(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts zu Breslau.)

Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle.

Von

Dr. **W. Spitzer**,
Breslau-Karlsbad.

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich den Versuch gemacht, gewisse an „todten“ Geweben beobachtete und durch sie bedingte Oxydationsvorgänge unter einem gemeinsamen Gesichtspunkte zu betrachten und für dieselben eine theoretische Erklärung zu geben. Ich glaube nachgewiesen zu haben, dass wir auf Grund der vorliegenden Thatsachen eine Reihe von Oxydationsprocessen, die in todten Substraten beobachtet werden können, wie die Glycolyse, die Zerlegung von H_2O_2 , die synthetische Bildung von gewissen organischen Farbstoffen als analoge und im wesentlichen gleichartige Processe ansehen und auf die Wirkung gleicher Ursachen zurückführen können.

Wir haben in Anlehnung an die Theorie von M. Traube angenommen, dass jenen oxydativen Vorgängen eine eigenthümliche Fähigkeit der „todten“ Gewebe zu Grunde liegt, nämlich die, in Anwesenheit gewisser sonst schwer oxydabler Verbindungen den molecularen Sauerstoff der Luft zu „erregen“, zu „activiren“, sein Molecül in active Atome zu spalten und mit Hülfe dieser jene „dysoxydablen“ Verbindungen der Verbrennung zuzuführen. Wir stellen uns den Vorgang dieser „Erregung“ oder „Uebertragung“ genau so vor, wie wir ihn von den sogenannten katalytischen Oxydationen durch anorganische Sauerstoffüberträger,

1) Die zuckerzerstörende Kraft des Blutes und der Gewebe. Ein Beitrag zur Lehre von der Oxydationswirkung thierischer Gewebe. Pflüger's Archiv Bd. 60. 303. 1895. u. Berl. Klin. Wochenschrift 1894, 42.

wie von der Verbrennung des über Platinschwamm geleiteten Wasserstoffs, der Zerlegung des H_2O_2 durch Platin, Palladium etc. kennen, wie er für ersteren Prozess durch die Gleichung:

seine schematische Erklärung findet.

Die Anschauung Traube's von der durch O Uebertragung wirkenden Oxydationskraft der Gewebe haben wir auch nach der Richtung hin erweitert, dass wir auch den zu oxydirenden Substraten bei jenem Vorgange eine wichtige active Rolle zutheilen, indem wir annehmen, dass der Ablauf des Processes nicht minder auch wesentlich abhängig erscheint von ihrer stärkeren oder schwächeren Fähigkeit, Sauerstoff an sich zu ziehen. Wir sehen somit die in „todten“ Substraten vor sich gehenden Oxydationsprocesse als — abgesehen von der unter allen Umständen nothwendigen Anwesenheit von Sauerstoff — abhängig von zwei Faktoren an, 1. der für das betreffende Organ stets constanten O übertragenden Kraft, bez. der „Oxydationskraft“ der in dem Organ enthaltenen Stoffe und 2. der nach den Bedingungen des Versuchs stets variablen zu oxydirenden Substanz beziehentlich deren Affinität zum Sauerstoff.

Wir haben des weiteren ausgeführt, wie auch wir in Uebereinstimmung mit allen anderen Autoren jene oxydativen Leistungen des Blutes und der Gewebe ausschliesslich an die sie bildenden Zellen gebunden fanden, denen das wirksame Princip durch einfache Extraction mit Wasser, wenn auch nicht völlig, so doch in grossem Maasse entzogen werden kann. Das weitere Studium der oxydirenden Wirkung der Gewebszellen brachte uns nunmehr eine Reihe recht interessanter neuer Thatsachen.

I. Ueber die Intensität der oxydativen Leistung verschiedener Gewebe.

Es erschien zunächst wünschenswerth, die Energie der Oxydationskraft verschiedenartiger Gewebszellen und die Bedingungen ihrer Wirkung näher kennen zu lernen. Ich benützte hierzu ihre Einwirkung auf Wasserstoffsuperoxyd und bediente mich hierbei folgender Versuchsanordnung. Unter ein graduirtes, mit Wasser gefülltes Eudiometer mündete ein gebogenes Glasrohr, das durch

einen Gummischlauch mit einem weithalsigen verschlossenen Kolben in Verbindung stand, der zur Aufnahme des Superoxyds und der zu prüfenden Substanz bestimmt war. Da die Zerlegung des H_2O_2 momentan eintritt, wurde, um einem Verluste des gebildeten und zu messenden Sauerstoffs vorzubeugen, das zu prüfende Organgewebe in Lösung beziehentlich Aufschwemmung in den Kolben gebracht, und darauf ein kleines mit der H_2O_2 -Lösung beschicktes Gläschen vorsichtig in denselben hinuntergelassen, der Kolben geschlossen und erst jetzt mit dem Eudiometer verbunden. Beim Umschütteln des Kolbens trat sofort die Zerlegung des H_2O_2 ein und der gebildete Sauerstoff beziehentlich die durch jenen verdrängte Luft trat in das Eudiometerrohr über und konnte dort von Minute zu Minute abgelesen werden. Von den jeweils geprüften Geweben wurden stets gleiche Mengen derselben, meistens 1 gr in frischem Zustande verwendet, von der käuflichen ca 2—3 % igen Wasserstoffsuperoxydlösung wurden stets 10 ccm zugesetzt. Dieselben wurden wegen ihres Gehaltes an HCl neutralisirt, wozu gewöhnlich 1 bis $1\frac{1}{2}$ ccm $\frac{1}{10}$ NaOH nöthig waren. Zur Prüfung verwendet wurden fast alle Gewebe des Thierkörpers, Leber, Milz, Blut, Pancreas, Thymus, Nieren, Lymphdrüsen, Schilddrüse, Muskeln etc. von Kaltblütern, Hund, Kaninchen und Rind.

Die Organe waren, soweit angängig, durch Ausspülen nach ihrer Herausnahme von Blut befreit worden, oder sie stammten von Thieren, die durch Verbluten getödtet worden waren.

Es zeigte sich nun zunächst, was bereits früheren Autoren wie Alexander Schmidt und Schönbein bekannt gewesen, dass die einzelnen Organe verschieden stark auf das H_2O_2 einwirkten, dass die zur Zerlegung einer bestimmten Superoxydmenge nöthige Zeit für sie eine verschieden grosse war, während sie alle das eine gemeinsam hatten, dass die Intensität der Einwirkung sich in den ersten Minuten am grössten erwies und dann langsam bis zum Nachlass der Wirkung absank. Eine völlige Zerlegung des zugesetzten Superoxyds wurde selbst von den bestwirksamen Geweben nicht erzielt, wie die Berechnung des abspaltbaren Sauerstoffs auf Grund der Titration der H_2O_2 -Lösung mit Permanganat ergab. (Das gleiche ist auch für die H_2O_2 -Zerlegung durch eine Reihe pflanzlicher und thierischer Fermente, Emulsin, Diastase, wässrige Pankreasauszüge, in denen der Wirkung vielleicht nur

die jeweils noch vorhandenen Zellreste zu Grunde liegen, von Jacobsohn¹⁾ nachgewiesen worden.)

Die wesentlichste Differenz in der Intensität der H_2O_2 -Zerlegung durch die verschiedenen Gewebe zeigte sich gerade in den ersten Zeitabschnitten ihrer Einwirkung. Das Nähere ergibt sich aus den folgenden mehrfach wiederholten Versuchsbeispielen.

Verwendet wurde in allen Versuchen 10 ccm H_2O_2 -Lösung (von 3,7% H_2O_2) mit 40 ccm H_2O verdünnt.

I a. Leber vom Hunde 1 gr.

Nach Mi- nuten	Gebildet ccm O_2	Bemerkungen
1/2	50	Durch starkes Schütteln
1	55	am Ende des Ver-
2	60	suches tritt noch
3	62	Sauerstoff über bis
4	65	97 ccm; nach 24 Std.
6	66 1/2	97 ccm.
7	70	Die zugesetzte H_2O_2 -
8	72	Lösung hätte bei voll-
9	75	ständiger Zerlegung
12	76	ergeben müssen 102
14	76 1/2	ccm.
16	78	
23	80	

II. Pankreas vom Rind 1 gr.

Nach Mi- nuten	ccm O ₂ gebildet	
1	38	
2	58	
3	67	
4	71	
5	}	—
6		
7	77	
13	82	
	Durch starkes Schütteln am Ende des Ver- suches werden noch übergetrieben O ₂ ccm bis 98, nach 24 Std. 98.	

I b. Leber vom Hunde 2 gr.

Nach Mi- nuten	ccm O_2 gebildet
1	76
2	80
3	81
4	82
5	84
7	84
	Nach 6 Stunden
	90

III. Pankreas vom Rind 2 gr.

Nach Mi- nuten	ccm O_2 gebildet
1	48
2	65
3	70
4	74
5	76
6	77
7	79
8	—
11	82
	Durch Schütteln
	bis 98

1) Zeitschrift für Physiol. Chemie. Bd. 16.

IV. Gehirn vom Hunde 2 gr.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	9
2	19,6
3	25
4	30,8
5	35
6	38
7	42
8	45,6
9	49
13	56,6
16	61
23	67
27	70
30	71,8
35	73
39	74
46	78

Durch Schütteln am Ende
des Versuches 84.

V. Blut 1 gr vom Hunde.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	76
2	80
3	81
4	85
5	86
6	88
7	91

Durch Schütteln werden noch
übergetrieben ccm O₂ bis 99.

VI. Muskeln vom Hunde 2 gr.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	8
2	13
3	18
4	22
5	27
6	32
7	36
8	40
9	44
10	46
11	49
13	54
15	56
17	60,5

Fortsetzung Versuch VI.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
19	62
23	67
31	70
37	72
60	76

Nach Beendigung des Versuches
durch Schütteln 94.

VII. Eierstock vom Frosch 2 gr.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	4
2	10
3	17
4	24
5	29
6	34
7	37
8	42
9	43
10	45
12	47
15	49
17	50,5
18	55,5
21	66
28	71

VIII. Eileiter vom Frosch 2 gr

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	10
2	19
3	24
4	29
5	31
6	34
8	37,6
9	39
10	40,4
11	41,8
15	44
18	46
25	50
28	55
35	60
38	62
50	67
55	69
61	70
64	71
77	73
92	75

IX. Thymus vom Kalbe 1 gr.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	30
2	50
3	60
4	69
5	73
7	77
10	80
13	84

X. Milz vom Hunde 1 gr.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	76
2	80
3	81
4	82
5	83
7	84
12	84

Durch Schütteln bis 100 übergetrieben.

Nach 5 Stunden 90.

Um der Frage näher zu treten, ob etwa die jeweiligen Arbeitsbedingungen, unter denen sich die Gewebe befinden, ihre oxydative Kraft beeinflussen, wenigstens soweit dieselbe sich an der Zerlegung des H₂O₂ erkennen lässt, wurden einige Versuche mit den Muskeln von Kaltblütern gemacht, die mehrere Stunden hindurch vermittels Strychnin in Tetanus gehalten worden waren. Es ergab sich keine Differenz gegenüber der Leistung nicht tetanisierter Muskeln.

XI. 2 gr Froschmuskel vom Oberschenkel.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	7
2	13,8
3	18
4	22
5	26
6	29
8	36
9	40
10	43
11	46
12	48
13	51
14	53
15	56
16	57,5
17	59,5
18	61,5
19	63
20	65
22	67,8
24	68,6
26	70,4
28	71
30	73
37	79

XII. 2 gr Froschmuskel nach 3 stündigem Strychnin-Tetanus.

Nach Minuten	Gebildet ccm O ₂
1	5
2	10,5
3	14
4	19,5
5	23
6	28,5
7	34
8	40
9	45
10	47
11	53
12	55
13	57
14	60
15	62,5
16	64,5
17	66
18	68
19	70
20	71,5
22	74
24	74
26	79
28	79
30	82
32	86

Die gegen den nebenanstehenden Versuch sich ergebende Differenz liegt innerhalb der Breite der individuellen Schwankung.

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich aufs deutlichste, dass sich die einzelnen Gewebe in ihrer oxydativen Energie ganz wesentlich verschieden verhalten, soweit wir die relativ rasch und leicht eintretende Zerlegung von H_2O_2 als Maassstab für dieselbe anzusehen vermögen. Wir ersehen, wie zur Abspaltung einer bestimmten Sauerstoffmenge die einzelnen Gewebe verschieden lange Zeit brauchen und erkennen die Verschiedenheit der jeweiligen Zerlegungsintensität auch ganz besonders gerade innerhalb der ersten Zeitabschnitte der ablaufenden Reaction, in denen sie am grössten ist und in verschiedenem Maasse anwächst, während mit der Dauer der Einwirkung und Abnahme der Energie der Zerlegung sich die Differenz verwischt. Wir können mit Zugrundelegung dieser That-sachen leicht eine Scala aufstellen, die die Gewebe nach der Stärke ihrer Einwirkung geordnet erhält. Dieselbe ergibt etwa folgende Reihe:

Blut, Milz, Leber, Pankreas, Thymus, Gehirn, Muskeln, Eierstock, Eileiter.

