II.

Aus der medicinischen Klinik in Halle.

Ein Beitrag zur Kenntniss des Diabetes mellitus.

Von

Dr. **Oswald Baumgarten**,

Assistent der Klinik.

Trotz zahlreicher klinischer Erfahrungen und experimenteller Untersuchungen sind die Ursachen und das Wesen der Zuckerharnruhr bis auf den heutigen Tag noch unbekannt. Nur soviel steht fest, dass der Diabetiker nicht mehr die Fähigkeit besitzt, den Zucker in demselben Maasse wie ein Gesunder zu verwerthen.

Die verminderte Zuckerzerstörung kann nun zweierlei Ursachen haben. Entweder handelt es sich um eine Herabsetzung der Oxydation, oder die Spaltung des Zuckermoleküls ist gestört. Denn nur durch Oxydation oder Spaltung oder aber durch das Zusammenwirken beider Factoren wird der Verbrauch der Nahrungsstoffe in den Geweben unseres Körpers bedingt.

Versuche, welche eine Schädigung der oxydativen Kraft des Körpers beweisen sollten, wurden von v. Pettenkofer und C. Voit (1) im Jahre 1867 angestellt. Beide fanden mit Hilfe des Respirationsapparates eine wesentliche Herabsetzung der O-Aufnahme und der CO_2 -Ausscheidung beim Diabetiker im Vergleich zum Gesunden. Sie glaubten sich daher zu dem Schlusse berechtigt, dass diese Erscheinung auf einem verminderten Oxydationsvermögen beruhe.

Indessen wurde diese Anschauung schon wenige Jahre später von C. Voit (2) wieder verlassen. Er war zu der Ueberzeugung gekommen, dass die O-Aufnahme sich secundär nach der Verbrennung im Körper richte, und dass unter Umständen der Diabetiker ebensoviel Sauerstoff in sich aufzunehmen im Stande wäre, wie der Gesunde.

Erst Leo (3) gelang es im Jahre 1889 durch Respirationsversuche, die im Zuntz'schen Laboratorium vorgenommen wurden, ein für alle Male den Beweis zu liefern, dass die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs bei Gesunden und Diabetikern von gleichem Körpergewicht und gleicher Ernährung dieselbe ist, und dass die scheinbare Herabsetzung der Kohlensäureausscheidung durch die mangelhafte Zersetzung der Kohlenhydrate bedingt sei. Zu den gleichen Resultaten kamen Weintraud und Laves (4) durch ihre Respirationsversuche am zuckerfreien

Diabetiker. Und endlich stehen mit dieser Auffassung die Gaswechseluntersuchungen von Zuntz (5) und von v. Mering im Einklang, welche zeigten, dass der Verlust grosser Mengen von Zucker durch den Harn nach Phloridzinzufuhr die O-Aufnahme nicht vermindert.

Auch noch andere Umstände sprechen gegen eine Störung der Oxydationsvorgänge, zunächst die Thatsache, dass der Diabetiker Eiweissstoffe und Fette in gleicher Weise verbraucht wie der Gesunde und endlich auch die Erfahrungen der Pathologie, dass die verschiedensten Krankheiten, welche mit einer schweren Schädigung der äusseren und inneren Athmungsvorgänge verbunden sind, weder zur Vermehrung des Blutzuckergehaltes noch zu einer Zuckerausscheidung im Harn führen.

Schien daher die Anschauung von einer tiefergehenden Störung der Oxydationsvorgänge beim Diabetiker widerlegt, so war damit noch nicht die Möglichkeit einer Schädigung der oxydativen Kraft in einer gewissen Richtung, nämlich der Verbrennung der Kohlenhydrate, speciell des Traubenzuckers, ausgeschlossen.

Um nun diese Frage zu entscheiden, habe ich auf Veranlassung meines Chefs, des Professors von Mering, einen bisher nicht betretenen Weg eingeschlagen. Ich habe eine Reihe von Körpern, welche durch ihre Aldehydnatur dem Zucker ausserordentlich nahe stehen, und Körper, die als Abbau- oder Oxydationsproducte des Zuckers anzusehen sind, bei Diabetikern und diabetischen Hunden verfüttert, um festzustellen, ob und in welchem Maasse ihre Zerstörung im diabetischen Organismus erfolgt.

Im Nachfolgenden berichte ich über die einschlägigen Versuche und formulire die sich daraus ergebenden Schlussfolgerungen.

Schliesslich will ich noch erwähnen, dass die Versuche bei Kranken erst dann angestellt wurden, nachdem ich an mir selber die Höhe der anwendbaren Dosis festgestellt und mich von deren Unschädlichkeit überzeugt hatte.

Alle Kohlenhydrate (6) sind aldehyd- oder ketonartige Abkömmlinge mehrwerthiger Alkohole, mögen dieselben einfache Zuckerarten, sogenannte Monosaccharide sein, oder aus diesen durch Anhydridbildung entstehen und so Verbindungen bilden, die wir als Di- bzw. Polysaccharide bezeichnen. Unter den Monosacchariden spielt in physiologisch-chemischer Beziehung und darum auch in der Diabetesfrage die hervorragendste Rolle der Traubenzucker. Seine Aldehydnatur hatte bereits schon Kütz (7) (1874) auf Grund seiner reduzierenden Eigenschaften und seines Verhaltens bei der Oxydation erkannt. Indessen war es erst Emil Fischer (8) gelungen, seine Constitution festzustellen: durch nascirenden Wasserstoff wird die Glykose in den zugehörigen Alkohol, den Sorbit (9), $C_6H_{14}O_6$, durch Oxydation in die zugehörigen Säuren übergeführt.

Das erste Oxydationsproduct des Traubenzuckers und darum zum Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen geeignet, ist die d-Glukonsäure, $C_6H_{12}O_7$, zu deren Darstellung wässrige Dextroselösungen mit Brom behandelt werden.

wie sich umgekehrt synthetisch aus dem Laktone der Glukonsäure der Traubenzucker (11) durch Reduction gewinnen lässt.

Die Glukonsäure ist überaus unbeständig und geht schon in der Kälte zum Theil in das Lacton (12) über, welches im Gegensatz zur freien Säure in Alkohol äusserst löslich ist und die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts dreht. Aus diesem Grunde hat die Untersuchung des vergohrenen Urins auf Drehfähigkeit nur geringen Werth. Auch die Prüfung der Reduction, die wir bei unseren Versuchen vornahmen, konnte ohne Weiteres über die Oxydation des verfütterten Materials keinen Aufschluss geben: die freie Säure (13) sowohl, wie ihre Salze geben weder die Trommer'sche, noch die Fehling'sche Probe, das Lacton beim Kochen mit Fehling'scher Lösung einen gelbgrünen Niederschlag. Nach einigen Vorversuchen entschloss ich mich daher, die Phenylhydrazinverbindung (14) darzustellen.

Zu diesem Zweck wurde zunächst das Kalksalz gewonnen, indem normaler Harn oder der Harn des Diabetikers nach der Vergärung mit Kalkmilch versetzt, der Ueberschuss durch den CO_2 -Strom als kohlensaurer Kalk gefällt und das Ganze zur Trockene eingedampft wurde. Nach wiederholter Extraction des Trockenrückstandes mit heissem absoluten Alkohol zur Eliminirung (15) des Harnstoffs war die Trennung der Kalkverbindungen wegen der nahezu völligen Unlöslichkeit des kohlensauren Kalks in Wasser leicht ausführbar. Die Darstellung der Phenylhydrazinverbindung bot nunmehr keine Schwierigkeiten.

Ueber das Verhalten der d-Glukonsäure im Organismus liegen bereits

einige Untersuchungen vor. Salkowski (16) hatte nach Einfuhr von 7 g per os beim Kaninchen eine vollkommene Zerstörung der d-Glukonsäure gefunden. Paul Mayer (17) beobachtete nach 15 g glukonsaurem Kalk einen optisch inactiven, nicht reducirenden, keine Phenylhydrazinverbindung gebenden Urin. Beide Forscher machten weiterhin die Beobachtung, dass nach subcutaner Injection ein Theil der Glukonsäure der Oxydation entging und als Zuckersäure ausgeschieden wurde, die sie als Doppelhydrazid mit einem Schmelzpunkt von 211°C . gewinnen konnten. Dieses Resultat erschien ihnen um so auffallender, als die der d-Zuckersäure so nahestehende Glukuronsäure im thierischen Organismus keine Oxydation zur Zuckersäure erfuhr.

