

A r c h i v
für
pathologische Anatomie und Physiologie
und für
klinische Medicin.

Bd. 147. (Vierzehnte Folge Bd. VII.) Hft. 1.

I.

**Zur Kenntniss des Oxydationsferments der
Gewebe.**

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

Mit Benutzung von Versuchen von Dr. Yamagiwa aus Tokio.

Von Prof. E. Salkowski in Berlin.

Im Sommersemester 1893 und Wintersemester 1893—1894 hat sich Herr Dr. Yamagiwa aus Tokio auf meine Veranlassung mit Versuchen über das Oxydationsferment der Gewebe beschäftigt, welche zu einem gewissen Abschluss gelangt sind. Dr. Yamagiwa war genöthigt, in seine Heimath zurückzukehren, ohne die Arbeit schreiben zu können, er hat mir indessen seine sehr sorgfältig geführten Protocolle hinterlassen, welche ich im Folgenden verwerthen möchte, um die von ihm erhaltenen Resultate nicht ganz verloren gehen zu lassen. Zur Erleichterung des Verständnisses seien mir einige einleitende Worte gestattet, wobei ich von vornherein bemerken möchte, dass von der Literatur im Wesentlichen nur das berücksichtigt werden soll, was bis zum Abschluss der Arbeit von Dr. Yamagiwa erschienen war. Die seitdem neugewonnenen Gesichtspunkte sollen in einer, zur Zeit noch unter meiner Leitung in der Ausführung begriffenen Arbeit gewürdigt werden.

Vor einigen Jahren hat Jaquet¹⁾ die von Schmiedeberg²⁾ begonnenen Versuche über die Oxydation durch überlebende Gewebe im Laboratorium des letzteren wieder aufgenommen. Als zu oxydirende Substanzen benutzte Jaquet die von Schmiedeberg empfohlenen, nemlich Benzylalkohol und Salicylaldehyd, als solche Substanzen, die

1) unter gewöhnlichen Verhältnissen bei Körpertemperatur an der Luft nicht verbrennen, im Organismus dagegen leicht, und zwar

2) in einer bestimmten Weise, namentlich an einer bestimmten Stelle ihres Moleküls oxydirt werden, und

3) deren Oxydationsprodukte anderswoher nicht stammen können und unter allen Umständen leicht nachzuweisen und quantitativ sicher zu bestimmen sind.

Jaquet gelangte nun bei seinen Versuchen zu höchst bemerkenswerthen, die Beobachtungen von Schmiedeberg weiternden Resultaten. Es zeigte sich zunächst, in Bestätigung der betreffenden Angaben von Schmiedeberg, dass von Blut allein Benzylalkohol nur in äusserst geringer Menge zu Benzoesäure oxydirt wird — und in eben solcher Menge auch von schwacher Lösung von kohlensaurem Natron —, Salicylaldehyd überhaupt nicht. Die Versuche wurden meistens so angestellt, dass das Blut mit Benzylalkohol, bezw. Salicylaldehyd versetzt und in einer Flasche unter häufigem Umschütteln — meistens bei erhöhter Temperatur — wechselnde Zeit, bis zu 24 Stunden, aufbewahrt wurde. In einem Versuch liess Jaquet auch die Blutmischung bei 3 Atmosphären Druck durch eine 3 m lange Capillare hindurchströmen. Die Versuche mit Organen ergaben, gleichfalls lediglich in Bestätigung der Angaben von Schmiedeberg, dass Benzylalkohol und Salicylaldehyd, in Blut gelöst, durch überlebende Organe mit Leichtigkeit zu Benzoesäure, bezw. Salicylsäure oxydirt werden.

Die weitere Verfolgung der Versuche führte aber, wie gesagt, zu sehr bemerkenswerthen Ergebnissen, welche sich etwa in folgende Sätze zusammenfassen lassen:

¹⁾ Archiv für exp. Pathol. Bd. 29. S. 386. 1892.

²⁾ Ebenda. Bd. 14. S. 288 und 379. 1881.

1. Die Gegenwart von Blut ist für die Oxydation durch die Organe, speciell die am häufigsten angewendete Lunge nicht erforderlich, dieselbe erfolgt vielmehr ganz ebenso, wenn an Stelle von Blut Blutserum angewendet wird.

2. Durch Chinin oder Carbolsäure vergiftetes Lungengewebe wirkt eben so oxydirend, wie eine intakte Lunge, die Oxydationsfähigkeit ist also keine Eigenschaft des lebenden Protoplasmas.

3. Ebenso wirkt die Lunge oxydirend, wenn sie vorher 24—48 Stunden in einer Kältemischung aufbewahrt worden und „bretthart“ durchgefroren ist.

4. Pferdelungen und Pferdenieren, welche 12—14 Tage in 75—80prozentigem Alkohol gelegen hatten, lieferten, mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewässert, dann in der gewöhnlichen Weise zu den Versuchen verwendet, gleichfalls Benzoesäure und Salicylsäure; ebenso, mit Ausnahme eines Versuches, wenn die Organe nicht in toto mit Alkohol behandelt, sondern vorher zu Brei verrieben und dann erst mit Alkohol gehärtet wurden.

5. Endlich gelang es auch, durch schwach kochsalzhaltige Auszüge aus Pferdelungen und Pferdenieren Benzylalkohol und Salicylaldehyd zur Oxydation zu bringen. Ebenso, wenn die Organe vorher 2 Stunden mit Alkohol und Aether behandelt, dann mit kochsalzhaltigem Wasser ausgezogen, und die Auszüge mit salicylaldehydhaltigem Blut versetzt wurden. In allen unter 5) erwähnten Versuchen, sowie in einigen früheren, liess Jaquet die Lösungen an der Innenseite einer Röhre von 15—20 mm Durchmesser und 2 m Länge herabfliessen. Die unten abströmende Flüssigkeit wurde immer wieder von Neuem aufgesogen.

Die mit Alkohol und Aether behandelten Organe bildeten allerdings erheblich weniger Salicylsäure, wie die frischen, doch ist dieser Umstand nicht prinzipiell entscheidend, jedenfalls hatten diese Auszüge die Fähigkeit, den Sauerstoff der Luft auf Salicylaldehyd zu übertragen, eine Fähigkeit, welche einfachen alkalischen Lösungen abgeht.

Dass es sich bei dieser Oxydation in der That um die Wirkung eines Ferments oder Enzyms handelt, ergaben die Versuche mit gekochten Organen: durch Siedhitze geht die Fähigkeit Oxydation zu vermitteln, vollständig verloren.

Es scheint mir zweckmässig, den fermentartigen Körper, welcher die Oxydation vermittelt, der Kürze halber „Oxydationsferment“ zu nennen, wie dieses auch schon von verschiedenen Seiten geschehen ist, wenn auch zugegeben werden muss, dass dadurch der Begriff des „Ferments“ etwas erweitert wird. Die Angabe von Jaquet, dass das Blut allein die Oxydation von Salicylaldehyd zu Salicylsäure nicht zu bewirken vermöge, steht nun in einem gewissen Widerspruch zu früher von mir mitgetheilten Versuchen.

