. Wenn die Albumosen und Peptone nun an sich giftig sind, so geht diese Eigenschaft bei der Umwandlung verloren und das Gift gelangt gar nicht in die Circulation, die Giftigkeit der Verdauungsproducte ist dann für den Organismus in jedem Falle bedeutungslos. Anders dagegen, wenn die toxische Substanz neben den Albumosen und Peptonen als chemisches Individuum existirt, diesen nur mechanisch beigemischt ist. Eine solche leicht lösliche Substanz würde ohne Zweifel resorbirt werden und im Organismus ihre mindestens nicht nützlichen Wirkungen entfalten müssen. Thatsächlich ist dieses also nicht der Fall, es liegt in der Peptonisirung des Eiweisses kein den Organismus schädigendes Moment. Die Feststellung dieser Thatsache ist auch von allgemeinem Werth für unsere Naturerkenntniss. Es würde sehr schwer sein, für die Zweckmässigkeit der Bildung löslicher Gifte bei der Peptonisirung des Eiweisses eine annehmbare Erklärung zu finden, diese Schwierigkeit ist mit dem Nachweis, dass solche Gifte nicht entstehen, aus dem Wege geräumt.