Da Fütterungsversuche, soweit mir die Literatur zugänglich war, weder am Menschen, noch am Hunde vorgenommen waren, dieselben aber durchaus erforderlich erschienen, bevor ich mich dem diabetischen Organismus zuwenden konnte, so verabfolgte ich zunächst einem kleinen Hunde mit normalem Urinbefund 10 g Substanz, in Wasser gelöst, mit der Schlundsonde. In der 36stündigen Urinmenge konnte weder Drehung noch Reduction festgestellt, noch aus derselben die Phenylhydrazinverbindung gewonnen werden. Die Versuche beim Diabetes ergaben Folgendes:

1. Mittelschwerer Fall. Verabfolgung von 20 g $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$, in Wasser gelöst, per os. Urin von 36 Stunden ist nach der Vergärung optisch inactiv, reducirt nicht, giebt keine Phenylhydrazinverbindung.

Anmerkung 1. Herr R. wurde vom 26. September bis 10. December 1903 an mittelschwerem Diabetes hier behandelt. Bei der zweiten Aufnahme in die Klinik am 24. August 1904 lag bereits die schwere Form vor, der er am 13. October 1904 im Coma erlag. Bei der Autopsie fand sich eine hochgradige Verkleinerung und Atrophie des Pankreas. Dasselbe war sehr derb und enthielt an einzelnen Stellen kalkige Einlagerungen. Alter des Pat. 48 J.

2. Schwerer Diabetiker mit starkem Acetongehalt des Urins, erhält ebenfalls 20 g $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$ und zerstört dieselbe vollkommen.

Anmerkung 2. 10jähriger Knabe K. scheidet in den ersten Tagen nach der Aufnahme 440 g Zucker pro die bei durchschnittlich 8 pCt. aus. Ein Versuch, eine Beschränkung der Kohlenhydrate vorzunehmen, führt sofort zu stark positiver Eisenchloridreaction. Dieselbe geht durch reichliche Zufuhr von Obst und Südfrüchten etwas zurück, blieb aber bis zum Tode bestehen. Nachdem bereits in der acetonfreien Zeit 10 und später 20 g Gl. ohne die geringste Schädigung genommen waren, hielt ich mich für berechtigt, auch in der zweiten Krankheitsperiode zum Zweck der Untersuchung die Darreichung zu wiederholen. Die Substanz wurde auch jetzt ohne den geringsten Schaden vertragen. Der Exitus erfolgte im Coma. Bei der Obduction liessen sich ausser Schwellung und Verkäsung der Mesenterialdrüsen und einer diffusen Bronchitis keine Veränderungen nachweisen. Das Pankreas bot makro- und mikroskopisch nichts Abnormes.

3. Pankreasexstirpirter Hund mit 3,1 pCt. Zucker bei reiner Fleischdiät erhält 10 g Gl., in Wasser gelöst, mit der Schlundsonde. Der Urin, mit Katheter entleert, war nach der Vergärung optisch inactiv, reducirt nicht und gab keine Phenylhydrazinverbindung.

Anmerkung 3. In diesem Falle und bei allen übrigen Hundeversuchen wurden Thiere von kaum Mittelgrösse, Terriers und kleinere Spitze verwendet, da deren Widerstandsfähigkeit mir grösser zu sein schien als bei den übrigen Hunderassen. Die Operation wurde zweizeitig, in einem Abstand von 8—14 Tagen, vorgenommen. Die Kost bestand ausschliesslich aus Fleisch und Wasser. Durchschnittlich 14 Tage später gingen die Thiere an Inanition zu Grunde.

Fasse ich meine bisher gewonnenen Resultate zusammen, so geht aus ihnen hervor, dass selbst bei der schwersten Form des Diabetes eine ebenso vollkommene Oxydation der d-Glukonsäure erfolgt, wie im gesunden Organismus.

Ein weiteres Oxydationsproduct des Traubenzuckers mit Hilfe von NHO_3 ist die d-Zuckersäure, welche sich auch bei der Oxydation der d-Glukonsäure bildet (18):

Zur Darstellung (19) ihres sauren Kaliumsalzes verrieben wir 1 kg Kartoffelstärke mit der gleichen Menge Wassers, setzten unter stetem Umrühren 5 Ltr. Salpetersäure von spec. Gewicht 1,15 hinzu, erhitzen die Mischung auf dem Wasserbade bis zur Entstehung rother Dämpfe und dampften sie dann langsam bei 60—70° C. ein. Der dadurch entstandene Syrup wurde mit dem gleichen Vol. Wasser versetzt, heiss mit trockenem Kaliumcarbonat gesättigt und stark mit Eisessig angesäuert. Der entstandene Niederschlag von saurem zuckersaurem Kalium wurde abgesaugt und wiederholt aus heissem Wasser unter Zuhilfenahme von reiner Thierkohle umkrystallisirt und getrocknet.

Die Rechtsdrehung der freien Zuckersäure und die gleiche Eigenschaft des sauren Kaliumsalzes nach Erhitzen einer wässrigen Lösung desselben mit einigen Tropfen starker Salzsäure bis fast zum Sieden, wendeten wir auch bei unseren Versuchen an, indem wir den mit Thierkohle nahezu entfärbten Urin einmal sofort und zweitens nach Erhitzen einer mit der Pipette abgemessenen Portion mit Salzsäure (auf 10 cem Urin 7 Tropfen HCl vom spec. Gewicht 1,19) und Wiederabkühlen polarisirten. Erst dann ging ich an den Nachweis der Zuckersäure mit Hilfe (20) der Phenylhydrazinprobe, prüfte auch den Urin mit Kalilauge und Kupfersulfat, bezw. Fehling'scher Lösung auf reducirende Substanzen, wiewohl diese Eigenschaft der Zuckersäure und ihren Salzen nicht eigenthümlich ist.

Auch hier wurden Versuche an Gesunden vorausgeschickt:

1. Kräftiger Mann erhält in 3tägigen Abständen 20, 30, 40 und schliesslich 50 g zuckersaures Kali. Der Urin zeigt nicht die geringste Drehung, auch nicht nach Erhitzen mit Salzsäure, enthält keine die Trommer'sche oder Fehling'sche Probe gebenden Substanzen, giebt keine Phenylhydrazinverbindung.

2. Gesunder Hund erhält 20 g Substanz, in Wasser gelöst, per Schlundsonde mit demselben Resultat.

3. Mittelschwerer Fall von Diabetes (s. Anmerkung 1!) erhält 40 g saures zuckersaures Kalium. In dem vergorenen Urin lässt sich weder spontan noch nach Aufkochen mit Salzsäure Drehung nachweisen. Trommer'sche und Fehling'sche Probe negativ, keine Phenylhydrazinverbindung.

4. Schwerer Diabetiker erhält einige Tage nach der Aufnahme in die Klinik 30 g, 3 Monate später nochmals 40 g saures zuckersaures Kalium. In beiden Fällen erfolgte eine vollkommene Zerstörung der Zuckersäure.

Anmerkung 4. Herr B. wurde am 19. September 1904 mit schwerem Diabetes und einer linksseitigen Spitzentuberculose in die Klinik eingeliefert. Schon bei dem Versuche, die Zufuhr der Kohlenhydrate auf 150 g einzuschränken, tritt sofort starke Eisenchloridreaction auf, welche das Uebergehen zu freier Diät und grosse Dosen Natr. bicarb. (50,0 p. d.) erheischte. Bei andauerndem Gebrauch von Natr. bicarb. gelingt es, die Eisenchloridreaction erheblich abzuschwächen, an einzelnen Tagen deren positiven Ausfall zu verhindern unter gleichzeitiger Einschränkung der Kohlenhydratzufuhr auf 150 bzw. 200 g Brod p. d. Pat. fühlt sich zur Zeit erheblich wohler: Durst und Trockenheit der Haut haben erheblich nachgelassen, ebenso die Menge des Auswurfes, der Tuberkelbacillen enthält.

5. Pankreasexstirpirter Hund erhält in Lösung 10 g, 3 Tage später bei gleichem Zuckergehalt im Urin nochmals 20 g zuckersaures Salz. Das Befinden des Thieres wird dadurch nicht im Mindesten beeinträchtigt. Auch hier erfolgt eine vollkommene Zerstörung der Zuckersäure.

Demnach oxydirt der diabetische Organismus in gleicher Weise die ihm zugeführte Zuckersäure wie der gesunde.

Isomer mit der Zuckersäure $C_6H_{10}O_8$ und auch wie sie ein Oxydationsproduct eines Kohlenhydrates, nämlich des Milchzuckers mit Salpetersäure, ist die Schleimsäure $COOH.(CHOH)_4.COOH$.

