

XV.

**Beiträge zur Lehre der fermentativen Prozesse
in den Organen.**

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

Von Dr. Cesare Biondi aus Florenz.

Die Studien, die E. Salkowski in den letzten Jahren gemacht hat über Vorgänge, die er zusammenfassend „Autodigestion der Organe“ nannte, eröffnen einen neuen Ausblick auf die chemischen Prozesse, welche in den Organen und Geweben vor sich gehen. Er beobachtete zuerst an der Presshefe, nachher an den Muskeln und der Leber chemische Veränderungen, die von der Vitalität der Zellen und der Fäulniss ganz unabhängig sind. Durch Chloroformwasser war Salkowski in der günstigen Lage, die Organe, in denen er seine Studien machte, vor Fäulniss zu schützen. Andererseits besitzt das Chloroformwasser die Fähigkeit, das Protoplasma der Zellen zu tödten, so dass von Lebensvorgängen des Protoplasmas selbst keine Rede sein kann. Man muss also die beobachteten Veränderungen zurückführen auf ein ungeformtes, lösliches Ferment, ein Enzym im Sinne von Kühne, welches aber natürlich von den Zellen abstammt. Aehnliche Prozesse hatten schon G. Salomon¹⁾, Schützenberger und Schmiedeberg beobachtet. Der erste fand, dass man aus Leber und Muskeln, wenn man sie 4—24 Stunden bei Zimmertemperatur liegen lässt, nach dem gewöhnlich geübten Gange der Untersuchung weit mehr Hypoxanthin erhält, als wenn man diese Organe frisch verarbeitet. Wenn aber die Auszüge mit Salpetersäure gekocht wurden, ergab sich ungefähr die gleiche Quantität Hypoxanthin. Der Verfasser nahm nach diesen Versuchen an, dass die Leber eine Substanz enthalte, welche durch die Action eines in ihr enthaltenen, über den Moment des Todes

¹⁾ Archiv für Anat. und Physiol. Physiol. Abth. 1881. S. 361.

hinaus wirksamen Ferments Xanthinkörper abgiebt. Zu diesen Versuchen wurde Salomon geführt durch klinische Beobachtungen, nach welchen Hypoxanthin nur im Leichenblut zu finden war, nicht im Aderlassblut. Aehnliche, wenn auch nicht so constante Verhältnisse ergaben sich für die Milchsäure. Als Ursache dieser Differenz betrachtete Salomon damals hauptsächlich die im lebenden Körper stattfindende Oxydation, welche nach dem Tode fortfällt. Schützenberger¹⁾ hatte grosse Quantitäten gewaschener Bierhefe nach 24stündiger Digestion in der Wärme einer sorgfältigen Analyse unterworfen. Es gelang ihm, eine ganze Reihe von krystallinischen, in der frischen Hefe nicht vorhandenen Körpern, nemlich Tyrosin, Leucin, Xanthin, Hypoxanthin, Guanin und Carnin nachzuweisen und darzustellen. Ausdrücklich wird betont, dass der ganze Prozess ohne jeden üblen Geruch verläuft und daher mit der Fäulniss nichts zu thun haben kann.

Später gelang es Schmiedeberg²⁾ in der Niere und dem Blute von Schweinen, sowie aus der Hundeleber ein Enzym zu extrahiren, welches er als Histozym bezeichnete. Dieses ungeformte Ferment besitzt die Fähigkeit, Fette und andere ätherartige Verbindungen unter Hydratation zu spalten. Namentlich zerlegt es mit Leichtigkeit Hippursäure in Benzoësäure und Glykokoll, während diese beiden Paarlinge mit Blut durch eine überlebende Schweinniere geleitet, sich wieder zur Hippursäure vereinigten. Er schloss daraus, dass Bildung sowohl als Spaltung der Hippursäure gleichzeitig und unabhängig von einander in den Geweben vor sich gehen können.

Salkowski ist weiter gegangen und hat über diese Frage viele und sehr eingehende Untersuchungen gemacht. Die ersten Versuche machte er mit Presshefe, indem die antiseptische und protoplasmatödtende Eigenschaften des Chloroformwassers benutzte, welche er seit 1888 veröffentlicht hatte³⁾. Er hatte ge-

¹⁾ Recherches sur la levûre de bière. Bulletin de la Soc. chim. de Paris. 1874. No. 5.

²⁾ Ueber Spaltungen und Synthesen im Thierkörper. Arch. f. exper. Path. und Pharm. Bd. XIV. S. 379.

³⁾ Ueber die antiseptische Wirkung des Chloroformwassers. Deutsche med. Wochenschr. 1888. No. 16.

sehen¹⁾, dass, wenn man amyllumfreie Presshefe mit Chloroformwasser stehen lässt, keine Bildung von Alkohol und Kohlensäure stattfindet, d. h. keine Fermentation, die immer eintritt, wenn wir Wasser mit Presshefe zusammenbringen. Ausserdem bildet sich dabei gährungsfähiger, anscheinend linksdrehender Zucker. Wird die Presshefe aber vor dem Zusammenbringen mit Chloroformwasser eine halbe Stunde in strömendem Wasserdampf sterilirt, so bildet sich unter gleichen Bedingungen kein Zucker.

Von diesen Untersuchungen an der Presshefe ging Salkowski²⁾ auf Versuche mit Muskeln und Leber über, die er ganz analog ausführte. Gleich nach dem Tode der Thiere nahm er die betreffenden Organe, und brachte sie in feinzerhacktem Zustande mit einem zehnfachen Volumen Chloroformwasser (gesättigt, d. h. 5 ccm Chloroform auf 1 Liter destillirtes Wasser) in einer sterilisirten Flasche mit Glasstopfen zusammen. Dieses Verhältniss zwischen Organmasse und Chloroformwasser war schon früher durch Digestionsversuche mit Presshefe erprobt als ausreichend, um einerseits Fäulnissvorgänge, andererseits Selbstgährung der Hefe zu verhindern. Eine zweite, gleiche Quantität des Organbreies wurde jedesmal abgewogen, durch 1½ständiges Erhitzen in strömendem Dampf sterilisirt, dann ebenso behandelt, wie die andere. Die beiden Mischungen liess Salkowski bei Brüttemperatur 60—70 Stunden lang digeriren. Wenn man die analytischen Resultate dieses zweiten Versuchs, mit denen des anderen vergleicht, ist es möglich, festzustellen, was durch die physikalische Wirkung des Wassers in Lösung gegangen ist und was einer wirklichen Wirkung des Ferments zuzuschreiben ist. Den zweiten Versuch, der unter Ausschluss einer jeden Fermentwirkung stattfindet, nannte Salkowski Controlversuch (B), den anderen Hauptversuch (A). Aber im Controlversuche findet eine Operation statt, die im Hauptversuch fehlt, nemlich die 1½ständige Erhitzung des Organbreies in strömendem Dampf. So bildet sich eine erhebliche Quantität Leim aus dem Bindegewebe, welche nachher in Lösung geht und die Quantität der

¹⁾ Ueber Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. XIII. Heft 6.

²⁾ Ueber Autodigestion der Organe. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XVII. Supplementband.

in Lösung gegangenen stickstoffhaltigen Substanzen zu Ungunsten des Hauptversuches vermehrt.

Salkowski hat diesen Fehler dann dadurch vermieden, dass im Controlversuch die abgewogene Quantität Organbrei nicht in strömendem Dampfe sterilisirt, sondern mit der etwa zehnfachen Quantität Wasser zum Kochen erhitzt wurde. Nach dem Erkalten wurde das nöthige Chloroform zugesetzt, gut durchgeschüttelt und digerirt. Im Hauptversuch muss dann ebenfalls eine Kochung stattfinden, natürlich nicht am Anfang, sondern am Ende des Verfahrens. So sind Hauptversuch und Controlversuch vollkommen analog angestellt mit dem einzigen Unterschied, dass in dem Controlversuch die Kochung vor der Digestion geschieht zum Ausschluss der Fermentwirkung, in dem Hauptversuch nach der Digestion, also nachdem die Fermentation stattgefunden hat. Diese Versuchsanordnung hat aber einen Nachtheil, und zwar den, dass von einem Uebelstand, der sonst nur den Controlversuch trifft, jetzt auch der Hauptversuch betroffen wird. Bei dem Erhitzen zum Sieden gehen nemlich, wenn auch nicht in demselben Umfange wie bei 1½stündigem Erhitzen in strömendem Dampfe Substanzen, namentlich Leim, in Lösung, welche bei der Digestion allein sich nicht lösen. Man hat also, wenn man diese Versuchsanordnung wählt, in der durch Filtriren der Mischung des Hauptversuchs erhaltenen Lösung nicht allein die Produkte der Fermentation, sondern auch die der Einwirkung des siedenden Wassers. In quantitativer Beziehung ist allerdings dieser Uebelstand unwesentlich, da man durch Abziehen der im Controlversuche erhaltenen Werthe doch erfährt, was der Autodigestion als solcher zuzuschreiben ist. Der Nachtheil, dass Produkte des siedenden Wassers in Lösung gehen, welche das Resultat in qualitativer Beziehung trüben, lässt sich aber nicht vermeiden. Salkowski hat deshalb, theils nach der einen, theils nach der anderen Versuchsanordnung gearbeitet.

