

Ueber Mucin aus der Sehne des Rindes.

Von

W. F. Loebisch.

(Aus dem Laboratorium für angew. medic. Chemie der k. k. Universität Innsbruck.)
(Der Redaktion zugegangen am 22. September 1885.)

Unsere Kenntnisse über die Eigenschaften und über die chemische Zusammensetzung des Mucins haben in den letzten Jahren durch die Arbeiten von O. Hammarsten¹⁾ und A. Landwehr²⁾ werthvolle Bereicherungen erfahren. Nach den Arbeiten von Scherer,³⁾ Eichwald,⁴⁾ Hilger⁵⁾ und Obolenski⁶⁾ war das Mucin als ein albuminoider Körper durch Löslichkeit in verdünnten Alkalien, Fällbarkeit durch Essigsäure und durch verdünnte Mineralsäuren und dadurch charakterisirt, dass es beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure einen reducirenden Körper liefert, über dessen chemische Natur nichts Näheres bekannt war. Es sollte sich vom Eiweiss durch den Mangel an Schwefel und durch einen niedrigeren Stickstoffgehalt (8—12 % N) unterscheiden.

Bei Gelegenheit einer von Jernström⁷⁾ ausgeführten Untersuchung über das Mucin des Nabelstranges fand nun

1) Upsala, Läkareförenings Förhandl. XV. 1880.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, VII, VIII, IX, 1881—1885.

3) Liebig's Annalen, Bd. LVII, S. 196.

4) Ibidem, Bd. CXXXIV, S. 193.

5) Archiv für die ges. Physiologie, Bd. III, S. 169.

6) Ibidem, IV, S. 336.

7) (l. c. 1.)

Hammarsten in diesem im Mittel etwa 1 % Schwefel neben 14,1 Stickstoff. Bald darauf fanden auch Landwehr im Mucin aus der Submaxillardrüse 0,5—0,8 % Schwefel und Giacosa¹⁾, der das Mucin aus der Hülle des Froscheies untersuchte, darin 1,32 Schwefel neben nur 9,24 % Stickstoff im Mittel. Es war somit der Schwefel als Bestandtheil der genannten Mucine nachgewiesen.

Sehr werthvolle Resultate ergaben die Untersuchungen Landwehr's über Mucine verschiedener Provenienz namentlich in Bezug auf die Beschaffenheit des reducirenden Spaltungsproduktes des Mucins, welche zu einer neuen Auffassung der chemischen Individualität desselben führten. Er zog das Gallenmucin, das Mucin der Weinbergschnecke, das der Submaxillardrüse in das Bereich seiner Untersuchungen. Aus Letzterem gelang es ihm ein neues Kohlehydrat, welches er als thierisches Gummi benannte, abzuspalten und dessen weite Verbreitung im Thierkörper zu constatiren. In Bezug auf die Frage, ob die verschiedenen Mucine als chemische Individuen aufzufassen seien, sprach sich Landwehr in seinen früheren Mittheilungen²⁾ dahin aus, dass die Mucine Gemenge sind. Er hielt dafür, dass die reducirende Substanz, welche man beim Kochen des Mucins mit verdünnten Mineral-säuren erhält, kein Spaltungsprodukt des Mucins sei, sondern aus einem mit dem Mucin zugleich ausgefallten Körper entstehe; Gallenmucin, welches überhaupt keine reducirende Substanz nach Kochen mit verdünnten Säuren bildet, sei ein Gemenge von Globulin und Gallensäuren; das Mucin der Weinbergschnecke sei ein Gemenge von Eiweiss und Achrooglycogen und das Mucin aus Speicheldrüsen ein solches aus Globulin und einem neuen Kohlenhydrat — dem obenerwähnten thierischen Gummi.

In jüngster Zeit sprach sich jedoch Landwehr in einer «Zur Lehre von der Resorption des Fettes» benannten Mittheilung³⁾ dahin aus, «dass das Mucin (abgesehen vom

1) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 40.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VIII, S. 116 u. f.

3) Ibidem, Bd. IX S. 361 vom 30. Januar 1885.

Gallenmucin) als eine chemische Verbindung von thierischem Gummi mit einer Globulinsubstanz aufzufassen ist »; jedoch gibt er keine Gründe an, welche ihn zu dieser Annahme führten. Ich habe mich bei Gelegenheit einer vorläufigen Mittheilung «Ueber das Mucin der Sehne des Rindes» im naturw. medic. Verein zu Innsbruck am 5. März 1884¹⁾ im Gegensatz zur früheren Ansicht von Landwehr dahin ausgesprochen, dass ich das Mucin hauptsächlich auf Grund seiner schweren Spaltbarkeit als einen Glycosid-ähnlichen Körper auffassen möchte. Ich erwähne diese Ansicht schon an dieser Stelle nicht etwa um damit einen Prioritätsanspruch zu begründen, sondern nur um darzulegen, dass ich auf Grund meiner Untersuchungen unabhängig von Landwehr zu der gleichen Anschauung gelangte, umsomehr als auch O. Hammarsten in seinen jüngst erschienenen «Studien über Mucin und mucinähnliche Substanzen»²⁾ dazu gelangte, die Mucine als chemische Individuen aufzufassen.

Sowohl Landwehr als auch Hammarsten, der in den letztgenannten «Studien» den Nachweiss brachte, dass das von Eichwald und Landwehr, aus zerriebenen Weinbergschnecken erhaltene Mucin, ein Gemenge von zum Mindesten 3 verschiedenen Substanzen, nämlich aus dem Mantelmucin, Fussmucin und dem Glucoproteid aus der Eiweissdrüse derselben darstellt, haben überdies das Verhalten der von ihnen untersuchten Mucine gegen Reagentien, namentlich gegen Alkalien und Säuren geprüft und die elementare Zusammensetzung derselben bestimmt.

Als ich vor einigen Jahren mit dem Studium der albuminoiden Körper speciell mit dem des Chondrins begann, kam ich bald zur Ueberzeugung, dass der Kenntniss des Chondrins die des Mucins vorangehen müsse. Da bis dahin weder vom Mucin aus der Sehne, welches Rollett³⁾ im Jahre 1860 beschrieb, und welches später von Eichwald bestätigt

1) Berichte des naturw. medic. Vereins zu Innsbruck, 1884. IX. Sitzung.

2) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XXXVI, S. 373.

3) Sitzsber. d. Kais. Akad. d. Wissensch., Bd. 39, S. 308.

wurde, noch vom Mucin aus Knorpel, welches zuerst J. von Mering ¹⁾ isolirte, eine Elementaranalyse gemacht wurde, so schienen mir gerade diese einer neueren Untersuchung besonders werth. Ich habe beide Körper untersucht, und theile zunächst die bei der Untersuchung des Mucins aus der Sehne des Rindes — als des leichter in grösseren Mengen zu beschaffenden Materiales — erlangten Resultate mit, als Beitrag zu der von Landwehr und Hammarsten so erfolgreich geförderten Kenntniss vom Mucin.

A. Gewinnung, Verhalten gegen Alkalien, Säuren und Neutralsalze.

Als Materiale zur Darstellung des Mucins dienten Achillessehnen vom Rinde, die allsogleich nach dem Schlachten abgetrennt und ohne Verzug in Arbeit genommen wurden. Sie wurden gemäss Rollett's Verfahren vom anhängenden gefäss- und fettreichen Bindegewebe sorgfältigst gereinigt, dann in dünne Querschnitte geschnitten, in einem Cylinderglase mit destillirtem Wasser 12—24 Stunden lang an einem kühlen Orte stehen gelassen und nach dieser Zeit im Leinenbeutel abgepresst.

Im filtrirten wässerigen Extract der Sehnenstücke fand Rollett eine geringe Menge lösliches Eiweiss, neben einer beträchtlichen Menge von fällbarem Eiweiss. Ich versetzte eine Probe des schwach alkalisch reagirenden wässerigen Extractes tropfenweise mit 1 pro Mille hältiger Essigsäure, wobei eine wolkige Trübung in der Flüssigkeit entstand, die sich im Ueberschusse des Fällungsmittels löste. In eine zweite Probe des wässerigen Extractes wurde, nachdem die Trübung nach Zusatz der verdünnten Essigsäure entstanden war, Kohlensäure eingeleitet, so lange als die Ausscheidung eines Niederschlages bemerkbar war. Der kleinflockige Niederschlag wurde auf dem Filter gesammelt, mit kohlensäurehaltigem Wasser gewaschen, er war löslich in Kochsalzlösung, die Lösung gerann beim Kochen — sie bestand daher aus Serumglobulin. Die von den Flocken abfiltrirte Flüssigkeit gab mit starker Essigsäure und hierauf mit einigen Tropfen Ferrocyankaliumlösung versetzt, deutliche grobflockige Fällung. Eine andere Probe dieses Filtrates trübte sich beim

¹⁾ Beitrag zur Chemie des Knorpels. Inaugural-Dissertation Strassburg 1873.

Erwärmen, bei 78° C. fand flockige Abscheidung statt. Es enthält demnach das wässerige Extract im Einklang mit Rollett, Serumglobulin und lösliches Eiweiss. Andere Eiweisskörper konnten darin nicht nachgewiesen werden.