Wir gewannen dieselbe durch Oxydation (22) von Milchzucker mit Salpetersäure. Von demselben wird 1 kg mit der 12fachen Menge verdünnter HNO_3 vom specifischen Gewicht 1,15 auf dem Wasserbade langsam bis auf etwa 1500—2000 ccm Inhalt in einer grossen Porzellanschale verdampft, abgekühlt, der Inhalt der Schale mit 2 Ltr. Aq. verrührt, und nach einigen Tagen die erhaltene Schleimsäure abfiltrirt und so lange gewaschen, bis wir ein schneeweisses Pulver erhielten. Da dasselbe trotz seines schönen Aussehens höchst giftige, nach Art des Strychnins wirkende Nitrokörper und ausserdem (23) optisch active Producte von unbekannter Zusammensetzung enthält, so verarbeiteten wir die Schleimsäure weiter nach dem von E. Fischer angegebenen Verfahren.

Die mit heissem Aq. angerührte Substanz wird mit verdünnter heisser Natronlauge neutralisirt und dadurch in Lösung gebracht, mit Thierkohle aufgeköcht, filtrirt und das Filtrat mit Salzsäure im Ueberschuss gefällt und nachgewaschen. Wiederholt man diese Procedur in der angegebenen Weise noch zweimal, so bekommt man ein absolut reines Product, das ohne den geringsten Schaden in grossen Dosen verfüttert werden kann.

Wie schon ihre völlig symmetrische Configuration erwarten lässt (24), optisch inactiv und nicht reducirend, führten wir in Vorversuchen den Nachweis der Schleimsäure, indem wir das Doppelhydrazid $\text{C}_4\text{H}_4(\text{OH})_4 \cdot (\text{CO} \cdot \text{N}_2\text{H}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_5)_2$ mit einem Schmelzpunkt von nahezu 240°C . darstellten (25).

Zu diesem Zwecke wurde eine abgemessene Urinportion von normalem oder durch Vergährung zuckerfrei gemachtem Harn aufgeköcht, mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht, zur Trockene eingedampft und wiederholt mit heissem Alkohol abs. zur Entfernung des Harnstoffs extrahirt. Der Rückstand wurde mit Essigsäure und Wasser aufgeköcht, mit Natriumacetat und einem Ueberschuss von salzsaurem Phenylhydrazin versetzt, auf dem kochenden Wasserbade weiter erhitzt, filtrirt, eingeengt und nochmals heiss filtrirt.

1. Nachdem ich mich am eigenen Leibe von der Ungiftigkeit der Substanz überzeugt hatte, erhielt auch ein kräftiger, gesunder Mann mit 3tägigen Intervallen 20, 30, 40 und zuletzt 50 g Schleimsäure. In keinem Falle ergab die Reductionsprobe positives Resultat. Die Phenylhydrazinprobe fiel negativ aus.

2. Hund von kaum Mittelgrösse erhält 20 g Schleimsäure in Soda gelöst. Urin, von 36 Stunden gesammelt, giebt keine Phenylhydrazinverbindung.

3. Schwerer Diabetiker mit stark positiver Eisenchloridreaction erhält 30 g, 3 Tage später nochmals 50 g Schleimsäure. Nach Vergährung des Urins (keine Reduction!) keine Phenylhydrazinverbindung zu gewinnen.

Anmerkung 5. Herr K. wurde am 29. Juli 1904 in die Klinik aufgenommen, nachdem er in den letzten 5—6 Wochen ca. 35 Pfund an Körpergewicht abgenommen haben will. Durch grosse Dosen Natr. bicarb. wurde zwar der Urin alkalisch, behielt aber deutlich positive Eisenchloridreaction bei. Während der Behandlungsdauer blieb

das Körpergewicht dasselbe. Pat. wurde am 15. September 1904 wieder entlassen, da er sich mit der Regelung der Diät nicht einverstanden erklärte.

4. Ein Fütterungsversuch am pankreaslosen diabetischen Hunde mit 20 g Schleimsäure misslang, da bald nach der Aufnahme der Substanz Erbrechen erfolgte. Von einem erneuten Versuche an demselben Thiere musste Abstand genommen werden, da der Zuckergehalt im Urin schnell sank und das Thier einige Tage später an Inanition zu Grunde ging.

War der Versuch mit Schleimsäure am pankreasexstirpirten Hunde auch missglückt, so gestattet doch der Ausfall der Fütterung mit der isomeren Zuckersäure am Pankreashunde einen Analogieschluss, nicht minder aber der Umstand, dass der schwere Diabetiker die Schleimsäure glatt oxydirt wie ein Gesunder.

Eine Aldehydsäure, die bereits schon Schmiedeberg und Meyer (26) als einen Abkömmling des Traubenzuckers, und deren intermediäre Stellung zwischen der d-Glukonsäure und der Zuckersäure bereits Beyer (27) annahm, ist die Glukuronsäure $\text{COH} \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{COOH}$. Den Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung lieferten jedoch erst Thierfelder (28) und weiterhin Emil Fischer und Piloty (29), indem sie dieselbe durch Reduction des Zuckersäurelaktone mit Natriumamalgam in saurer Lösung gewannen und ihr damit die Constitutionsformel

gaben.

In freiem Zustande liess sich die Glukuronsäure bisher nicht im Körper finden. Gepaart ist sie ein regelmässiger Bestandtheil (30) des normalen Harnes (31) bis zu mindestens 0,004 g in 100 ccm Urin, in erheblich höherem Grade unter künstlich geschaffenen Bedingungen (32) nach einer grossen Reihe von Körpern, unter anderen des Kamphers und des Chloralhydrates, aus denen sie zuerst durch Spaltung mit verdünnten Säuren von Schmiedeberg und Meyer (33) und v. Mering (34) gewonnen wurde. Für ihre Entstehung im Organismus geben Emil Fischer (35) und Piloty und weiterhin Sundwik (36) die Erklärung. Nach ihnen findet eine Bindung des Paarlings an Traubenzucker unter Festlegung der Aldehydgruppe statt. Aus dem so gebildeten Glykosid entsteht dann weiterhin die gepaarte Glukuronsäure durch nachträgliche Oxydation der endständigen Alkoholgruppe zum Carboxylrest (37).

Die Möglichkeit einer Entstehung aus Traubenzucker bewies P. Mayer (38) experimentell, indem er bei durch Hungern glykogenfrei gemachten Kaninchen nur eine minimale Glukuronsäureausscheidung nach Verabreichung von Kampher im Urin beobachtete, die aber sofort wieder die normale Höhe erreichte, wenn gleichzeitig Traubenzucker gefüttert wurde. Eine weitere Stütze gab dieser Auffassung Hildebrandt (39). Er stellte fest, dass die toxisch wirkenden Basen vom Typus des Thymotinpiperidids durch Hexosen, welche über die Glykogenstufe im Organismus in Traubenzucker übergehen, entgiftet wurden, eine Fähigkeit, die den Nichtglykogenbildnern fehlte.

In dieser Ueberführung (40) unverwerthbarer oder schädlich wirkender Stoffe in indifferente, leicht aus dem Organismus ausführbare Körper, liegt die hohe physiologische Bedeutung der Glukuronsäure. Allerdings lehrt die Erfahrung, dass hierbei weder die einzelnen Thiere denselben, noch dieselben Thiere verschiedenen, mit Glukuronsäure Paarungen eingehenden Substanzen gegenüber sich gleich verhalten. Ob eine solche überhaupt und in welchen Mengen sie als gepaarte Säure ausgeschieden wird, muss daher von Fall zu Fall entschieden werden.

Zur Darstellung der Glukuronsäure bedienten wir uns mit einigen Abweichungen des von (41) C. Neuberg empfohlenen Verfahrens. 20 g Euxanthinsäure wurden mit einer $\frac{1}{2}$ proc. H_2SO_4 (500 ccm) im Autoklaven auf etwa 135°C . 3 Stunden lang erhitzt und am anderen Tage mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt, der Rückstand alsdann einige Male mit destillirtem Wasser nachgewaschen. Die Flüssigkeit wurde dann mit der nahezu berechneten Menge einer vorher gegen die Schwefelsäure eingestellten Barythydratlösung versetzt und im Vakuum bei 40 bis 45°C . zum dünnen Syrup eingedampft. Letzterer wird in heissen 96 proc. Alkohol gegossen, das alkoholische Filtrat wiederum zum dünnen Syrup eingedampft und zum Krystallisiren hingestellt. Die Krystallmasse wird abgesaugt, zur Entfernung der Mutterlauge mit gewöhnlichem Alkohol verrieben, und aus (42) heissem Wasser unter Zuhilfenahme von etwas Thierkohle gereinigt. Als dann wurde das alkoholische Filtrat unter vermindertem Druck eingeeengt und in der geschilderten Weise zur Krystallisation weiter verarbeitet. Beim Einengen des mit Thierkohle gereinigten Filtrates muss mit grosser Vorsicht verfahren werden (43), da die neutrale Lösung des Laktone in Folge Uebergangs in die freie Säure leicht sauer wird und die Krystallisation ausbleibt.