Bereits etwa ein Jahr nach dem Erscheinen der ersten Arbeit von Schmiedeberg, also 1882, ist es mir gelungen¹⁾, durch das Blut allein Oxydationen herbeizuführen, welche den durch die Gemische von Blut und Organen und Organauszügen bewirkten an Umfang nicht nachstehen. Ich erreichte dieses, indem ich das, mit der zu oxydirenden Substanz versetzte, Blut, speciell Kalbsblut, zur Zerstäubung brachte, das zerstäubte Blut in einem grossen, schräg gestellten Glascylinder dem grössten Theile nach auffing und auf's Neue zerstäubte. Jeder Versuch dauerte 8—16 Stunden. In einem derartigen, 8 Stunden dauernden Versuch wurden so aus Salicylaldehyd 0,167 g reine Salicylsäure erhalten, ohne dass bei der Verarbeitung besondere Sorgfalt auf die Vermeidung von Verlusten verwendet war. Das ist reichlich so viel als Schmiedeberg und Jaquet unter Verwendung von Organen aus etwa denselben Quantitäten Salicylaldehyd erhalten haben. Jaquet scheint diese Angaben, welche etwa 9—10 Jahre vor den seinigen gemacht sind, übersehen zu haben, jedenfalls gilt sein Satz, dass Blut allein die Oxydationen nicht zu bewirken vermag, nicht allgemein, sondern nur speciell für die von ihm gewählten Versuchsbedingungen.

Nach dem Erscheinen seiner Arbeit wurden meine Angaben über die Oxydation durch Blut allein von Abelous und Biarnès²⁾ bestätigt. Die genannten Autoren stellten ihre Versuche so an, dass sie durch das mit Salicylaldehyd versetzte Blut einen continuirlichen Luftstrom hindurch leiteten. Es steht also fest, dass der Salicylaldehyd auch durch das Blut allein oxydiert werden kann.

¹⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. VII. S. 115. 1882.

²⁾ Abelous et Biarnès, Arch. de physiol. 1894. p. 591.

Bezüglich des Zustandekommens der Oxydation durch das Blut allein nahm ich bei meinen damaligen Versuchen an, dass die Uebertragung des Sauerstoffs durch die Blutkörperchen bewirkt werde. Diese Annahme schien gerechtfertigt dadurch, dass es in Controlversuchen nicht gelangt, unter denselben Versuchsbedingungen Salicylaldehyd in alkalisirter physiologischer Kochsalzlösung, bezw. solcher, die zur Vermehrung der Consistenz mit Gummi arabicum versetzt war, zur Oxydation zu bringen. Richtiger wäre es gewesen, zu den Controlversuchen statt der genannten Lösungen Kalbsblutserum zu nehmen. Da mir dieses in den erforderlichen grossen Quantitäten — $2\frac{1}{2}$ Liter zu jedem Versuch — nicht zur Verfügung stand und nicht abzusehen war, was die Anwendung desselben statt der genannten Flüssigkeiten an den Versuchsbedingungen ändern sollte, so glaubte ich, von der Anwendung des Kälbsblutserums abssehen zu können. Dennoch war meine Erklärung — trotz aller inneren Wahrscheinlichkeit — unrichtig. Abelous und Biarnès stellten den fehlenden Versuch mit Blutserum an und konnten mit Hülfe desselben ohne Blutkörperchen dieselbe Oxydation des Salicylaldehyd bewirken: eines der lehrreichsten Beispiele dafür, dass jede Annahme, auch die scheinbar sicherste, durch den Versuch geprüft werden muss. Hätte ich den Versuch selbst ausgeführt, so wäre schon damals — d. h. 9—10 Jahre vor Jaquet — das lösliche Oxydationsferment aufgefunden worden, oder, wenn ich mich etwas vorsichtiger ausdrücken soll, es wäre festgestellt worden, dass es zur Oxydation der Gegenwart des Protoplasmas selbst nicht bedarf.

Das Blut wirkt also, ganz im Sinne von Jaquet durch das in ihm enthaltene lösliche Oxydationsferment, oxydirend. Um mit demselben aber die Oxydation bewirken zu können, muss man die Bedingungen der Oxydation möglichst günstig gestalten, durch Zerstäubung oder durch andauerndes Luftdurchleiten, und hierin liegt der Grund für das ganze verschiedene Resultat der Versuche von Schmiedeberg und Jaquet einerseits, mir und Abelous und Biarnès andererseits.

Zur Prüfung der Angaben von Jaquet hat Schwiening¹⁾ im Anschluss an seine Untersuchungen über die fermentativen

¹⁾ Dieses Archiv. Bd. 136. S. 477.

Prozesse in den Organen einige Versuche angestellt, welche wenigstens so viel ergaben, dass sich durch die wässrigen Auszüge vorher abgetöteter Organe Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydiren lässt.

Die Versuche von Yamagiwa sollten einerseits die Angaben von Jaquet nachprüfen, dass die Oxydationsfähigkeit nicht an das Leben des Protoplasmas gebunden sei, andererseits die quantitativen Verhältnisse des Oxydationsferments in den verschiedenen Geweben verfolgen. Da an der Unabhängigkeit des Oxydationsvermögens vom Leben des Protoplasmas nach den Versuchen von Jaquet kaum ein Zweifel sein konnte, so wurde das Hauptgewicht auf den letzteren Punkt gelegt und nach dieser Richtung haben die Versuche in der That zu werthvollen Ergebnissen geführt.

Ueber die Versuchsanordnung ist nicht viel zu sagen. Im Allgemeinen bestand sie darin, dass Mischungen von feingehackten Organen oder Auszügen derselben (mit oder ohne Blut) mit Salicylaldehyd eine gewisse Zeit stehen gelassen und dann die gebildete Salicylsäure nach bekannter Methode daraus dargestellt wurde. Zur Bestimmung der Quantität der Salicylsäure diente ein colorimetrisches Verfahren, das auf der Färbung beruht, welche Lösungen von Salicylsäure — und zwar sehr verdünnte — auf Zusatz von verdünnter Eisenchloridlösung annehmen. Die Quantität des Eisenchlorids ist leicht zu treffen. Als Stammlösung diente eine solche von 0,05 g Salicylsäure in 100 ccm Wasser. Von dieser Lösung wurden einige Cubikcentimeter auf 100 Wasser genommen, dann mit Eisenchlorid versetzt, alsdann der die Salicylsäure enthaltende Rückstand in Wasser gelöst und ebenso behandelt, durch Zusatz von Wasser zu der einen oder anderen Lösung gelang es dann leicht, gleiche Intensität der Färbung herbeizuführen. Von Wichtigkeit ist es dabei, darauf zu achten, dass die schliesslich erhaltenen Salicylsäurelösungen nicht kleine Mengen von der zur Isolirung der Salicylsäure benutzten Schwefelsäure enthalten, weil diese die Reaction erheblich stört. Zu diesem Behuf müssen die Aetherauszüge sehr sorgfältig abgetrennt und filtrirt werden und es muss bei der Herstellung des Aetherauszuges auf die möglichste Abwesenheit von Alkohol geachtet werden, welcher Schwefelsäure in die Aetherauszüge überführen kann. Einige auffallend niedrige Resultate für die Quantität der Salicylsäure

mögen wohl durch Fehler in dieser Richtung bedingt sein. — Die Einzelheiten gehen aus den nachfolgenden, in abgekürzter Form wiedergegebenen Versuchsprotocollen hervor.