Zwei- bis dreimaliges Behandeln der Sehnenstücke mit destillirtem Wasser und nachfolgendes Abpressen genügte, um aus diesen sämtliche in der Weise entziehbare Eiweisskörper zu entfernen. Die Sehnenstücke wurden hierauf in Portionen von etwa 500 gr. in enghalsigen Präparatenflaschen mit 1 Liter halbgesättigtem Kalkwasser übergossen, gut verkorkt, während 48 Stunden — unter mehrmaligem Umschütteln — stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde von den Sehnen die darüberstehende meist schwach gelblich gefärbte leichtflüssige Flüssigkeit durch ein Faltenfilter abgegossen. Das Filtrat gab mit 1—2 pro Mille verdünnten Mineralsäuren und mit Essigsäurelösung von 1—5 Procent angesäuert, einen Anfangs faserigen dann grossflockigen etwas zähen bald zu kleineren Aggregaten schrumpfenden Niederschlag, welcher im Ueberschuss des Fällungsmittels unlöslich war und sich nach kurzer Zeit am Boden des Gefässes absetzte.

Bei dem Fällen der Kalkmucinlösung mittelst verdünnter Essigsäure erfährt man bald, dass die Fällung auch wenn man stets Essigsäure von gleicher Concentration anwendet, manchmal momentan eintritt, ein anderesmal erst nach einer $\frac{1}{4}$ oder halben Stunde, manchmal auch nur eine milchige trübe Flüssigkeit entsteht, aus welcher sich überhaupt kein Niederschlag absetzt. ¹⁾ Aehnliche Beobachtungen mussten auch Rollett und Eichwald gemacht haben, zum Mindesten warnt der Erstere vor Anwendung der concentrirten Essigsäure zur Ausfällung des Mucins, weil es hiedurch beim Schütteln zu fein vertheilt wird, so dass man nur ein trübes Filtrat gewinnen kann, während nach Eichwald dies nur dann stattfinden soll, wenn man zu wenig oder zu verdünnte Essigsäure anwendet.

¹⁾ In letzterem Falle gelang es mir stets mit 2 pro Mille Salzsäure die Ausscheidung des Mucins zu bewirken.

In einem solchen Falle könnte man zunächst daran denken, dass möglicherweise das Kalkwasser zu lange auf das Mucin eingewirkt und dessen Fällbarkeit verändert habe. In dieser Beziehung war die Angabe von Landwehr¹⁾ von Interesse, dass nach Hoppe-Seyler's Beobachtung «in Kalkwasser gelöstes Mucin nach längerem Stehen eine schlechtere Ausbeute gibt, als wenn es möglichst bald ausgefällt wird.» Um dies quantitativ festzustellen, löste Landwehr Mucin in Kalkwasser, mass mehrere Portionen à 100 ccm. davon ab. Die erste Portion, welche gleich mit Essigsäure gefällt wurde, ergab 0,169 gr. Mucin, die zweite nach 20 Stunden gefällte Portion ergab um 27 % weniger, die dritte liess nach 3 Tagen auf Essigsäure-Zusatz garnichts fallen; die saure Lösung wurde aber durch Ferrocyankalium getrübt und durch Eintragen von Kochsalz grobflockig gefällt. Landwehr führt zur Erklärung dieses Verhaltens an, dass durch die Einwirkung der heissen Tage in den Monaten Juni und Juli, das Mucin in Kalkalbuminat umgewandelt wurde, und dann durch Essigsäure in Syntonin überging. Er führt zur weiteren Bestätigung noch die Beobachtung an: Aufkochen führt sehr bald eine Kalkwassermucinlösung in Kalkalbuminat über.

Demgemäss prüfte ich die Fällbarkeit des Kalkwasserextractes der Sehne nach zwei Richtungen:

- a) in Bezug auf die Zeit der Fällung, und
- b) nach der Einwirkung einer höheren Temperatur.

Ad a) wurden von dem Extract der Sehne mit halbgesättigtem Kalkwasser 50 ccm., sofort bei Zimmertemperatur mit der 3fachen Menge von 3 pro Mille Essigsäurelösung gefällt, eine zweite Probe in derselben Weise nach 24 Stunden und die 3. Probe 4 Tage später. Die flockige Fällung trat in den beiden ersten Proben augenblicklich ein, bei der 3. Probe war die Abscheidung des Mucins eine allmälige, erst nach 24 Stunden war die über dem Niederschlag befindliche Flüssigkeit vollkommen klar. Die Niederschläge wurden auf

²⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, S. 380.

gewogene Filter gebracht, daselbst mit 5% Essigsäure bis zum Verschwinden der Reaction mit Ferrocyankalium, oxalsaurem Ammon und Silberlösung, gewaschen, bei 110° getrocknet und gewogen. Es ergab:

die 1. Probe 0,0592 gr.,

die 2. » 0,0600 »

die 3. » 0,0582 »

Mucin. Man wird in Bezug auf die Schwierigkeit, den Mucin-niederschlag auf dem Filter vollkommen auszuwaschen, die Beweiskraft der erhaltenen Zahlenergebnisse trotz der geringen Differenzen für entscheidend erachten; immerhin hat in der 3. Probe die Abscheidung des Mucins 24 Stunden gebraucht, während sie in den beiden ersten Proben augenblicklich erfolgte. Jedoch war im sauren Filtrate der 3. Probe nach Eintragen von Chlornatrium in Stücken keine Fällung nachweisbar.

Ad b) wurden von einem nach der Vorprobe als saturirt und fällbar sich zeigenden Extract des Mucins mit halbgesättigtem Kalkwasser, 100 cem. bei 20° C., eine 2. Probe nach 3stündiger Digestion der Lösung bei 40° C. und eine 3. Probe, nach 3stündiger Digestion der Lösung bei 60° C. mit 5% Essigsäure bis zum Auftreten einer deutlichen Trübung versetzt. Das vollständige Absitzen des Mucin in Flocken war in der 3. Probe nach 3 Stunden, in der ersten nach 5 Stunden, in der 2. Probe erst nach 2 Tagen eingetreten. Die in der oben angegebenen Weise behandelten Niederschläge ergaben:

aus der 1. Portion 0,1819 gr. Mucin,

» » 2. » 0,1825 » »

» » 3. » 0,1834 » »

Das Filtrat der Proben gab keine Syntoninreaction.

Auch durch längere Digestion der Mucinkalklösung bei der Temperatur des kochenden Wassers, verliert das Mucin seine Fällbarkeit durch verdünnte Essigsäure und Salzsäure nicht. Die Mucinlösung war, nachdem sie vom abgeschiedenen kohlensauren Kalk abfiltrirt war, durch Eintragen von Chlornatrium in Stücken nicht fällbar, hingegen entstand auf Zu-

satz von verdünnter Essigsäure und Salzsäure nach längerem Stehen flockige Fällung von Mucin. Im sauren Filtrate war Syntonin nicht nachweisbar.

Diese Versuche zeigen, dass das Mucin aus der Sehne des Rindes durch halbgesättigtes Kalkwasser weder bei längerer Dauer der Einwirkung allein, noch bei höheren Temperaturen bis zu der des Wasserbades in Albuminat umgewandelt wird. Die Veränderung, welche das Mucin erfuhr, bestand nur darin, dass es längerer Zeit bedurfte, bis es durch die Essigsäure ausgefällt wurde, eine Erscheinung, deren Würdigung weiter unten folgen wird.

Eine grössere Resistenz des Mucins gegenüber der Einwirkung von Kalkwasser selbst bei höherer Temperatur beobachtete auch Giacosa¹⁾ am Mucin aus der Eihülle des Frosches. Die grössere Resistenz des Mucins aus der Sehne des Rindes gegen Alkalien, und dass die Einwirkung dieser, beziehungsweise die Umwandlung des Mucins unter Auftreten der Albuminatreaction nur allmählig erfolgt, zeigt folgender Versuch recht deutlich: Mucin in 1% Kalilauge gelöst, war noch nach 15 tägigem Stehen durch Essigsäure im Ueberschuss fällbar. Das Filtrat wurde jedoch diesmal durch Ferrocyankalium flockig gefällt, mit Na Cl in Krystallen Abscheidung von Syntonin. Der durch Essigsäure gefällte im Ueberschuss des Fällungsmittels unlösliche Niederschlag mit Wasser verrieben und bis zu neutraler Reaction des Waschwassers gewaschen, war in halbgesättigtem Kalkwasser vollkommen löslich, die Lösung zeigte alle Eigenschaften einer Mucinlösung.

Es verhalten sich demnach Mucine verschiedener Herkunft gegen Alkalien mehr oder weniger resistent. Landwehr gibt nicht an, an welchem Mucin er die Wirkung des Kalkwassers geprüft hat. Einen interessanten Einblick in das Verhalten eines bestimmten Mucins gegenüber der Einwirkung von sehr verdünnten Alkalien (0,01% KOH) und selbst gegen Wasser, gestatten die Beobachtungen von O. Hammarsten²⁾ an dem Mantelmucin von *Helix pomatia*.

1) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 49.

2) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. XXXVI, S. 86.

Er zeigt, dass wenn man das nach Reizung der Manteloberfläche in nur sehr wenig Wasser aufgesammelte Mucin mit Essigsäure fällt, der hierbei entstehende Niederschlag in 0,05 % Sodalösung sich kaum löst, und selbst nur in 0,1 % NaOH sehr langsam und schwierig. Trägt man jedoch das aufgesammelte Mucin früher in eine grosse Menge Wasser von 0,01 % KOH ein, dann verhält sich das aus dieser Lösung durch Essigsäure im Ueberschuss gefällte Mucin wie typisches Mucin, indem es nach dem Auswaschen der Säure in 0,01 % KOH-haltigem Wasser sehr leicht löslich ist. Auf Grund dieses verschiedenen Verhaltens des Mantelmucins vor und nach der Einwirkung von 0,01 % KOH möchte Hammarsten das erstere als Mucinogen und erst das letztere als typisches Mucin betrachten. War jedoch dieses letztere Mantelmucin in der Lösung von 0,01 KOH noch während 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden, so wurde es so weit verändert, dass es nicht mehr durch überschüssige Essigsäure fällbar war.