Die freie Glukuronsäure wirkt stark reducierend, ist rechtsdrehend und gährungsunfähig. Diese letztere Eigenschaft besitzen auch die gepaarten Glukuronsäuren. Im übrigen reduciren sie nur theilweise Fehling'sche Lösung und drehen die Ebene des polarisirten Lichtes nach links.

Ueber das Schicksal der Glukuronsäure im Organismus liegen höchst interessante von Paul Meyer (44) am Kaninchen angestellte Versuche vor. 5 g glukuronsaures Natrium, per os oder subcutan gegeben, wurden glatt zerstört. Bei grösseren, in gleicher Weise verabfolgten Dosen von 15—19 g gingen die Versuchsthiere an Oxalsäurevergiftung unter gleichzeitiger Anhäufung derselben in der Leber zu Grunde. Bei der grossen Giftigkeit und der allgemein anerkannten Unzerstörbarkeit dieser Substanz ist es jedoch wahrscheinlich, dass nur ein Theil der Glukuronsäure seinen Weg über die Oxalsäure einschlägt. Wurden grössere Mengen Glukuronsäure namentlich subcutan eingeführt, so verband sich ein Theil mit Indol und Phenol, ein anderer Theil ging ungepaart in den Urin über und bot somit die interessante Thatsache, dass hier zum ersten Male freie Glukuronsäure im Harn beobachtet wurde.

In Anbetracht der ziemlich schwierigen Beschaffung des Rohmaterials und der immerhin nicht leichten Darstellung der Glukuronsäure beschränkte ich meine Untersuchungen ohne vorangegangene Vorversuche am Gesunden auf den Diabetiker.

Schwerer Diabetiker, 28 Jahre alt, erhält früh $\frac{3}{4}$ 7 Uhr 13,5 g Glukuronsäureanhydrid. Der Urin wird in einzelnen Portionen, früh 7—1 Uhr Mittags, 1—4 Uhr Nachmittags, 4—8 Uhr abends, 8—7 Uhr morgens und 7—7 Uhr abends vergohren, auf Dreh- und Reductionsfähigkeit geprüft, im Vacuumapparat auf $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ Vol. eingengt und nach der Fällung durch Bleiacetat nochmals polarisirt. In keiner dieser Portionen wurde weder eine Ablenkung im Polarimeter noch Reduction von Kupferoxyd in alkalischer Lösung beobachtet. Es zeigte somit dieser Versuch, dass eine vollkommene Zerstörung der Glukuronsäure beim Diabetiker der schweren Form stattgefunden hatte.

Anmerkung 6. Herr Emil M. wurde am 2. Februar 1905 mit stark positiver Eisenchloridreaction und ca. 7 pCt. Zucker in die Klinik aufgenommen. Angeblich erst Anfangs December 1904 ziemlich plötzlich mit vermehrtem Durst- und Hungergefühl und starker Urinabscheidung erkrankt, wurde der Pat. in Folge schnell eintretenden Kräfteverfalls der Klinik überwiesen.

Das (45) salzsaure Glykosamin (= Chitosamin) $C_6H_{13}NO_5$, dem wir nunmehr unsere Aufmerksamkeit zuwenden, dreht nach rechts, ohne dabei gährungsfähig zu sein. Mit Natronlauge und Kupfersulfat giebt es eine tiefblaue Lösung, welche beim Erwärmen reichlich Kupferoxydul abscheidet und nach längerem Erhitzen den (46) für die Zersetzung der Glukosen — unter H_2O -austritt — charakteristischen Caramelgeruch darbietet. Durch diese Eigenschaft ist seine Verwandtschaft zum Traubenzucker gekennzeichnet. Auch ist die Reduktionskraft von salzsaurem Glykosamin und Traubenzucker, auf die beiderseitigen Molekulargewichte bezogen, die gleiche (47). Weiter zeigt aber die leicht eintretende

Bildung von NH_3 beim Erhitzen mit Alkali und die N-Entwicklung beim Erwärmen mit Kaliumnitrit, dass wir in dem Chitosamin ein Kohlenhydrat besitzen, in welchem ein Wasserrest durch einen Ammoniakrest ersetzt ist, und das somit ein intermediäres Product zwischen Zucker und Oxy- α -Aminosäuren und damit auch zu den Eiweissstoffen bildet.

Seine Konstitution erkannten Emil Fischer (48) und Tafel als $\text{CH}_2 \cdot \text{OH} \cdot (\text{CHOH})_2 \cdot \text{CH}(\text{NH}_2) \cdot \text{COH}$. Emil Fischer und H. Leuchs stellten das Glykosamin (49) synthetisch aus der δ -Arabinose dar; dabei erhielten sie (50) zuerst δ -Glykosaminsäure und aus Letzterer durch Reduction das ϵ -Glykosamin (51). Bereits vorher hatte Ruff gelehrt, die aus den Aldohexosen durch Oxydation entstehenden Polyoxysäuren durch weitere Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd und Ferriacetat in Kohlensäure und die entsprechenden Aldopentosen überzuführen, u. a. auch die Entstehung (52) der Arabinose aus der Glukonsäure

Damit war der Weg von Traubenzucker zum Glykosamin gewiesen. Seine Configuration haben Emil Fischer und H. Leuchs bewiesen.

Für unsere Versuche stellten wir das Glykosamin, im Wesentlichen der von Ledderhose (53) gegebenen Vorschrift folgend, her: Hummerschalen wurden wiederholt mit verdünnter Salzsäure behandelt und durch Auswaschen nach Möglichkeit von Calciumcarbonat, Speiseresten und anderen Verunreinigungen befreit. Alsdann in kleine Stücke geschnitten und unter Wiederholung derselben Procedur von den letzten Resten kohlensauen Kalkes unter fließendem Wasser im Siebe befreit, werden dieselben auf siedendem Wasserbade mit concentrirter Salzsäure bis zur beginnenden Krystallausscheidung abgedampft und unter gutem Umrühren langsam abgekühlt. Von dem gewonnenen Krystallbrei wird abgesaugt und derselbe wiederholt mit kleinen Mengen Wasser nachgewaschen. Wiederholtes Umkrystallisiren aus heissem Wasser und Reinigen mit Thierkohle ergab ein vollkommen aschefreies Product mit dem für salzsaures Glykosamin erforderlichen Stickstoffgehalt, ohne dass noch eine weitere Behandlung der Substanz, wie sie Tiemann vorschreibt, erforderlich war.

Bei unseren Untersuchungen beschränkten wir uns darauf, den gewonnenen Urin auf Reductionsfähigkeit und Drehung vor und nach der Vergärung zu untersuchen, ohne weiter auf die Art der Oxydationsproducte und deren Gewinnung einzugehen. Auch die Frage der Glykogenbildung können wir an dieser Stelle nicht berücksichtigen. Soviel aber scheint aus den Untersuchungen (54) Fabian's hervorzugehen, dass echte Glykogenbildner nur diejenigen Zuckerarten sind, welche mit Hefe alkoholische Gährung eingehen und gleichzeitig nur schwer in den Harn übergehen. Fassen wir die Resultate Fabian's zusammen, so fand er beim Kaninchen keine durch Glykosamin bedingte Glykogenbildung, eine völlige Oxydation nach per os eingeführten kleinen Dosen bis zu 3 g, eine theilweise Ausscheidung nach Gaben von 15—20 g und eine nahezu vollständige Wiedergewinnung von subcutan eingeführten 2—3 g gelöster Substanz.

Meine am gesunden Menschen und Hunde gewonnenen Resultate sind nun folgende: Ein kräftiger Mann und ein mittelkräftiges Mädchen zeigten nach 20, 30, 40, 50 g salzsaurem Glukosamin keine Drehung und keine Reduction im Urin. Ein kleiner Pudel gab nach 20 und 30 g eine Drehung des Urins von + 0,3 und 0,4—0,5. Anders verhielten sich auch nicht zwei Diabetiker und ein künstlich diabetisch gemachter Hund:

1. Mittelschwerer, 48 Jahre alter Diabetiker, cfr. Anmerkung 1, Verabfolgung von 20, 30, 40, 50 g salzsaurem Glykosamin in 3 täglichen Intervallen. Der vergohrene Urin zeigt keine Spur Drehung, noch Reduction.

