

(Aus dem histologisch-embryologischen Institut der Universität München.
Vorstand: Prof. Dr. Mollier.)

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Organe.

VI. Mitteilung.

Weitere Versuche über den Einfluss von Fett- und Lipoid- substanzen sowie von enteiussten Extrakten der Schild- drüse auf Entwicklung und Wachstum.

Von

Privatdozent Dr. **Benno Romeis**,

Prosektor am histologisch-embryologischen Institut, zurzeit am Reserve-
lazarett G, München.

(Mit 12 Tabellen, 4 Kurven, 16 Textabbildungen und Tafeln II und III.)

(Eingegangen am 1. August 1918.)

In einer vorausgehenden Arbeit (Romeis 1918) gelang der Nachweis, dass die in den Acetonextrakt übergehenden Fett- und Lipoidsubstanzen der Schilddrüse bei Verfütterung an Kaulquappen im Gegensatz zu dem extrahierten eiweisshaltigen Rückstand keine Entwicklungsbeschleunigung hervorrufen. Auch die bei Thyreoideaufütterung auftretende starke Wachstumshemmung kommt bei Einwirkung des genannten Extraktes gar nicht oder nur in ganz geringem Maasse zur Beobachtung. Während ferner der nachfolgende Toluolextrakt auf Wachstum und Entwicklung keine spezifische Wirkung entfaltete, war beim Acetonextrakt eine ganz ausgeprägte Entwicklungshemmung festzustellen. Die in dieses Extraktionsmittel übergehenden Substanzen schienen also vom biologischen Gesichtspunkte aus nicht völlig indifferent zu sein. Um nun genaueren Einblick in den ursächlichen Zusammenhang zu gewinnen, erschien es zunächst wünschenswert, eine weitere Zerlegung des Gesamtextraktes zu versuchen, um dann durch die nachfolgende biologische Prüfung der Einzelextrakte festzustellen, in

welche Fraktion die wirksame Substanz übertritt und dadurch zu Schlussfolgerungen auf die Natur desselben zu gelangen. Auf die Erreichung des einzig wirklich befriedigenden Zieles, einer gleichzeitig ausgeführten erschöpfenden chemischen Analyse der wirksamen Substanzen, muss freilich wegen der grossen sich hier bietenden Schwierigkeiten zurzeit noch verzichtet werden.

Eine in mancher Beziehung ungeklärte Stellung nahm in der oben-erwähnten Arbeit der nach der Aceton- und Toluolextraktion gewonnene Alkoholextrakt ein. Er bewirkte mässige Entwicklungsbeschleunigung und erinnerte dadurch an die spezifische Wirkung der Schilddrüsenfütterung. Auch das Wachstum wurde durch ihn in deutlicher Weise hemmend beeinflusst. In Widerspruch mit den charakteristischen Thyreoideafütterungssymptomen stand dagegen die Beobachtung, dass nur ein einziges Tier der Versuchsreihe trotz der langen Beobachtungsdauer die Metamorphose wirklich beendete. Im grossen und ganzen legte zwar das Versuchsergebnis die Annahme nahe, dass die auf die Kaulquappenentwicklung charakteristisch einwirkende Substanz der Thyreoidea durch Alkohol extrahiert werden könne und infolgedessen eiweissfreier Natur sei. Die Ergebnisse zahlreicher anderer Versuche liessen jedoch die Berechtigung dieser Schlussfolgerung sehr fraglich erscheinen und rechtfertigten den Verdacht, dass der Alkoholextrakt diese seine entwicklungsbeschleunigende und wachstumshemmende Wirkung geringen, ihm anhaftenden Eiweisspuren verdanke. Auch hier soll versucht werden, durch weitere Experimente Aufklärung zu bringen.

Die zu diesem Zwecke unternommenen Experimente wurden mit *Rana temporaria*-Larven ausgeführt. Die äusseren Versuchsbedingungen entsprachen den in meiner vorausgehenden Arbeit veröffentlichten. Die Tiere wurden in einem hellen Zimmer in 800—1000 ccm Wasser fassenden Thongutschalen gehalten. In jeder Schale befanden sich höchstens 16 Larven. Bei jedem Wasserwechsel, der durchschnittlich jeden zweiten Tag stattfand, wurden die Schalen sorgfältig ausgebürstet und mit gleichmässig temperiertem, abgestandenem Wasser gefüllt. Als Pflanzenmaterial diente mir diesmal ausschliesslich Quellmoos. Zum Füttern wurde Piscidin verwendet. In den nachfolgenden Protokollen ist nur der nach Extraktfütterung erfolgende Wasserwechsel genau angegeben, um dadurch die Einwirkungsdauer der einzelnen Extrakte zu kennzeichnen.

Versuch I.

Material: *Rana temporaria*-Kaulquappen von einem Laichballen, der am 2. April 1917 auf dem Blastula-Stadium aus der Nähe Münchens eingebracht wurde.

Beginn des Versuches: 17. April 1917. Alter der Tiere zu Anfang des Versuches also 16 Tage.

Durchschnittliche Grösse der Larven: Gesamtlänge 17—18 mm; Rumpflänge 6,5—6,8 mm; Rumpfbreite 4,0—4,2 mm.

Entwicklungsstadium: Kleine typische Kaulquappen, deren äussere Kiemen bereits völlig überwachsen sind. Die Kloakenmembran ist durchgebrochen, die Anlagen der hinteren Extremitäten sind mit der Lupe eben als kleine Verdickungen sichtbar.

Anzahl der Tiere: 10 Gruppen zu je 16 Larven.

Versuchsanordnung:

Gruppe *a*: Kontrolle normales Futter;

"	<i>b</i> :	Primärer Acetonextrakt A.	Fraktion A ₂ ; in der Kälte löslicher Teil (Präp. A I);
"	<i>c</i> :	" "	A. Fraktion A ₃ ; chloroform-löslicher Teil des Niederschlages (Präparat A II);
"	<i>d</i> :	" "	A. Fraktion A ₄ ; chloroform-unlöslicher Teil des Niederschlages (Präp. A III);
"	<i>e</i> :	Sekundärer Toluolextrakt B.	(Präparat A IV);
"	<i>f</i> :	Tertiärer Alkoholextrakt C.	Fraktion C ₂ . Beim Erkalten des Extraktes ausfallender Niederschlag. Ätheremulsion (Präp. A V);
"	<i>g</i> :	" "	C. Fraktion C ₃ . Desgleichen. Wasserlöslicher Teil (Präparat A VI);
"	<i>h</i> :	" "	C. Fraktion C ₄ . Alkohol-löslicher Teil. Äther-unlösliche Fraktion desselben (Präparat A VII);
"	<i>i</i> :	" "	C. Fraktion C ₆ . Aceton-unlöslicher Teil der äther-löslichen Fraktion (Präparat A VIII);
"	<i>k</i> :	" "	C. Fraktion C ₇ . Aceton-löslicher Teil der äther-löslichen Fraktion (Präparat A IX).

A. Herstellung der einzelnen Extrakte.

Eine grosse Anzahl von frisch aus dem Schlachthof geholten Pferdeschilddrüsen wird mit einem von Latapie angegebenen Apparat

(geliefert von Lautenschläger, Berlin-München, Katalog 100 Nr. 1897) zu einem feinen Brei zerquetscht, der in dünner Schicht auf grosse Glasplatten aufgestrichen und in einem für diese Zwecke konstruierten Trockenkasten durch starken Luftstrom rasch getrocknet wird. Schon nach wenigen Stunden lässt sich die Substanz mit Hilfe eines alten Mikrotommessers in trockenen Schuppen abkratzen. Diese werden nach 24 Stunden im Vakuumexsikkator über Ätznatron und Schwefelsäure getrocknet und sodann in der von Czokor angegebenen Lymphmühle zu einem staubfreien Pulver zermahlen, das nach weiteren 24stündigem Trocknen der Extraktion unterworfen wird. Der Übersicht halber sei dieser Prozess zunächst im Schema I kurz zusammengestellt.

(Siehe Schema I S. 426.)

Im einzelnen ging die Gewinnung der Präparate folgendermaassen vor sich:

I. Acetonextrakt A. Das in der oben geschilderten Weise bereitete charakteristisch riechende Organpulver wird in dem von Kumagowa-Suto angegebenen Apparat 48 Stunden lang mit kochendem, wasserfreiem Aceton extrahiert, wobei sich am Boden des Kochkolbens eine fettige, braungelbe Substanz absetzt, die sich später nach Entfernung des Extraktes auch in frischem, kochendem Aceton nicht mehr löst. Dagegen löst sie sich bis auf einen geringen Rückstand leicht in Chloroform.

Der braungelbe Acetonextrakt wird ohne Abkühlung mehrmals durch einen Heisswassertrichter filtriert. Beim Erkalten trübt sich das ursprünglich völlig klare Filtrat, und schliesslich setzen sich bräunlichgelbe Substanzen (Fraktion A_1) ab, von welchen der in Lösung befindliche Teil des Extraktes durch Zentrifugieren abgetrennt wird. Sodann wird das Lösungsmittel des Filtrates (A_2) im Vakuum bei 31 ° C. abdestilliert und der Rückstand im Vakuum-Exsikkator unter Lichtabschluss getrocknet. Die auf diese Weise gewonnene Substanz stellt das Präparat A I dar.

Eigenschaften: Es ist eine ziemlich reichliche, dunkelbraun gefärbte Substanz, die in frischem Zustand einen intensiven aromatischen, nicht ranzigen Geruch besitzt. Bei Zimmertemperatur ist der getrocknete Extrakt halbflüssig, bei Abkühlung auf Eis tritt Erstarrung ein. Bringt man einen Tropfen des Extraktes unter das Mikroskop, so sieht man in einer homogenen, goldgelben flüssigen Substanz einen feinen, amorph-körnigen Niederschlag und plattenartige, rechtwinklige Kristalle, welche sich bei Toluolzusatz rasch auflösen. In absolutem Alkohol löst sich die Substanz nicht vollständig: es bleibt vielmehr ein fahlbrauner, schmieriger, am Glase klebender Rest zurück, der sich auch in Toluol nicht völlig löst. In Chloroform löst sich der Extrakt völlig.

Ein Gemisch von alkoholischer Alkannatinktur und Alkoholäther wird durch den Extrakt stärker rotgefärbt. Beim Erhitzen entwickelt

sich deutlicher Akroleingeruch. In einer durch allmählichen NaOH-Zusatz hergestellten wässrigen Seifenlösung bildet sich bei CaCl_2 -Zusatz ein in kaltem Alkohol und in Äther unlöslicher Niederschlag. Bei Zusatz von Bleiacetat zur Seifenlösung entsteht ein bräunlichweisser Niederschlag, der sich zum Teil in Äther löst. Auch durch Zufügen von NaCl bildet sich ein reichlicher, flockiger Niederschlag. Durch Zusatz von HCl wird ebenfalls ein reichlicher, flockiger Niederschlag ausgefällt, der sich beim Ausschütteln mit Äther in dem Extraktionsmittel löst. In der wässrigen Lösung bleiben noch unverseifte Substanzen zurück. Eine Probe des Extraktes wird durch längeres Kochen mit Natriumalkoholat verseift, die Seifen mit Magnesiumchlorid ausgefällt und das Ganze mit Äther ausgeschüttelt. Aus dem eingeengten Ätherextrakt lässt sich mit warmem Alkohol Cholesterin gewinnen (Nachweis mittels der Reaktionen von Salkowski und Liebermann-Burchard). Es bleibt aber ausserdem noch ein ungelöster Rückstand.

Nach diesen Befunden enthält die Acetonlösung des Extraktes reichlich Neutralfette und Fettsäuren von hauptsächlich niedrigem Schmelzpunkt und Cholesterin. Doch sind ausserdem auch andere nicht weiter definierte Stoffe vorhanden.

Der beim Erkalten des Acetonextraktes A ausgefallene und durch Zentrifugieren abgetrennte Niederschlag A_1 wird mit dem bei der Extraktion entstandenen acetonunlöslichen Niederschlag, der in Chloroform gelöst und mehrmals filtriert worden war, vereinigt. Nach 24 stündigem Trocknen im Vakuumexsikkator wird die Substanz in etwas Chloroform gelöst, was bis auf einen geringen weisslichen und feinpulverigen Rückstand rasch erfolgt. Der letztere wird als Fraktion A_4 abzentrifugiert. Die chloroformlösliche Fraktion A_3 wird im Vakuum eingeengt und getrocknet (Präparat A II).

Eigenschaften: Im Gegensatz zu Präparat I stellt das Präparat II nach Entfernung des Lösungsmittels eine harte, dunkelbraune Substanz von wachsartiger Konsistenz dar. In absolutem Alkohol löst sie sich nur sehr langsam und unvollständig, in Benzol und Toluol dagegen bis auf einen ganz feinen Rückstand gut. In Wasser ist die Substanz bei neutraler Reaktion unlöslich. Selbst nach starkem NaOH-Zusatz erfolgt die Lösung in der Kälte nur langsam. Bei Zusatz von HCl zur Seifenlösung entsteht ein flockiger Niederschlag, der sich beim Ausschütteln mit Äther in diesem löst. Die Akroleinreaktion ist positiv.

Die chloroformunlösliche Fraktion A_4 des Acetonextraktes wird ebenfalls getrocknet und als Präparat A III verwendet.

Eigenschaften: Es ist ein weisses, feinkörniges Pulver. Im Mikroskope gesehen, zeigt die mit Chloroform benetzte Substanz verschiedene Kristallformen. Zum Teil sind es büschelförmig geordnete Kristallnadeln, zum Teil regelmässige Sechsecke, zum Teil Parallelogramme. In geringer Menge sind auch kleine Kugeln zu sehen, die der Form nach an Leucin erinnern.

Die Substanz ist in destilliertem Wasser bei neutraler Reaktion bis auf einen geringen Rückstand löslich. Der Geschmack ist widerlich süsslich. Bei NaOH-Zusatz tritt völlige Klärung der wässrigen Lösung ein, die auch bei Zusatz von HCl bestehenbleibt. Gerbsäure-

zusatz zur schwach essigsauen wässerigen Lösung erzeugt keine Trübung. Bei Silbernitratzusatz tritt in der mit destilliertem H_2O hergestellten und filtrierten Lösung ein ganz feiner Niederschlag auf, der sich in HNO_3 nicht löst.

II. Toluolextrakt B. Nach der 48 stündigen Acetonextraktion wird das Organpulver rasch getrocknet und daran anschliessend im Kumagowa-Apparat mit Toluol extrahiert. Nach 3 Tagen wird der braungelbe, klare Extrakt filtriert. Im Gegensatz zum Acetonextrakt treten hier beim Erkalten keine Ausfällungen auf. Der Extrakt wird im Vakuum eingeeengt und über Paraffin im Vakuumexsikkator getrocknet (Präparat A IV).

Eigenschaften: Dunkelbraune, schmierige Substanz von stark aromatischem, nicht ranzigem Geruch. In Petroläther und Äther ist sie leicht löslich, in Aceton ist sie zum grössten Teil unlöslich, ebenso ist sie in Alkohol nur teilweise löslich. Bei Schütteln mit neutral reagierendem destilliertem Wasser emulgiert die Substanz etwas. Die Verseifung mit NaOH erfolgt selbst bei Erwärmen nur langsam und tritt erst bei höherer Temperatur vollständig ein. Beim Erkalten entsteht aber wieder ein bräunlicher, flockiger Niederschlag; ein Teil der Substanz bleibt jedoch gelöst. Bei HCl-Zusatz zur warmen Seifenlösung entsteht ein dunkelbrauner, krümeliger Niederschlag und opake Trübung. Der Niederschlag löst sich beim Ausschütteln mit Äther nicht.

III. Alkoholextrakt C. Nach der Toluolextraktion wird das Organpulver wiederum getrocknet und sodann 4 Tage lang im Kumagowa-Apparat mit kochendem absolutem Alkohol extrahiert, wobei sich besonders während der ersten 24 Stunden an der Wandung des Kochkolbens ein hellbräunlicher Niederschlag absetzt, der sich auch in frischem, kochendem Alkohol nicht völlig löst. Nach je 24 Stunden wird der Alkohol durch frischen ersetzt. Die einzelnen Alkoholextrakte, welche anfangs sehr substanzenreich und dunkelbraun gefärbt sind, schliesslich aber farblos werden, werden jeweils noch in heissem Zustand und vor Abkühlung durch Heisswassertrichter mehrmals filtriert. Beim Erkalten, Einengen und Abkühlen der Extrakte auf 0° scheiden sich schmierige, gelbliche Substanzen ab, die durch mehrmaliges Lösen in kochendem Alkohol und darauffolgendes Einengen und Abkühlen gereinigt werden. Die einzelnen Niederschläge und Extrakte werden gesammelt und für sich vereinigt. Zu dem Niederschlag kommt auch noch der obenerwähnte Niederschlag, der sich an der Glaswandung des Kochkolbens abgesetzt hatte.

a) Verarbeitung des Niederschlages C_1 : Der im Vakuumexsikkator getrocknete hellbraune Niederschlag wird in destilliertem Wasser gelöst, was sehr leicht vor sich geht. Es entsteht eine leicht braun-gefärbte, etwas trübe Flüssigkeit, die mehrmals filtriert wird, ohne dass sie dadurch geklärt würde. Sodann wird sie mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Der in den Äther übergehende Anteil bildet eine ziemlich dauerhafte Emulsion C_3 , die abgetrennt wird. Nach Zusatz von absolutem Alkohol löst sich dieselbe zu einer stark opaleszenten Flüssigkeit, die sich nach einigen Tagen unter Abscheidung eines weisslichen

Niederschlag klärt. Das Ganze wird im Vakuumexsikkator über Ätznatron und Schwefelsäure getrocknet (Präparat A V).

Eigenschaften: Weissliches, amorphes Pulver, das sich in neutral reagierendem destilliertem Wasser zu einer opaken Flüssigkeit löst. Bei Zusatz von verdünnter NaOH erfolgt Klärung. Das Almèn'sche Reagens gibt deutliche Trübung. Biuretreaktion: positiv; schwach blauviolette Färbung. Millon: deutlich positiv; HNO_3 Unterschichtung: Ringbildung. Kochprobe nach Ansäuern und Natriumsulfatzusatz: schwach positiv. Aus dem Ausfall dieser Reaktionen ist zu schliessen, dass das Präparat Eiweiss Spuren enthält.

Die wasserlösliche, leicht gelblichgefärbte Fraktion C_4 wird ebenfalls im Vakuumexsikkator getrocknet und als Präparat A VI verwendet.

Eigenschaften: Hellbraune, harte, spröde Substanz, welche an der Luft etwas Feuchtigkeit anzieht und sich in neutralem Wasser sehr leicht löst. In Alkohol, Chloroform und Äther ist die Substanz unlöslich. Geschmack salzig. Biuretreaktion: negativ; Millon: negativ; Eiweisskochprobe: negativ; Almèn: negativ; Ferrocyankalium: negativ; NaOH + stark verdünnte CuSO_4 -Lösung: tiefblaue Färbung, ohne Reduktion beim Erwärmen. Bei Zusatz von verdünnter Eisenchloridlösung: schwache Trübung ohne Braunrotfärbung. Zusatz von Phosphorwolframsäure nach Ansäuern mit H_2SO_4 oder HCl: starke Opaleszenz. Beim Erhitzen schmilzt die Substanz unter Braunfärbung ohne Akroleingeruch. Beim Veraschen bleibt eine ziemlich reichliche weisse Asche zurück. Dieselbe löst sich in destilliertem Wasser bis auf einen geringen Rückstand. Bei Silbernitratzusatz entsteht ein reichlicher, gelblichgefärbter Niederschlag, der sich in HNO_3 und NH_3 löst.

b) Verarbeitung des alkohollöslichen Anteils C_2 : Der eingeengte Alkoholextrakt wird vor der Weiterbehandlung zuerst noch scharf zentrifugiert und von dem nur sehr geringen Bodensatz abgegossen. Sodann wird er mit der mehrfachen Menge wasserfreien Äthers versetzt, wobei ein flockiger, hellbrauner Niederschlag ausfällt. Nach 24 stündigem Stehen im Eisschrank wird mehrmals filtriert. Die vereinigten Niederschläge (C_3) werden im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet (Präparat A VII).

Eigenschaften: Die Ausbeute an Substanz ist nur gering. Es ist ein fahlbraunes, körniges Pulver, das sich völlig klar und sehr leicht in neutralem destilliertem Wasser löst. Bei Zusatz von verdünnter oder konzentrierter NaOH erfolgt kein Niederschlag. Biuretreaktion: negativ; Millon: negativ; Almèn: negativ; Zusatz von verdünnter Eisenchloridlösung: keine Trübung, keine Dunkelfärbung.

Das ätherlösliche Filtrat wird im Vakuum stark eingeengt, zentrifugiert und mit der vierfachen Menge Aceton versetzt. Dabei tritt ein gelatinöser Niederschlag C_7 auf, der sich bald zusammenballt und nach einigem Stehen fest am Boden des Glaskolbens absetzt (Präparat A VIII).

Eigenschaften: Nach Trocknen im Vakuumexsikkator bleibt eine geringe Menge einer zähen, gelbbraunen Substanz zurück. In neu-

tralem destilliertem Wasser ist sie unlöslich. Auch bei Zusatz von verdünnter NaOH erfolgt keine völlige Lösung. Der ungelöste Rückstand besteht aus einer feinen, schuppigen Substanz.

Die acetonlösliche Fraktion (C_8) des Extraktes wird mehrfach filtriert, stark eingengt und im Vakuum getrocknet. Es bleibt ein ziemlich reichlicher, dickflüssiger Rückstand zurück, in dem sich nach zweitägigem Stehen noch ein geringer Niederschlag absetzt (Präparat A IX).

Eigenschaften: Rotbraune, durchscheinende Substanz von zähflüssiger Konsistenz und geringem, am Boden abgesetztem körnigem Niederschlag. Die Substanz löst sich in Alkohol, Chloroform und Äther bis auf den erwähnten Niederschlag klar. Im Mikroskop betrachtet, besteht derselbe aus Kugeln, die im Innern eine unregelmässig gestreifte Struktur besitzen. Der aus der alkoholischen Lösung isolierte Niederschlag löst sich in neutralem destilliertem Wasser bis auf einen geringen Rest zu einer schwach opaleszenten Flüssigkeit. Bei Essigsäurezusatz erfolgt keine Aufhellung. Almén'sche Reaktion: starke Vermehrung der Opalescenzen. Eiweisskochprobe: kein Niederschlag, keine vermehrte Opalescenzen. Millon: negativ. Biuretreaktion: negativ. Mit Phosphorwolframsäure nach Ansäuern mit Schwefelsäure: Niederschlag.

B. Versuchsprotokoll.

Von diesen verschiedenen Präparaten werden relativ gleiche Mengen mit 1 ccm 96 % igen Alkohols und etwas Piscidin in einer kleinen Achatreibschale verrieben und dann in die einzelnen Zuchtschalen gespült. Die erste derartige Fütterung erfolgte am 17. April 1917. Immer 24 Stunden später werden die Tiere in frisches Wasser übertragen.

18. April. Die Larven zeigen normale Beweglichkeit.

22. April. Zweite Extraktfütterung.

25. April. Die Larven der Gruppe *K* sind heller pigmentiert. Auch hat es den Anschein, als seien die Tiere dieser Gruppe wie jene der Gruppe *f* im Wachstum etwas zurückgeblieben.

27. April. Dritte Extraktfütterung.

28. April. Die Larven der Gruppen *f* und *k* sind nunmehr ganz deutlich kleiner. Auch der Unterschied in der Pigmentierung hat sich deutlich verstärkt: sie besitzt bei diesen einen ganz auffallend hellbraunen Ton, obwohl die Lichtverhältnisse bei allen Gruppen ganz gleichmässig sind. Die Seitenkontur des Rumpfes zeigt bei den genannten zwei Gruppen hinter den Opercula beiderseits eine leichte Einschnürung. Ferner sind die hinteren Extremitätenanlagen bei ihnen etwas grösser. Im Gegensatz dazu ist das Wachstum bei den

Tabelle 1.

Gruppe a: Kontrolle				Gruppe b: Präp. A I				Gruppe c: Präp. A II				Gruppe d: Präp. A III				Gruppe e: Präp. A IV			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge	
24,4	8,7	15,7		23,0	8,6	14,4		23,5	8,5	15,0		23,3	8,6	14,7		24,0	8,2	15,8	
24,5	8,8	15,7		23,3	7,6	15,7		24,4	8,7	15,7		23,4	8,5	14,9		24,9	9,8	15,1	
25,2	9,7	15,5		24,0	8,5	15,5		24,5	9,3	15,2		23,5	8,5	15,0		25,1	8,6	16,5	
25,5	9,5	16,0		24,1	9,2	14,9		24,8	9,1	15,7		24,0	8,5	15,5		25,2	9,5	15,7	
26,5	9,2	17,3		24,1	9,5	14,6		25,5	9,6	15,9		24,7	8,9	15,8		25,0	9,4	15,6	
26,5	9,6	16,9		24,3	8,7	14,6		25,6	9,1	16,5		25,0	8,9	16,1		26,0	9,7	16,3	
26,5	9,7	16,8		24,7	8,9	15,8		26,0	9,6	16,4		25,0	9,0	16,0		26,0	10,0	16,0	
27,0	9,5	17,5		24,8	8,9	15,9		26,3	9,7	16,6		25,0	9,0	16,0		26,2	9,9	16,3	
27,5	10,0	17,5		25,0	9,5	15,5		26,5	9,9	16,6		25,1	9,2	16,9		26,5	9,7	16,8	
27,5	10,3	17,2		25,2	9,0	16,2		27,4	10,4	17,6		26,0	9,5	16,5		26,5	9,5	17,0	
28,0	9,9	18,1		25,2	9,2	16,0		27,5	9,9	17,6		26,5	9,5	17,0		27,0	9,9	17,1	
28,6	11,2	17,4		25,4	9,4	16,0		27,5	10,5	17,0		27,5	9,4	18,1		27,0	10,1	16,9	
26,5	9,7	16,8		24,4	9,0	15,4		25,8	9,5	16,3		24,9	8,9	16,0		25,8	9,5	16,3	

Fortsetzung der Tabelle 1.