Wird das obenerwähnte Mucinogen hingegen nur in destillirtem Wasser aufgesammelt, so verliert es auch in diesem nach einiger Zeit seine schleimige Beschaffenheit und die Lösung wird dünn-flüssig. Behandelt man die so veränderte Mucinogenlösung mit überschüssiger Essigsäure, dann erhält man ausser dem flockigen Niederschlag noch eine in Wasser lösliche peptonähnliche Substanz.

Diese in gedrängter Kürze wiedergegebenen Beobachtungen Hammarsten's zeigen uns also ein gegen die Einwirkung von verdünnten Alkalien und gegen höhere Temperaturgrade noch empfindlicheres Mucin als das von Landwehr beschriebene.

Auch gegen Säuren fand ich das Mucin aus der Sehne bedeutend resistenter als die von Landwehr beobachteten Mucine. Dies war auch nach den älteren Angaben über das Sehnenmucin vorauszusetzen. Rollett, der feuchtes Sehnenmucin mit Chlorwasserstoffsäure von 0,1—0,5, 1,0, 5,0, 10 und 20 Procentgehalt behandelte, gibt an, dass es ihm nicht gelungen ist, dasselbe durch stärkere Säuregrade in saure durch Ferro-

cyankalium fällbare Lösung zu bringen. Nur als er durch concentrirte Essigsäure im Zustande feiner Vertheilung befindliches Mucin im Kölbchen kochte, wobei sich dasselbe zum Theil zu grösseren Klümpchen zusammenballte, erhielt er ein Filtrat, welches auf Zusatz von Blutlaugensalzlösung schwach opalisirend wurde. Eichwald¹⁾ schildert das Mucin als in verdünnter auch in concentrirter Essigsäure und Oxalsäure vollkommen unlöslich, mässig verdünnte Mineralsäuren lösen einen Theil des Mucins ohne es zu verändern, durch concentrirte Mineralsäuren wird dasselbe zu einer klaren Flüssigkeit gelöst, die hiebei entstehenden sauren Lösungen werden durch Ferrocyankalium nicht verändert wohl aber durch Wasserzusatz getrübt und durch Neutralisation gefällt. Beim Kochen des Mucins mit verdünnten Säuren beobachtete Eichwald bekanntlich zuerst das Entstehen einer reducirenden Substanz, eine Reaction, welche seitdem als charakteristisch für das Mucin betrachtet wurde.

Nach Landwehr²⁾ soll Mucin durch Einwirkung von Säuren in Syntonin übergeführt werden. Da die Stärke dieser nicht angegeben ist und gezeigt wurde, dass Kalkwasser Mucin in Albuminat überführt, so durfte man vermuthen, dass eine der Alkaleszenz des Kalkwassers äquivalente Säurelösung jene Wirkung ausübt.

Ich prüfte die Einwirkung von Essig- und Chlorwasserstoffsäure verschiedener Concentration auf feuchtes eiweissfreies und durch Verreiben und nachheriges Decantiren mit Wasser von anhängender Essigsäure befreites Mucin.

Mit 50 procentiger Essigsäure in der Eprouvette übergossenes Mucin, wurde an den Rändern bald gallertig durchscheinend. Beim Schütteln vertheilte sich das Mucin feinkörnig in der Lösung, und nur ein geringer Theil war nach einigen Stunden in micellare Lösung gegangen, so dass ein zähflüssiges Filtrat erhalten wurde, welches mit Wasser versetzt eine deutliche wolkige Trübung zeigte. Die durch Wasser-

1) L. c. S. 40.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, S. 382.

zusatz erhaltene Trübung wurde durch Eintragen von Kochsalzstücken zum Theil gelöst. Andererseits bewirkte im ursprünglichen Filtrat Blutlaugensalz eine Fällung. Lässt man 20 % ige Essigsäure selbst Wochen hindurch über Semenmucin stehen, so nimmt dieses kaum sichtbar ab, die Säure bleibt leichtflüssig und wird weder durch Ferrocyankaliumlösung gefällt, noch erhält man durch Eintragen von NaCl oder $MgSO_4$ eine Abscheidung. Beim Eindampfen der filtrirten Säure bleibt ein sehr geringer Rückstand, der sich beim Glühen schwärzt, er rührt, wie später gezeigt wird, von unverändertem Semenmucin her, welches in Essigsäure von 20- und 10 % in sehr geringen Mengen löslich ist. Essigsäure von 5 % und abwärts, löst reines Semenmucin in Spuren verändert dasselbe nicht.

In Bezug auf die Wirkung der Chlorwasserstoffsäure fand ich, dass 20 procentige in Uebereinstimmung mit Rollet's Angaben das Semenmucin vollständig auflöst und dass Ferrocyankalium in der entstandenen Lösung keinen Niederschlag erzeugt. Nichtsdestoweniger findet jedoch eine Umwandlung desselben in die fällbare Modification statt. Die Lösung wird beim Neutralisiren durch $CO_3 Na_2$ getrübt, beim Verdünnen mit Wasser entsteht ein Niederschlag, der sich bei weiteren Zusatz von Wasser wieder auflöst; Eintragen von Kochsalzstücken in die wässrige Lösung bewirkt flockige Ausscheidung. Eine ganz gleiche Umwandlung bewirkt 10 % Salzsäure erst nach 4—6 tägiger Einwirkung, ein nach dieser Zeit ungelöst gebliebener Rückstand der Mucinprobe löste sich in Wasser nicht, und war nach dem Auswaschen in halbgesättigtem Kalkwasser leicht löslich. Salzsäure von 5 % lässt das Mucin unverändert, nach wochenlangem Stehen unter Umrühren gab die filtrirte Flüssigkeit keine Trübung nach dem Eintragen von Neutralsalzen. Mit überschüssigem Alkohol versetzt, schieden sich aus der Flüssigkeit sehr wenig Flocken ab, dieselben, am Filter gesammelt, mit 1 procentiger Salzsäure und dann mit Wasser gewaschen, lösten sich in halbgesättigtem Kalkwasser nach kurzem Stehen. Aus der Lösung fällte Essigsäure unverändertes Mucin.

Nach Landwehr reducirte verdünnte Essigsäure, die einige Tage über Submaxillarmucin gestanden hatte, ohne vorheriges Kochen Kupferoxyd in alkalischer Lösung. Ein gleiches Verhalten habe ich nicht beobachten können. Das Verhalten der oben angeführten Säuren verschiedener Concentration nach der Einwirkung auf Sehnenmucin in Bezug auf die reducirende Substanz werde ich an anderer Stelle dieser Mittheilung schildern.

Die leicht veränderlichen Mucine von Landwehr wurden schon durch Stehen unter Alkohol und durch Kochen mit Wasser oder Erhitzen in coagulirtes Albumin umgewandelt. Auch in dieser Beziehung zeigte das Sehnenmucin ein differentes Verhalten.

a) Sehnenmucin, welches auf dem Filter so lange mit Wasser gewaschen wurde, bis das Filtrat nicht mehr sauer reagirte, ein Moment, in welchem das Mucin an den Rändern durch Quellung opalisirend wird und in micellarer Lösung durch das Filter läuft, also aschenarmes und von anhängender Säure möglichst befreites Sehnenmucin — kann bei 110° getrocknet werden, mit Aether-Alkohol am Rückflusskühler Wochen lang digerirt, unter Alkohol längere Zeit aufbewahrt, Stunden lang im Wasser gekocht werden, ohne dass es hierbei seine Löslichkeit in Kalkwasser oder 0,5procentiger CO_2 Na_2 -Lösung einbüsst. Entsprechend der geringeren oder stärkeren Schrumpfung, welche das Mucin durch die eben erwähnten Einwirkungen erfuhr, unter denen die des kochenden Wassers die eingreifendste ist, dauert es kürzere oder längere Zeit mehrere Tage bis Wochen lang, bis das so behandelte Mucin in Kalkwasser zunächst an den Rändern aufquillt und dann allmählig ohne Rückstand in Lösung geht. Die Lösung ist klar und zeigt sämtliche Reactionen der Kalkmucinlösung.

b) Es wurde, zu später zu erörternden Zwecken, in Wasser aufgeschwemmtes reines Mucin durch Zusatz von $\frac{1}{10}$ Normal-Ammonlösung neutralisirt und gelöst. Die Lösung wurde in Porcellanschiffchen zunächst am Wasserbad, dann bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet. Der

Trockenrückstand wurde mit Wasser geweicht in halbgesättigtes Kalkwasser eingebracht, er quoll darin weiter auf und war nach mehrwöchentlichem Stehen vollkommen darin gelöst.

c) In gleicher Weise mit $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge bis zur Lösung neutralisirtes und bei 110° getrocknetes Mucin wurde beim Trocknen gebräunt. Mit Wasser erweicht zeigte es an den Rändern etwas Opalescenz. In Kalkwasser ging nichts davon in Lösung. In 2procentiger Kalilauge löste sich ein Theil nur sehr langsam. In der filtrirten Lösung entstand nach Eintragen von Chlornatrium in Krystallen flockige Fällung.

d) Erhitzt man durch verdünnte Essigsäure aus Mucinlösung frisch gefälltes Mucin längere Zeit am Wasserbad, dann ballt es sich zu derben Körnchen zusammen. Bringt man diese auf's Filter, wäscht bis zum Verschwinden der Säure, so zeigen sie die Eigenschaften des coagulirten Albumins.

