

## XIII.

## Zur Kenntniss der Synovia, insbesondere des mucinähnlichen Körpers derselben.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts  
zu Berlin.)

Von Prof. E. Salkowski.

Der Güte meines verehrten Collegen, des Herrn Professor Jul. Wolff verdanke ich eine verhältnissmässig grosse Quantität des Inhaltes eines Hüftgelenks von einem Falle von chronischer Coxitis, welche, abgesehen von einem Gehalt an Cholesterin, sich wie normale Synovia verhielt. Da derartige Flüssigkeiten verhältnissmässig wenig untersucht sind, habe ich geglaubt, diese Gelegenheit zu einer etwas eingehenderen Untersuchung nicht unbenutzt vorübergehen lassen zu sollen.

Die mir von Herrn Prof. Wolff freundlichst zur Verfügung gestellte Krankengeschichte lautet folgendermaassen:

Pat., 21 Jahre alt, Landwirth, aufgenommen den 14. Juni 1892.

Erkrankung angeblich vor 5 Jahren mit Schmerzen im Hüftgelenk, die das Gehen sehr erschwerten, später fast unmöglich machten. Schmerzen im Knie sollen nie vorhanden gewesen sein. Andere Angaben weiss Pat. nicht zu machen.

Status praesens: Grosser, hagerer Mann von blasser Gesichtsfarbe. Linker Oberschenkel gebeugt, abducirt und einwärts gerollt; linkes Knie gebeugt. Bei horizontaler Lage und gestrecktem Knie starke Lordose. Verkürzung um  $2\frac{1}{2}$  cm gegenüber dem rechten Bein. Im oberen Drittel des Oberschenkels an der Seitenfläche weiche fluctuirende Geschwulst. — Gang nur an Krücken möglich.

Krankengeschichte: 20. Juni. Punction seitlich und unterhalb des Troch. major. Entleerung von  $\frac{3}{4}$  Liter einer gelben, atlasglänzenden Flüssigkeit. Injection von 10 g Jodoformglycerin. Extensionsverband (8 Pfund). Die mikroskopische Untersuchung ergibt, dass die Flüssigkeit ausser wenigen rothen und weissen Blutkörperchen zahllose Cholesterinkristalle enthält. Letztere sind besonders, wenn man die Flüssigkeit umschüttelt, als glänzende Plättchen mit blossem Auge erkennbar.

24. Juni. Neue Punction, durch die jedoch keine Flüssigkeit entleert wird, der Zug des Verbandes ist zu stark, Pat. klagt über Schmerzen. Herausnahme von 2 Pfund.

5. Juli. Modell zum Apparat (portativer, das Umhergehen ohne directes Auftreten mit dem Fuss der kranken Extremität gestattender, zugleich die Bewegungen im Kniegelenk gestattender Apparat).

20. Juli. Das linke Knie ist geschwollen. Tanzen der Patella. Punction, durch die etwa 30 g seröser klarer Flüssigkeit entleert wird. Kleiner Verband. Entlassung an demselben Tage. Pat. vermag mit dem Apparat ohne weitere Stütze zu gehen. — Fieber trat während des ganzen Verlaufes nicht auf.

Im November 1892 hat sich Pat. wieder in der Klinik vorgestellt. Er geht recht gut mit seinem Apparat. Das Hüftgelenk ist noch immer fast vollkommen fixirt und es entstehen bei dem Versuch passiver Bewegung des Gelenkes Schmerzen. Keine Spur einer neuen Ansammlung der im Juni entleerten Flüssigkeit. Auch das Kniegelenk ist vollkommen frei.

Die äusseren Erscheinungsformen und die Reactionen der Flüssigkeit waren folgende:

Honiggelbe Flüssigkeit, welche einen atlasartigen Glanz zeigt in Folge dichter Erfüllung mit Cholesterinkrystallen. — Ziemlich dünne Consistenz, jedoch Neigung zur Fadenbildung beim Umgiesen. Reaction ziemlich stark alkalisch; Specifisches Gewicht 1020.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt fast ausschliesslich wohlausgebildete Cholesterinkrystalle, daneben nur äusserst spärliche Leukocyten und wenig körnige amorphe Masse, vereinzelte rothe Blutkörperchen.

Die Flüssigkeit filtrirte nach mehrmaligem Zurückgiessen auf das Filter vollständig klar. — Das klare Filtrat zeigte folgendes Verhalten:

1) Beim Erhitzen zum Sieden erstarrte die Flüssigkeit fast vollständig unter Bildung eines weissen Gerinnsels.

2) Bei Zusatz von Essigsäure entsteht eine zähe schleimige Fällung, welche sich nur langsam von der Flüssigkeit trennt, beim Stehen allmählich flockig wird (Mucin oder Nucleoalbumin), die Filtration erfolgt sehr langsam. Das Filtrat von der Essigsäurefällung giebt beim Erhitzen zum Sieden unter Zusatz von Chlornatriumlösung reichliche Coagulation, enthält also Albumin-substanzen.

3) Beim Einleiten von Kohlensäure in die auf das 3fache Volumen verdünnte Lösung entsteht Trübung, dann allmählich

sehr geringer flockiger Niederschlag. Eine Probe der getrübten Flüssigkeit wird auf Zusatz einer Spur Natronlauge momentan wieder klar (deutet auf Alkalialbuminat oder Globulin). Das Filtrat von der durch  $\text{CO}_2$  bewirkten Fällung wird durch Essigsäurezusatz gefällt.

4) Mineralsäuren geben dicke Niederschläge.

5) Beim Erhitzen des auf das 5fache verdünnten Filtrates zum Sieden unter Herstellung ganz schwacher saurer Reaction durch stark verdünnte Schwefelsäure (Viertelnormalsäure) scheidet sich sämmtliches Eiweiss flockig ab, das Filtrat ist ganz klar, es enthält also kein Paralbumin (Pseudomucin), wie es in Ovarialcysten vorkommt. Es giebt mit Essigsäure keine Trübung, das Mucin oder Nucleoalbumin ist also beim Kochen mit den Eiweisskörpern mit ausgefällt. Das Filtrat giebt ferner keine Biuretreaction, auch nicht nach starkem Eindampfen, die Flüssigkeit ist also frei von Albumosen und Pepton.

Ueber die weitere qualitative Untersuchung wird weiter unten berichtet werden, es sei hier nur das Resultat der Untersuchung zusammengefasst. Danach ergeben sich als Bestandtheile der Flüssigkeit:

Mucinartige Substanz — lösliches Eiweiss, (wohl Serumalbumin) — Spuren von Alkalialbuminat oder Globulin — Cholesterin — Fett — Lecithin — Lutein — Spuren von Seifen — anorganische Salze. Mit negativem Resultat wurde untersucht auf Paralbumin — Albumosen — Pepton — reducirendes Kohlehydrat.

Die quantitativen Bestimmungen ergeben Folgendes:

1) Zur Bestimmung des Trockengehaltes wurden 5,9132 g eingedampft und bei  $115^\circ$  bis zu constantem Gewicht getrocknet. Erhalten 0,4137 g = 6,837 pCt.

2) Beim Veraschen dieses Rückstandes wurde erhalten 0,0487 Asche = 0,849 pCt., somit 5,988 pCt. organische Trockensubstanz. In der Asche überwogen bei weitem die Chloride. Auf Chlornatrium berechnet betrugen dieselben (die Hälfte der Lösung mit Silberlösung titirt) 0,772 pCt. Im Uebrigen wurden in der wässrigen Lösung der Asche noch Phosphorsäure und Schwefelsäure gefunden, im unlöslichen Theil Calciumphosphat.