In gleicher Weise haben, wie die mittlerweile erschienenen Arbeiten von Ab elous u. Biarnès¹⁾, und Salkowski²⁾ uns zeigen, diese Autoren die Bildung von Salicylsäure aus dem Salicylaldehyd benutzt, um an der Menge der in einer bestimmten Zeit gebildeten Salicylsäure die Intensität der Oxydationsenergie der einzelnen Gewebe zu messen. Die ersteren benutzten ausserdem zu gleichem Zwecke die von uns angegebene Bildung des Indophenols aus farbloser Vorstufe und konnten so durch Vergleich der jeweiligen Intensität der Farbstoffbildung auf colorimetrischem Wege ihre Resultate controlliren³⁾. In beiden Fällen ergaben sich Reihen, die der von uns aufgestellten fast völlig entsprechen.

Nach Ab elous und Biarnès: Milz, Leber, Lunge, Schilddrüse, Niere, Thymus, Muskeln, Gehirn, Pankreas.

Nach Salkowski: Leber, Milz, Niere, Pankreas, Muskeln.

Der Frage, inwieweit die Ergebnisse der Katalyse des H_2O_2 abhängig sich erwiesen von der Menge der wirksamen Substanz, wurden nur einige wenige Versuche gewidmet, welche zeigten, dass der Ablauf der Reaction wohl in den ersten Minuten der

1) Archives de Physiolog. normal et path. VII. 1895. VIII. 1896.

2) Archiv f. patholog. Anatomie u. Physiolog. Bd. 147. 1. 1897.

3) Comptes rendus de la Société de Biologie 1896.

Einwirkung eine Beschleunigung erfuhr bei Verwendung doppelter oder grösser Substanzmengen, welche jedoch mit absinkender Energie der Zerlegung nachliess. Ein bestimmtes Verhältniss zwischen der Intensität der Sauerstoffabspaltung aus H_2O_2 und der Menge des verwendeten Gewebes liess sich nicht construiren. Es dürfte ein Leichtes sein, die Erfahrungen von Medvedew¹⁾ über die Abhängigkeit der Salicylsäurebildung aus dem Aldehyd von der Menge der jeweils wirksamen Substanz auch an der Katalyse des H_2O_2 nachzuprüfen.

Immerhin sehen wir, dass die vergleichenden Werthe, wie wir sie für die Energie der H_2O_2 -Zerlegung erhielten, gut übereinstimmen mit den Werthen, die von Abelous und Biarnès einerseits, Salkowski andererseits nach anderen Methoden als Maass der oxydativen Energie gefunden wurden. Diese Thatsache ist wiederum ein neuer Grund für uns anzunehmen, dass den in diesen Methoden geprüften oxydativen Processen einheitliche Ursachen zu Grunde liegen.

II. Ueber den Einfluss von Protoplasmagiften, schädlichen Temperaturen, Säuren und Alkalien.

Die oxydative Leistung der Gewebe ist, wie an früherer Stelle bereits ausgeführt wurde, insofern unerschöpflich, als die kleinste Menge derselben immer von Neuem mit fast ungeschwächter Kraft die zugeführten oxydablen Substanzen zu oxydiren vermag.

Doch wird dieselbe von gewissen äusseren Umständen wesentlich beeinflusst.

„Protoplasmagifte“ wie Cyankalium und Hydroxylamin schwächen sie, in geeigneter Menge zugesetzt, bis zur völligen Vernichtung.

Versuch XIII.

1 gr frische Leber; verrührt mit
60 cem Wasser + 5 cem 1% CNK-
Lösung und 10 cem H_2O_2 .

1 gr derselben Leber ebenso ohne
CNK.

Nach Minuten	cem O_2 gebildet	Nach Minuten	cem O_2 gebildet
4	—	4	70
5	—	5	72
7	2	7	75
10	4	10	87
15	10	15	81
22	18	22	86
35	28		
nach 3 Tagen	34		

1) Pflüger's Archiv Bd. 65. 249. 1896.

XIV. 1 gr frische Leber mit 60 ccm Wasser, 2 ccm 1 % Hydroxylaminlösung und 10 ccm H_2O_2

nach 22 Minuten keine Spur Sauerstoff gebildet.

XV. 1 gr Pankreas mit 2 ccm 1 % Hydroxylaminlösung, 60 H_2O und 10 H_2O_2 .

nach 1 Stunde keine Spur Sauerstoff gebildet.

Der Einwand, dass eine Zerlegung wohl erfolgt sein könne, der entwickelte Sauerstoff sei aber nur vom stark reducirenden Hydroxylamin in Beschlag genommen worden, ist natürlich hin-fällig, wenn man die minimalen Mengen O_2 bedenkt, die zur Oxy-dation des verwendeten Hydroxylamins nöthig sind.

Die gleiche deletäre Wirkung hatten diese Gifte auch auf das in den wässrigen Extract der Gewebe übergehende Princip. Die Katalyse des H_2O_2 durch anorganische Erreger wurde von jenen Giften nicht im entferntesten beeinflusst.

Was den Einfluss der Temperatur betraf, so liess sich im Einklang mit früheren Beobachtungen constatiren, dass selbst hohe Kältegrade die Einwirkung der Gewebe auf das Superoxyd nicht zu schwächen, geschweige zu zerstören vermochten. Gewebsstücke, die ich 14 Tage hindurch hatte in einem Eisblock gefrieren lassen, zerlegten aufgethaut, absolut mit derselben Intensität, wie die eben dem Körper entnommenen. Als Optimum der Temperatur erwies sich die von $30-50^\circ \text{C.}$, von da ab sank die oxydative Energie stetig, bis sie beim Erhitzen auf etwa 70°C. fast vollständig und unwiederbringlich verschwand, wenigstens soweit wir die q u a n t i t a t i v m e s s b a r e sonst so ausserordentlich leicht und rasch erfolgende Zerlegung von H_2O_2 als Maass hierfür benutzten. Die auffällige Thatsache konnte hingegen stets beobachtet werden, dass das Gewebe als solches in Substanz die Fähigkeit in geringstem Maasse (qualitativ nachweisbar) H_2O_2 zu zerlegen trotz Erhitzung bis über die Gerinnung hinaus — selbst bis 120° — ebenso auch bei Anwesenheit der erwähnten Protoplasmagifte, nicht ganz vollständig eingeblüsst hatte, wie sich aus den feinen auftretenden O_2 -Bläschen respective der Bläuung der mit dem Superoxyd auf das Gewebe gebrachten Guajactinctur erkennen liess. Allerdings betraf dieses Vermögen — und das ist interessant — nur das Gewebe als solches; es war nicht mehr nachweisbar, sobald dasselbe, wie sonst üblich, in $30-50$ ccm Wasser aufgeschwemmt untersucht wurde. Ein Leberstückchen, das bis zur Gerinnung des Eiweisses erhitzt, in Wasser suspendirt und mit H_2O_2

versetzt, nach Tagen noch kaum eine Spur O_2 im Eudiometerrohre erkennen liess und in dieser Vertheilung auch Guajac nicht bläute — zeigte diese Reaction, sobald es mit einigen Tropfen Superoxyd benetzt auf ein mit Guajac getränktes Filtrirpapier gebracht wurde.

Wir müssen diese Reaction als eine für das Gewebe spezifische ansehen, da andere organische Substrate, wie z. B. Eiweisskörper irgend welcher Art u. dgl. sie unter keinen Umständen liefern. Wir wollen diese Fähigkeit der Gewebe, die selbst nach eingreifender Behandlung und nach Verlust der Kraft, H_2O_2 in quantitativ grossem Maasse zu zerlegen noch in Action tritt, als Contactwirkung bezeichnen, weil sie ausschliesslich an die ungelöste Substanz gebunden ist und der Lösung nicht mehr zukommt. Wir werden uns denken müssen, dass der nach Einwirkung hoher Temperaturen und Protaplasmagifte zurückbleibende Rest oxydativer Kraft ein so geringer ist, dass er nur unterstützt durch eine Oberflächenmassenwirkung der einzelnen Molecule, die ja der Lösung abgeht, in Erscheinung treten kann. Halten wir hierbei diese Oberflächenwirkung für wesentlich, so bildet sie, wie gesagt, natürlich nicht allein die Ursache für das Eintreten der von anderen Substraten nicht geleisteten Reaction.

Auf welchem Wege es gelingt, auch diese „Contactwirkung“ als letzten Rest der ursprünglichen Kraft zu vernichten, darüber soll an späterer Stelle Näheres mitgetheilt werden.

Noch wesentlich empfindlicher wie gegen hohe Temperaturen verhält sich die oxydative Kraft der Gewebe zugesetzten Säuren und Alkalien gegenüber. Kaustische Alkalien und Mineralsäuren hemmten in ausserordentlich geringer Concentration schon die Zerlegung von H_2O_2 , hoben sie beziehentlich völlig auf, ohne dass eine nachfolgende Neutralisation die ursprüngliche Wirkung hätte wiederherstellen können. Neutralsalze erwiesen sich als unschädlich. Die blosse Anwesenheit der zugesetzten Säuren resp. Alkalimengen konnte den Process der O-Uebertragung nicht hindern, was sich daraus ergab, dass eine wesentliche Behinderung der H_2O_2 -Zerlegung ausblieb, wenn jene erst in dem Augenblicke zugefügt wurden, wenn das Gewebe mit der H_2O_2 -Lösung zusammentraf.

Es trat vielmehr nachweisbare Schädigung erst dann ein, wenn das Gewebe etwa 3–5 Minuten mit ihnen gründlich mecha-

nisch bearbeitet worden war. Hierbei konnte auch die interessante Beobachtung gemacht werden, dass sehr geringe Alkalimengen sogar eine Steigerung der oxydativen Leistung zur Folge hatten. (Diese Beobachtung correspondirt mit einer analogen von Jacobson¹⁾ an Emulsin und Pankreasauszügen.)

Versuch XXI.

1 gr frischer Leber (vom Hunde) wurde 5 Minuten mit der angegebenen Alkali beziehentlich Säuremenge und Wasser in der Reibschale verrührt; hierauf wurden 10 ccm H_2O_2 -Lösung in der früher angegebenen Weise zugefügt und das entstehende Sauerstoffgas aufgefangen.

Cubikcentimeter O_2 gebildet					
Nach Minuten	bei Zusatz von				
	1 ccm $\frac{1}{10}$ KOH + 49 H_2O	2 ccm $\frac{1}{10}$ KOH + 48 H_2O	3 ccm $\frac{1}{10}$ KOH + 47 H_2O	5 ccm $\frac{1}{10}$ KOH + 45 H_2O	10 ccm $\frac{1}{10}$ KOH + 40 H_2O
2 h	—	—	}	}	}
1	84	47			
2	86	64			
3	$86\frac{1}{2}$	73			
4	—	79			
5	—	—			
6	$87\frac{1}{2}$	84			
7	—	86			
8	—	86			
9	—	—			
10	—	—			
11	—	—			
12	—	89,4			
13	—	—			
14	—	—			
15	—	—			
16	88	91,6			
	2 Std. nach Beginn des Versuches 88	Um 12 h 36 m 96 nach 2 Std. 96	Keine Entwick- lung; nach 2 Std. neutralisirt mit 3 ccm $\frac{1}{10}$ H_2SO_4 ; keine Entwick- lung; nach 3 Std. ebenfalls nicht.	Keine Entwick- lung, neutralisirt mit 5 ccm $\frac{1}{10}$ H_2SO_4 ; keine Entwicklung; nach 3 Std. eben- falls nicht.	

1) a. a. O.

Cubikcentimeter O ₂ gebildet				
in Mi- nuten	bei Zusatz			
	von 1 cem $\frac{1}{10}$ HCl	3 cem $\frac{1}{10}$ HCl	6 cem $\frac{1}{10}$ HCl	8 cem $\frac{1}{10}$ HCl
1	48	22	1 cem	0 cem
2	54	33		
3	56	39,4		
4	60	45,5		
5	62	49,8		
6	—	54		
7	—	57		
8	—	59,4		
9	—	—		
10	68	63,4		
15	—	68	nach weiteren 2 Stunden keine weitere Vermeh- rung	
20	—	71,4		
25	—	74		
30	72	75		
	nach 2 Stunden 80	nach weiteren 2 Stunden 78		

Wenn wir uns bis jetzt nur an die Einwirkung auf H₂O₂ gehalten haben, so geschah dies, weil dasselbe als ausserordentlich bequemes Reagens eine sehr leichte Prüfung der angezogenen Verhältnisse gestattete. Es ist nicht überflüssig zu bemerken, dass die Gesetze, welche wir für die O-Abspaltung aus dem (den Sauerstoff leicht abgebenden) Wasserstoffsperoxyd festgestellt haben, auch für die Spaltung des Sauerstoffmoleculs sich als gültig erwiesen. Es zeigte sich, dass die oxydative Bildung der erwähnten Farbstoffe, der Indophenole, des Toluylen-Blaus, der Eurrhodine und ebenso die Oxydation des Salicylaldehyds zu Salicylsäure etc. von den gleichen Bedingungen abhängig ist. Der Gehalt einer Organaufschwemmung an Säure oder Alkali, welche eine wesentliche Zerlegung des H₂O₂ nicht mehr zulies, verhinderte ebenso sofort jene erwähnten Farbstoffsynthesen, die Bildung der Salicylsäure etc.¹⁾.