Gruppe f: Präp. A V				Gruppe g: Präp. A VI				Gruppe h: Präp. A VII				Gruppe i: Präp. A VIII				Gruppe k: Präp. A IX			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge		Gesamt-länge	Rumpf-länge	Schwanz-länge	
22,0	7,9	14,1		24,0	9,6	14,4		24,8	8,5	16,3		23,2	8,6	14,6		19,5	7,9	11,6	
22,0	7,1	14,9		25,5	9,6	15,9		25,0	8,1	16,9		24,0	8,8	15,2		22,5	8,2	14,3	
21,5	7,8	13,7		25,6	9,5	16,1		25,4	9,0	16,4		25,0	9,0	16,0		22,6	8,6	14,0	
22,1	7,8	14,3		25,6	9,7	15,9		25,6	9,4	16,2		25,0	9,5	15,5		23,0	8,0	15,0	
22,8	8,1	14,7		27,0	9,5	17,5		26,0	9,1	16,9		25,0	9,5	15,5		23,1	8,5	14,6	
23,0	8,1	14,9		27,5	10,1	17,4		26,1	9,5	16,6		25,8	9,8	16,0		23,1	7,9	15,2	
23,0	7,9	15,1		27,5	10,3	17,2		26,2	9,5	16,7		26,0	10,0	16,0		24,0	8,0	16,0	
23,2	7,8	15,4		28,5	10,3	18,2		26,8	9,4	17,4		27,1	9,8	17,3		24,0	8,1	15,9	
24,0	7,8	16,8		28,5	10,4	18,1		27,0	9,5	17,5		26,9	9,4	17,5		24,1	9,0	15,1	
24,5	7,9	16,6		29,0	10,6	18,4		27,1	10,2	16,9		27,5	10,5	17,0		24,3	8,6	15,7	
25,0	8,2	16,8		29,6	10,8	18,8		27,7	10,0	17,7		27,9	10,2	17,7		25,7	9,2	16,5	
25,8	8,8	17,0		29,8	10,6	19,2		28,2	10,2	18,0		28,0	10,0	18,0		26,7	9,2	17,5	
23,2	7,9	15,3		27,3	10,1	17,2		26,3	9,4	16,9		26,0	9,6	16,4		23,5	8,4	15,1	

Kaulquappen der Gruppe *g*, die auch sehr dunkel pigmentiert sind, gegenüber jenem der Kontrolltiere deutlich gesteigert.

29. April. Die hinteren Extremitätenanlagen, welche bei der Kontrollgruppe durchschnittlich 1,0 mm lang sind und noch keine besondere Pigmentierung aufweisen, sind bei den Gruppen *f* und *k* gut doppelt so lang. Sie zeigen dunkle Pigmentierung der Streckseite und beginnende Differenzierung in Ober- und Unterschenkel. Der Leib hat sich bei den Larven der Gruppe *f* noch weiter verschmälert.

2. Mai. Messung von je zwölf Tieren sämtlicher Gruppen mit dem Zirkel (vgl. Tab. 1).

Danach übertreffen die Tiere der Gruppe *g* die Kontrolltiere an Körpergrösse ganz deutlich. Ihr Wachstum wurde durch die hier verfütterte Fraktion des Alkoholextraktes offenbar gefördert. In der Entwicklung dagegen besteht zwischen beiden Gruppen zurzeit noch kein Unterschied. Die Gruppen *i*, *e* und *h* stimmen mit der Kontrollgruppe in jeder Beziehung weitgehend überein; in Gruppe *b*, *d* und *c* ist das Wachstum etwas gehemmt, ohne dass jedoch die Entwicklung beeinflusst wäre. In Gruppe *k* und noch mehr bei Gruppe *f* hat sich die Entwicklungsbeschleunigung noch weiter gesteigert.

3. Mai. Vierte Extraktfütterung.

7. Mai. Sämtliche Tiere werden photographiert und nach den Photographien gemessen (vgl. Tab. 2 und Tafel II Abb. 1—10).

Auch bei dieser Messung erreichen die Larven der Gruppe *g* das grösste Durchschnittsmaass. Dabei ist zu betonen, dass sie die Kontrolltiere weniger durch eine stärkere Ausbildung des Ruderschwanzes als vielmehr durch die Grösse der Rumpflänge und der Rumpfbreite übertreffen. Auch die Maasse der Gruppe *e* liegen etwas über jenen der Kontrollgruppe; doch ist der Grössenunterschied hier nur gering. In Gruppe *i*, *h* und *c* stimmt das Wachstum mit jenem der Kontrollgruppe ziemlich überein. Die Maasse der Gruppe *d* liegen etwas unter dem normalen Durchschnitt. Stärker ist der Unterschied bei Gruppe *b* und *k*, besonders aber bei Gruppe *f*. Dementsprechend war also das Wachstum zwischen 2. Mai und 7. Mai in Gruppe *f* am geringsten. In Gruppe *k* dagegen war es sogar etwas stärker als in der Kontrollgruppe; doch könnte dies möglicherweise auf einem Fehler beruhen, der dadurch eingeführt wurde, dass am 2. Mai von jeder Gruppe nur elf Tiere gemessen wurden. Dadurch wäre es möglich, dass das

Durchschnittsmaass dieser Gruppe eigentlich um ein geringes höher gelegen war, als die Messungen schliesslich ergaben.

Was die Entwicklung anbelangt, so gleichen die Gruppen *g* (Abb. 7) und *e* (Abb. 5) völlig der Kontrollgruppe (Abb. 1). Das gleiche gilt von der Entwicklung in Gruppe *c* (Abb. 3). In Gruppe *b* (Abb. 2) sind die Extremitätenanlagen noch etwas weiter zurückgeblieben. In Gruppe *d* (Abb. 4), *h* (Abb. 8) und *i* (Abb. 9) sind sie zum Teil um geringes grösser; im übrigen besteht jedoch hinsichtlich Pigmentierung, Ausbildung des Maules und der Bauchorgane usw. kein makroskopisch sichtbarer Unterschied. Beträchtliche Differenzen zeigen sich dagegen bei den Gruppen *k* und *f*. Am stärksten treten die Erscheinungen bei Gruppe *f* hervor (Abb. 6). Der Leib dieser Tiere besitzt geigenförmigen Umriss, der Kopf ist froschähnlich, die Hornzähnen sind stark zurückgebildet, die Schwanzflossensäume sind stark verschmälert, in der Kloakengegend sogar schon völlig resorbiert; an der Schwanzspitze zeigen sich jedoch noch keine erheblichen Reduktionsvorgänge. Diese Tiere besitzen eine eigentümlich irisierende grüngoldene Pigmentierung. Recht weit fortgeschritten im Vergleiche zur Kontrollgruppe ist die Entwicklung der Hinterbeine, deren Oberschenkel schon stark abduziert stehen. Auch die Zehen sind schon gut ausgebildet. Bei Gruppe *k* (Abb. 10) treten all diese Symptome erst in schwächerem Grade hervor. Die Hornzähnen sind hier noch gut erhalten.

8. Mai. Fünfte Extraktfütterung.

15. Mai. Weitere Steigerung der Thyreoideasymptome in Gruppe *f* und *k*.

16. Mai. Sechste Extraktfütterung. Am Abend ist ein Tier der Gruppe *f* tot.

17. Mai. In Gruppe *f* sind noch weitere vier Tiere gestorben. Zwei andere Larven sind sehr schwächlich und werden fixiert. Bei zwei weiteren ist je ein Vorderbein durchgebrochen. Auch in Gruppe *k*, deren Tiere grösser sind als in Gruppe *f*, ist bei vieren je eine vordere Extremität zum Durchbruch gekommen. Dieselben sind jedoch ebenso wie die Hinterbeine hier viel kleiner als in Gruppe *f*. Am Maul sind die typischen larvalen Fresswerkzeuge noch gut entwickelt. Der Leib ist noch sehr dick.

19. Mai. Die Tiere der Gruppen *f*, *g* und *k* werden photographiert und nach den Photographien gemessen (vgl. Tab. 3 u. Tafel II Abb. 11—13).

Tabelle 2.
Maasse am 7. Mai 1917.

Gruppe a: Kontrolle				Gruppe b: Präp. A I				Gruppe c: Präp. A II				Gruppe d: Präp. A III				Gruppe e: Präp. A IV			
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge
25,0	8,5	5,4	16,5	19,0	7,2	4,8	11,8	24,0	8,3	5,0	15,7	25,1	8,7	5,5	16,4	26,0	8,9	5,4	17,1
26,5	9,1	5,5	17,4	24,4	8,8	4,8	15,6	25,7	9,5	6,0	15,2	25,7	9,4	5,5	16,3	27,5	10,0	6,0	17,5
26,7	9,5	6,0	17,2	26,0	9,0	5,8	17,0	26,0	9,0	5,1	17,0	25,6	9,2	5,5	16,4	27,7	9,9	5,9	17,8
27,0	9,4	5,5	17,6	25,3	9,2	5,6	16,1	26,2	9,5	5,6	16,7	26,3	9,1	5,8	17,2	28,0	10,0	6,3	18,0
27,0	9,9	5,5	17,1	25,8	8,7	5,5	17,1	26,5	9,0	5,6	17,5	26,3	9,1	5,7	17,4	28,0	10,0	6,0	18,0
28,5	10,2	6,0	18,3	26,3	10,1	6,0	16,2	27,2	9,2	5,2	18,0	26,6	8,6	5,1	18,0	28,4	11,0	5,5	17,4
28,5	9,9	6,5	18,6	26,5	9,3	5,4	17,2	27,5	10,4	5,9	17,1	27,0	9,0	5,7	18,0	28,5	10,0	6,4	18,5
29,0	10,5	6,0	18,5	26,7	9,2	5,1	17,5	28,2	9,5	6,0	18,1	27,3	9,7	5,7	17,8	29,0	10,4	6,1	18,6
29,2	10,1	5,9	19,1	26,5	9,3	5,4	17,2	28,3	10,2	5,2	18,1	27,3	9,5	5,5	17,8	29,2	10,3	6,2	18,9
29,6	10,5	6,5	19,1	27,0	10,0	5,9	17,0	28,4	10,7	6,3	17,7	28,0	9,9	5,6	18,1	29,4	10,2	6,1	19,2
29,8	11,0	6,7	18,8	27,3	9,9	5,4	17,4	28,5	10,7	5,8	17,8	28,2	9,8	5,5	18,4	30,0	11,0	6,6	19,0
30,0	10,5	6,1	19,5	27,5	10,5	6,5	17,0	29,6	10,8	6,5	18,8	28,5	9,5	6,0	19,0	30,1	10,6	6,5	19,5
29,5	10,5	6,1	19,0	27,5	10,1	6,0	17,4	30,4	11,6	7,0	18,8	28,5	9,7	6,1	18,8	30,5	11,0	7,0	19,5
31,0	11,0	6,5	20,0	28,0	10,5	6,0	18,2	30,6	11,0	6,2	19,6	28,5	10,5	6,0	18,0	30,5	11,2	6,4	19,3
31,4	11,3	7,0	20,1	27,7	9,5	6,3	17,6	31,4	11,5	7,0	19,9	29,7	9,5	5,4	20,2	30,6	10,4	6,7	20,2
30,3	11,7	7,3	18,6	28,7	10,3	6,6	18,4	31,5	11,2	7,1	20,3	30,0	10,8	6,6	19,2	31,2	11,5	6,5	19,7
28,7	10,2	6,1	18,5	26,4	9,5	5,8	16,9	28,1	10,1	6,0	18,0	27,4	9,5	5,7	17,9	29,0	10,4	6,2	18,6

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Gruppe f: Präp. A V				Gruppe g: Präp. A VI				Gruppe h: Präp. A VII				Gruppe i: Präp. A VIII				Gruppe k: Präp. A IX			
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge
22,2	7,5	4,5	14,7	24,1	9,0	4,8	15,1	25,5	8,8	5,5	16,7	25,6	9,8	5,6	15,8	23,0	8,0	5,1	15,0
22,7	7,6	4,5	15,1	26,7	9,5	6,0	17,2	27,0	9,3	5,6	17,7	26,2	9,4	5,8	16,8	23,5	8,4	5,1	15,1
22,8	7,5	4,4	15,3	27,5	9,5	6,0	18,0	26,5	9,6	5,5	16,9	26,0	9,6	6,0	16,4	24,5	8,0	4,8	16,5
23,0	7,9	4,6	15,1	27,5	9,6	6,4	17,9	27,5	9,9	5,9	17,6	26,5	10,0	6,4	16,5	24,6	9,4	5,4	15,2
23,2	8,0	4,6	15,2	28,0	10,2	6,0	17,8	27,6	9,4	5,5	18,2	27,0	9,9	6,4	17,1	25,2	8,9	5,3	16,3
23,7	7,8	5,0	15,9	29,0	10,5	6,1	18,5	28,0	9,0	6,0	19,0	27,0	10,0	6,0	17,0	25,4	8,5	5,0	16,9
24,0	8,2	4,3	15,8	29,5	10,1	6,1	19,4	28,0	9,6	6,0	18,4	28,2	10,1	6,4	18,1	25,0	9,0	5,2	16,0
24,3	8,5	5,2	15,8	29,2	10,9	6,4	18,3	28,1	10,2	6,1	17,9	28,2	10,0	6,4	18,2	26,0	8,5	5,5	17,5
24,5	8,4	5,0	16,1	30,0	10,5	5,6	19,5	28,7	9,4	5,6	19,3	28,2	10,4	6,4	17,8	26,4	9,1	5,6	17,3
24,5	8,4	5,3	16,1	31,0	11,5	7,0	19,5	28,9	10,0	6,7	18,9	29,2	10,1	6,2	19,1	26,5	8,9	5,1	16,6
25,6	8,1	5,0	17,5	31,0	11,8	7,5	19,2	29,1	10,2	6,1	18,9	29,4	10,1	6,3	19,3	26,6	9,9	5,8	16,7
26,0	8,4	5,4	17,6	31,5	10,9	6,9	20,6	29,4	10,5	6,2	18,9	30,0	10,7	6,7	19,3	27,4	9,3	5,6	18,1
26,0	8,9	5,1	17,1	32,0	11,4	6,6	20,6	30,0	11,3	7,0	18,7	30,2	11,0	6,8	19,2	27,4	9,6	5,9	17,8
26,6	8,5	5,5	18,1	32,5	11,9	7,5	20,6	30,0	10,7	6,8	19,3	30,5	10,8	6,6	19,7	29,2	9,9	6,1	19,3
27,0	8,9	5,0	18,1	32,5	11,6	7,1	20,9	30,8	10,6	6,2	20,2	31,3	11,0	7,0	20,3	29,6	10,0	6,1	19,6
27,5	9,1	5,5	18,4	—	—	—	—	31,6	11,4	7,1	20,2	32,2	11,4	7,1	20,8	—	—	—	—
24,7	8,3	4,9	16,4	29,5	10,6	6,4	18,9	28,5	10,0	6,1	18,5	28,5	10,3	6,5	18,2	26,1	9,2	5,4	16,9

Tabelle 3.

Gruppe <i>f</i> : Präp. A V				Gruppe <i>g</i> : Präp. A VI				Gruppe <i>k</i> : Präp. A IX			
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge
21,0	8,0	4,5	13,0	31,0	10,3	6,7	20,7	26,2	9,2	5,0	17,0
21,1	8,1	4,5	13,0	32,0	11,0	6,5	21,0	27,0	9,4	5,9	17,6
22,5	8,8	4,8	13,7	33,2	11,4	6,5	21,8	27,3	10,2	5,9	16,1
23,4	8,5	4,6	14,9	33,6	10,9	6,8	22,7	27,7	9,5	6,0	18,2
24,1	8,0	5,1	16,1	34,5	12,0	7,5	22,5	28,0	9,6	5,6	18,4
24,1	8,3	4,4	15,8	34,5	12,1	7,6	22,4	28,2	10,2	6,5	18,0
27,7	9,6	5,6	18,1	34,9	11,9	6,9	23,0	28,4	10,0	5,6	18,4
28,7	10,5	6,0	18,2	35,4	11,2	7,1	24,2	28,7	19,8	6,5	18,9
—	—	—	—	35,4	12,4	7,7	23,0	29,2	9,6	5,6	19,6
—	—	—	—	36,0	11,7	7,9	24,3	9,9	10,0	6,5	19,9
—	—	—	—	36,7	13,0	7,8	23,7	31,8	10,5	6,4	21,3
—	—	—	—	37,6	12,8	8,0	24,8	—	—	—	—
24,1	8,7	4,9	15,4	34,5	11,7	7,3	22,8	28,3	9,8	5,9	18,5

Im Vergleich zu typischen, mit Jodthyreoglobulin oder mit frischer Schilddrüse gefütterten Kaulquappen sehen die Tiere der Gruppe *f* (Abb. 11) noch sehr kräftig aus¹⁾. Der Leib ist im Gegensatz zu den genannten hier noch ziemlich rundlich, die Einschmelzungsprozesse an der Schwanzspitze verlaufen erheblich langsamer. Auffallend ist auch die helle, grünliche Pigmentierung, während die mit Thyreoidea gefütterten Larven gewöhnlich sehr bald einen tiefbraunen Farbton annehmen. Die Extremitätenentwicklung ist stark beschleunigt, ohne dass dabei das Wachstum derselben in dem sonst zu beobachtenden Grade gehemmt wäre. Bei Gruppe *k* (Abb. 13), deren Tiere durchgehends grösser sind, sind die Extremitäten dagegen bedeutend kleiner. Bemerkenswert ist, wie gut die larvale Ausbildung des Maules noch erhalten ist. Da andererseits der Schädel schon ziemlich froschartige Formen angenommen hat, kommt durch diese Vermischung der verschiedenen Charaktere eine merkwürdige Zuspitzung des Kopfes zustande. Die Pigmentierung ist in dieser Gruppe nunmehr dunkler als in Gruppe *f*. Die Quappen der Gruppe *g* (Abb. 12) sind noch immer auffallend gross und plump. Kopf und Rumpf sind noch typisch larval.

1) Vgl. damit zum Beispiel die etwa gleichalten, auf Abb. 12 Taf. XIV meiner V. Arbeit (Romeis 1918) abgebildeten Kaulquappen, die entfettete Schilddrüsen-trockensubstanz zu fressen bekamen.

Die hinteren Extremitäten sind bei ihnen dagegen weiter entwickelt als in der Kontrollgruppe. Sie sind aber merkwürdig kurz und dick und stehen in eigentümlicher Streckstellung. Was die übrigen Gruppen betrifft, so ist in Gruppe *h* und *i* nur ganz geringe Entwicklungsbeschleunigung festzustellen. Die Entwicklung der Gruppen *b* und *c* ist dagegen deutlich gehemmt.

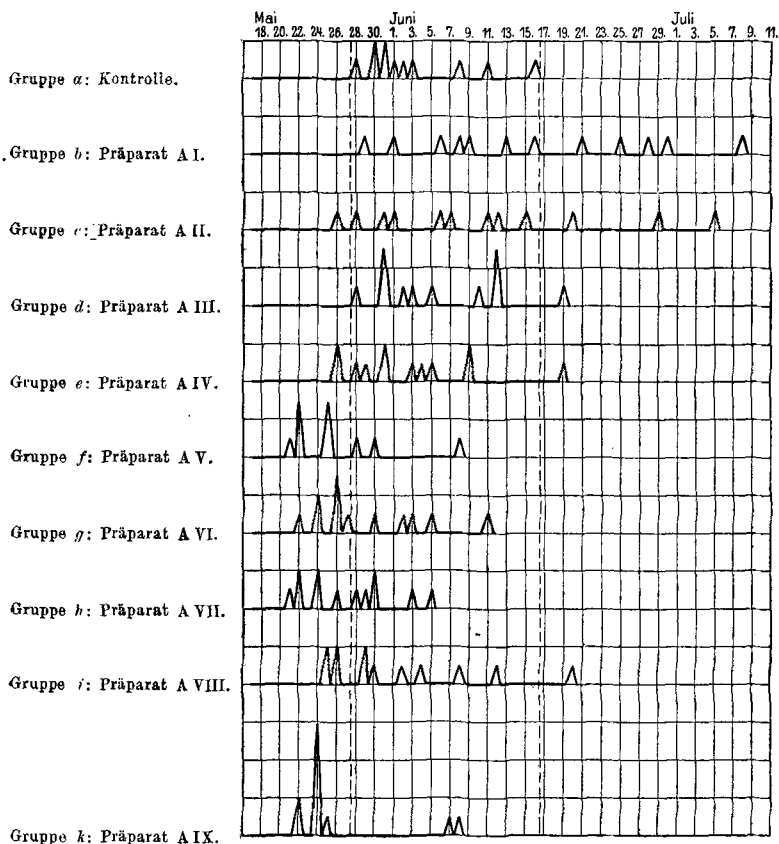
21. Mai. Siebente Extraktfütterung.

Weitere Extraktfütterungen folgen noch am 24. Mai, 29. Mai, 6. Juni, 15. Juni und 23. Juni. Nur in Gruppen *f* und *k* findet die letzte Extraktfütterung schon am 24. Mai statt, da sonst ein zu rasches Absterben der Tiere dieser Gruppen zu befürchten wäre. — Metamorphose eines Tieres der Gruppen *f* und *h*. Vom nächsten Tage an folgen auch bei anderen Gruppen zahlreiche Metamorphosen, die aber nun nicht einzeln aufgezählt werden sollen, sondern der Übersicht und Kürze halber gleich in Kurvenform zusammengestellt werden, wobei die niedrigste Zacke (vgl. zum Beispiel bei Gruppe *h* unter dem 21. Mai) einem metamorphosierten Tier entspricht; metamorphosiert an einem Tage eine grössere Anzahl von Tieren, so ist die Zahl derselben aus der entsprechend höheren Zacke abzulesen.

Aus der Kurve geht ohne weiteres hervor, dass im Ablauf der Metamorphosen zwischen den einzelnen Gruppen ziemlich erhebliche Unterschiede bestehen. Am längsten zieht sich diese Entwicklungsperiode in Gruppe *b* hin, deren Tiere dementsprechend auch sehr lange den larvalen Typus aufweisen. Auch in Gruppe *c* ist eine Hemmung unverkennbar, wenn sie auch schwächer hervortritt als in Gruppe *b*. Die Gruppen *d* und *e* stimmen dagegen mit der Kontrollgruppe ziemlich überein. Einen beschleunigten Ablauf der Metamorphose zeigen die Gruppen *f* bis *k*. Am ausgeprägtesten ist die Beschleunigung in Gruppen *f* und *k*, zumal wenn man bedenkt, dass bei diesen schon am 17. Mai einzelne Vorderbeine durchbrechen. Auch in Gruppen *g* und *h* beenden die Tiere das Larvalleben früher als in der Kontrollgruppe. In Gruppe *i* ist die Beschleunigung nur gering.

So lehrreich diese Kurve aber auch ist, so gibt sie doch für sich allein keinen vollen Aufschluss über die Wirkung der einzelnen Extraktfraktionen. Um ihn zu erhalten, ist es notwendig, auch ihren Einfluss auf das Wachstum und die Entwicklung der äusseren Form wie der einzelnen Organe im Auge zu behalten, wie es ja zum Teil

schon im Laufe des Versuchsprotokolls getan wurde. Zur weiteren Vervollständigung seien nun mittels einiger schematischer Zeichnungen die makroskopisch oder bei Lupenvergrößerung wahrnehmbaren Differenzen dargestellt. Dabei ist zu bemerken, dass es sich hierbei nicht um Einzelercheinungen handelt, sondern dass die nach am 22. Mai



Kurve I.

fixierten Tieren angelegten Zeichnungen für die Mehrzahl der in den diesbezüglichen Gruppen vorhandenen Tiere charakteristisch sind.

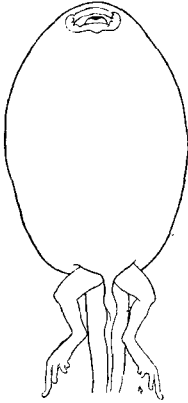
Zunächst seien einige schematische Umrisszeichnungen der äusseren Körperform gegeben, aus denen besonders auch die Unterschiede zwischen den einzelnen in ihrer Entwicklung beschleunigten Gruppen hervorgehen. Im Vergleich mit diesen letztgenannten Gruppen *f*, *g*, *h*, *i* und *k* besitzen die Quappen der Kontrollgruppe *a* (Textabb. 1)

noch das typische larvale Aussehen. Am Maul sieht man noch breite Lippen und gut ausgebildete Papillen, Hornzähnen und Hornkiefer. Von einer Reproduktion der Tiere der Gruppen *b*, *c*, *d* und *e* wurde abgesehen, da sie in ihrem Äusseren mit dem in Textabbildung 1 gegebenen Schema völlig übereinstimmen; nur sind bei den Larven der Gruppen *b* und *c* die Hinterbeine durchschnittlich um die Hälfte kleiner. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den Gruppen *f*, *g*, *h*, *i* und *k*. Diese Tiere zeigen nicht nur eine beträchtliche Beschleunigung der Entwicklung, ihre Formen weichen vielmehr auch ziemlich weitgehend von jenen normal metamorphosierter Tiere ab. Dem Typus eines derartigen normalen Fröschsens am nächsten steht noch das in Textabbildung 4 wiedergegebene Tier der Gruppe *h*. Ein Unterschied besteht hier nur in den geringeren Längenmassen der Hinterbeine, die auch nicht in der sonst üblichen Sprungstellung stehen, sondern im Kniegelenk nur rechtwinklig gebeugt, im Sprunggelenk aber völlig gerade gestreckt stehen. Doch ist dieser Unterschied nicht sehr wesentlich, denn bei einer Reihe von Tieren dieser Gruppe, welche etwas später metamorphosierten, bildete sich die normale Stellung im Laufe der Zeit noch aus. Allerdings blieb das Längenwachstum der Extremität auch in diesen Fällen hinter dem normalen Durchschnitt etwas zurück. Die Tiere der Gruppe *i* zeigten weitgehende Übereinstimmung mit der eben geschilderten.

Bei den Tieren der Gruppe *f* (Textabb. 2), welche von sämtlichen Versuchstieren am kleinsten sind, fällt die Gracilität der Extremitäten auf. Das Missverhältnis in der Länge von Ober-, Unterschenkel und Fuss kehrt bei zahlreichen Tieren dieser Gruppe wieder. Äussere Körperform, Maulbildung usw. gleichen dem normalen Befunde.

Im Gegensatz zu den zarten, dünnen Extremitäten dieser Gruppe stehen die plumpen Formen bei Gruppe *g* (Textabb. 3). Dem dicken, plumpen Körper entsprechen kurze, dicke Extremitäten, die in den Gelenken eigentümlich starr abduziert stehen. Wiederum anders ist das Aussehen der Tiere in Gruppe *k* (Textabb. 5), welche eine eigentümliche Mischung von Kaulquappen- und Froschmerkmalen zeigen. Zunächst fällt an dem Tiere, dessen beide Vorderbeine völlig durchgebrochen sind, die stark larvale Maulbildung auf. An Stelle des normalen, leicht gebogenen Mundspaltes, wie er zum Beispiel in Textabb. 4 zu sehen ist, findet man hier noch Lippen mit Papillen und Hornzähnenrudimenten. Die Hornkiefer sind sogar noch sehr gut aus-

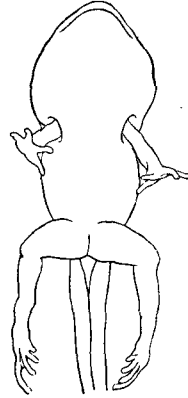
gebildet. Ferner tritt der dicke, rundliche Bauch hervor, an dem man häufig durch die dünne Hautdecke hindurch eine beträchtliche Diastase der beiden *M. recti* feststellen kann. Sehr merkwürdig ist auch die Ausbildung der Hinterbeine, die bei der Mehrzahl der Tiere



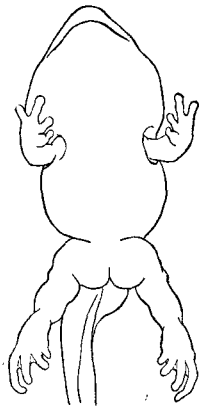
Textabb. 1.
Gr. a, Co.