2. Schwerer Diabetiker, 37 Jahre alt, cfr. Anmerkung 5, mit stark positiver Eisenchloridreaction erhält 25 g salzsaures Glykosamin. Der Urin zeigt nach der Vergärung weder Drehung, noch Reduction.

3. Pankreasexstirpirter Hund erhält 20 g in Wasser gelöst, per Schlundsonde, 3 Tage später bei gleichbleibender Zuckerausscheidung nochmals 30 g. Der vergohrene Urin zeigte im ersten Falle + 0,3, im zweiten nahezu + 0,5 Drehung. Legt man diesem Resultate die Beobachtung zu Grunde, dass man mit einer 5,05 proc. Lösung salzsauren Glykosamins eine Rechtsdrehung von 6,6 pCt., auf Traubenzucker berechnet, erhält, so hätte demnach der gesunde wie der diabetische Hund nahezu 7 g von den 30 g eingeführter Substanz im Urin wieder verloren. Auf jeden Fall aber besteht kein Unterschied in Bezug auf oxydative Leistungsfähigkeit gegenüber dem Glykosamin zwischen Gesunden und Diabetikern.

Gleichsam die Ausgangssubstanz (55) für das niedrigste Glied der Zuckerarten ist die Weinsäure

die durch Oxydation in die Dihydromaleinsäure übergeht, welche in wässriger Lösung glatt in Kohlensäure und Glykolaldehyd zerfällt.

Ein Nebenproduct (56) ferner bei der Oxydation des Traubenzuckers, schliesst sich die Besprechung der d-Weinsäure hier am besten an, weil sie durch directe Oxydation der d-Zuckersäure mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung gewonnen wird (57).

Nachdem Happel unter v. Mering festgestellt hatte, dass der diabetische Organismus die ausserhalb des Körpers nur durch sehr energische Oxydationsmittel zerstörbare Bernsteinsäure bis auf geringe, im Aetherextract nachweisbare, Spuren vollkommen verbrannte, und auch von mir bei einem schweren Diabetiker nach Darreichung von 40 g durch Natronlauge beinahe neutralisirter, Bernsteinsäure im Urin nur Spuren wiedergewonnen werden konnten, lag die Vermuthung nahe, dass auch die Weinsteinsäure

einer völligen Oxydation anheimfiele. Diesbezügliche, am diabetischen Organismus ausgeführte Untersuchungen bestätigten vollkommen diese Vermuthung.

Die Methode, deren wir uns für die quantitative Bestimmung der Weinsteinsäure bedienten, ist die von Dr. K. Windisch: „Die chemischen Untersuchungen des Weines“ angegebene.

Er versetzt 100 ccm Wein mit 2 ccm Eisessig und etwa 3 Tropfen einer 20 procentigen Kaliumacetatlösung. In dieser Mischflüssigkeit werden möglichst vollständig 15 g KCl gelöst und 15 ccm 95 proc. Alkohol hinzugefügt. Auf intensives Reiben mit dem Glasstabe erfolgt alsbald die Ausscheidung von Weinstein, die in den nächsten Stunden eine vollständige wird. Der Niederschlag wird nach etwa 15 Stunden mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und wiederholt mit nur wenigen ccm einer Lösung von

15 g KCl
20 ccm 95 proc. alcohol.
100 ccm aqu. dest.

nachgewaschen, bis die Flüssigkeit, welche abläuft, säurefrei ist. Ebenso müssen die etwa noch im Becherglase haftenden Weinsteinreste mit derselben Spülflüssigkeit auf das Filter gebracht werden. Der nunmehr vollständig auf das Filter gebrachte Niederschlag wird mit siedendem

alkalifreien destillirten Wasser zurückgespült, und die erhaltene, bis zum Kochen erhitzte Lösung in der Siedehitze mit $\frac{N}{4}$ - NaOH - Lösung unter Anwendung möglichst empfindlichen blauvioletten Lakmuspapieres titirt. Diese Methode liess sich ohne weiteres, nachdem Vorversuche mit dem Harn zugesetzten Portionen von Seignettesalz angestellt waren, bei Urinuntersuchungen verwenden.

Verabreichte ich zunächst Gesunden Dosen bis zu 50 g Weinstein-säure, die zu etwa $\frac{9}{10}$ mit Alkali neutralisirt war, so trat alsbald alkalische Reaction im Urin auf und beim Ansäuern desselben mit Essig-säure eine enorme Kohlensäureentwicklung. Einzelne diarrhoische Stühle. Aus dem Harn liessen sich durchschnittlich 0,5—2,0 g Weinsteinsäure wiedergewinnen. Aehnlich fielen die Untersuchungen beim schweren Diabetes aus.

1. Patientin mit 7,2 pCt. Zucker und positiver Eisenchloridreaction nahm 44,5 g Weinsteinsäure, von denen nahezu 40 g mit Natronlauge neutralisirt waren, in wässriger Lösung, innerhalb $\frac{1}{4}$ Stunde, In der 24 stündigen, stark alkalisch reagirenden Urinmenge wurden 1,98 g unverbrannter Säure wiedergefunden.

Anmerkung 7. Frau Berta F., 46 Jahre alt, wurde am 16. October 1902 in die Klinik aufgenommen. Vor 13 Jahren mit Gehstörungen gelegentlich einer Schwangerschaft erkrankt, die theilweise wieder zurückgingen, bei erneuter Schwangerschaft exacerbirten und die Kranke für lange Zeit an das Bett fesselten, bemerkte Pat. seit $\frac{3}{4}$ Jahren vermehrtes Urinlassen, Hunger- und Durstgefühl und zunehmende Abmagerung.

Die klinische Beobachtung ergab eine abgelaufene Osteomalacie und eine schwere Form bei Diabetes mit andauernd starker Eisenchloridreaction, die in keiner Weise durch Opiate oder Aenderung der Diät sich beeinflussen liess.

2. Pankreasoperirter diabetischer Hund, mit 10 g zu etwa $\frac{4}{5}$ mit Natronlauge neutralisirter Weinsteinsäure gefüttert. Nach 3 Stunden Auffangen der ersten Urinportion, in die etwa $2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Säureaufnahme hineingebrochen war. Dieser Harn enthielt 2,6 g Weinsteinsäure.

Eine zweite Portion Harn, welche, ohne dass wieder Erbrechen erfolgte, aufgefangen wurde, enthielt nur Spuren, nicht quantitativ mehr nachweisbarer Mengen von Weinsteinsäure.

3. Derselbe Hund erhält einige Tage später, als die Zuckerausscheidung im Harn noch unverändert geblieben war, 20 g zu $\frac{4}{5}$ neutralisirter d-Weinsäure. Innerhalb 30 Stunden wurden 5,1 g unverbrannter Säure, nach dieser Zeit nicht die Spur Weinsteinsäure mehr ausgeschieden.

Dieser Versuch stimmt in seinem Ergebniss vollkommen überein mit von anderer Seite (58) gemachten Beobachtungen am normalen Hunde, wo 25,6 bis 29,3 pCt. der gefütterten Säure wieder gewonnen wurden. Beide Versuche aber (2 und 3), mit einander verglichen, lehren, und diese Thatsache liess sich auch von mir am normalen Hunde beweisen, dass die plötzliche Ueberschwemmung des Organismus mit schwer verbrennlichem Material zu unoxydirten Mengen des verfütterten Körpers

führen kann, während schon einige Stunden später kaum mehr auffindbare Spuren unverbrannter Weinsäure nachweisbar waren.

Ferner stehen diese Beobachtungen auch im Einklang mit den von Salkowski (59) gemachten Erfahrungen über das Verhalten organischer chemischer Verbindungen im Organismus. Er unterscheidet 3 Gruppen, Verbindungen ohne, zweitens mit einer oberen Assimilationsgrenze, doch nicht so zu verstehen, dass der ganze Ueberschuss des zugeführten Materials unverändert ausgeschieden würde, und schliesslich Körper mit einer auffallend niedrigen Oxydationsgrenze, zu denen z. B. das Phenol und seine Derivate gehören. In eine der beiden ersten Gruppen gehören im Allgemeinen die Nährstoffe, ausserdem aber auch eine ganze Reihe von organischen, besonders pflanzlichen Säuren, so auch in die 2. Gruppe, wenigstens für den Hund, die Weinsteinsäure.