Die bereits erörterte „Contactwirkung“ trat bei Verwendung jener anderen schwerer oxydablen Substanzen nicht mehr in Er-

1) Auch Abelous und Biarnès heben hervor, wie ausserordentlich leicht die Bildung der Salicylsäure durch Gewebe bei einem geringen Gehalt an Säure oder Alkali geschädigt, beziehentlich sogar aufgehoben wird.

scheinung. Ein erhitzter Leberbrei z. B., der auf Papier ausgestrichen und mit den Indophenolbildnern übergossen wurde, zeigte keine Indophenolbildung mehr. Er zerlegte aber noch immerhin soviel Superoxyd, dass mit Hülfe der gebildeten geringen O-Menge die Vorstufen des Indophenols in dieses übergeführt werden konnten. Die so äusserst geringe Intensität jener „Contactwirkung“ reicht wohl aus, das so sehr leicht zerlegbare H_2O_2 zu katalysiren, genügt aber nicht mehr zur Spaltung eines O-Moleculs, wie es für die Bildung der Indophenole nöthig ist, eine Anschauung, die der an früherer Stelle von uns ausgesprochenen entspricht.

Unsere Beobachtungen über jene Farbstoffsynthesen durch organische Gewebe sind im vollen Umfange von Abelous und Biarnès bestätigt worden, die die Farbstoffbildung zu einem Vergleich der oxydativen Energie der einzelnen Gewebe benützen. Ihre auf colorimetrischem Wege erzielten Resultate ergaben genau dieselben Vergleichswerthe wie ihre früheren mit Salicylaldehyd und meine mit H_2O_2 angestellten Versuche¹⁾. Auch mit Pflanzenzellen, den wässrigen Auszügen verschiedener Pilze hat Bourquelot²⁾ die gleichen Synthesen erhalten. Nur Pohl³⁾ hat auffälliger Weise die Bildung der Indophenole durch Organextracte (der Leber) nicht immer erzielt. Woran dieses liegt, geht aus seinen Versuchen nicht ohne Weiteres hervor. Nach meinen umfassenden Erfahrungen ist dieselbe bei ausgebluteten frischen Organen unter allen Umständen zu beobachten. Man muss nur darauf achten, das Blut sorgfältig aus den Organen zu entfernen, da dasselbe das Zustandekommen der Reaction unter Umständen stören kann. Es empfiehlt sich auch, um einen ausgiebigen Contact der Zellen mit der zu oxydirenden Flüssigkeit und dem Sauerstoff zu ermöglichen, ausschliesslich einen von Bindegewebe und Blutgefässen befreiten Zellbrei für diese Versuche anzuwenden.

Dagegen hat Pohl ebenfalls durch Pflanzenextracte, die Blätter von *Sambucus nigra*, *Syringa vulgaris*, mit Tannennadeln, Amygdalin resp. deren wässrigen Auszügen die Indophenol-Synthese sehr leicht und intensiv erzielen können. Pohl schliesst nun aus der Thatsache, dass ein Organbrei keine Indophenol-Bläuung liefert, der sogar

1) a. a. O.

2) Comptes rendus de la Société de Biologie 1896.

3) Archiv für experimentelle Pathologie Bd. 38. 65. 1896.

die schwerer eintretende Oxydation des Formaldehyds zu Ameisensäure fertig bringt, während andererseits durch pflanzliche Substrate letztere Reaction überhaupt nicht, erstere dagegen sehr leicht zu erhalten war, darauf, dass die Farbstoffsynthesen nicht als allgemein gültiges Maass der oxydativen Potenz angesehen werden können. Er meint, dass es sich bei der Indophenolreaction einerseits und bei der Oxydation eines Aldehyds andererseits um zwei ganz verschiedene Vorgänge handelte. In dem einen Falle tritt die Oxydation ein, durch den Austritt von zwei Wasserstoffatomen aus zwei Verbindungen, wie die Gleichung zeigt, und ein Zusammentreten der beiden Componenten zu einer neuen Verbindung, also um eine oxydative Synthese unter Wasseraustritt, in dem zweiten, um den einfachen Eintritt eines Sauerstoffatoms in eine COH-Gruppe. Der erstere Vorgang könne nicht gut einen Indicator für den zweiten anders gearteten abgeben.

Abgesehen davon, dass wir zur Zeit die Thatsache bestreiten, dass ein die Oxydation eines Aldehyds lieferndes Substrat die Indophenol-Synthese zu erzeugen nicht im Stande sei, können wir die Anschauung Pohl's nicht ohne Weiteres acceptiren. Wir sind nicht in der Lage anzunehmen, dass eine oxydative Synthese unter Wasserstoffaustritt in ihrem Wesen eine prinzipiell verschiedene oxydative Leistung repräsentire gegenüber dem Eintritt eines Sauerstoffatoms in ein Molecül. Wir haben keine Veranlassung von unserer Vorstellung abzugehen, dass das Gewebe in dem einen wie in dem andern Falle die Oxydation bedingt durch eine Spaltung molecularen Sauerstoffs der Luft. In beiden Fällen erfolgt dieselbe durch die Einwirkung des Sauerstofferregers (gewisse in den Geweben enthaltene Substanzen s. u.) und des, beziehentlich der Sauerstoffnehmer auf molecularen Sauerstoff. Ob Wasserstoff aus dem Sauerstoffnehmer austritt oder Sauerstoff in denselben eintritt, ist für das Princip gleichgiltig. Wenn wir Pohl folgten, dürfte die Oxydation des Benzylalcohols zu Benzoesäure auch nicht zum Maass der oxydativen Energie benutzt werden, da hier ebenfalls die Oxydation unter Austritt von Wasserstoff erfolgt.

Nach dem, was wir früher ausgeführt haben¹⁾, ist es leicht verständlich, wenn bei der Prüfung der oxydativen Energie des einen Sauerstofferregers eine Oxydation ausbleibt, die bei der

1) Pflüg. Arch. 60. 323. 1895.

Prüfung eines anderen eintritt. Dann handelt es sich um eine Verschiedenheit in der Kraft der Erreger. Es kann also auch bei der Anwendung desselben Erregers der eine Körper oxydirt werden, der andere nicht. Dies beruht auf der Verschiedenheit der Sauerstoffnehmer. Wenn ein Pflanzenzellenextract Indophenol bildet, aber einen Aldehyd nicht oxydirt, so beweist dies nur, dass seine oxydative Kraft für diese eben schwerer auszuführende Reaction nicht ausreicht, ebenso, wie ein Gewebe, welches diese zu leisten im Stande ist, H_2O_2 sicherlich zerlegen wird, nicht aber umgekehrt. Substrate, welche die Indophenol-Synthese liefern, werden also sicherlich in Bezug auf ihre oxydative Energie mit einander nach der Intensität der erzielten Farbstoffbildung gut verglichen werden können, wie dies Abelous und Biarnès gethan haben. Und dass es sich hierbei wenigstens für die thierischen Gewebe nicht um etwas principiell Verschiedenes handelt gegenüber der Bildung der Salicylsäure z. B. aus dem Aldehyd, geht ja eben auch daraus hervor, dass die Energiescala der Gewebe für beide Leistungen die gleiche ist.

III. Ueber die in Wasser löslichen Sauerstofferreger.

Es war bereits allen Autoren, die sich mit der Frage der Oxydation durch todte Substrate animalischer oder pflanzlicher Natur beschäftigt haben, bekannt, dass das wirksame von den meisten als „Oxydationsferment“ bezeichnete Prinzip den Geweben durch Wasser oder verdünnte Kochsalzlösungen entzogen werden kann. Wir vermochten das Gleiche nur zu bestätigen. Dass bei dieser Extraction keinerlei wesentliche Veränderung mit dem oxydirenden Agens vor sich ging, erschien schon daraus wahrscheinlich, dass die Wirkung der filtrirten wässrigen Organauszüge von den gleichen Bedingungen abhängig war, wie die Action der ursprünglichen Gewebe vor der Extraction. Die bezüglichlichen wässrigen Extracte zeigten genau dieselbe Intensität der H_2O_2 -Zerlegung, sie waren unter einander in Bezug auf die Geschwindigkeit derselben ebenso verschieden wie die ursprünglichen Gewebe und wurden durch die genau gleichen Mengen bestimmter Mineralsäuren und kaustischer Alkalien, durch Protoplasmagifte etc. in der gleichen Weise geschädigt.

Wurde der wässrige Auszug eines Leberzellbreis bis zur Gerinnung erhitzt, so war weder der entstehende Niederschlag noch

das Filtrat im Stande, irgend welche grössere nachweisbare Sauerstoffmengen aus dem Superoxyd zu entwickeln, doch zeigte der Niederschlag, jedoch nur dieser, kraft der gleichen Contactwirkung, wie wir sie oben von dem Gewebe in toto kennen gelernt haben, die Fähigkeit, durch Zerlegung einer minimalen Menge H_2O_2 die Guajactinctur zu bläuen.

Es fragte sich nun, in wie weit man im Stande war, den Geweben durch Wasserextraction die wirksame Substanz zu entziehen. Dies gelang vollkommen nicht. Während bei wiederholter Extraction die Auszüge immer schwächere Wirksamkeit zeigten, ohne dass sie selbst im letzten vollkommen fehlte — zeigte sich doch der sechste Auszug eines Leberzellbreis trotz je 24stündiger Einwirkung noch als wirksam —, so verblieb dem Organbrei noch die genau gleich intensive oxydative Kraft in Bezug auf die Katalyse von H_2O_2 , die Oxydation des Salicylaldehyds, die Bildung der Farbstoffsynthesen etc., wie er sie vor der Extraction gehabt hatte.

Versuch:

Leberzellenbrei wird sechsmal mit Wasser durch je 24 Stunden extrahirt. — 1 gr der extrahirten Masse werden mit 50 Wasser und 10 ccm H_2O_2 gemischt

nach Minuten	1	2	3	4	6	8
ccm O_2 entwickelt	12	78,4	81	85	88	90

Versuch abgebrochen.

Aus dieser wiederholt constatirten Beobachtung ging unzweideutig hervor, dass an der oxydativen Leistung der Gewebe ausser einer in Wasser relativ leicht löslichen Substanz eine in Wasser resp. verdünnten Kochsalzlösungen unlösliche betheiligt sein musste. Die gleichen Beobachtungen hatte für die Katalyse des H_2O_2 schon Alexander Schmidt¹⁾ an einer Reihe von Organen gemacht. Für die glycolytische Function des Blutes war von Lépine, Arthas und mir das Gleiche nachgewiesen worden.

Da eingreifendere Methoden als die Extraction mit Wasser, wegen ihres deletären Einflusses auf die oxydative Kraft nicht zu verwenden waren — auch die Behandlung mit Alkohol erwies sich nicht als gleichgültig (vgl. Salkowski) —, so wollen wir uns in dieser Arbeit zunächst nur mit dem in Wasser löslichen Princip befassen und die Frage vor der Hand ruhen lassen, ob

1) Zur Blutlehre, Leipzig 1892.

das im erschöpften Zellenrest noch wirksame Substrat mit dem ersteren verwandt resp. identisch ist oder nicht. Sicher ist das eine, dass für die oxydative Leistung desselben die gleichen Gesetze gelten, wie für das in Wasser lösliche.

Es lag nunmehr die Aufgabe vor, dieses letztere genauer zu studiren resp. isolirt herzustellen. An früherer Stelle schon hatten wir uns gegen die ja sonst sehr bequeme Annahme eines oxydativen „Ferments“ ausgesprochen. Würde man hierunter, wie früher üblich, ganz allgemein organische Substanzen unbekannter Herkunft und Zusammensetzung verstehen wollen, die in geringster Menge, ohne sich während ihrer Einwirkung irgend wie zu verändern, Umsetzungen irgend welcher Art in organischen Substraten hervorrufen, so wäre ja gegen eine solche Bezeichnung nichts einzuwenden; doch hätte dieselbe nur solange zu gelten, bis eine bessere und zusageudere vorliegt. Ein Ferment im heutigen Sinne, ein „Enzym“, ist natürlich unser wirksames Prinzip nicht, da wir unter einem solchen nur organische Substanzen verstehen, die unter Aufnahme von Wasser complicirte Verbindungen in einfachere überführen. Das trifft selbstverständlich für die erwähnten Oxydationen nicht zu.