Die Resultate von Salkowski waren folgende:

1. Die Xanthinkörper gehen in dem Hauptversuch, sowohl bei Hefe, als auch bei Muskel- und Leberbrei, vollständig, in dem Controlversuch nur zum Theil in Lösung; in dem Hauptversuch ist also die ganze darstellbare Quantität von Xanthinkörpern aufgetreten, so dass durch Kochen der Rückstände mit verdünnter

Säure nach Kossel, zur Zerlegung etwa noch vorhandenen Nucleins nur noch Spuren von Xanthinkörpern erhalten werden konnten, zugleich war es in „manifesten Form“ vorhanden, d. h. durch ammoniakalische Silberlösung direct vollkommen fällbar; in dem Controlversuch steckte noch ein Theil in Form von Nuclein im Organbrei; der in Lösung gegangene Antheil war aber nur zum Theil direct fällbar, zum Theil erst nach Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, vor dem Silberzusatz, er war also in „latenter Form“ vorhanden. In den Leberauszügen fand sich im Hauptversuch Zucker, kein Glykogen, erhebliche Quantitäten von Leucin, Tyrosin, keine Biuretreaction, während im Controlversuche nur Spuren von Zucker, viel Glykogen, kein Leucin und Tyrosin vorhanden ist, Biuretreaction zu erhalten ist. Ferner war im Hauptversuch mehr organische Substanz, Phosphorsäure und Stickstoff in Lösung gegangen als im Controlversuch. Der Säuregehalt war in beiden Fällen der gleiche. In den Muskelauszügen war im Hauptversuche keine Biuretreaction, schwache Reduction von CuO zu Cu_2O zu constatiren, während im Controlversuche umgekehrt gute Biuretreaction, aber keine Reduction zeigte. In beiden waren kein Leucin und Tyrosin vorhanden, doch wurde beides in sehr lang ausgedehnten Versuchen in reichlicher Menge gefunden. Organische Substanz und Phosphorsäure und Stickstoff waren im Hauptversuche nicht vermehrt, im Gegensatz zur Leber. Ein geringes Plus von Säuren erwies sich als Fettsäure, wahrscheinlich in Folge der fettsplattenden Wirkung der Gewebe. Auf diese Studien folgten die Versuche von Schwiening¹⁾, welche dieser im chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin unter Leitung von Salzkowski ausführte. Dieser bestätigte durch scharfsinnige Versuche die Anschauung, dass die chemischen Umsetzungen der Autodigestion von einem löslichen Ferment verursacht werden, einem sogenannten Enzym. Ausser den gewöhnlichen Versuchen [Hauptversuch (A) und Controlversuch (B)] stellte er einen dritten (C) an, wobei es ihm gelang, durch vielfaches Filtriren einen Auszug zu gewinnen, der fast völlig frei von zelligen Bestandtheilen war. Er machte die Filtration unter solchen Be-

¹⁾ Ueber fermentative Prozesse in den Organen. Dieses Archiv. Bd. 136. 1894.

dingungen, dass die Zellen und das organisirte Ferment, wenn von diesem die Rede sein konnte, sich unter den denkbar ungünstigsten Verhältnissen befanden. Hatte er ein Filtrat gewonnen, das sich durch mikroskopische Untersuchung als zellfrei erwies, so liess er es, wie bei den anderen Versuchen digeriren. Seine vergleichenden Beobachtungen ergaben, dass man in den Versuchen A und C die gleichen Veränderungen findet. Schwiening zeigte ferner, dass der Zusatz von Alkali zu den Mischungen die Wirkung des Ferments nicht verstärkt, wie man vielleicht a priori hätte annehmen können, sondern im Gegentheil abschwächt.

Auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, Professor Salkowski, und unter Leitung desselben habe ich im chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts einige noch nicht erledigte Punkte in Betreff der Autodigestion weiter verfolgt und zwar hauptsächlich, ob das Chloroform bei dem Prozess wesentlich ist oder durch andere Substanzen ersetzt werden kann, ob die Erklärung von Neumeister, dass die Autodigestion nichts anderes sei, als Trypsinwirkung richtig ist und wie die gleichzeitige Gegenwart von Säure auf den Prozess wirkt.

Zuerst wollte ich sehen, ob es möglich war, die Versuche an Kalbslebern anzustellen, aus Billigkeits- und Bequemlichkeitsrücksichten, die man verstehen wird. Die Kalbsleber kam so schnell wie möglich, d. h. einige Stunden nach dem Schlachten des Thieres zur Verwendung. So habe ich mit diesem Material Versuche ausgeführt, indem ich zuerst meine Aufmerksamkeit auf die Vorgänge richtete, die sonst als Produkt der Pankreasverdauung gelten. Ich bemerke gleich im Voraus, dass ich bei Benutzung von Chloroformwasser niemals die leichteste Spur von Fäulniss fand, wie ich auch durch Impfungen auf Gelatine constatirte.

V e r s u c h I.

100 g frischer Kalbsleber werden (nach vorheriger Entfernung der grossen Gallengänge) fein zerhackt und mit 1 Liter Chloroformwasser (5 ccm Chloroform auf 1000 Wasser) in einer Glasstöpselflasche versetzt. Hauptversuch (A).

100 g von derselben Leber gleicherweise fein zerhackt einige Minuten lang mit 400 g Wasser gekocht; nach der Abkühlung mit 600 g Wasser

und 5 ccm Chloroform in eine Glasstöpselflasche versetzt. Controlversuch (B).

In den beiden Versuchen werden alsdann 2,5 ccm Chloroform hinzugefügt, um der vollkommenen Sättigung der Mischung mit Chloroform sicher zu sein, wiederholt kräftig durchgeschüttelt, dann die Flasche 70 Stunden hindurch in einem Thermostaten auf Brüttemperatur gehalten, zwischendurch öfters geschüttelt. Nach Ablauf dieser Zeit wird die Mischung des Hauptversuches einige Minuten lang gekocht, dann zuerst durch Leinwand, nachher durch Papier colirt. Die Mischung des Controlversuches wird ebenfalls filtrirt. Die beiden Flüssigkeiten werden zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad ziemlich stark eingedampft, auf 200 ccm in Messkolben aufgefüllt. Da es nicht möglich war, beide Lösungen sofort vollständig zu verarbeiten, wurden dieselben in Glasstöpselflaschen gefüllt, und durch Zusatz einiger Tropfen Chloroform vor dem Verderben geschützt, A ist klar, fluorescent, durchsichtig, B etwas trüb und grünlich.

An den beiden Lösungen wurden folgende quantitative Bestimmungen ausgeführt.

Trockenrückstand.

20 ccm von A lieferten (bei 115° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet) 0,804 g Trockenrückstand, worin 0,104 g Aschenbestandtheile und 0,700 g organische Substanz.

20 ccm von B lieferten 0,4339 g Trockenrückstand, worin 0,089 g Aschenbestandtheile und 0,3445 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

100 ccm von A enthalten 0,0425 g N.

100 ccm von B 0,0129 g N.

Xanthinkörper.

20 ccm von A mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit 3procentiger Lösung von Argent. nitric. gefällt, liefern einen Niederschlag.

20 ccm von B mit NH_3 zersetzt, filtrirt, mit 3procentiger Lösung von NO_3Ag zersetzt liefern fast keinen Niederschlag.

