

## XIII.

**Über die Wiedergewinnung des Diphtherietoxins aus seiner Verbindung mit dem Antitoxin.**

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

Von

J. Morgenroth und K. Willanen.

Die Wiedergewinnung von Toxin, welches unter Einhaltung einer langen Bindungszeit durch Antitoxin neutralisiert war, ist dem einen von uns in zwei Fällen<sup>1)</sup> gelungen, die besonders günstig zur Ausbildung einer zweckmäßigen Versuchstechnik gelagert waren, nämlich bei den zwei Komponenten des Kobragiftes, dem Hämolyisin und dem Neurotoxin. Es konnte gezeigt werden, daß in saurer Lösung die Verbindung des Toxins mit dem Antitoxin nicht mehr beständig ist und es konnte in beiden Fällen die Toxinkomponente freigemacht werden, während allerdings die andere Komponente, das Antitoxin, aus versuchstechnischen Gründen in freiem Zustande nicht demonstriert werden konnte. Die Möglichkeit einer entsprechenden Versuchsanordnung gründete sich einmal darauf, daß in beiden Fällen das Antitoxin aus der sauren Lösung ohne Schädigung des Toxins entfernt werden konnte, indem das Toxin in saurer Lösung beim Kochen erhalten bleibt,<sup>2)</sup> während das Antitoxin zerstört wird. Im Falle des Hämolyisins bot sich eine zweite, besonders günstige Versuchsanordnung dar. Bekanntlich bestehen zwischen einer in den Kobragiftlösungen vorhandenen Substanz, die wir als Prolezzithid bezeichnen, und dem Lezithin Beziehungen, derart, daß beim Mischen einer wässrigen Lösung des Kobragiftes und einer Suspension des Lezithins in Wasser eine hämolytisch wirkende Verbindung, ein

1) Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1905, No. 50 und Arbeiten aus dem Patholog. Institut zu Berlin; Berlin, Hirschwald, 1906.

2) Für das Hämolyisin wurde dies von Kyes und Sachs (Berl. klin. Wochenschr. 1903, No. 2 bis 3) gefunden, für das Neurotoxin nacher von Morgenroth konstatiert. Über Unregelmäßigkeiten, die die quantitative Wiedergewinnung des Neurotoxins im Gegensatz zu dem glatten Verlauf im Falle des Hämolyisins erschweren, siehe Arbeiten aus dem Patholog. Institut.

Toxolezithid, entsteht. Das zu den Versuchen dienende von Calmette hergestellte Antitoxin ist durch Immunisierung von Pferden mit dem Prolezithid erhalten und hat die Eigenschaft, sich nur mit diesem, nicht aber mit dem Toxolezithid zu verbinden. Führt man also das durch Säurezusatz aus seiner Verbindung mit dem Antitoxin abgespaltene Prolezithid durch Zufügen von Lezithin in das entsprechende Toxolezithid über, so bleibt dieses von dem gleichzeitig in der Lösung vorhandenen Antitoxin weiterhin unbeeinflusst und das in das Toxolezithid übergeführte Prolezithid läßt sich durch die hämolytische Wirkung quantitativ wieder nachweisen.

Im Anschluß an diese Ergebnisse stellte Jacoby<sup>1)</sup> einige Versuche an, um festzustellen, ob auch die Neutralisation des Labfermentes durch das im normalen Pferdeserum vorhandene Antilab durch saure Reaktion der Lösung gehemmt wird. Er fand, daß schon ein geringer Säuregrad die Wirkung des Antilabs auf das Lab verhindert und daß bei nachträglicher Zufügung von Säure zu einem unwirksamen Lab — Antilabgemisch die Labwirkung wieder hervortritt. Von letzteren Versuchen wird ein Beispiel nicht mitgeteilt. Das eine von Jacoby mitgeteilte Beispiel der primären Beeinflussung der Antilabwirkung durch Säure möchten wir bis auf weiteres nicht als beweisend ansehen. Über die Stärke des Antilabs läßt der Versuch ein Urteil nicht zu und es bleiben zwei Einwände offen. Erstlich werden die Gemische vor dem Zusatz der Milch nicht neutralisiert und es kann deshalb ein kleiner noch freier Labrest durch die Säure in seiner Aktion so begünstigt werden, daß ein Freiwerden von Lab vorgetäuscht wird. Zweitens kann, worauf Fuld<sup>2)</sup> jüngst hingewiesen hat, nach Bindung des Labs durch das Antilab Umwandlung von Zymogen, welches nach seinen Beobachtungen von dem Antilab nicht beeinflußt wird, in Lab durch die Säure stattfinden und so ein Irrtum entstehen. Die Versuche, deren positiver Ausfall von prinzipieller Bedeutung ist, bedürfen deshalb noch der Ergänzung durch eine quantitative Durchführung.