Da wir aus früheren Untersuchungen schon darüber unterrichtet sind, dass ausschliesslich die Gewebszellen die oxydative Leistung der Gewebe bedingen und es andererseits kein zellenhaltiges Gewebe des thierischen Organismus giebt, das nicht Oxydationskraft besässe, sei es auch nur, dass diese sich in der Zerlegung von H_2O_2 documentirt, so musste natürlich an Substanzen gedacht werden, die allen Zellen des Thierkörpers gemeinsam sind. Da ferner alle sonst näher bekannten Eiweisskörper, die in Frage hätten kommen können, sich selbst schon für die Zerlegung von H_2O_2 als unwirksam erwiesen und die Annahme, dass gerade allen Zellen des thierischen und pflanzlichen Organismus ein so mächtig wirkendes „Ferment“ als unwesentlicher und nicht zu ihnen direct gehöriger Bestandtheil gewissermaassen nur anhaften sollte, nicht gerade sehr wahrscheinlich erschien, so lag in der That nichts näher als an Verbindungen zu denken, die durch ihre Betheiligung an dem Aufbau des für das Leben der Zelle so wichtigen Zellkerns auch für eine wesentliche chemische Leistung der Zelle als ganz besonders geeignet in Betracht kommen konnten. Wir meinen hiermit Verbindungen aus der Gruppe der Nucleoproteide. Die nähere Veranlassung, dieselben zu prüfen, lag für uns darin, dass von dem

Nucleoproteid der Thymus, mit dem sich Lilienfeld beschäftigt hatte, dessen Einwirkung auf H_2O_2 bereits bekannt war.

IV. Nucleoproteide als Sauerstoffüberträger.

1. Ein Nucleoproteid (Nucleohiston) der Leber.

Als maximal wirksames Organ wurde zunächst die Leber in Angriff genommen. Die dem eben getödteten Thiere (Hund) entnommene Leber wurde von der Pfortader aus durch die Wasserleitung so lange durchgespült, bis die abfließende Flüssigkeit sich fast frei von Blutfarbstoff erwies, gründlich in der Fleischmühle zerquetscht und durch ein mehrfaches Gazefilter gepresst. Der durchtretende Zellbrei wurde mit dem 5 fachen Volumen destillirten Wasser versetzt, des öfteren gut umgerührt und 24 Stunden hindurch bei niedriger Temperatur stehen gelassen. Der opalescente Wasserextract wurde hierauf vorsichtig von dem Zellbrei abgehoben und durch Leinwand filtrirt. Die von Leberzellen, wie die mikroskopische Untersuchung lehrte, freie Flüssigkeit wurde nunmehr tropfenweise mit einer sehr verdünnten ($\frac{1}{10}$ Normal-) Salzsäure oder Essigsäure versetzt, bis keine Ausfällung mehr erfolgte und die vorher opalescente Flüssigkeit ganz klar wurde. Die vollständige Ausfällung zu erzielen erschien insofern nicht ganz leicht, als die Fällung schon bei geringem Ueberschuss der zugesetzten Säure sich wieder zu lösen begann. Ausserordentlich erleichtert wurde die Procedur jedoch durch die Benutzung des Lacmoids als Indicator; hatte ich soviel Säure zugesetzt, dass blaues Lacmoid gerade eine Spur Ueberschuss an Säure anzeigte, so konnte die Fällung als vollständig angesehen werden. Das Filtrat ergab dann weder auf Säure- noch auf Alcalizusatz eine Trübung.

Das gut ausgefällte Präcipitat setzte sich relativ rasch ab, wurde durch Decantiren und Filtriren auf dem Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen, zur Reinigung nochmals in einer entsprechenden Menge $\frac{1}{10}$ Normalsodalösung gelöst, wiederum gefällt, auf einem Filter gesammelt und frisch untersucht.

Die graubraune Substanz zeigte, feucht untersucht, folgende Eigenschaften:

Sie zerlegte in ausgefälltem Zustande sowohl wie in sehr verdünnter Sodalösung gelöst schon in geringster Menge die *Superoxylösung* und bläute dadurch die *Guajactinctur*.

Die Zerlegung des H_2O_2 erfolgte annähernd mit derselben Intensität, wie von Seiten der ursprünglichen Leber selbst.

X Versuch.

0,2 gr der frischen Substanz werden in 50 ccm Wasser unter Zusatz von 4 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsodalösung gelöst und mit 10 ccm H_2O_2 -Lösung (3,4 %) vermischt.

Nach Minuten	1	2	3	5	6	13	17	25
ccm O_2 entwickelt	40	55	65	70	73	75	82	90

Versuch beendet nach 24 Stunden 90.

0,2 gr der frischen Substanz in 50 ccm Wasser suspendirt mit 10 ccm H_2O_2 vermischt.

Nach Minuten	1	2	3	4	5	8	9	16
ccm O_2 entwickelt	19	28	41	55	69	85	87	95

Säuren, Alkalien, höhere Temperaturen und Protoplasmagifte wirkten auf unsere Substanz genau in demselben Umfange schädigend beziehentlich vernichtend ein, wie auf die Leber überhaupt.

Versuch.

0,2 gr frischer Substanz, gelöst in 50 ccm Wasser und 5 ccm $\frac{1}{10}$ Normal KOH zerlegen H_2O_2 innerhalb 24 Stunden überhaupt nicht nachweisbar. Bei erfolgter Neutralisation mit 5 ccm $\frac{1}{10}$ Normal H_2SO_4 erfolgte die Zerlegung ebenfalls nicht mehr. In gleicher Weise vernichtete ein Gehalt von 5 ccm $\frac{1}{10}$ H_2SO_4 in 50 ccm Wasser die katalytische Kraft unseres Substrates bei dem gleichen Mengenverhältniss derselben. Wurden 0,2 gr der frisch gefällten Verbindung in Sodalösung im Ueberschuss gelöst, so erwies sich bei einem Gehalt von 12 ccm $\frac{1}{10}$ Normalsoda in 50 ccm Wasser die Katalyse des Superoxyds bereits erheblich geschwächt.

Nach Minuten	1	2	4	8	14	24
ccm O_2 entwickelt	8	19	24	43	60	80 u. s. w.

Wurde unsere Substanz, deren Gerinnung bei 65° C. erfolgte, auf 90–100° C erhitzt, so verlor sie bei nachheriger Lösung in Soda oder Aufschwemmung in Wasser die Fähigkeit, irgendwie nachweisbare Mengen O_2 aus dem Superoxyd zu entbinden. Es wurden innerhalb 24 Stunden etwa nur 1 ccm O_2 gemessen. Doch vermochte die Substanz auch in coagulirtem Zustande eine qualitativ nachweisbare Spur H_2O_2 zu katalysiren, wie die Guajacbläue bei Anwesenheit von H_2Q_2 erwies. In gleicher Weise vermochten CNH und Hydroxylamin wohl der gelösten Substanz jede katalysirende Fähigkeit zu rauben, nicht aber diese „Contactwirkung“ zu vernichten.

Die mit Alkohol aus neutraler Lösung gefällte Substanz hatte ihre katalytische Kraft behalten, wenn sie allerdings auch schwächer

war, wie vorher. Nach mehr als 2—3 tägiger Behandlung mit Alkohol verschwand sie allerdings fast völlig. Der frischen Alkoholfällung liess sie sich durch Behandlung mit Wasser entziehen; der wässrige Auszug wirkte wiederum katalytisch.

Bei der Prüfung der Einwirkung unserer Substanz auf die erwähnten Farbstoffsynthesen wurde in der bereits früher erwähnten Weise verfahren.

Die frisch ausgefällte Substanz wurde in dünner Schicht in Form von Buchstaben auf Filtrirpapier ausgestrichen und mit den bezüglichen Farbstoffvorstufen übergossen. Es zeigte sich, dass in aller kürzester Zeit auf der Substanz Farbstoffbildung eintrat, während die übrigen Partien des Filtrirpapiers erst wesentlich später Färbung zeigten. Es wurde innerhalb kurzer Zeit erzielt:

- a) Bildung von Indophenol aus α -Naphtol, Soda und Paraphenylendiamin.
- β) von Toluylenblau aus Paraphenylendiamin und Methatoluylendiamin.
- γ) von Bindschedler's Grün aus Dimethylanilin und Dimethylparaphenylendiamin.
- δ) Oxydation des Dimethylparaphenylendiamins (Reaction von Wurster).

Die synthetische Farbstoffbildung blieb aus bei Anwesenheit von Blausäure, Hydroxylamin, sie fehlte auch dem coagulirten und auf 70—80° erhitzten Präparate. Bei Behandlung der frischen Fällung mit Mineralsäuren und starken Alkalien in einer Concentration, die bereits ausgiebige H_2O_2 -Zerlegung verhinderte, wurde die Beschleunigung der Farbstoffbildung ebenfalls vermisst. Dass es sich hierbei nicht um eine Behinderung der Farbstoffbildung als solcher, sondern in der That um eine direkte schädigende Einwirkung auf die O-übertragende Kraft unserer Substanz handelte, ging zunächst daraus hervor, dass die Farbstoffbildung, soweit sie eben spontan erfolgte, nicht ausblieb; die mit unserer Substanz beladenen Theile des Filtrirpapiers wurden nur nicht früher gefärbt als die übrigen. Das Gleiche bewies auch die Thatsache, dass der Zusatz von wenigen Tropfen concentrirter KOH zu einer verdünnten Lösung der Vorstufe des Toluylenblaus die spontan erfolgende Synthese derselben erheblich beschleunigte, jedoch die Beschleunigung durch unsere Substanz völlig verhinderte.

Sehr geringe Mengen von kaustischen Alkalien und Ammoniak verhinderten die Beschleunigung der Farbstoffbildung schon in einer Concentration, die selbst noch H_2O_2 -Zerlegung gestattete. Die erstere erfolgte dann rasch nach nachträglicher Zufügung von H_2O_2 . — Daraus ging hervor, dass die Fähigkeit, aus dem O-Molecul O zu activiren, leichter geschädigt wird, als die, es dem H_2O_2 zu entziehen.

Aus dieser ausserordentlichen Empfindlichkeit unserer Verbindung lässt sich erschliessen, wie von der sorgfältigen Herstellung derselben, bezw. dem Vermeiden eines jeden Säureüberschusses bei der Ausfällung das Gelingen der erwähnten Versuche abhängig ist.

Schliesslich wurde noch geprüft, ob auch die Fähigkeit Aldehyde zu oxydiren, aus dem Salicylaldehyd die Salicylsäure zu bilden, unserem Präparate zu eigen war. Hierbei verfuhr ich in folgender Weise: Der Wasserauszug von etwa 500 gr Leber wurde mit Säure gefällt; die frische Fällung, wurde vorsichtig unter Zusatz von $\frac{1}{10}$ Normalsodalösung in Wasser gelöst, auf 1 Liter aufgefüllt, nach Zusatz von 2 cem Salicylaldehyd auf dem Wasserbade bei $45-50^\circ \text{C}$. durch 24 Stunden belassen, während welcher Zeit ein continuirlicher Luftstrom mit der Wasserstrahlpumpe durchgeleitet wurde. Nach Ausfällung mit $\frac{1}{10}$ norm. H_2SO_4 wurde filtrirt, bei stark alkal. Reaction eingedampft, mit Alkohol mehrfach extrahirt, der nach Verdunsten desselben restirende Rückstand mit HCl stark angesäuert und mit Aether mehrfach extrahirt. Zur Entfernung etwa noch vorhandenen Salicylaldehyds wurden die vereinigten ätherischen Auszüge mit Natriumbisulfitlösung, dann mit destillirtem Wasser gewaschen und schliesslich der Aether verdunstet. Die beim Erkalten desselben zurückbleibenden weissen langen Nadeln wurden in etwas Alkohol gelöst, mit Wasser zu 50 cem aufgefüllt und unter Verwendung von Phenolphthalein mit $\frac{1}{20}$ normal. NaOH titirt. Controlversuche hatten gezeigt, dass bei diesem Verfahren jede Spur nicht oxydirten Aldehyds entfernt wurde. Es konnte somit auch der positive Ausfall der Eisenchloridreaction auf gebildete Salicylsäure bezogen werden.

I. Versuch. In 24 Stunden lieferte Rindsleber 41,4 mgr Salicylsäure.

II. " " " Hundeleber 13,8 mgr "

III. " " " Kalbsleber 53,8 mgr "

IV. Das letztere Präparat, wurde nach seiner Verwendung im obigen Versuche gefällt und 14 Tage hindurch in einem Eisblock gefroren vor dem

Fenster gehalten; nach dem Aufthauen zu einem Versuche von 24 stündiger Dauer verwendet, ergab dasselbe noch 18 mgr Salicylsäure.

Die gewonnenen Salicylsäuremengen sind nicht viel geringer als die mit den Gesamtwasserauszügen der Leber resp. dem suspendirten Leberbrei von anderen Autoren erhaltenen.

In Bezug auf Temperatur und das Verhalten zu Säuren und Alkalien lagen hier ungefähr die gleichen Verhältnisse vor, wie sie bereits bei der Einwirkung auf H_2O_2 und die besprochenen Farbstoffbildungen berichtet wurden.