2) Zur Gesamt-N-Bestimmung wurden 5,345 g nach Kjeldahl behandelt. Vorgelegt wurden 25 ccm Viertelnormalschwefelsäure. Zurücktitirt wurde mit Barytwasser, von welchem 14,15 ccm 10 ccm Viertelnormalsäure entsprachen. Zum Zurücktitiren gebraucht 17,4 ccm Barytwasser. Daraus

berechnen sich durch Multiplication des Stickstoffs mit 6,25: 0,2779 g Eiweiss = 5,199 pCt. Zieht man diese Zahl von dem oben ermittelten organischen Trockenrückstand ab, so bleiben noch 0,789 pCt. organischer, nicht dem Eiweiss zugehöriger Substanz.

4) Zur Bestimmung von Cholesterin und Fett wurden 50 ccm = 51,0 g der genuinen Flüssigkeit mit einem Gemisch von 5 Vol. Aether und 1 Vol. Alcohol absolut. wiederholt geschüttelt, der Aetherauszug abdestillirt, bezw. verdunstet. Der Rückstand bei 80° getrocknet = 0,4424 g wurde zur Trennung von Fett und Cholesterin mit alkoholischer Kalilauge verseift, verdampft u. s. w., mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherauszug hinterliess 0,2902 g bei 100° getrocknetes, fast reines, weisses Cholesterin von Schmelzpunkt 146°. Die alkalische Lösung angesäuert, giebt an Aether Fettsäuren ab, in welchen jedoch durch Schmelzen mit Soda und Salpeter Phosphorsäure nachweisbar ist, wahrscheinlich abhängig von einem Gehalt des Fettes an Lecithin.

Nach den angeführten Zahlen berechnet sich folgende Zusammensetzung:

100 g enthalten in Gramm:	
Mucinartige Substanz	0,375 <sup>1)</sup>
Sonstige Eiweisskörper	4,824
Fett . . . . .	0,282
Lecithin . . . . .	0,017 <sup>2)</sup>
Cholesterin . . . . .	0,569
Anorganische Salze .	0,849, darunter Chlornatrium 0,772
Wasser . . . . .	93,084.

Der organische Trockenrückstand berechnet sich hiernach zu 6,067 g, während die directe Bestimmung nur 5,988 g ergeben hat. Die Differenz = 0,079 g für 100 g Flüssigkeit rührt ohne Zweifel davon her, dass nicht aller Stickstoff in derselben die Form von Eiweiss hat, wie die obige Berechnung voraussetzt. Dieselbe Differenz = 0,079 g ergibt sich natürlich auch zwischen der Summe der einzelnen Bestandtheile einschliesslich der Asche = 6,916 g, während die Bestimmung des Gesamttrockenrückstandes nur 6,837 g ergeben hat. Die Differenz ist übrigens gering und zeigt, dass ein wesentlicher Gehalt an N-haltigen Extractivstoffen der Flüssigkeit nicht zukommt.

Zur näheren Feststellung der Natur der mucinartigen Substanz, sowie zur Feststellung der organischen Bestandtheile ausser

<sup>1)</sup> und <sup>2)</sup> Ueber die quantitative Bestimmung der mucinartigen Substanz und des Lecithins siehe weiter unten. Die Bestimmung der mucinartigen Substanz ist nur annähernd. Die Zahl für die „sonstigen Eiweisskörper“ ist durch Subtraction von der Zahl für Mucin von dem Gesamteiweiss erhalten.

den oben schon besprochenen Eiweisskörpern wurden Antheile der Flüssigkeit folgendermaassen bearbeitet.

1) 120ccm der ursprünglichen Flüssigkeit wurden mit Essigsäure angesäuert, der gelbliche Niederschlag am nächsten Tage abfiltrirt und ausgewaschen, in Wasser unter Zusatz einer Spur Natronlauge gelöst, filtrirt, nachgewaschen, durch Essigsäurezusatz wieder ausgefällt, sofort filtrirt, erst mit Wasser, dann mit verdünntem, dann mit absolutem Alkohol gewaschen, vom Filter abgenommen, mit Alcohol absolut. verrieben, stehen gelassen, abfiltrirt, dann unter Aether gebracht, stehen gelassen, abfiltrirt, mit Aether gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Die Operation war ohne wesentlichen Verlust ausführbar. Das kreidig-weiße Präparat „A“ wog 0,45 g.

Der alkoholische Auszug wurde verdunstet, der Rückstand mit Chloroform übergossen, worin er sich klar löste. Die Lösung zeigte bei der spectroscopischen Untersuchung die beiden charakteristischen Absorptionsstreifen des Luteins im Blau des Spectrums. Ein Theil der Chloroformlösung wurde mit Salpetersäure versetzt: schnell vorübergehende Blaufärbung, dann Entfärbung. Ein anderer Theil wurde mit einer Lösung von Natriumcarbonat geschüttelt: der Farbstoff geht nicht in die alkalische Lösung über. Durch diese Reactionen ist im Verein mit dem spectroscopischen Verhalten Lutein nachgewiesen.

2) 80 ccm der filtrirten Flüssigkeit wurden genau in derselben Weise behandelt, die Alkohollösung jedoch nicht weiter untersucht: Präparat B.

3) Wiederholt wurden kleine Antheile der filtrirten Flüssigkeit mit Essigsäure gefällt, der gewaschene Niederschlag noch feucht mit Salzsäure von 7,5 pCt. HCl einige Minuten gekocht, dann die Trommer'sche Probe angestellt: keine Reduction.

4) 300 ccm wurden in 1200 ccm Alcohol absolut. gegossen, in einer verschlossenen Flasche gut durchgeschüttelt und so aufbewahrt.

Von dieser Mischung wurden nach jedesmaligem gutem Durchschütteln einzelne Proben abgemessen.

a) 500 ccm = 100 ccm Synoviaflüssigkeit wurden abfiltrirt, mit Alcohol nachgewaschen, Filtrat + Waschalkohol eingedampft, der Rückstand vor dem völligen Verdunsten zur Trockne mit Wasser aufgenommen und wiederholt mit Aether geschüttelt.

aa) Der Aetherauszug verdunstet, mit einem Gemisch von 3 Th. Kali-

salpeter und 1 Th. Natriumcarbonat geschmolzen, in der Schmelze  $P_2O_5$  bestimmt durch Erhitzen mit Salpetersäure, Eindampfen, Zusatz von molybdänsaurem Ammon u. s. w. Erhalten 0,0024 pyrophosphorsaure Magnesia. Daraus berechnet sich 0,0175 Lecithin in 100 ccm Synoviaflüssigkeit.

bb) Die wässrige Lösung wurde in 2 Theile getheilt. Ein Theil mit Salzsäure versetzt: Trübung, welche beim Schütteln mit Aether verschwindet; beweist Spuren von Seifen in der Flüssigkeit. Ein Theil mit Fehling'scher Lösung erhitzt, keine Reduction. Reducirende Kohlehydrate somit nicht in der Synoviaflüssigkeit vorhanden.