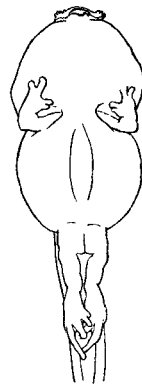
Textabb. 2.
Gr. f, Präp. A V.



Textabb. 3.
Präp. A VII.

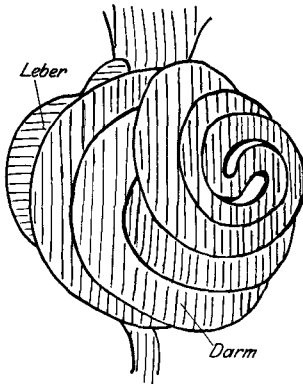


Textabb. 4.
Gr. h, Präp. A VIII.

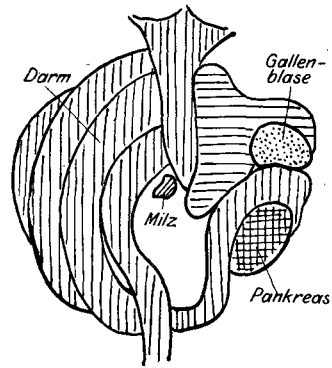


Textabb. 5.
Gr. k, Präp. A IX.

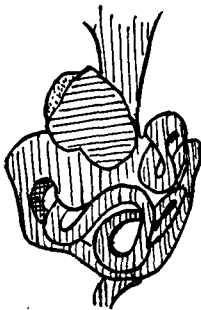
mit dem abgebildeten Falle übereinstimmt. Die an und für sich ganz gut differenzierten Extremitäten stehen starr nach abwärts gestreckt und zeigen — man beachte nur die kurzen Oberschenkel — in den Proportionen ihrer einzelnen Gliedabschnitte auffallende Missverhältnisse.



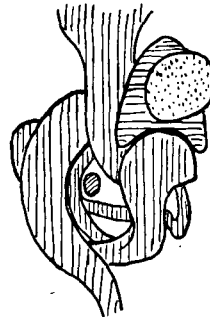
Textabb. 6a.
Gr. a. Co.



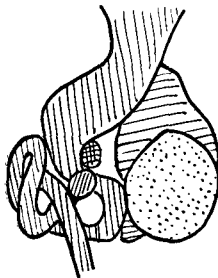
Textabb. 6b.
Gr. a. Co.



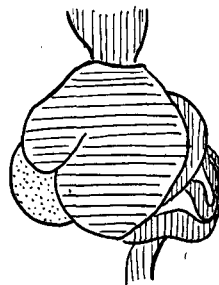
Textabb. 7a.
Gr. f, Präp. A V.



Textabb. 7b.
Gr. f, Präp. A V.



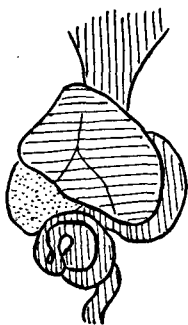
Textabb. 8b.
Gr. g, Präp. A VI.



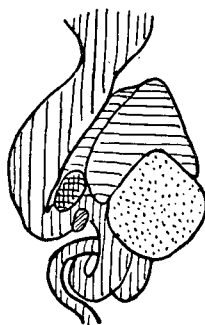
Textabb. 8a.
Gr. g, Präp. A VI.

Diesen bereits äusserlich feststellbaren Unterschieden entsprechen auch solche der Eingeweide. In den bei gleicher Vergrösserung wiedergegebenen Textabb. 6—11 sind die Umrisskonturen der aus der Leibeshöhle herauspräparierten Eingeweide schematisch in Ventral- und Dorsalansicht dargestellt. Bei Gruppe *a* (Textabb. 6 a und b) steht die mächtig ausgebildete Darmspirale (Darmtraktus senkrecht schraffiert) noch auf dem Höhepunkt ihrer Entwicklung. Die Leber (querschraffiert) ist in der Ansicht von vorne her durch sie fast völlig verdeckt. Wie die Ansicht von rückwärts her (Textabb. 6 b) aber zeigt, ist dieselbe indessen auch an und für sich noch nicht sehr umfangreich. Die Gallenblase (punktiert) ist nur mässig gefüllt. Dagegen ist der von der Gastroduodenalschleife umschlungene ventrale Pankreas- teil (gekreuzt schraffiert) sehr umfangreich. Am Magenrohr sieht man am Präparat selbst als geringe, weissliche, ringförmige Verdickung (Ruffini'sche Manschette) die Anlage der Magendrüsen. Eine stärkere Ausbuchtung in Form einer Magenblase ist noch nicht zu erkennen. Die Milz (schräg schraffiert) liegt als kleines Knötchen links neben dem Ösophagus. In Gruppen *b*, *c*, *d* und *e* stimmen die Verhältnisse mit den eben geschilderten völlig überein. Auf die Wiedergabe eigener Zeichnungen wurde daher verzichtet.

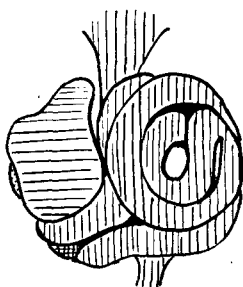
Ganz anders liegen die Verhältnisse dagegen bei den übrigen Gruppen *f*, *g*, *h*, *i* und *k* (vgl. Textabb. 8—10; Gruppe *i* wurde nicht abgebildet, da sie mit Gruppe *h* übereinstimmt). All diesen ist eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Reduktion des larvalen Darmes gemeinsam. Am weitesten ist diese bei den Gruppen *g* (Textabb. 8) und *h* (Textabb. 9) fortgeschritten. Bei Gruppe *f* (Textabb. 7) ist das Darmrohr zu einem ganz unregelmässigen Kónvolut zusammengeknäult, besitzt aber noch ziemliche Länge; bei Gruppe *k* (Textabb. 10) ist die Spirale noch recht regelmässig. Vergleicht man aber die Zahl ihrer Windungen mit jener eines normalen Tieres (Gruppe *a* Textabb. 6), so tritt die Längen- abnahme sichtlich hervor. Auch in der Magenausbildung machen sich offenkundige Unterschiede bemerkbar; so ist bei Gruppe *k* (Textabb. 10) schon eine deutliche Ausweitung des Rohres feststellbar. Noch besser ist die Magenblase bei den Gruppen *f* (Textabb. 7), *g* (Textabb. 8) und *h* (Text- abb. 9) ausgebildet. Recht erheblich sind fern erdie Unterschiede in den absoluten wie relativen Grössenverhältnissen der Leber. Bei Gruppe *f* (Textabb. 7) ist diese Drüse am kleinsten, in Gruppe *g* (Textabb. 8) erreicht sie dagegen ganz besonderen Umfang. Eine mittlere Stellung nimmt



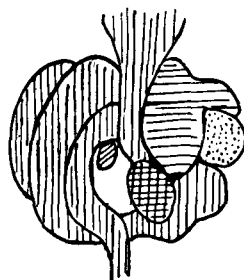
Textabb. 9a.
Gr. h, Präp. A VII.



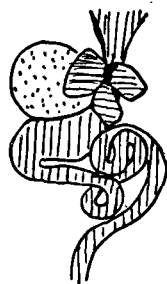
Textabb. 9b.
Gr. h, Präp. A VII.



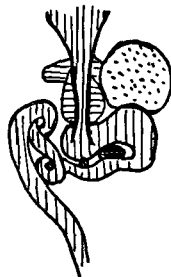
Textabb. 10a.
Gr. k, Präp. A IX.



Textabb. 10b.
Gr. k, Präp. A IX.



Textabb. 11a.



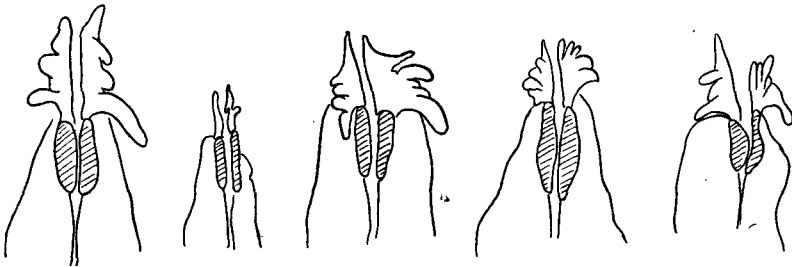
Textabb. 11b.

Metamorphosiertes, mit frischer Schilddrüse gefüttertes Tier.

sie bei Gruppen *h*, *i* und *k* ein. Die Gallenblase ist bei *h*, *i* und besonders bei *g* sehr stark angefüllt. Die Milz zeigt bei den einzelnen Gruppen in ihrer Grösse und äusseren Form keine wesentlichen Besonderheiten. Beträchtliche Unterschiede bestehen dagegen beim Pankreas, das bei Gruppen *g*, *h* und *i* zu einer kleinen Drüse reduziert ist, während bei den Gruppen *f* und *k* sogar der ventrale Teil noch gross und gut erhalten ist.

Zum Vergleich habe ich noch die Umrisskonturen eines metamorphosierten, vom 10. Tage an mit frischer Schilddrüse gefütterten Tieres beigelegt (Textabb. 11 a und b).

Die Unterschiede in der Ausbildung der Keimdrüsen gehen aus Textabb. 12 hervor, in der die Umrisse der Gonaden von Gruppen *a*, *f*,



Textabb. 12.

Gr. *a*, Co.Gr. *f*,
Präp. A V.Gr. *g*,
Präp. A VI.Gr. *h*,
Präp. A VII.Gr. *i*,
Präp. A IX.

g, *h* und *k* schematisch zusammengestellt sind. Die Drüsen der Gruppen *g* und *h* stimmen hinsichtlich ihrer Grösse mit denen der Kontrollgruppe ziemlich weitgehend überein, was deshalb auffallend ist, als man gewöhnlich bei Tieren mit äusserlich hervortretenden Thyreoidiasymptomen regelmässig verkleinerte Keimdrüsen mit ganz kleinen Fettkörpern vorfindet. Bei Gruppen *f* und *k* sind sie erheblich kleiner; allerdings ist dabei, besonders bei Gruppe *f*, auch die geringere Gesamtgrösse der Tiere in Rechnung zu ziehen, so dass auch hier nicht jene starke Hemmung hervortritt, wie sie bei reiner Jodthyreoglobulin- oder Jodothyreineinwirkung zustande kommt.

Somit ergibt sich, dass die Aceton- und Toluolextrakte der Schilddrüse weder auf die Entwicklung der äusseren Form noch der inneren Organe beschleunigend einwirken, während die Fraktionen des Alkohol-extraktes Erscheinungen hervorrufen, die mit den bei Verfütterung

von Schilddrüse auftretenden Symptomen zu vergleichen sind. Jedoch erreicht diese Entwicklungsbeschleunigung in keinem Falle jene Grade, welche man bei Einwirkung von frischer Schilddrüse oder von Jodthyreoglobulin auftreten sieht (vgl. auch meine Angaben im V. Teil meiner experimentellen Untersuchungen).

Die Intensität der Wirkung auf die Entwicklung ist bei den einzelnen Fraktionen des Alkoholextraktes sehr verschieden. Bei den Präparaten A VII, A VIII und A IX scheinen die Unterschiede jedoch weniger auf voneinander chemisch differenten, spezifisch wirksamen Substanzen zu beruhen, als vielmehr darauf, dass die Abtrennung der spezifisch entwicklungsbeschleunigend wirkenden Substanz nur unvollständig gelang, so dass diese einzelnen Fraktionen damit gewissermaßen noch verunreinigt waren. Es handelt sich also bei den genannten Gruppen, was die Entwicklungsbeschleunigung betrifft, mehr um quantitative als um qualitative Unterschiede.

Fraglich ist, wie der verschiedenartige Einfluss der einzelnen Fraktionen des Alkoholextraktes auf das Wachstum zu erklären ist. Jedenfalls geht aus den Versuchen hervor, dass die entwicklungsbeschleunigende Wirkung nicht notwendig mit einer wachstumshemmenden verknüpft zu sein braucht.

Versuch II.

Material: *Rana temporaria*-Kaulquappen aus einem Laichballen, der am 11. April 1917 auf dem Urmundstadium aus der Nähe Münchens eingebracht wurde.

Beginn des Versuches: 22. April 1917. Alter der Larven demnach etwa 18 Tage.

Durchschnittliche Grösse der Kaulquappen zu Versuchsbeginn: Gesamtlänge: 18,0; Rumpflänge: 6,8; Rumpfbreite 4,2.

Entwicklungsstadium: Junge, kräftige Kaulquappen, deren äussere Kiemen etwa 3 Tage vor Beginn des Versuches überwachsen waren. Tags vorher Durchbruch der Kloakenmembran.

Anzahl der Tiere: 13 Gruppen zu je 15 Larven.

Versuchsanordnung:

Gruppe a: Kontrolle. Normales Futter (Pflanzen, Piscidin);

„ b: Primärer Ätherextrakt. Fraktion A₁. Ätherunlöslicher Teil des Extraktes (Präparat B I);

„ c: „ „ Fraktion A₄. Azetonlöslicher Teil (Präparat B II);

„ d: „ „ Fraktion A₅. Alkoholunlöslicher Teil der acetonunlöslichen Fraktion (Präparat B III);

Gruppe e: Primärer Ätherextrakt. Fraktion A ₆ . Alkohollöslicher Teil der acetonunlöslichen Fraktion (Präparat B IV);			
"	f:	Sekundärer Alkoholextrakt B.	(Absol. Alkohol.) Fraktion B ₃ . Niederschlag des Alkoholextraktes. Wasserlöslicher Teil (Präparat B V);
"	g:	"	" B. Fraktion B ₄ . Desgleichen petrolätherlöslicher Teil (Präparat B VI);
"	h:	"	" B. Fraktion B ₅ . Ätherunlöslicher Teil des alkohollöslichen Extraktanteiles (Präp. B VII);
"	i:	"	" B. Fraktion B ₇ . Acetonunlöslicher Teil der ätherlöslichen Extraktfraktion (Präp. B VIII);
"	k:	"	" B. Fraktion B ₈ . Acetonlöslicher Teil der ätherlöslichen Extraktfraktion (Präp. B IX);
"	l:	Nachfolgender Extrakt C mit 96 % Alkohol	(Präp. B X);
"	m:	"	" D " 80 % " (Präp. B XI);
"	n:	"	" E " destill. Wasser (Präp. B XII).

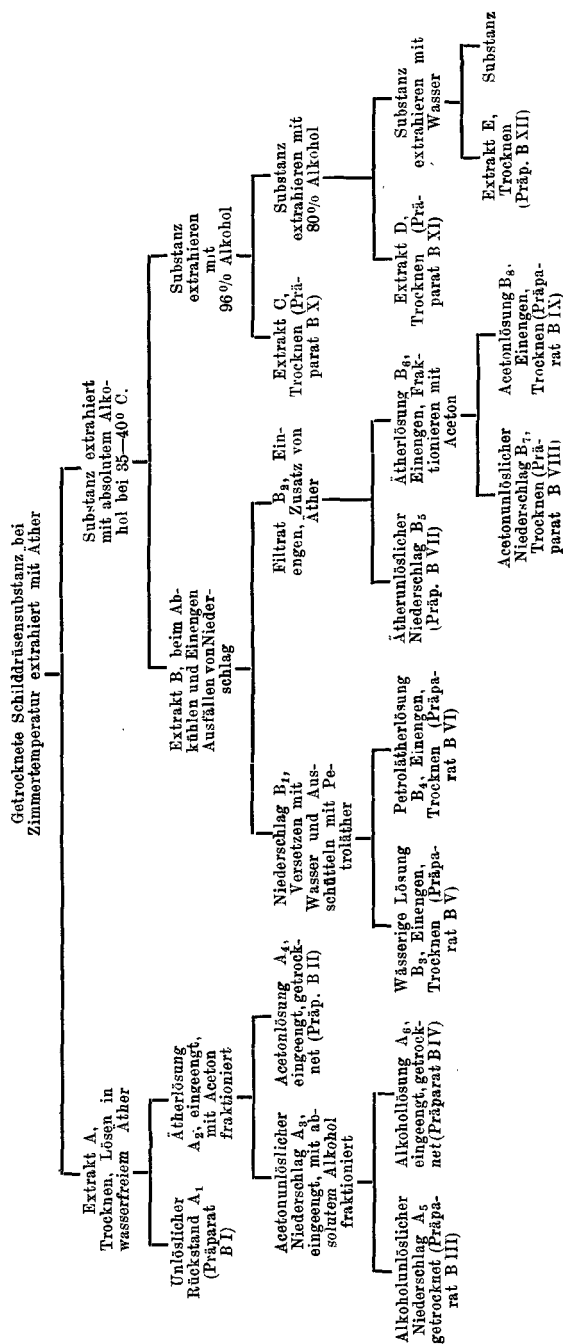
A. Herstellung der einzelnen Extrakte.

Die Gewinnung des zur Extraktion kommenden feinermahlenen Organpulvers erfolgt in gleicher Weise wie in Versuch I. Zur Darstellung der einzelnen Extrakte wurde nach der von Erlandsen zur Darstellung der lecithinartigen Substanzen des Herzmuskels eingeschlagenen Methode verfahren. Über den allgemeinen Gang der Extraktion gibt das nachfolgende Übersichtsschema II Aufschluss.

Im einzelnen gestaltete sich die Gewinnung der Präparate folgendermaßen:

I. Ätherextrakt A. Das obengenannte, im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure und Ätznatron gut getrocknete Organpulver wird mit reinem Schwefeläther übergossen und unter häufigem Umschütteln auf der Schüttelmaschine 7 Tage lang extrahiert. Der Ätherextrakt wird täglich abfiltriert und abgepresst, die Extraktion mit frischem Äther fortgesetzt. Die Extrakte sind zuerst ziemlich stark gelb gefärbt, werden aber schliesslich ganz farblos. Nach 7 Tagen wird die Substanz noch in dem von Wiechowski angegebenen Apparat (vgl. Handb. der biochem. Arbeitsmeth. Bd. III, S. 293) 24 Stunden lang extrahiert, ohne dass sich dabei jedoch noch nennenswerte Extraktmengen gewinnen liessen. Die einzelnen Filtrate, die jedesmal im Vakuum vom Äther befreit worden waren, werden schliesslich vereinigt. Die gelblichbraune, fettige Substanz von sirupartiger Beschaffenheit wird in wenig ganz reinem, wasserfreiem

Schema II.



Äther nochmals gelöst und zentrifugiert, wobei sich ein weisslich-bräunlicher, in wasserfreiem Äther unlöslicher Rückstand A_1 absetzt, der als Präparat B I bezeichnet wird.

Eigenschaften: Beim Trocknen im Vakuum nimmt die Substanz eine lehmartige Farbe und wachsartige Konsistenz an. In neutral reagierendem Wasser ist sie kaum löslich. Bei schwachem Ansäuern mit Essigsäure und gelindem Erwärmen löst sie sich zu einer leicht opaleszenten Flüssigkeit. Eiweisskochprobe: schwach positiv. Almèn: Vermehrung der Opalescenz, später feiner Niederschlag. Heller'sche Probe: schwache Ringbildung.

Bei Zusatz von stärker konzentrierter Natronlauge erfolgt völlige Klärung, auf nachfolgenden Zusatz von Salzsäure Ausfall von etwas flockigem Niederschlag, der sich beim Schütteln mit Äther löst. Schüttelt man etwas von der Substanz mit destilliertem Wasser und prüft das Filtrat davon mit $AgNO_3$, so tritt keine Trübung auf. Nach längrem Stehen nimmt die Substanz ranzigen Geruch an. Die Asche ist nur sehr gering; in ihrer wässrigen oder salpetersauren Lösung entsteht bei $AgNO_3$ -Zusatz nur schwache Opalescenz.

Die Substanz scheint neben Spuren von Eiweiss, die auf geringe Wasserbeimengung in den zur Extraktion verwendeten Äther zurückgehen dürften, noch Fette zu enthalten. Der Gehalt an anorganischen Salzen ist im Gegensatze zu dem Befunde Erlandsen's (beim Herzmuskel) nur gering.

Fraktionierung des gereinigten Ätherextraktes: Der klare, dunkelgelbe, stark konzentrierte Ätherextrakt A_2 wird unter Umschütteln mit der mehrfachen Menge Aceton versetzt, wobei ein feiner, weisslicher, sich am Glase absetzender und ein leicht bräunlich gefärbter, sich zusammenballender Niederschlag ausfällt. Nach 24stündigem Stehen bei $6^\circ C.$ wird dekantiert, der Rest zentrifugiert.

a) Acetonlöslicher Teil A_4 . Die vereinigte, mehrmals durch Barytfilter gegangene Acetonlösung trübt sich auch bei weiterem Acetonzusatz nicht mehr. Sie ist strohgelb gefärbt. Sie wird im Vakuum bei $35^\circ C.$ eingeengt und im Exsikkator über Paraffin und $CaCl_2$ getrocknet (Präparat B II).

Eigenschaften: Es ist eine orangegelb gefärbte, bei Zimmertemperatur halbflüssige, ölige Substanz in reichlicher Menge. Sie löst sich leicht in Chloroform, Benzol, Petroläther. In absolutem Alkohol erfolgt nur teilweise Lösung. Beim Schütteln mit Wasser nach Zusatz von alkoholischer NaOH-Lösung erfolgt Verseifung. Jedoch bleibt noch ein geringer unlöslicher Rückstand zurück. Bei Zusatz von HCl zur Seifenlösung fällt ein flockiger, in Äther löslicher Niederschlag aus. Akroleinprobe positiv. Die Hauptmenge der Acetonlösung besteht aus Fetten und Fettsäuren; dabei werden, wie aus der Konsistenz hervorgeht, besonders solche mit niedrigem Schmelzpunkt (Olein, Oleinsäure) einen bedeutenden Anteil haben.

Eine Probe des Extraktes wird durch halbstündiges Kochen mit alkoholischer NaOH verseift. Die Seifen werden durch $CaCl_2$ als wasserunlösliche Ca-Seifen ausgefällt. Sodann wird mit Äther ausgeschüttelt,

der Ätherextrakt getrocknet, mit Alkohol erwärmt und filtriert. Beim nachherigen Verdunsten des Alkohols scheiden sich typische Cholesterinkristalle aus, die unter dem Mikroskop mit H_2SO_4 die bekannte Reaktion geben. Ausser den Kristallen bleibt noch eine gelblich gefärbte geringe, etwas schmierige Substanz zurück, die sich in Alkohol nicht löst. Analogieschlüsse auf Grund der Untersuchungen Erlandsen's lassen an phosphorhaltige Stoffe denken.

b) Acetonunlöslicher Teil. Fraktionierung desselben mit absolutem Alkohol. Der obengenannte acetonunlösliche Niederschlag A_3 wird ohne Trennung in seine beiden verschieden aussehenden Bestandteile rasch getrocknet und mit etwas Äther versetzt, wobei völlige Lösung eintritt. Sodann wird die vier- bis fünffache Menge von absolutem Alkohol zugesetzt, wobei es zu sofortiger Niederschlagsbildung kommt. Nach 24 stündigem Stehen im Eisschrank wird filtriert.

a) Alkoholunlöslicher Teil A_5 . Der sich bildende Niederschlag hat auch diesmal zweierlei Erscheinungsformen; zum Teil ist er eine sehr feine, sich nur etwas absetzende, weissliche Substanz, zum Teil eine bräunlich gefärbte, sich zusammenballende Masse. Der abgetrennte, vereinigte Niederschlag hat in feuchtem Zustand eine ocker-gelbe Farbe. Es wird in etwas wasserfreiem Äther gelöst, was sehr leicht vor sich geht, die Lösung nochmals filtriert, mit Aceton gefällt, abentrifugiert und über Schwefelsäure getrocknet (Präparat B III).

Erlandsen konnte den auf analoge Weise aus Herzmuskelgewebe gewonnenen Niederschlag durch Lösen in heissem Alkohol ($60^{\circ} C.$) nochmals in zwei Fraktionen zerlegen, von welchen der alkoholunlösliche Teil das von ihm so benannte Cuorin darstellt. Der Gewinn an dieser Substanz scheint beim Herzmuskel bedeutend reichlicher zu sein. Denn bei Verarbeitung von Schilddrüsengewebe war die Ausbeute an in kaltem Alkohol unlöslicher Substanz so gering, dass ich die weitere Fraktionierung mit heissem Alkohol unterlassen musste, um noch genügend Material zur Verfütterung zu haben. An einer kleinen Probe konnte ich mich aber überzeugen, dass sich auch die aus der Schilddrüse gewonnene, alkoholunlösliche Extraktfraktion nach der Erlandsen'schen Methode noch weiter zerlegen lässt. Inwieweit die in ihr enthaltene Substanz mit dem Erlandsen'schen Cuorin identisch ist, wäre erst durch genaue chemische Analysen festzustellen.

Eigenschaften des Präparates B III: Die getrocknete Substanz ist gelbbraun gefärbt, durchscheinend und von harter, spröder Konsistenz. In destilliertem Wasser ist sie bei neutraler Reaktion nicht völlig klar löslich. Bei NaOH-Zusatz bräunt sich die wässrige gelbliche Lösung unter völliger Klärung. In Äther ist die Substanz sehr leicht löslich, ebenso in Chloroform und Petroläther. Nach längerem Aufbewahren nimmt die Löslichkeit in Chloroform ab. In Alkohol ist die Substanz nur in Spuren löslich.

β) Alkohollöslicher Teil A_6 . Das Filtrat ist hellgelb gefärbt. Es wird im Vakuum eingengt, wobei sich gelbliche, gerinnselartige Ausfällungen absetzen. Nach völligem Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum wird die Substanz nochmals in etwas wasserfreiem Alkohol ge-

löst, die Lösung mit Aceton gefällt, zentrifugiert und der Niederschlag im Vakuum wieder getrocknet (Präparat B IV).

Es ist eine zähe, dunkelgelbe Substanz. Die alkoholische Lösung gibt, mit destilliertem Wasser geschüttelt, eine milchige, dauerhafte Emulsion. In Alkohol, Äther, Petroläther und Chloroform ist die Substanz leicht löslich. Auf Platinchloridzusatz entsteht ein weisser Niederschlag, ebenso auf Zusatz von Cadmiumchloridlösung. Erlandsen bezeichnete die in analoger Weise aus dem Herzmuskel gewonnene Substanz als Lecithin. Die Eigenschaften des aus der Schilddrüse gewonnenen Stoffes stimmen in vieler Beziehung mit den von Erlandsen erhaltenen überein.