Dass selbst der schwere Diabetiker dieselbe in gleicher Weise und in gleich grossen Mengen zerstört wie der Gesunde, geht aus meinen Untersuchungen zur Evidenz hervor. Sie stehen in vollem Einklang mit den Beobachtungen anderer Autoren, dass die leicht oxydirbaren organischen Säuren selbst vom schwersten Diabetiker verbrannt werden: Strauss (60) verfütterte grosse Mengen Citronensäure, Weintraud (61) 20 g milchsaures Natrium, Minkowski (62) bei einem Pankreashunde 10 g β -oxybuttersaures Natrium. Sämmtliche genannte Verbindungen wurden zu CO_2 verbrannt und traten im Urin als kohlensaures Alkali bis zur Alkalescenzenz des Urins auf.

Hatte ich bisher nur Körper untersucht, deren Verwandtschaft zum Traubenzucker leicht bewiesen werden konnte, indem sie sämmtlich bis zu einem gewissen Grade Oxydationsproducte desselben waren, so sind die verwandtschaftlichen Beziehungen des Salicylaldehyds und des Vanillins zur Glykose nur noch durch ihre Aldehydnatur gegeben. Beide Verbindungen aber werden unserem Interesse dadurch näher gebracht, dass sie durch Reduction in die betreffenden Alkohole übergeführt werden, die sich mit Traubenzucker zu sogenannten Glykosiden (64) vereinigen. Der Salicylaldehyd wird zu Saligenin reducirt, das neben Glykose ein Spaltungsproduct des Salicins (65) ist, während Vanillin das Oxydationsproduct des Coniferylalkohols ist, der sich mit Dextrose zu Coniferin (66) vereinigt.

Der Salicylaldehyd, $\text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{OH} \cdot \text{COH}$, wurde zuerst von Schmiedeburg (67) bei seinen Studien über die Oxydationsfähigkeit thierischer

Gewebe verwendet. Digerirte er dieselben bei genügendem Luftzutritt mit jenem, so erfolgte alsbald der Uebergang des Salicylaldehyds in die betreffende Säure. Abelous (68) und Biarnès und weiterhin Sal-kowski (69) haben die Bildung von Salicylsäure aus dem Salicylaldehyd benutzt, um an der Menge der in einer bestimmten Zeiteinheit gebildeten Salicylsäure die Intensität der Oxydationsenergie der einzelnen Gewebe zu messen. Ebenso verwendeten auch Spitzer (70) und Medweden (71) den Salicylaldehyd für ihre Studien über die oxydativen Leistungen der verschiedenen Organe. Da jedoch Untersuchungen am lebenden Körper nicht vorlagen, so führte ich erst diese aus, bevor ich mich dem Diabetiker zuwenden konnte. Hierbei schien mir der Salicylaldehyd aus zwei Gründen am geeignetsten: einmal liess sich am leichtesten eine exacte quantitative Methode für die Bestimmung des etwaigen Oxydationsproductes finden, dann aber konnten Mengen bis zu 5 g ohne die geringste Schädigung verfüttert werden. Allen Untersuchungen wurden Probebestimmungen mit dem Harn zugesetzten, genau abgewogenen Mengen Salicylaldehyds, bzw. Salicylsäure vorausgeschickt.

Der Aldehyd wurde in einigen Kubikcentimetern Alkohol gelöst und mit einer Emulsion von Rothwein, Gummi arabicum und etwas Saccharin, gründlich durchgeschüttelt, verabfolgt. Auf diese Weise, direct nach der Mahlzeit gegeben, wurde der höchst widerwärtige brennende Geschmack nahezu beseitigt und das überaus lästige Aufstossen gemildert.

Zur Bestimmung des einer beliebigen Portion Urins zugesetzten Salicylaldehyds wurde der alkalisch gemachte Harn bis auf etwa ein Drittel seines Volumens in eine Vorlage abdestillirt, der Rückstand mit Wasser übergossen und nochmals destillirt. Die Destillate wurden vereinigt, mit Soda (72) und salzsaurem Hydroxylamin versetzt, nach 24stündigem Stehen schwach mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Nach Abdunsten des Aethers, Abpressen des Rückstandes und Umkrystallisiren des gewonnenen Salzes aus einem Gemisch von Benzol und Ligroin aa wurde das reine Salicylaldoxim, $C_7H_7NO_2$, mit einem Schmelzpunkt von $57^\circ C$. erhalten. Eine qualitative Prüfung mit Eisenchloridlösung giebt noch bei einer Verdünnung des Salicylaldehyds mit ca. 100000 Theilen Urins oder ca. 200000 Theilen dest. Wassers eine deutlich blauviolette Färbung. Dieselbe (73) schwindet jedoch sofort, wenn man eine Probe dieser gefärbten Lösung mit der halben Menge Chloroforms gut durchschüttelt, kehrt aber sofort beim Zusatz von Salicylsäure wieder.

Um die Salicylsäure zu bestimmen, wurde der mit *Natr. salicylicum* versetzte Harn bei alkalischer Reaction zu einem dünnen Syrup eingedampft, mit Salzsäure stark angesäuert und mit einem Trockengemisch von

Kaolin 15,0

Natr. sulf. sicc. 10,0

gründlich verrieben, über H_2SO_4 getrocknet und am nächsten Tage im Extractionsapparat 6 Stunden lang mit Aether extrahirt. Durch Lösen des Verdunstungsrückstandes in Alkali, Wiederausfällen durch Salzsäure und etwa 2—3malige Wiederholung dieser Procedur liess sich die Sali-

cyssäure mit einem kaum in Betracht kommenden Gewichtsverlust rein gewinnen.

Bei meinen Versuchen konnte ich beide Methoden derart vereinigen, dass das Destillat auf Aldehyd untersucht und im Kolbenrückstand die Bestimmung der Salicylsäure vorgenommen wurde.

Beim diabetischen Harn empfahl es sich, die Bestimmungen an zwei getrennten Urinportionen vorzunehmen, auf Aldehyd am unvergohrenen, auf Salicylsäure an einem der Hefegährung unterworfenen Harn, um die Aetherextraction zu erleichtern.

Den Untersuchungen am Diabetiker schickte ich einige Versuche am normalen Individuum voraus. Ich selbst nahm 5 g Salicylaldehyd und 3 Tage später nochmals dieselbe Dosis, in etwas Alkohol gelöst und mit Wasser verdünnt. Der Urin gab nach 40 Minuten schwache, nach 60 Minuten starke Eisenchloridreaction (amethystblaue Färbung). Bereits nach 36 Stunden war dieselbe kaum noch angedeutet, nach 48 Stunden völlig verschwunden. In keinem Falle liess sich im Destillate des vorher alkalisch gemachten Urins freier Aldehyd nachweisen. Dagegen liess sich aus dem Destillationsrückstand in der angegebenen Weise die Salicylsäure gewinnen. Dieselben Resultate erhielt ich bei einer 2. Person mit 5,2 und später nochmals mit 5,3 g Salicylaldehyd in Emulsion verabfolgt.

Versuche am Diabetiker:

1. Mittelschwerer Fall. Verabfolgung von 5,2 g Salicylaldehyd. Vollkommene Oxydation des Aldehyds zu Salicylsäure. Quantitative Gewinnung derselben.

Anmerkung 8. Frau Karoline K. wurde am 30. Juni 1902 in die Klinik aufgenommen. Der Urin wurde bei strenger Diät nicht zuckerfrei. Das Auftreten der Eisenchloridreaction zwang uns zur Verabfolgung von Kohlenhydraten, die zunächst auf 200 g Brod, später auf 100 g bemessen wurden. 2—3 Monate nach der Entlassung aus der Klinik ging die Patientin im Coma zu Grunde.

2. Pankreasexstirpirter Hund mit einem Zuckergehalt von 4,2 bis 5,0 pCt. bei reiner Fleisch- und Fettnahrung, erhält früh 8 Uhr 3,34 g Salicylaldehyd. Im Verlaufe des Nachmittags erfolgt Erbrechen. Der mit dem Erbrochenen verunreinigte Urin enthält Salicylaldehyd. Neuer, sauber aufgefangener Urin enthält keine Spur Aldehyd, sondern nur Salicylsäure. Eine quantitative Bestimmung derselben war natürlich zwecklos.