Das bestätigt die Angabe von Salkowski, dass in dem Controlversuche die Xanthinkörper in latenter Form enthalten sind, d. h. der in Lösung gegangene Antheil der Xanthinkörper war im Controlversuch nicht direct fällbar durch ammoniakalische Silberlösung, sondern erst nachdem die Lösung vor dem Silberzusatz mit verdünnter Schwefelsäure oder Salpetersäure gekocht war. Vielleicht, sagt Salkowski, beruht diese Latenz auf der Gegenwart gewisser Substanzen, welche die Fällbarkeit der Xanthinkörper durch Silberlösung beeinträchtigen, ja vollkommen aufheben. Salkowski selbst hat vor einer Reihe von Jahren diese

Eigenschaft am Glutin gefunden. Vielleicht giebt es auch andere stickstoffhaltige oder stickstofffreie Substanzen, die in derselben Richtung wirken. Indessen ist Salkowski selbst schon der Meinung, dass diese Erklärung zwar eine sehr naheliegende, aber nicht die einzig denkbare ist. Er sagt¹⁾: „Man könnte sich auch vorstellen, dass es lösliche Zwischenprodukte zwischen dem Nuclein und den Xanthinkörpern gäbe, welche erst durch Kochen mit Säure gespalten werden. Es ist immerhin auffällig, dass die mit Silberlösung versetzten Auszüge der Hefe auch nicht die geringste Neigung zur Abscheidung eines Silberniederschlages zeigten, dass sie durchaus kein opakes Ansehen zeigten, sondern vollkommen klar blieben. Bei künftiger Untersuchungen wird man die Möglichkeit der Existenz derartiger Zwischenstufen im Auge zu behalten haben“²⁾).

In der That hat einige Jahre später Hammarsten³⁾ im Pankreas ein in Wasser lösliches Nucleoproteid gefunden, welches mit Silberlösung direct keinen Niederschlag giebt, sondern erst nach dem Kochen mit Säuren, wobei sich aus dem Nucleoproteid ein Xanthinkörper, Guanin, abspaltet. Dadurch gewinnt die Möglichkeit, dass bei der „Latenz“ auch solche Zwischenprodukte in Frage kommen, eine starke Stütze.

Aber Xanthinkörper oder Xanthinbasen des thierischen Organismus (Hypoxanthin, Xanthin, Guanin, Paraxanthin, Heteroxanthin, Adenin, wozu in neuerer Zeit von Balke noch das Episarkin hinzugefügt ist) haben die gemeinsame Eigenschaft, aus der ammoniakalisch gemachten Lösung durch ammoniakalische Silberlösung so gut wie vollständig gefällt zu werden. Auch kommt ihnen andererseits unter den hier in Betracht kommenden Körpern diese Eigenschaft allein zu mit Ausnahme etwa der Harnsäure, die leicht auszuschliessen ist.

Die Fällbarkeit der Xanthinbasen durch Silberlösung ermöglicht es, ihre Quantität in einer Lösung zu bestimmen, welche nur eine Xanthinbase enthält.

Nach den Ausführungen von E. Salkowski ist es indessen auch angängig, die Quantität der Xanthine summarisch zu be-

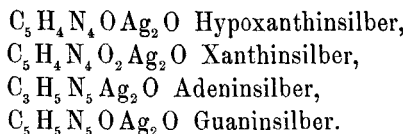
¹⁾ Pflüger's Archiv. Bd. IV. S. 95. 1871.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. XIII. S. 533. 1889.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. XIX. S. 28.

stimmen, wenn mehrere derselben in der Lösung vorhanden sind, indem man den Silberniederschlag darstellt, den Silbergehalt feststellt und auf Hypoxanthinsilber, bezw. Hypoxanthin umrechnet.

Ein Hinderniss für diese Berechnung ist anscheinend der Umstand, dass der Silbergehalt dieser Niederschläge ein verschiedener ist, allein in allen diesen Verbindungen kommt auf 2 Atome Silber 1 Molekül des Xanthinkörpers, wie nachstehende Zusammenstellung zeigt:



Da es nun für diese Bestimmungen zunächst gleichgültig ist, welcher von den Xanthinkörpern vorhanden ist, so steht nichts im Wege, die gefundene Quantität Silber auf einen derselben zu berechnen, wozu Salkowski eben das Hypoxanthin, als in den Organen im Allgemeinen am reichlichsten vorkommend wählte. Die Ausführung der Bestimmung geschah nach den Angaben Salkowski's¹⁾ folgendermaassen:

Da im Hauptversuche kein latentes Hypoxanthin vorhanden ist, so wurden 20 ccm der vom Hauptversuch stammenden Lösung direct mit NO_3Ag gefällt. Die 20 ccm vom Controlversuche habe ich mit destillirtem Wasser auf 100 ccm verdünnt, und 10 ccm verdünnte Schwefelsäure hinzugesetzt, dann $\frac{5}{4}$ Stunden in Kolben unter Ersatz des Verdampfenden gekocht, gegen Ende etwas eingekocht, dann wie beim anderen Versuche verfahren, d. h. mit NH_3 gefällt, filtrirt; das Filtrat mit AgNO_3 gefällt, der Silberniederschlag ausgewaschen bis zum völligen Verschwinden der Silber- und Chlorreaction im Waschwasser. (Eine Probe desselben trübt sich nicht beim Ansäuern mit NO_3Ag ; die mit Salpetersäure angesäuerte Flüssigkeit bleibt sowohl bei Zusatz von Salzsäure, als auch anderentheils bei Zusatz von Silberlösung klar). Dann habe ich das Filter getrocknet, verascht, und die Asche in NO_3H nach dem Erkalten gelöst, und mit destillirtem Wasser stark verdünnt. Die Titrirung geschah durch eine Rhodammoniumlösung, von der 1 ccm 2,419 mg Silber entspricht. Da das Molekulargewicht des Hypoxanthins 136 ist, und da das Hypoxanthinsilber 216 Ag enthält, darf man die folgende Gleichung anstellen

$$216 : 136 = 2,419 : x.$$

¹⁾ Zeitschr. f. klin. Med. Supplement zu Bd. XVII. S. 85 und 87.

Ist x die Quantität vom Hypoxanthin, welcher 2,419 Silber entsprechen, so haben wir

$$x = \frac{2,419 \times 136}{216} = 1,52.$$

Also 1 ccm Rhodanlösung entspricht bei unserer Titrirung 1,52 mg Hypoxanthin.

Bei diesem ersten Versuche wurden zum Eintritt der Endreaction gebraucht:

- a) für den Hauptversuch 11,3 ccm Rhodanlösung,
- b) für den Controlversuch 5,4 ccm.

Albumosen und Pepton.

100 ccm der beiden Lösungen wurden auf dem Wasserbad bis zur Syrupconsistenz eingedampft, dann mit absolutem Alkohol extrahirt. Das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbad eingedampft und stehen gelassen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt in dem Hauptversuch reichliches Leucin; keins im Controlversuch. Dann wurde die alkoholische Fällung, sowie der krystallinische Rückstand des alkoholischen Filtrats in destillirtem Wasser gelöst, vereinigt, filtrirt, und auf dem Wasserbad auf ungefähr 50 ccm eingedampft. Man fällt nach dem gewöhnlichen zur Trennung von Albumosen und Pepton angewendeten Verfahren mit Ammoniumsulfat und sammelt den Niederschlag auf dem Filter, wäscht mit Ammoniumsulfatlösung nach. — Dieser Niederschlag gab in Wasser gelöst mit starker Natronlauge und Kupfersulfat im Hauptversuch deutliche Biuretreaction, im Controlversuch nur spurenweise. Das Filtrat befreit man zum Theil von Ammoniumsulfat durch wiederholtes Eindampfen und Auskrystallisiren. Um es vollständig von Ammoniumsulfat zu befreien, wurde die Lösung mit Baryumcarbonat unter Ersatz des Verdampfenden mit heissem Wasser in einer emaillirten eisernen Schale gekocht. Es wurde so lange gekocht bis die Flüssigkeit nicht mehr nach Ammoniak riecht, und eine filtrirte Probe mit Chlorbaryum keine Trübung mehr giebt. So sind wir sicher, dass alle Schwefelsäure an Baryum gebunden ist. Zur Entfernung des im Filtrat noch in kleinen Mengen vorhandenen Baryums setzt man Ammoniak und Ammoniumcarbonat hinzu, so lange noch ein Niederschlag entsteht, erwärmt und filtrirt von dem entstandenen Baryumcarbonat, am besten nach längerem Stehen ab. Das Filtrat dampft man auf dem Wasserbad auf ein geringes Volumen ein, und stellt damit die Biuretreaction an. Dieselbe fehlte absolut sowohl im Hauptversuche, wie im Controlversuche.

Bromwasserreaction.

Direct angewendet auf die beiden Flüssigkeiten ist sie für beide negativ. Wie bekannt stellt man die Bromwasserreaction so an: eine kleine Probe der Flüssigkeit wird mit Essigsäure schwach angesäuert, dann mit Bromwasser tropfenweise unter Umschütteln versetzt. Wenn die Reaction positiv ist, nimmt die Flüssigkeit eine violette Färbung an.

Berechnet man die quantitativen Ergebnisse für 1000 g Leber, so ergibt sich folgende tabellarische Zusammenstellung:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B)	Im Haupt- versuch (A)
Organische Substanz	34,45 g	70,0 g
Asche	8,9 -	10,4 -
N in N-haltigen Substanzen	2,58 -	8,5 -
Hypoxanthin	0,8208 g	1,7176 g
Albumosen	Spur	deutliche Reaction
Pepton	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	fehlt	fehlt.