Daß die Trennung der Toxin-Antitoxinverbindung auf einer Beeinflussung des Toxin-Moleküls durch die Säure beruht,

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. 1, 1906.

<sup>2)</sup> Fuld, Charité-Gesellschaft 1907.

ist für die untersuchten Fälle aus Gründen, die früher schon kurz dargelegt worden sind und an anderem Orte noch ausführlich erörtert werden sollen, sehr wahrscheinlich. Eine über den Einzelfall hinausgehende, für unsere Auffassung der Eigenschaften der Toxine maßgebende prinzipielle Bedeutung gewinnen die bisher im Falle des Kobragiftes festgestellten Phänomene erst dann, wenn sich zeigen läßt, daß die Dissoziation der Verbindung Toxin-Antitoxin in saurer Lösung ein Gesetz ist, dem die Mehrzahl oder vielleicht alle Verbindungen dieser Art folgen. Man hat sich wohl mit Recht gewöhnt, die Neutralisation der verschiedensten Toxine, welches auch ihr Ursprung, ihr sonstiges Verhalten und ihre biologische Wirkung sein mögen, als einen Vorgang einer und derselben Art aufzufassen. Da die Neutralisation durch das Antitoxin, man kann wohl sagen, die vornehmste Eigenschaft ist, welche ein Toxin als solches charakterisiert, so ist fernerhin zu erwarten, daß die Gesetze derselben gleichfalls eine weitgehende Übereinstimmung zeigen, eine Übereinstimmung, die auch bisher zutage getreten und von den Vertretern der verschiedenen Richtungen anerkannt worden ist. Wir verhehlten uns jedoch nicht, daß eine weitere Ausdehnung unsere Befunde mit nicht geringen Schwierigkeiten verknüpft sein würde, da die technischen Bedingungen bei allen bekannten Toxinen weit ungünstiger liegen, wie beim Kobragift.

Trotzdem bei Versuchen mit Diphtheriegift und Antitoxin die mannigfachen Schwierigkeiten des Tierversuches zu befürchten waren, entschlossen wir uns doch, die Frage zunächst auf diesem Gebiet weiter zu verfolgen, da wir nur hier über einen Fall verfügten, dessen sorgfältige experimentelle Durcharbeitung<sup>1)</sup> uns eine genügende Grundlage für weitere Untersuchungen bot.

Der eine von uns hat die Möglichkeit erwiesen, festzustellen, ob in einem Gemisch von Diphtheriegift und Diphtherieanti-

<sup>1)</sup> Siehe vor allem Ehrlich, Die Wertbestimmung des Diphtherieheilserums und ihre theoretischen Grundlagen. Klin. Jahrbuch und Jena, Fischer, 1897. Wir stützen uns hier vor allem auf die eingehenden Untersuchungen von Morgenroth über die Bindung von Diphtherietoxin und -Antitoxin, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 48, 1904 und Berl. klin. Wochenschr. 1904, No. 20.

toxin die Bindung eingetreten sei oder ob sich Toxin und Antitoxin noch nebeneinander in der Lösung befinden. Es wird zunächst notwendig sein, kurz auf die hier in Betracht kommenden Verhältnisse zurückzukommen, wobei wir allerdings, um nicht allzuweit ausholen zu müssen, die Kenntnis der angeführten grundlegenden Arbeit von Ehrlich, deren wesentlicher Inhalt in zahlreichen Lehrbüchern und Zusammenfassungen referiert ist, voraussetzen müssen.