Ich darf es daher aussprechen, dass reines Sehnenmucin erst durch Trocknen bei Gegenwart von fixen Alkalien selbst nur in der geringen Menge, welche zum Neutralisiren desselben hinreicht, und beim Kochen mit sehr verdünnter Essigsäure (0,1—1,0%) in jene Modification übergeführt wird, in welcher es sich wie coagulirtes Eiweiss verhält. Es wird übrigens die Analogie, welche das Mucin mit dem Eiweiss, durch seine Ueberführbarkeit in Modificationen zeigt, in denen es sich wie die Albuminate und wie coagulirtes Albumin verhält, dadurch nicht verringert, dass das reine Mucin weder durch Trocknen, noch durch Erhitzen mit Wasser, auch nicht durch die Einwirkung von Alkohol, seine Löslichkeit in Kalkwasser verliert; es erinnert dies vielmehr an das Verhalten des salzfreien Albumins, welches bekanntlich weder durch Siedhitze, noch durch Alkohol coagulirt wird. — Auffallend ist in letzterer Beziehung nur die grössere Resistenz des Mucins, gegenüber der Einwirkung von Ammoniak. Diese wird möglicherweise aufgeklärt dadurch, dass ein mit $\frac{1}{10}$ Ammoniak neutralisirtes Mucin, nach dem Trocknen bei 110° C., kein Ammoniak mehr enthält — es wird hierdurch als Körper von sehr schwach saurem Charakter gekennzeichnet. Nach

Danilewsky ¹⁾ verhalten sich auch einige Eiweisskörper in gleicher Weise und bekanntlich verliert auch eine Lösung von Ammoniumacetat beim Eindampfen Ammoniak.

Bezüglich des Verhaltens des Mucins gegen Neutral-salze sowohl in alkalischer wie in saurer Lösung und der Unmöglichkeit, dasselbe aus alkalischen Lösungen nach Zusatz von Neutralsalzen mittelst Essigsäure oder Salzsäure zu fällen, genügt es, um Wiederholungen zu vermeiden, anzuführen, dass sich auch das Sehnenmucin im Allgemeinen in gleicher Weise verhält, wie dies Eichwald, Landwehr und Hammarsten bei den von ihnen untersuchten Mucinen angegeben haben. Nur möchte ich hervorheben, dass auf das Sehnenmucin die essigsauren Alkali- und Erdalkalisalze viel stärker lösend wirken, als die entsprechenden Chloride.

Nach dieser Darstellung des Verhaltens von Mucin gegenüber Alkalien, Säuren und Salzen darf man fragen, wie es sich erklären lässt, dass es manchmal aus Kalkmucinlösungen nicht gelingt, das Mucin mittelst Essigsäure flockig abzuscheiden, sondern, wie das mehrere Beobachter schildern, sich nur eine milchige Trübung bildet, aus der sich selbst nach Tage langem Stehen kein Niederschlag absetzt. O. Hammarsten ist in seiner Arbeit über Mucine der *Helix Pomatia* geneigt, für dieses Verhalten den Einfluss der heisseren Tage neben den der verdünnten Alkalien auf Mucin in Anspruch zu nehmen; in gleicher Weise hat sich auch Landwehr ausgesprochen, und da diese Einflüsse die Umwandlung bestimmter Mucine in die Albuminat-Modification bedingen, möchte ich dieser Annahme für die von den genannten Autoren beobachteten Mucine vollkommen beistimmen. Für das Mucin aus der Sehne des Rindes habe ich jedoch gezeigt, dass sich dasselbe gegen Alkalien und höhere Temperaturen resistenter verhält, ausserdem habe ich das Auftreten der milchigen Trübung im Beginne meiner Untersuchung auch während der kalten Wintertage in ungeheizten Räumen beobachtet, später,

1) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften, 1880, S. 933.

als ich das Auftreten der Erscheinung zu umgehen wusste, beobachtete ich sie weder an heissen, noch an kalten Tagen.

Bei genauer Analyse der Fälle, in denen ich «milchige Trübung» erhielt, zeigte sich, dass diese eintrat, wenn die Sehnen nicht genügend lange Zeit mit dem Kalkwasser digerirt wurden. Im Anfang glaubte ich, dass eine Digestion von 24 Stunden genügen wird, doch erhält man nach dieser Zeit nur milchige Trübung in der Probe, lässt man das Kalkwasser weitere 24 Stunden einwirken, dann erhält man aus denselben Sehnen und dem gleichen Kalkwasser reichliche Ausbeute an Mucin. Auch bei der Extraction der Sehnen zum zweiten Mal, wenn dieselben nur wenig Mucin mehr enthielten, kam es vor, dass das Kalkwasserextract auf Zusatz von Essigsäure nur wenig getrübt wurde. In den meisten Fällen gelang es mir, wenn ich das trübe essigsäure Gemisch mit verdünnter Salzsäure versetzte, daraus Mucin in Flocken auszufällen.

Ich möchte daher die Erscheinung der milchigen Trübung davon herleiten, dass bei einem geringen Gehalt an Mucin im Kalkwasser das durch Zusatz von Essigsäure bis zur sauern Reaction sich bildende Calciumacetat als Neutralsalz, selbst in geringer Menge, die Ausscheidung des Mucins zu verhindern im Stande ist.¹⁾ Dass dies so ist und nicht etwa eine Umwandlung des Mucins in die Albuminat-Modification stattgefunden hat, zeigt folgender Versuch. Bringt man in die milchig getrübe Flüssigkeit einige ClNa - oder SO_4Mg -Kristalle, so klärt sich über dieselben alsobald die Trübung auf, bis zur vollkommenen Durchsichtigkeit. Versetzt man eine Syntoninlösung in gleicher Weise mit Kochsalz oder SO_4Mg -Kristallen, so bildet sich über diese die bekannte ringförmige Trübung. Führt man die Probe zu gleicher Zeit

¹⁾ Hierbei muss von den Fällen abgesehen werden, in denen abgetrennte Sehnen längere Zeit liegen geblieben, bis sie extrahirt wurden. Die postmortale Zersetzung der Sehnen wirkt sehr rasch auf das Mucin ein. In einem solchen Falle enthält man im Kalkextract mit Essigsäure auch nur Trübung, sowohl in der alkalischen als sauren Lösung entsteht durch Neutralsalze Fällung.

in zwei Eprouvetten aus, so lässt sich der Unterschied im Verhalten des Syntonins und des Mucins unter den obigen Verhältnissen sehr gut beobachten.

Salzsäure von 0,2 % ist zur Fällung des Mucins aus dem Kalkwasserextract gleich wirksam wie 10 % Essigsäure, wie dies die folgenden Proben zeigen:

Kalkmucin mit gleichem Volum:

1 ^o Essigsäure versetzt	= Opalescenz ohne Abscheidung von Flocken.
2	= stärkere Opalescenz ohne Abscheidung von Flocken.
5	= dichte Trübung. 3 Stunden später das Mucin vollständig abgeschieden.
10	= flockige Trübung, nach einigen Minuten Mucin abgeschieden.
0,2 Salzsäure	= flockige Trübung, nach einigen Minuten Mucin abgeschieden.

Essigsäures Natron einer Mucinkalklösung zugesetzt, hindert die Ausfällbarkeit des Mucins durch Essigsäure und durch Salzsäure in viel stärkerem Masse als Chlornatrium.

Die folgende Tabelle zeigt den Versuch, diese Verhältnisse quantitativ zu fixiren.

Es wurden zu je 5 cem. Kalkmucinlösung verschiedene Mengen von 10% Natriumacetat oder von gesättigter Kochsalzlösung hinzugefügt, gemischt und hierauf mit je 5 cem. Essigsäure oder Salzsäure von verschiedener Concentration versetzt, gut ungerührt und hingestellt. Die Abscheidung der Flocken wurde bis nach Ablauf von 24 Stunden verfolgt.

5 cem. Kalkmucin versetzt mit:	Nach Zusatz von 5 cem.:	
1 cem. 10% Natriumacetatlösung.	10% Essigsäure.	Milchige Trübung, ohne flockige Abscheidung.
1 cem. 10% Natriumacetatlösung.	5% Essigsäure.	do.
0,5 cem. 10% Natriumacetatlösung.	5% Essigsäure.	do.

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 55.

5 ccm. Kalkmucin ver- setzt mit:	Nach Zusatz von 5 ccm.:	
0,1 ccm. 10 ⁰ / ₀ Natrium- acetatlösung.	5 ⁰ / ₀ Essigsäure.	Augenblicklich dichte Trü- bung, keine Abscheidung von Flocken.
0,1 ccm. 10 ⁰ / ₀ Natrium- acetatlösung.	0,2 ⁰ / ₀ Salzsäure.	Die entstehende Ausschei- dung löst sich beim Schütteln wieder, nur schwache Trübung bleibt.
0,1 ccm. 10 ⁰ / ₀ Natrium- acetatlösung.	1 ⁰ / ₀ Salzsäure.	Augenblickliche flockige Ausscheidung, die beim Schütteln nicht mehr schwindet.
4 ccm. gesättigte Chlor- natriumlösung.	10 ⁰ / ₀ Essigsäure.	Diffuse Trübung, den näch- sten Tag Mucin voll- kommen abgeschieden.
2 ccm. gesättigte Chlor- natriumlösung.	10 ⁰ / ₀ Essigsäure.	Diffuse Trübung, Abschei- dung von Mucin nach 4 Stunden.
1 ccm. gesättigte Chlor- natriumlösung.	10 ⁰ / ₀ Essigsäure.	Dichte Trübung, momen- tane Abscheidung von Mucin in grossen Flocken.
4 ccm. gesättigte Chlor- natriumlösung.	0,2 ⁰ / ₀ Salzsäure.	Schwache Trübung, flo- ckige Ausscheidung nach 1½ Stunden.
2 ccm. gesättigte Chlor- natriumlösung.	0,2 ⁰ / ₀ Salzsäure.	Diffuse Trübung, flockige Ausscheidung nach 15 Minuten.
1 ccm. gesättigte Chlor- natriumlösung.	0,2 ⁰ / ₀ Salzsäure.	Dichte Trübung, augen- blickliche flockige Aus- scheidung.