Einige Tage später bekommt derselbe Hund Fröh Morgens 8 Uhr, nachdem am Tage zuvor Nachmittags 2 Uhr die letzte Nahrungsaufnahme stattgefunden hatte, 1,79 g Salicylaldehyd. Der von den ersten 24 Stunden aufgefangene Urin war frei von Aldehyd, gab starke Violett-färbung mit Eisenchlorid; der in den nächsten 24 Stunden aufgefangene Urin, ebenfalls frei von Aldehyd, gab nur noch eine geringe Dunkel-färbung, wenn er mit diesem Reagenz vereinigt wurde.

Es lehren somit unsere Versuche, dass der Diabetiker in gleicher Weise den Salicylaldehyd oxydirt wie der Gesunde.

Die Verbrennung des Salicylaldehyds und des von anderer Seite untersuchten Benzaldehyds zu den entsprechenden Säuren machte es wahrscheinlich, dass auch andere Glieder der Benzolreihe, so das Vanillin, einem gleichen Oxydationsprocess anheim fielen.

Aber noch weitere interessante Merkmale bot das Vanillin. Denn ähnlich wie bei anderen hydroxylirten aromatischen Verbindungen (z. B. Phenol) konnte auch bei ihm, nachdem es wegen seiner Aldehydnatur zur Vanillinsäure oxydirt war, die Ausscheidung in Form einer Aetherschwefelsäure stattfinden. Unter diesem Gesichtspunkt hatte C. Preusse (74) Kaninchen mit Vanillin gefüttert und in 50 cem Urin die Mengen der ausgeschiedenen Sulfat- und Aetherschwefelsäure mit einander verglichen. Dabei ergab sich eine Abnahme der freien und eine erhebliche Vermehrung der gebundenen Schwefelsäure, ohne dass erstere jedoch zum völligen Verschwinden gebracht werden konnte. Das Verhältniss von Aether- zu Sulfatschwefelsäure, welches vor der Fütterung 1 : 4,2 betrug, war nach derselben 1 : 1,5. Im einzelnen waren die Ergebnisse seiner Untersuchungen folgende:

1. Unverändertes Vanillin geht im Thierkörper nur spurweise in den Harn über und wird, an Schwefelsäure gebunden, ausgeschieden.
2. Vanillin wird zu Vanillesäure oxydirt und verlässt zum geringsten Theil ungepaart, zum weitaus grössten Theil als Aethersäure den Organismus.

Wir setzten diese Studien zunächst am Hunde und am Menschen fort, um dann den Verbleib des Vanillins im diabetischen Organismus zu prüfen.

Zum Nachweis des freien Vanillins (75) wurde in Vorversuchen der alkalisch gemachte Harn mit Aether ausgeschüttelt und der ätherischen Lösung durch Natriumbisulfid der Aldehyd entzogen. Ein Destillationsverfahren war deshalb nicht angängig, weil bei gesteigerter Temperatur eine theilweise Oxydation erfolgte. Ebenso liess auch die Farbenreaktion mit Eisenchlorid im Stich, welche in einer wässrigen Vanillinlösung bereits bei einer Verdünnung von 1 : 2000, im Urin, zumal im dunkel gefärbten, aber schon bei einer Verdünnung von weit unter 1 : 1000 versagte.

Bei den Hauptversuchen wurde derselbe Harn, nachdem er mit Essigsäure wieder angesäuert war, bzw. frischer mit Essigsäure versetzter Urin, zur Aetherausschüttlung etwa vorhandener freier (76) Vanillinsäure verwendet.

Um den Paarling der Aetherschwefelsäure zu gewinnen, wurde nach der von C. Preusse gegebenen Vorschrift verfahren. Erhitzen des Urins mit Salzsäure auf dem Wasserbade; Ausschütteln des abgekühlten Harns mit Aether. Neutralisiren des Verdunstungsrückstandes mit Soda und nochmaliges Ausschütteln mit Aether zum eventl. Nachweis von Vanillin. Ansäuern der von Aether getrennten alkalischen Flüssigkeit mit Schwefel-

säure und Wiederausschütteln mit Aether. Abdunsten desselben, wiederholtes Umkrystallisiren desselben (des Rückstandes) aus heissem Wasser zur Entfernung anhaftender Spuren von Harnfarbstoff.

Versuche mit Anwendung dieser Methoden an mir selber und anderen Individuen mit normalem Urinbefund ergaben nach Fütterung mit 5 g Vanillin als Schüttelmixtur eine völlige Oxydation zu Vanillesäure. Neben Spuren freier Vanillinsäure erschien dieselbe fast ausschliesslich als Aethersäure im Harn wieder. Die Schmelzpunkte schwankten zwischen 204 bis 206° C. Exact quantitative Bestimmungen lassen die angegebenen Methoden nicht zu, da geringe Mengen der Vanillinsäure beim Aus- und Umkrystallisiren verloren gehen.

1. Mittelschwerer Diabetes (cfr. Anmerkung 8!) ergab bei einmaliger Fütterung mit 5 g Vanillin und in gleicher Weise bei an 3 hintereinander folgenden Tagen mit je 5 g des Aldehydes gleiches Resultat wie der Gesunde.

Bei den hier angeführten und einer weiteren Reihe von Versuchen machte ich genaue Bestimmungen der Sulfat- und Aetherschwefelsäuren, stellte Vergleiche an zwischen Gesunden und Diabetikern, theils mit, theils ohne Vanillinfütterung, zog auch den Salicylaldehyd heran, konnte aber nie aus dem Verhältniss von Schwefel- zu Aetherschwefelsäure oder aus den Tagesmengen beider bindende Schlüsse ziehen. Diese negativen Befunde durften nicht Wunder nehmen, nachdem bereits von Baumann (77) und Herter darauf hingewiesen war, dass im menschlichen Organismus die Schwankungen so gross sind, dass es kaum gestattet ist, eine Mittelzahl als die normale anzunehmen. F. Müller, Salkowski und von Noorden legten weniger Werth auf die Relation beider Säuren, sondern empfahlen die Beachtung der absoluten Werthe. Vergleichen wir damit die Bestimmungen, welche v. d. Velden über gepaarte Schwefelsäuren angestellt hat, und Tagesschwankungen zwischen 0,094 g und 0,620 g gefunden hat so müssen wir zugeben, dass wir zur Zeit keine obere oder untere Grenze für die normalen Werthe angeben können. Anders beim Hunde.

2. Pankreasoperirter Hund mit 4—5 pCt. Zucker bei reiner Fleischfütterung. Sulfat- zu Aetherschwefelsäure = 12,2 : 1,0. Nach Eingabe von 3 g Vanillin = 3,32 : 1,0. Auch hier war wie beim Zuckerkranken Menschen eine vollkommene Oxydation des Vanillins eingetreten, ohne dass auch nur Spuren des Aldehyds nachgewiesen werden konnten.

Fleischfütterung war erwünscht, um einen möglichst grossen in die Augen fallenden Unterschied des Quotienten A:B (Sulfat-:Aetherschwefelsäure) zu erzielen vor und nach der Vanillinzufuhr. Denn die von Rovighi (78) an einer grösseren Reihe von Hunden angestellten Bestimmungen lehren, dass bei reiner Pferdefleischnahrung das Verhältniss A : B = (10,4 bis 12,6) : 1, bei Ernährung mit Vegetabilien, Brod, Hundekuchen etc. sofort (3,4 bis 1,5) : 1 sich gestaltete.

Kehren wir nach dieser Abschweifung zum Thema zurück, so können wir auch dem Vanillin gegenüber keine Schädigung der oxydativen Kraft des Diabetikers feststellen.

Mit den Ergebnissen der Darreichung von Vanillin mag die Reihe meiner Untersuchungen einen Abschluss finden. Ich habe also, um einen kurzen Ueberblick zu geben, feststellen können, dass die nachfolgenden Körper vom Diabetiker in demselben Maasse wie vom Gesunden zerstört werden:

d-Glukonsäure,
d-Zuckersäure,
Schleimsäure,
Glukuronsäure,
salzsaures Glykosamin,
Bernsteinsäure,
d-Weinsäure,
Salicylaldehyd,
Vanillin.

Was lehren nun diese Versuche? Sie beweisen, dass der Diabetiker in gleicher Weise wie der Gesunde Körper zerstört, die ihrer Aldehydnatur nach verwandtschaftliche Beziehungen zum Traubenzucker haben oder durch ihre chemische Constitution als Oxydationsproducte des Letzteren der Glukosegruppe zugehören.