Fügt man zu der  $L_+$ -Dosis eines gegebenen Diphtheriegiftes einmal 200/200, ein zweites Mal 260/200 I.-E. eines Antitoxins und injiziert beide Gemische einem Meerschweinchen subkutan, so tötet das erstere Gemisch, der Definition des  $L_+$ -Wertes entsprechend, das Meerschweinchen innerhalb vier Tagen. Das zweite Gemisch löst keine, weder eine allgemeine, noch eine lokale Reaktion aus. Es ist dasselbe also — für das hier verwandte Toxin — ein  $L_0$ -Gemisch, wie eine einfache Umrechnung ergibt. Injiziert man das letztere Gemisch sofort nach seiner Herstellung einem Kaninchen intravenös, so erliegt dagegen das Tier dem typischen Diphtherietod in wenigen Tagen. Es ist also hier das auf Grund der Bestimmung bei subkutaner Injektion von Meerschweinchen definierte  $L_0$ -Gemisch mindestens zu einem  $L_+$ -Gemisch geworden. Läßt man dagegen dieses Gemisch vor der intravenösen Injektion des Kaninchens mindestens 24 Stunden stehen, so wird es wirkungslos, erscheint also auch bei dieser Versuchsanordnung als wahres  $L_0$ -Gemisch. Die Differenz beruht darauf, daß, wie a. a. O. nachgewiesen ist, die Bindung des Toxins und Antitoxins im Unterhautbindegewebe des Meerschweinchens mit großer Schnelligkeit erfolgt, während sie in vitro sehr langsam verläuft. Ein sofort nach der Mischung in die Blutbahn injiziertes  $L_0$ -Gemisch enthält also noch sehr erhebliche Mengen freien Toxins, während nach 24stündiger Aufbewahrung sämtliches freie Toxin praktisch vom Antitoxin gebunden ist.

Hat man sich nun ein Toxin-Antitoxingemisch hergestellt, welches nach mindestens 24stündiger Digestion sich als  $L_0$ -Gemisch bei intravenöser Injektion manifestiert und findet man, daß dasselbe Gemisch

durch einen Eingriff irgendwelcher Art seine typische toxische Wirkung wieder erhält, so muß man schließen, daß wieder eine Dissoziation der Verbindung Toxin-Antitoxin eingetreten ist.

Für die richtige Beurteilung der folgenden Versuche ist es nötig, sich darüber klar zu werden, wie man sich den Zustand eines derartigen Toxin-Antitoxingemisches vorzustellen hat, das entweder bei sofortiger Injektion oder nach Herbeiführung einer Dissoziation sich bei intravenöser Injektion als toxisch erweist. Daß beide Gemische als gleichwertig anzusehen sind, falls sie denselben Grad toxischer Wirkung besitzen, ist kaum zu bezweifeln. Nur darf man nicht in den Irrtum verfallen, daß ein derartiges Gemisch, dessen Giftwirkung z. B. derjenigen einer einfachen Dosis letalis entspricht, im Moment der Injektion nur diese eine tödliche Dosis frei enthält. In einem derartigen Gemisch muß vielmehr schon eine weitgehende Dissoziation angenommen werden, ein Umstand, der im folgenden stets im Auge behalten werden sollte. Die Überlegung, die zu der Annahme führt, ist eine einfache und bereits früher<sup>1)</sup> angestellt worden.

„Wir haben uns den Verlauf der Bindung wohl in der Weise vorzustellen, daß in vitro ein Teil des Toxins in den ersten 5 bis 10 Minuten zur Bindung gelangt. Das injizierte Gemisch enthält daneben noch reichlich freies Toxin und das freie Toxon. Durch die Injektion und Verteilung auf die Flüssigkeitsmasse des Kreislaufes findet nun eine bedeutende Konzentrationsverminderung statt, welche die weitere Bindung verlangsamen muß. Nun tritt ein Wettstreit um das Gift von seiten des Antitoxins einerseits und der Rezeptoren der Zellen andererseits ein, als dessen Erfolg sich der physiologische Effekt darstellt. Von einem Gemisch, das 0,78 cem Gift (= L<sub>+</sub>) +  $\frac{260}{220}$  I.-E. enthält, wird im Kaninchen z. B. offenbar gerade eine tödliche Dosis von den empfindlichen Zellen gebunden, bevor das Antitoxin sämtliches Toxin in Beschlag nehmen konnte. Ist mehr Antitoxin vorhanden, so verläuft die Bindung rasch genug, um keine Dosis letalis mehr an die Rezeptoren gelangen zu lassen, bei Anwesenheit von weniger

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Hyg. Bd. 48, 1904.