Die abgepressten, alkoholfuchten Eiweisskörper wurden in ganz verdünnter Lösung von Natriumcarbonat gelöst (Lösung nicht klar, unvollständig), filtrirt, die Lösung durch Essigsäure gefällt, filtrirt, gewaschen. Der feuchte Niederschlag wird in künstlichem Magensaft durch anhaltendes Schütteln gelöst. Die Lösung ist stark trüb. Nach 24stündiger Digestion hat sich die Flüssigkeit geklärt unter Ausscheidung eines Niederschlages. Derselbe erweist sich, durch Alkohol und Aether entfettet, durch Schmelzen mit Kalisalpeter + Natriumcarbonat als frei von Phosphor.

b) 400 ccm des Gemisches, entsprechend 80 ccm Synovia, abfiltrirt, nachgewaschen. Das rückständige Eiweiss mit verdünntem Barytwasser verrieben, einen Tag stehen gelassen, dann filtrirt. Filtrat mit Essigsäure versetzt; geringer Niederschlag. Dieser abfiltrirt, gewaschen (geht sehr langsam), mit Alkohol und Aether entfettet: Präparat C.

c) 300 ccm des Gemisches = 60 ccm Synoviaflüssigkeit, filtrirt, mit Alkohol gewaschen, abgepresst: Präparat D.

Das Hauptinteresse bezüglich der Zusammensetzung der Flüssigkeit beansprucht offenbar die Natur des mucinartigen Körpers. Liegt hier Mucin oder Nucleoalbumin vor oder überhaupt eines von beiden?

Man hat früher unbedenklich das Vorhandensein von Mucin angenommen, sobald man auf einen durch Essigsäure fällbaren im Ueberschuss nicht löslichen Eiweisskörper von den physikalischen Eigenschaften der Schleimsubstanz stiess. Dieser Standpunkt musste verlassen werden, als es sich zeigte, dass Körper von den angegebenen Eigenschaften sehr wesentliche Differenzen zeigten.

Abgesehen davon, dass, worauf Kossel<sup>1)</sup> neuerdings hingewiesen hat, Nuclein bzw. Nucleinsäure (jedoch nicht das Nuclein der Hefe) sich bei der Einwirkung von Ammoniak, z. Th. auch von starker Kochsalzlösung in eine schleimige Gallerte umwandelt — dass der sog. Schleim bei manchen Blasenkatarrhen auf

<sup>1)</sup> Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 48.

die Einwirkung von Ammoniak auf den Eiter zurückzuführen sei, ist schon lange bekannt, die Erscheinung jedoch in ihren Ursachen nicht erkannt — abgesehen hiervon, weiss man jetzt, dass die Fällbarkeit durch Essigsäure, zum Theil auch die schleimige Consistenz mit dem Mucin oder richtiger den Mucinen auch manche Nucleoalbumine theilen. Die Mucine sind dadurch charakterisirt, dass sie beim Erhitzen mit Säuren zuckerartige alkalische Kupferlösung reducirende Substanz liefern und phosphorfrei sind, ebenso wie das nicht durch Essigsäure fällbare Pseudomucin (Paralbumin) der Ovarialcysten, die Nucleoalbumine sind dadurch charakterisirt, dass sie keine reducirenden Substanzen geben, dagegen phosphorhaltig sind.

Das war bis vor Kurzem der neu gewonnene Standpunkt. Führt man die Prüfung auf Bildung reducirender Substanz und Phosphorgehalt mit den nöthigen Cautelen aus, von denen später die Rede sein wird, so konnte man leicht entscheiden, ob ein durch Essigsäure fällbarer Eiweisskörper ein Mucin oder Nucleoalbumin ist oder ein Gemisch von beiden.

Seit Kurzem ist nun aber ein neues complicirendes Moment hinzugetreten.

Nachdem Kossel<sup>1)</sup> beim Kochen von aus Hefe dargestelltem Nuclein bzw. der aus diesem erhaltenen Nucleinsäure u. A. einen Körper erhalten hat, welcher nach seinem chemischen Verhalten in das Gebiet der Kohlehydrate gehört, hat dann G. Walter<sup>2)</sup> (unter Kossel's Leitung) gefunden, dass das von ihm aus dem Ichthulin<sup>3)</sup> dargestellte Nuclein bzw. Paranuclein<sup>4)</sup> beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure (1:5) ein Kohlehydrat liefert, welches eine starke Zuckerreaction giebt. Es gelang Walter auch durch Erhitzen der reducirenden Substanz mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat das entsprechende Osazon in gut

<sup>1)</sup> Du Bois-Reymond's Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abth. 1891. S. 181.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. XV. S. 477.

<sup>3)</sup> aus Karpfeneiern dargestellt.

<sup>4)</sup> Kossel hat den sehr zweckmässigen Vorschlag gemacht, diejenigen Nucleine, welche bei der Spaltung mit Säuren keine Xanthinbasen liefern, Paranucleine zu nennen, zum Unterschied von den eigentlichen Nucleinen, welche aus den Zellkernen stammen und ausnahmslos Xanthinbasen liefern.

ausgebildeten Krystallnadeln zu erhalten, so dass an der Zuckernatur der reducirenden Substanz nicht zu zweifeln ist.

Weiterhin berichtete dann Lillienfeld<sup>1)</sup> über einen von ihm in der Thymusdrüse entdeckten Nucleinkörper, von ihm Nucleohiston genannt und erwähnte in dieser vorläufigen Mittheilung kurz, dass die aus demselben dargestellte Nucleinsäure als Spaltungsprodukt u. A. ein Kohlehydrat liefert.

Damit ist die Gefahr von Verwechslungen sehr nahe gerückt. Wenn das Nuclein und Paranuclein beim Kochen mit Säure Zucker liefert bezw. ein reducirendes Kohlehydrat, so ist dieses auch für das Nucleoalbumin wahrscheinlich, da dieses sich beim Kochen mit Säure in Nuclein und Albumin spaltet, man würde also, wenn man sich an die oben ausgesprochenen Kriterien für Mucin und Nucleoalbumin hält, Gefahr laufen, ein Gemisch von Mucin und Nucleoalbumin anzunehmen, wo thatsächlich nur ein Nucleoalbumin vorliegt oder mit anderen Worten: das wesentlichste Kriterium für das Mucin, die Bildung reducirender Substanz beim Erhitzen mit Säuren ist durch die obigen Angaben aufgehoben.

Es fragt sich nun, ob diese Gefahr in der That so gross ist, wie sie beim ersten Anblick zu sein scheint oder ob nicht vielleicht das Mucin die reducirende Substanz schon unter Bedingungen liefert, unter denen die Abspaltung von Kohlehydraten aus dem Nuclein bezw. Nucleoalbumin noch nicht stattfindet. Diese Frage konnte nur durch Versuche an Mucin (und Pseudomucin) einerseits und einer Anzahl von Nucleoalbuminen andererseits entschieden werden.

Diese Versuche waren gleichzeitig der speciellen hier vorliegenden Aufgabe anzupassen, welche dahin ging, die Natur des mucinartigen Körpers aus der Synovia festzustellen, d. h. sie mussten mit einer sehr kleinen Quantität Substanz und mit den betreffenden Eiweisskörpern in trockner Form vorgenommen werden, da der aus der Synovia hergestellte Körper, abgesehen von den bereits mit der Essigsäurefällung angestellten Versuchen, nur noch in dieser Form zur Verfügung stand.

<sup>1)</sup> Verh. d. physiol. Ges. 1891/92. No. 11. Sitzung vom 1. April 1892. sowie No. 16 vom 22. Juli 1892. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abth. 1892. S. 550.



Ich habe nun eine Anzahl von Versuchen mit Mucin, Pseudomucin und einigen Nucleoalbuminen angestellt, welche grösstentheils zu dem Zweck frisch dargestellt wurden.

Ehe ich dieselben anführe, wird es nothwendig sein, mit einigen Worten auf die bei der Prüfung auf Phosphorgehalt und Bildung reducirender Substanz erforderlichen Vorsichtsmaassregeln einzugehen.