Versuch I.

A. 130 g Leber¹⁾), 600 Blut, 400 physiol. Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd gemischt.

B. 130 g Leber, eine Stunde mit 400 ccm physiol. Kochsalzlösung bei 40° digerirt, der Auszug colirt, dann durch Glaswolle filtrirt (die mikroskopische Untersuchung des Filtrats ergiebt fast völliges Fehlen von Leberzellen), zum Filtrat 600 Blut und 1 ccm Salicylaldehyd.

Diese Versuchsanordnung, bei welcher die Leber selbst und die Leberauszüge hinsichtlich ihrer quantitativen Leistung verglichen werden sollen, setzt voraus, dass die ganze Quantität des Oxydationsferments in dem Auszug übergeht. Dieses vollständig zu erreichen, ist natürlich nicht möglich, auf kleine Bruchtheile des Oxydationsferments wird man immer verzichten und die dadurch verursachte Ungenauigkeit in den Kauf nehmen müssen. Um aber annähernde Vollständigkeit nach dieser Richtung zu erreichen, wurde die Filtration unter Druckdifferenz soweit als möglich, bezw. thunlich getrieben. Es waren dazu stets mehrere Stunden erforderlich.

C. 600 Blut, 400 physiol. NaCl-Lösung, 1 ccm Salicylaldehyd (Controlversuch).

Alle Mischungen 44 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, ab und zu geschüttelt. Nach der angegebenen Zeit wurden die Mischungen in siedendes Wasser gegossen (A nach vorgängigem Coliren), die Coagulation durch ganz schwaches Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure und weiteres Kochen vervollständigt,filtrirt, bei alkalischer Reaction eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, der Auszug verdunstet und der Alkohol möglichst vollständig entfernt, Rückstand in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert, mehrmals mit Aether ausgeschüttelt und die Aetherauszüge abdestillirt. Der nunmehr bleibende Rückstand enthält die Salicylsäure mehr oder weniger rein. Auf die quantitative Bestimmung ist in diesem Fall verzichtet. Es konnte sowohl in A als in B Salicylsäure nachgewiesen werden, in B anscheinend etwas mehr, sie fehlte aber auch in dem Controlversuch nicht ganz.

Versuch II.

A. 110 g Leber, 600 Blut, 400 Kochsalzlösung²⁾, 1 ccm Salicylaldehyd.

¹⁾ Es ist leider nicht notirt, ob Rinderleber oder Kalbsleber — nur um diese beiden kann es sich handeln — angewendet wurde. Später ist ausdrücklich Kalbsleber notirt. Das Blut war Rinderblut. Selbstverständlich wurden zu Doppelversuchen stets Anteile derselben Leber u. s. w. genommen.

²⁾ hierunter ist stets die „physiologische“ mit einem Gehalt von 0,7 pCt. Kochsalz verstanden.

B. 110 g Leber, eine Stunde bei 40° mit 400 ccm Kochsalzlösung digerirt, durch Glaswolle filtrirt, dazu 600 Blut, 1 ccm Salicylaldehyd.

C. Controlversuch. 600 Blut, 400 Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd. Dauer der Digestion bei Zimmertemperatur 43 Stunden.

Es wurde gefunden in A 15 mg Salicylsäure, in B eben so viel, in C 1 mg.

Versuch III.

Wiederholung von II. Digestion bei Zimmertemperatur, Dauer 46 Stunden. Bei A und B war fauliger Geruch bemerkbar.

Es wurde erhalten Salicylsäure aus Mischung A 30 mg, B 30, C 5 mg.

Versuch IV.

Wiederholung der vorigen Versuche mit der kleinen Abweichung, dass die Quantität der Leber je 125 g betrug. Digestion im Wärmschrank. Dauer derselben 46 Stunden.

Es wurde Salicylsäure erhalten aus A 22,5 mg, B 15 mg, C 3,75 mg.

In den folgenden Versuchen wurde das Blut fortgelassen und nur mit Lebersubstanz einerseits und Leberauszug andererseits gearbeitet.

Versuch V.

A. 130 g Leber, 400 Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd.

B. 130 g Leber mit 400 Kochsalzlösung extrahirt, filtrirt. Dauer der Digestion im Wärmschrank 46 Stunden.

Aus beiden Portionen 20 mg Salicylsäure erhalten.

Versuch VI.

Wiederholung von V, jedoch mit dem Unterschied, dass nicht 400, sondern 1000 ccm Kochsalzlösung zur Anwendung kamen, ferner war die Versuchsanordnung insofern eine andere, als die Mischungen sehr häufig und energisch durchgeschüttelt wurden. Dauer der Digestion im Wärmschrank 43½ Stunden.

In beiden Portionen A und B wurden 135 mg Salicylsäure gefunden.

Versuch VII.

Wiederholung von VI. Dauer der Digestion im Wärmschrank 44 Stunden.

In Portion A wurden 160, in B 180 mg Salicylsäure gefunden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die Art der Behandlung der Mischungen — Stehenlassen oder öfteres energisches Schütteln und Lüften des Stöpsels — von sehr grossem Einfluss ist. Dieser Umstand erschwert die Vergleichung verschiedener Versuche. Es ist nicht besonders schwierig, zwei neben einander stehende Mischungen gleichmässig zu behandeln, aber sehr schwer, Sicherheit darüber zu erlangen, dass die Behandlung in

verschiedenen Versuchen eine ganz gleichmässige gewesen ist. In dieser Beziehung ist die Versuchsanordnung von Abelous und Biarnès — Durchleiten eines regulirbaren Luftstroms — besser, jedoch, wenn es sich um mehrere gleichzeitig digerirte Mischungen und um Digestion bei Brutwärme handelt, schwer ausführbar. Jedenfalls wird man unter diesen Umständen stets die grösste Quantität der gebildeten Salicylsäure der Beurtheilung der Oxydationswirkung zu Grunde legen müssen, da die kleinere Quantität ja nur besagt, dass unter Umständen die Oxydationswirkung auch geringer sein kann.

Der Sicherheit halber wurden nun zunächst noch einige Versuche angestellt, welche den Zweck hatten, zu zeigen, dass der, die Oxydation vermittelnde Körper durch Siedehitze zerstört wird, demnach also zu den Fermenten zu zählen ist.

Versuch VIII.

A. 120 g Leber 1 Stunde bei 40° mit 500 Kochsalzlösung extrahirt, filtrirt, gekocht.

B. Ebenso behandelt¹⁾), das Filtrat jedoch nicht gekocht. Zu jeder Portion 1 ccm Salicylaldehyd. 21 Stunden im Wärmschrank digerirt.

A liefert keine Spur von Salicylsäure, B 100 mg.

Versuch IX.

Wiederholung von VIII. Dauer der Digestion 44 Stunden.

A enthält keine Salicylsäure, B 90 mg.

Weitere Versuche bezogen sich auf die Einwirkung des Alkohols auf das Ferment.

Versuch X.