Es ist somit, wie einleitend hervorgehoben wurde, auf der einen Seite festgestellt, dass die Gesamtoxydation beim Diabetiker nicht geschädigt ist, andererseits haben meine Untersuchungen gezeigt, dass die Oxydation zahlreicher, dem Zucker verwandter Körper und die Oxydation seiner Abbauprodukte ohne Schwierigkeiten vor sich geht. Wenn der Diabetiker trotzdem den Zucker nur unvollständig zu zerstören im Stande ist, so muss angenommen werden, dass er die Aufspaltung, die der Oxydation des Zuckers im Organismus voranzugehen scheint, nicht wie ein Gesunder zu leisten vermag. Es fehlt dem Diabetiker gewissermassen die Fähigkeit, den ersten Angriff auf das Zuckermolekül zu unternehmen.

Aller Wahrscheinlichkeit nach beruht die Zuckerzerstörung im Organismus im ersten Grunde auf einem fermentativen Vorgang. Hat das Ferment seine Aufgabe, das Zuckermolekül zu lockern, oder um mich so auszudrücken, aus dem Gleichgewichtszustand zu bringen, erfüllt, dann führt die Oxydation die eingeleitete Arbeit zu Ende.

Für die Auffassung einer fermentativen Mitwirkung bei der Zuckerzerstörung sprechen auch einzelne Beobachtungen früherer Autoren, so z. B. der Nachweis, dass Citronensäure (79) und Milchsäure vom Diabetiker zerstört wird. Nicht unerwähnt soll es bleiben, dass bereits vor 30 Jahren O. Schultzen (80) die Hypothese aufgestellt hat, dass die Zuckerzerstörung im Organismus nicht eine Folge der directen Oxydation sein könne, sondern dass der Zucker vorher fermentativ gespalten werden müsste. Dafür, dass bei der Zuckerzerstörung ein Ferment thätig sein muss, spricht in hohem Maasse der Pankreasdiabetes.

Alles in Allem kommen wir somit zu dem Schlusse, dass der Oxydation der Kohlenhydrate im Organismus eine fermentative Spaltung des Zuckermoleküls vorangehen muss, die beim Diabetiker mehr oder minder unvollständig ist.

Literatur.

1. v. Pettenkofer und C. Voit, Zeitschr. f. Biologie. Bd. 3. 1867. S. 380 ff.
2. C. Voit, Physiol. d. allgem. Stoffwechsels und der Ernährung. 1881. S. 227 ff.
3. Leo, Verhandlungen d. Congresses f. innere Medicin. VIII. 1889. S. 354 ff.
4. Weintraud und Laves, Zeitschr. f. Chemie. Bd. 19. 1894. Bibliotheca medica. 1893. Heft 1.
5. J. v. Mering, Behandlung des Diabetes mellit. u. insip. in Penzoldt und Stintzing's Handbuch. III. Aufl. Bd. 2.
6. Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Chemie. 1904. S. 83 ff.
7. Külz, Diabetes mellitus. 1874.
8. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 801. 24, 2683.
9. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 2133.
10. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 2274. 3672.
11. Posner, Synthet. Method. d. organ. Chemie. 1903. S. 264. 265.
12. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 2625.
13. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 377.
14. Beilstein, Handb. d. organ. Chemie. III. Aufl. Bd. I. S. 825 ff. — v. Lippmann, Chemie d. Zuckerarten. 1895. S. 139 ff.
15. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 2358. 3372.
16. E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 539.
17. Paul Meyer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 492.
18. Posner, Synthet. Meth. d. organ. Chemie. 1903. S. 341.
19. Beilstein, Handb. d. organ. Chemie. III. Aufl. Bd. I. S. 851 ff. — v. Lippmann, Die Chemie d. Zuckerarten. 1895. S. 165 ff. — Sohst und Tollens, Liebig's Annalen. 245.
20. cfr. 19. Beilstein, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 3840 ff. — v. Lippmann, Die Chemie d. Zuckerarten. 1904. S. 350 ff.
21. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, 382.
22. Kent und Tollens, Liebig's Annal. 227, 222. — Beilstein, Handbuch der organ. Chemie. III. Aufl. Bd. I. S. 854 ff.
23. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 25, 1247.
24. v. Lippmann, Die Chemie d. Zuckerarten. 1895. S. 372 ff. 1904. 719 ff.
25. Bülow, Liebig's Annalen. 236. 237.
26. Schmiedeberg, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 3, 422.
27. Beyer, Liebig's Annalen d. Chemie. 155, 257.
28. H. Thierfelder, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 19, 3148.
29. E. Fischer und Piloty, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24. 522.
30. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie. 1904. S. 99 ff.
31. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 29, 256. 32, 518.
32. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie. 1904. S. 433 ff.
33. Schmiedeberg, l. c. cfr. 26.
34. J. v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 6, 480. 491. 494.
35. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, 551.
36. Sundwik, Akadem. Abhandlungen. Helsingfors 1886.
37. C. Neuberg, Ergebnisse d. Physiologie. III. 1. Abth. S. 454 ff.
38. Paul Meyer, Zeitschr. f. klin. Medicin. 47, 80 ff.
39. Hildebrandt, Arch. f. experim. Path. u. Pharmak. 44, 278.
40. v. Lippmann, Die Chemie der Zuckerarten. 1904. S. 361 ff.
41. C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 33, 3315.
42. C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 15, 1964.
43. v. Lippmann, Die Chemie der Zuckerarten. 1904. S. 365 ff.

44. Paul Meyer, Zeitschr. f. klin. Medicin. 47, 1. 2.
45. v. Lippmann, Die Chemie d. Zuckerarten. 1895. S. 514. 1904. S. 505 ff. — H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 33, 223.
46. Georg Ledderhose, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 4, 139.
47. Ferd. Tiemann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 17, 421 ff.
48. E. Fischer und Tafel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 2569.
49. E. Fischer und Leuchs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 3787.
50. E. Fischer und Leuchs, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 36, 24.
51. Ruff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 1573. 32, 550. 3617.
52. Posner, Synthet. Method. d. organ. Chemie. S. 267.
53. H. Thierfelder, Hoppe-Seyler's Handb. 7. Aufl. 1903. S. 205 ff. — Beilstein, Handb. d. organ. Chemie. III. Aufl. 3. Bd. 1047. — Georg Ledderhose, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 2, 213. 4, 139. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 19, 1200. 17, 241 ff.
54. Fabian, Zeitschr. f. phys. Chemie. 27, 167. — Chatcart, Zeitschrift für physiol. Chemie. 39, 423.
55. v. Lippmann, Die Chemie d. Zuckerarten. 1904. S. 2 ff.
56. v. Lippmann, Desgl. S. 350.
57. v. Lippmann, Desgl. S. 353. — E. Fischer und Arthur W. Crossley, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, 394.
58. Beilstein, Handb. d. organ. Chem. III. Aufl. Bd. 1. 653 ff.
59. E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 32, 393.
60. Strauss-Naunyn, Der Diabetes in Nothnagel's Handbuch. S. 154.
61. Weintraud, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 34, 170.
62. Minkowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 31, 98.
63. Th. Posner, Synthet. Method. d. organ. Chemie. 1903. S. 109.
64. v. Lippmann, Die Chemie d. Zuckerarten. 1904. S. 556 ff.
65. v. Lippmann, Desgl. S. 203. 483 ff.
66. v. Lippmann, Desgl. S. 202. 485 ff.
67. Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 14. 1881. S. 288 ff. 379 ff.
68. Abelous und Biarnès, Archives de Physiol. norm. et path. VII. 1895. VIII. 1896.
69. Salkowski, Virchow's Archiv. 147. 1897. S. 1 ff.
70. Spitzer, Pflüger's Archiv. Bd. 67. 615 ff. 71. 596 ff.
71. Medwedew, Pflüger's Archiv. Bd. 74. 193 ff. 81. 540 ff.
72. Beilstein, Handb. d. organ. Chemie. III. Aufl. Bd. 3. S. 66 ff. — Desgl. Bd. 2. S. 1488. — Beilstein, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 16, 1782.
73. Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. 31. 1891. S. 460.
74. C. Franke, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 4. 209.
75. Beilstein, Handbuch d. organ. Chemie. III. Aufl. Bd. 3. S. 100.
76. Beilstein, Desgl. Bd. 2. S. 1740.
77. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie. 1899. S. 454 ff. — L. Herrmann, Handb. d. Physiologie V. 509.
78. Rovighi, Zeitschr. f. physiol. Chemie. 16. 20 ff.
79. Neuchi und Silber, Zeitschr. f. pract. Chemie. 26. 34. 1882.
80. O. Schultzen, Berl. klin. Wochenschr. 1872. No. 35. — Bunge, Lehrbuch d. Physiol. II. Bd. 1901. S. 501.