Wenn ein Eiweisskörper darauf geprüft werden soll, ob er beim Erhitzen mit Säuren eine reducirende Substanz liefert, so muss er natürlich frei sein von reducirenden Kohlehydraten und solchen Kohlehydraten, welche ihrerseits beim Erhitzen mit Säuren in Zucker übergehen. Die Reinheit nach dieser Richtung ist durch die Darstellung der in Frage kommenden Substanzen hinlänglich garantirt, wie sich aus dem bei den einzelnen Körpern angegebenen Wege der Darstellung ohne Weiteres ergibt.

Der Nachweis des Phosphorgehalts wird bei den in Rede stehenden Substanzen in der Regel so geführt, dass man dieselben oxydirt und dann die entstandene Phosphorsäure nachweist. Ich will nicht behaupten, dass dieser Weg der einzig hier mögliche ist, aber er ist der allgemein übliche. Der Nachweis der Phosphorsäure ist nun selbstverständlich nur dann beweisend für einen Gehalt an organischen Phosphor, wenn es feststeht, dass die Substanz frei ist von präformirter Phosphorsäure in Form von Salzen. Diese Bedingung ist nun nicht so leicht zu erfüllen. — Alkaliphosphate sind durch die Art der Darstellung der in Frage kommenden Substanzen allerdings ausgeschlossen oder so gut wie ausgeschlossen, Calciumphosphat, Magnesiumphosphat und Ferriphosphat sind aber nicht so leicht auszuschliessen. Allerdings sind die hier untersuchten Eiweisskörper stets in schwacher Natriumcarbonatlösung oder ganz schwacher Natronlauge aufgelöst und durch Essigsäure im Ueberschuss gefällt worden. Nach den gewöhnlichen Löslichkeitsgesetzen sollte dieses Verfahren vollkommen ausreichen, um eine Beimischung von Erdphosphaten und Ferriphosphaten zu verhindern, aber es ist bekannt, dass die Löslichkeitsverhältnisse dieser anorganischen Bestandtheile sich in eiweisshaltigen Lösungen wesentlich anders gestalten und nicht zu verwundern, dass dieselben sich doch öfters spurweise in der mit möglichster Sorgfalt hergestellten

Substanz vorfinden. Man muss daher stets mit diesem Factum rechnen und jedesmal prüfen, ob die zu untersuchende Substanz mehr, als minimale Spuren der genannten anorganischen Bestandtheile enthält. Diese Prüfung kann auf 2 Wegen ausgeführt werden. Entweder man verascht eine gewogene Quantität der bei 120° getrockneten Substanz und wägt die zurückbleibende Asche. Ist sie unwägbare oder nicht mehr, wie etwa 1mg bei 0,3—0,4 g Substanz, so kann man über diesen Punkt beruhigt sein. Allein die Veraschung hat sehr grosse Unbequemlichkeiten, die Kohle phosphorhaltiger Substanz leistet der Verbrennung ausserordentlichen Widerstand und die Platingefässe leiden sehr bei der Veraschung derselben. Ausserdem kommt für die Deutung des Befundes noch in Betracht, dass auch Phosphorsäure zurückbleiben kann, die aus der Verbrennung des Phosphors entstanden ist. Es ist daher empfehlenswerth, die Prüfung ausserdem noch auf einem anderen Wege vorzunehmen, nemlich dadurch, dass man eine nicht zu kleine, gleichfalls am besten gewogene Quantität der Substanz mit Soda und Salpeter schmilzt, die Schmelze in Wasser löst, ohne zu filtriren mit Salpetersäure ansäuert, erhitzt, eindampft, dann, wenn nöthig, filtrirt und nun Ammoniak bis zu stark alkalischer Reaction hinzusetzt. Enthält die Substanz Calciumsalze oder Eisenoxydsalze, so müssen diese alsdann als Phosphate, enthält sie Magnesium, so muss dieses als Ammonmagnesiumphosphat ausfallen; entsteht ein Niederschlag, so kann man durch Ansäuern mit Essigsäure in bekannter Weise das Ferriphosphat von den Erdphosphaten trennen. Ob dieses Verfahren auch quantitativ brauchbar ist, müsste erst festgestellt werden.

In den meisten Fällen habe ich beide Wege zur Prüfung angewendet. Ergiebt sich auf dem einen oder anderen Wege ein irgend erheblicher Aschengehalt, so ist auf den qualitativen Nachweis des Phosphorgehaltes nichts mehr zu geben, da die Beurtheilung der Quantität des durch molybdänsaure Ammon entstehenden Niederschlages zu schwierig ist und die anorganischen Bestandtheile zwar nicht nothwendig in Form von Phosphaten vorhanden zu sein brauchen, aber doch möglicher Weise die Form von Phosphaten haben. Das Sicherste ist es jedenfalls, den Phosphorgehalt in jedem Falle quantitativ zu bestimmen.

Mit den präformirten phosphorsauren Salzen sind aber die Fehlerquellen noch nicht erschöpft, man muss vielmehr noch eine zweite Quelle des Phosphorgehaltes berücksichtigen, nemlich phosphorhaltige organische Verbindungen, welche den Eiweisskörpern anhaften können, namentlich das Lecithin, eventuell auch das Jecorin von Drechsel, während eine dritte Substanz, Liebreich's Protagon nach Lage der Dinge hier kaum in Betracht kommt. Diese Verbindungen lassen sich, wenn vorhanden, durch wiederholtes Auskochen mit Alkohol, dann mit Aether entfernen. Es ist jedoch in jedem Fall geboten, sich durch Schmelzung der Verdampfungsrückstände der letzten Auszüge mit Soda + Salpeter zu überzeugen, dass diese Verunreinigung völlig ausgeschlossen ist.

Naturgemäss entwickelte sich bei der Untersuchung der in Frage kommenden Substanzen allmählich ein ganz bestimmter Modus procedendi und dieser war namentlich bei der Prüfung auf Bildung reducirender Substanz beim Kochen mit Mineralsäuren auch erforderlich, da ja gerade festgestellt werden sollte, ob unter bestimmten Bedingungen die Abspaltung von Kohlehydraten aus dem Nucleoalbumin zu befürchten oder nicht zu befürchten ist.

Was die Untersuchung auf Bildung reducirender Substanz beim Kochen mit Säure betrifft, so bezogen sich diese bestimmten Bedingungen 1) auf den Concentrationsgrad der angewandten Säure, 2) auf das Mengenverhältniss zwischen der zu untersuchenden Substanz und der Säure, 3) auf die Art des Erhitzens.

1. Als Säure wurde stets verdünnte Salzsäure gewählt und zwar 300g der officinellen Säure von 1,124 spec. Gew. mit Wasser zum Volumen von 1 L. aufgefüllt. Eine so verdünnte Salzsäure enthält annähernd 7,5 pCt. HCl.

2. Da die zur Entscheidung ihrer Natur zu Gebot stehenden Quantitäten des fraglichen Eiweisskörpers aus der Synovia nur gering waren, so konnte ich auch bei den Controllprüfungen nur wenig Substanz nehmen. Es wurden stets 0,2g der rein dargestellten, ein staubfeines Pulver darstellenden Substanzen mit 20 bis 25ccm der verdünnten Salzsäure gut durchgeschüttelt, dann erhitzt.