II. Alkoholextrakt B (gewonnen mit wasserfreiem Alkohol). Nach der Ätherextraktion wird das Organpulver zunächst getrocknet und sodann mit absolutem Alkohol übergossen. Die Extraktion erfolgt unter häufigem Umschütteln in einem auf 37° C. erwärmten Thermostaten. Der Alkohol wird täglich in der Wärme abfiltriert und durch frischen ersetzt. Die Filtrate werden sogleich bei 37° C. im Vakuum eingeeengt und immer mit jenen der vorausgegangenen Tage vereinigt. Nach 14 tägiger Extraktion wird dem Organpulver nur mehr äusserst wenig Substanz entzogen. Auch die daran anschliessende 48 stündige Extraktion im Wiechowski-Apparat ergibt nur mehr ganz geringe Ausbeute.

Beim Einengen der einzelnen Filtrate setzen sich am Kolbenglas weisslich-bräunliche Substanzen ab, welche sich auch in frischem Alkohol nicht mehr lösen, während sie mit Wasser sehr rasch eine etwas trübe Flüssigkeit geben. Auch beim Stehen der vereinigten, stark konzentrierten Alkoholextrakte im Eisschrank scheidet sich noch ein weisslicher Niederschlag aus, der abgetrennt wird. Im Gegensatz zu dem ersterwähnten löst sich dieser in frischem, auf 37° C. erwärmten Alkohol, um bei neuerlichem Konzentrieren und Abkühlen wieder auszufallen. Dieser Prozess wird nochmals wiederholt. Schliesslich werden sämtliche Niederschläge vereinigt und mit eisgekühltem absolutem Alkohol gewaschen. Die Waschkalkohole werden im Vakuum konzentriert und zur Alkohollösung gegeben.

1. Niederschlag B₁ des Gesamtalkoholextraktes. Die vereinigten Niederschläge werden im Vakuumexsikkator getrocknet und die dabei erhaltene hellbräunliche und ziemlich harte Substanz in etwas Wasser gelöst. Die trübe, leicht bräunlich gefärbte Flüssigkeit wird mit Petroläther mehrmals ausgeschüttelt; im Gegensatz zur analogen Fraktion des zu Versuch I benützten Extraktes löst sich die beim Schütteln entstehende Emulsion sehr rasch.

a) Wasserlöslicher Teil B₂ (Präparat B V). Der wasserlösliche, etwas bräunlich gefärbte Anteil klärt sich nach mehrmaligem Ausschütteln allmählich. Er wird abgetrennt und im Vakuum getrocknet. Es resultiert eine harte, hellbraune, amorphe Substanz. Dieselbe ist unlöslich in Alkohol, Chloroform, Petroläther und Benzol. In destilliertem Wasser löst sie sich rasch; doch ist die Lösung nicht ganz klar. Die wässrige Lösung schmeckt stark salzig. Beim Erhitzen der

Substanz entweichen weissliche, starkkriechende Dämpfe. Beim Veraschen bleibt eine relativ grosse Menge einer weissen Asche zurück, welche sich in Wasser fast völlig löst. Die Lösung gibt, mit AgNO_3 versetzt, einen reichlichen, grossflockigen, weisslichen Niederschlag, der sich in HNO_3 nur teilweise löst. Die Fraktion B_3 besteht zum grossen Teil aus anorganischen Salzen (Chloriden).

b) Petrolätherlöslicher Teil (Präparat B VI). Nach Abdestillieren des Petroläthers und Trocknen im Vakuumexsikkator über Paraffin bleibt ein geringes, weissliches Pulver zurück, das sich fettig anfühlt. In Chloroform und Äther ist es gut löslich, in Wasser löst es sich zu einer stark opaken Flüssigkeit.

2. Alkohollöslicher Teil B_2 des Gesamtalkohol-extraktes. Der klare, dunkelgelb gefärbte, stark konzentrierte Extrakt wird mit der mehrfachen Äthermenge versetzt, worauf ein feiner, weisslicher und etwas flockiger, hellbräunlicher Niederschlag ausfällt. Nach 24stündigem Stehen bei 0°C . hat sich der erstere am Boden abgesetzt, während die flockige Ausfällung darüberliegt. Die klare Lösung wird dekantiert, der Bodensatz zentrifugiert und der Abguss mit der Lösung vereinigt.

a) Ätherunlöslicher Teil B_5 (Präparat B VII). Der abgetrennte Gesamtniederschlag wird im Vakuumexsikkator zu einem weisslichen, weichen, mehligten Pulver getrocknet, das sich in Wasser unter leichtem Aufschäumen zu einer trüben, emulsionsartigen Flüssigkeit löst. Bei Zusatz von NaOH zur wässerigen Lösung scheidet sich ein weisslicher, flockiger, am Glase klebender Niederschlag ab. In Chloroform und Petroläther löst sich die Substanz nur zum geringen Teil. Beim Veraschen erhält man nur sehr wenig weissliche Asche. In ihrer wässerigen, abfiltrierten Lösung bildet sich bei AgNO_3 -Zusatz ein sehr reichlicher, grünlich-weiss gefärbter, flockiger Niederschlag, der nur zum Teil in HNO_3 löslich ist.

b) Ätherlösung B_6 . Dieselbe wird stark eingeengt und zentrifugiert. Der klare Abguss wird mit der mehrfachen Menge Aceton versetzt, worauf sich ein flockiger, sich nur sehr langsam absetzender Niederschlag ausscheidet. Nach 24 stündigem Stehen im Eisschrank klebt er als bräunlich-weiße Substanz zäh am Glase.

c) Acetonunlösliche Fraktion B_7 (Präparat B VIII). Der Niederschlag wird nach Abgiessen des klaren Extraktes mit Aceton gewaschen, das Aceton verjagt, in Äther gelöst, nochmals mit Aceton gefällt und im Exsikkator getrocknet. Es resultiert eine bräunliche Substanz von spröder, nicht sehr harter Konsistenz. Die Menge ist nur sehr gering. In Chloroform ist sie leicht löslich, in Petroläther fast unlöslich; ebenso löst sie sich in Alkohol nur teilweise. In Wasser löst sie sich unter langsamer Quellung zu einer nicht ganz klaren, schwach-bräunlichen Flüssigkeit. Bei Ammoniakzusatz geht die Lösung rascher vor sich.

d) Acetonlöslicher Teil B_8 (Präparat B IX). Die klare, goldgelbe Acetonlösung wird im Vakuum eingeengt und getrocknet. Es bleibt eine reichliche, orangebraun gefärbte, durchscheinende Substanz

von zäher Konsistenz zurück, die sich fettig anfühlt. In Alkohol, Chloroform, Äther und Aceton ist sie leicht und klar löslich. In Petroläther löst sie sich bis auf einen feinen Niederschlag. In Wasser bildet sie langsam eine gelblich gefärbte, emulsionsartige Lösung. Bei NaOH-Zusatz entsteht eine schäumende Seifenlösung, in der bei CaCl_2 -Zusatz reichliche Mengen von Kalkseifen ausfallen. Beim nachfolgenden Ausschütteln mit Äther gehen unverseifte Substanzen in den Äther über. Beim Veraschen einer Extraktprobe bleibt nur äusserst wenig Asche zurück, deren wässrige Lösung mit AgNO_3 keinen Niederschlag gibt.

III. Alkoholextrakt C (gewonnen mit 96 % Alkohol). Nach der 16 tägigen Extraktion mit absolutem Alkohol wird das Organpulver zunächst wieder getrocknet und daran anschliessend mit 96 % Alkohol übergossen. Derselbe färbt sich nur ganz schwach gelblich. Die Extraktion wird 4 Tage lang fortgesetzt, die einzelnen Extrakte filtriert und vereinigt. Am 4. Tag ist der erhaltene Extrakt völlig farblos. Der Gesamtextrakt wird im Vakuum eingeeengt und schliesslich getrocknet. Die Ausbeute ist nur sehr gering. Es bleibt eine sehr harte, hellbraune, amorphe Substanz zurück (Präparat B X).

Die Substanz löst sich in destilliertem Wasser bei neutraler Reaktion nicht vollkommen klar; bei schwach alkalischer Reaktion tritt Klärung ein. Das Almèn'sche Reagens gibt nach mehrstündigem Stehen schwache Trübung, ebenso die Ferrocyankaliumprobe. Beim Kochen nach Natriumsulfatzusatz und Ansäuern mit Essigsäure entsteht keine Trübung, dagegen treten feine Fädchen auf. Die Biurettreaktion ist negativ. Bei Zusatz des Millon'schen Reagens bildet sich ein reichlicher, gelblich-rötlicher Niederschlag, der im Überschuss löslich ist. Ebenso löst er sich beim Erwärmen völlig. Beim Erkalten stellt sich eine ganz geringe Trübung ein. Nach Zusatz des Sonnenschein'schen Reagens tritt kein Niederschlag ein, und die Lösung färbt sich sehr rasch dunkelgrün.

IV. Alkoholextrakt D (gewonnen mit 80 % Alkohol). Nach der Extraktion des Organpulvers mit 96 % Alkohol wurde dieselbe mit 80 % Alkohol fortgesetzt. Dabei färbt sich der Alkohol während der ersten Tage wieder stark gelb. Die Extraktion wird so lange fortgesetzt (12 Tage), bis die Extraktionsflüssigkeit farblos wird und nur mehr Spuren von Substanz enthält. Die Filtrate werden gesammelt und im Vakuum zu einem dickflüssigen, braungelb gefärbten, leicht getrübbten Sirup eingeeengt. Derselbe hat schwach saure Reaktion. Allmählich dickt er zu einer sehr zähen, dunkelbraunen Masse ein (Präparat B XI).

Eigenschaften: Die Substanz löst sich in absolutem Alkohol nur sehr wenig. In Chloroform, Äther, Petroläther und Aceton lösen sich nur sehr geringe Spuren. In 80 % Alkohol und in destilliertem Wasser geht sie leicht in Lösung. Die wässrige Lösung ist nicht vollkommen klar; die Trübung verschwindet beim Ausschütteln mit Äther, wobei sich der Äther leicht gelblich färbt.

Beim Kochen der wässrigen Lösung und Zusatz von Na_2SO_4 sowie Ansäuern mit Essigsäure entsteht eine geringe Trübung. Auch bei Zusatz von Ferrocyankalium und Ansäuern mit Essigsäure tritt in der

wässerigen Lösung eine geringe Trübung auf. Das Almèn'sche Reagens ruft sehr starke Opalescenz hervor. Bei Sättigung mit Ammonsulfat entsteht eine deutliche Opalescenz, nach einigen Stunden ein ganz feiner Niederschlag. Biuretreaktion: negativ; die Millon'sche Reaktion ist schwach, aber deutlich positiv. Bei Zusatz des Sonnenschein'schen Reagens reichlicher Niederschlag.

V. Wässeriger Extrakt E. Nach Erschöpfung des Organpulvers mit 80 % Alkohol wird dasselbe durch den Luftstrom getrocknet und sodann mit destilliertem Wasser ausgezogen. Die Extrakte sind stark gelb gefärbt und beinahe ganz klar. Nach sorgfältiger Filtration werden die mit mehrmals erneuertem Wasser hergestellten und sodann vereinigten wässerigen Extrakte im Vakuum bei 39° C. eingeeengt und schliesslich zu einer fahlbraunen, festen Substanz getrocknet (Präparat B XII).

Eigenschaften: In Wasser ist die Substanz leicht löslich; in absolutem Alkohol lösen sich nur Spuren, ebenso in Petroläther und Chloroform. Durch absoluten Alkohol wird aus der wässerigen Lösung ein reichlicher, weisser, flockiger Niederschlag gefällt, ebenso durch Ammonsulfat. Biuretreaktion, Millon'sche Reaktion, Almèn'sche Reaktion, Heller'sche Reaktion, Schwefelbleireaktion, Xanthoproteinreaktion, Kochprobe, Ferrocyankaliumprobe sämtlich stark positiv.

B. Versuchsprotokoll.

Von den beschriebenen einzelnen Präparaten werden zur Fütterung kleine Stückchen mit 1 ccm 96 %igen Alkohols eventuell unter Zusatz von etwas Wasser mit etwas Piscidin fein verrieben und sodann in die betreffenden Zuchtschalen gespült. Die erste Extraktfütterung erfolgt am 22. April 1917. Das Wasser wird nach jeder Extraktverabreichung am nächstfolgenden Tag erneuert.

27. April. Zweite Extraktfütterung.

29. April. Bei den Tieren der Gruppe *n* lässt sich eine deutliche Beschleunigung im Wachstum der Extremitätenanlagen feststellen. Sie sind hier etwa doppelt so gross als bei den Kontrolltieren. In den übrigen Gruppen nichts Besonderes.

4. Mai. Dritte Extraktfütterung.

7. Mai. Vierte Extraktfütterung.

15. Mai. Die Larven der Gruppen sind im Gesamtwachstum erheblich zurückgeblieben; die Hinterbeine sind bei ihnen dagegen grösser und vor allem viel weiter differenziert als in der Kontrollgruppe. An den Fresswerkzeugen sind starke Reduktionsprozesse zu beobachten. Auch Gruppe *m* zeigt Symptome von Entwicklungsbeschleunigung; doch sind sie hier bedeutend schwächer. Noch ge-

Tabelle 4.

Gruppe a: Kontrolle				Gruppe b: Präp. BI				Gruppe c: Präp. BII				Gruppe d: Präp. BIII			
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge
27,8	9,5	5,6	18,3	26,2	9,2	5,4	17,0	25,0	8,6	4,9	16,4	26,5	8,7	5,0	17,8
29,9	9,7	5,8	20,2	26,4	8,8	5,5	17,6	25,5	9,4	5,0	16,1	27,7	9,2	5,5	18,5
30,2	10,0	6,6	20,2	28,8	9,0	5,8	19,8	26,7	9,6	5,5	17,1	28,2	10,4	5,6	17,8
32,5	11,4	6,1	21,1	29,4	9,5	5,4	19,9	28,7	9,6	5,9	19,1	29,8	10,4	5,5	19,4
33,0	12,0	6,8	21,0	29,5	10,0	6,1	19,5	28,8	10,0	5,6	18,8	30,0	10,0	6,1	19,9
33,5	11,8	6,8	21,7	29,8	9,8	5,9	20,0	29,0	10,0	6,0	19,0	30,0	10,4	6,1	19,6
33,6	11,2	6,5	22,4	30,2	10,0	5,9	20,2	29,2	9,8	5,5	19,4	30,5	10,2	5,7	20,3
34,0	11,5	6,6	22,5	30,5	9,9	5,5	20,6	29,8	10,2	5,5	19,6	30,9	10,4	6,5	20,5
35,2	11,9	6,5	23,3	30,8	10,5	6,8	20,3	30,2	11,0	6,2	19,2	31,0	12,6	7,1	19,4
35,8	12,6	6,6	23,2	31,2	10,9	6,2	20,3	30,7	10,4	5,6	20,3	33,5	10,9	6,0	22,6
37,0	12,6	6,8	24,4	32,4	11,0	5,9	21,4	30,8	10,8	5,9	20,0	33,5	11,5	7,0	22,0
39,5	13,2	7,1	26,3	34,0	11,5	7,0	22,5	31,2	11,4	6,6	19,8	33,6	11,5	6,7	22,1
—	—	—	—	34,6	11,9	7,0	22,7	31,5	10,4	6,4	21,1	34,0	12,0	7,1	22,0
—	—	—	—	35,9	12,0	6,6	21,9	33,1	10,9	6,5	22,2	34,3	11,7	6,6	22,6
33,5	11,4	6,5	22,1	30,7	10,3	6,1	20,4	29,3	10,1	5,8	19,2	31,0	10,7	6,1	20,3

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Gruppe e: Präp. B IV				Gruppe f: Präp. B V				Gruppe g: Präp. B VI				Gruppe h: Präp. B VII			
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge
26,0	9,0	5,2	17,0	28,0	9,6	5,4	18,4	27,8	9,9	6,0	17,9	28,2	9,6	5,1	18,6
26,7	9,4	5,4	17,3	29,0	10,4	5,5	18,6	29,0	10,3	6,0	18,7	29,5	10,4	5,9	19,1
27,5	9,0	5,7	18,5	30,7	11,2	6,5	19,5	30,5	10,0	6,0	20,5	29,6	10,5	6,0	19,1
29,7	9,7	5,7	20,0	31,0	10,6	6,5	20,4	30,6	10,4	6,0	20,2	29,7	10,0	5,5	19,7
30,0	10,2	5,9	19,8	31,2	10,8	5,8	20,4	31,0	11,0	6,6	20,0	30,0	10,5	6,6	19,5
30,7	10,8	6,4	19,9	32,0	10,8	5,8	21,2	31,2	10,7	6,4	20,5	30,3	10,5	6,0	19,8
30,8	10,0	5,8	20,8	33,2	10,6	6,0	22,6	31,3	10,9	6,5	20,4	30,6	10,6	6,0	20,0
31,0	10,2	6,0	20,8	34,5	12,0	6,8	22,5	32,4	10,7	6,7	21,7	31,3	10,9	5,8	20,4
31,8	10,4	6,2	21,4	35,5	12,2	6,8	23,3	35,0	11,6	6,8	23,4	32,0	10,4	5,8	21,6
31,8	10,8	6,0	21,0	36,8	12,7	7,4	24,1	35,0	12,4	6,4	22,6	32,5	11,9	6,8	20,6
31,8	11,0	6,7	20,8	37,2	12,8	7,5	24,4	35,2	12,6	7,0	22,6	33,0	11,0	6,4	22,0
32,6	11,6	7,0	21,0	37,5	12,4	7,5	25,1	35,4	11,6	7,0	23,8	34,0	12,1	7,0	21,9
33,1	11,4	6,4	21,7	40,5	13,5	7,8	27,0	36,5	12,1	7,5	24,4	34,7	11,3	6,4	23,4
33,2	10,9	6,3	22,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33,2	11,4	6,8	21,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30,7	10,4	6,1	20,3	33,6	11,5	6,6	22,1	32,4	11,1	6,5	21,3	31,2	10,7	6,1	20,5

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Gruppe i: Präp. B VIII				Gruppe k: Präp. B IX				Gruppe l: Präp. B X				Gruppe m: Präp. B XI				Gruppe n: Präp. B XII			
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Rumpf- breite	Schwanz- länge
26,7	8,7	5,5	18,0	28,1	9,4	5,2	18,7	28,5	9,5	5,5	19,0	25,0	8,5	5,0	16,5	20,0	7,5	4,0	12,5
28,7	10,4	6,3	18,3	29,0	9,6	6,0	19,4	29,1	9,5	5,5	19,6	26,2	8,5	5,1	17,7	23,5	7,9	4,8	15,6
28,8	9,9	6,0	18,9	29,1	9,8	5,6	19,3	29,2	9,2	5,8	20,0	26,2	8,7	5,2	17,5	23,5	8,1	4,5	15,4
29,6	10,0	6,0	19,6	29,2	10,4	5,9	18,8	29,4	10,2	6,0	19,2	27,3	9,5	5,1	17,8	24,0	8,0	4,6	16,0
30,0	10,1	6,1	19,9	29,5	10,1	6,1	19,4	29,5	9,2	5,4	20,3	27,6	9,5	5,0	18,1	24,0	8,1	4,5	15,9
30,0	10,2	5,8	19,8	29,9	10,2	6,5	19,7	29,8	9,4	5,2	20,4	28,0	9,6	5,8	18,4	24,0	8,2	4,6	15,8
30,0	10,6	6,3	19,4	30,0	9,9	5,9	20,1	30,0	9,9	5,7	20,1	28,5	9,7	5,0	18,8	24,8	9,0	5,0	15,8
30,2	10,5	6,3	19,7	31,0	11,4	6,4	19,6	31,2	10,2	5,7	21,0	28,9	8,9	5,9	20,0	25,0	8,5	5,0	16,5
31,1	10,1	5,7	21,0	31,4	10,5	6,0	20,9	31,5	10,1	6,5	20,4	29,0	9,6	6,1	19,4	27,5	8,6	5,3	18,9
32,2	11,0	6,4	21,2	31,5	10,9	6,0	20,6	31,5	10,5	6,0	20,4	30,5	9,9	5,5	20,6	27,5	9,0	5,0	18,5
33,9	11,1	6,0	22,8	31,5	10,7	6,0	20,8	32,0	10,5	5,4	21,5	31,0	10,0	6,1	21,0	27,5	9,1	5,1	18,4
34,0	11,7	6,5	22,3	31,7	11,2	6,2	20,5	32,6	10,0	5,6	22,6	31,3	10,0	6,1	21,3	27,7	9,4	5,3	18,3
35,0	11,5	7,0	23,5	34,0	10,9	6,4	23,1	34,1	10,8	6,7	23,3	31,5	10,4	6,4	21,1	27,8	9,5	5,6	18,3
—	—	—	—	—	—	—	—	35,0	11,8	6,5	23,2	31,9	11,6	6,5	20,3	—	—	—	—
30,8	10,4	6,1	20,4	30,5	10,4	6,0	20,1	30,9	10,1	5,9	20,8	28,8	9,6	5,6	19,2	25,1	8,5	4,9	16,6

ringer sind sie bei Gruppe *l*. Von den übrigen Gruppen lässt nur noch Gruppe *b* eine geringe Beschleunigung der Entwicklung erkennen; die hinteren Extremitäten zeigen hier Differenzierung in Ober- und Unterschenkelanlage, während sie bei der Kontrollgruppe noch völlig ungegliedert sind.

16. Mai. Fünfte Extraktfütterung.

19. Mai. Sämtliche Tiere werden photographiert und gemessen (vgl. Tab. 4 [S. 454—456] und Tafel II Abb. 14—26).

Unter Zugrundlegen der Anfangsgrößen zu Beginn des Versuches ergibt sich daraus für das Wachstum folgende Reihenfolge (vgl. Tab. 5).

Tabelle 5.

Wachstum vom 22. April 1917 bis 19. Mai 1917.

Gruppe	Präparat	Gesamtlänge	Rumpflänge	Rumpfbreite
<i>f</i>	B V	15,6	4,7	2,4
<i>a</i>	Kontr.	15,5	4,6	2,3
<i>g</i>	B VI	14,4	4,3	2,3
<i>h</i>	B VII	13,2	3,9	1,9
<i>d</i>	B III	13,0	3,9	1,9
<i>i</i>	B VIII	12,8	3,6	1,9
<i>e</i>	B IV	12,7	3,6	1,9
<i>b</i>	B I	12,7	3,5	1,9
<i>k</i>	B IX	12,5	3,6	1,8
<i>l</i>	B X	12,9	3,3	1,7
<i>c</i>	B II	11,3	3,3	1,6
<i>m</i>	B XI	10,8	2,8	1,4
<i>n</i>	B XII	7,1	1,7	0,7

Darnach stimmt die Wachstumsgrösse der Gruppen *f* und *g* mit jener der Kontrollgruppe ziemlich überein; etwas geringer ist sie dagegen bei den Gruppen *h*, *d*, *i*, *e*, *b* und *k*; dann folgen die Gruppen *l*, bei der man hauptsächlich die Rumpffaasse berücksichtigen muss, und *c*. An letzter Stelle kommen Gruppen *m* und *n*, von denen besonders die letztgenannte im Wachstum sehr stark zurückgeblieben ist, während die Entwicklung hier am stärksten beschleunigt ist (vgl. Abb. 26). Die Hinterbeine sind bei den Tieren dieser Gruppe weit aus am besten differenziert. Die Flossensäume des Ruderschwanzes sind verschmälert, an einzelnen Schwanzspitzen treten Einschmelzungsprozesse auf. Die Tiere sind sehr dunkel pigmentiert. Die Seitenkontur des Rumpfes ist geigenförmig, der Kopf froschartig. Die Lippen sind sehr schmal, die Hornhäkchen völlig verschwunden, von den Horn-

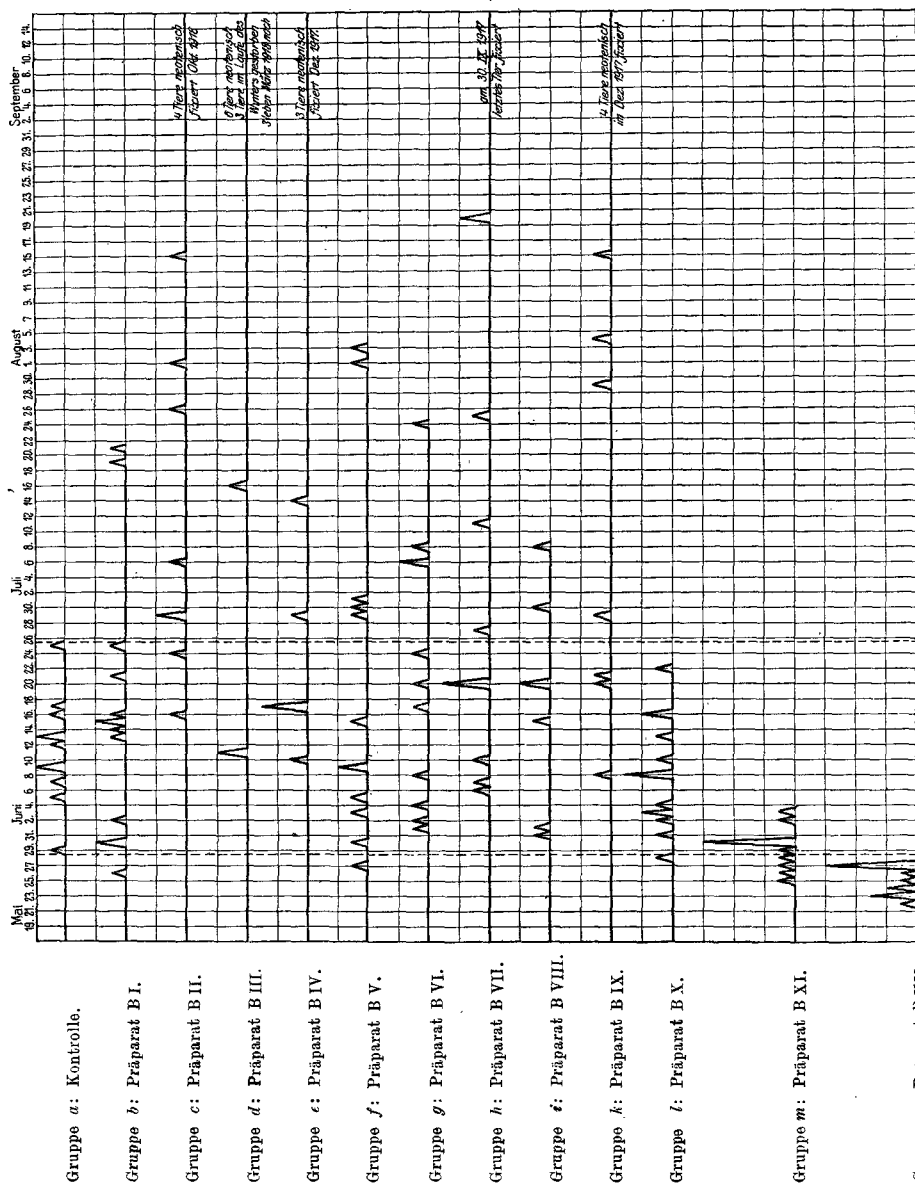
kiefer stehen bestenfalls noch einzelne rudimentäre Reste. In Gruppe *m* (Abb. 25) sind all diese Reduktionserscheinungen erst in schwächerem Grade entwickelt. Die Hornkiefer sind hier noch vollständig erhalten, die Lippen zwar verschmälert, im übrigen aber noch mit Papillen und Epithelleisten versehen; die Hornhäkchen sind dagegen schon stark vermindert. Die seitliche Einschnürung des Rumpfes ist hier erst ganz schwach bemerkbar. Die Hinterbeine sind bei der Mehrzahl der Tiere noch erheblich kleiner als bei Gruppe *n*. Wiederum um einen Grad schwächer sind die Thyreoidea-fütterungssymptome bei Gruppe *l* (Abb. 24) ausgeprägt. Die Verschmälерung des Rumpfes ist noch geringer; und wenn Wachstum und Differenzierung der Hinterbeine gegenüber dem Entwicklungsstande in Gruppe *a* zwar deutlich beschleunigt ist, so ist es in der Stärke aber doch weit hinter Gruppe *n* zurückgeblieben. Bei den Tieren der Gruppe *l* sind auch die Hornhäkchen auf den Lippen noch gut erhalten. Von den übrigen Gruppen zeigt nur noch Gruppe *b* (Abb. 15) eine geringe Entwicklungsbeschleunigung. Die übrigen Gruppen *c*—*k* sind dagegen in der Entwicklung sogar hinter der Kontrollgruppe zurückgeblieben (vgl. Abb. 16—23 und Abb. 14: Kontrollgruppe). Besonders in Gruppen *c* und *k* ist diese Hemmung sehr ausgesprochen.