Schon ausgefälltes, unter Essigsäure aufbewahrtes Mucin wird durch Neutralsalze sehr schwer wieder in Quellung und micellare Lösung gebracht. Filtrirt man ein solches Reaktionsgemisch, so enthält das Filtrat nur minimale Mengen von Mucin.

B. Reindarstellung und Zusammensetzung des Sehnenmucins.

Hat man 500 gr. Sehnenstücke (feucht) mit 500 ebem. halbgesättigtem Kalkwasser 48 Stunden lang digerirt, so reagirt die Flüssigkeit noch immer alkalisch, sie ist nie fadenziehend, sondern leichtflüssig, durch ein grossmaschiges Faltenfilter läuft sie besonders Anfangs rasch hindurch, später verlegen sich die Filterporen. Es ist daher zweckmässig, sobald das Filtriren langsamer wird, auf ein neues Filter aufzugiessen und mit wenig Wasser nachzuspülen. Das mit verdünnter Essigsäure oder Salzsäure aus dem filtrirten Kalkextract gefällte Mucin enthält nicht geringe Mengen Eiweiss und in Aether-Alkohol lösliche Substanzen beigemengt, welche das Sehnenewebe an das Kalkwasser abgibt. Rollett ¹⁾ gibt an, den Mucinniederschlag durch Decantiren mit destillirtem Wasser so weit gereinigt zu haben, dass die Substanz aschefrei wurde. Ich habe, um mit grösseren Mengen ohne ansehnliche Verluste arbeiten zu können, folgendes Verfahren eingehalten: Nachdem das Kalkwasserextract zum ersten Male entweder mit Zusatz von geringen Mengen 5procentiger Essigsäure oder 2 pro Mille Salzsäure unter stetem Umrühren — successive bis zum Ueberschuss der Säure — gefällt war, stellte ich hin, um die vollkommene Abscheidung abzuwarten, was in $\frac{1}{2}$ —1 Stunde stattfand. Die überstehende Flüssigkeit war zumeist molkig trübe, sie wurde sorgfältig abgehebert, um das Calciumacetat und die löslichen Salze schon diesmal so weit als möglich fortzuschaffen. Hierauf wurde 2procentige Essigsäure aufgegossen, fleissig umgerührt. Diesmal setzt sich der Niederschlag rasch, und beim dritten Aufgiessen der Essigsäure ist die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit schon vollkommen wasserklar. Nun wird so lange mit 2procentiger Essigsäure decantirt, bis eine Probe der Flüssigkeit sich weder mit Ferrocyankalium, noch mit Ammoniumoxalat und Silberlösung mehr trübt. Zur Entfernung der Essigsäure wird mit destillirtem Wasser decantirt; hierbei zeigt sich, dass in dem Maasse, als entsäuert wird, das Mucin seine Derbheit ver-

1) L. c. S. 42.

liert und weich wird. Setzt man nun das Decantiren fort und sammelt man die vollkommen klare Flüssigkeit, welche keine saure Reaction mehr zeigt, so ist man im Stande, aus dieser selbst die sehr geringen Mengen, welche durch micellare Lösung aufgenommen wurden, mittelst einiger Tropfen Essigsäure wieder in Flocken auszufällen. Es sind also bei Abwesenheit von Neutralsalzen die minimalsten Mengen Mucin aus wässriger micellarer Lösung durch Essigsäure in Flocken fällbar. Der nach dem Abheben der darüber stehenden Flüssigkeit gesammelte Niederschlag war im Ueberschuss der Essigsäure unlöslich und zeigte alle Reactionen des Mucins.

In analoger Weise wurde bei einer Darstellung das Mucin mit 2 pro Mille Salzsäure gefällt, durch Decantiren gereinigt und schliesslich mit Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction behandelt.

Bei einer dritten Darstellung wurde das nach der Fällung der Essigsäure mit Wasser möglichst entsäuerte Mucin in 5 pro Mille $\text{CO}_3 \text{Na}_2$ -Lösung unter häufigem Schütteln wieder gelöst und aus der Lösung mit Essigsäure gefällt. Diese Darstellung ist wegen der grossen Flüssigkeitsmengen, die man zur Lösung bedarf, dann wegen der Verluste, welche die Gegenwart von Natriumacetat beim Wiederausfällen des Mucins bedingt, umständlich und mit Verlusten an Mucin verbunden.

Bei jeder Darstellungsart wurde schliesslich, wenn beim Waschen mit Wasser das Mucin zu quellen begann, Alkohol auf den Niederschlag aufgegossen, mit diesem das Mucin in ein Kölbchen gebracht, eine gleiche Menge Aether hinzugefügt und nun am Rückflusskühler mit stets erneuerter Mischung von gleichen Theilen Alkohol und Aether so lange digerirt, bis eine filtrirte Probe beim Verdunsten noch einen Rückstand hinterliess — eine Operation, welche für 2—3 gr. Mucin erst nach 2—3 Wochen zu Ende war. In Soxhlet's Extractor war es unmöglich zu Ende zu kommen, weil das Mucin sich über der Baumwolle dicht ansammelt und zu-

sammenballt, im Kölbchen kann man die Masse häufig umschütteln.

Das Mucin erscheint nach dem Behandeln mit Aether-Alkohol als feinkörniges, graulich weisses Pulver, welches beim Trocknen ganz weiss wird.

Das Sehnenmucin enthält Schwefel. Kocht man reines Mucin mit überschüssiger 5procentiger Kalilauge und versetzt dann mit Bleioxydkali, so erhält man bei weiterem Kochen manchmal einen schwarzen Niederschlag, manchmal wegen der die Fällung verhindernden Wirkung eines der Zersetzungsprodukte des Mucins nur eine Bräunung des Gemisches. Die Lösung des Mucins nach dem Kochen mit 5procentiger Kalilauge ist gelblich, sie entwickelt auf Zusatz von Salzsäure einen deutlichen Geruch nach Schwefelwasserstoff.

Es wurde Mucin von jeder der oben geschilderten Darstellungsarten analysirt. Die Resultate stimmen wohl für sämtliche analysirte Substanzen so gut überein, dass über die Identität derselben nicht der geringste Zweifel obwalten kann. Sämmtliche Bestimmungen wurden mit bei 110° C. bis zum constanten Gewicht getrockneter Substanz ausgeführt.

1. Sehnenmucin mit Essigsäure gefällt.

1,2830 gr. Substanz bei 110° getrocknet gab 0,0055 gr. Asche (bestehend aus schwefelsaurem Kalk und Eisenoxyd), entsprechend 0,42^oo.

- a) 0,2130 gr. Substanz nach Carius mit Bleichromat verbrannt ergaben 0,1224 gr. H_2O und 0,3768 gr. CO_2 , entsprechend 0,0136 gr. H und 0,1027 gr. C.
- b) 0,2172 gr. Substanz ergaben 0,1270 gr. H_2O und 0,3843 gr. CO_2 , entsprechend 0,0141 gr. H und 0,1048 gr. C.
- c) 0,3585 gr. Substanz gaben nach Dumas' Methode mit vorgelegtem Kupfer und Kupferoxyd (Ludwig's Modification) verbrannt 39 chem. N bei 713 mm. Barometerdruck und $18,8^{\circ}$ C., entsprechend 0,0424 gr. N.
- d) 0,1963 gr. Substanz gaben 21,5 chem. N bei 708 mm. Barometerstand und $17,2^{\circ}$ C., entsprechend 0,0231 gr. N.
- e) 0,8285 gr. Substanz ergaben nach dem Schmelzen mit Soda und Salpeter 0,0500 gr. SO_4Ba , entsprechend 0,0068 gr. S.

In hundert Theilen:

	C	H	N	S
a)	48,24	6,38	—	—
b)	48,25	6,49	—	—
c)	—	—	11,83	—
d)	—	—	11,76	—
e)	—	—	—	0,82

2. Sehnenmucin mit Salzsäure gefällt.

2,308 gr. Substanz gaben 0,0092 gr. Asche, entsprechend 0,4^o o.

- 0,2430 gr. Substanz gaben 0,1404 gr. H₂O und 0,4310 gr. CO₂, entsprechend 0,0156 gr. H und 0,1175 gr. C.
- 0,2528 gr. Substanz gaben 0,1465 gr. H₂O und 0,4445 gr. CO₂, entsprechend 0,0163 gr. H und 0,1212 gr. C.
- 0,2408 gr. Substanz gaben 26 chem. N bei 711 mm. Barometer und 15° C.
- 1,3280 gr. Substanz gaben 0,6773 gr. SO₄Ba, entsprechend 0,0106 gr. S.

In hundert Theilen:

	C	H	N	S
a)	48,35	6,41	—	—
b)	48,33	6,44	—	—
c)	—	—	11,84	—
d)	—	—	—	0,8

3. Sehnenmucin mit Wasser entsäuert und mit 0,5% CO₃Na₂-Lösung wieder gelöst, mit Essigsäure gefällt.

1,358 gr. Substanz ergaben 0,0072 gr. Asche, gleich 0,53^o o.