3. Die Erhitzung geschah direct im Kölbchen auf dem Draht-

netz unter Ersatz des Verdampfenden durch heisses Wasser. Von Zeit zu Zeit wurden Proben zur Anstellung der Trommer'schen Reaction abgenommen: die Probe wurde abgekühlt, dann mit starker Natronlauge alkalisirt, Kupfersulfatlösung hinzugesetzt und erhitzt. In jedem Falle wurde eine Probe nach 10 Minuten abgenommen. Ergab sich nach dieser Zeit keine Reduction, so wurde weiter erhitzt, meistens im Ganzen eine halbe Stunde. Es sei hier vorweg bemerkt, dass ich bei Mucin entsprechend den damit vorliegenden Angaben stets schon nach wenigen Minuten die reducirende Substanz gebildet fand.

Die Erhitzung der Kölbchen längere Zeit hindurch ist sehr unbequem, weil sie wegen des Stossens und Schäumens fort-dauernde Ueberwachung erfordert. Beim Mucin ist es auch völlig ausreichend, wenn man eine Probe der Mischung direct im Reagensglas einige Minuten kocht.

In den meisten Fällen ist ausserdem auch die feuchte Substanz mit verdünnter Salzsäure erhitzt worden; ein genaues Verhältniss zwischen Substanz und Salzsäure liess sich in diesem Fall nicht gut einhalten. Wie kaum erwähnt zu werden braucht, sind die Prüfungen nicht je einmal, sondern wiederholt angestellt worden.

Die Prüfung auf Phosphor bezw. die quantitative Bestimmung geschah in der üblichen Weise durch Schmelzen mit dem 30-fachen Gewicht Soda+Salpeter (3 Gewichtsth. Kaliumnitrat, 1 Gewichtsth. Natriumcarbonat) Auflösen der Schmelze in Wasser, Uebertragung der Lösung in einen Kolben, vorsichtigen Zusatz von Salpetersäure, Austreiben der salpetrigen Säure durch Kochen im Kolben, Eindampfen in der Abdampfschale, Fällung mit molybdänsaurem Ammon u. s. w., Wägung des Magnesiumpyrophosphates.

Es mögen nunmehr in Kürze die Resultate der Prüfungen folgen.

## I. Mucin.

Erstes Präparat. Submaxillardrüse vom Rind fein zerhackt, in einer Flasche mit dem 6fachen Gewicht Wasser bei Zimmertemperatur etwa 8 Stunden unter wiederholtem heftigen Schütteln macerirt, dann filtrirt, mit Essigsäure gefällt<sup>1)</sup>, das zähe um den

<sup>1)</sup> Da das zu prüfende Präparat aus der Synovia durch Fällung mit Es-

Glasstab sich windende Coagulum mit Wasser, dann mit Alkohol abgespült. Da das Mucin durch die Behandlung mit Alkohol in Alkalien unlöslich geworden war, wurde es mit Alcohol absolutus verrieben, mit demselben ausgekocht, filtrirt, mit Aether behandelt, nochmals zu einem staubfeinen Pulver verrieben und dieses wiederum mit Alkohol und Aether behandelt. Es resultirte ein fast ganz weisses Pulver.

1) 0,3225 g<sup>1)</sup> hinterliess beim anhaltenden Glühen 0,0017 Asche = 0,53 pCt., in welcher Phosphorsäure und Eisen nachweisbar war.

2) 0,462 g mit Salpeter geschmolzen, die Lösung der Schmelze u. s. w. gab beim Alkalisiren mit  $\text{NH}_3$  sehr geringe Trübung.

3) 0,4258 g gab 0,0021  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

Die Bildung reducirender Substanz erfolgte beim Erhitzen der Mischung der Substanz mit verdünnter Salzsäure nach gutem Durchschütteln constant in wenigen Minuten, die Trommer'sche Probe gab reichlich rothes Kupferoxydul.

Zweites Präparat. Das frisch ausgefällte Mucin wurde nach dem Abspülen mit Wasser sofort in Wasser unter Zusatz von Natriumcarbonat gelöst — die Lösung erfolgte unvollständig — und filtrirt. Die Filtration erfolgte zögernd und war erst ausführbar als die Lösung stark verdünnt wurde. Das klare Filtrat gab mit Essigsäure nur eine sehr unvollständige Ausfällung. Die stark essigsäure Lösung wurde daher eingedampft und dann mit dem gleichen Volumen Alcohol absolut. versetzt, wobei sich das Mucin flockig abschied. Dasselbe wurde mit verdünntem Alkohol gewaschen, dann in üblicher Weise mit heissem Alkohol und Aether (Soxhlet) behandelt und stellte dann ein feines weisses Pulver dar.

1) 0,4739 g hinterliess 0,0123 g Asche = 2,6 pCt. Die Asche gab eine stark alkalisch reagirende wässrige Lösung, die Substanz enthält also vermuthlich noch etwas essigsäures Natron.

sigssäure hergestellt war, so musste zur Darstellung des Mucins gleichfalls die ältere Methode der Essigsäurefällung angewendet werden und nicht die Methode von Hammarsten der Fällung mit verdünnter Salzsäure und Wasser.

<sup>1)</sup> Sämmtliche analytischen Angaben beziehen sich auf bei 120° getrocknete Substanz.

Der unlösliche Theil der Asche enthielt Eisen, Calcium und Spuren von Phosphorsäure.

2) 0,3946 g gab nach dem Schmelzen u. s. w. in der Lösung nach Alkalisiren mit Ammoniak beim Stehen eine geringe Ausscheidung von gelblichen Flocken, in denen Eisen und Calcium; Phosphorsäure nicht sicher nachweisbar war.

3) 0,3989 g gab 0,0010  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

Die Bildung reducirender Substanz beim Erhitzen mit der verdünnten Salzsäure erfolgte sehr rasch.

Der äusserst geringe Phosphorgehalt des Mucins ist zum Theil auf den Aschengehalt, zum Theil aber wohl auch auf Verunreinigung mit Nucleoalbumin zu beziehen, welches bei Ausziehen der Drüse mit Wasser mit extrahirt ist.

Die stark mucinhaltigen Alkoholfällungen von menschlichen Speichel verhielten sich bei Erhitzen mit verdünnter Salzsäure ebenso wie das Mucin.

## II. Paralbumin.

Durch Fällung von Ovarialcystenflüssigkeit mit Alkohol erhalten, seit Jahren unter Alkohol aufbewahrt, durch Behandlung mit heissem Alkohol und Aether gereinigt. Dasselbe quoll in Natriumcarbonatlösung, sowie in verdünnter Natronlauge auf, löste sich jedoch nicht. Da es erheblich aschehaltig war, konnte es nicht auf P-Gehalt geprüft werden. — Das Präparat bildete beim Kochen mit verdünnter Salzsäure schon nach wenigen Minuten reichlich reducirende Substanz. Bei einer Probe wurde die Erhitzung 10 Minuten lang unterhalten, dann nach Zusatz von Wasser filtrirt, das ungelöste Eiweiss gut ausgewaschen und dann auf's Neue mit verdünnter Salzsäure erhitzt: es bildete sich keine Spur reducirender Substanz. Das 10 Minuten dauernde Erhitzen hatte also zur vollständigen Abspaltung der reducirenden Substanz ausgereicht.

## III. Nucleohiston<sup>1)</sup>.

Dasselbe ist, wie bereits erwähnt, von Lilienfeld in der Thymusdrüse und Lymphdrüse aufgefunden. Die Darstellung (aus

<sup>1)</sup> Aus demselben spaltet sich nach Lilienfeld bei Behandlung mit Magensaft Nuclein ab, es ist also den Nucleoalbuminen analog.