20. Mai. Bei zwei Tieren der Gruppe *n* ist je eine vordere Extremität durchgebrochen.

22. Mai. Sechste Extraktfütterung. Weitere Verabreichungen finden am 26. Mai, 29. Mai, 4. Juni, 9. Juni, 16. Juni und zum zwölften Male am 23. Juni statt.

Am 22. Mai hat das erste Tier in Gruppe *n* seine Metamorphose beendet. Die von nun an folgenden Metamorphosen sind wieder in Kurvenform zusammengestellt (vgl. Kurve II).

Diese Kurve führt die starke Entwicklungsbeschleunigung der Gruppe *n* recht deutlich vor Augen. Nach ihr kommt die Gruppe *m*, die ebenfalls noch einen erheblichen Vorsprung vor der Kontrollgruppe hat. Viel geringer ist die Beschleunigung in Gruppe *l*; die Periode der Metamorphose ist hier nur um einige wenige Tage vor der normalen beendet, und da auch der Beginn der Metamorphose nur sehr wenig eher fällt als bei der Kontrollgruppe, so ist der Unterschied gegenüber den Normaltieren ziemlich unbedeutend. In Gruppe *b* tritt die Metamorphose nur bei einigen Tieren etwas früher ein; bei anderen ist sie dagegen sogar etwas über den normalen



ist diese bei den Gruppen *c*, *k* und *d*, bei denen eine grosse Zahl von Larven neotenisch bleibt.

Somit ergibt sich aus diesem Versuch, dass die Fraktionen des primären, bei Zimmertemperatur gewonnenen, wasserfreien Ätherextraktes der Schilddrüse im Gegensatze zu frisch verfütterter Schilddrüse den Eintritt der Metamorphose sehr stark verzögerten. Die gleiche entwicklungshemmende Wirkung lösen die Fraktionen des sekundären, bei 37° C. mit wasserfreiem Alkohol gewonnenen Extraktes aus. Besonders lange wird die Metamorphose durch Einwirkung der acetonlöslichen und der alkoholunlöslichen Fraktion des Ätherextraktes hintangehalten, ebenso durch die acetonunlösliche Fraktion des Alkoholextraktes. Sämtliche Extrakte, mit Ausnahme der beiden alkoholunlöslichen Fraktionen des Alkoholextraktes, wirken auch etwas wachstumshemmend.

Ganz anders ist der Einfluss der Alkoholextrakte, welche mit wasserhaltigem Alkohol gewonnen wurden. Dieselben wirken sowohl entwicklungsbeschleunigend wie wachstumshemmend, und zwar nimmt die Wirkung mit steigendem Wassergehalt zu. Schon der mit 96 % Alkohol gewonnene Extrakt ruft eine deutliche, wenn auch verhältnismässig schwache Entwicklungsbeschleunigung hervor. Erheblich stärker ist sie bei dem mit 80 % Alkohol gewonnenen Extrakt, der hinwiederum von dem mit reinem, destilliertem Wasser hergestellten übertroffen wird. Inwieweit dies mit dem Eiweissgehalt der betreffenden Extrakte in Verbindung zu bringen ist, wird weiter unten noch zu erörtern sein.

Versuch III.

Material: *Rana temporaria*-Kaulquappen, aus einem Laichballen gezüchtet, der am 29. April 1917 auf dem Urmundstadium aus der Nähe Münchens eingebracht wurde.

Beginn des Versuches: 10. Mai 1917. Alter der Larven demnach etwa 14 Tage.

Durchschnittliche Grösse der Kaulquappen zu Versuchsbeginn: Gesamtlänge 22,0; Rumpflänge 8,0; Rumpfbreite 5,0.

Entwicklungsstadium: kräftige, typische Froschlarven, deren hintere Extremitätenanlagen als kleine, weissliche, etwa 0,5 mm lange Verdickungen sichtbar sind.

Anzahl der Tiere: acht Gruppen zu je zwölf Larven.

Versuchsanordnung:

- Gruppe *a*: Kontrolle; normales Futter (Pflanzen, Piscidin);
- „ *b*: Thyreoglandol (Hoffmann-La Roche) (Präp. CI);
- „ *c*: frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt, mit Gerbsäure und Bleioxid enteiweisst (Präparat C II);

- „ d: desgl.; Phosphorwolframsäurefällung (Präparat C III);
- „ e: desgl.; Filtrat des mit Phosphorwolframsäure gefällten Extraktes (Präparat C IV);
- „ f: frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt nach einmaliger Ausfällung mit 96 % Alkohol (Präparat C V);
- „ g: desgl.; Phosphorwolframsäurefällung (Präparat C VI).

A. Herstellung der einzelnen Extrakte.

Als Präparat CI wurde das von Hoffmann-La Roche hergestellte Thyreoglandol benutzt, das nach den Angaben der Fabrik ein eiweiss- und beinahe jodfreier Glycerinextrakt der Schilddrüse ist. Präparat C II, C III und C IV.

Etwa 20 Pferdeschilddrüsen werden mit Hilfe des Latapie'schen Apparates zerquetscht und mehrere Stunden lang unter Zufügen von einigen Tropfen Chloroform so lange mit oft erneuertem destilliertem Wasser extrahiert, bis die Extrakte dünnflüssig und substanzarm werden. Die einzelnen Auszüge werden vereinigt, nach etwa zweistündigem Stehen dekantiert und nach Ansäuern mit Essigsäure und Zusatz von etwas Magnesiumsulfat in Anlehnung an die Methoden von Ackermann und Kutscher (vgl. Abderhalden, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden Bd. II S. 1044) so lange mit 20 % wässriger Gerbsäurelösung versetzt, bis in kleinen Zentrifugalproben bei weiterem Gerbsäurezusatz kein Niederschlag mehr auftritt. Nach 24 stündigem Stehen, während dessen sich die gerbsauren Eiweissverbindungen gut absetzen, wird die klare, weingelb gefärbte Flüssigkeit dekantiert und mehrmals filtriert. Zum Filtrat wird dann zur Entfernung der noch in Lösung befindlichen Gerbsäure so lange heissgesättigte Barytlauge zugesetzt, bis der beim Umschütteln entstehende Schaum rötlich gefärbt bleibt. Von dem reichlich entstehenden blaugrünen Niederschlag von Baryumtannat wird sorgfältig abgenutscht und zu dem alkalisch reagierenden Filtrat zur Entfernung des Baryumhydroxyds verdünnte Schwefelsäure bis zu schwachsaurer Reaktion zugefügt. Sodann wird unter ständigem Umrühren so lange Bleioxyd zugesetzt, bis die saure Reaktion stark abgestumpft ist. Hierauf wird vom Baryumsulfat- und Bleioxydniederschlag sorgfältig abgenutscht. Das klare, kaum gefärbte Filtrat wird im Vakuum bei 39° C. stark eingeeengt. Dabei setzt sich am Glas ein weisslicher, amorpher, in H_2SO_4 und HCl unlöslicher Niederschlag ab. In $NaOH$ färbt sich derselbe bräunlich und geht dann in Lösung. Der stark eingeengte Extrakt wird schliesslich noch zentrifugiert. Der klare, leicht grünlich gefärbte Abguss wird in zwei Teile, A_1 und A_2 , getrennt.

Der Extraktteil A_1 wird im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure noch weiter eingedickt und schliesslich in dieser stark konzentrierten Form für die Versuchsgruppe c verwendet (Präparat II).

Eigenschaften: Der neutral reagierende, öligflüssige, schwach grünlich gefärbte Extrakt besitzt einen süsslichen Geschmack. Bei Zusatz von verdünnter Ferrichloridlösung tritt eine blutrote, bei Zufügen sehr verdünnter, kaum gefärbter Kupfersulfatlösung eine tief dunkelblaue Färbung auf. Beim Kochen mit dem Millon'schen Reagens entsteht ein orangegelber Niederschlag. Bei Unterschichtung mit HNO_3 tritt

keine Ringbildung oder Farbreaktion ein. Biuretreaktion negativ. Auf Zusatz von Mineralsäuren keine Trübung. Bei Kochen nach Essigsäure-zusatz bleibt die Lösung klar. Das Almèn'sche Reagens gibt reichlichen, flockigen Niederschlag. Bei Verdünnen mit Wasser starke Opalescenz. Bei Zusatz von Ammonsulfatlösung zu dieser wässrigen Lösung tritt starke Trübung ein, die sich nach mehrstündigem Stehen als feiner, weisslicher Niederschlag absetzt, der keine Eiweissreaktion gibt. Ebenso wird durch Phosphorwolframsäure nach Ansäuern mit Salzsäure ein reichlicher, weisslicher Niederschlag ausgefällt.

Ein Teil des Extraktes wird im Vakuumexsikkator getrocknet. Es bleibt ein bräunlich gefärbter, durchscheinender, hygroskopischer Rückstand von zäher Konsistenz, in dem sich nach längerem Stehen ein ganz feinkörniger Niederschlag in geringer Menge absetzt. Ausserdem treten grössere Kugeln auf, die meist zu mehreren beisammenliegen und verunreinigten Leucinkristallen gleichen. Der getrocknete Extrakt ist in Chloroform und Petroläther unlöslich, in Alkohol löst er sich zu einer weisslichen, emulsionsartigen Flüssigkeit, mit Wasser zu einer gelblichen, trüben Flüssigkeit, die sich auf Salzsäurezusatz völlig klärt. In Eisessig löst er sich zum Teil hellbraun, während ein weisslicher Rest ungelöst zurückbleibt.

Beim Veraschen bleibt eine geringe, etwas grünlich gefärbte Asche zurück. Dieselbe löst sich in Wasser nur teilweise. Die abfiltrierte wässrige Lösung gibt mit AgNO_3 reichlichen, gelblichweissen, käsigen Niederschlag, der sich in HNO_3 nur zum Teil löst. Der in Wasser unlösliche Teil der Asche löst sich leicht in Eisessig. Beim Unterschichten der filtrierten Lösung mit konzentrierter NaOH entsteht an der Grenzfläche eine feine, weissliche Niederschlagsbildung (Bleihydroxyd), die sich im Überschuss des Fällungsmittels löst. Bei Ammoniakzusatz tritt ein weisslicher, im Überschuss unlöslicher Niederschlag auf.

Der Extraktteil A_2 wird mit Schwefelsäure bis zu 5 % Säuregehalt versetzt. Sodann wird eine wässrige Lösung von Phosphorwolframsäure zugefügt, bis kein Niederschlag mehr auftritt. Die weisslich-grünliche Fällung wird abfiltriert, ausgewaschen und getrocknet (Präparat C III).

Das Filtrat wird im Vakuum eingeengt und getrocknet (Präparat C IV). Es bleibt eine olivgrüne, harte Substanz zurück, die sich im Wasser leicht löst und noch etwas Phosphorwolframsäure enthält.

Präparat C V und C VI.

Eine grössere Zahl von Pferdeschilddrüsen wird im Latapie'schen Apparat zerquetscht, der Brei mit wenig Wasser extrahiert, zentrifugiert und der dickflüssige, trübe Extrakt in die 20fache Menge 96 % igen Alkohols getropft. Nach mehrmaligem Umschütteln und 12 stündigem Stehen wird der weingelb gefärbte alkoholische Extrakt von dem ausgefällten Eiweiss dekantiert und noch mehrmals filtriert. Das Filtrat wird im Vakuum bei 39°C . zu einem trüben, graugrünlich gefärbten Sirup eingeengt. Der abdestillierte Alkohol besitzt etwa 10 % Wassergehalt. Der Extrakt wird mit Petroläther so lange ausgeschüttelt, bis das Extraktionsmittel nichts mehr aufnimmt. Der wässrige Anteil klärt sich dabei völlig zu einer gelbbraun gefärbten Flüssigkeit, welche schliesslich noch zentrifugiert wird. Zuletzt wird sie im Vakuum noch auf wenige Kubikzentimeter konzentriert (Präparat C V).

Reaktionen: Eiweisskochprobe nach Ansäuern mit Essigsäure: deutlich positiv; Heller'sche Probe: stark positiv; Almèn: stark positiv; Xanthoproteinreaktion: schwach positiv; Millon's Reagens: schwach positiv.

Ein anderes in gleicher Weise wie Präparat C V hergestelltes Präparat wird nach dem Ausschütteln mit Petroläther bis zu 5 % Säuregehalt und Schwefelsäure versetzt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der reichliche Niederschlag wird mit verdünnter Phosphorwolframsäurelösung ausgewaschen und getrocknet (Präparat C VI). Reaktionen des Präparates wie bei Präparat C V, nur etwas schwächer.

B. Versuchsprotokoll.

Von den genannten einzelnen Präparaten wird zur Fütterung immer eine kleine Menge mit Piscidin und etwas Wasser verrieben und in die Zuchtschale gespült. Die erste Extraktverarbeitung findet am 10. Mai 1917 statt.

11. Mai: Wasserwechsel; in Gruppen *d* und *e* sind je drei Tiere tot. Bei den noch lebenden Larven der beiden Gruppen ist der Rumpf stark eingezogen und mit Buckeln versehen, besonders in Gruppe *e*.

12. Mai. In Gruppe *d* ist nochmals ein Tier gestorben.

14. Mai. Messung sämtlicher Gruppen (vgl. Tab. 6).

Bei den Larven der Gruppen *f* und *g* treten Thyreoidesymptome hervor (Wachstumsabnahme, Beschleunigung in der Differenzierung der Extremitätenanlagen, Stummelbildung, Verkürzung des Schädels, Veränderung der Pigmentzeichnung). Die Wachstumshemmung ist am stärksten in Gruppe *c*, etwas geringer in Gruppen *d* und *e*. Bei diesen drei letztgenannten Gruppen ist jedoch nicht die geringste Entwicklungsbeschleunigung festzustellen. In Gruppe *b* ist dagegen weder Wachstum noch Entwicklung beeinflusst.

15. Mai. Zweite Extraktfütterung.

16. Mai. Wasserwechsel. Das Wasser der Schale *c* ist rosa gefärbt.

24. Mai. Dritte Extraktfütterung.

25. Mai. In Gruppe *d* sind drei Tiere, in Gruppe *e* zwei Tiere tot.

29. Mai. Vierte Extraktfütterung. In Gruppe *f* sind bei drei Tieren die Vorderbeine durchgebrochen. (Bezüglich des Ablaufes der Metamorphosen vgl. Kurve III und weiter unten.)

3. Juni. Fünfte Extraktfütterung.

4. Juni. Photographieren und Messen sämtlicher Tiere (vgl. Tab. 7 und Taf. III Abb. 27—33).

Tabelle 6.

Gruppe a: Kontrolle				Gruppe b: Präparat CI			Gruppe c: Präparat CII			Gruppe d: Präparat CIII		
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge		Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge
21,5	8,0	13,5		21,5	8,0	13,5	18,5	7,5	11,0	18,0	7,0	11,0
22,2	8,1	14,1		20,2	8,0	12,2	18,7	7,1	11,6	18,9	7,1	11,8
22,8	8,4	14,4		22,3	8,1	14,2	18,8	7,0	11,8	19,8	7,2	12,6
23,0	8,4	14,6		22,9	8,1	14,8	19,0	7,0	12,0	19,8	7,2	12,6
23,5	8,8	14,7		24,0	8,8	15,2	19,8	7,4	12,4	20,5	7,0	13,5
24,3	9,1	15,2		24,2	8,8	15,4	20,0	6,8	13,2	20,6	8,0	12,6
24,4	9,0	15,4		24,8	8,6	16,2	20,0	7,0	13,0	21,0	7,9	13,1
24,5	8,5	16,0		25,0	9,2	15,8	20,0	7,8	12,2	21,5	7,5	14,0
24,5	9,0	15,5		25,7	9,8	15,9	20,4	7,2	13,2	—	—	—
25,0	9,6	15,4		26,2	9,0	17,2	20,6	7,4	13,2	—	—	—
25,5	9,3	16,2		26,2	9,1	17,1	20,8	7,9	12,9	—	—	—
27,0	8,9	18,1		26,9	9,8	17,1	22,2	8,9	13,3	—	—	—
24,0	8,8	15,2		24,2	8,8	15,4	19,9	7,4	12,5	20,0	7,4	12,6

Tabelle 6 (Fortsetzung).

Gruppe e: Präparat CIV				Gruppe f: Präparat CV			Gruppe g: Präparat CVI		
Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge		Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge
19,0	7,1	11,9		19,5	7,1	12,4	20,0	6,9	13,1
19,6	6,9	12,7		19,8	6,8	13,0	20,0	7,0	13,0
20,4	7,2	13,2		20,5	7,7	12,8	20,7	7,5	13,2
20,5	7,2	13,3		22,0	7,6	13,6	20,8	7,5	13,3
20,8	7,5	13,3		22,0	8,5	13,5	21,5	7,5	14,0
21,5	7,6	13,9		22,0	8,6	13,4	22,0	8,0	14,0
21,7	8,0	13,7		22,1	8,5	13,6	23,0	7,5	15,1
22,2	8,8	13,4		22,8	8,0	14,8	23,0	7,9	15,1
24,0	8,5	15,5		23,0	8,1	14,9	23,1	8,5	14,6
—	—	—		24,0	8,9	15,1	23,5	8,6	14,9
—	—	—		24,5	8,0	16,5	23,6	8,2	14,4
—	—	—		24,5	8,8	15,7	23,8	8,2	15,6
21,0	7,6	13,4		22,1	8,0	14,1	22,0	7,8	14,2

Die mit Thyreoglandol behandelten Kaulquappen (Gruppe *b*) zeigen demnach noch immer keine Thyreoidesymptome. Ihre Grösse übertrifft sogar das Durchschnittsmaass der Kontrollgruppe, und ihre Entwicklung ist in keiner Weise beschleunigt (vgl. Abb. 27 Gruppe *a* und Abb. 28 Gruppe *b*). Starke Unterschiede bestehen dagegen gegenüber den übrigen Gruppen. Die mit dem völlig enteweissten Schilddrüsenextrakt behandelten Gruppen (Gruppen *c*, *d*, *e*) zeigen eine starke Wachstumshemmung, die bei Gruppe *c* (Abb. 29) am ausgeprägtesten ist. Gleichzeitig ist aber bei den drei genannten Gruppen auch die Entwicklung sehr stark zurückgeblieben (vgl. Abb. 29, 30, 31). Eine ganz andere Wirkung entfaltet der Schilddrüsenextrakt, der mit Alkohol enteweisst wurde. Besonders in Gruppe *f*, von der auch schon mehrere Tiere vor einigen Tagen metamorphosierten, ist die Entwicklung gegenüber der Kontrollgruppe sehr stark beschleunigt (vgl. Abb. 32). Das Äussere der Tiere ist ganz froschähnlich; am Schwanz sind erhebliche Einsmelzungsprozesse festzustellen; die Extremitäten sind gut differenziert, in ihrem Längenwachstum jedoch stark gehemmt. Auch in Gruppe *g* (Abb. 33) ist die Entwicklung beschleunigt; doch treten hier Reduktionserscheinungen und Wachstumshemmung erst in geringerem Grade hervor.

6. Juni. Sechste Extraktfütterung.

13. Juni. Die Tiere werden wiederum photographiert und gemessen (vgl. Taf. III Abb. 34—39 und Tab. 8).

Das Wachstum der mit Thyreoglandol behandelten Tiere (Gruppe *b*; Abb. 35) ist demnach noch immer stärker als bei der Kontrollgruppe. Die Entwicklung ist nunmehr aber in geringem Grade beschleunigt; während in der Kontrollgruppe noch sieben Larven mit stark zurückgebliebenen Hinterbeinen sind, befinden sich in Gruppe *b* nur mehr zwei Larven auf einem entsprechenden Entwicklungsstadium. In den Gruppen *c* (Abb. 36), *d* (Abb. 37) und *e* (Abb. 38) ist die Entwicklung noch immer äusserst stark gehemmt, besonders in den zwei erstgenannten Gruppen, in welchen die Anlagen der hinteren Extremitäten bestenfalls eine Länge von 1,5 mm erreichen und noch beinahe völlig undifferenziert sind. In beiden Gruppen ist auch das Wachstum am stärksten zurückgeblieben. Die Tiere der Gruppe *f* sind schon alle metamorphosiert, jene der Gruppe *g* (Abb. 39) zeigen starke Thyreoidewirkung.

Von jeder Gruppe werden einzelne Larven zur genaueren Unter-

Tabelle 7.

Gruppe a: Kontrolle				Gruppe b: Präparat CI				Gruppe c: Präparat CII				Gruppe d: Präparat CIII			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
30,5	10,3	6,1	20,2	32,0	10,5	5,5	21,5	20,0	7,0	4,8	13,0	21,0	7,8	4,9	13,2
31,5	10,0	6,4	21,5	33,5	10,3	6,3	23,2	20,0	8,0	5,1	12,0	24,4	8,9	5,8	15,5
31,7	10,3	6,0	21,4	33,8	11,2	6,5	22,6	21,5	7,6	4,6	13,9	26,8	9,3	5,6	17,5
32,3	10,0	6,0	22,3	34,1	11,5	6,5	22,6	23,0	8,0	5,1	15,0	27,0	9,7	5,5	17,3
32,9	11,0	6,5	21,9	35,1	11,0	6,1	24,1	25,5	9,2	5,7	16,3	30,5	10,2	5,9	20,3
33,0	11,0	6,5	22,0	35,9	11,8	7,0	24,1	25,8	8,9	5,8	16,9	—	—	—	—
33,0	11,5	6,7	21,5	36,0	12,0	7,0	24,0	26,1	9,1	5,6	17,0	—	—	—	—
34,3	11,8	7,0	22,5	36,2	12,2	6,8	24,0	26,4	9,2	5,2	17,2	—	—	—	—
34,5	10,6	6,2	23,9	38,2	12,2	7,2	26,0	26,8	10,2	6,4	16,6	—	—	—	—
35,4	12,0	7,2	23,4	38,4	12,5	7,5	25,9	29,2	10,0	6,2	19,2	—	—	—	—
36,0	12,1	7,5	23,9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38,2	11,0	6,5	22,2	35,3	11,5	6,6	23,8	24,4	8,7	5,4	15,7	25,9	9,2	5,5	16,7

Tabelle 7 (Fortsetzung).

Gruppe e: Präparat CIV				Gruppe f: Präparat CV				Gruppe g: Präparat CVI			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
26,0	8,7	5,1	17,3	13,8	6,4	3,7	7,4	20,8	7,2	4,5	13,6
26,5	8,8	5,5	17,7	15,5	6,3	3,7	9,2	22,1	7,5	4,5	14,6
28,5	9,7	6,0	18,8	17,0	7,0	4,0	10,0	22,1	7,8	4,9	14,3
28,9	10,2	6,1	18,7	20,1	8,9	5,0	11,2	21,0	7,5	4,0	13,5
29,5	9,9	6,1	19,6	22,3	8,1	4,5	14,2	23,5	8,5	4,9	15,0
30,4	10,0	6,5	20,4	—	—	—	—	24,2	8,8	4,8	15,4
31,0	10,6	6,5	20,4	—	—	—	—	24,5	8,4	4,9	16,1
—	—	—	—	—	—	—	—	24,7	9,1	5,6	15,6
—	—	—	—	—	—	—	—	24,8	8,6	5,7	16,2
—	—	—	—	—	—	—	—	25,1	8,9	5,1	16,2
—	—	—	—	—	—	—	—	25,2	7,5	4,6	17,7
—	—	—	—	—	—	—	—	29,3	9,7	5,6	19,6
28,7	9,7	6,0	19,0	17,7	7,3	4,2	10,4	23,9	8,3	4,9	15,6

Tabelle 8.

Gruppe a: Kontrolle				Gruppe b: Präparat CI				Gruppe c: Präparat CII			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
31,4	10,0	6,2	21,4	23,5	10,0	5,2	13,5	20,3	7,6	5,0	12,7
31,5	10,6	6,0	20,9	31,6	11,8	6,9	19,8	21,5	7,9	5,0	13,6
33,0	10,6	6,5	22,4	32,3	10,9	6,1	21,4	22,4	8,5	5,5	13,9
33,0	10,8	6,8	22,2	36,0	11,6	6,9	24,4	24,2	8,1	5,3	16,1
33,7	11,2	6,5	22,5	35,5	11,5	6,7	24,0	25,5	9,0	6,0	16,5
34,0	11,0	7,0	23,0	36,2	12,0	7,0	24,2	26,2	9,0	6,2	17,2
34,9	11,9	6,8	23,0	36,4	13,0	7,5	23,4	26,2	9,5	6,0	16,7
35,0	11,9	7,1	23,1	36,9	11,7	7,5	25,2	28,3	9,9	6,0	18,4
35,7	11,8	7,7	23,9	40,9	13,2	8,2	27,7	28,5	10,8	6,8	17,7
36,5	11,5	7,1	25,0	—	—	—	—	30,0	10,4	6,1	19,6
33,8	11,1	6,8	22,7	34,4	11,7	6,9	22,7	25,3	9,1	5,8	16,2

Tabelle 8 (Fortsetzung).