Antitoxin gelangt bis zur Vollendung der Bindung mehr Toxin an die Rezeptoren.“

Unsere Versuche wurden mit dem Standardserum und einem Testgift des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. ausgeführt, für deren Überlassung wir Herrn Geheimrat *Ehrlich* zu großem Dank verbunden sind. Das Standardserum war zehnfach; in 2,0 ccm einer Verdünnung 1:20 war also 1 I.-E. enthalten. Die  $L_{+}$ -Dosis des Giftes wurde zu 0,27 ccm angegeben und hatte nach unseren Versuchen wohl eine geringe Abschwächung erlitten, die Dosis letalis für Meerschweinchen von 250 g betrug 0,005. Nach den früheren Untersuchungen von *Morgenroth* fällt dieselbe zusammen mit der Dosis letalis für Kaninchen von 1600—1900 g bei intravenöser Injektion. Die  $L_{+}$ -Dosis enthält also etwa 54 tödliche Dosen.

In einigen Vorversuchen überzeugten wir uns, daß die Kaninchen die intravenöse Injektion der für die Versuche in Betracht kommenden Säuremengen gut vertragen.

Kan. 1730 g 5,0 ccm  $\frac{n}{100}$  HCl in 0,85proz. Kochsalzlösung, intravenös,  
bleibt völlig munter. Konstantes Gewicht.

Kan. 1710 g 5,0 ccm  $\frac{n}{50}$  HCl in 0,85proz. Kochsalzlösung, intravenös,  
bleibt völlig munter. Konstantes Gewicht.

Kan. 1970 g 5,0 ccm  $\frac{n}{20}$  HCl in 0,85proz. Kochsalzlösung, intravenös,  
bleibt völlig munter. Konstantes Gewicht.

Es war also unnötig, die angesäuerten Gemische vor der Injektion zu neutralisieren, wodurch eine erhebliche Erschwerung der Versuche vermieden wurde.

Zunächst war festzustellen, ob die Vereinigung von Toxin und Antitoxin in saurer Lösung stattfindet oder nicht. Denn nur in letzterem Fall war der weitere Versuch einer Trennung der fertigen Verbindung angezeigt und war überhaupt schon die von uns gesuchte grundsätzliche Übereinstimmung mit den Toxinen des Kobragiftes gefunden. Wir stellten zwei gleichartige Gemische von gleichem Volumen her, von denen das eine neutrale Reaktion hatte, das andere durch Salzsäure schwach sauer gemacht war. Ein Gemisch, welches neben der  $L_{+}$ -Dosis noch  $\frac{230}{200}$  I.-E.

enthielt, tötete nach früheren Erfahrungen bei intravenöser Injektion nach eintägiger Digestion nicht mehr akut, sondern höchstens im Laufe von Wochen unter allmählicher Gewichtsabnahme, eventuell Lähmung, während dasselbe Gemisch bei sofortiger Injektion so viel freies Toxin enthält, um ganz akuten Tod unter typischen Erscheinungen herbeizuführen.

A. 0,54 ccm Diphtheriegift wird gemischt mit 5,2 ccm einer Verdünnung 1:20 des Standardserums; hinzugefügt 4,26 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung. 5 ccm des Gemisches enthalten die  $L_+$ -Dosis des Giftes und  $\frac{230}{200}$  I.-E des Antitoxins.

B. Ein zweites Gemisch enthält dieselben Mengen Toxin und Antitoxin. Das Serum ist jedoch mit 0,85 proz. Kochsalzlösung verdünnt, welche einem Gehalt von  $\frac{n}{100}$ -HCl besitzt; dieselbe Lösung dient zur Auffällung auf das Volum von 10 ccm. Beide Mischungen bleiben 24 Stunden im Brutschrank bei 37°, hierauf werden von jeder derselben 5,0 ccm einem Kaninchen von 1870 bzw. 1890 g intravenös injiziert.

Kaninchen A bleibt am Leben bei konstantem Gewicht während der ersten Woche, Kaninchen B wird am Mittag des folgenden Tages schwer krank, liegt dyspnoisch auf der Seite und stirbt etwa 20 Stunden nach der Injektion. Nebennieren dunkelroth, Nieren vergrößert und stark hyperämisch; kein Hydrothorax. Lungen und Darm normal.

Der Versuch ist entscheidend. Auch nach 24 stündiger Digestion im Brutschrank ist in der salzsauren Lösung eine Vereinigung von Toxin und Antitoxin, wie sie in der Kontrolle manifest ist, nicht erfolgt, es ist vielmehr eine Menge Diphtheriegift frei geblieben, die, wie aus dem sehr raschen Tod des Versuchstieres hervorgeht, ein Multiplum der Dosis letalis beträgt.