A. 120 g Leber mit etwa dem doppelten Volumen Alcohol absolutus durchgerührt, unter öfterem Schütteln etwa 1 Stunde stehen gelassen, dann colirt und abgepresst, der Rückstand mit 1 Liter Kochsalzlösung angerührt, filtrirt.

B. 120 g desselben Leberbreies direct mit Kochsalzlösung extrahirt.

Zu beiden Portionen je 1 ccm Salicylaldehyd. Dauer der Digestion 20 Stunden.

In A werden 30 mg Salicylsäure gefunden, in B nur 10 mg.

Das Resultat ist ein sehr auffallendes. Als nachgewiesen kann man natürlich nur ansehen, dass die Leber trotz der vor-

¹⁾ Besser wäre es gewesen, 240 g Leber mit 1 Liter Salzlösung zu digeriren und filtriren und dann erst das Filtrat zu theilen. Möglicherweise ist auch so verfahren worden; aus dem Protocoll ist dieses nicht bestimmt ersichtlich und leider mir auch nicht mehr erinnerlich.

gängigen Behandlung mit Alcohol absolut. oxydirend gewirkt hat. Woran es liegt, dass sich in B nur eine so kleine Quantität Salicylsäure gebildet hat, ist schwer zu sagen. Möglicherweise liegen hier Versuchsfehler vor. Die Salicylsäure ist als freie Säure mit Wasserdämpfen ganz erheblich flüchtig. Wenn es gelegentlich versäumt wird, beim Eindampfen der Lösungen auf die alkalische Reaction zu achten, so kann sehr leicht Salicylsäure verloren gehen. Vielleicht ist auch der andere, oben bei der Beschreibung des Verfahrens erwähnte, Fehler vorgekommen, dass die zu der colorimetrischen Bestimmung verwendete Flüssigkeit etwas Schwefelsäure enthielt, deren Anwesenheit grosse Fehler bedingt.

Versuch XI.

A. 120 g Kalbsleber. Brei 24 Stunden lang mit Alcohol absolutus behandelt, dann colirt, abgepresst, mit 1 Liter Kochsalzlösung angerührt, dazu 1 ccm Salicylaldehyd.

B. 120 g desselben Leberbreies direct mit 1 Liter Kochsalzlösung, filtrirt, dazu 1 ccm Salicylaldehyd.

Beide Mischungen 24 Stunden bei Brütwärme digerirt.

Aus A erhalten 60 mg Salicylsäure, aus B 50 mg.

Das Ferment hat also auch die 24stündige Behandlung mit Alcohol absolut. vertragen.

Versuch XII.

A. 120 g Kalbsleber mit 240 ccm Alcohol absol. 3 Tage lang behandelt, dann ebenso verfahren, wie in Versuch XI.

B. 120 g desselben Leberbreies sofort mit 1 Liter Kochsalzlösung und 1 ccm Salicylaldehyd angesetzt (ohne vorgängige Filtration).

Die Portion A ist natürlich 3 Tage später digerirt, jedoch war die Temperatur im Thermostaten dieselbe, nehmlich 39—40°. Dauer der Digestion 24 Stunden.

Erhaltene Salicylsäure aus A äusserst gering, etwa 1,3 mg, aus B 20 mg.

Durch 3 tägige Behandlung mit Alcohol absolut. ist also das Ferment zum grössten Theil zerstört.

Es ist eine auffallende Erscheinung, dass in allen diesen Versuchen die Quantität der gebildeten Salicylsäure sehr viel geringer war, als in den Versuchen VI, VII, VIII, IX. Dass in allen diesen Versuchen Fehler vorgefallen sein sollen, ist schwer zu denken. Etwas Einfluss mag ja die Abkürzung der Digestion gehabt haben, im Uebrigen sind aber noch so viele Factoren,

als möglicherweise von Einfluss denkbar — die Individualität, das Alter des Thiers, die vorangegangene Fütterung, die Zeit, die nach dem Schlachten des Thiers vergangen ist —, dass die Frage über die Ursache der Ungleichmässigkeit der Resultate nur durch ausgedehnte Versuchsreihen beantwortet werden könnte.

Nachdem durch diese Versuche die Angaben von Jaquet, dass die Anwesenheit des Zellprotoplasmas selbst durchaus entbehrlich ist, die Oxydation vielmehr durch ein aus dem Protoplasma stammendes, in Wasser lösliches Ferment vermittelt wird, welches auch einige Behandlung mit Alcohol absolut. verträgt, nach länger dauernder Behandlung aber, ebenso wie das Pepsin fast ganz zerstört wird — in vollem Umfang bestätigt waren, sollte nunmehr festgestellt werden, wie sich das Oxydationsvermögen verschiedener Gewebe verhält.

In erster Linie wurde das Muskelgewebe untersucht, einerseits, weil dieses der Quantität nach am meisten in Betracht kommt, andererseits die Feststellung des Oxydationsvermögens von besonderem Interesse war. Bekanntlich hat Hermann gefunden, dass der Muskel Substanzen enthält, aus welchen sich bei der Muskelthätigkeit ohne Zufuhr von Sauerstoff Kohlensäure abspaltet, die grossen Quantitäten von Kohlensäure, welche der arbeitende menschliche Organismus liefert, führen aber doch fast unwillkürlich zu der Vorstellung, dass bei diesem Vorgang auch directe Oxydation mitspielt. Von diesem Gesichtspunkt aus war es von Interesse, das Oxydationsvermögen des Muskels für Salicylaldehyd zu untersuchen, wenn sich damit auch bindende Schlüsse für das physiologische Verhalten natürlich nicht direct ergeben.

Versuch XIII.

A. 130 feingehacktes Rindfleisch, 1 Liter Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd.

B. Dieselbe Quantität Rindfleisch mit 1 Liter Salzlösung ausgezogen, filtrirt, 1 ccm Salicylaldehyd.

44 stündige Digestion bei Brütwärme.

In beiden Mischungen A und B hatten sich nur Spuren von Salicylsäure gebildet, in A wurden etwa 0,4 mg gefunden, in B 0,2 mg. Die Differenzen fallen natürlich ganz in die Fehlergrenzen.

Versuch XIV.

Wiederholung von XIII. Aus A ergaben sich 2 mg Salicylsäure, aus B 2,5 mg.

Versuch XV.

Wiederholung der Versuche XII und XIII unter Anwendung von je 180 g Rindfleisch. 46stündige Digestion im Thermostaten. Aus beiden Mischungen ergaben sich je 1,25 mg Salicylsäure.

Schon aus diesen Versuchen geht hervor, dass das Oxydationsvermögen des Muskelgewebes ein ganz minimales ist.

Versuch XVI.

A. 180 g gehackte Kalbsleber, 1 Liter Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd.

B. 180 gehackte Kalbsmilz¹⁾, 1 Liter Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd.

46stündige Digestion im Thermostaten bei 39—40°.

Aus der Leber erhalten 100 mg Salicylsäure, aus der Milz 120 mg.

Versuch XVII.

A. 180 g gehackte Kalbsmilz, 1 Liter Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd.

B. 180 g gehacktes Kalbfleisch u. s. w.

48stündige Digestion im Thermostaten.

Aus der Milz wurden 120 mg Salicylsäure erhalten, aus dem Kalbfleisch nur Spuren.

Versuch XVIII.