Gruppe d: Präparat CIII				Gruppe e: Präparat CIV				Gruppe f				Gruppe g: Präparat CVI			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
23,0	7,9	5,0	15,1	29,0	10,6	6,4	18,4	—	—	—	—	21,0	7,4	4,4	13,6
26,0	9,0	5,8	17,0	29,8	9,8	5,8	20,0	—	—	—	—	21,9	8,5	4,5	13,4
29,0	10,1	6,0	18,9	30,6	10,6	6,1	20,0	—	—	—	—	23,3	8,5	5,0	14,8
32,1	10,0	6,0	22,1	30,6	10,6	6,4	20,0	—	—	—	—	24,0	8,1	4,8	15,9
—	—	—	—	31,9	10,6	6,3	21,3	—	—	—	—	24,0	9,0	5,0	15,0
—	—	—	—	32,7	11,2	6,5	21,5	—	—	—	—	24,4	8,6	5,5	15,8
—	—	—	—	33,2	11,0	7,0	22,2	—	—	—	—	24,9	8,8	5,0	16,1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25,1	8,5	5,4	16,6
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25,2	8,7	5,2	16,5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26,1	8,7	4,9	17,4
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26,2	8,8	5,9	17,4
27,5	9,3	5,1	18,2	31,1	10,6	6,3	20,5	—	—	—	—	24,2	8,5	5,1	15,7

suchung des Entwicklungsstandes ihrer Eingeweide fixiert. Dabei zeigt sich, dass bei den Larven der Gruppen *c*, *d* und *e* die Darmspirale noch auf der Höhe ihrer Ausbildung steht, während bei Gruppe *b* am Auftreten einzelner Kontraktionsstreifen der Beginn der Rückbildung sichtbar wird. In Gruppe *g* ist die Länge des Darmrohres gegenüber dem normalen Befund verringert; die Reduktionserscheinungen sind jedoch im Vergleich zu dem Befunde, wie er bei gewöhnlicher Schilddrüsenfütterung zutage tritt, noch verhältnismässig gering, woraus sich auch die noch ziemlich rundliche Konfiguration des Leibes erklärt. Auffallend ist die Kleinheit der Leber bei den Tieren der Gruppen *c*, *d* und *e*, während das Pankreas gut ausgebildet ist. Besonders in Gruppen *c* und *d* zeigt die Leber nach der Fixierung eine auffallend grünlich-schwarze Pigmentierung, ohne dass am Schwanz oder Maul oder an anderer Stelle äusserlich Reduktionsvorgänge festzustellen wären, aus denen wie bei Thyreoideatieren das Einwandern von Pigment zu erklären wäre. Sollte es sich vielleicht um Blutpigment aus zerfallenen Erythrocyten handeln? Ferner sind bei diesen Tieren absolut wie relativ die Urnieren im Wachstum stark zurückgeblieben; auch die Gonaden und Fettkörper sind klein und unentwickelt.

In Tab. 9 ist nun das während des Versuches vom 10. Mai und 13. Juni in den einzelnen Gruppen zutage tretende Wachstum zusammengestellt.

Das Gesamtwachstum ist am stärksten in Gruppe *b*; zu Beginn des Versuches gleicht es dem der Kontrollgruppe, nimmt dann immer mehr zu, um erst während der letzten Tage langsam zurückzugehen. Die Erklärung der Abnahme liegt in den durch die Metamorphose bedingten Reduktionsvorgängen, was auch aus dem Verhalten der Rumpfmaasse hervorgeht. Bei allen anderen Gruppen ist das Wachstum bedeutend geringer. Bei den Gruppen *c*, *d* und *e* ist während der ersten Tage ein Zurückgehen der Maasse festzustellen, was vermutlich mit einem Wasserverlust im Zusammenhang steht. Allmählich setzt aber dann wieder geringes Wachstum ein, am stärksten in Gruppe *e*, am wenigsten in Gruppe *c*; doch beschränkt es sich hauptsächlich auf ein Längerwerden des Ruderschwanzes. Im letzten Viertel der Beobachtungszeit nimmt das Wachstum zudem wieder beträchtlich ab. Im Gegensatz zu diesen Gruppen bleiben die Maasse bei Gruppen *f* und *g* während der ersten Tage ziemlich unbeeinflusst. Dann aber tritt bei Gruppe *f* eine scharfe Abnahme ein, die hauptsächlich durch

Tabelle 9.

Gruppe	Wachstum vom 10. Mai bis 14. Mai			Wachstum vom 14. Mai bis 4. Juni		
	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge
<i>a</i>	+ 2,0	+ 0,8	+ 1,2	+ 9,2	+ 2,2	+ 7,0
<i>b</i>	+ 2,2	+ 0,8	+ 1,4	+ 11,1	+ 2,7	+ 8,4
<i>c</i>	— 2,1	— 0,6	— 1,5	+ 4,4	+ 1,3	+ 3,1
<i>d</i>	— 2,0	— 0,6	— 1,4	+ 5,9	+ 1,8	+ 4,1
<i>e</i>	— 1,0	— 0,4	— 0,6	+ 6,7	+ 1,1	+ 5,6
<i>f</i>	+ 0,1	± 0,0	+ 0,1	— 4,4	— 0,7	— 3,7
<i>g</i>	± 0,0	— 0,2	+ 0,2	+ 1,9	+ 0,5	+ 1,4

Tabelle 9 (Fortsetzung).

Gruppe	Wachstum vom 4. Juni bis 13. Juni			Gesamtwachstum vom 10. Mai bis 13. Juni		
	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge	Gesamt- länge	Rumpf- länge	Schwanz- länge
<i>a</i>	+ 0,6	+ 0,1	+ 0,5	+ 11,8	+ 3,1	+ 8,7
<i>b</i>	— 0,9	+ 0,2	— 1,1	+ 12,4	+ 3,7	+ 8,7
<i>c</i>	+ 0,9	+ 0,4	+ 0,5	+ 3,2	+ 1,1	+ 2,1
<i>d</i>	+ 1,6	+ 0,1	+ 1,5	+ 5,5	+ 1,3	+ 4,2
<i>e</i>	+ 2,4	+ 0,9	+ 1,5	+ 8,1	+ 1,6	+ 6,5
<i>f</i>	—	—	—	— 4,3	— 0,7	— 3,6
<i>g</i>	+ 0,3	+ 0,2	+ 0,1	+ 2,2	+ 0,5	+ 1,7

Reduktion der Ruderschwänze bedingt ist. Bei Gruppe *g*, bei der ja auch die Entwicklungsbeschleunigung milder verläuft, ist dagegen geringes Wachstum zu beobachten.

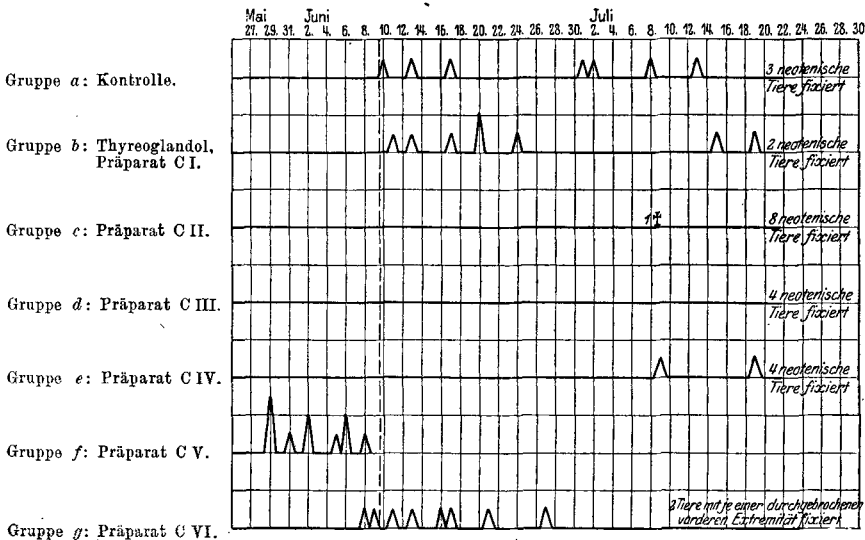
Der Verlauf der Metamorphose ist aus Kurve III zu ersehen.

In Gruppe *f* ist die Metamorphose beträchtlich beschleunigt. Hier hat sie das letzte Tier schon beendet, ehe sie das erste der Kontrollgruppe begonnen hat. In Gruppe *g* ist die Beschleunigung erheblich schwächer. Recht gering ist sie in Gruppe *b*. In Gruppen *c* und *d* metamorphosiert während der ganzen Versuchsdauer überhaupt kein Tier; die Larven bleiben vielmehr völlig auf früher larvaler Entwicklungsstufe stehen. In Gruppe *e* vollenden zwar schliesslich noch, wenn auch stark verspätet, zwei Tiere die Metamorphose, der Rest der Kaulquappen bleibt jedoch neotenisch.

Aus diesem Versuche ergibt sich also, dass das von Hoffmann-La Roche in den Handel gebrachte eiweiss-, fett- und fast jodfreie

Schilddrüsenpräparat Thyreoglandol die Entwicklung der Froschlarchen während der ersten Zeit der Einwirkung in keiner äusserlich sichtbaren Weise beeinflusste. Erst gegen Ende der Larvalzeit machte sich eine leichte Beschleunigung der Entwicklung geltend, so dass die betreffenden Tiere die Metamorphose rascher beendeten. Die zweite, bei starker Thyreoidafütterung zu beobachtende Erscheinung, die Hemmung des Wachstums, trat nicht auf; die Durchschnittsgrösse der Tiere war im Gegenteil sogar etwas höher als bei den Kontrolltieren.

Der nach der beschriebenen Methode mit Gerbsäure völlig ent-



Kurve III.

eiweisste wässrige Schilddrüsenextrakt hatte dagegen an Stelle der bei Thyreoidafütterung zu beachtenden Entwicklungsbeschleunigung eine sehr starke Hemmung der Entwicklung zur Folge. Ausserdem wurde durch ihn auch noch eine ausgiebige Hemmung des Wachstums veranlasst.

Der durch Fällung mit 96 % Alkohol enteiweisste wässrige Schilddrüsenextrakt rief erhebliche Entwicklungsbeschleunigung und Wachstumshemmung hervor. Für die Beurteilung dieses Ergebnisses ist jedoch zu beachten, dass sich in dem auf diese Weise gewonnenen Extrakte noch Eiweisspuren nachweisen liessen.

Versuch IV.

Material: *Rana temporaria*-Larven, aus einem Laichballen gezüchtet, der am 29. April 1917 auf dem Urmundstadium aus der Nähe Münchens eingebracht wurde.

Beginn des Versuches: 15. Mai 1917. Alter der Larven demnach etwa 19 Tage.

Durchschnittliche Grösse der Kaulquappen zu Versuchsbeginn: Gesamtlänge: 24,0; Rumpflänge: 9,0; Rumpfbreite: 5,0.

Entwicklungsstadium: Kräftig entwickelte, typische Kaulquappen. Die Anlagen der hinteren Extremitäten sind als etwa 1 mm lange, dem Körper dicht anliegende Stummel zu sehen.

Anzahl der Tiere: vier Gruppen zu je zehn Larven.

Versuchsanordnung:

- Gruppe *a*: Kontrolle; normales Futter (Pflanzen, Piscidin);
- „ *b*: Phosphorwolframsäurefällung eines frischen, wässerigen Schilddrüsenextraktes nach einmaliger Fällung mit 96 % Alkohol (Präparat D I);
- „ *c*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt nach zweimaliger Fällung mit 96 % Alkohol:
 - a) ätherlösliche Fraktion (Präparat D II);
- „ *d*: Ebenso: b) ätherunlösliche Fraktion (Präparat D III).

A. Herstellung der einzelnen Präparate.

Präparat D I.

Zwölf Pferdeschilddrüsen werden mit dem Latapie'schen Apparat zerquetscht, mehrere Stunden lang mit etwas destilliertem Wasser extrahiert und der dickflüssige, abzentrifugierte, wässrige Extrakt in die 20fache Menge 96 %igen Alkohols getropft. Nach einigen Stunden, während welcher mehrmals umgeschüttelt wurde, wird mehrmals filtriert, bis das hellgelb gefärbte Filtrat vollkommen klar ist. Sodann wird es im Vakuum bei 39° C. eingeengt. Der Extrakt wird nach Abdestillieren des Alkohols graugrünlich und völlig opak. Bei Ausschütteln mit Petroläther nimmt derselbe unter Gelbfärbung reichlich Fett auf, während der wässrige Anteil sich völlig klärt. Der letztere wird sodann noch mehrmals filtriert. Das vollkommen klare Filtrat wird mit Schwefelsäure bis zu 5 % Säuregehalt versetzt und mit Phosphorwolframsäurelösung gefällt. Der grüngraue Niederschlag wird gesammelt, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet (Präparat D I).

Präparat D II und D III.

Auch hier werden etwa zwölf Pferdeschilddrüsen mit dem Latapie'schen Apparat zerquetscht; der Brei wird sodann mit Quarzsand und etwas destilliertem Wasser in der Czokor'schen Mühle zu einer ganz feinen Emulsion verrieben. Sodann wird zentrifugiert und der dickflüssige, braunrötliche Abguss in die etwa 20fache Menge 96 %igen Alkohols getropft, wobei das Eiweiss in Flocken ausfällt. Nach mehrstündigem Absetzenlassen wird filtriert, das klare Filtrat wird im Vakuum zu einem bräunlichen Sirup eingedickt, der wiederum in 96 % Alkohol eingetropft wird. Dabei entsteht nochmals ein zwar nicht sehr

reichlicher, aber immerhin nennenswerter flockiger Niederschlag, von dem wiederum abfiltriert wird. Der Niederschlag löst sich in destilliertem Wasser zu einer bräunlichen, trüben Flüssigkeit, welche positive Kochprobe, positive Millon'sche, Heller'sche und Almèn'sche Reaktion gibt. Das Filtrat wird nochmals im Vakuum eingeeengt und nach Ansäuern mit Essigsäure und Äther so lange ausgeschüttelt, bis der wasserlösliche Anteil vollkommen geklärt ist und der Äther, der sich zuerst stark gelb färbt, nichts mehr aufnimmt. Am Trennungsspiegel beider Flüssigkeiten setzt sich anfangs etwas flockige Substanz ab, welche durch Filtrieren abgetrennt wird. Der ätherlösliche Anteil wird im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Es ist eine bräunlich gefärbte, fettige, bei Zimmertemperatur halbflüssige Substanz (Präparat D II). Dieselbe löst sich leicht in Petroläther, gibt deutliche Akroleinprobe. Nach Verseifen mit alkoholischer NaOH fallen auf Zusatz von CaCl_2 reichliche, wasserlösliche Calciumseifen aus. Schüttelt man dieselben mit Äther aus, so erhält man noch einen schwach gelblich gefärbten Ätherextrakt. Aus einer alkoholischen Lösung des eingedampften Ätherextraktes kristallisiert Cholesterin aus.

Der wasserlösliche Anteil (Präparat D III) ist nach mehrmaligem Ausschütteln ganz klar und goldgelb gefärbt. Nach völligem Trocknen ist es eine bröcklige, braune Substanz, die sich in Wasser sehr leicht löst. In Äther, Alkohol, Chloroform ist sie unlöslich. Die wässrige Lösung gibt mit dem Almèn'schen Reagens ziemlich reichlichen Niederschlag, ebenso mit Phosphorwolframsäure nach Ansäuern mit Salzsäure; bei Zusatz von absolutem Alkohol bilden sich ganz feine Flocken. Die Biuretreaktion, Heller'sche Probe, Ferrocyankaliumprobe sind negativ. Bei der Eiweisskochprobe tritt zunächst keine Trübung auf; dagegen bilden sich in der gekochten Flüssigkeit auf Zusatz von etwas verdünnter Essigsäure und Schütteln Spuren von Niederschlag.

B. Versuchsprotokoll.

15. Mai. Erste Extraktfütterung.

16. Mai. Die Tiere der Gruppe *b* zeigen am Leib Einziehungen und knollige Verdickungen.

17. Mai. In Gruppe *b* fällt eine leichte Beschleunigung der Extremitätenentwicklung auf.

19. Mai. Zweite Extraktfütterung. Auch in Gruppe *d* treten deutlich Thyreoideasymptome, wie Wachstumshemmung, Beschleunigung der Extremitätenentwicklung, Einziehung des Leibes, auf. In Gruppe *c* gleichen die Larven den Kontrolltieren.

24. Mai. Die Tiere der Gruppe *b* sind am kleinsten von allen. An den Schwanzspitzen machen sich Einschmelzungsprozesse geltend, die Flossensäume sind erheblich verschmälert. Die Hornzähnen sind ebenso wie die Lippen weitgehend reduziert. In Gruppe *d* sind die Symptome noch etwas schwächer. — Dritte Extraktfütterung.

29. Mai. Vierte Extraktfütterung.

3. Juni. Ein Tier der Gruppe *d* hat die Metamorphose beendet.

4. Juni. Sämtliche Tiere werden photographiert und gemessen (vgl. Tab. 10 und Taf. III Abb. 40—43).

Tabelle 10.

Gruppe <i>a</i> : Kontrolle				Gruppe <i>b</i> : Präparat D I			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
30,9	10,9	6,2	20,0	21,4	7,4	5,0	14,0
31,8	10,2	6,2	21,6	21,5	7,5	4,7	14,0
31,9	10,9	6,8	21,0	21,8	7,1	5,0	14,7
32,5	11,2	6,8	21,3	21,8	7,8	5,0	14,0
32,5	10,7	6,6	21,8	22,4	7,6	5,0	14,8
32,7	10,8	6,5	21,9	23,0	8,5	5,2	14,5
36,8	11,7	6,6	25,1	23,5	8,4	5,4	15,1
37,3	12,2	7,5	25,1	23,9	7,9	5,1	16,0
37,7	12,2	7,7	25,5	26,1	9,0	6,0	17,1
38,5	12,5	7,2	26,0	—	—	—	—
34,2	11,3	6,8	22,9	22,8	7,9	5,2	14,9

Tabelle 10 (Fortsetzung).

Gruppe <i>c</i> : Präparat D II				Gruppe <i>d</i> : Präparat D III			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
28,4	9,9	5,9	18,5	24,8	8,8	4,9	16,0
29,7	10,2	5,6	19,5	25,5	8,6	5,2	16,9
31,1	10,8	6,4	20,3	26,4	9,0	5,0	17,4
32,5	10,9	6,1	21,6	28,9	9,8	5,8	19,1
32,5	11,0	6,1	21,5	29,2	9,6	6,0	19,6
32,7	11,0	6,2	21,7	30,2	9,5	5,5	20,7
32,7	11,3	6,3	21,4	30,5	9,9	5,8	20,6
33,6	10,9	6,9	22,7	33,9	9,9	5,6	24,0
34,0	11,5	6,5	22,5	36,0	10,6	6,1	25,4
34,4	11,5	6,5	22,9	—	—	—	—
32,2	10,9	6,2	21,3	29,5	9,5	5,5	20,0

Die Larven der Gruppe *b* sind demnach von allen am kleinsten. Wie man aus den Abbildungen sieht, sind bei ihnen auch die Reduktionserscheinungen am stärksten ausgebildet. Die Pigmentierung ist ganz froschähnlich, nur dunkler; die Schädelform ist ebenfalls schon froschartig, die larvalen Fresswerkzeuge sind bis auf Reste von Lippen und Hornkiefern vorhanden. Auch in Gruppe *d* (Abb. 43) ist die Entwicklung stark beschleunigt; die Tiere sind aber hier kräf-

tiger. Ferner sind hier die Hinterbeine grösser als bei Gruppe *b*. Die Kaulquappen der Gruppe *c* sind um Geringes kleiner als in Gruppe *b*; in ihrer Entwicklung sind sie etwas hinter der Kontrollgruppe zurückgeblieben.

Am 13. Juni werden sämtliche Tiere nochmals photographiert und gemessen (vgl. Tab. 11 und Taf. III Abb. 44—47).

Tabelle 11.

Gruppe <i>a</i> : Kontrolle				Gruppe <i>b</i> : Präparat D I			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
31,5	10,2	6,2	21,3	21,0	7,9	5,0	13,1
33,5	11,5	6,5	22,0	22,0	8,0	4,8	13,2
34,0	11,0	6,1	23,0	22,0	7,9	5,0	14,1
34,0	11,0	6,5	23,0	22,6	8,5	5,0	14,1
34,5	10,6	6,5	23,9	22,8	8,0	5,0	14,8
34,8	12,0	6,7	22,8	22,8	8,0	5,0	14,8
36,5	11,0	6,5	25,5	24,5	8,5	5,2	16,0
39,4	12,4	6,9	27,0	24,9	8,4	5,5	16,5
39,5	12,5	7,1	27,0	27,4	7,9	6,0	19,5
33,3	11,4	6,6	23,9	23,3	8,1	5,1	15,2

Tabelle 11 (Fortsetzung).

Gruppe <i>c</i> : Präparat D II				Gruppe <i>d</i> : Präparat D III			
Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge	Gesamt-länge	Rumpf-länge	Rumpf-breite	Schwanz-länge
29,0	10,2	5,7	18,8	21,4	9,9	5,1	11,5
30,4	9,9	6,0	20,5	23,2	8,7	5,0	14,5
32,0	10,7	6,4	21,3	24,5	9,5	5,2	15,0
33,0	11,5	6,2	21,5	29,9	9,5	6,2	20,4
33,1	10,7	6,2	22,4	30,5	9,9	5,5	20,6
33,7	10,7	6,6	23,0	36,2	11,0	6,5	25,2
34,2	11,0	6,9	23,2	—	—	—	—
35,2	12,0	7,0	23,2	—	—	—	—
37,2	12,5	7,0	24,7	—	—	—	—
38,0	12,5	7,5	25,5	—	—	—	—
33,6	11,2	6,6	22,4	27,6	9,7	5,6	17,9

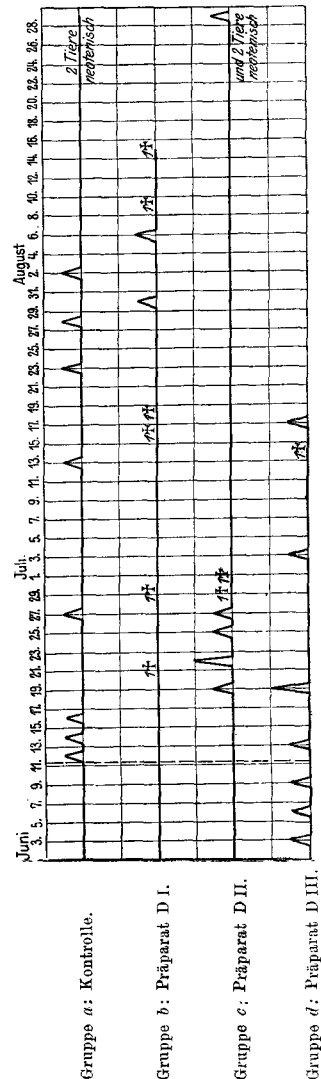
Die bereits am 4. Juni beschriebenen Unterschiede haben sich also noch mehr verstärkt; insbesondere tritt nun der Unterschied im Extremitätenwachstum zwischen Gruppe *b* und *d* noch deutlicher hervor.

Unterdessen sind seit dem 3. Juni bei mehreren Tieren die

Vorderbeine durchgebrochen. Die Zeitpunkte der Metamorphose seien wieder in Kurvenform zusammengestellt (vgl. Kurve IV).

Die Metamorphose verläuft demnach am raschesten in Gruppe *d*. In Gruppe *b* dagegen, in der die Thyreoidae-symptome doch am frühzeitigsten aufgetreten sind, vollenden nur zwei Tiere, und diese erst sehr verspätet, die Metamorphose, während die übrigen vorher absterben, ohne dass die Vorderbeine zum Durchbruch gekommen wären.

So zeigt also dieser Versuch, dass der wässrige Extrakt der Schilddrüse auch nach zweimaliger Eiweissausfällung mit 96 % Alkohol noch Entwicklungsbeschleunigung hervorzurufen vermag. Die wachstumshemmende Wirkung ist jedoch geringer als bei nur einmalig erfolgter Ausfällung. Indessen scheinen auch nach zweimaliger Ausfällung noch nicht alle Eiweiss Spuren aus dem Extrakt entfernt zu sein. Inwiefern ihnen die entwicklungsbeschleunigende Wirkung zukommt, müssen weitere Versuche zeigen. Vieles spricht dafür, dass auch völlig enteweisste, frische Thyreoidea-extrakte noch mässige Entwicklungsbeschleunigung hervorzurufen vermögen. Es ist jedoch fraglich, in wie weit diese Wirkung noch spezifisch für das Schilddrüsen-sekret ist. Die in dem Extrakte enthaltenen und mit Äther abgetrennten Fettsubstanzen rufen eine geringe Hemmung des Wachstums und eine leichte Verzögerung der Entwicklung hervor.



Kurve IV.

Zusammenfassung und Kritik der Versuchsergebnisse.

Im nachfolgenden Abschnitt sollen die Ergebnisse der vorausgehend beschriebenen Versuche zusammengefasst und in ihrer Bedeu-

[illegible]

Tabelle 12.

Einfluss auf die Entwicklung		Einfluss auf das Wachstum	
Differenzierung	Metamorphose	Allgemeines Körperwachstum	Extremitätenwachstum zur Zeit der Metamorphose bzw. bei Ende des Versuches
gehemmt leicht gehemmt unbeeinflusst unbeeinflusst	verzögert etwas verzögert unbeeinflusst unbeeinflusst	mässig gehemmt wenig beeinflusst wenig beeinflusst unbeeinflusst	kaum beeinflusst kaum beeinflusst unbeeinflusst unbeeinflusst
beschleunigt	beschleunigt	stark gehemmt	gehemmt, Extraktart, zum Teil unproportioniert
anfangs unbeeinflusst	leicht beschleunigt	gesteigert	gehemmt, Extrakt plump, kurz
anfangs unbeeinflusst	leicht beschleunigt	fast unbeeinflusst	fast unbeeinflusst
anfangs unbeeinflusst beschleunigt	leicht beschleunigt beschleunigt	fast unbeeinflusst mässig gehemmt	fast unbeeinflusst stark gehemmt, nicht gebildet
gering beschleunigt	zum Teil leicht beschleunigt	leicht beschleunigt	wenig beeinflusst
stark gehemmt	stark verzögert	beträchtlich gehemmt	bei den metamorphos. Tieren normal, bei den neotonischen gehemmt
gehemmt gehemmt	stark verzögert stark verzögert	etwas gehemmt gehemmt	ebenso ebenso
unbeeinflusst unbeeinflusst etwas gehemmt unbeeinflusst gehemmt	wenig beeinflusst wenig beeinflusst zum Teil verzögert kaum beeinflusst verzögert	begünstigt wenig beeinflusst etwas gehemmt gehemmt gehemmt	unbeeinflusst unbeeinflusst wenig beeinflusst wenig beeinflusst gehemmt
leicht beschleunigt	ganz leicht beschleunigt	leicht gehemmt	kaum beeinflusst
beschleunigt	beschleunigt	gehemmt	gehemmt
stark beschleunigt	stark beschleunigt	stark gehemmt	gehemmt
anfangs unbeeinflusst, später in geringem Maasse beschleunigt sehr stark gehemmt	ganz leicht beschleunigt	gesteigert	unbeeinflusst
stark gehemmt stark gehemmt	Metamorphose völlig verhindert Metamorph. unterdrückt sehr stark verzögert	stark gehemmt stark gehemmt gehemmt	äusserst stark gehemmt sehr stark gehemmt stark gehemmt
stark beschleunigt	stark beschleunigt	sehr stark gehemmt	stark gehemmt
beschleunigt	beschleunigt	stark gehemmt	gehemmt
beschleunigt	verzögert	stark gehemmt	gehemmt
leicht gehemmt beschleunigt	leicht verzögert beschleunigt	sehr schwach gehemmt mässig gehemmt	unbeeinflusst nur wenig gehemmt

tung kritisch gewertet werden¹⁾. Zu diesem Zwecke ist zunächst in Tab. 12 die bei den einzelnen Versuchen beobachtete Wirkung der einzelnen Extrakte auf Wachstum und Entwicklung übersichtlich zusammengestellt. Dabei wird bei der Entwicklung zwischen einer Beschleunigung der Differenzierung und einer Beschleunigung der Metamorphose unterschieden. Denn wie es einerseits vorkommt, dass Tiere viel frühzeitiger als die Normallarven gut entwickelte Extremitäten bekommen, obwohl sie die Metamorphose erst spät oder auch gar nicht vollenden, ebenso kann man andererseits beobachten, dass Kaulquappen, welche sich während des grösseren Teiles der Larvalzeit wenigstens äusserlich in keiner Weise von den Kontrolltieren unterscheiden, gegen Ende der Larvalperiode plötzlich eine deutliche Beschleunigung der Entwicklung aufweisen. In ähnlicher Weise muss beim Wachstum zwischen einem Wachstum des Körpers im allgemeinen und einem Wachstum der Extremitäten unterschieden werden, da festzustellen ist, dass Larven bestimmter Versuchsgruppen, deren allgemeines Wachstum nur wenig gehemmt ist, selbst zur Zeit der Metamorphose erst kurze Extremitäten besitzen, während die zwergartig klein gebliebenen Tiere anderer Gruppen wieder lang gewachsene, gut proportionierte Beine haben.