Nachdem so gezeigt war, daß in saurer Lösung die Bindung von Toxin und Antitoxin innerhalb 24 Stunden bei 37° nicht stattfindet, ließ sich das Kontrollgemisch A, in welchem die Bindung bei neutraler Reaktion eingetreten war, sogleich dazu verwenden, festzustellen, ob bei nachträglichem Säurezusatz eine Abspaltung des gebundenen Toxins stattfindet.

Der Rest (5,0 ccm) des 24 Stunden bei 37° digerierten Gemisches A wird noch weitere 24 Stunden im Eisschrank bei 8° aufbewahrt. Hierauf wird ein Tropfen  $\frac{n}{1}$  HCl zugefügt, also Gesamtgehalt etwa  $\frac{n}{100}$  HCl. Die saure Mischung bleibt zwei Stunden im Brutschrank bei 37°, hierauf werden 4,5 ccm derselben einem Kaninchen von 2050 g intravenös injiziert.

Am Morgen des zweiten Tages tot gefunden, also † nach weniger als 40 Stunden. Netz mit zahlreichen punktförmigen Hämorrhagien bedeckt; Nebennieren etwas gerötet.

Es ist also nach zweistündigem Aufenthalt des angesäuerten Gemisches eine Spaltung der Verbindung von Toxin-Antitoxin eingetreten, so zwar, daß offenbar ein Multiplum der Dosis letalis frei geworden ist, wie aus dem akuten Tod und dem für schwerste Vergiftung charakteristischen Befund der Netzhämorrhagien hervorgeht.

Durch diese Versuchsreihe ist festgestellt, daß auch die Vereinigung von Diphtheriegift und Antitoxin in schwach saurer Lösung gehemmt wird und daß nach der in neutraler Lösung sicher eingetretenen Vereinigung durch Ansäuern binnen kurzer Zeit eine Spaltung der Verbindung stattfindet. Ob die Spaltung eine vollkommene ist, wie wir dies bei den Kobragiften nachgewiesen haben, welche Säuremengen und welche Zeit bei einer gegebenen Säuremenge hierzu notwendig ist, wäre wohl — durch Fraktionierung der injizierten Mengen — festzustellen, aber nur mit einem Aufwand von Hunderten von Tieren.

Wir teilen nun einige weitere Versuche mit, welche die Trennung der Verbindung Toxin-Antitoxin durch Säure ganz analog dem obigen Versuch veranschaulichen.

Es wird ein Gemisch von Diphtheriegift und Antitoxin hergestellt, von welchem je 5 ccm enthalten  $L_+ + \frac{260}{200}$  I.-E. Das Gemisch bleibt drei Stunden im Brutschrank bei 37°, hierauf 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Einem Kaninchen von 1300 g werden 5 ccm intravenös injiziert. Bleibt gesund bei konstantem Gewicht.

Zu 20,0 ccm des Gemisches werden  $0,2 \text{ ccm } \frac{n}{1} \text{ HCl}$  zugefügt (Gesamtgehalt  $\frac{n}{100} \text{ HCl}$ ).

I. Kaninchen 1310 g sofort nach dem Ansäuern 5 ccm intravenös. Zwei Tage munter, ohne Gewichtsabnahme. Vom dritten Tag ab rapide Gewichtsabnahme. † am sechsten Tag. Befund normal.

II. Kaninchen 1790 g erhält 5 ccm des ausgesäuerten Gemisches nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°. Mäßige Gewichtsabnahme. † gefunden am vierten Tag. Nebennieren etwas gerötet.



III. Kaninchen 1650 g erhält 5 ccm des angesäuerten Gemisches nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°. † gefunden am dritten Tag. Auf dem Netz kleine Hämorrhagien; Nebennieren mäßig gerötet, Niere wohl vergrößert.

In diesem Versuch ist eine weit höhere Antitoxinmenge angewandt, die bei vollkommener Bindung jede Spur einer Giftwirkung aufhebt. Auch hier tritt die Spaltung ein und die sauren Gemische repräsentieren einen Grad von Toxizität, der von dem frischer, sofort nach Herstellung injizierter Gemische nicht wesentlich abweichen dürfte.