V e r s u c h II.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1000 g Chloroformwasser in einer Glasstöpselflasche bei Brüttemperatur etwa 48 Stunden lang digerirt, darauf aufgekocht, colirt, durch Papier filtrirt. Das Filtrat auf etwas weniger als 200 ccm eingedampft, auf 200 ccm in Messkolben aufgefüllt, mit einigen Tropfen Chloroform versetzt. Hauptversuch (A). Die Flüssigkeit hat dasselbe Aussehen, wie bei Versuch I.

2. 100 g von derselben Leber mit 400 g destillirtem Wasser gekocht, auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform in einer Glasstöpselflasche aufgefüllt, bei Brüttemperatur etwa 48 Stunden lang digerirt, darauf colirt, durch Papier filtrirt; das Filtrat eingedampft und ebenso wie bei dem Hauptversuche weiter behandelt. Controlversuch (B). Das Filtrat hat dasselbe Aussehen, wie bei dem Controlversuche des Versuchs I.

Trockenrückstand.

20 ccm von A lieferten 0,698 g Trockenrückstand (bei 115° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet), worin 0,100 g Asche, und 0,598 g organische Substanz.

20 ccm von B lieferten 0,4645 g Trockenrückstand, worin 0,0899 Asche, und 0,3790 organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A enthalten 0,0287 g N.

10 ccm von B 0,0161 g N.

Xanthinkörper.

20 ccm von A mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit NO_3Ag gefällt geben einen ziemlich starken Niederschlag.

20 ccm von B mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit NO_3Ag gefällt, geben keinen Niederschlag.

20 ccm von dem Hauptversuch werden wie beim Versuche I für die Titrirung der Xanthinkörper behandelt, und es wird zum Eintritt der Endreaction 1,4 ccm Rhodanlösung gebraucht.

20 ccm von B verdünnt, mit verdünnter Schwefelsäure behandelt, gekocht, wie oben angegeben ist. Zum Eintritt der Endreaction braucht man 1,2 ccm Rhodanlösung.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A auf dem Wasserbad verdampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet (Brei von Leucin). Die beiden Rückstände wie in Versuch I vereinigt, in Wasser gelöst, mit schwefelsaurem Ammoniak behandelt u. s. w., wie im Versuche I. Spur von Albumosen. Kein Pepton.

Bromwasserreaction

fehlt sowohl in A, wie in B.

Die quantitativen Ergebnisse waren, berechnet für 1000 g Leber, folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B)	Im Haupt- versuch (A)
Organische Substanz	37,9 g	59,8 g
Asche	8,55 -	10,0 -
N in N-haltigen Substanzen	3,22 -	5,74 -
Hypoxanthin	0,1824 g	0,2128 g
Albumosen	Spur	Spur
Pepton	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	fehlt	fehlt.

V e r s u c h III.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1000 ccm Chloroformwasser in einer Glasstöpselflasche etwa 50 Stunden lang bei Brüttemperatur digerirt, darauf aufgeköcht, colirt, durch Papier filtrirt. Das Filtrat auf etwas weniger, als 200 ccm eingedampft, und auf 200 ccm in Messkolben mit einigen Tropfen Chloroform aufgefüllt. Hauptversuch (A). Die Flüssigkeit enthält Spur von Glykogen.

2. 100 g von derselben Leber gekocht mit 400 ccm Wasser, dann auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform in einer Glasstöpselflasche aufgefüllt, ebenso viel wie A, bei Brüttemperatur digerirt, darauf colirt, filtrirt u. s. w., wie bei A. Controlversuch (B). Die Flüssigkeit hat ein opalescentes Aussehen, und enthält sehr viel Glykogen.

Trockenrückstand.

20 ccm von A lieferten 1,538 g Trockenrückstand, worin 0,092 Asche und 1,446 g organische Substanz.

20 ccm von B lieferten 1,4918 g Trockenrückstand, worin 0,0867 g Asche und 1,409 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A enthalten 0,0292 g N.

10 ccm von B 0,0084 g N.

Xanthinkörper.

20 ccm von A mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit AgNO_3 behandelt, geben einen Niederschlag.

20 ccm von B ebenso wie A behandelt, geben keinen Niederschlag.

20 ccm von A, wie im vorigen Versuch behandelt, brauchen zum Eintritt der Endreaction 6 ccm Rhodanlösung.

20 ccm von B, verdünnt, gekocht u. s. w., brauchen 5,6 ccm Rhodanlösung.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A auf dem Wasserbad verdampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet (kein Leucin), die beiden Rückstände vereinigt, in Wasser gelöst, mit Ammoniumsulfat behandelt u. s. w., wie im Versuche I, zeigen Spur von Albumosen, kein Pepton.

100 ccm von B ebenso behandelt, liefern einen alkoholischen, weisslichen, klebrigen Niederschlag. Spur von Albumosen, kein Pepton.

Bromwasserreaction

fehlt in den beiden Versuchen.

Berechnet man die bei den quantitativen Bestimmungen erhaltenen Resultate auf 1000 g Leber, so ergibt sich Folgendes:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B)	Im Haupt- versuch (A)
Organische Substanz	140,91 g ¹⁾	144,61 g
Asche	8,67 -	9,28 -
N in N-haltigen Substanzen	1,68 -	5,04 -
Hypoxanthin	0,8912 g	0,912 g
Albumosen	Spur	Spur
Pepton	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	fehlt	fehlt.

V e r s u c h IV.

1. 100 g Kalbsleber werden so, wie in den vorigen Versuchen mit 1000 ccm Chloroformwasser etwa 60 Stunden lang digerirt, darauf aufgekocht, colirt, durch Papier filtrirt. Das Filtrat eingedampft und auf 200 ccm in Messkolben mit einigen Tropfen Chloroform aufgefüllt. Hauptversuch (A).

2. 100 g von derselben Leber gekocht mit 400 ccm Wasser, dann auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform aufgefüllt, ebenso wie beim Hauptversuche, digerirt, u. s. w. Controlversuch (B).

Trockenrückstand.

20 ccm von A lieferten 0,641 g Trockenrückstand, worin 0,1084 g Asche und 0,5326 g organische Substanz.

¹⁾ Bezüglich der organischen Substanz und Asche scheint ein Versehen vorgefallen zu sein.

20 ccm von B lieferten 0,3762 g Trockenrückstand, worin 0,0888 g Asche und 0,2874 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A enthalten 0,0364 g N.

10 ccm von B 0,014 g N.

Xanthinkörper.

20 ccm von A mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit AgNO_3 behandelt, geben einen Niederschlag.

20 ccm von B ebenso behandelt geben keinen Niederschlag.

20 ccm von A in der gewöhnlichen Weise behandelt, brauchen zum Eintritt der Endreaction 11,8 ccm Rhodanlösung.

20 ccm von B, behandelt wie im vorigen Versuch, brauchen 8,6 ccm Rhodanlösung.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A auf dem Wasserbad verdampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet (Brei von Leucin); die beiden Rückstände vereinigt, im Wasser gelöst, mit Ammoniumsulfat behandelt u. s. w., wie in Versuch I, zeigen Spur von Albumosen, kein Pepton.

100 ccm von B ebenso behandelt, liefern keine Albumosen, und kein Pepton.

Bromwasserreaction

fehlt in den beiden Versuchen.

Die quantitativen Ergebnisse, berechnet für 1000 g Leber, waren folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B)	Im Haupt- versuch (A)
Organische Substanz	28,74 g	53,26 g
Asche	8,88 -	10,84 -
N in N-haltigen Substanzen	2,8 -	7,28 -
Hypoxanthin	1,31 -	1,79 -
Albumosen	fehlt	Spur
Pepton	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	fehlt	fehlt.

In den beiden folgenden Versuchen wollte ich sehen, ob die Produkte der pankreatischen Verdauung gleiche sind wie jene, die von der Autodigestion bewirkt werden. So habe ich in einem Versuche die gewöhnlichen Vorgänge eintreten lassen, in dem anderen durch Zusatz von Pankreaspulver eine pankreatische Digestion angestellt. Natürlich habe ich in diesem zweiten Versuche vorher durch Kochen das Enzym vernichtet, und so die reine Wirkung des Pankreaspulvers bekommen.

V e r s u c h V.

100 g Kalbsleber werden mit 1000 ccm Chloroformwasser versetzt, und in einer Glasstöpselflasche bei Brüttemperatur etwa 68 Stunden lang digerirt. Darauf aufgekocht, colirt, durch Papier filtrirt. Das Filtrat in der gewöhnlichen Weise eingedampft, und auf 200 ccm in Messkolben mit einigen Tropfen Chloroform aufgefüllt. Hauptversuch (A).