Wiederholung von XVII. 48stündige Digestion im Thermostaten.

Aus der Milz wurden 180 mg Salicylsäure erhalten, aus den Muskeln nur Spuren.

Versuch XIX.

A. 180 g Kalbsmilz gehackt, 1 Stunde mit 1 Liter Kochsalzlösung, filtrirt, mit 1 ccm Salicylaldehyd versetzt.

B. 180 g Kalbfleisch ebenso behandelt.

Dauer der Digestion im Thermostaten 67½ Stunden.

Aus der Milz erhalten 0,2 Salicylsäure, aus den Muskeln Spuren. — Da bei der Bestimmung der Quantität der Salicylsäure die betreffende Flüssigkeit nur zum kleinsten Theil verbraucht war, wurde der grössere Theil zur Darstellung der Salicylsäure verwendet und diese gut krystallisiert erhalten.

Versuch XX.

A. 125 g Kalbsniere, 1 Liter Kochsalzlösung, 1 ccm Salicylaldehyd.

B. 125 g derselben Niere mit Kochsalzlösung 1 Stunde bei 40° digerirt, filtrirt. 1 ccm Salicylaldehyd.

¹⁾ Angeblich stammen in diesen und den folgenden Versuchen die Organe von demselben Thier. Eine positive Sicherheit hierfür zu gewinnen, ist unter den Verhältnissen in Berlin bei der weiten Entfernung des Schlachthofs für den Experimentator persönlich kaum ausführbar.

Dauer der Digestion im Thermostaten 68 Stunden.

Aus A erhalten 20 mg Salicylsäure, aus B 4 mg.

Der auffallende Unterschied in der Quantität der Salicylsäure bei A und B bestimmte zu einer Wiederholung des Versuches.

Versuch XXI.

Dauer der Digestion 70 Stunden.

Aus A erhalten 30 mg Salicylsäure, aus B 10 mg.

Es scheint danach, als ob das Ferment aus den Nieren durch Wasser nur schwierig zu extrahiren ist, doch ist dieser Punkt zunächst nicht weiter verfolgt worden.

Versuch XXII.

A. 175 g Pankreas + 1 Liter Kochsalzlösung + 1 ccm Salicylaldehyd.

B. 175 g desselben Pankreas wie gewöhnlich extrahirt.

Dauer der Digestion 21 Stunden.

Salicylsäure erhalten aus A 5 mg, aus B Spur.

Versuch XXIII.

Wiederholung von XXII, jedoch $67\frac{1}{2}$ stündige Digestion.

Salicylsäure erhalten aus A 5 mg, aus B 1 mg.

Die Oxydationsfähigkeit des Pankreas ist also schwach, bezüglich der Extrahirbarkeit des Ferments zeigt sich dieselbe Erscheinung wie bei den Nieren.

Fragt man, wie sich nach diesem Versuch die Organe hinsichtlich ihrer Oxydirbarkeit ordnen, so ist ohne Weiteres klar, dass Leber und Milz stark oxydiren, Niere, Pankreas, Muskeln schwach.

Am schwächsten ist offenbar das Oxydationsvermögen des Muskels: es geht kaum über Spuren von Oxydationsfähigkeit hinaus, etwas stärker wirkt das Pankreas, und noch etwas stärker die Niere.

Eine systematische und namentlich zahlenmässige Ordnung der Organe nach ihrem Oxydationsvermögen, etwa das Oxydationsvermögen der Leber = 100 gesetzt, auf Grund des vorliegenden Materials begegnet indessen verschiedenen Schwierigkeiten. Zunächst ist das Material, was Niere und Pankreas betrifft, offenbar nicht ausreichend, für Leber, Muskeln, Milz möchte es allenfalls als ausreichend zu betrachten sein. Ferner muss es zweifelhaft erscheinen, ob man die Organe verschiedener Thiere überhaupt in Vergleich mit einander setzen kann, ob es hierzu

nicht vielmehr erforderlich ist, dass sämmtliche Organe von ein und demselben Thier herstammen, was in den vorliegenden Versuchen theils sicher nicht der Fall, theils zweifelhaft ist. Auch leiden die Versuche an kleinen Incorrectheiten insofern, als das Verhältniss zwischen der Quantität des Organs und der angewendeten Kochsalzlösung etwas wechselnd ist und die Möglichkeit, dass Unterschiede nach dieser Richtung auf den Umfang der Oxydation von Einfluss sein könnten, sehr nahe liegt.

Abgesehen von diesen Einwendungen kann man über die Art, wie man aus den Versuchsergebnissen das Oxydationsvermögen berechnen soll, zweifelhaft sein. Von vornherein erscheint es mir geboten, in denjenigen Fällen, in welchen mit ein und demselben Material Doppelversuche ausgeführt worden sind, stets die höhere für die Salicylsäure erhaltene Zahl als die maassgebende anzusehen und nur diese zu berücksichtigen. Das bedarf keiner Begründung: die niedrigere Zahl zeigt nur, dass die Bedingungen für den möglichst günstigen Ablauf nicht getroffen sind, der Versuch an Unvollkommenheiten leidet.

Dieses vorausgesetzt sind 2 Arten der Berechnung möglich: entweder berücksichtigt man nur die höchste für das betreffende Organ einmal erhaltene Zahl, oder man nimmt aus allen Zahlen das Mittel. In jedem Fall wird es zum Zweck des Vergleiches nötig sein, die Zahlen auf dieselbe Quantität Organ, also etwa auf 100 g umzurechnen, obwohl, wie gesagt, auch hierbei einige Bedenken obwalten.

Wenden wir zunächst die erste Betrachtungsweise an, so finden wir als höchste Zahlen für die gebildete Salicylsäure:

180 mg	geliefert von	130 g Leber
200 -	-	180 - Milz
30 -	-	125 - Niere
5 -	-	175 - Pankreas
2,5 -	-	180 - Muskelfleisch.

100 g Organgewebe haben demnach geliefert:

Leber . . .	138 mg
Milz . . .	110 -
Niere . . .	22 -
Pankreas . .	2,8 -
Muskel . . .	1,4 -

Setzen wir das Oxydationsvermögen der Leber = 100, so würden wir für die Milz 80,4, Nieren 15,5, Pankreas 2,0, Muskeln 1,0 erhalten.

Bei der zweiten Betrachtungsweise unter Berücksichtigung sämtlicher erhaltenen Zahlen (nur bei Doppelversuchen stets die höhere Zahl allein) ergiebt sich für 100 g Organ gebildete Salicylsäure in Milligramm:

Leber . .	52,9	(Mittel aus 12 Versuchen)
Milz . .	86,1	(- - 4 -)
Niere . .	20	(- - 2 -)
Pankreas . .	2,9	(- - 2 -)
Muskeln . .	0,52	(- - 5 -).

Uebereinstimmend mit der ersten Betrachtungsweise ergiebt sich also dieselbe Reihenfolge für Niere, Pankreas, Muskeln und derselbe Gegensatz zu Leber und Milz als stärker oxydirenden Organe, auch die Zahlen für 100 g Gewebe liegen sehr nahe den vorigen, durch eine andere Betrachtungsweise abgeleiteten; dagegen ist die Stellung von Milz und Leber zu einander eine andere. Das Oxydationsvermögen der Leber erscheint schwächer als das der Milz, und zwar nicht unerheblich.