So zeigte ein Versuch, in welchem unser Präparat durch 20 Minuten bis zur Gerinnung erhitzt worden war, keine Salicylsäure-Krystalle und eine Acidität von $0,5 \frac{1}{10}$ normal Alkali, während die Eisenchloridreaction positiv ausfiel. Würde selbst die ganze Acidität auf Salicylsäure bezogen, so hätte dieselbe auch nur 6,9 mg derselben entsprochen. In einem anderen Versuche, in welchem unser Präparat durch Ausfällung mit zu starker Säure gewonnen worden war — es war das zweifache der nothwendigen Menge zugesetzt worden —, ergab in gleicher Weise mit Salicylaldehyd verarbeitet eine Acidität von $0,1 \text{ ccm } \frac{1}{10}$ normal Alkali und keine Spur Eisenchloridreaction.

Nachdem aus den angeführten Versuchen sich mit der allergrössten Deutlichkeit gezeigt hatte, dass das durch Säure gefällte Präparat dieselben Oxydationen auszuführen vermochte, wie das ursprüngliche Gewebe selbst und sein wässriger Auszug und dass dasselbe auch denselben Bedingungen in seiner Leistungsfähigkeit unterworfen war, wie jene, so konnte es natürlich keinem Zweifel unterliegen, dass unsere Substanz das oxydationserregende Princip der Leberzelle (oder mindestens eines derselben) repräsentiren musste.

Da die wässrigen Gewebsauszüge nach vollständiger Ausfällung unseres Präparates in ihrem Filtrat wesentliche oxydative Wirkungen vermissen liessen (selbst die Katalyse von H_2O_2 blieb aus), so muss angenommen werden, dass die Substanz, mit der wir uns eben beschäftigt haben, das einzige wasserlösliche oxydirende Agens der Leberzelle, den wirksamen Bestandtheil ihres wässrigen Auszuges, darstellt.

Nach der Art der Herstellung desselben war die Annahme naheliegend, dass es mit dem von Lilienfeld¹⁾ aus der Thymus-

1 Zeitschrift zur physiol. Chemie Bd. 17 u. 18.

drüse, von Hammarsten¹⁾ aus dem Pankreas; von Halliburton²⁾ aus Leber, Niere, Knochenmark und dem Stroma der rothen Blutkörperchen, von Lönnberg³⁾ aus den Nieren hergestellten Nucleoproteiden, dem Cytoglobin von Alex. Schmidt⁴⁾, dem Gewebefibrinogen von Wooldridge verwandt beziehentlich identisch sein könnte. Allen diesen Präparaten war dies eine eigen, dass sie aus wässrigen Auszügen der betreffenden Organe resp. deren Alkoholfällung (Cytoglobin) durch Zusatz sehr verdünnter Säuren als Fällungen hergestellt waren. Wir untersuchten deshalb unser Präparat genauer. Es zeigte folgende Eigenschaften:

Frisch ausgefällt und auf dem Filter gesammelt, bildete es eine graue klebrige Masse, die sich selbst überlassen eine hornartige Consistenz beim Eintrocknen annahm, nach Behandlung mit Alkohol und Aether jedoch in Form eines sehr feinen gelbbraunen Pulvers erhalten wurde. In frischem Zustande erwies sich unser Präparat in kaltem wie in heissem Wasser schwer löslich, doch quoll es in letzterem etwas auf; es war leicht löslich in verdünnten Alkalien; die Lösungen hatten in stärkerer Concentration eine hellgelbe Färbung. Aus alkalischer Lösung durch Zusatz von Säuren wieder ausgefällt, hatte die Fällung die gleichen Eigenschaften wie vorher in Bezug auf die Katalyse von H_2O_2 und die Bildung unserer synthetischen Farbstoffe. Sie war im Ueberschuss der Säure wieder löslich. Aus neutraler Lösung trat Fällung ein durch Silbernitrat, Quecksilberchlorid, Magnesiumsulfat in Krystallen. Auch diese Niederschläge wirkten stark auf H_2O_2 und bläuten — auch ohne dieses — direct die Guajactinctur. Frisch gefällt ist das Präparat löslich in sehr verdünnten $ClNa$ - und Magnesiumsulfatlösungen.

In schwacher Sodalösung gelöst und mit HCl bis zu 1 p. m. an Gehalt und dem gut verdauenden Glycerinauszuge der Schleimhaut eines Schweinemagens versetzt, ergab das Präparat nach 24 Stunden einen voluminösen Niederschlag, der im Laufe weiterer Beobachtung keine Abnahme mehr erfährt. Das Filtrat giebt intensive Biuretreaction, mit HCl und Phosphorwolframsäure Fäl-

1) Zeitschrift für physiolog. Chemie. Bd. 19.

2) The Journal of Anat. and Physiology. Vol. 13. 15. 16. 17. 18.

3) Skandinav. Archiv f. Phys. Bd. 3. 1892.

4) Zur Blutlehre.

lung, nicht mit Essigsäure und Ferrocyankalium. Der Niederschlag in verdünnten Alkalien löslich und durch verdünnte Säuren ausfällbar, zeigt ebenso wie das ursprüngliche Präparat reichen Gehalt an Phosphor.

Diese Kriterien, der Gehalt an P, das Verhalten zur verdauenden Kraft des Pepsins, zu Säuren und Alkalien erscheinen völlig ausreichend, um unser Präparat als ein Nucleoproteid — so wollen wir nach Hammarsten's Vorgange derartige Verbindungen von Nuclein und Eiweisskörpern nennen — zu bezeichnen.

Zum Zwecke der Elementaranalyse wurde ein Präparat aus der Leber des Pferdes benutzt, das nach 3 maliger Lösung und Wiederausfällung mit absolutem Alkohol am Rückflusskühler (zur Entfernung des Fettes etc.) gekocht, nachher mit Alkohol und Aether behandelt und schliesslich bei 110° C. zur Gewichtskonstanz gebracht worden war.

Dasselbe ergab: C = 49,12 %

H = 7,14 „

N = 15,55 „

P = 0,96 „

Es enthielt Blei schwärzenden Schwefel.

Die Asche enthielt Ca, Phosphorsäure und auffälligerweise auch Eisen. Bei näherer Prüfung zeigte es sich, dass letzteres nur nach Veraschung nachweisbar war, somit in sehr fester organischer Bindung enthalten sein musste.

Unser Nucleoproteid selbst gab in starker HCl gelöst weder mit Rhodankalium, noch mit Ferro- oder Ferridecyankalium irgendwelche Reaction, desgleichen nicht durch Kochen mit KOH aufgeschlossen. Selbst nach 24 stündigem Stehen in ammoniakalischer Lösung mit Schwefelammonium behandelt, erfolgte keine Schwarzfärbung. Auch an das Bunge'sche Reagens (10 Vol. HCl von 25%, 90 Vol. Alkohol von 90%) wurde Fe nicht abgegeben, selbst nach mehrstündiger Behandlung bei siedender Temperatur. Daraus geht hervor, dass das in unserm Nucleoproteid enthaltene Fe weder als anorganisches Salz noch als salzartige Verbindung mit Eiweiss oder organischen Säuren u. dgl. enthalten war. Diesen wird durch HCl-Alkohol unbedingt ihr Eisen entzogen. Es musste sich um eine sehr feste organische Bindung handeln, die der im Haematogen (Bunge) ¹⁾ entsprach.

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 9. 49. 1885.

Der Gehalt an Eisen betrug 0,233 % (auf die trockene Substanz bezogen).

Bestimmt wurde dasselbe in der Weise, dass die Asche zunächst mit concentrirter HCl extrahirt, die HCl unter Zusatz von H_2SO_4 verdunstet, der Rückstand in Schwefelsäure gelöst und das gebildete Fe-Oxyd reducirt wurde. Dies geschah entweder durch Zufügung einiger kleinen Stückchen amalgamirten eisenfreien Zinks in einer bedeckten Ptatinschale oder nach entsprechender Verdünnung in einem mit amalgamirten Zinkstücken und einem Platinblech beladenen Cylinder, wobei die verwendete Flüssigkeitsmenge die Zinkstücke nur eben überragte. Titirt wurde mit einer Permanganatlösung, deren Titre 1 ccm = 0,000903 gr Fe betrug und des öfteren controlirt wurde.

1,937 des trockenen Präparates verbrauchten 5 ccm der Permanganatlösung, somit 1,937 gr = 4,515 mgr Fe

$$1 \text{ gr} = 0,233 \%$$

Die sonst noch untersuchten Präparate aus der Leber des Kalbes, des Rinds, des Hundes gaben ebenfalls starke qualitative Fe-Reaction (HCl und Ferrocyankalium, Rhodankalium) in der Asche.

Durch die oben angegebenen Kriterien erschien es als ausreichend sicher bewiesen, dass an der oxydativen Function der Leberzelle eine dem Zellkern angehörige, Substanz betheiligt ist, die im übrigen im wässrigen Auszuge der Organe sogar das ausschliessliche O übertragende Princip darstellt. Es erscheint in folgedessen nicht mehr angebracht von einem unbekannten „Oxydationsferment“ in den Geweben zu sprechen. Unsere Versuche zeigen, dass die oxydirende Kraft des wässrigen Leberextractes einer bekannten und wohlcharakterisirten Verbindung, einem Nucleoproteid, zukommt.

Sollte die Thatsache, dass dem Zellkern angehörige Substanzen eine so eigenartige Leistung entwickeln, durch weitere Beweise gestützt werden und der Nachweis O-übertragender Kraft in unserer Verbindung nicht ein Unicum bleiben, dann müsste zunächst (für die Leberzelle) noch in erster Reihe der Nachweis geführt werden, dass auch in dem durch Wasserextraction erschöpften Zellreste die oxydative Leistung an dem Zellkern zugehörige — etwa der unserigen ähnliche Substanzen — geknüpft war.

Obgleich mit Rücksicht auf die Ausdehnung der uns gestellten Aufgabe ein eingehenderes Studium des wasserunlöslichen oxy-

direnden Principis im Leberzellenreste nicht gut angängig war, so konnten wir zunächst feststellen, dass durch wiederholte Extraction mit sehr verdünnten Soda- oder Ammoniaklösungen sich aus dem mit Wasser erschöpften Zellreste eine stark H_2O_2 zerlegende Flüssigkeit gewinnen liess.

Die aus den alkalischen Extracten durch Zusatz verdünnter Mineralsäuren eintretende Fällung zeigte starke Katalyse des H_2O_2 , in ausgefälltem Zustande sowohl wie in schwachem Alkali gelöst, ferner Indophenol und Toluylenblausynthese, beziehentlich Beschleunigung derselben. Sie ergab bei der Verdauung mit HCl -Pepsin einen unlöslichen Rückstand, dessen Gehalt an Phosphor 0,66 % betrug. Auch diese — in ihren sonstigen Eigenschaften — Verhalten zu Säuren und Alkalien, Fällung durch Alkohol, Eiweissreactionen etc. — der beschriebenen analoge Verbindung enthielt Eisen in organischer Bindung, nur in der Asche nachweisbar.

Eine Bestätigung geben unsere Beobachtungen ab für die Untersuchungen von Alexander Schmidt¹⁾, der nach vollständiger Entfernung der in Wasser und Alkohol löslichen Bestandtheile der Leberzelle durch Behandlung der letzteren mit Alkohol eine von ihm Cytin genannte Verbindung isolirte, die der Beschreibung nach ebenfalls als Nucleoproteid aufzufassen ist. Sie giebt einen Gehalt an P von 0,75 % und Fe 0,19 %. Aus diesem H_2O_2 stark katalysirenden, in Wasser unlöslichen Nucleoproteid spaltete A. Schmidt durch Behandlung mit Sodalösung eine Verbindung ab, die mit seinem aus dem Wasserextract der Leberzelle gewonnenen Cytoglobin identisch ist. Dem letzteren gleich gab auch das aus dem Cytin gewonnene Präparat nach Säurezusatz eine H_2O_2 katalysirende Fällung (Präglobulin von Schmidt), die wohl mit unserem Nucleoproteid verwandt ist.

Ein weiteres genaueres Studium dieser Verbindungen, die dem in Wasser unlöslichen Antheil der Zelle angehören, soll uns demnächst ausführlich beschäftigen.

Vor der Hand hielten wir es für wesentlicher, unsere Beobachtungen über den O erregenden Bestandtheil des Wasserextractes der Zelle durch Untersuchung weiterer Organe zu vervollständigen, um unseren Anschauungen eine breitere Basis geben zu können.

1) a. a. O.

2. Das Nucleoproteid des Pancreas.

In der bereits beschriebenen üblichen Weise wurde das zerkleinerte Organ des Rindes mit Wasser extrahiert und mit Säure gefällt. Durch wiederholte Lösung in verdünnter Sodalösung und nachherige Fällung gereinigt, ergab das erhaltene Präparat Zersetzung von H_2O_2 in einer Intensität, wie sie etwa dem ursprünglichen Gewebe zu eigen war; die Katalyse war wesentlich weniger intensiv, wie wir es an der Leber bezw. deren Nucleoproteid gesehen hatten.

Versuch.

0,2 gr der frischen Substanz in 50 Wasser und 3 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Sodalösung gelöst mit 10 ccm H_2O_2 vermischt.

Nach Minuten	1	2	3	4	6	7	10	18	25
ccm O_2 entwickelt	2	3,5	5	6,5	10	13	14	18	22

In gleicher Weise bildete das frisch bereitete, auf Filtrirpapier ausgestrichene Präparat Toluylenblau aus seiner Vorstufe.