Bereits in einer früheren Arbeit (1918) konnte ich zeigen, dass der primäre Acetonextrakt getrockneter Schilddrüsensubstanz keinerlei entwicklungsbeschleunigende Wirkung entfaltet, sondern im Gegenteil einen mässigen entwicklungs- und wachstumshemmenden Einfluss ausübt. In den vorliegenden Versuchen war es möglich, diese Eigenschaft hauptsächlich einer bestimmten Fraktion des Acetonextraktes zuzuweisen, nämlich jenem Teil, der beim Abkühlen des heiss gewonnenen Acetonextraktes in Lösung bleibt (Versuch I b Präparat A I). In Übereinstimmung damit stehen die mit dem primären Ätherextrakt gewonnenen Resultate. Von diesem wirkt hauptsächlich die acet unlösliche Fraktion (Versuch II c; Präparat B II) und die alkohollösliche Fraktion des acet unlöslichen Extraktteiles (Versuch II e; Präparat B IV) entwicklungs- und wachstumshemmend. Auch die alkohollösliche Fraktion des acet unlöslichen Teiles des primären Ätherextraktes

1) Mit der Besprechung der einschlägigen Literatur kann ich mich diesmal kurz fassen, da dieselbe erst in meiner vorausgehenden Arbeit eingehend gewürdigt wurde und sich seitdem nicht wesentlich vermehrt hat.

(Versuch II *d*; Präparat B III) verzögerte die Metamorphose, während das Wachstum weniger beeinflusst wurde.

Nur geringe Entwicklungshemmung ruft die chloroformlösliche Fraktion des Acetonextraktes (Versuch I *c*; Präparat A II) hervor; als indifferent für Wachstum und Entwicklung erwies sich die chloroformunlösliche Fraktion des Acetonextraktes (Versuch I *d*; Präparat A III) und der sekundäre Toluolextrakt (Versuch I *e*; Präparat A IV).

Auch der ätherlösliche Teil eines wässrigen, mit Alkohol enteiweissten Schilddrüsenextraktes (Versuch IV *c*; Präparat D II) besitzt schwache entwicklungshemmende Wirkung, die jedoch viel geringer ist als bei den obengenannten Fraktionen des Aceton- und Ätherextraktes. Dies kann entweder dadurch bedingt sein, dass die Wirkung der in den erwähnten Fraktionen enthaltenen Stoffe durch die übrigen im Gesamtätherextrakt vorhandenen verdeckt wird. Möglicherweise beruht der Unterschied aber auch darauf, dass die Tiere des Versuchs IV zu Beginn der Fütterung schon älter waren, und dass dann in einem solchen Falle die volle Wirkung nicht mehr so stark zum Vorschein kommt. Vielleicht erklärt sich in dieser Weise auch der Gegensatz zu Kahn, der den ätherlöslichen Teil eines mit 96 % Alkohol aus frischer Schilddrüse hergestellten Extraktes für völlig indifferent erklärt. Möglicherweise hat Kahn auch nicht oft genug gefüttert. Ferner ist der Unterschied bei Verfütterung des Gesamtätherextraktes leicht zu übersehen, besonders wenn auch die Kontrolltiere infolge irgendeiner äusseren oder inneren Bedingung zu Neotenie neigen.

Über die Natur der in den genannten Extrakten entwicklungs- und wachstumshemmend wirkenden Stoffe lassen sich vorerst nur Angaben allgemeiner Art machen. Nach Bang (1911) sind im primären Acetonextrakt getrockneter Organsubstanz hauptsächlich Fette, Fettsäuren und Cholesterin zu erwarten. Die bei der Extraktgewinnung näher beschriebenen Eigenschaften der Acetonfraktion AI und der Ätherfraktion B II (vgl. S. 425 und S. 448) machen es überaus wahrscheinlich, dass diese Extrakte hauptsächlich Fette und Fettsäuren von niedrigem Schmelzpunkt, wie Triolein und Ölsäure bzw. deren Seifen, enthalten. Insbesondere wird die Wirkung der Ölsäure dabei in Betracht zu ziehen sein, zumal im Hinblick auf die von I. Kniebe auf meine Veranlassung hin unternommenen und in Kürze zur Veröffentlichung kommenden Versuche, bei denen Ölsäure und besonders ölsaures Natrium sehr

starke Wachstums- und Entwicklungshemmung hervorrief. Auch J. Bang gibt, wie ich nachträglich sehe, in seiner Biochemie der Lipide an, dass Kaulquappen durch Zusatz von Ölsäure „vergiftet“ werden.

Ausser den Extraktfraktionen A I und B II des Aceton- bzw. Ätherextraktes hatte auch noch die mit B IV bezeichnete Fraktion des primären Ätherextraktes starke entwicklungs- und wachstumshemmende Wirkung. Dieselbe stellt den alkohollöslichen Teil der acetonunlöslichen Fraktion des primären Ätherextraktes dar. Nach den Reaktionen dieser Extraktfraktion sowie auf Grund der Erlandsen'schen Untersuchungen, die sich allerdings auf die Lipide des Herzmuskels beziehen, ist anzunehmen, dass sie hauptsächlich Lecithin enthält. Es ist nun von Interesse, dass Bang die von ihm bei Einwirkung von Ölsäure an Kaulquappen beobachtete Wirkung auch durch geringe „Lecithin“-Mengen hervorrufen konnte. Auch ich beobachtete bei früheren Versuchen (1914/15) eine wachstumshemmende Wirkung des Lecithins (Ovolecithin von Merck). Doch bestand hier wie bei den Versuchen Bang's die Möglichkeit, dass diese Wirkung hauptsächlich den in Handelsmarken von Lecithin stets vorhandenen Zersetzungsprodukten zuzuschreiben ist. Der vorliegende Versuch zeigt jedoch, dass auch ein frisch hergestelltes und sorgfältig aufbewahrtes Präparat prinzipiell ähnliche Erscheinungen hervorruft. Immerhin muss damit gerechnet werden, dass selbst bei ganz reinen Präparaten noch während der Einwirkung des Präparates auf die Tiere eine Zersetzung stattfindet.

Im Zusammenhang mit der wachstums- und entwicklungshemmenden Wirkung der genannten Extrakte sei ferner noch an die Versuche Reinke's erinnert, der Augenlinsen erwachsener Kaninchen mit 4 % Ätherwasser behandelte und in die Bauchhöhle der Tiere transplantierte, wo sie atypisch weiterwuchsen. Durch Zusatz von Ätherextrakt aus Linsen konnte dagegen dieses Wachstum unterdrückt werden (zitiert nach T. Bang 1911). Auch hier hatten also die im Ätherextrakt enthaltenen Stoffe („Lipide“) wachstumshemmende Wirkung.

Möglicherweise spielen bei allen diesen Versuchen ungesättigte Fettsäuren die Hauptrolle, zumal ja auch im Molekül des Lecithins mindestens ein ungesättigtes Fettsäureradikal angenommen wird. Es sei in Verbindung damit an die starke hämolytische Wirkung ungesättigter Fettsäuren erinnert, wie sie aus den Untersuchungen von Noguchi (1906), Faust und Tallquist (1907)

u. a. hervorgeht. In Übereinstimmung mit dieser Auffassung stehen die Versuche von Haffner und Nagamachi (1914), die die vaso-konstriktorische Wirkung des ätherlöslichen Teiles von mit Alkohol enteweissten Schilddrüsen- und Ovarialextrakten durch die Entfernung der Fettsäuren als Kalkseifen aufheben konnten.

Entspricht aber nun die in gewissen Fraktionen des Äther- bzw. Acetonextraktes (zum Beispiel in Präparat A I und B II) enthaltene, entwicklungshemmend wirkende Substanz einem, in vivo abgeschiedenen Sekret? Es liegt zwar nahe, die Abtrennung und Wirkung dieser Substanz als reine Versuchswirkung zu betrachten, der keine innerhalb des normalen Sekretionsprozesses auftretende Funktion entspricht. Gewisse morphologische Befunde lassen jedoch auch eine gegenteilige Anschauung berechtigt erscheinen. Da nämlich einfaches Fettgewebe, zumal nach Entfernung des an der Kapsel gelegenen makroskopisch sichtbaren Fettes, gerade in der Schilddrüse nur spärlich ist, muss die in Frage kommende bei der Extraktion zu gewinnende, ziemlich reichliche Fettmenge zum Teil auch aus dem Drüsenparenchym selbst stammen. In diesem Falle müsste wenigstens teilweise auch mikroskopisch-morphologisch in den Drüsenzellen Fett nachzuweisen sein. In Übereinstimmung mit dieser Annahme hat sich bei der Durchsicht der einschlägigen Literatur gezeigt, dass tatsächlich bereits von mehreren Autoren in den Drüsenzellen der Thyreoidea fettartige Einlagerungen aufgefunden und beschrieben wurden (z. B. von O. Langendorf 1889, O. A. Andersson (1894), L. R. Müller 1896, Köllicker-Ebner 1899, Sata 1901, Ehrlich 1904), von denen allerdings ein Teil das Auftreten von Fettsubstanzen in den Drüsenzellen, wenn auch ohne hinreichende Begründung, für pathologisch ansprach. Eine Klärung der Frage brachte erst die Arbeit P. Erdheim's (1903), der auf Grund eingehender mikroskopischer Untersuchungen den Nachweis führte, dass „in jeder normalen Schilddrüse am zentralen, dem Lumen anliegenden Saum der Epithelzellen regelmässig Körnchen zu finden sind, die im nativen Zustand eine gelbgrüne Farbe besitzen. Sie geben die Sudan III-, Scharlach R.- und Osmiumreaktion und werden in Ätheralkohol vollständig gelöst ohne Hinterlassung eines farbigen Rückstandes. Sie bestehen somit aus einem ölsäurehaltigen Fette, welches in feinen Körnchen mikroskopisch gelbgrün, in extrahiertem Zustande aber als Masse eine tief dunkelbraune Farbe und die Konsistenz einer weichen Salbe aufweist“. Bei intraperitonealen Injektionen (an Katzen)

fand Erdheim die Substanz wirkungslos, weshalb er ihr besonders giftige Eigenschaften abspricht. Erdheim glaubt aber, dass die Fettkörnchen mit der Bildung des inneren Sekretes in Zusammenhang stehen, während er eine Beziehung zur Kolloidsekretion verneint.

Da nun in meinen vorliegenden Versuchen gerade jene Fraktion der Fettextrakte entwicklungshemmend wirkte, welche den Reaktionen nach reich an ölsäurehaltigen Verbindungen war, so ist die Schlussfolgerung, dass zwischen ihr und den morphologisch nachweisbaren Fettkörnchen der Drüsenzellen ein Zusammenhang besteht, naheliegend. Es würde sich demnach nicht um eine postmortal, bei der Extraktbereitung entstandene oder um eine ausserhalb der Drüsenparenchym gelegene Substanz, sondern um eine bereits in vivo in den Drüsenzellen vorhandene handeln.

In Verbindung damit steht aber weiter die Frage, ob die bei den Äther- und Acetonextrakten beobachteten Wirkungen als organspezifisch zu betrachten sind. Die Feststellung, dass auch Acetonextrakte des Thymus starke entwicklungs- und wachstumshemmende Fähigkeiten besitzen (Romeis 1918), spricht zwar dagegen. Die zu beobachtenden graduellen Unterschiede lassen jedoch vor einer endgültigen Entscheidung erst noch weitere vergleichende Versuche mit analogen Extrakten anderer Organe als notwendig erscheinen.

Sehr tiefgehend sind die Unterschiede, die in der Wirksamkeit der einzelnen Alkoholextrakte zutage getreten sind. Betrachten wir zunächst nur die beiden mit wasserfreiem Alkohol gewonnenen und zu Versuch I und II verwendeten Alkoholextrakte. Während verschiedene Fraktionen des einen zu Versuch I benutzten Extraktes eine deutliche Beschleunigung der Entwicklung hervorriefen, verursachten analoge Fraktionen des zu Versuch II verwendeten Extraktes nicht nur keine Beschleunigung, sondern eine zum Teil sogar recht erhebliche Hemmung der Entwicklung. Der Unterschied in der Gewinnung der beiden Extrakte besteht nun im wesentlichen darin, dass der erstgenannte durch mehrtägiges intensives Kochen gewonnen wurde, während bei der Herstellung des zweiten niemals die Körpertemperatur überschritten wurde. Es muss demnach die starke Erhitzung bei der Extraktgewinnung für die verschiedene Wirkung der Extrakte von ursächlicher Bedeutung sein.

Im übrigen besitzen aber auch die einzelnen Fraktionen der Ex-

trakte, besonders die des Extraktes I, ziemlich differente Wirkungen. Wie schon bei der Schilderung der Herstellung der einzelnen Extrakte näher beschrieben wurde, tritt beim Abkühlen und Einengen der Alkoholextrakte ein Niederschlag auf, der in Alkohol mehr oder weniger unlöslich ist. Die Menge desselben ist beim heiss gewonnenen Extrakt grösser. Der Niederschlag wurde bei diesem letzteren in etwas Wasser gelöst und mit Äther ausgeschüttelt, wobei sich über dem wasserlöslichen Teil eine sehr hartnäckige Emulsion absetzte. Beide Fraktionen beeinflussen in sehr verschiedener Weise Entwicklung und Wachstum; denn während die wasserlösliche Fraktion (Versuch I g, Präparat A VI) das Wachstum überaus begünstigt, so dass es sogar über das normale Durchschnittsmaass hinaus gesteigert ist, wird es durch den emulgierenden Anteil (Versuch I f; Präparat A V) schon kurze Zeit nach Versuchsbeginn ziemlich erheblich gehemmt. Die Entwicklung ist zwar bei beiden beschleunigt; diese Wirkung tritt aber bei letzterem schon viel frühzeitiger und stärker zutage, während sie bei dem erstgenannten Präparate erst gegen Ende der Larvalperiode zum Vorschein kommt. Diese auffallende Differenz in der Wirksamkeit kann jedoch sehr einfach erklärt werden. Schon die beim Ausschütteln der wässrigen Lösung auftretende hartnäckige Emulgierung des ätherlöslichen Teiles A V liess die Anwesenheit von Eiweiss Spuren vermuten, die trotz der mehrmaligen Filtration in feinsten Suspension oder in Lösung durch das Filter gingen. Die Vermutung fand im Ausfall der chemischen Reaktionen ihre Bestätigung, da mittels mehrerer Proben (Kochprobe, Heller'sche Probe, Almèn) in der genannten Fraktion deutliche, wenn auch nur sehr geringe Eiweiss Spuren nachgewiesen werden konnten. In der zweiten wasserlöslichen Fraktion A VI konnte dagegen kein Eiweiss aufgefunden werden. Aus dieser Flüssigkeit waren also durch das Ausschütteln die letzten Eiweiss Spuren entfernt worden, ein Vorgang, der ja nichts Aussergewöhnliches an sich hat, da das Ausschütteln häufig zum Enteiweissen von Lösungen dient. Das durch das Schütteln in feinste Tröpfchen verteilte Fett versah die Rolle der gewöhnlich bei der Enteiweissung durch Schütteln benutzten Zusätze von Tierkohle, Kaolin oder dergleichen. Begünstigt wurde der Vorgang wahrscheinlich durch den Salzgehalt der Flüssigkeit, der, wie die Veraschung des getrockneten Extraktes ergab, verhältnismässig beträchtlich war. Aus den Reaktionen ist zu schliessen, dass es sich dabei grossenteils

um Chloride handelte. Auf die Anwesenheit dieser Salze ist vermutlich die Begünstigung des Wachstums zurückzuführen, die bei den mit dem Extrakt A VI behandelten Tieren zu beobachten ist. Möglicherweise handelt es sich dabei hauptsächlich um eine vermehrte Wasseraufnahme der Tiere. Ausser diesen Salzen enthält die genannte Extraktfraktion auch noch Aminosäuren. Inwieweit diese für die wachstumsfördernde Wirkung in Betracht zu ziehen sind, müsste erst noch durch weitere Versuche klargestellt werden.

Die analogen Fraktionen des bei Körpertemperatur gewonnenen Alkoholextraktes B V und B VI rufen keine Entwicklungsbeschleunigung hervor. Hier trat auch beim Ausschütteln mit Petroläther nur eine vorübergehende Emulgierung auf, die sich bald wieder löste. In Übereinstimmung damit konnten hier auch keine Eiweiss Spuren nachgewiesen werden. Dagegen übt auch hier wieder die wasserlösliche Fraktion B V einen wachstumsfördernden Einfluss aus, wenn auch etwas schwächer als in Versuch I. Wie dort, war auch hier diese Extraktfraktion wieder sehr salzreich.

Auffallend ist nun, dass im Versuch I auch der beim Abkühlen und Einengen in Lösung bleibende Teil des Alkoholextraktes eine Beschleunigung der Entwicklung veranlasst. Besonders stark tritt sie bei dem acetonlöslichen Teil der ätherlöslichen Fraktion des Extraktes (Versuch I *k*, Präparat A IX) hervor, während sie bei den ätherunlöslichen und acetonunlöslichen Fraktionen (Versuch I *h*, Präparat A VII; Versuch I *i*, Präparat A VIII) nur geringe Grade erreicht. Die analogen Fraktionen des bei Körpertemperatur gewonnenen Extraktes B des Versuches II, besonders die acetonlösliche des ätherlöslichen Teiles (Versuch II *k*, Präparat B IX), hatten dagegen Entwicklungshemmung zur Folge.

Die für den Unterschied der Fraktionen A V und B VI mögliche Erklärung, nämlich der Nachweis von Eiweiss Spuren, lässt sich für die Deutung der Differenz zwischen den Fraktionen A IX und B IX nicht mehr anwenden, da alle Eiweissproben, die bei Fraktion A IX nach Entfernung der Fette durch Verseifung versucht worden waren, negativ ausfielen. Dagegen ist aus dem Auftreten von reichlichem Niederschlag bei Zusatz der sogenannten Alkaloidreagenzien auf die Anwesenheit von Basen zu schliessen. Vermutlich hat das intensive Kochen der Drüsensubstanz mit Alkohol eine teilweise Zerlegung des Jodthyreoglobulins der Schilddrüse zur Folge, so dass eine für gewöhnlich

an diesen Eiweisskörper gebundene Substanz abgespalten wird und in den heissen Alkohol übergeht. Beobachtet man doch auch bei Autolyse und bei Hydrolyse der Drüsengewebe, dass die wirksame Substanz alkohollöslich wird. Man könnte eine Abtrennung von Aminosäuren und analog den Ausführungen Guggenheimer's (1913) eine nachfolgende Entkarboxylierung derselben zu physiologisch stark wirkenden Aminen annehmen.

Ganz im Gegensatz zu dem mit wasserfreiem Alkohol bei 37 ° C. gewonnenen Extrakt riefen ausser dem eben besprochenen, durch Kochen gewonnenen Alkoholextrakt auch die für die Gruppen *l* und *m* des Versuches II benützten Alkoholextrakte BX und B XI Entwicklungsbeschleunigung und Wachstumshemmung hervor. Bei diesen Extrakten aber ist für die Erklärung der differenten Wirkung der Wassergehalt des extrahierenden Alkohols von ursächlicher Bedeutung. Denn wie ein Vergleich der beiden Gruppen zeigt, ist die Entwicklungsbeschleunigung und Wachstumshemmung bei dem mit 80 % Alkohol gewonnenen Extrakte stärker als bei dem mit 96 % Alkohol hergestellten, so dass also die Wirksamkeit mit zunehmendem Wassergehalt steigt. Noch intensiver ist dieselbe dementsprechend bei Gruppe *n*, bei welcher ein rein wässriger Extrakt (B XII) zur Anwendung kam. Die bei Schilddrüsenfütterung auf Kaulquappen spezifisch wirkende Substanz wird also dem getrockneten Organ um so mehr entzogen, je höher der Wassergehalt des Extraktionsmittels ist.

Da aber nun, wie die an den Extrakten ausgeführten Reaktionen ergaben, Hand in Hand damit eine Zunahme des Eiweissgehaltes geht, so wird dadurch wieder die Frage aufgerollt, ob die in wasserhaltigen, aus frischer Schilddrüsensubstanz gewonnenen Alkoholextrakten enthaltene und auf Entwicklung und Wachstum spezifisch wirkende Substanz eiweissartiger oder eiweissfreier Natur ist. Kahn entscheidet diese Frage in letzterem Sinne; in einer vorausgehenden Arbeit wies ich jedoch darauf hin, dass die Beweisführung Kahn's hierfür nicht zwingend ist, da er den Nachweis der völligen Abwesenheit von Eiweiss nicht genügend erbracht hat. Ebenso erhob ich gegen meine analogen Extrakte den Einwand, dass sie noch Eiweiss Spuren enthielten; leider gestatten auch die in den vorliegenden Versuchen gewonnenen Ergebnisse noch keine endgültige Entscheidung. Zwar konnte in dem mit 96 % Alkohol aus entfetteter

Schilddrüsentrockensubstanz gewonnenen Extrakte (Präparat B X) Eiweiss mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden; dafür war aber auch die entwicklungsbeschleunigende Wirkung dieses Extraktes nur gering. Deutlicher gelang dagegen der Nachweis von Eiweiss Spuren bei dem mit 80 % Alkohol erhaltenen Extrakt, der hinwiederum erheblich stärkere Wirkung besass.

In Verbindung damit müssen die Ergebnisse der Versuche III und IV betrachtet werden, in denen die hier einschlägigen Extrakte dadurch gewonnen wurden, dass ein mit wenig Wasser aus fein zerquetschtem frischem Schilddrüsen Gewebe hergestellter Extrakt in die 20fache Menge 96 %igen Alkohols getropft wurde. Auf diese Weise wurde die grösste Menge der Eiweisssubstanzen entfernt und der Wassergehalt so sehr vermindert, dass die abfiltrierten Extrakte alkoholischen Extrakten entsprechen. Wurde dieser Vorgang, wie bei Präparat C V, C VI und D I, nur ein einziges Mal vorgenommen, so war die Enteiweissung nur unvollständig. Unter diesen Umständen ist es vollkommen begreiflich, dass diese Extrakte auch recht erhebliche entwicklungsbeschleunigende und wachstumshemmende Wirkung besaßen. Der Umstand, dass die wirksame Substanz aus dem Extrakt durch Phosphorwolframsäure gefällt wurde, spricht ebenfalls für ihre Eiweissnatur, schliesst aber keineswegs eiweissfreie Konstitution aus, da durch dieses Reagens bekanntlich auch verschiedene Basen ausgefällt werden.

Da die unvollkommene Enteiweissung der Extrakte C V, C VI und D I mit dem Wassergehalt der betreffenden Lösung in Verbindung zu bringen war, wurde zur Verminderung desselben der Extrakt bei einem anderen Versuche einer zweimaligen Fällung durch 96 % Alkohol unterworfen (Versuch IV, Präparat D III). Zu diesem Zwecke wurde das nach der ersten Fällung gewonnene Filtrat im Vakuum stark eingengt und nochmals in die etwa 20fache Menge 96 %igen Alkohols getropft, wobei sich noch ziemlich viel Niederschlag absetzte. Das neuerdings gewonnene Filtrat wurde wiederum eingengt und mit Äther ausgeschüttelt. Aber auch jetzt wirkte die Substanz noch entwicklungsbeschleunigend; die Wirksamkeit war jedoch schwächer als bei dem in Gruppe *f* des Versuches III benützten Präparate C V (bzw. Gruppe *b* des Versuches IV, Präparat D I), bei dem die Enteiweissung nur ein einziges Mal vorgenommen worden war. Sehr auffallend ist dabei auch der Unterschied in der Beeinflussung des

Wachstums, sowohl was allgemeines Körper- wie Extremitätenwachstum betrifft. Denn während bei den durch einmalige Ausfällung mit Alkohol enteweissten Extrakten das Körper- und Extremitätenwachstum gegenüber der Kontrolle stark gehemmt ist, ist bei dem zweimal gefällten Extrakte das Körperwachstum im Vergleich zur Kontrolle in erheblich geringerem Grade beeinträchtigt, und die Extremitäten weisen zur Zeit der Metamorphose bedeutend höhere Längenmaasse auf (vgl. Abb. 32 und 45 mit Abb. 47).

Dieser Unterschied zwischen den beiden Extrakten lässt sich nur so erklären, dass die in dem durch einmalige Fällung gereinigten Extrakt noch wirkende Substanz bei der zweiten Fällung zum grössten Teil in den Niederschlag übergegangen ist. Eine Untersuchung des Niederschlages müsste also Aufschluss über die chemische Natur des wirksamen Stoffes bringen. Aus den bisher angeführten Reaktionen kann vorerst nur das eine geschlossen werden, dass ein Teil des Niederschlages aus Eiweiss von globulinartigem Charakter gebildet ist. Der Umstand aber, dass die Menge des zum Beispiel mit Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure zu erhaltenden Niederschlages viel grösser ist, als man nach dem Ausfall der Eiweisskochprobe erwartet, deutet schon darauf hin, dass ausserdem auch noch andere Substanzen in ihm enthalten sind. Werden doch zum Beispiel auch Fermente oder fermentartige Substanzen durch Alkohol ausgefällt. Die gleiche Beobachtung lässt sich übrigens auch an dem mit 80 % Alkohol aus getrockneter Schilddrüsensubstanz gewonnenen Extrakte (Präparat B XI) machen.