Thymusdrüse) geschah ganz nach den Angaben von Lilienfeld, nur musste ich auf das Centrifugiren verzichten, da mir eine entsprechende Centrifuge nicht zur Verfügung steht. Uebrigens kann sie bei der Darstellung entbehrt werden, da der wässrige Auszug der Drüse — Thymus, fein zerhackt mit dem 6 bis 8fachen Gewicht Wasser geschüttelt, nach einigen Stunden filtrirt — sich durch Papier fast klar filtriren lässt, allerdings unter Aufopferung eines ansehnlichen Theils des Materials. Das erhaltene Präparat bildete ein äusserst feines staubiges, vollkommen weisses Pulver, war jedoch nicht ganz aschefrei.

1) 0,5934 hinterliess beim Glühen 0,0054 g Asche = 0,91 pCt., aus Ferriphosphat und Calciumphosphat bestehend.

2) 0,4552 g gab nach dem Schmelzen, die Lösung der Schmelze mit  $\text{NHg}$  alkalisirt, nur äusserst geringe Trübung.

3) 0,5260 gab  $0,0544 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 2,89 \text{ pCt. P.}$

4) 0,4642 gab  $0,0474 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 2,85 \text{ pCt. P.}$

5) 0,3226 gab  $0,0326 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 2,82 \text{ pCt. P.}$

Der Phosphorgehalt ist somit etwas höher, wie der von Lilienfeld für sein Präparat gefundene = 2,425 pCt.

Bei der Beurtheilung der Differenz kommt in Betracht, dass mein Präparat nicht ganz aschefrei war. Zieht man in Betracht, dass die Asche, mindestens zu einem Theil, aus Phosphaten bestand, so muss der Phosphorgehalt etwas zu hoch gefunden sein. Eine genaue Correctur ist in diesem Fall nicht möglich <sup>1)</sup>.

Das Nucleohiston gab bei 10 Minuten lang dauerndem Kochen mit der verdünnten Salzsäure keine Spur reducirender Substanz, auch nicht bei länger fortgesetztem Erhitzen.

#### IV. Casein.

Früher von mir in der gewöhnlichen Weise dargestellt, nochmals am Soxhlet'schen Apparat mit Aether behandelt.

1) 0,6542 g hinterliessen bei Glühen 0,0011 g Asche gleich 0,17 pCt.

2) 0,5002 g gab  $0,0160 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,89 \text{ pCt. Phosphor.}$

<sup>1)</sup> Anm. bei der Correctur. — Nach privaten Mittheilungen von Herrn Prof. Kossel ist jetzt in einer grösseren Reihe von Analysen für den Phosphor constant 3 pCt. gefunden worden; meine Bestimmungen würden damit annähernd übereinstimmen.

Beim Erhitzen mit Salzsäure bildete sich zu keiner Zeit reducirende Substanz.

#### V. Nucleoalbumin aus Eidotter = Vitellin.

Darstellung. Eidotter von möglichst frischen Eiern mit Aether geschüttelt, die entstehende gleichmässige emulsionsartige Mischung mit etwas Alkohol versetzt: es scheidet sich schnell ein zäher klebriger Niederschlag ab, von dem der Aether abgegossen werden kann. Der Niederschlag mehrmals mit Aether abgespült, dann mit 15 procentiger Kochsalzlösung übergossen. Die entstehende trübe Lösung mit Aether geschüttelt. Die Trübung verschwindet fast ganz, aber nicht vollständig; beim Stehen der, vom Aetherauszug getrennten, wässrigen kochsalzhaltigen Lösung bis zum nächsten Tage tritt regelmässig wieder stärkere Trübung ein, die sich durch nochmaliges Schütteln mit Aether beseitigen lässt. Die fast ganz klare Lösung in das 10fache Volumen Wasser gegossen, der sich ausscheidende Niederschlag auf dem Filter gesammelt, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Das so erhaltene Präparat gab an heissen Alkohol noch reichlich Lecithin ab. Dasselbe wurde mit Alkohol und Aether völlig erschöpft, so dass es bei nochmaliger Prüfung an Alkohol und Aether keine Spur phosphorhaltige Substanz mehr abgab.

1) 0,2612 g gab 0,0028 g = 1,07 pCt. chlornatriumhaltige Asche.

2) 0,354 g gab in der Lösung der Schmelze mit  $\text{NH}_3$  nur eine ganz leichte Trübung.

3) 0,3858 g gab 0,0130  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$  = 0,94 pCt. P.

4) 0,2948 g gab 0,0102  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$  = 0,97 pCt. P.

Mittel aus beiden Bestimmungen 0,96 pCt. Phosphor. Das Vitellin, dessen Phosphorgehalt meines Wissens nach völliger Reinigung noch nicht bestimmt ist, steht somit — wenn überhaupt der so dargestellte Körper einheitlicher Natur ist — hinsichtlich seines Phosphorgehaltes dem Casein sehr nahe, eine Uebereinstimmung, die mit Rücksicht auf die Function des Dotters als Nährmaterial für den wachsenden Embryo nicht ohne Interesse ist.

Das Vitellin liefert beim Erhitzen mit verdünnter Salzsäure keine Spur reducirender Substanz.



Gelegentlich bemerke ich noch, dass die beschriebene Darstellung des Vitellins mitunter misslingt. Man erhält nemlich mitunter beim Schütteln mit Aether nicht einen zähen schleimigen, sondern einen flockigen Niederschlag. Derselbe löst sich, von der ätherischen Lösung getrennt, durchaus nicht in Kochsalzlösung, die Concentration mag sein, welche sie wolle. Diese Abweichung von dem normalen Verhalten kündigt sich schon dadurch an, dass sich der flockige Niederschlag sehr schnell abscheidet und es eines Zusatzes von Alkohol in diesem Falle nicht bedarf. Ueber die Ursache dieser Abweichung vermag ich nichts Bestimmtes anzugeben, es scheint, dass sie vom Alter der Eier abhängig ist. Ich behalte mir vor, auf diesen Punkt zurückzukommen.

## VI. Nucleoalbumin aus Harn, sog. Mucin.

Ueber die Abstammung dieses Präparates ist mir nur wenig bekannt. Vor einigen Jahren ging mir ein Harn zur Untersuchung zu, aus welchem sich bei Stehen eine eigenthümliche schleimige Masse abgesetzt hatte, welche für eine Fibringerinnung gehalten worden war. Der Harn war sauer, nach dem Absetzen des Schleims ganz klar, das Individuum, von dem er abstammte, hatte keine Symptome von Blasenkatarrh. Die mikroskopische Untersuchung der Schleimmasse ergab nur spärliche grosse Rundzellen. Diese Schleimmasse war mit Wasser und Alkohol abgespült worden, dann unter Alkohol aufbewahrt, wobei sie allmählich pulvrige Beschaffenheit angenommen hatte. Zur Reinigung wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit Alkohol gewaschen, im Kolben damit ausgekocht, mit Alkohol und Aether gewaschen. Das erhaltene Pulver wurde in der Reibschale mit Wasser unter Zusatz von etwas Natriumcarbonatlösung verrieben. Da die Lösung nur langsam erfolgte, wurde noch etwas Natronlauge hinzugesetzt, die Lösung filtrirt. Die Filtration erfolgte sehr langsam. Das fast ganz klare Filtrat wurde mit Essigsäure angesäuert, der Niederschlag, der halb schleimige Beschaffenheit hatte, mit Wasser gewaschen, dann nochmals mit Alkohol und Aether erschöpft. Die Substanz stellte ein leichtes Pulver dar von weisser, etwas in's Gelbliche ziehender Farbe.

1) 0,3022 g hinterliessen einen kaum sichtbaren Rückstand (Gewichtsdifferenz 0,0011 g) mit nachweisbarem Phosphorsäuregehalt.