Dagegen gelang es mir nicht, erhebliche Bildung der Salicylsäure aus dem Aldehyd bei der üblichen Versuchsanordnung nachzuweisen. Wir erhielten in zwei Versuchen mit dem in Alkali gelösten Nucleoproteid, das aus dem 1 Liter betragenden Wasserextracte von 200 gr des Organs vom Rinde hergestellt war, nur Spuren von Salicylsäure (2—3 mgr). Dies erscheint uns nicht wunderbar, wenn wir bedenken, dass auch das Pancreas selbst in toto, wie aus den Versuchen von *Abelous* und *Biarnès*¹⁾, sowie von *Salkowski*²⁾ zu ersehen, diese Oxydation nur in sehr geringem Umfange zu leisten vermag. Die ersteren finden gar keine, *Salkowski* in 2 Versuchen, in denen das Gesamtorgan verwendet worden war, je 5 mgr Salicylsäure, während bei Verwendung des filtrirten Kochsalzauszuges nur Spuren (1 mgr) gefunden wurden.

Aus diesen Thatsachen ist zu erschliessen, dass die oxydative Kraft des Pancreas, wenigstens soweit sein Wasserauszug in Frage kam, viel geringer ist als die bis jetzt von uns an der Leber studirte, was im Uebrigen ja auch aus der schwächeren Einwirkung

1) Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1895.

2) a. a. O.

auf H_2O_2 (vgl. obigen Versuch) und dem langsameren Eintritt der Toluylenblau- oder Indophenolbildung — wie wir beobachteten und Abérous und Biarnès ebenfalls fanden — hervorgeht. Nach den Versuchen Salkowski's musste man annehmen, dass das in Wasser unlösliche oxydirende Agens im Pancreas auch das relativ am stärksten wirksame Princip in diesem Organ repräsentire. Da es sich jedoch auch hierbei nur um Verbindungen von geringer oxydativer Energie handeln konnte, haben wir auf ein näheres Studium derselben verzichtet. Dass es sich ebenfalls um Nucleoproteide handelte, zeigten uns analoge Versuche mit Extraction vermittels schwacher Sodalösungen, wie sie von der Leber mitgetheilt wurden.

Das aus dem Wasserextract des Pancreas gewonnene Präparat glich in seinem Verhalten dem aus der Leber hergestellten, nur war es im Ueberschuss der Säure unlöslich. Es entsprach dem von Hammarsten¹⁾ beschriebenen. Es hatte einen N-Gehalt von 17,1 %, einen P-Gehalt von 3,9 % (Hammarsten findet 17,39 N, 4,48 P). An organisch gebundenem Eisen fanden sich 0,23 %, also zufällig genau so viel wie im Lebernucleoproteid. Auch Hammarsten findet seine Verbindung relativ reich an Eisen, ohne jedoch quantitative Angaben zu machen.

8. Das Nucleoproteid der Nieren.

Aus den Nieren des Schweines wurde nach gründlicher Zerkleinerung ein Wasserextract gewonnen, der mit HCl bzw. H_2SO_4 in $\frac{1}{10}$ normaler Lösung versetzt, eine feinflockige Fällung ergab, welche nach wiederholter Reinigung H_2O_2 gut zerlegte und in der üblichen Weise geprüft, die Bildung des Toluylenblaus aus seiner Vorstufe erheblich beschleunigte. Das Präparat, das in seinem Verhalten, zu Säuren und Alkalien, zur verdauenden Kraft des Magensaftes, Eiweissreactionen den vorher aus Pancreas und Leber beschriebenen glich — es war wie ersteres auch im Säureüberschuss unlöslich — enthielt 15,5 % N und 0,3 % P.

Sein Gehalt an organisch gebundenem Eisen — und nur solches enthielt es — betrug 0,19 %.

Auch bei ihm war die Einwirkung auf Salicylaldehyd nicht sehr ausgesprochen, doch deutlich nachweisbar, besser als beim

1) Zeitschrift f. phys. Chemie Bd. 19. 1884.

Pancreas. Ein Versuch, in welchem der 1 Liter betragende wässrige Auszug aus 300 gr Schweinsnieren das Nucleoproteid geliefert hatte, ergab bei 24stündiger Dauer aus 2 ccm Salicylaldehyd allerdings nur 4, nach 78 Stunden jedoch 9 mgr Salicylsäure.

Diese niedrigen Werthe stimmen ungefähr mit den Angaben Salkowski's, der Kalbsnieren verwendete, überein. Der nach Wasserextraction an dieses Lösungsmittel nur Spuren eines durch Säure fällbaren Körpers abgebende Zellrest zeigte noch gute Einwirkung auf H_2O_2 und deutliche Beschleunigung der Toluylenblausynthese. Ihm liess sich durch Behandlung mit verdünnter Soda-lösung eine Substanz entziehen, die weiter nicht eingehender untersucht wurde, jedoch in Lösung sowohl wie mit Säuren gefällt dieselben Reactionen lieferte. Auch sie wies einen Gehalt an organisch gebundenem Eisen auf.

Wenn wir aus den Versuchen Salkowski's mit Kalbsnieren, welche erweisen, dass der filtrirte ClNa-Auszug lange nicht so stark oxydirend wirkt, wie das ursprüngliche Organ selbst, einen Schluss ziehen wollen, so müssten wir annehmen, dass das im Zellreste verbleibende, in Wasser unlösliche Nucleoproteid der Niere stärker wirksam sei als das in Wasser lösliche. Angaben über einen dem unseren analogen bzw. gleichen Körper liegen von Halliburton¹⁾ und Lönnberg²⁾ vor. Der erstere fällte mit Essigsäure aus wässriger, letztere beiden aus ammoniak- resp. sodahaltiger Lösung. Mit dem Halliburton's stimmt auch unser aus wässrigem Auszuge erhaltenes Präparat im P-Gehalte überein (Hallib. 0,36—0,38 %), während das von Lönnberg hergestellte Präparat, anscheinend ein Gemenge eines in Wasser und eines in Ammoniak löslichen (in ersterem unlöslichen) Körpers einen höheren P-Gehalt (0,7 %) aufwies. Eisen enthielten die Präparate beider. Quantitative Angaben wurden nicht gemacht.

4. Das Nucleoproteid des Hodens.

Das aus den Hoden des Stieres hergestellte Präparat ergab, wenn auch in geringerem Grade als das der Nieren, deutliche Zerlegung von H_2O_2 in ausgefälltem Zustande sowohl wie nach

1) a. a. O.

2) a. a. O.

der Lösung in Soda und deutliche Beschleunigung der Farbstoffbildung aus der Vorstufe des Toluylenblau. Ein (allerdings einziger) Versuch über die Einwirkung auf Salicylaldehyd ergab ein negatives Resultat.

Auch dieses Präparat enthielt in organisch gebundener Form 0,215 % Eisen.

In Bezug auf sein Verhalten zu Säuren und Alkalien, zu Eiweissreactionen, Fällungsmitteln etc. ist Besonderes von ihm nicht mitzutheilen.

5. Das Nucleoproteid (Nucleohiston) der Thymus

ist von Lilienfeld zuerst des Ausführlichen beschrieben worden, so dass eine nähere Schilderung der Eigenschaften des von uns hergestellten Präparates unterbleiben kann. Seine oxydative Leistung erwies sich deutlich an der gut messbaren Zerlegung von H_2O_2 und in der üblichen Weise geprüft, an der Beschleunigung der Bildung des Toluylenblau. Von ihm gilt, wie für die Nucleoproteide aller übrigen von uns bis jetzt erwähnten Organe, dass es im wässrigen Organauszuge das einzige O-übertragende Agens darstellte. Das Filtrat, das nach erfolgter Ausfällung des Wasseraus-zuges erhalten wurde, war absolut nicht im Stande, H_2O_2 zu katalysiren; höchstens entwickelten sich ein paar minimale Bläschen; die Intensität des Vorgangs war ausserordentlich geringfügig gegenüber der Zerlegung durch den ursprünglichen Wassereextract bezw. die Nucleoproteidfällung. Auch dieses Präparat enthielt, eine Angabe, die ich bei Lilienfeld vermisste, Eisen in organisch gebundener Form. Der Gehalt betrug 0,22 % Fe.

6. Ein Nucleoproteid aus den Zellen des Blutes.

Nachdem für eine Reihe von Geweben nachgewiesen worden, dass die von ihnen ausgelösten oxydativen Leistungen von Verbindungen, welche dem Zellkern zugehören, bedingt wurden, erschien es wünschenswerth nachzusehen, ob sich die ja bereits durch Salkowski, Abelous und Biarnès; Lépine etc. festgestellte gleiche Kraft des Blutes auch auf ähnliche Verbindungen zurückführen lasse. Da es anzunehmen war, dass für die Leucocyten des Blutes das gleiche gelten konnte wie für die der Thymus und A. Schmidt schon aus den isolirten farblosen Blutkörperchen des Pferdeblutplasmas ein H_2O_2 zerlegendes Cytoglobin isolirt hatte,

und um bei einer Bearbeitung des Gesamtblutes nicht Producte zu bekommen, deren Provenienz dann nicht mehr zu entscheiden war, hielt ich mich allerdings zunächst an die leichter zu isoliren den rothen Blutkörperchen, konnte jedoch nicht verhüten, dass noch Reste der Leucocyten, Blutplättchen etc. denselben mit anhafteten. Es wurde etwa 1 Liter defibrinirtes Blut mit dem zehnfachen Volumen einer ClNa -Lösung versetzt, die auf 1 Volumen gesättigter (36 % ClNa -Lösung) 9 Vol. Wasser enthielt. Die Mischung liess ich in Glasschalen absetzen; nach 24 Stunden hatten sich die rothen Blutkörperchen gut abgesetzt. Dieselben wurden in derselben Weise mit der gleichen ClNa -Lösung wiederum vermischt, nach 1—2 Tagen nach Entfernung der überstehenden Flüssigkeit mit wenig Wasser in ein Becherglas gebracht; hierauf wurde die Flüssigkeit bei 35°C . im Wasserbade unter Zusatz von etwas Aether lackfarben gemacht. Nach Zusatz von wenigen Cubikcentimetern einer $\frac{1}{10}$ Normalsodalösung wurde die Blutflüssigkeit durch 24 Stunden sich selbst überlassen. Es trat nunmehr bei Zusatz einer $\frac{1}{10}$ Normalsäure eine Fällung ein, die im Ueberschuss der Säure unlöslich war.

Dieselbe wurde durch Decantiren und Filtriren auf dem Filter gesammelt, mehrfach vom Filter genommen, mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser keine Oxyhämoglobinstreifen mehr zeigte.

Eine Spur der frischen Substanz in verdünnter Sodalösung gelöst, erwies sich dann ebenfalls frei von Blutfarbstoff. Die nach weiterem Auflösen in Soda und wiederholter Fällung gereinigte Substanz ergab, mit heissem Alcohol im Rückflusskühler gekocht, dann mit Alcohol und Aether behandelt, ein gelbbraunes feines Pulver. In frischem Zustande geprüft, zerlegte es H_2O_2 gut und ergab messbare Mengen Sauerstoffs und beschleunigte, auf Filterpapier ausgestrichen, deutlich die Synthese des Toluylenblaus.

In verdünnter Sodalösung gelöst, auf $\frac{1}{2}$ Liter aufgefüllt und mit 1 ccm Salicylaldehyd versetzt, ergab sich nach 48 Stunden eine Ausbeute von 9 mgr Salicylsäure. Es enthielt organisch gebunden 0,3% Fe.

Nach den Bedingungen der Herstellung des Präparates halte ich dafür, dass dieses Eisen ausschliesslich aus dem Präparate stammte und nicht aus etwaigen Verunreinigungen mit Hämoglobin oder dessen Derivaten herrührte. Die Säuremengen, die zur Ausfällung verwendet worden waren, waren so gering, dass

irgendwelche Hämatinbildung nicht hatte eintreten können. Das Filtrat ergab nur die Streifen des Oxyhämoglobins. Auch konnte ich weder aus der frisch gefällten noch mit Alcohol behandelten Substanz Häminkristalle herstellen.

Wenn ich auch allerdings die Blutkörperchen lange mit verdünnter ClNa gewaschen hatte, kann ich, wie bereits vorausgeschickt, den Einwand nicht zurückweisen, dass bei der Extraction mit schwachem Alkali vielleicht aus Resten weisser Blutkörperchen noch eine mit Säuren fällbare Substanz mit in Lösung gegangen und mein Präparat mit dieser verunreinigt war. Dieser Einwand kann für uns indifferent sein, da es für uns nur darauf ankam zu zeigen, dass aus dem mit Oxydationskraft begabten Blute beziehentlich den Zellen desselben, überhaupt ein O-übertragendes Nucleoproteid — als solches ist unsere Substanz anzusehen — hergestellt werden konnte, das in Bezug auf Eiweissreactionen, Verhalten zu Säuren und Alkalien etc. den an den Organen beschriebenen glich. Ob dieses Nucleoproteid ausschliesslich den rothen oder aber zum Theil auch den weissen Blutzellen entstammte, konnte für unsern vorliegenden Zweck gleichgültig sein.