Nun kommt hierbei aber noch ein besonderer Umstand in Betracht. Die Versuche mit Leber haben bezüglich der Quantität der gebildeten Salicylsäure ein sehr verschiedenes Resultat ergeben: von den 12 angestellten Versuchen haben die ersten 4 sehr niedrige, die folgenden 4 hohe Werthe geliefert. Berechnet auf 100 g resultirt aus den ersten 4 Versuchen nur 18,4 mg Salicylsäure, aus den 4 folgenden dagegen 101 mg. Es ist kaum anzunehmen, dass bei allen 4 ersten Versuchen Zufälligkeiten, wie mangelnde Uebung oder Fehler die Ursache des niedrigen Resultats sein sollen, es sind vielmehr innere, in der Natur der Sache liegende Momente als Ursache dieser Erscheinung wahrscheinlich. Möglicherweise ist in den ersten 4 Versuchen Rinderleber angewendet worden, in den späteren Kalbsleber, welche nach Abelous und Biarnès¹⁾ stärker oxydirend wirkt, als Rinderleber, aus den Versuchsprotocollen ist dieser Punkt leider nicht mit Sicherheit zu eruiren.

¹⁾ Arch. de physiol. norm. et path. 1895. No. 1. p. 195.

Somit muss die Frage, ob der Leber oder der Milz die erste Stelle in der Reihe zukomme, unentschieden bleiben, dagegen resultirt aus beiden Arten der Ableitung — und kann daher wohl als sicher angenommen werden —, dass die Niere die 3. Stelle einnimmt, das Pankreas die 4., die Muskeln die letzte. In aller Kürze habe ich diese Versuchsergebnisse schon im Centralblatt für die med. Wiss. 1894, No. 52, S. 914 mittheilt. Unmittelbar darauf haben Abelous und Biarnès das Resultat ihrer unabhängig davon angestellten Versuche über die Vertheilung des Oxydationsferments veröffentlicht. Sie fanden für die Organgewebe des Kalbes folgende Reihenfolge: Milz, Leber, Lunge, Schilddrüse, Niere, Thymus, Nierenkapsel; schliesslich Muskeln, Gehirn und Pankreas, bei welchem letzteren das Oxydationsvermögen = 0 gefunden wurde. Für die Organe des Rindes ergab sich die Reihenfolge: Leber, Milz, Hoden, Nieren, Nierenkapsel, Schilddrüse.

Die Uebereinstimmung unseres Befundes mit dem von Abelous und Biarnès für die Organe des Kalbes ist, soweit dieselben Organe berücksichtigt sind, eine sehr nahe, ja eine fast vollkommene, da es irrelevant ist, ob man dem Pankreas und Muskelgewebe noch ein geringfügiges Oxydationsvermögen zuschreibt, oder dasselbe für Null hält.

Kommt nun dem löslichen Oxydationsferment der Gewebe im Leben eine Bedeutung zu? Die Beantwortung dieser Frage wird zu einem sehr wesentlichen Theil gegeben sein durch die Anzahl der Substanzen, an welchen sich die Wirkung des Oxydationsferments nachweisen lässt. Bleiben wir zunächst bei den sogen. aromatischen oder speciell den einfachen Benzolderivaten, so sind eine ganze Reihe von Körpern bekannt, welche, dem Organismus einverlebt, oxydiert werden, so werden um nur einige Beispiele anzuführen: Methylbenzol, Aethylbenzol, Propylbenzol, Benzaldehyd, Benzylalkohol, Acetophenon zu Benzoësäure oxydiert, Salicylaldehyd zu Salicylsäure, Xylo zu Toluylsäure, Benzol zu Phenol u. s. w. Die Wirkungen des Oxydationsferments nach dieser Richtung sind noch wenig untersucht. Meines Wissens existirt ausser den Versuchen mit Salicylaldehyd und Benzylalkohol nur ein Versuch mit Benzol, welchen ich vor längerer Zeit angestellt habe, in welchem das mit Benzol versetzte

Blut nach dem im Eingang dieser Arbeit erwähnten Verfahren verstäubt und dann auf Phenol untersucht wurde. Es konnte die Bildung einer allerdings nur sehr kleinen Quantität Phenol constatirt werden.

Keine der erwähnten oxydablen Verbindungen kommt aber im Organismus vor; offenbar hat die Frage, ob die Wirkung des Oxydationsferments sich an solchen Verbindungen äussert, welche regelmässig im Organismus vorkommen und in demselben oxydirt werden, ein weit grösseres Interesse.

Vor längerer Zeit habe ich in gemeinschaftlich mit meinem Bruder H. Salkowski¹⁾ ausgeführten Untersuchungen nachgewiesen, dass die Phenylpropionsäure oder Hydrozimmtsäure ein regelmässiges Produkt der Spaltung des Eiweiss durch Fäulnissbakterien ist. Wir haben ferner gefunden, dass diese Säure im Organismus bis auf den letzten Rest zu Benzoësäure oxydirt wird und diese den Körper verlässt, indem sie sich mit Glykokoll zu Hippursäure verbindet. Nach Erfahrungen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann, ist es nicht zweifelhaft, dass die Hippursäure des Harns regelmässig auf diesem Wege entsteht, indem im Darmkanal ein Theil des Eiweiss durch Fäulnissbakterien gespalten wird und dabei Hydrozimmtsäure bildet. Es ist daher von besonderem Interesse, zu erfahren, ob auch das Oxydationsferment im Stande ist, diese Oxydation zu bewirken.

Einen dahin gehenden Versuch habe ich gleichfalls bereits früher unter Verwendung von Blut und unter denselben Versuchsbedingungen angestellt, unter denen die Oxydation des Salicylaldehyd gelang. Es wurde indessen nur unveränderte Hydrozimmtsäure wiedergefunden. Diese Versuche habe ich wieder aufgenommen, einerseits weil bei Anwendung von Leber vielleicht eher eine Oxydation zu erwarten war, als bei Anwendung von Blut, andererseits weil ich damals die Möglichkeit offen lassen musste, dass der wiedererhaltenen Hydrozimmtsäure kleine Mengen von Benzoësäure beigemischt sein könnten, für welche es damals Methoden zur Trennung nicht gab. Es ist mir jetzt gelungen, die Trennung der Hydrozimmtsäure und Benzoësäure durch ein Verfahren herbeizuführen, welches auf

¹⁾ Ber. d. d. chem. Gesellsch. XII. S. 653 und Zeitschr. f. physiol. Chem. VII. S. 168.

der verhältnissmässig grossen Löslichkeit des benzoësauren Zink in kaltem Wasser gegenüber der Schwerlöslichkeit des hydrozimmtsäuren Zink in diesem beruht. Das Verfahren ist ähnlich dem, welches ich früher zur Trennung der Hydrozimmtsäure und Phenylessigsäure von einander benutzt habe¹⁾.