100 g von derselben Leber wurden mit 400 g Wasser gekocht, dann auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform aufgefüllt. Der Mischung werden 2 g Pankreaspulver¹⁾ hinzugesetzt, dann bei Brüttemperatur in einer Glasstöpselflasche eben so lange digerirt und weiter behandelt. Controlversuch (B).

Trockenrückstand.

20 ccm von A lieferten 0,568 g Trockenrückstand, worin 0,095 g Asche und 0,472 g organische Substanz.

20 ccm von B lieferten 1,2064 g Trockenrückstand, worin 0,1 g Asche und 1,1064 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

100 ccm von A enthalten 0,0287 g N, 10 ccm von B 0,0574 g N.

Xanthinkörper.

20 ccm von A mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit AgNO_3 behandelt, geben einen Niederschlag.

20 ccm von B ebenso behandelt geben nur eine Spur von Niederschlag.

20 ccm von A wie in den vorigen Versuchen behandelt, brauchen zum Eintritt der Endreaction 13,3 ccm Rhodanlösung.

20 ccm von B in der gewöhnlichen Weise behandelt, brauchen zum Eintritt der Endreaction 12 ccm.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A auf dem Wasserbad verdampft, mit Alkohol ausgetragen, der alkoholische Auszug verdunstet (viel Leucin); die beiden Rückstände vereinigt, in Wasser gelöst, mit Ammoniumsulfat behandelt u. s. w. zeigen keine Albumosen und kein Pepton.

100 ccm von B auf dem Wasserbad verdampft, mit Alkohol ausgezogen, liefern sehr viel Niederschlag. Der verdunstete alkoholische Auszug giebt viel Leucin. Mit der gewöhnlichen Verarbeitung bekommt man starke Reaction von Albumosen und von Pepton.

Bromwasserreaction

fehlt in A, ist deutlich in B.

Wenn wir die quantitativen Ergebnisse auf 1000 g Leber berechnen, bekommen wir die folgende tabellarische Zusammenstellung:

¹⁾ Präparat aus der Sammlung, aus Rinderpankreas nach Kühne dargestellt.

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B) mit Pankreas- pulver	Im Haupt- versuch (A)
Organische Substanz	110,64 g	47,2 g
Asche	10,0 -	9,0 -
N in N-haltigen Substanzen	11,48 -	5,74 -
Hypoxanthin	1,82 -	2,02 -
Albumosen	vorhanden	fehlt
Pepton	vorhanden	fehlt
Bromwasserreaction	vorhanden	fehlt.

V e r s u c h VI.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1000 ccm Chloroformwasser versetzt und in einer Glasstöpselflasche bei Brüttemperatur etwa 68 Stunden lang digerirt. Darauf aufgekocht, colirt, durch Papier filtrirt. Das Filtrat in der gewöhnlichen Weise eingedampft und auf 200 ccm in Messkolben mit einigen Tropfen Chloroform aufgefüllt. Hauptversuch (A).

2. 100 g von derselben Leber werden mit 400 g Wasser gekocht, dann auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform aufgefüllt. Zu der Mischung werden 2 g Pankreaspulver hinzugesetzt, dann bei Brüttemperatur in einer Glasstöpselflasche eben so lange wie A digerirt und weiter behandelt. Controlversuch (B).

Trockenrückstand.

10 ccm von A lieferten 0,3466 g Trockenrückstand, worin 0,0988 Asche, und 0,2878 organische Substanz.

10 ccm von B lieferten 0,801 g Trockenrückstand, worin 0,0619 Asche und 0,7306 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A enthalten 0,0336 g N, 10 ccm von B 0,098.

Xanthinkörper.

20 ccm von A mit NH_3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit AgNO_3 behandelt, geben einen Niederschlag.

20 ccm von B ebenso behandelt liefern eine Spur von Niederschlag.

20 ccm von A mit dem gewöhnlichen Verfahren behandelt, für die quantitative Bestimmung der Xanthinkörper brauchen zum Eintritt der Endreaction 6,6 ccm Rhodanlösung.

20 ccm von B in der gewöhnlichen Weise verarbeitet, brauchen 6,8 ccm.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A werden auf dem Wasserbad eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet (Anwesenheit von Leucin). Die beiden Rückstände vereinigt, in Wasser gelöst, mit Ammoniumsulfat behandelt u. s. w., bieten Spur von Albumosen, kein Pepton dar.

100 ccm von B auf dem Wasserbad eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, liefern sehr viel Niederschlag. Der verdunstete alkoholische Auszug

giebt viel Leucin. Man verföhrt weiter mit derselben Methode, und bekommt starke Reaction auf Pepton und auf Albumosen.

Bromwasserreaction

fehlt in A, ist deutlich in B.

Die quantitativen Ergebnisse waren, berechnet für 1000 g Leber, folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B) mit Pankreas- pulver	Im Haupt- versuch (A)
Organische Substanz	147,92 g	57,56 g
Asche	12,3 -	11,76 -
N in N-haltigen Substanzen	19,6 -	6,72 -
Hypoxanthin	1,44 -	1,00 -
Albumosen	vorhanden	Spur
Pepton	vorhanden	fehlt
Bromwasserreaction	deutlich	fehlt.

Aus diesen ersten Versuchen geht zunächst hervor, dass man für die Studien über die Autodigestion käufliche Kalbsleber anwenden kann, wenn sie bald, d. h. einige Stunden nach dem Schlachten des Thieres in Anwendung gezogen wird. Ich habe in meinen Versuchen dieselben Resultate, wie Salkowski bei Anwendung von dem eben getödteten Thier (Hund, Kaninchen) entnommener Leber bekommen. Im Hauptversuche waren erheblich mehr organische Substanz und N in Lösung gegangen als im Controlversuche. Im Hauptversuche waren die Xanthinkörper in „manifeste Form“ vorhanden, im Controlversuch in „latente“. Im Hauptversuche war ziemlich viel Leucin, im Controlversuche keins.

Ferner kann man aus den Versuchen V und VI schliessen, dass die Autodigestion nicht von pankreatischem Ferment (Trypsin) abhängt. Bei der Pankreasverdauung ist eine doppelt so grosse Quantität stickstoffhaltiger Substanz in Lösung gegangen, als bei der Digestion mit Chloroformwasser. Dieser Unterschied könnte vielleicht darauf beruhen, dass in den Mischungen der Leber mit Chloroformwasser weniger eiweisslösendes und spaltendes Ferment vorhanden war, als in den mit Pankreaspulver versetzten. Allein es sind auch qualitative Unterschiede vorhanden. Bei der Digestion mit Chloroformwasser fehlt regelmässig das Pepton; Albumosen sind nur in Spuren vorhanden, fehlten sogar einmal (Versuch V). In den Fällen, in denen ich Albumosen fand, erhielt ich auch fast jedesmal bei dem Controlversuche

positive Biuretreaction. Also kann man wohl sagen, dass im Allgemeinen die Anwesenheit der Albumosen in dem Hauptversuch unabhängig ist von der Wirkung des Enzym, welches die beobachteten Veränderungen bewirkt. Es ist ferner bekannt, dass bei der pankreatischen Verdauung immer die Bromwasserreaction vorhanden ist. Sie war auch vorhanden in 2 Versuchen mit Pankreasdigestion, in den 6 Fällen von Autodigestion fehlte sie vollständig¹⁾. Ein fernerer sehr wichtiger Unterschied ist der, dass die durch Autodigestion erhaltenen Lösungen die Xanthinbasen in manifester Form enthalten, die durch Trypsin-(Pankreatin)-Wirkung erhaltenen dagegen in latenter. Nach alledem kann ich mich nur der Ansicht von Schwiening anschließen, dass, entgegen der von Neumeister ausgesprochenen Meinung, die bei der Autodigestion beobachteten Wirkungen von einem von den Leberzellen selbst bereiteten, löslichen, spezifischen, eiweissspaltenden Ferment herrühren, nicht aber von Trypsin, welches in die Leber gelangt ist.

Um zu sehen, ob das Chloroform beim Studium der Autodigestion durch andere Mittel ersetzt werden könne, habe ich zuerst Versuche mit Fluornatrium angestellt.

V e r s u c h VII.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1 Liter 1 procentiger Fluornatriumlösung versetzt, bei Brüttemperatur in einer Glasstöpselflasche etwa 68 Stunden lang digerirt, darauf aufgekocht, colirt, filtrirt. Das Filtrat ebenso wie bei den anderen Versuchen eingedampft, und auf 200 ccm in Messkolben aufgefüllt. Hauptversuch (A I).