Dass die nach anderen Methoden gut isolirten rothen Blutkörperchen ein solches enthalten, geht aus den Mittheilungen von Halliburten¹⁾ und Alex Schmidt²⁾ hervor. Ersterer stellte eine 0,8% P-haltende Verbindung, die in ihrem Verhalten sonst der unsrigen glich, aus rothen Blutkörperchen von Pepton Blut her, letzterer sein Cytin, das dem aus Organen hergestellten analog war. Leider konnten aus äusseren Gründen zur Zeit meine Versuche in dieser Richtung nicht fortgesetzt werden. Es dürfte ein Leichtes sein, sie am isolirten und gereinigten Stroma zu wiederholen. Die Ausbeute aus dem Blute des Hundes war übrigens gering. Sicherlich war unser Präparat jedoch nicht das einzige oxydirende Agens im Blute; denn das Filtrat nach erfolgter Säurefällung der aus den Blutkörperchen erhaltenen Flüssigkeit zerlegte im Gegensatz zu den wässrigen Extracten z. B. der Leber H_2O_2 noch stürmisch und wirkte gut glycolytisch.

Es könnte die Vermuthung nahe liegen, dass vielleicht doch das Hämoglobin an der O-Uebertragung im Blute eine wesentliche Rolle spielt. Diese Frage ist zur Zeit noch offen und noch nicht völlig geklärt. A. Schmidt, der dieselbe in Bezug auf die Katalyse des Superoxyds wenigstens studirt hat, findet trotz 4maliger Reini-

gung durch Umkrystallisiren die Oxyhämoglobinkrystalle noch gut wirksam, meint aber, dass diese Wirkung von schwer entfernbaren Stromabestandtheilen ausgehe. Ich selbst halte dies auch nach einer gelegentlichen Beobachtung nicht für unwahrscheinlich. Während es sonst nämlich sehr schwer gelingt, durch Zusatz selbst grosser Mengen von H_2O_2 das Blut zu entfärben — den Blutfarbstoff zu oxydiren — gelingt dies sehr leicht an dem Filtrat, das ich nach Säurefällung bei den obigen Blutversuchen erhielt. Dies beweist, dass Verbindungen, die H_2O_2 katalysiren und somit das Hämoglobin vor Oxydation schützen, im Filtrat resp. im Hämoglobin in viel geringerem Grade anwesend sind wie vor Ausfällung des (Stroma)-Nucleoproteids. Eine Erklärung dieser Verhältnisse dürfte mit Rücksicht auf die Glycolyse und die jüngst von Cohnstein beschriebene Ueberführung von Chylusfett durch Blut in durch Aether nicht mehr nachweisbare Verbindungen (bei starker O-Zufuhr) nicht ohne Interesse sein.

8. Ueber das oxydirende Agens der Muskeln

besitze ich nur insoweit Erfahrungen, als ich mich davon überzeugt hatte, dass der ausgepresste Saft entbluteter Froschmuskeln H_2O_2 gut katalysirte, sowie dass diese mit dem Querschnitt in eine Lösung der Vorstufe des Toluylenblaus getaucht, rasch deutliche Beschleunigung der Farbstoffbildung aufwiesen, ebenso wie sie die Oxydation des Dimethylparaphenylendiamins herbeiführten (Reaction v. Wurster). Dass die oxydative Einwirkung auf Salicylaldehyd minimal war, geht aus den Angaben von Abelous und Salkowski hervor. Alexander Schmidt berichtet, dass er eine sehr geringe Menge seines Cytoglobins aus Froschmuskeln hergestellt habe.

V. Ueber die Betheiligung der Spaltungsproducte des Nucleoproteids an der Sauerstoffübertragung.

Nachdem nunmehr für eine Reihe von Organen festgestellt war, dass deren oxydirende Kraft, zunächst, soweit es sich um ihren Wasserextract handelt, von einem Nucleoproteid bestimmter Zusammensetzung ausging, so lag die Frage nahe, ob denn derselbe allein und ausschliesslich O übertragend wirke, oder ob etwa

1) The Journal of Anat. and Physiology Vol. 18.

2) a. a. O.

diese Function an einzelne bestimmte Theile dieses complicirt gebauten Gebildes, dessen Constitution und Abbau wir nunmehr durch die Untersuchungen Kossel's kennen, gebunden sei.

Wie Lilienfeld an seinem Nucleoproteid der Thymus gezeigt hat, kann dasselbe — sein Nucleohiston — durch eine Reihe verschiedenartiger Eingriffe, wie Behandeln mit 0,8 % HCl, mit Barythydrat, durch Kochen mit heissem Wasser, schliesslich durch die Verdauung mit HCl-Pepsin in ein Nuclein und ein von ihm als Histon bezeichneten Eiweisskörper gespalten werden. Da alle diese Eingriffe bis auf den letzten wegen der grossen Empfindlichkeit der oxydativen Function der Nucleoproteide dieselbe vollständig vernichteten und somit ihren Nachweis illusorisch machten, so blieb als relativ harmloser Eingriff nur die Verdauungsmethode übrig.

Da sich aber selbst 1 % Lösungen des HCl nicht als gleichgültig erwiesen und die zulässige Grenze, bis zu der die Katalyse des H_2O_2 noch ungeschwächt erfolgte, etwa einem Gehalt von 3 ccm $\frac{1}{10}$ normal. HCl auf 50 ccm Wasser = 0,216 % entsprach (bei einem Gehalt von 0,2 Substanz), so mussten Lösungen dieser Concentration verwendet werden.

Zu diesen Versuchen wurden die Nucleoproteide der Leber, des Pancreas und der Thymus verwendet, die alle gleichmässig das gleiche Verhalten boten und infolgedessen eine zusammenhängende Darstellung erfahren können.

Eine geringe Menge des frischen Nucleoproteids wurde mit Hülfe von wenig Alkali in 50 ccm Wasser gelöst und HCl bis zu einem Gehalt von 0,2 % an freier Salzsäure und 1 ccm eines gut verdauenden Pepsinglycerinauszuges vom Schweinemagen sowie etwas Thymol zugefügt. Nach 24 Stunden hatte sich ein starker Niederschlag ausgeschieden, der nach 48 Stunden nur eine geringe Vermehrung erfahren hatte. Er hatte, in schwacher Soda-lösung gelöst, nicht mehr die Fähigkeit, aus einer H_2O_2 -Lösung irgendwie wesentliche Mengen O_2 zu entwickeln. Nach Verlauf von 24 Stunden waren im Eudiometerrohre nur 2 ccm O zu messen. Doch besass er noch insoweit einen Rest der früheren Kraft, dass er in Substanz — aus seiner Lösung mit Säure ausgefällt — das Superoxyd (qualitativ durch die Guajacreaction nachweisbar) zerlegte. Diese Reaction war in Lösung nicht zu erzielen. Er zeigte also noch die „Contactwirkung“.

Die Beschleunigung der synthetischen Bildung der Indophenole und des Toluylenblaus vermochte das den Verdauungsrückstand repräsentirende Nuclein nicht zu liefern. Seine Kraft reichte nicht mehr aus, ein O_2 -Molecül zu activiren; hingegen lieferte es die Farbstoffsynthesen vermittels H_2O_2 .

Unser Nuclein aus dem Leberprotein wies einen Gehalt von 1,2 % P auf und enthielt 0,12 % Fe.

Die bezüglichen gleichen Producte aus Pancreas und Thymus wurden nur qualitativ auf Fe geprüft mit starkem positiven Resultat.

Das Filtrat des Nucleinniederschlages enthielt das aus dem verdauten Eiweissbestandtheil des Nucleoproteids (Histon, Lili en f e l d) gebildete Pepton. Mit HCl und Phosphorwolframsäure oder Quecksilberchlorid ausgefällt, entbehrte dasselbe jeder Einwirkung auf die Farbstoffcomponenten und zeigte auch bei der Prüfung mit H_2O_2 keine „Contactwirkung“.

Da wir nun gesehen hatten, dass die maximale oxydative Leistung, wie sie von den Nucleoproteiden der einzelnen Organe geleistet wurde, ausschliesslich an ihre Integrität gebunden war, dass das durch die Verdauung abgespaltene Nuclein zunächst bis auf die erwähnte „Contactwirkung“ jeder weiteren oxydativen Kraft ermangelte, wurde von dieser Methode der Trennung nunmehr abgesehen und den Angaben Lilienfeld's entsprechend durch Behandlung mit HCl von 0,8 % resp. mit Barythydrat eine Spaltung des Nucleins vom Protein versucht; dies konnte um so eher geschehen, als Lilienfeld für sein Präparat wenigstens die Identität der auf diesen verschiedenen Wegen hergestellten Producte bewiesen hatte.

Die Behandlung mit Barythydrat lieferte ein stark P-haltiges Nuclein, das ebenfalls in ungelöstem Zustande H_2O_2 sehr schwach, doch deutlich katalysirte. Ebenso verhielt sich ein Präparat, das durch Behandlung mit 0,8 % HCl gewonnen worden war.

Beide Nucleine erweisen sich als stark eisenhaltig.

Zur Herstellung des neben dem Nuclein bei der Spaltung des Nucleoproteids entstehenden Eiweisskörpers bediente ich mich ebenfalls der Behandlung mit 0,8 % HCl. 36 gr des Nucleoproteids der Leber wurden zu diesem Versuche durch je 3 Stunden wiederholt auf dem Wasserbade bei 40 ° C. extrahirt. Der dritte Auszug ergab keine Ausbeute mehr. Die vereinigten Extracte wurden mit

sehr verdünntem Ammoniak gefällt, wobei sich die feinflockige weisse Fällung als im geringsten Ueberschusse desselben löslich erwies. Die gewonnene Verbindung ergab Rothfärbung mit Millon's Reagens in der Wärme, Biuretreaction schon in der Kälte, Fällung mit Ammoniumsulfat. Sie erwies sich frei von Phosphor und enthielt in der Asche noch deutlich nachweisbar Eisen. Diese Verbindung zerlegte H_2O_2 noch in ungelöstem Zustande deutlich, jedoch nur in diesem — selbst nach dem Erwärmen auf 80° —, sie bildete dagegen kein Toluylenblau mehr. Am besten katalysirte das H_2O_2 das Histon der Leber, dann das des Pancreas, am schwächsten war die Einwirkung des Präparates aus der Thymus.

Nachdem durch diese Versuche wiederholt erwiesen war, dass beide Spaltungsprodukte des ursprünglichen Nucleoproteïds noch jenen Rest oxydativer Kraft besaßen, der sich in der qualitativ noch nachweisbaren Katalyse des H_2O_2 durch die ungelöste Substanz äusserte, erschien es interessant, die weiteren Spaltungsprodukte unserer Verbindung in Bezug auf ihre katalytische Kraft zu prüfen. Nachdem das P-freie Histon sich als gleichfalls, wenn auch schwächer als das Nucleïn, wirksam erwiesen hatte, musste die Annahme von der Hand gewiesen werden, dass die oxydative Kraft etwa dem P-haltigen Bestandtheil unserer Verbindung immanent wäre und etwa auf eine eigenthümliche Bindung oder Lagerung des Phosphors bezogen werden könne. Vielmehr erschien der wiederholte constante, nunmehr auch im Histon erhobene Befund von organisch gebundenem Eisen interessant genug, um in Erinnerung an die O-übertragende Kraft gewisser anorganischer Eisensalze (Katalyse von H_2O_2 durch Eisensulfat etc.) weitere Spaltungsprodukte unserer Verbindung auf ihren Gehalt an Eisen sowohl, wie auf ihre katalytische Kraft zu untersuchen.

Ich betone an dieser Stelle wiederholt, dass wir den von uns der Einfachheit halber als Contactwirkung bezeichneten Rest oxydativer Kraft, der den Spaltungsprodukten verblieben war, selbstverständlich nicht bloss auf einen von der feinen Vertheilung abhängigen Contact zurückführen, sondern dass in erster Reihe eine spezifische, besondere Eigenschaft derselben angenommen werden muss, die allen anderen Eiweisskörpern etc. abgeht.

Um zunächst die Nucleïnsäure zu prüfen, ging ich vom Nucleïn der Pferdeleber aus, welches aus dem Nucleoproteïd durch Behandeln mit 0,8% HCl gewonnen worden war. Den Angaben

K o s s e l's bezüglich der Herstellung der Nucleinsäure aus Thymus entsprechend, behandelte ich 30 gr des Nucleins mit Barythydrat in dem von K o s s e l angegebenen Verhältniss, und fällte das Eiweiss mit Essigsäure aus. Die auf dem Paraffinbade mit Wasser ausgekochte Barytfällung wurde mit sehr verdünntem HCl-Alcohol gefällt; sie war im Ueberschuss löslich. Es schied sich ein feines weisses Pulver aus, das mit Alcohol und Aether gewaschen, H_2O_2 wenn auch schwach zerlegte und in der Asche Fe-Reaction ergab.