- 0,2364 gr. Substanz lieferten 0,1386 gr. H₂O und 0,4195 gr. CO₂, entsprechend 0,0154 gr. H und 0,1143 gr. C.
- 0,2530 gr. Substanz lieferten 0,1468 gr. H₂O und 0,4482 gr. CO₂, entsprechend 0,0163 gr. H und 0,1222 gr. C.
- 0,2466 gr. Substanz gaben 26,8 chem. N bei 700 mm. Barometerstand und 18° C.
- 1,534 gr. Substanz gaben 0,0924 gr. SO₄Ba, entsprechend 0,0126 gr. S.

In hundert Theilen:

	C	H	N	S
a)	48,34	6,51	—	—
b)	48,30	6,44	—	—
c)	—	—	11,59	—
d)	—	—	—	0,82

Da die Ergebnisse der Analyse dreier verschiedener Präparate innerhalb der Fehlergrenzen der Elementaranalyse dasselbe Resultat geben, so kann man aus sämtlichen Analysen das Mittel nehmen und man erhält für die Zusammensetzung des Mucins der Sehnen des Rindes im Mittel:

C	48,30
H	6,44
N	11,75
S	0,81
O	32,70

Vergleicht man die Zusammensetzung des Sehnenmucins mit den von anderen Mucinen herrührenden Analysen, so zeichnet es sich zunächst durch seinen niederen Gehalt an Kohlenstoff und Wasserstoff aus. Er steht am nächsten dem von Eichwald's Mucin aus Weinbergchnecken mit 48,72 C und 6,47 H. Doch kann dieses nach der Arbeit von O. Hammarsten¹⁾, welcher nachwies, dass dasselbe ein Gemenge aus zwei verschiedenen Mucinen und dem Glucoproteid aus der Eiweissdrüse von *Helix pomatia* darstellt, nicht mehr berücksichtigt werden. Hingegen hat Hilger aus der Lederhaut von Holothurien ein Mucin mit 48,8 C und 6,9 H dargestellt, doch enthält dieses keinen Schwefel und zeigt einen Stickstoffgehalt von nur 8,8%, während das Mucin der Sehne im Mittel 11,75% N enthält. Es muss daher das Sehnenmucin des Rindes als ein Mucin eigener Art, mit eigenthümlicher Zusammensetzung für so lange betrachtet werden, bis andere Mucine von gleicher Zusammensetzung gefunden werden.

Ich werde später darzulegen versuchen, dass die Mucine (mit Ausnahme des Gallenmucins, welches nicht zu den

1) L. c. S. 42.

Mucinen gezählt werden sollte) sich ähnlich den Glycosiden als ätherartige Verbindungen verhalten, welche durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren in einen stickstoffhaltigen und stickstofffreien Componenten zerlegt werden. Ersteren bildet ein eiweissartiger Körper, letzteren bilden Kohlehydrate, welche nach den vorliegenden Erfahrungen wieder unter einander verschieden sein können. Ueberdies variirt jedoch auch das Mengenverhältniss, in welchem die einzelnen Kohlehydrate sich mit dem eiweissartigen Componenten verbinden. Aus Hammarsten's Mantel- und Fussmucin von *Helix pomatia* mit 50,30–50,45 C. und 13,4–13,6 N liess sich nur wenig Kohlehydrat abspalten, während im Glycoproteid aus der Eiweissdrüse derselben mit 46,9 C und nur 6,08 N das Kohlehydrat als Componente sich reichlich vorfindet. Demgemäss wird man schon aus dem Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt der Mucine darauf schliessen können, ob sie zu denjenigen gehören, bei welchen das Kohlehydrat als Componente sich in grösserer oder geringerer Menge vorfindet, und so werden wir annehmen dürfen, dass das Sehnenmucin mit seinem relativ niederen Gehalt an C und an N zu jenen Mucinen zählt, welche das Kohlehydrat als Componente in nicht geringer Menge enthalten.

C. Neutralisation des Sehnenmucins.

Das Mucin reagirt sauer. Auch wenn man gefälltes Mucin durch Decantiren mit Wasser, nach mehrmaligem Verreiben in diesem, so lange behandelt, bis das abfliessende Wasser auf möglichst empfindlichem violetten Lacomuspapier keinen rothen Fleck mehr erzeugt, reagirt feuchtes Mucin auf violettes Lakmuspapier, indem es dasselbe roth färbt. Bekanntlich zeigte schon Rollett¹⁾, dass, wenn man zu in Wasser aufgeschwemmtem Mucin verdünnte Alkalilauge tropfenweise und in kurzen Zwischenräumen so lange zusetzt, bis nur noch ein geringer Theil des Mucins ungelöst bleibt, man dann durch Filtration eine vollkommen neutral reagirende Lösung

¹⁾ L. c. S. 42.

erhält. In neuerer Zeit versuchte Danilewsky¹⁾ eine schärfere Charakterisirung der Eiweisskörper, auf Grund der Eigenschaft derselben, Säuren oder Alkalien chemisch zu binden, zugleich fand er Eiweisskörper, welche weder Säuren noch Alkalien binden.

Es schien mir von Interesse, für das Mucin die Menge der Basis zu bestimmen, welche dasselbe zu seiner Ueberführung in die neutrale Verbindung braucht; es war nicht ausgeschlossen, dass sich auf diesem Wege ein Aufschluss über die Molekulargrösse des Mucins erhalten lässt. Danilewsky benützte als Indicator bei seinen Bestimmungen Tropäoline mit der Handelsmarke 00 und 000 Nr. 1, indem er hervorhebt, dass das erstere Tropäolin Mineralsäuren und schwächere organische Säuren von einander zu unterscheiden gestattet und dass das letztere von Mononatriumphosphat gar nicht verändert und von Dinatriumphosphat nur schwach roth gefärbt wird. Bei den Vorversuchen, die ich anstellte, um die Brauchbarkeit des Tropäolin 000 Nr. 1 (Kaliumsalz der Phenylamidoazobenzolsulfosäure) für die Bestimmung des Punktes von geringstem Alkaliüberschuss bei der Neutralisirung des Mucins durch $\frac{1}{10}$ Normalalkalilösungen, im Vergleiche mit der Verwendbarkeit eines empfindlichen violetten Lakmuspapiers zu prüfen, zeigte sich, dass das Lakmuspapier bei dem später zu schildernden Verfahren viel eher gebläut, als das Tropäolin 000 Nr. 1 dem entsprechend geröthet wird. Eine analoge Beobachtung theilt Danilewsky selbst vom Tropäolin 00 (Oxynaphthylazophenylsulfosäure) mit den Worten mit: «Es muss noch bemerkt werden, dass die Eiweisslösung, welche mit Säure bei Weitem noch nicht (nach Aussage der Tropäolin-Reaction) gesättigt ist, Lakmus schon stark röthet.» Das heisst aber so viel, als dass Lakmus in diesem Falle ein empfindlicheres Reagens ist als Tropäolin — und ich habe daher bei den folgenden Bestimmungen als Indicator sehr empfindliches violettes Lakmuspapier benützt.

Nachdem das Mucin in der oben angegebenen Weise durch Decantiren und mehrmaliges Verreiben mit Wasser so

1) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1880, S. 929.

lange gewaschen war, bis die Flüssigkeit nicht mehr sauer reagierte, wurde die Bestimmung in folgender Weise ausgeführt:

Eine Probe des Niederschlages wurde in wenig Wasser aufgeschwemmt und tropfenweise unter häufigem Umrühren aus einer graduirten Burette so lange $\frac{1}{10}$ Ammoniumhydroxidlösung zugetropt, bis nach längerem Umrühren die Alkaleszenz nicht mehr verschwand. Hierbei zeigte sich, dass in dem Maasse, als der Neutralisationspunkt näher rückte, das Mucin immer mehr und mehr aufquoll, so dass die neutrale Mischung schliesslich die Consistenz des zähen, von einer entzündeten Schleimhaut secernirten Schleimes darbot, welche durch Umstürzen des Glases in dicken, bänderartigen Massen ausgeleert werden konnte. Setzt man jetzt Wasser hinzu, so werden die Ränder der schleimartigen Masse weisslich getrübt, setzt man aber von der Ammonlösung bis zur deutlichen, wenn auch schwachen Alkaleszenz hinzu, so quillt das Mucin jetzt im Wasser auf und wird weniger zähe, aber ist immer noch dickflüssig. Durch mehr Wasser entsteht jedoch schliesslich eine dünnflüssige Lösung des Sehnenmucins, aus welcher durch Essigsäure das Mucin in Flocken wieder ausgefällt werden kann.

In gleicher Weise verhält sich das in wenig Wasser aufgeschwemmte Mucin beim Neutralisiren mit $\frac{1}{10}$ Normallauge, nur dass die Masse bezüglich der Consistenz mehr an die des glasigen Uterusschleimes erinnert.

Es wurde oft betont, dass es niemals gelang, das ausgefällte Mucin wieder in eine viscide Lösung zu überführen und Landwehr¹⁾ berichtet: «Mein Bestreben, dem ausgefällten Mucin seine natürliche viscide Beschaffenheit wiederzugeben, war ohne Erfolg.» In der Weise, wie ich oben geschildert, durch allmälige Neutralisation von in wenig Wasser aufgeschwemmtem Mucin mit $\frac{1}{10}$ Normallauge, lässt sich die Ueberführung des ausgefällten Mucins in eine schleimige Flüssigkeit als Vorlesungsversuch demonstrieren.

Um nun die Menge des Mucins zu bestimmen, welche durch $\frac{1}{10}$ Ammoniumhydroxidlösung neutralisirt wurde, wurde

1) Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. V, S. 382.

die Mischung nach dem Vorschlage Danilewsky's¹⁾ in einen gewogenen Porcellantiegel übertragen, eingedunstet und bei 110° C. getrocknet und gewogen. Beim Trocknen verlässt — wie dies Danilewsky schon von den Eiweisskörpern berichtet hat — das gebundene Ammonium das Mucin vollständig (S. 53).