2. 100 g von derselben Kalbsleber werden mit 1 Liter Chloroformwasser versetzt und dann wie die vorige Portion digerirt und weiter behandelt. Hauptversuch (A II).

3. 100 g von derselben Kalbsleber werden mit 400 g Wasser gekocht, dann auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform aufgefüllt und bei Brüttemperatur in einer Glasstöpselflasche ebenso lang digerirt. Darauf colirt, filtrirt. Das Filtrat eingedampft und auf 200 ccm in Messkolben mit einigen Tropfen Chloroform aufgefüllt. (Controlversuch.)

Trockenrückstand.

10 ccm von dem Hauptversuch I lieferten 0,7475 g Trockenrückstand, worin 0,4881 g Asche und 0,2894 organische Substanz.

10 ccm von dem Hauptversuch II lieferten 0,3659 g Trockenrückstand, worin 0,0680 g Asche und 0,3009 g organische Substanz.

¹⁾ Auf diesen Punkt komme ich im Folgenden zurück.

10 ccm von dem Controlversuch lieferten 0,1589 g Trockenrückstand, worin 0,0314 g Asche und 0,1279 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm vom Hauptversuche I enthalten 0,0378 g N.

10 ccm vom Hauptversuche II enthalten 0,042 g N.

10 ccm vom Controlversuche enthalten 0,0168 g.

Xanthinkörper.

20 ccm vom Hauptversuche I mit NH^3 gefällt, filtrirt, das Filtrat mit NO_3Ag behandelt, geben einen Niederschlag.

20 ccm vom Hauptversuche II ebenso behandelt, lieferten auch einen Niederschlag.

20 ccm vom Controlversuche ebenso behandelt, lieferten sehr wenig Niederschlag.

Die quantitative Bestimmung geht verloren.

Albumosen und Pepton.

100 ccm vom Hauptversuche I werden auf dem Wasserbad eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet (Brei von Leucin und Tyrosin). Die beiden Rückstände vereinigt, in Wasser gelöst und weiter behandelt, sowie in den vorigen Versuchen angegeben ist, zeigen deutliche Reaction von Albumosen, kein Pepton.

100 ccm vom Hauptversuche II werden auf dem Wasserbad eingedampft, mit Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug verdunstet (Brei von Leucin und Tyrosin). Die beiden Rückstände vereinigt, im Wasser gelöst u. s. w., zeigen deutliche Reaction von Albumosen und kein Pepton.

100 ccm vom Controlversuche ebenso behandelt, geben deutliche Reaction an Albumosen, keine Reaction am Pepton.

Bromwasserreaction.

Ist sehr deutlich in dem Hauptversuche I wie in dem Hauptversuche II, sowie im Controlversuche.

Berechnet man die quantitativen Ergebnisse für 1000 g Leber, so ergibt sich folgende tabellarische Zusammenstellung:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Controlversuch (B)	Im Hauptversuch (A II) mit Chloroform	Im Hauptversuch (A I) mit Fluornatrium
Organische Substanz	25,5 g	60,18 g	57,88 g
Asche	6,28 -	13,0 -	(91,62 -) ¹⁾
N in N-haltigen Substanzen	3,36 -	8,4 -	7,56 -
Albumosen	vorhanden	vorhanden	vorhanden
Pepton	fehlt	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	vorhanden	vorhanden	vorhanden.

¹⁾ nur scheinbar, durch das nicht ganz lösliche Fluornatrium verursacht.

V e r s u c h VIII.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1 Liter 1procentiger Fluornatriumlösung gemischt, bei Brüttemperatur etwa 67 Stunden digerirt, darauf aufgekocht, colirt, filtrirt. Das Filtrat eingedampft, und auf 200 ccm in Messkolben aufgefüllt. Hauptversuch (A I).

2. 100 g von derselben Kalbsleber werden mit 1 Liter Chloroformwasser versetzt, ebenso lange digerirt, und weiter behandelt, wie der vorige Versuch. Hauptversuch (A II).

3. 100 g von derselben Kalbsleber werden mit 200 g Wasser gekocht, dann auf 1 Liter mit 5 ccm Chloroform aufgefüllt, dann weiter behandelt wie die beiden vorigen Versuche. Controlversuch (B).

Trockenrückstand.

10 ccm von A I lieferten 0,767 g Trockenrückstand, worin 0,2615 g Asche und 0,3075 organische Substanz.

10 ccm von A II lieferten 0,3965 g Trockenrückstand, worin 0,071 g Asche und 0,3275 g organische Substanz.

10 ccm von B lieferten 0,1945 g Trockenrückstand, worin 0,046 g Asche und 0,1485 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm vom Hauptversuche I enthalten 0,0322 g N; 10 ccm vom Hauptversuche II 0,0392 g N; 10 ccm vom Controlversuche 0,0112 g N.

Xanthinkörper.

20 ccm vom Hauptversuch I mit NH_3 gefällt, filtrirt, mit NO_3Ag behandelt, geben einen Niederschlag.

Einen Niederschlag geben auch 20 ccm vom Hauptversuch II, ebenso behandelt.

Im Gegentheil 20 ccm vom Controlversuch, in derselben Weise behandelt, geben sehr wenig Niederschlag.

Die quantitative Bestimmung wurde nicht ausgeführt.

Albumosen und Pepton.

100 ccm vom Hauptversuch I, ebenso behandelt wie in den vorigen Versuchen angegeben ist, zeigen Spur von Albumosen, kein Pepton.

100 ccm vom Hauptversuch II, in derselben Weise behandelt, zeigen auch Spur von Albumosen und kein Pepton.

100 g vom Controlversuche, mit demselben Verfahren bearbeitet, geben deutliche Reaction an Albumosen, keine Reaction am Pepton.

Bromwasserreaction.

Sie ist deutlich im Hauptversuch I, fehlt in dem Hauptversuch II und in dem Controlversuch.

Die quantitativen Ergebnisse waren, berechnet für 1000 g Leber, folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B)	Im Haupt- versuch (A II) mit Chloro- form	Im Haupt- versuch (A I) mit Fluor- natrium
Organische Substanz	29,7 g	69,9 g	61,1 g
Asche	9,2 -	14,2 -	(92,3 -)
N in N-haltigen Substanzen	2,24 -	7,84 -	6,44 -
Albumosen	deutliche Reaction	Spur	Spur
Pepton	fehlt	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	fehlt	fehlt	deutlich.

Wenn wir einen Blick auf die Tabelle werfen, sehen wir, dass die Fluornatriumlösung zur Erkennung der fermentativen Prozesse einen geringeren Werth hat, als das Chloroformwasser. Erstens scheint das Fluornatrium auf die chemischen Umsetzungen, die von unbekannten Enzymen bewirkt werden, ein wenig störend einzuwirken. Man findet nemlich bei Lebern, die mit Fluornatriumlösung digerirt sind, weniger organische Substanz, als bei den mit Chloroformwasser digerirten. Dieses Minus wiederholt sich bei der Bestimmung des Stickstoffgehaltes. Ferner stört das Fluornatrium manche Manipulationen, die zum Studium der fermentativen Prozesse nöthig sind, z. B. die quantitative Bestimmung der in Lösung gegangenen Aschenbestandtheile. Bei der N-Bestimmung nach Kjeldahl ist die Gegenwart von Fluorwasserstoffsäure mindestens unerwünscht. Deshalb glaube ich, dass das Fluornatrium nicht gut verwendbar ist, obwohl es andererseits die Sicherheit gewährt, dass keine Fäulnisprozesse eintreten, und dass es die Wirkung der Enzyme nicht absolut beeinträchtigt. Es hat keinen Werth, eine Methode zu suchen, um das Fluornatrium aus der Lösung zu entfernen, weil wir im Chloroform ein Mittel mit denselben Eigenschaften haben, das auf dem Wasserbade leicht entfernt werden kann.

V e r s u c h IX.

1. 100 g Kalbsleber wurden mit 1 Liter Thymollösung (1 pro 1000) versetzt, in einer Glasstöpselflasche bei Brüttemperatur etwa 68 Stunden digerirt, dann aufgekocht, colirt, filtrirt u. s. w. Hauptversuch (A I).

2. 100 g von derselben Leber mit 1000 g Chloroformwasser versetzt, bei Brüttemperatur ebenso lange digerirt, gekocht, colirt u. s. w. Hauptversuch (A II).

3. 100 g von derselben Leber mit 500 g Thymollösung (1 pro 1000) gekocht, dann mit Thymollösung auf 1 Liter aufgefüllt und ebenso lange digerirt. Dann colirt, filtrirt u. s. w. Controlversuch (B).