Um das aus dem Nuclein neben der Nucleinsäure entstehende Eiweiss zu untersuchen, wurde eine grössere Menge des Nucleins mit concentrirter KOH zerlegt und nach einiger Zeit mit concentrirter Essigsäure übersäuert; die massige flockige Eiweissfällung ergab nach dem Lösen in Alkali mit Essigsäure und Ferrocyankalium, mit HCl und Glaubersalz, mit Salpetersäure und Kochen Niederschläge.

Zur Entfernung der Nucleinsäure wurde der Niederschlag noch einmal in verdünnter Sodalösung gelöst, mit Essigsäure gefällt und mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen, dann noch einmal in verdünnter HCl gelöst und aus dieser Lösung mit Ammonsulfat gefällt. Der so erhaltene Eiweisskörper zeigte die Charaktere eines Alkalialbuminats, es zerlegte deutlich H_2O_2 und enthielt in seiner Asche Eisen.

Zur vollständigen Aufschliessung des Nucleins wurde dasselbe durch 18 Std. am Rückflusskühler auf dem Paraffinbade mit Wasser stark erhitzt; der bleibende Rückstand zeigte jedoch noch Zerlegung von H_2O_2 . (Deutliche Fe-Reaction in der Asche.) Erst nach 2stündigem Kochen mit 4% H_2SO_4 auf dem Sandbade, wobei das Filtrat deutlich Phosphorsäure aufwies, ergab sowohl der Rückstand, wie das eingedampfte Filtrat nicht die geringste Einwirkung auf H_2O_2 mehr¹⁾.

VI. Ueber die Bedeutung des in den Nucleoproteiden organisch gebundenen Eisens.

Nachdem wir nunmehr die wesentliche Rolle bestimmter wohlcharakterisirter Zellkernsubstanzen für die oxydative Leistung

1) Die in obigen Versuchen festgestellte Thatsache, dass den einzelnen Spaltungsproducten des Nucleoproteids immer noch Eisen zugehört, zeigt uns zugleich, welche ausserordentliche Grösse das ursprüngliche Molecül besitzen muss.

der Organe und der sie zusammensetzenden Zellen nachgewiesen und auch hatten zeigen können, dass sogar den einzelnen Spaltungsprodukten derselben, wenn auch in sehr geringfügiger Weise (Contactwirkung), eine „O-erregende“ Wirkung zukommt, ist die Frage des Näheren zu erörtern, wie wir uns denn jene eigenthümliche Funktion unserer Nucleoproteide zu erklären haben. Bleiben wir auf dem Boden der von uns vertretenen Traube'schen Anschauung, dann werden wir in allgemeiner Form sagen müssen, dass unsere Zellkernsubstanzen kraft ihrer spezifischen und eigenartigen Constitution beziehentlich der Anwesenheit bestimmter Atomgruppen, befähigt sind, molecularen Sauerstoff zu activiren, ähnlich wie gewisse anorganische Substrate dies thun. Und wenn wir für jene Besonderheit nach weiteren Einzelheiten suchen, die uns zur Zeit ja völlig unbekannt sind, so werden wir an dem constant nachgewiesenen Befund organisch gebundenen Eisens in ihnen und ihren Spaltungsprodukten wohl nicht gleichgültig vorübergehen können. Wir werden uns des Gedankens nicht entschlagen können, dass das im Molecul in eigenartiger organischer Form wohl an C- oder CN-Gruppen gebundene Eisenatom eben kraft der Eigenart seiner Bindung im Stande ist, jeweils O aufzunehmen und abzustossen, sich in Anwesenheit von molecularem O abwechselnd zu oxydiren und zu reduciren, die frei werdenden O-Atome an schwerer oxydirbare Verbindungen zu übertragen, sowie wir uns ja auch die Katalyse des H_2O_2 , sowie die O-Uebertragung durch anorganische Erreger durch deren abwechselnde Oxydation und Reduction vorstellen. Unsere Vermuthung über die Rolle des Eisenatoms stützt nicht nur sein constanter Befund, sondern auch die Thatsache, dass bei der Spaltung des Moleculs, so lange sich noch grössere Atom-complexe, die alle Eisen enthalten, erhalten haben, eine wenn auch sehr geringe O-Uebertragung noch zu Stande kommt. Erst in dem Augenblicke, wo der Zusammenhang des Moleculs vollständig gesprengt wird und also auch jene organische Bindung des Eisen-Atoms, die wir ja verantwortlich machen, aufgelöst wird, ist der letzte Rest O-übertragender Kraft verschwunden.

Wir müssen ferner annehmen, dass die eisenhaltige organische Gruppe im Nucleoproteid eine andere Configuration besitzt als die seiner Spaltungsproducte, entsprechend der ausserordentlich verschiedenen Intensität in der sauerstoffübertragenden Wirkung beider. Die Atome müssen sich in ihr in einem sehr labilen Gleichgewicht

befinden, da schon sehr schwache chemische Agentien die sauerstoffübertragende Wirkung der Nucleoproteide stark beeinflussen.

Die Differenz in der oxydativen Kraft der einzelnen Zellarten werden wir nach unseren Analysen nicht wohl auf einen wesentlich verschiedenen Gehalt an gebundenem Eisen beziehen können, sondern nur annehmen dürfen, dass nach dem relativ verschiedenen Bau der einzelnen Nucleoproteide — wie er sich in grobem Verhältnisse ja schon in den Differenzen ihrer elementaren Zusammensetzung zeigt — die Art der Bindung eine andere, mehr oder weniger für die O-Uebertragung geeignete ist.

So wesentlich wir die Rolle des in den spezifischen Verbindungen des Zellkerns gebundenen organischen Eisens halten, so nehmen wir andererseits selbstverständlich nicht im entferntesten an, dass jedes organisch gebundene Eisenatom in irgend welchen anderen Substraten O-erregend wirken müsse.

So fanden wir weder am Hämatogen des Hühnereies, resp. am Dotter desselben, das sein Eisen auch in Form einer Nucleoalbuminverbindung enthält, noch am Ferratin Schmieberg's, dem künstlich hergestellten Analogon der aus dem Wasserextracte der Leber herstellbaren Ferrialbuminsäure, das nach Schmieberg auch sein Eisen in organischer Bindung trägt, die allergeringste O-übertragende, oder auch nur H_2O_2 zerlegende Thätigkeit.

Wir meinen auch nicht etwa, dass überall da, wo in thierischen oder pflanzlichen Stoffen Oxydationen zu Stande kommen können, unter allen Umständen O-Uebertragung nur durch Zellkernsubstanzen resp. durch das in ihnen enthaltene Eisenatom, und nicht auf irgend einem anderen Wege, zu Stande kommen könne.

Wir präcisiren unsere Anschauung nur dahin, dass wir die jetzt bekannten durch thierische Zellen ausserhalb des Organismus bedingten Oxydationsvorgänge auf den Gehalt jener Zellen an wirksamen Nucleoproteiden von eigener Art resp. auf eine die O-Uebertragung vermittelnde organische Bindung des Eisens in ihnen zurückführen.

Mit unseren Versuchen hätte eine Theorie wesentliche und neue Stützen erhalten, die zuerst für den lebenden Organismus, wenn auch nur vermuthungsweise (ohne weitere Grundlagen) —, ausgesprochen zu haben, Bunge¹⁾ das Verdienst besitzt.

1) Lehrbuch d. physiolog. Chemie.

VII. Ueber die reducirende Fähigkeit der Nucleoproteide.

In unserer früheren Arbeit schon hatten wir darauf aufmerksam gemacht, dass ausser den Oxydationsvorgängen von todtten Substraten bei ungenügender O-Zufuhr oder bei O-Abschluss Reductionsprocesse ausgelöst werden können. Wir hatten zur Erklärung derselben angenommen, dass ausser den O-erregenden auch reducirende Substanzen in ihnen vorkommen. Bei der Darstellung unserer Nucleoproteide konnten wir uns davon überzeugen, dass diese selbst neben ihrer Fähigkeit, O bei maximaler Luftzufuhr zu übertragen, bei Luftabschluss auch reducirend wirkten. Ein Nucleoproteid, das in ausgefälltem Zustande sehr rasch bei Luftzutritt die Farbstoffsynthesen lieferte, wurde mit Hilfe von wenig Soda in durch Kochen von Luft möglichst befreitem Wasser gelöst und hierzu eine Toluylenblaulösung gebracht, das bis zum Rande fast gefüllte Reagensglas durch eine Kautschukkappe geschlossen. Nach einiger Zeit erschien der grössere untere Theil der Flüssigkeit farblos, während oben eine gefärbte Zone sich befand. Beim Schütteln mit Luft wurde die entfärbte Partie wieder gefärbt. Die Färbung verschwand bei ruhigem Stehen und Luftabschluss wieder nach einiger Zeit. Das zur Controle verwendete, H_2O_2 nicht mehr zerlegende Filtrat nach erfolgter Ausfällung des Proteids aus dem Wasserextracte der Leber zeigte diese reducirende Wirkung nicht.

Diese Thatsache zeigt uns, dass oxydirende und reducirende Kräfte der Zelle — wenigstens soweit es sich zunächst um ihre wasserlöslichen Bestandtheile handelt — in einem und demselben Substrate vereinigt sind. Diese Beobachtung nähert uns in einem gewissen Punkte der theoretischen Anschauung Hoppe-Seyler's und wird uns vielleicht zu einem weiteren Verständniss der Mechanik der postmortalen (und möglicherweise der intravitalen) Oxydationsvorgänge den Weg zeigen.

Wir hatten die Annahme Hoppe-Seyler's, dass reducirende Substanz in den todtten Substraten wie in der lebenden Zelle die Oxydationen bedingen, um deswillen bekämpft, weil wir ja unter reducirenden Verbindungen solche verstehen, die den von ihnen aufgenommenen O in fester Bindung ihrem Molecul einverleiben und dort festhalten. Zu-

gegeben, dass bei dieser Gelegenheit aus dem O-Molecul frei werdende O-Atome sich an andere dysoxydable Körper begeben, so muss ja unbedingt angenommen werden, dass die O-aufnehmende, reducirende Verbindung in dem Augenblicke, in dem sie O aufnimmt und festhält, definitiv ihre Fähigkeit verliert, wieder zu reduciren. Es müsste somit in todtten Substraten nach völliger Oxydation der reducirenden Substanzen schliesslich ein Punkt eintreten, in dem die Gewebe die Fähigkeit zu oxydiren überhaupt nicht mehr besitzen. Und gerade die Persistenz der oxydativen Kraft, die immer neue Mengen oxydabler Substanzen von den Geweben oxydirt werden lässt, bildet ja das Charakteristische des Vorganges und findet durch die Theorie von Traube die durch Hoppe-Seyler nicht gegebene Aufklärung.

Unsere Beobachtungen über die reducirende Kraft unserer sonst O-übertragenden Verbindung veranlassen uns zu der Annahme, dass der Reduction bei Luftabschluss wie der O-Uebertragung bei maximalem Luftzutritt in dem gleichen Substrate die gleiche Ursache, d. h. die gleiche Atomgruppierung zu Grunde liegen dürfte. Reduction und Oxydation wird bedingt durch die in dem ersteren Falle fehlende, in dem zweiten vorhandene Massenwirkung atmosphärischen Sauerstoffs.

Inwieweit die an todtten Substraten gewonnenen Erfahrungen auf die Verhältnisse im lebenden Organismus zu übertragen sind, lässt sich zur Zeit noch nicht sagen. Wir werden besonders mit Rücksicht auf die bekannten Versuche von P. Ehrlich die Wahrscheinlichkeit ganz gewiss nicht von der Hand weisen dürfen, dass auch in der lebenden Zelle den unseren analoge wohl complicirter gebaute Verbindungen die O-Aufnahme und -Uebertragung bedingen.

Es ist wohl sicher anzunehmen, dass diese Verbindungen einen wesentlich complicirteren Bau aufzuweisen haben, da wir ja durch die Extraction mit Wasser, welche für den Aufbau der Zelle gewiss keinen gleichgültigen Eingriff darstellt, nur einen aus dem Zusammenhang gerissenen mehr oder weniger grossen Atomcomplex isoliren, der sich mit einer Reihe ähnlich gebauter, wie die Versuche am todtten Substrat ja schon zeigen, in Verbindung befindet.

Unsere neue Erkenntniss ist um so interessanter, als wir ja trotz umfassender Erfahrungen über die Bedeutung des Kerns für

Bau und Entwicklung der Zelle, über seine Function für den Stoffwechsel desselben bis jetzt keine Vorstellung hatten.

Wenn ich die Resultate meiner Untersuchungen, die in vielen Punkten noch weiterer Bearbeitung bedürftig sind, jetzt schon der Oeffentlichkeit übergebe, so geschieht dies, um auf einem so interessanten Gebiete, wie es die Biochemie der Zelle ist, zur Mitarbeit anzuregen.

Fig. 1.

Fig. 3.

Fig. 2.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7

Fig. 8

Fig. 9

Fig. 10

Fig. 11

Fig. 12

Fig. 1