1. 0,1392 gr. Substanz wurden durch 1,9 chem. $\frac{1}{10}$ Normal-Ammoniaklösung neutralisirt = 2,46% NH_4 .
2. 0,2624 gr. Substanz wurden durch 3,7 chem. $\frac{1}{10}$ Normal-Ammoniaklösung neutralisirt = 2,53% NH_4 .

Bei der Neutralisation mit sehr verdünnter Kalilauge versuchte ich die Bestimmung zuerst in der Weise auszuführen, dass ich aufgeschwemmtes Mucin mit einer zur vollkommenen Lösung des Mucins nicht hinreichenden Menge der titrirten Kalilauge versetzte und von dem ungelösten Mucin abfiltrirte. Durch Eindampfen, Trocknen und Wägen des Filtrates sollte, nach Abzug des hinzugesetzten Kaliums, die Menge des neutralisirten Mucins erfahren werden. Doch filtrirte die nach Zusatz von wenig Wasser dünnflüssiger gemachte Mucinlösung ungemein langsam, und durch das Nachwaschen mit grossen Wassermengen ging auch nicht neutralisirtes Mucin in Lösung. Nach mehreren Versuchen, welche in Bezug auf die oben angeführten Bestimmungen mittelst Ammoniaklösung nicht befriedigten, gab folgendes Verfahren bessere Resultate: Es wurde das in Wasser aufgeschwemmte reine Mucin so lange tropfenweise mit KOH von bestimmtem Gehalt versetzt, bis eine Probe auf violettes Lakmuspapier schwach bläuernd wirkte. Hierauf wurde das Reactionsproduct im Porcellantiegel eingedampft, bei 110° C. getrocknet und gewogen. Die Differenz aus dem Resultate der Wägung und der Kaliummenge aus der zur Neutralisirung verbrauchten Lauge gibt die Menge des Mucins:

1. 0,9501 gr. Mucin brauchten zur Neutralisation 19,5 chem. einer KOH, deren chem. 0,00345 KOH enthält = 0,0466 K = 4,9% K.
2. 0,5622 gr. Mucin brauchen 11,4 chem. der obigen titrirten Lauge = 0,0272 K = 4,8% K.

¹⁾ L. c. S. 63.

Berechnet man aus der Aequivalenz des Ammoniums und Kaliums die dem Ersteren entsprechenden Mengen an Kalium, so zeigt sich, dass von Letzterem um ganze 12 Procent weniger gefunden wurden, als nach der Bestimmung mit Ammonium berechnet werden konnte. (Es entsprechen 2,5% Ammonium 5,4% Kalium, gefunden wurden 4,8%.) Doch möchte ich die Kaliumbestimmungen für brauchbarer halten, da wegen der grösseren Mengen des hierfür benützten Mucins die durch den Ueberschuss des Neutralisationsmittels unvermeidliche Fehlerquelle gewiss verkleinert wird.

Wenn ich nun den Versuch mache, aus den durch die Analyse erhaltenen Mittelzahlen der Zusammensetzung des Mucins, und aus den Ergebnissen der Sättigung des Mucins durch Alkalien, durch Berechnung die Molekulargrösse des Mucins zu finden, so dient ein solcher nur als Probe dafür, wie sich die obigen Daten in dieser Richtung verwerthen lassen.

Aus der durch den Versuch gefundenen mittleren procentischen Zusammensetzung des Mucins lässt sich folgende Formel desselben berechnen:

Gefundene procentische Zusammensetzung u. atomistische Verhältnisszahlen.	Berechnete Formel.	Nach der Formel berechnete Zusammensetzung.
C 48,30 : 12 = 4	160	48,78
H 6,44 : 1 = 6,4	256	6,50
N 11,75 : 14 = 0,8	32	11,38
S 0,81 : 32 = 0,025	1	0,81
O 32,70 : 16 = 2	80	32,52
100,00		99,99

Es würde demnach dem Sehnenmucin die Formel $C_{160}H_{256}N_{32}S_1O_{80}$ zukommen mit dem Molekulargewicht 3936.

E. Harnack ¹⁾ berechnete in letzterer Zeit auf Grund einer Kupferverbindung des Eieralbumins mit 2,68% Cu das Molekulargewicht des Eieralbumins auf 4618 entsprechend der Formel $C_{204}H_{322}N_{52}O_{66}S_2$ für dasselbe. Bedenkt man,

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. V, S. 207.

dass das Mucin neben dem eiweissartigen Bestandtheil noch ein Kohlehydrat als Paarling enthält, so dürfte man für dasselbe ein grösseres Molekulargewicht erwarten, als der von mir bezeichneten Formel entspricht.

Versucht man nun auf Grund der obengeschilderten Neutralisationsversuche, die berechnete Molekulargrösse des Schmenmucins mit den Ergebnissen jener in Einklang zu bringen und geht man von der geringsten Menge an Metall aus, welches für 100 gr. Schmenmucin zum Neutralisiren hinreichte, also von 4,8 gr. Kalium, dann muss man entweder annehmen, dass beim Neutralisiren 5 Atome H durch 5 Atome Kalium ersetzt werden, es entsprächen dann der Formel $C_{160} H_{251} K_5 N_{32} S_1 O_{80} = 4,7\%$ Kalium, oder wir müssen, da bis nun die mehrbasische Natur des Mucins nicht gestützt ist, das Mucin als einbasisch annehmen und dem entsprechend die Formel fünfmal grösser annehmen.

Die Resultate der wenigen Versuche, die ich ausführte, um die Alkalimenge zu bestimmen, durch welche das Schmenmucin neutralisirt wird, dürften zum Mindesten in Bezug auf die Löslichkeit des Mucins in verdünnten Alkalien ergänzt werden durch die Daten, welche bis nun über jene Mengen von Mucin vorliegen, welche bei dem Extractionsverfahren mit verdünnten Alkalien in Lösung gehen. Landwehr¹⁾ fand in halbgesättigtem Kalkwasser in 100 cbem. gelöst 0,168 gr. Mucin. Ich fand (s. S. 46) in der gleichen Menge halbgesättigtem Kalkwasser 0,182 gr. gelöst. Giacosa extrahirte 100 gr. Froscheier mit 250 cbem. gesättigtem Kalkwasser und erhielt 0,366 gr. Wie schon früher erwähnt, reagirt die von den Sehnen abgezogene Kalkmucinlösung immer noch deutlich alkalisch, ist also mit Mucin noch nicht gesättigt, wir dürfen daher in diesem Falle nur fragen: in welchem procentischen Verhältniss steht die in der Lösung befindliche Menge des Alkalis zu der des darin gelösten Mucins?

Es enthalten 1000 cbem. halbgesättigtes Kalkwasser 0,625 gr. CaO = 0,446 Ca. Gehen wir von meiner mit

¹⁾ L. c. S. 41.

Landwehr's Angabe ziemlich nahe übereinstimmenden Bestimmung aus, dann enthalten 100 chem. Kalkmucinlösung neben 0,1820 gr. Mucin 0,0446 Ca in Lösung, d. h. für 100 Theile Mucin 24,4 % Calcium bezw. 48,6 % Kalium. Es ist also im Extracte des Mucins mit halbgesättigtem Kalkwasser, in Anbetracht des hohen Molekulargewichtes, welches dem Mucin als Albuminoid ohne Zweifel zukommt, die Menge der Base zu dem in Lösung befindlichen Mucin eine viel zu grosse und es wird verständlich, dass das zur Neutralisation nicht verbrauchte Alkali einige sehr leicht veränderliche Mucine bald in eine Modification überführt, in welcher sie die Reactionen der Albuminate zeigen.

Hammarsten nimmt das Mucin in sehr verdünnte alkalische Lösungen auf. Eine Lösung des Mantelmucins von *Helix pomatia* in 0,01% Kalilauge enthielt 0,07% Mucin. In dieser Lösung, welche also in 100 chem. nur 7 Centigramm Mucin enthält, beträgt das Kalium nur 8,5% des gelösten Mucins. Doch zeigte eine solche Lösung ein fadenziehendes Aussehen, während das von mir mit halbgesättigtem Kalkwasser erhaltene Mucinextract stets dünnflüssig war. Andererseits wurden selbst die mit 0,01% Kalilauge extrahirten Mucine Hammarsten's durch längeres Stehen in ihren Lösungen so weit verändert, dass sie durch Essigsäure nicht mehr fällbar waren.

Aus diesen Betrachtungen ergibt sich aber die Thatsache, dass von verdünnten Alkalilösungen das Mucin in percentual geringeren Mengen aufgenommen wird, als von weniger verdünnten Lösungen, jedoch das Verhältniss in welchem die Menge des Alkalis zu der des in Lösung befindlichen Mucins steht, zeigt, dass in verdünnteren Lösungen eine viel geringere Menge Alkali die gleiche Menge Mucin in Lösung zu bringen vermag, als in den gesättigteren. Demnach scheint es, dass die Lösung des Mucins aus dem Protoplasma nicht allein durch das Alkali bedingt wird, sondern dass hierbei auch die Wassermenge in Betracht kommt, in welcher das Alkali zugeführt wird — vielleicht darf man auch annehmen, dass das Alkali bei der Lösung des Mucins vornehmlich

dadurch wirkt, dass es an das Molekül desselben Wasser anlagert.

Für die Extraction des Mucins aus Geweben lässt sich zugleich die Zweckmässigkeit jenes Verfahrens ableiten, bei welchem zunächst mit möglichst verdünnten Lösungen (0,01% KOH) gearbeitet wird, schon um das Mucin so weit nur möglich, als typisches Mucin zu erhalten.