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A I enthalten 0,0608 g N.

10 ccm von A II 0,0378 g N.

10 ccm vom Controlversuche 0,0315 g N.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A I, in der gewöhnlichen Weise behandelt, zeigen Spur von Albumosen und Spur von Pepton.

100 ccm von A II, ebenso behandelt, zeigen Spur von Albumosen, kein Pepton.

100 ccm von B, ebenso behandelt, enthalten Spur von Albumosen und Spur von Pepton.

Bromwasserreaction.

Sie ist stark im Hauptversuch I, mit blauem Niederschlag, ebenso im Controlversuche; im Hauptversuch II ist sie schwach.

Die tabellarische Zusammenstellung ist folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B) mit Thymol	Im Haupt- versuch (A I) mit Thymol	Im Haupt- versuch (A II) mit Chloro- formwasser
N in N-haltigen Substanzen	6,30 g	12,16 g	7,86 g
Albumosen	Spur	Spur	Spur
Pepton	Spur	Spur	fehlt
Bromwasserreaction	stark	stark	schwach.

V e r s u c h X.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1000 g Thymollösung (1 pro 1000) versetzt, in einer Glasstöpselflasche etwa 68 Stunden lang bei Brüttemperatur digerirt, dann aufgeköcht, filtrirt u. s. w. Hauptversuch (A I)

2. 100 g von derselben Leber werden mit 1 Liter Chloroformwasser zersetzt, ebenso lange digerirt, gekocht, filtrirt u. s. w. Hauptversuch (A II).

3. 100 g von derselben Leber mit 500 g Thymollösung gekocht, dann mit Thymollösung auf 1 Liter aufgefüllt, ebenso lange digerirt, dann filtrirt u. s. w. Controlversuch (B).

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm vom Hauptversuch I enthalten 0,0918 g.

10 ccm vom Hauptversuch II 0,0392 g.

10 ccm vom Controlversuch 0,014 g.

Albumosen und Pepton.

100 ccm vom Hauptversuch I, in der gewöhnlichen Weise behandelt, zeigen deutliche Reaction von Albumosen und Spur von Pepton.

100 ccm vom Hauptversuch II, ebenso verarbeitet, zeigen Spur von Albumosen und kein Pepton.

100 ccm vom Controlversuche, in derselben Weise behandelt, zeigen deutliche Reaction von Albumosen und Spur von Pepton.

Bromwasserreaction.

Sie ist im Hauptversuch I und im Controlversuch deutlich, im Hauptversuch II fehlt sie.

Die tabellarische Zusammenstellung ist folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Control- versuch (B) mit Thymol- lösung	Im Haupt- versuch (A I) mit Thymol- lösung	Im Haupt- versuch (A II) mit Chloro- formwasser
N in N-haltigen Substanzen	2,8 g	10,36 g	7,84 g
Albumosen	deutlich	deutlich	Spur
Pepton	Spur	Spur	fehlt
Bromwasserreaction	deutlich	deutlich	fehlt.

In den beiden vorigen Versuchen war Fäulniss eingetreten; sie war schon durch den Geruch zu erkennen und wurde durch die angelegten Culturen bestätigt. Es scheint also, dass die Quantität des im Wasser löslichen Thymols nicht genügend ist, um die Leber vor Fäulniss zu schützen. Andererseits konnte man auch keinen Alkohol zur Lösung des Thymols anwenden, weil die Anwesenheit desselben leicht zu Irrthümern bei der Beurtheilung der Wirkungen der fermentativen Prozesse hätte führen können. Also ist das Thymol für diese Studien nicht brauchbar. In diesen Versuchen ist die Verschiedenheit der Wirkung der Bakterien von der der Enzyme bei der Autodigestion gut zu constatiren. In der mit Thymol digerirten Portion ist $1\frac{1}{2}$ mal soviel Stickstoff in Lösung gegangen, als beim Benutzen von Chloroformwasser. Ferner fand ich in 2 Versuchen mit Thymol in der Lösung Pepton, welches beim Chloroformversuche stets fehlte; ebenso erhielt ich im ersten Falle immer Bromwasserreaction, im zweiten im Allgemeinen nicht¹⁾).

Es schien mir nicht zweckmässig, die Versuche noch auf andere Desinfectionsmittel auszudehnen. Die bekanntesten haben gleiche oder noch grössere Nachtheile, als das Fluornatrium. Es ist also am praktischsten, sich bei diesen Untersuchungen auf die Anwendung von Chloroformwasser zu beschränken. Wichtig scheint es mir, darauf aufmerksam zu machen, dass bei den Versuchen, die Salkowski und Schwiening anstellten, die Veränderungen nicht dem Chloroform zugeschrieben werden können, da ja auch bei Anwendung von Fluornatrium dieselben Resultate, wenn auch in etwas geringerem Maasse, sich ergeben haben.

¹⁾ Bezüglich der Ausnahmen verweise ich auf den Schluss meiner Arbeit.

V e r s u c h X I.

1. 100 g Kalbsleber werden mit 1 Liter Chloroformwasser versetzt, dann 1 ccm Salzsäure (officinelle von 1,12 spec. Gewicht) hinzugesetzt und bei Brüttemperatur in einer Glasstöpselflasche etwa 70 Stunden lang digerirt. Während der Digestion wurde die Säurereaction schwächer. Es wurde daher noch zweimal je 1 ccm Salzsäure (mit 9 ccm Wasser verdünnt) zugesetzt, im Ganzen also 3 ccm officinelle Salzsäure = 3,36 g = 0,84 HCl. Dann mit Na_2CO_3 alkalisirt, gekocht und während der Kochung neutrale Reaction durch Na_2CO_3 erhalten, sodann weiter behandelt in der gewöhnlichen Weise. Versuch A.

2. 100 g von derselben Leber werden mit 1 Liter Chloroformwasser versetzt, dann bei Brüttemperatur ebenso lange digerirt, aufgekocht u. s. w. Versuch B.

Trockenrückstand.

10 ccm von A lieferten 0,6939 g Trockenrückstand, worin 0,1379 g Asche und 0,556 g organische Substanz.

10 ccm von B lieferten 0,282 g Trockenrückstand, worin 0,046 g Asche und 0,236 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A enthalten 0,0638 g N; 10 ccm von B enthalten 0,028 g.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A werden auf dem Wasserbad eingedampft und mit Alkohol ausgezogen. Der alkoholische Auszug verdunstet, enthält sehr viel Leucin. Die beiden Rückstände vereinigt, im Wasser gelöst, mit Ammoniumsulfat behandelt u. s. w., zeigen Spuren von Albumosen und Pepton.

100 ccm von B ebenso behandelt, enthalten Leucin, aber nicht in so grosser Menge, wie bei dem Versuche A, Spur von Albumosen aber kein Pepton.

Bromwasserreaction.

Sie ist sehr deutlich im Versuche A, man bekommt sie nur spurweise im Versuche B.

Die tabellarische Zusammenstellung ist folgende:

Aus 1000 g Leber sind in	Im Versuch A	Im Ver-
Lösung gegangen	mit 0,84 pro mille HCl	such B
Organische Substanz	111,12 g	47,2 g
Asche	27,58 -	9,2 -
N in N-haltigen Substanzen	13,16 -	5,6 -
Albumosen	Spur	Spur
Pepton	Spur	fehlt
Bromwasserreaction	deutlich	Spur.

V e r s u c h X I I.

100 g Kalbsleber werden mit 1 Liter Chloroformwasser versetzt, dann 1 ccm Salzsäure von 1,12 D hinzugesetzt. Die Säure war mit 9 ccm H_2O

verdünnt. In diesem Versuch war es nicht nöthig, während der Digestion noch Salzsäure hinzuzusetzen. Die Mischung bleibt etwa 70 Stunden lang bei Brüttemperatur mit andauernder saurer Reaction; dann wird mit Na_2CO_3 alkalinisirt, gekocht, während der Kochung mit Na_2CO_3 neutral erhalten, dann weiter behandelt. Versuch A.

100 g von derselben Leber mit 1000 ccm Chloroformwasser bei Brüttemperatur ebenso lange digerirt, dann aufgekocht, colirt, filtrirt, eingedampft u. s. w. Versuch B.

Trockenrückstand.

10 ccm von A lieferten 0,6825 g Trockenrückstand, worin 0,1829 g Asche und 0,90 g organische Substanz.

10 ccm von B lieferten 0,3406 g Trockenrückstand, worin 0,0996 g Asche und 0,2990 g organische Substanz.

N-Bestimmung (nach Kjeldahl).

10 ccm von A enthalten 0,0988 g N.

10 ccm von B enthalten 0,028 g.

Albumosen und Pepton.