Wie bereits betont, erwies sich also der alkoholische Extrakt D III auch nach der zweiten Fällung noch als wirksam, wenn auch in verringertem Grade. Wäre der Extrakt nun wirklich eiweissfrei gewesen, so wäre durch den genannten Versuch der Beweis dafür erbracht, dass die entwicklungsbeschleunigend wirkende Substanz der Thyreoidea eiweissfreier Natur ist. Da es aber gelang, im Extrakte auch nach der zweiten Fällung noch Spuren von Eiweiss nachzuweisen, so ist gegenüber dieser Schlussfolgerung noch Vorsicht am Platze, zumal in Erinnerung an frühere Versuche (vgl. Romeis 1918, Versuch VIII der Arbeit), durch die die Wirksamkeit selbst sehr stark verdünnter Jodthyreoglobulinlösungen (zum Beispiel 1:100 000) bewiesen wird. Die Ursache der unvollkommenen Enteiweissung ist vermutlich darin zu suchen, dass zur Ausfällung der Extrakte nur 96 % Alkohol be-

nutzt wurden. Das dadurch im Extrakte auch bei der zweiten Fällung noch anwesende Wasser scheint zu genügen, um eine völlige Ausfällung hintanzuhalten. Weitere Versuche mit wasserfreiem Alkohol sind im Gang.

Ausser diesen durch Alkoholfällung nicht ganz vollständig enteiussten Extrakten kamen in den vorliegenden Versuchen aber auch noch zwei völlig enteiusste Präparate zur Prüfung. Bei dem einen Extrakte (Versuch III, *c*, *d* und *e*; Präparat C II, C III und C IV) waren die Eiweisskörper durch Einwirkung von Gerbsäure und Bleioxyd (vgl. S. 461) tatsächlich bis auf den letzten Rest entfernt worden. Das Ergebnis der biologischen Prüfung des Extraktes war die Feststellung, dass er im Gegensatze zur gewöhnlichen Thyreoideawirkung eine äusserst starke Entwicklungshemmung hervorrief. Ausserdem war dieselbe auch noch mit einer sehr beträchtlichen Wachstumshemmung verknüpft. Nun tritt zwar auch bei typischer Thyreoideafütterung konstant eine Wachstumshemmung auf; zwischen dieser und der beim vorliegenden Versuche zu beobachtenden bestehen jedoch weitgehende Unterschiede.

Bei Schilddrüsenfütterung ist sie stets mit einer gleichzeitig oder bereits vorher auftretenden Entwicklungsbeschleunigung verknüpft. Die Wachstumshemmung hängt hier mit einer Steigerung des Stoffwechsels zusammen. Solange dieselbe, wie während der ersten Tage des Versuches nach der ersten Fütterung, mässig ist und das Tier die erforderliche Kalorienzahl durch vermehrte Nahrungsaufnahme zu bestreiten vermag, kann die Thyreoideafütterung sogar eine Steigerung des Wachstums hervorrufen. Tatsächlich lässt sich dieselbe, wie ich in später zu veröffentlichenden Protokollen zeigen werde, auch bei Fütterung junger Stadien mit frischer Schilddrüse während der ersten Tage der Einwirkung nachweisen. Sehr bald ist jedoch kein Überschuss mehr vorhanden; das Tier kommt gerade mit der aufgenommenen Nahrung aus: das Wachstum bleibt stehen. Aber auch dieser Zustand dauert nicht lange an; die aufgenommene Nahrung ist sehr bald nicht mehr hinreichend, um den Bedarf zu decken, so dass die tiereigene Substanz angegriffen werden muss; vielleicht spielen dabei auch die im Darmtraktus auftretenden Veränderungen, die eine genügende Aufschliessung der Nahrung unmöglich machen, eine wichtige Rolle. Jedenfalls kommt es schliesslich bei stärkerer Thyreoideafütterung stets zu einem Rückgang der Körper-

grösse, der bei intensiver Einwirkung ganz bedeutende Grade erreichen kann¹⁾).

Anders die Wachstumshemmung bei Gruppen *c*, *d* und *e* des vorliegenden Versuches III. Hier wird das Wachstum durch den Einfluss des enteiussten Extraktes nur äusserst stark verlangsamt, ohne dass irgendwelche Reduktionsprozesse nachzuweisen wären; die Tiere behalten vielmehr alle larvalen Merkmale und sind auch in der Nahrungsaufnahme nicht behindert. Dieses Ergebnis erinnert an die Wachstumshemmung, die bei bestimmten Fraktionen des Äther- bzw. Acetonextraktes zu beobachten ist, nur dass sie bei der Einwirkung des enteiussten Extraktes C II viel höhere Grade erreicht.

Wenn ich trotz allem zögere, aus diesen Befunden vorerst weitgehende Schlüsse über die Natur der wirksamen Substanz zu ziehen, etwa in der Weise, dass dieser Versuch wegen des Fehlens jeglicher entwicklungsbeschleunigenden Wirkung des enteiussten Extraktes für die Eiweissnatur der entwicklungsbeschleunigend wirkenden Substanz spricht, so sind dafür hauptsächlich zwei Gründe maassgebend. Einerseits besteht die Möglichkeit, dass bei dem Vorgang der Enteiweissung ausser Eiweiss auch noch wirksame Basen und Alkaloide ausgefällt wurden, wenn auch versucht wurde, dies durch Ansäuern des Extraktes zu verhüten. Indes können derartige Substanzen nicht nur bei der Enteiweissung selbst, sondern auch später durch die bei der Entfernung der überschüssigen Gerbsäure mit Baryumhydroxyd auftretenden voluminösen Niederschläge niedergerissen werden.

Das zweite Bedenken wird durch die erst nach Beendigung des Versuches bei der chemischen Untersuchung des Extraktes aufgefundenen Bleispuren hervorgerufen. Es wäre denkbar, dass sowohl Wachstums- wie Entwicklungshemmung auf eine chronische Bleivergiftung zurückzuführen ist. Weitere diesbezügliche Untersuchungen werden hierüber Aufklärung bringen.

Der zweite eiweissfreie Extrakt war das von Hoffmann-La Roche in den Handel gebrachte „Thyreoglandol“, das nach Angabe

1) Von Bedeutung ist dabei auch die gleichzeitig erfolgende Abgabe von Wasser, welche aus meinen Wägungen an Thyreideakaulquappen hervorgeht (Romeis 1914/15), besonders im Hinblick auf neue Untersuchungen von Eppinger (Zur Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems. Springer, Berlin 1917), in welchen er über die häufig sehr starke diuretische Wirkung des Thyreoides berichtet.

der Fabrik einen eiweiss-, lipid- und fast jodfreien Auszug der Schilddrüse darstellt. Dieses Präparat wurde an Warmblütern mit zum Teil widersprechenden Erfolgen bereits von verschiedenen Forschern auf seine Wirksamkeit hin untersucht (Bürgi und v. Traczewski, H. Richardson, S. Kakehi, L. Asher und Flack, W. Axentjan, H. Streuli, M. Eiger, L. Asher). Über seinen Einfluss auf Wachstum und Entwicklung von Kaulquappen liegt dagegen nur eine von meiner Seite stammende Angabe (1918) vor. Von besonderem Interesse ist die Arbeit von Abelin, zumal der Autor aus seinen an Hunden ausgeführten Experimenten auch einen Analogieschluss auf die Wirkung des Thyreoglandols auf Froschlarven zieht. Abelin kommt auf Grund seiner Versuche zu dem Resultate, „dass dem eiweissfreien Auszug aus der Schilddrüse die charakteristische Wirkung auf den Stoffwechsel zukommt. Unter dem Einfluss dieser Schilddrüsensubstanz (nämlich dem Thyreoglandol) trat sowohl beim normalen als auch beim thyreoid ektomierten Hund eine sehr wesentliche Steigerung des Hungereiweissumsatzes ein. Die erhöhte Eiweisszersetzung war öfters von einer gesteigerten Wasserausscheidung begleitet. Die eiweissfreien Produkte der Schilddrüse üben also auf den Eiweissstoffwechsel die gleiche Wirkung wie die Gesamtschilddrüse oder die Schilddrüsen-eiweisskörper aus“.

Im Kaulquappenversuch dagegen weicht die Wirkung des Thyreoglandols, wie das Protokoll des vorliegend veröffentlichten Versuches III *b* beweist, von der gewöhnlichen Schilddrüsenwirkung sehr erheblich ab. Denn während schon eine einmalige Fütterung mit frischer Thyreoidea oder die Einwirkung weniger Tropfen einer Jodthyreoglobulinlösung hinreicht, um starke Entwicklungsbeschleunigung und erhebliche Wachstumshemmung und Reduktionsvorgänge hervorzurufen, bleibt die Entwicklung der Kaulquappen sogar nach Einwirkung mehrerer Ampullen Thyreoglandol äusserlich lange Zeit völlig unbeeinflusst. Erst gegen Ende der Larvalperiode stellt sich eine ganz leichte Beschleunigung der Metamorphose ein. Das Wachstum aber ist nicht nur nicht gehemmt, sondern sogar gesteigert. Die in dem Thyreoglandol enthaltene Substanz ist demnach anderer Natur als die in den durch Verdauung (Abderhalden) oder Hydrolyse (Romeis) gewonnenen eiweissfreien Schilddrüsenextrakten enthaltenen Stoffe, welche in ihrer Wirkung weitgehende Übereinstimmung mit frisch verfütterter Drüse zeigen.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welchen Einfluss verschiedene fett-, lipoid- oder eiweisshaltige sowie eiweissfreie Extrakte der Schilddrüse auf Wachstum und Entwicklung ausüben.

1. Wirkung der Fraktionen des primären, bei Siedetemperatur gewonnenen Acetonextraktes:

a) Der beim Abkühlen des Extraktes in Lösung bleibende Teil, der hauptsächlich Fette und Fettsäuren von niedrigem Schmelzpunkt enthält, verursacht deutliche Entwicklungs- und Wachstumshemmung.

b) Der beim Abkühlen ausfallende Teil des Acetonextraktes wird mit Chloroform fraktioniert. Die chloroformlösliche Fraktion ruft nur geringe Entwicklungshemmung hervor, während sich der chloroformunlösliche Teil als indifferent erweist.

2. Der nachfolgend gewonnene Toluolextrakt übt auf Wachstum und Entwicklung keinen wesentlichen Einfluss aus.

3. Der tertiäre, durch Kochen erhaltene Alkoholextrakt scheidet sich beim Abkühlen und Einengen in einen alkoholunlöslichen und einen alkohollöslichen Teil.

a) Der erstere wird in Wasser gelöst und mit Äther ausgeschüttelt. Die wasserlösliche Fraktion, welche reich an anorganischen Salzen und an Aminosäuren ist, wirkt überaus günstig auf das Wachstum, während der emulgierende Anteil des Niederschlages das Wachstum erheblich hemmt. Die Entwicklung ist in beiden Fällen beschleunigt, bei dem letztgenannten Präparat frühzeitiger und stärker als bei dem erstgenannten.

b) Der alkohollösliche Teil wird mit Äther und Aceton fraktioniert. Der acetonlösliche Teil der ätherlöslichen Fraktion ruft starke Entwicklungsbeschleunigung hervor, während bei den beiden anderen Fraktionen diese Wirkung nur in geringem Grade hervortritt.

4. Wirkung des bei 19° C gewonnenen primären Ätherextraktes: Dieser Extrakt wird mit Aceton und mit Alkohol fraktioniert. Der acetonlösliche Teil wirkt entwicklungs- und wachstumshemmend. Auch die alkoholunlösliche Fraktion des acetonunlöslichen Teiles verzögert die Metamorphose, während das Wachstum durch sie weniger beeinflusst wird. Die alkohollösliche Fraktion des acetonunlöslichen Teiles,

welche Lecithin enthält, hat dagegen starke entwicklungs- und wachstumshemmende Wirkung.

5. Der sekundäre, bei 19° C. mit absolutem Alkohol gewonnene Extrakt trennt sich beim Einengen in einen alkoholunlöslichen und alkohollöslichen Teil. Der erstere wird mit Petroläther fraktioniert. Der petrolätherunlösliche Teil wirkt wachstumsfördernd, der lösliche ist ziemlich indifferent. Die drei mit Äther und Aceton gewonnenen Fraktionen des alkohollöslichen Teiles, insbesondere die acetonlösliche des ätherlöslichen Extraktteiles, haben Entwicklungshemmung zur Folge.

6. Die nachfolgend mit 96 % Alkohol, 80 % Alkohol und endlich mit destilliertem Wasser gewonnenen Extrakte wirken entwicklungsbeschleunigend und wachstumshemmend, und zwar nimmt die Wirkung mit dem Wassergehalt des Extraktionsmittels zu.

7. Mit 96 % Alkohol einmalig gefällte, frische wässrige Schilddrüsenextrakte wirken noch entwicklungsbeschleunigend und wachstumshemmend. Nach nochmaliger Fällung tritt besonders die letztere Wirkung stark zurück.

8. Mit Gerbsäure, Baryumhydroxyd und Bleioxyd völlig enteiweiste wässrige Schilddrüsenextrakte wirken stark wachstums- und entwicklungshemmend.

9. Thyreoglandol beschleunigt die Entwicklung erst in grösseren Dosen und nach längerer Einwirkung, und auch dann nur in geringem Grade. Das Wachstum wird durch dasselbe nicht gehemmt, sondern gesteigert (im Gegensatz zur Wirkung frischer, verfütterter Schilddrüse).

10. Je vollständiger das Eiweiss aus frischen wässrigen Drüsenextrakten durch Dialyse, durch Fällung mit Alkohol, durch Ultrafiltration oder dergleichen entfernt wird, desto schwächer wird die entwicklungsbeschleunigende Wirkung, die dann auch bei Verabreichung verhältnismässig grosser Mengen derartig enteiweisster Extrakte meist nur langsam und vielfach erst gegen Ende der Larvalperiode deutlich hervortritt. Dabei macht sich in gewissen Fällen an Stelle einer Wachstumshemmung im Gegenteil eine Wachstumssteigerung geltend. Inwieweit diese zum Beispiel auch beim Thyreoglandol zu beobachtende Wirkung aber überhaupt noch spezifisch für die Schilddrüse ist, bedarf noch weiterer Untersuchung.

Ganz anders ist, wie aus meinen früheren Versuchen hervorgeht, die Wirkung eiweissfreier Extrakte, bei denen die Eiweisssubstanz der

Schilddrüse oder des Jodthyreoglobulins bis zu Peptonen oder noch weiter bis zum negativen Ausfall der Biuretreaktion abgebaut worden waren, sei es, wie in meinen Versuchen, durch Autolyse, Säure- oder Alkalihydrolyse oder wie bei Abderhalden durch Verdauung. Die dabei erhaltenen, nunmehr alkohollöslichen Abbauprodukte rufen grossenteils sehr deutliche Entwicklungsbeschleunigung und Wachstumshemmung hervor, deren Eintritt somit nicht an das Vorhandensein eines intakten Eiweisskernes gebunden ist. Die Schlussfolgerung, dass ähnliche Abbauprozesse auch bei der intravitalen Sekretion der Drüse vor sich gehen, ist naheliegend, aber noch nicht bewiesen.

Literaturverzeichnis.

- Abderhalden, E. 1915. Studien über die von einzelnen Organen hervor-
gebrachten Substanzen mit spezifischer Wirkung. I. Mitteilung. Arch. f. d.
ges. Physiol. Bd. 162.
— Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Berlin.
Abelin, J. 1917. Nachweis der Stoffwechselwirkung der Schilddrüse mit Hilfe
eines eiweissfreien und jodarmen Schilddrüsenpräparates. Biochem. Zeitschr.
Bd. 80.
Ackermann, D. 1910. Die Isolierung von Fäulnisbasen. Handbuch der bio-
chemischen Arbeitsmethoden Bd. II.
— Isolierung von Basen aus den Extrakten der Muskeln. Ebenda.
Andersson, O. A. 1894. Zur Kenntnis der Morphologie der Schilddrüse.
Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abtlg.
Asher, L. 1916. Die physiologischen Wirkungen des Schilddrüsensekretes und
die Methoden von ihrem Nachweis. Deutsche med. Wochenschr.
Asher, L., und Flack. 1910. Die innere Sekretion der Schilddrüse und die
Bildung des inneren Sekretes unter dem Einfluss von Nervenreizung. Zeit-
schr. f. Biologie Bd. 55.
Axentjan. 1914. Inaugur.-Diss. Basel.
Bang, T. 1911. Chemie und Biochemie der Lipotide. Wiesbaden.
Biedl. 1916. Innere Sekretion. 3. Auflage. Berlin.
Bürgi und v. Traczewski. Biochem. Zeitschr. Bd. 66.
Ehrlich. 1900. Klinische und anatomische Beiträge z. Morbus Basedowii. Beitr.
klin. Chirurg. Bd. 28.
Eiger, M. 1917. Zeitschr. f. Biologie.
Erdheim, P. 1903. Zur normalen und pathologischen Histologie der glandula
thyreoidea, parathyreoidea und Hypophysis. Zieglers Beitr. Bd. 33.
Erlandsen, A. 1907. Untersuchungen über die lecithinartigen Substanzen des
Myocardiums und der quergestreiften Muskeln. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 51.
Faust. 1908. Über chronische Ölsäurevergiftung. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm.
Supplement. Festschr. f. Schmiedeberg.

- Faust und Tallquist. 1907. Über die Ursachen der Botriocephalusanämie. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 57.
- Guggenheim, M. 1913. Proteinogene Amine. Therap. Monatsh. 27.
- Haffner, F. und Nagamachi, A. 1914. Zur physiologischen Wirkung von Organextrakten. Biochem. Zeitschr. Bd. 62.
- Kahn, R. H. 1916. Zur Frage der Wirkung der Schilddrüse und Thymus auf Froschlarven. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 163.
- Takehi, S. Zeitschr. f. Biologie Bd. 67.
- Koellicker-Ebner. 1899. Handbuch der Gewebelehre des Menschen. Leipzig.
- Langendorff, O. 1889. Beitrag zur Kenntnis der Schilddrüse. Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abt. Supplement.
- Müller, L. R. 1896. Beiträge zur Physiologie der normalen und erkrankten Schilddrüse. Zieglers Beitr. Bd. 19.
- Richardson, H. Zeitschr. f. Biologie Bd. 67.
- Romeis, B. 1914/15. Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersekretorischer Organe II. Der Einfluss von Thyreoidea- und Thymusfütterung auf das Wachstum, die Entwicklung und die Regeneration von Anurenlarven. Arch. f. Entw. Mech. Bd. 40 u. 41.
- 1916. Desgl. IV. Die Beeinflussung sehr früher Entwicklungsstadien von *Rana temporaria* durch Schilddrüsensubstanz. Zeitschr. f. d. ges. experim. Medizin. Bd. 5.
- 1918. Desgl. V. Die Beeinflussung von Wachstum und Entwicklung durch Fett-, Lipoid- und Eiweissstoffe sowie eiweissfreie Extrakte der Schilddrüse und der Thymus. Zeitschr. f. d. ges. experim. Medizin. Bd. 6.

Erklärung der Tafeln II und III.

Abb. 1—10. Versuch I: 36 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; photographiert am 7. Mai 1917. Versuchsbeginn am 17. April 1917.

- Abb. 1: Gruppe *a*: Kontrolle; normales Futter.
- „ 2: „ *b*: Primärer Acetonextrakt der Schilddrüse; kältelöslicher Teil (Präparat A I).
- „ 3: „ *c*: Primärer Acetonextrakt der Schilddrüse; kalteunlöslicher Teil; chloroformlöslich (Präparat A II).
- „ 4: „ *d*: Primärer Acetonextrakt der Schilddrüse; kalteunlöslicher Teil; chloroformunlöslich (Präparat A III).
- „ 5: „ *e*: Sekundärer Toluolextrakt der Schilddrüse (Präparat A IV).
- „ 6: „ *f*: Tertiärer Alkoholextrakt; alkoholunlöslicher Teil; Ätheremulsion (Präparat A V).
- „ 7: „ *g*: Tertiärer Alkoholextrakt; alkoholunlöslicher Teil; ätherunlöslicher Teil (Präparat A VI).

Abb. 8: Gruppe *h*: Tertiärer Alkoholextrakt; alkohollöslicher Teil; ätherunlösliche Fraktion (Präp. A VII).

" 9: " *i*: Tertiärer Alkoholextrakt; alkohollöslicher Teil; ätherlösliche Fraktion; acetonunlöslicher Teil derselben (Präparat A VIII).

" 10: " *k*: Tertiärer Alkoholextrakt; alkohollöslicher Teil; ätherlösliche Fraktion; acetonlösliche Fraktion (Präparat A IX).

Abb. 11—13. Versuch I: 48 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; photographiert am 19. Mai 1917.

Abb. 11: Gruppe *f*: Tertiärer Alkoholextrakt; Ätheremulsion des alkoholunlöslichen Extraktteiles (Präparat A V).

" 12: " *g*: Tertiärer Alkoholextrakt; ätherunlösliche Fraktion des alkoholunlöslichen Extraktteiles (Präparat A VI).

" 13: " *k*: Tertiärer Alkoholextrakt; alkohollöslicher Teil; acetonlöslicher Teil der ätherlöslichen Fraktion (Präparat A IX).

Abb. 14—26. Versuch II: 45 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; photographiert am 19. Mai 1917. Versuchsbeginn am 22. April 1917.

Abb. 14: Gruppe *a*: Kontrolle; normales Futter.

" 15: " *b*: Primärer Ätherextrakt der Schilddrüse; ätherunlöslicher Teil (Präparat B I).

" 16: " *c*: Primärer Ätherextrakt der Schilddrüse; acetonlösliche Fraktion des ätherlöslichen Teiles (Präparat B II).

" 17: " *d*: Primärer Ätherextrakt der Schilddrüse; alkoholunlöslicher Teil der acetonunlöslichen Fraktion des ätherlöslichen Extraktteiles (Präparat B III).

" 18: " *e*: Primärer Ätherextrakt der Schilddrüse; alkohollöslicher Teil der acetonunlöslichen Fraktion des ätherlöslichen Extraktteiles (Präparat B IV).

" 19: " *f*: Sekundärer Alkoholextrakt (absoluter Alkohol) der Schilddrüse; petrolätherunlösliche Fraktion des alkoholunlöslichen Extraktteiles (Präparat B V).

" 20: " *g*: Sekundärer Alkoholextrakt (absoluter Alkohol) der Schilddrüse; petrolätherlösliche Fraktion des alkoholunlöslichen Extraktteiles (Präparat B VI).

" 21: " *h*: Sekundärer Alkoholextrakt (absoluter Alkohol) der Schilddrüse; alkohollöslicher Teil; ätherunlösliche Fraktion desselben (Präparat B VII).

- Abb. 22: Gruppe *i*: Sekundärer Alkoholextrakt (absoluter Alkohol) der Schilddrüse; alkohollöslicher Teil; acetonunlöslicher Teil der ätherlöslichen Fraktion (Präparat B VIII).
- " 23: " *k*: Sekundärer Alkoholextrakt (absoluter Alkohol) der Schilddrüse; alkohollöslicher Teil; acetonlöslicher Teil der ätherlöslichen Fraktion (Präparat B IX).
- " 24: " *l*: Tertiärer Extrakt der Schilddrüse mit 96 % Alkohol (Präparat B X).
- " 25: " *m*: Nachfolgender Extrakt der Schilddrüse mit 80 % Alkohol (Präparat B XI).
- " 26: " *n*: Nachfolgender Extrakt der Schilddrüse mit destilliertem Wasser (Präparat B XII).

Abb. 27—33. Versuch III: 39 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; photographiert am 4. Juni 1917. Versuchsbeginn 10. Mai 1917.

Abb. 27: Gruppe *a*: Kontrolle; normales Futter.

- " 28: " *b*: Thyreoglandol (Präparat C I).
- " 29: " *c*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt, mit Gerbsäure und Bleioxyd enteiweissst (Präparat C II).
- " 30: " *d*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt, mit Gerbsäure und Bleioxyd enteiweissst; Phosphorwolframsäurefällung (Präp. C III).
- " 31: " *e*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt, mit Gerbsäure und Bleioxyd enteiweissst; Filtrat des mit Phosphorwolframsäure gefällten Extraktes (Präparat C IV).
- " 32: " *f*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt nach einmaliger Eiweissfällung mit 96 % Alkohol (Präparat C V).
- " 33: " *g*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt nach einmaliger Eiweissfällung mit 96 % Alkohol; Phosphorwolframsäurefällung (Präparat C VI).

Abb. 34—39. Versuch III: 48 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; photographiert am 13. Juni 1917.

Abb. 34: Gruppe *a*: Kontrolle.

- " 35: " *b*: Thyreoglandol (Präparat C I).
- " 36: " *c*: wie bei Abb. 29 (Präparat C II).
- " 37: " *d*: " " " 30 (Präparat C III).
- " 38: " *e*: " " " 31 (Präparat C IV).
- " 39: " *g*: " " " 33 (Präparat C VI).

Abb. 40—43. Versuch IV: 39 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; photographiert am 4. Juni 1917. Versuchsbeginn am 15. Mai 1917.

Abb. 40: Gruppe *a*: Kontrolle.

„ 41: „ *b*: Phosphorwolframsäurefällung eines frischen, wässerigen Schilddrüsenextraktes nach einmaliger Eiweissfällung mit 96 % Alkohol (Präparat D I).

„ 42: „ *c*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt nach zweimaliger Eiweissfällung mit 96 % Alkohol; ätherlösliche Fraktion desselben (Präparat B II).

„ 43: „ *d*: Frischer, wässriger Schilddrüsenextrakt nach zweimaliger Eiweissfällung mit 96 % Alkohol; ätherunlösliche Fraktion (Präparat D III).

Abb. 44—47. Versuch IV: 48 tägige *Rana temporaria*-Kaulquappen; fotografiert am 13. Juni 1917.

Abb. 44: Gruppe *a*: Kontrolle.

„ 45: „ *b*: wie bei Abb. 41 (Präparat D I).

„ 46: „ *c*: „ „ „ 42 (Präparat D II).

„ 47: „ *d*: „ „ „ 43 (Präparat D III).

Ein unbekannter Lidschlag- und Tränenreflex.

Von

Dr. **Bruno Kisch.**

Berichtigung.

Es muss auf Seite 239 dieses Bandes, Zeile 26 von oben der Abschnitt von: „Bei der Auslösung des Pupillenreflexes . . . bis . . . und N. sympathicus entsteht“ wegfallen und statt dessen richtig heissen:

„Bei der Auslösung des Pupillenreflexes vom Ohre aus kommt als Reflexbogen zweierlei in Betracht: erstens eine durch Trigeminusreizung bedingte Herabsetzung des Oculomotoriustonus, und zweitens in einzelnen Fällen eine durch die Reizung von Gehörgangswand und Trommelfell bedingte indirekte Sympathicusreizung.“