2) 0,3148 g gab  $0,0198 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 1,75 \text{ pCt. P.}$

3) 0,3634 g gab  $0,0236 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 1,82 \text{ pCt. P.}$

In der Literatur finden sich Angaben über den procentischen Phosphorgehalt des Nucleoalbumin aus Harn meines Wissens nicht; ebenso scheint ein Vorkommen von sog. Mucin oder Nucleoalbumin im Harn in der oben angegebenen Form bisher nicht beschrieben zu sein.

Beim Kochen des Präparates mit verdünnter Salzsäure bildete sich keine Spur reducirender Substanz.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also als gemeinsames Resultat, dass das Mucin und Pseudomucin beim Kochen mit Salzsäure von 7,5pCt. HCl schon nach wenigen Minuten reducirende Substanz liefert, die Nucleoalbumine, einschliesslich des Nucleohistons, dagegen auch bei halbstündigem Kochen mit Salzsäure von der angegebenen Concentration keine reducirende Substanz ergeben. Danach bleibt also das bisherige angenommene Unterscheidungsmerkmal bestehen. Trotzdem sich nach den Angaben von Lilienfeld und Kossel aus dem Nucleohiston bzw. der diesem entsprechenden Nucleinsäure durch Säuren ein Kohlehydrat abspaltet und ebenso das Nuclein der Karpfeneier beim Behandeln mit Säuren nach Walter einen zuckerartigen Körper liefert, ist dennoch die Behandlung mit Säuren in der angegebenen Art zur Unterscheidung von Mucin und Nucleoalbumin vollkommen brauchbar. Augenscheinlich erfolgt die Abspaltung von Kohlehydraten aus den Nucleoalbuminen sehr viel schwieriger, jedenfalls nicht unter Bedingungen, unter denen das Mucin und Pseudomucin mit Leichtigkeit reducirende Substanz liefert.

Nachdem dieses festgestellt war, konnte ich nunmehr an die Prüfung der aus der Synovia erhaltenen Präparate gehen.

Präparat A <sup>1)</sup>.

1) Die qualitative Prüfung auf P-Gehalt mit 0,05 g fiel vollkommen negativ aus.

2) 0,1314 g geben mit Soda+Salpeter geschmolzen u. s. w. 0,0005 g  $Mg_2P_2O_7$ , der Phosphorgehalt ist also gleich Null zu setzen.

3) 0,2 g gab mit der verdünnten Salzsäure erhitzt weder nach 10 Minuten, noch nach einer halben Stunde reducirende Substanz.

<sup>1)</sup> Bezüglich der Darstellung der einzelnen Präparate vergl. die oben gegebene Uebersicht über die Verarbeitung der Synovia.

Präparat B ebenso wie A aus 80 ccm Synovia dargestellt, giebt nach dem Kochen mit Salzsäure in einigen Trommer'schen Proben einen schwachen röthlichen Anflug von Kupferoxydul, namentlich nach längerem Stehen der Zuckerprobe, andere fallen negativ aus.

Präparat C. Die qualitative Prüfung auf Phosphorgehalt fällt negativ aus, ebenso die Prüfung auf Bildung reducirender Substanz beim Kochen mit Salzsäure.

Präparat D (das gesammte aus 60 ccm Synovia gefällte, mit Alkohol gewaschene und abgepresste Eiweiss) wurde mit 100 ccm der verdünnten Salzsäure eine Stunde lang auf dem stark kochenden Wasserbad erhitzt, eine Probe gab keine Trommer'sche Reaction, dann noch weitere 3 Stunden ebenso erhitzt: Resultat ebenso negativ. Nunmehr wurden noch 30 g Salzsäure von 1,12 spec. Gew. hinzugesetzt und 10 Minuten auf freier Flamme erhitzt, Resultat negativ; ebenso nach weiterem 3 stündigen Erhitzen der Mischung auf dem Wasserbad.

Aus diesen Versuchen ergiebt sich, dass der mucinartige Körper aus der Synovia nicht zu den Nucleoalbuminen gehört, da er phosphorfrei ist, dass er aber ebenso wenig mit dem Mucin identificirt werden kann, weil er beim Kochen mit Säuren entweder gar keine reducirende Substanz lieferte oder nur äusserst wenig bzw. sehr schwierig. Daraus folgt, dass es ausser dem Mucin und Nucleoalbumin bzw. Nucleohiston noch eine dritte Kategorie von, durch Essigsäure fällbaren, im Ueberschuss nicht löslichen, in ihren physikalischen Eigenschaften dem Mucin gleichenden Eiweisskörpern giebt, welche sich von dem Nucleoalbumin durch den Mangel an Phosphor, von dem Mucin durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Mineralsäuren unterscheiden. Nach dem Ausfall einiger Proben kann man nicht sagen, dass sie unter keinen Umständen reducirende Substanz liefern, jedenfalls aber ist das Verhalten in dieser Richtung ein ganz anderes, wie das des ächten Mucins. — Ob sich bei weiterer Untersuchung noch andere Unterschiede von dem Mucin ergeben werden, dieses zu entscheiden muss ich der Zukunft überlassen, da mein Material durch die angegebenen Untersuchungen verbraucht war. Lediglich zur Erleichterung der Verständigung möchte ich vorschlagen,

dieses abnorme Mucin vorläufig mit dem Namen „Synovin“ zu bezeichnen.

Zu diesen abnormen Mucinen gehört möglicherweise auch das Mucin der Galle. Landwehr<sup>1)</sup> hat vor längerer Zeit beobachtet, dass das Gallenmucin beim Kochen mit Säure keine reducirende Substanz lieferte, obwohl die Concentration der Säure und die Zeit der Einwirkung vielfach variirt wurde. Später erklärte Landwehr das Gallenmucin für ein Gemisch von Globulin und gallensauren Salzen, da es ihm gelang bei Zusatz von Essigsäure zu einem Gemisch von wenig Globulin mit viel gallensaurem Natron eine Substanz zu gewinnen, die in „Zusammensetzung<sup>3)</sup>, physikalischen Eigenschaften und Reactionen mit dem sog. Gallenmucin übereinstimmt“. Nebenher macht Landwehr noch die Bemerkung, dass den Mucingerinneln immer noch ein Bestandtheil in grösserer oder geringerer Menge beigemischt ist, nemlich Nuclein. Er sagt „bei der Schleimbildung geht ein Theil der Zellkerne vollständig zu Grunde und die Zellkerne dieser Zellen liefern das Nuclein, welches sich gegen Alkalien und Säuren ganz wie der Schleim selbst verhält und deshalb mit diesem gelöst und auch ausgefällt wird“. Dagegen wird sich kaum etwas einwenden lassen, man darf deshalb einem minimalen Gehalt eines untersuchten Mucins an Phosphor keine entscheidende Bedeutung beilegen. Diese Beimischung von Nuclein kann aber offenbar sehr wechseln; in der vorliegenden Synovia war sie so gut wie Null.

Die Angabe von Landwehr, dass das Gallenmucin beim Kochen mit Säuren keine reducirende Substanz liefert, konnte Paijkull<sup>4)</sup> bestätigen, dagegen lieferten die Versuche aus Globulinsubstanz und gallensaurem Salze durch Essigsäure „Mucin“ auszufallen, kein den Angaben Landwehr's entsprechendes Resultat. Paijkull fand das von ihm dargestellte Mucin phosphorhaltig, auch spaltete es bei der Pepsinverdauung einen unlöslichen Niederschlag ab. Danach spricht sich Paijkull mit Wahrscheinlichkeit dahin aus, dass das Gallenmucin ein Nucleo-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. V. S. 375.