1 g Hydrozimmtsäure und 0,1 g Benzoësäure, beide als Natriumsalz, wurden mit 100 g feingehackter Kalbsleber und 1 Liter Wasser gemischt, gut durchgeschüttelt, die Mischung dann sofort aufgekocht und filtrirt, nachgewaschen. Das Filtrat wurde bei schwach alkalischer Reaction eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, der alkoholische Auszug verdunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt. Der ätherische Auszug hinterliess beim Abdestilliren bezw. Verdunsten einen Anfangs ölichen Rückstand, welcher nach dem Erkalten bald strahlig-kristallinisch erstarrte. Dieser Rückstand, in welchem Hydrozimmtsäure und Benzoësäure gleichzeitig vorhanden sein mussten, wurde einige Zeit hindurch mit Wasser und frisch gefälltem, bezw. feucht aufbewahrtem, gut ausgewaschenem kohlensaurem Zink gekocht, dann noch warm filtrirt. Der auf dem Filter bleibende Rückstand sei als Fraction I bezeichnet. Die filtrirte Lösung der Zinksalze wurde auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, dann kalt mit etwa 30 ccm Wasser angerührt, bis zum nächsten Tag stehen gelassen und filtrirt, der Rückstand sei als Fraction II bezeichnet. Das Filtrat wurde wiederum zur Trockne gedampft, mit etwa 10 bis 15 ccm Wasser übergossen, durchgerührt, bis zum nächsten Tag stehen gelassen, dann wurde filtrirt. Der Rückstand auf dem Filter sei als Fraction III, das in Lösung gebliebene Zinksalz als Fraction IV bezeichnet. Das Zinksalz war also auf diesem Wege in 4 Fractionen getrennt. Alle Fractionen des Zinksalzes wurden mit Salzsäure und Aether behandelt und so die Säure in 4 Fractionen dargestellt. Fraction I und II (aus den entsprechenden Zinksalzen) erstarrten nach kurzer Zeit strahlig-kristallinisch, ganz entsprechend dem Verhalten der Hydrozimmtsäure, III an Menge sehr gering, blieb halbfüssig und schied nur wenig fester Substanz ab, IV erstarrte bald zu einer halbweichen Masse, welche sich in ihrem äusseren

¹⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. X. S. 150.

Ansehen sehr wesentlich von den anderen Fractionen unterschied. Von allen Fractionen wurden die Schmelzpunkte bestimmt bei I und II nach leichtem Abdrücken zwischen Filtrirpapier, welches jedoch fast nichts aufnahm, bei III und IV nach dem Absaugen auf Thonplatten, wobei Fraction IV Blättchen lieferte, die sich schon in ihrem äusseren Habitus als gänzlich verschieden von den übrigen Fractionen erwiesen.

Die einzelnen Fractionen zeigten folgende Schmelzpunkte: I $45,5^\circ$, II 45° , III 47° , IV 108° . Die Säure sublimirte leicht und in charakteristischer Weise. Der Schmelzpunkt der Hydrozimmtsäure liegt bei $47,5^\circ$. Da er schon durch geringe Beimengungen wesentlich erniedrigt wird, so kann man mit Bestimmtheit behaupten, dass die ersten 3 Fractionen aus fast reiner Hydrozimmtsäure bestanden. Der Schmelzpunkt der Benzoësäure liegt bei 121° , er wird aber schon durch geringe Beimischungen z. B. von Fettsäure sehr stark erniedrigt, so dass man unter den begleitenden Umständen die bei 108° schmelzende Säure mit Sicherheit als Benzoësäure ansehen kann.

Um ganz sicher zu gehen und einen möglichst genauen Parallelismus mit den eigentlichen Versuchen herzustellen, wiederholte ich den Versuch mit der Modification, dass statt Wasser Chloroformwasser genommen und die Mischung 48 Stunden bei 39° digerirt wurde.

Die Verarbeitung war genau dieselbe. Fraction IV erstarrte dieses Mal sofort beim Abnehmen vom Wasserbad in Form der Benzoësäure. Auf einer Thonplatte abgesogen, schmolz diese Säure-Fraction bei 112° , das daraus erhaltene Sublimat schmolz bei dem Schmelzpunkt der Benzoësäure = 121° . Die anderen Fractionen, von denen III wiederum nur in sehr kleiner Menge erhalten wurde und nur theilweise erstarrte, erwiesen sich nach ihren Schmelzpunkten als Hydrozimmtsäure. Das Verfahren lässt somit 0,1 Benzoësäure, vielleicht noch weniger, neben 1,0 Hydrozimmtsäure mit Sicherheit erkennen.

Es wurden nun zunächst in 2 gleichzeitig angestellten Versuchen 100 g Leber, 1 Liter Kochsalzlösung von 0,75 pCt. und 2 g Hydrozimmtsäure als Natriumsalz gemischt, das Gemisch 48 Stunden bei 39° digerirt, dann genau so wie in den Controlversuchen verarbeitet. Streng genommen wäre dieses nicht

nöthig gewesen. Man hätte eigentlich Fraction I ganz unberücksichtigt lassen und II und III zu einer Fraction vereinigen können, es schien mir aber doch sicherer, von dem erprobten Verfahren nicht abzuweichen.

Auch in diesem Falle war die Fraction III an Menge sehr gering und erstarrte nur theilweise, während I und II krystallinisch erstarrten und schon dem Aeusseren nach keinen Zweifel liessen, dass es sich um Hydrozimmtsäure handele, Fraction IV lieferte keine krystallinisch erstarrende Säure, sondern nur ein wenig schmierige Substanz, aus welcher sich beim Stehen krystallinische Körnchen absetzten. Die Fractionen I, II, III erwiesen sich auch nach ihrem Schmelzpunkt als unveränderte Hydrozimmtsäure, die krystallinischen Körnchen, auf der Thonplatte abgesogen, erweckten nach ihrem Ausschen die Vermuthung, dass es sich um Bernsteinsäure handle. Diese Vermuthung konnte leicht bestätigt werden. Die Körnchen schmolzen bei 180°, zeigten Sublimirbarkeit, sie verdampften bei stärkerem Erhitzen unter Verbreitung zum Husten reizender Dämpfe, die wässrige Lösung endlich zeigte das charakteristische Verhalten zu neutralem Bleiacetat (Anfangs Klarbleiben, dann langsame Ausscheidung eines krystallinischen Bleisalzes).

Der zweite, ebenso angestellte und ebenso verarbeitete Versuch hatte genau dasselbe Resultat: auch hier fand sich keine Benzoësäure, auch keinerlei Andeutung von dem Vorhandensein derselben, sondern nur Hydrozimmtsäure und daneben ebenfalls eine sehr kleine Quantität Bernsteinsäure.