Wenn es uns auch nicht möglich war, den zeitlichen Verlauf der Trennung genau zu verfolgen, so gibt doch der vorliegende Versuch hierüber einige Aufschlüsse. Es zeigt sich vor allem die bemerkenswerte Tatsache, daß zum mindesten eine partielle Abspaltung des Toxins in sehr kurzer Zeit vor sich geht. In Versuch I erfolgt schon der Tod des Versuchstieres, und zwar wird nach Verlauf und Sektionsbefund eine unter der typischen Dosis letalis liegende Toxinmenge manifest. Daß im Verlauf längerer Zeit die Spaltung weiter fortschreitet, wird aus dem Vergleich der drei Versuche wenigstens wahrscheinlich. Die Todeszeit verringert sich, trotzdem schwerere Tiere gewählt sind, und besonders in dem letzten Versuch, bei welchem das angesäuerte Gemisch 24 Stunden aufbewahrt wurde, weisen die Hämorrhagien des Netzes auf die Aktion einer Toxinmenge hin, die größer ist als die Dosis letalis. Wir dürfen also wohl annehmen, daß die Säurespaltung mit großer Geschwindigkeit sofort anhebt, um im Lauf längerer Zeit noch weiter fortzuschreiten.

Es war nun weiterhin von Bedeutung, zu untersuchen, ob ebenso wie bei den Kobragiften nach langer Zeit noch eine Abspaltung des Toxins aus seiner Verbindung mit dem Antitoxin stattfinden könne. Wir säuerten deshalb einen Teil des zu den vorausgehenden Versuchen benutzten Gemisches erst nach weiterem 5 tägigem resp. 9 tägigem Verweilen im Eisschrank an und injizierten nach weiteren 2 Stunden (37°) je 5 ccm Kaninchen von 1590 resp. 1510 g. Beide Tiere starben nach 7 resp. 5 Tagen ohne charakteristischen Befund. Es tritt also auch nach langer Zeit die Säuretrennung ein, wenn auch der freiwerdende Giftanteil zweifellos geringer ist, wie bei Ab-

spaltung nach 24 Stunden. Es muß dahingestellt bleiben, ob hier eine Verfestigung der Bindung eingetreten ist, welche die Trennung erschwert, oder ob das an Antitoxin gebundene Toxin eine — gerade bei diesem Gift in freiem Zustand so leicht eintretende — Abschwächung erfahren hat. Gerade das Verhalten des an Antitoxin gebundenen Toxins verschiedenen Einflüssen gegenüber dürfte von besonderem Interesse sein und wir beabsichtigen die Ausführung derartiger Versuche, für die jetzt erst die Methodik gegeben ist.

Zur Vervollständigung sei endlich noch ein weiterer Versuch angeführt, bei welchem ein erheblicher Antitoxinüberschuß, nämlich  $\frac{300}{200}$  I.-E., zur Anwendung kam. Das Kontrolltier (1360 g), dem 5 ccm des neutralen Gemisches nach 24 stündiger Digestion injiziert wurden, blieb vollkommen normal. Ein Kaninchen (1890 g), dem das Gemisch sofort nach dem Ansäuern injiziert wurde, starb unter allmählicher Gewichtsabnahme am 9. Tag, ein zweites Kaninchen (2020 g), dem das Gemisch nach 2 Stunden injiziert wurde, starb am 4. Tag (Nebenniere gerötet, Netz hyperämisch), ein drittes nach 24 Stunden injiziertes (2030 g) gleichfalls. Auch nach weiterem 5 tägigen Stehen im Eisschrank gelang die Spaltung; ein Kaninchen (1950 g) starb am 5. Tag. Die Verhältnisse im einzelnen, wie sie hier zutage treten, entsprechen im wesentlichen denen des vorigen Versuches.

Das konstante Resultat unserer sämtlichen Versuche ist dahin zusammenzufassen, daß ebenso wie bei den Kobragiften und ihren Antitoxinen beim Diphtheriegift bereits schwache saure Reaktion die Bindung mit dem Antitoxin nicht zustande kommen läßt, die bereits stattgefundene Bindung wieder aufhebt.

Damit ist unser ursprünglich beim Kobragift erhaltenes Resultat für das am besten studierte Toxin, dem dazu noch eine hohe praktische Wichtigkeit zukommt, erweitert, die Vermutung sehr nahe gelegt, daß auch dieses Gift durch Säure eine Veränderung erfährt, die es zur Vereinigung mit dem Antitoxin unfähig macht, und endlich die Wahrscheinlichkeit größer geworden, daß der Erscheinung eine allgemeine Bedeutung für die Reaktionen zwischen Toxinen und Antitoxinen überhaupt zukommt.

---