<sup>2)</sup> Ebendas. VIII. S. 117.

<sup>3)</sup> Analysen sind nicht mitgetheilt.

<sup>4)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. XII. S. 196.

albumin sei, eine Ansicht, die auch Hammarsten, unter dessen Leitung Paijkull arbeitete, in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie S. 120 adoptirt. Allein einerseits ist der Phosphorgehalt des Gallenmucins nicht quantitativ bestimmt — er konnte nicht genau bestimmt werden, da die Präparate von Paijkull Calciumphosphat in der Asche enthielten —, andererseits hat Paijkull nicht festgestellt, dass die bei der Pepsinverdauung aus dem Gallenmucin abgespaltene Substanz, welche er für Nuclein hält, überhaupt phosphorhaltig ist.

Die Natur des Gallenmucins steht also noch dahin; wenn dasselbe sich in der That als phosphorhaltig erweist, so ist es immer noch sehr wohl möglich, dass dem Mucin nur eine gewisse Quantität von Nuclein, vielleicht auch von Nucleoalbumin beigemischt ist, wie dieses Landwehr bereits ausspricht.

Mit dem Resultat, dass der von mir untersuchte Gelenkinhalt eine eigenthümliche, mit dem Mucin nicht identische mucinartige Substanz enthält, steht nun, wie ich erst nachträglich fand, eine Angabe von Hammarsten<sup>1)</sup> in einem gewissen Widerspruch. Hammarsten fand in zwei Fällen, welche einen 7 Jahre alten Hyarthros genu und eine 3 Wochen alte Synovitis genu betrafen, in der durch Punction entleerten Flüssigkeit einen mucinartigen Körper, welcher sich als Nucleoalbumin erwies, d. h., der Pepsinverdauung unterworfen, Nuclein lieferte. Der Phosphorgehalt desselben konnte der zu geringen Menge wegen nicht genau bestimmt werden; Hammarsten schätzte ihn auf 5 pCt. Hammarsten schliesst nun aus seinen Befunden, dass das sogenannte Mucin der Synovialflüssigkeit nicht Mucin, sondern ein Nucleoalbumin sei. Dieser Schluss ist jedoch keineswegs zwingend, ja es ist sogar nicht unwahrscheinlich, dass Hammarsten denselben Körper, wie ich, in Händen gehabt hat, nur verunreinigt mit Nucleoalbumin. Hammarsten's eigene Angaben gewähren einigen Anhalt für diese Annahme. Hammarsten giebt an, dass die Quantität des durch Pepsinverdauung abgespaltenen Nucleins etwa 4 pCt. der ursprünglichen Substanz betragen habe, den Phosphorgehalt des Nucleins schätzt er auf 5 pCt. Nach diesen Daten würde der Phosphorgehalt der mucin-

<sup>1)</sup> Maly's Jahresber. f. Thierch. f. 1882. S. 480.

artigen Substanz selbst etwa 0,2 pCt. betragen. Nucleoalbumine mit so geringem Phosphorgehalt sind nicht bekannt, ihre Existenz ist auch wenig wahrscheinlich, wenn man erwägt, wie gross das Molecül eines solchen phosphorhaltigen Eiweisskörpers sein müsste. Es ist also viel wahrscheinlicher, dass der von Hammarsten dargestellte mucinartige Körper ein Gemisch von einem abnormen Mucin mit Nucleoalbumin war. Die Erklärung dafür, dass ich ein phosphorfreies abnormes Mucin erhielt, Hammarsten dagegen ein Gemisch liegt wohl darin, dass die Synovialflüssigkeit von Hammarsten reichlich lymphoide Zellen enthielt, aus welchen Nucleoalbumin oder das Nucleohiston von Lilienfeld in Lösung gegangen sein mag, während in der von mir untersuchten Flüssigkeit solche nur äusserst spärlich vorhanden waren. — Ueber das Verhalten seiner mucinartigen Substanz aus der Synovia beim Erhitzen mit Säuren macht Hammarsten in dem von ihm selbst verfassten Bericht keine Angabe.

Nachdem diese Arbeit bereits abgeschlossen war, hat Kossel in der Sitzung der Berliner physiologischen Gesellschaft am 14. October 1892 einen Vortrag gehalten (abgedruckt in den Verhandl. der physiol. Gesellsch. zu Berlin, Jahrgang 1892/93, No. 1 am 21. Oct. 1892), durch welchen u. A. die Sachlage hinsichtlich der Unterscheidung von Mucin und Nucleoalbumin wieder wesentlich geändert und zwar günstiger gestaltet wird. Kossel äussert sich folgendermaassen:

„Weniger charakteristisch (sc. als die Xanthinbasen) ist ein zweites Zersetzungsprodukt, welches aus der Nucleinsäure der Hefe hervorgeht. Vor einiger Zeit habe ich in dieser Gesellschaft mitgetheilt, dass siedende verdünnte Säuren aus der Hefenucleinsäure eine reducirende Substanz bilden, welche die Merkmale der Kohlehydrate an sich trägt. Ich habe die verschiedenen Präparate der Hefenucleinsäure untersucht, nicht allein solche, welche ich selbst dargestellt habe, sondern auch eine aus Hefe gewonnene Nucleinsäure, welche Herr Altmann<sup>1)</sup> mir in freundlicher Weise zur Verfügung stellte, niemals vermisse ich diesen Körper unter den Zersetzungsprodukten.

<sup>1)</sup> Vergl. Altmann, Ueber Nucleinsäuren. Archiv f. Anat. u. Phys. Physiol. Abth. 1889. S. 524.

Andererseits stellte ich fest, dass dieses Kohlehydrat aus der Nucleinsäure des Lachs- oder des Karpfenspermas und aus der oben angeführten Leuconucleinsäure nicht gewonnen werden kann.“

Freilich bleibt dabei immer noch die Möglichkeit offen, dass das Nucleoalbumin und Nucleohiston selbst neben der Nucleinsäure eine Kohlenhydratgruppe enthält. Jedenfalls stehen meine Beobachtungen am Nucleohiston hinsichtlich des Nicht-Auftretens von reducirenden Substanzen nicht in Widerspruch mit denen Kossel's. Die Angabe von Walter bezüglich der Entstehung von reducirenden Kohlehydraten bei der Spaltung des aus Karpfeneiern dargestellten Paranuclein hält Kossel aufrecht. In dieser Beziehung ist es bemerkenswerth, dass wenigstens bei halbstündiger Einwirkung von heisser Salzsäure von 7,5 pCt. HCl das Vitellin des Hühnereidotter und ebenso das Casein und Nucleoalbumin des Harns, welche die Atomgruppe des Paranucleins in sich enthalten, keinen Zucker liefern; allerdings hat Walter stärkere Säure (Schwefelsäure in der Concentration 1:5) angewendet und längere Zeit am Rückflusskühler gekocht. Diese stärkere Säure anzuwenden, hatte ich keine Veranlassung, da das Mucin schon durch viel schwächere Säure zersetzt wird und es mir in erster Linie auf die Unterscheidung von Mucin und Nucleoalbumin ankam. Ob das aus den genannten Nucleoalbuminen herstellbare Paranuclein bei Anwendung stärkerer Säuren und längerer Einwirkung reducirende Kohlehydrate liefert oder nicht, bleibt noch zu untersuchen, wahrscheinlich ist es nicht, sonst würden bei Anwendung der schwächeren Säure auf die Nucleoalbumine doch wenigstens Spuren der reducirenden Substanz aufgetreten sein.

---