Ebenso negativ verlief ein dritter, etwas anders angestellter Versuch. 1 g Hydrozimmtsäure, 100 g Leber und 1 Liter Chloroformwasser wurden gemischt, 48 Stunden bei 39° digerirt, dann ebenso verarbeitet. Das Resultat war ganz dasselbe: auch hier konnte nur Hydrozimmtsäure wiedererhalten werden, auf die Gegenwart von Benzoësäure deutete nichts hin, eine Abweichung bestand nur in einem Punkt, Bernsteinsäure konnte nehmlich nicht gefunden werden. Die Deutung des in Bezug auf die Bernsteinsäure gemachten Befundes ist sehr einfach. Nach dem Ausfall des ersten Controlversuches ist keine Bernsteinsäure in der Leber präformirt, sie entsteht auch nicht in der Leber bei der Digestion mit Chloroformwasser (2 Versuche),

dagegen entsteht sie bei der Digestion der Leber ohne Chlóroformzusatz, augenscheinlich durch die begleitende Bakterienthätigkeit, vollständig in Uebereinstimmung mit meinen früheren Beobachtungen über die Entstehung der Bernsteinsäure bei der Fäulniss des Eiweisses und denen von Blumenthal¹⁾) über ihre Entstehung in den Organen nach dem Tode und in der Milch unter dem Einfluss von Bakterien²⁾). Nach dem Ausfall dieser Versuche kann man mit Bestimmtheit behaupten, dass das oxydirende Ferment der Leber die Hydrozimmtsäure, welche im Organismus in grossen Mengen oxydirt wird, nicht zu oxydiren vermag.

Die Reihe der durch das Oxydationsferment oxydirten Körper mit der aromatischen Reihe bleibt also bisher auf den Benzylalkohol, den Salicylaldehyd und das Benzol beschränkt — sämmtlich Körper, welche im Organismus physiologisch nicht vorkommen.

Günstiger, als für die aromatischen Substanzen liegt die Frage betreffs der Wirksamkeit des Oxydationsferments für die Reihe der sog. Fettkörper oder Körper der aliphatischen Reihe. Abgesehen von dem von J. Pohl³⁾ erbrachten Nachweis, dass die thierischen Organe, speciell die Leber, in Folge ihres Gehaltes an Oxydationsferment im Stande sind, Formaldehyd und Methylalkohol zu Ameisensäure zu oxydiren, kommt die Wirkung des Oxydationsferments vor Allem am Traubenzucker zur Geltung. Nachdem bereits Cl. Bernard gefunden hatte, dass der im Blut enthaltene Zucker beim Stehen des Blutes verschwindet, hat Lépine⁴⁾ diese halbvergessene Beobachtung auf's Neue gemacht und genauer verfolgt. Lépine hat dieses Verschwinden des Zuckers, welches von vielen Seiten bestätigt und als Oxydation des Zuckers erkannt ist, auf die Wirkung eines bestimmten Ferments „ferment glycolytique“ zurückgeführt. Spitzer⁵⁾ hat alsdann nachgewiesen, dass die Fähigkeit, Trauben-

¹⁾ Dieses Archiv. Bd. 137. S. 539.

²⁾ Ebendaselbst. Bd. 146. S. 65.

³⁾ Archiv für exp. Path. Bd. 31.

⁴⁾ Compt. rend. T. 110. p. 1314.

⁵⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1894. No. 42 und Pflüger's Archiv. Bd. 61. S. 303.

zucker zu zerstören, nicht dem Blut allein zukommt, sondern eine allgemeine Eigenschaft des Protoplasmas ist, dass sie ferner nicht an das Leben des Protoplasmas gebunden ist. Die glykolytische Eigenschaft zeigte sich auch noch an alten Trocken-extracten von Organen. Es ist danach sehr wahrscheinlich, dass das zuckerzerstörende Ferment, welches nur bei Gegenwart von Sauerstoff wirkt, mit dem Oxydationsferment der Gewebe identisch ist.

Schliesslich noch eine Bemerkung über die Technik der Anstellung von Versuchen über das Oxydationsferment. Ich habe früher gezeigt, dass die von löslichen Fermenten ausgehenden Wirkungen der Gewebe sich unabhängig vom Zell-protoplasma demonstrieren lassen, wenn man die Gewebe mit Chloroformwassers übergiesst, welches das Protoplasma abtötet, die löslichen Enzyme dagegen nicht¹⁾). Die Anwendung des Chloroformwasser bietet dabei noch den Vortheil, dass es die Entwicklung von Bakterien verhindert, wahrscheinlich auch durch die Abtötung des Protoplasmas bewirkt, dass die in demselben gebundenen Fermente schneller und ausgiebiger in Lösung gehen. Da in solchen Mischungen von feingehackten Organen und Wasser Fäulniss stets zu befürchten ist, wenn nicht gerade zufällig die zum Versuch gewählte Substanz antiseptisch wirkt, so wäre es ein entschiedener Vorzug, wenn man auch zu den Oxydationsversuchen Chloroformwasser anwenden könnte. In der That scheint nun das Oxydationsferment durch Chloroformwasser nicht angegriffen zu werden, wenigstens konnte aus einer Mischung von 100 g Leber, 1 Liter Chloroformwasser und 1 g Salicylaldehyd, welche 48 Stunden im Thermostaten gestanden hatte, Salicylsäure in reichlicher Menge erhalten werden. Ob die Salicylsäure sich in derartigen Mischungen in derselben Quantität bildet, wie in solchen mit physiologischer Kochsalzlösung muss freilich noch untersucht werden. — Wie ich nachträglich gesehen habe, haben Abelous und Biarnès schon zu dem gleichen Zweck Fluornatrium angewendet. Nach meinen Erfahrungen ist indessen die Wirkung des Fluornatrium nicht so sicher, wie die des Chloroforms. Ausserdem kann die An-

¹⁾ Zeitschr. für klin. Med. Bd. XVII. Suppl. S. 77.

wesenheit des Fluornatrium unter Umständen bei der Darstellung der in den Gemischen nach der Digestion vorhandenen Körper störend sein, während das Chloroform bei der Verarbeitung der Gemische verdunstet, ohne dass man sich besonders darum zu kümmern braucht und niemals irgendwelche Schwierigkeiten verursacht.

II.

Ueber syphilitische Granulationsgeschwülste der Nasenschleimhaut, sowie über die Entstehung der Riesenzellen in denselben.

Von Dr. Paul Manasse,

Privatdocenten und Assistenzarzt d. Universitätsklinik für Ohrenkrankheiten zu Strassburg i. E.

(Hierzu Taf. I.)

I.

Veränderungen, die in Folge von Lues auftreten, gehören gerade in der Nasenhöhle zu den häufigsten Erscheinungen; dieselben kommen in der Mehrzahl der Fälle in destruierenden Prozessen des Nasenskeletes zum Ausdruck, seltener werden schon die gummösen Infiltrationen der Schleimhaut beobachtet. — Eine andere Affection syphilitischer Natur, welche zur Bildung richtiger, selbständiger, theils gestielter, theils der Schleimhaut breit aufsitzender Geschwülste führt, scheint, wie ich aus der Literatur ersehe, den meisten Autoren unbekannt zu sein. Im Laufe der letzten Jahre hatte ich Gelegenheit, einige derartige Geschwülste, die in der hiesigen Universitäts-Ohrenklinik zur Beobachtung kamen, zu untersuchen. Ueber drei dieser Fälle haben Kuhn¹⁾), sowie sein Schüler Frank²⁾ schon einen kurzen klinischen Bericht gegeben; die Ergebnisse der genaueren Untersuchung, und zwar besonders der anatomischen, sollen in folgenden Zeilen mitgetheilt werden.

¹⁾ Verhandlungen der Deutschen otolog. Gesellschaft. Jena 1895.

²⁾ Ueber syphilitische Tumoren der Nase. Dissert. Strassburg 1894.