100 ccm von A werden auf dem Wasserbad eingedampft und mit Alkohol extrahirt; der alkoholische Auszug verdunstet (Brei von Leucin). Die beiden Rückstände vereinigt, in Wasser gelöst u. s. w., zeigen Spur von Albumosen, kein Pepton.

100 ccm von B ebenso verarbeitet, enthalten nicht so viel Leucin, wie A, Spur von Albumosen, kein Pepton.

Bromwasserreaction.

Sie ist deutlich in den beiden Versuchen.

Die tabellarische Zusammenstellung ist folgende:

Aus 1000 g Leber sind in Lösung gegangen	Im Versuch A mit 0,28 pro mille HCl	Im Ver- such B
Organische Substanz	100,10 g	59,0 g
Asche	26,90 -	11,12 -
N in N-haltigen Substanzen	11,76 -	7,0 -
Albumosen	Spur	Spur
Pepton	fehlt	fehlt
Bromwasserreaction	deutlich	deutlich.

Diese beiden Versuche geben keine entscheidenden Resultate. Es ist schwer zu sagen, ob die grösseren Zahlen, die man bei dem Leberauszuge nach Digestion mit saurer Reaction sieht, zurückzuführen sind auf stärkere Wirkung der Enzyme oder auf die Anwesenheit der Säure oder auf beide Momente zusammen. Man hätte diese Frage nur entscheiden können, wenn man ein

Mittel besässe, um die Wirkung der Enzyme aufzuheben, und dann den Auszug bei Anwesenheit der Säure bei Brüttemperatur digeriren liesse. Aber um diesen Zweck zu erreichen, haben wir kein anderes Mittel, als das Kochen, welches die Löslichkeitsverhältnisse der Gewebe für die Salzsäure modificirt und daher nicht brauchbar ist.

Es scheint mir doch, dass bei Anwesenheit von Salzsäure die Wirkung von Enzym nicht aufgehoben ist, weil in beiden mit Salzsäure digerirten Gemischen sich etwas mehr Leucin fand, als bei der Chloroformwasserdigestion. Die Anwesenheit von Leucin ist wohl richtiger auf die Wirkung der Enzyme zurückzuführen, als auf die Wirkung der Salzsäure. Es bleibt noch die Frage, ob die Anwesenheit von Säure die Wirkung des Enzyms der Autodigestion begünstigt, und in welchem Grade. Mir genügt vorläufig, die Aufmerksamkeit auf diesen Punkt, der weitere Studien verdient, gelenkt zu haben. Es ist dabei zu erinnern, dass nach den Versuchen von Schwiening die Anwesenheit von Alkali die Autodigestion stört, und zwar, wie es scheint, parallel seiner Menge.

Schliesslich noch einige Worte über die Bromwasserreaction. — Es ist bekannt, dass durch die tryptische Zersetzung der Eiweisskörper, sowie durch ihre Spaltung mittelst siedenden Barytwassers oder durch Bakterien, ausser Leucin, Tyrosin und Asparaginsäure auch ein Chromogen entsteht, welches in der mit Essigsäure angesäuerten Lösung mit Brom- oder Chlorwasser eine violette Färbung, bezw. Niederschlag giebt. Diese Substanz, welche „Tryptophan“ genannt worden ist, ist noch nicht rein dargestellt. Ich fand Tryptophanreaction bei der Pankreasdigestion der Leber und in den Versuchen, bei welchen Leber mit Thymollösung digerirt worden war. Da diese Mischungen Fäulnissgeruch zeigten und die Gegenwart von Bakterien durch Impfung auf Gelatine nachweisbar war, so konnte die Entstehung des Tryptophans in diesen Fällen wohl von der Fäulniss abgeleitet werden. Doch schien es mir wünschenswerth, diesen Sachverhalt noch etwas weiter zu erforschen.

In meinem ersten Versuche kochte ich 50 g Leber in 500 ccm Wasser; dann wurde filtrirt und auf ungefähr 80 ccm eingedampft. Dieser Auszug gab keine Bromwasserreaction. 50 g von derselben

Leber wurden mit 500 ccm Wasser bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tage stehen gelassen, dann gekocht, filtrirt, eingedampft. Das Filtrat zeigte Bromwasserreaction.

Dieselben Versuche wiederholte ich ebenso mit der Leber, die ich im Versuche X benutzt hatte. Den Theil der Leber, den ich der Fäulniss überlassen hatte, habe ich zweimal untersucht. Einmal nach 24, einmal nach 48 Stunden. Bei letzterer Untersuchung fand ich stärkere Bromwasserreaction, als nach 24 Stunden. Am ersten Tage, d. h. bei der frischen Leber, fehlte sie ganz. Dagegen lieferten 50 g der zu dem Versuch VII verwendeten Leber, ebenso behandelt, positive Reaction mit Bromwasser und dem entsprechend wurde dieselbe sowohl im Hauptversuch (mit Chloroform), als auch im Versuch mit Fluornatrium, und ebenso im Controlversuch gefunden.

Ebenso fand sich Tryptophan nachweisbar präformirt in der Leber bei Versuch XII; auch für Versuch IX ist dies wohl anzunehmen.

Dass die Leber in manchen Fällen Tryptophan enthält, kann nicht Wunder nehmen: man kann sich vorstellen, dass es bei der Resorption der Produkte der Trypsinverdauung im Darm in die Leber gelangt und in dieser verbleibt. Eine etwa nach der Entnahme der Leber schon stattgehabte Fäulniss ist wohl auszuschliessen, da in diesen Fällen nicht mehr, wie 3 Stunden, nach dem Schlachten des Thieres verflossen waren.

Eben so wenig kann man annehmen, dass das Tryptophan ein Produkt der Autodigestion sei, da es in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle fehlte. Es fehlt also bei der Autodigestion nicht allein das Pepton, sondern auch ein weiteres, wichtiges und constantes Produkt der Trypsinwirkung, das Tryptophan, und es ist daher nicht angängig, die Autodigestion mit der Trypsinwirkung zu identificiren oder von Spuren vorhandenen Pankreasfermentes abzuleiten. Sie ist ein Prozess für sich; das Enzym stammt aus den Zellen der Leber selbst.

Jedenfalls habe ich bei der Autodigestion nur Tryptophan gefunden, wenn die Fäulniss schon im Spiele war (Versuch IX und X), oder wenn sich schon vor Eintritt der Autodigestion Tryptophan in der Leber fand. In den anderen Fällen fehlte es gänzlich.

Es ist also nicht anzunehmen, dass das Tryptophan ein Produkt der Autodigestion ist. Es fehlt daher diese wichtige Grundlage für die Hypothese, dass die fermentativen Prozesse in den Organen auf eine pankreatische Digestion zurückzuführen sind.

XVI.

Kleinere Mittheilungen.

1.

Ueber die Entstehung falscher Darmdivertikel¹⁾.

Von Dr. David Hansemann,

Privatdocenten an der Universität und Prosector am Krankenhaus im Friedrichshain zu Berlin.

Bekanntlich hat man im Gegensatz zu den angeborenen Divertikeln am Darm die erworbenen als falsche Divertikel bezeichnet, weil sie nicht aus allen Schichten der Darmwand gebildet seien. Diese Unterscheidung stimmt nicht, wie das schon vielfach hervorgehoben wurde, für alle erworbenen Divertikel am Darm, sondern man muss unterscheiden zwischen denjenigen, die eine erworbene umschriebene Ausstülpung des Darms darstellen, und denjenigen, die einen herniösen Durchtritt der Schleimhaut der Submucosa durch die Musculatur bedeuten. Die ersteren kommen vorzugsweise am Dickdarm vor, können aber durch Zufälligkeiten auch am Dünndarm entstehen. So beschreibt Birch-Hirschfeld (Lehrbuch. 4. Aufl. 1895. S. 656) Traktionsdivertikel durch narbig geschrumpfte Züge im Mesenterium. In der Sammlung im Krankenhaus im Friedrichshain bewahre ich 2 Präparate (No. I 14 und I 475), wo durch Tumoren an der äusseren Wand des Dünndarms umfangreiche Divertikel entstanden sind. Der erste Fall betrifft ein etwa hühnereigrosses Angiom, der andere ein eben so grosses Myom. Dahin würden auch die von Neumann (Archiv für Heilkunde. 1870. S. 200) und später von Nauwerck (Ziegler's Beiträge. Bd. 12. 1893. S. 28) beschriebenen Divertikel zu zählen sein, die durch Zug eines Nebenpankreas zu Stande kommen. Ich selbst sah ein ganz gleiches Divertikel, mit einem Neben-

¹⁾ Nach einer Demonstration in der Medicinischen Gesellschaft am 15. Januar 1896.