D. Zerlegung des Mucins.

Wird Sehnenmucin auf dem Wasserbade mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure so lange digerirt, bis sich das Gemisch gelb färbt, so gibt eine Probe hiervon nach dem Uebersättigen mit Kali und nach Zusatz von Kupferlösung nach längerem Kochen eine Ausscheidung von Kupferoxydul. Die darüber befindliche Flüssigkeit ist rothviolett gefärbt. Diese Ausscheidung erfolgt reichlicher und rascher, wenn man die Mucin-Säuremischung im Porcellanschälchen über freiem Feuer so lange erhitzt, bis sich das Gemisch bräunt und am Rande der Flüssigkeit dunkelviolette Färbung auftritt. Es hat sich also aus dem Sehnenmucin bei der Zerlegung durch verdünnte Säuren ein Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirender Körper abgespaltet. Beim Kochen mit Kalilauge spaltet das Mucin diesen Körper nicht ab. Frisch gefälltes Mucin in 2—5% Kalilauge gelöst und mit Kupfersulfatlösung versetzt, hält etwas Kupferoxyd in Lösung; beim Erhitzen nimmt die Lösung eine rothviolette Farbe an, bei weiterem Kochen scheidet sich ein schwarzer Niederschlag von Kupferoxyd aus.

Ich übergehe die vergeblichen Versuche, welche ich ausführte, um den reducirenden Körper aus dem Mucin nach Einwirkung von Alkalien oder Säuren zu isoliren, bis ich schliesslich das Verfahren einschlug, mittelst dessen es Landwehr¹⁾ gelang, aus Speicheldrüsen, Schleimgewebe und auch aus Chondrin ein neues Kohlehydrat — von ihm als thierisches Gummi bezeichnet — darzustellen. Auch ich erhielt, nach-

¹⁾ Zeitschrift für physiologische Chemie, VIII. Bd., S. 122.

dem das Mucin mit Wasser in Papin's Topf eingeschlossen, 2—3 Stunden lang erhitzt wurde, eine Flüssigkeit, aus welcher nach der Entfernung von Eiweiss durch Essigsäure und Eisenoxyd, im Filtrate nach dem Versetzen mit dem gleichen Volum 80procentigem Weingeist, das Kohlehydrat sich als Eisenverbindung fällen liess. Das Waschwasser von der Eisenkohlehydratverbindung enthielt reichlich Peptone und einen Kupferoxyd in alkalischer Lösung sehr rasch reducirenden Körper, also eine Zuckerart von der Formel $C_6H_{12}O_6$. Es wurde schliesslich das Kohlehydrat aus der salzsauren Lösung mit absolutem Alkohol gefällt, der Niederschlag behufs weiterer Reinigung in Wasser gelöst und mit Alkohol wieder gefällt. Nach der dritten Fällung reagirte das alkoholische Filtrat nunmehr neutral, während der feuchte Niederschlag am Filter Lakmus röthet; das Kohlehydrat war jetzt so weit gereinigt, dass eine Probe davon aus der wässerigen Lösung durch absoluten Alkohol erst auf Zusatz von einigen Tropfen Kochsalzlösung in Flocken abgeschieden wurde.

Die wässerige Lösung des Kohlehydrates reagirt auf Lakmus röthend, doch wird Tropäolin 00 nicht verändert, ein Beweis dass keine Mineralsäure in der Lösung ist, sie zeigte eine schwache Rechtsdrehung.

Da mir nur eine geringe Menge Substanz für die Analyse zur Verfügung stand, habe ich dieselbe zunächst im Vacuum bis zum constanten Gewicht getrocknet, dann bei 120° . Der Gewichtsverlust betrug 12,35%, für die Formel $C_{12}H_{20}O_{10} + 2H_2O$ berechnet sich der Verlust an $2H_2O$ mit 13,8%. Wahrscheinlich hat das Kohlehydrat einen Theil seines Hydratwassers schon im Vacuum über Schwefelsäure abgegeben.

Nach Landwehr stellt das thierische Gummi getrocknet eine weisse mehlartige Substanz dar, welche erst, wenn sie Wasser anzieht, gummiartig durchsichtig wird. Das von mir aus Schlemmucin gewonnene Kohlehydrat trocknete im Vacuum zu einer weissen, spröden, gummiähnlichen Masse ein, welche sich beim Erhitzen auf 120° licht gelb färbte, aber immer noch das gummiartige Aussehen behielt. Ich löste nun die

Substanz, um zu prüfen, ob das ohne Rückstand geschieht — dies war der Fall, nur war die Lösung diesmal vollkommen klar, während die ursprüngliche Lösung eine schwache Opalescenz zeigte. Es wurde die Lösung zuerst am Wasserbade eingeeengt und dann die Substanz im Vacuum über Schwefelsäure bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen. Die Analyse ergab C 40,3% und H 6,9, für $C_{12}H_{20}O_{10} + 2 H_2O$ berechnet sich C 40,0 und H 6,66.

Die Lösung des Kohlehydrates wird durch Jod nicht gefärbt. In wenig Wasser gelöst, zerlegt das Kohlehydrat die Carbonate der Alkalien und Erden unter Freiwerden von Kohlensäure. Die entstehenden Verbindungen werden aus der Lösung durch Alkohol gefällt. Versetzt man die alkalische Lösung des Kohlehydrates mit einem Kupferoxydsalz, dann wird Kupferoxyd in Lösung gehalten, die Flüssigkeit färbt sich blau, kocht man nun bei geringem Ueberschuss von Alkali, so scheidet sich das Kohlehydrat als basische Kupferverbindung in bläulichen Flocken aus. Diese letztere Eigenschaft führt Landwehr als besonders charakteristisch für das thierische Gummi an, und ich möchte nach den Ergebnissen der Analyse und nach den erwähnten Eigenschaften das von mir aus dem Sehnenmucin abgespaltene Kohlehydrat mit demselben für vollkommen identisch halten, wenn ich nicht kleine Abweichungen im Verhalten beobachtet hätte. Zunächst die Eigenschaft, dass das bis $120^{\circ} C.$ erhitzte Kohlehydrat sich in Wasser vollkommen löste, während Landwehr ausdrücklich betont, dass die bei 120° getrocknete Substanz zu der nicht erhitzten sich wie Metarabinsäure zu Arabinsäure verhält. Doch ist bei der pflanzlichen Arabinsäure dieser Uebergang in die unlösliche Modification noch von anderen Factoren (Reinheit der Substanz, Art der Darstellung) als von der Hitze allein abhängig, auch muss man bis $150^{\circ} C.$ erhitzen, um die vollständige Umwandlung zu erreichen.

Landwehr schildert, dass das thierische Gummi beim Kochen mit verdünnten Säuren sich in einen Kupferoxyd reducirenden Zucker umwandelt. Ich beobachtete schon bei der analogen Reaction mit Mucin, dass man bis zur intensiven

Bräunung des angesäuerten Reaktionsgemisches kochen muss, um dann in der alkalischen Lösung eine glatte Ausscheidung von Kupferoxydul zu erhalten. Doch auch das vom Sehnenmucin abgespaltene Kohlehydrat wird nur nach längerem intensiven Kochen in die Zuckert $C_6H_{12}O_6$ übergeführt, und es bildet sich früher ein einfaches Hydrat des Kohlehydrates, möglicher Weise von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$, welches beim Kochen mit Kupferoxydkali sich ganz in gleicher Weise verhält, wie dies E. Reichardt¹⁾ für eine Dextrinlösung angibt, indem die blaue Flüssigkeit sich allmählig grün, dann gelb und manchmal auch dunkelbraun färbt. Säuert man das Gemisch wieder an und kocht man die Lösung wieder längere Zeit mit verdünnter Schwefelsäure über freiem Feuer im Porcellanschälchen, so tritt die Umwandlung in einen Zucker der Formel $C_6H_{12}O_6$ ein, und nun erst wird Kupferoxyd in alkalischer Lösung glatt reducirt.

Während das «thierische Gummi» Landwehr's sich in Wasser klar löste, zeigte das aus dem Sehnenmucin schwache Opalescenz. Erst das bei 120° eingetrocknete und wieder in Wasser gelöste Präparat löste sich zur klaren Flüssigkeit, doch waren nun seine Eigenschaften so weit verändert, dass beim Kochen mit Kupferoxyd in alkalischer Lösung die basische Kupferverbindung des Kohlehydrates sich nicht mehr bildete, sondern dass es, ohne vorher mit Säuren gekocht zu werden, nun Kupferoxyd in alkalischer Lösung direct reducirt.

Nähere Aufklärung über die Berechtigung der von mir gefundenen Unterschiede zwischen dem «thierischen Gummi» Landwehr's und dem zweifelsohne in dieselbe Gruppe zu zählenden Kohlehydrat aus dem Sehnenmucin wird durch Untersuchungen an neuem Materiale zu erlangen sein. Grössere Mengen davon zu beschaffen wird aber selbst für Denjenigen, welcher schon Uebung in der Abscheidung desselben als Eisenverbindung erlangt hat, immerhin Schwierigkeiten machen, weil beim Kochen mit Wasser in Papin's Digestor selbst

¹⁾ Pharmaceutische Zeitschrift für Russland, XIV. Bd., S. 25.

während 2—3 Stunden ein grosser Theil des Kohlehydrates sacharificirt wird, während zugleich ein Theil des Mucins noch gar nicht zerlegt erscheint. Ich habe daher das Mucin stets zweimal digerirt. Vielleicht dass sich im zugeschmolzenen Glasrohr durch Ausprobiren bessere Bedingungen für die Gewinnung des unveränderten Kohlehydrates finden lassen.

Wie schon Eingangs erwähnt, hat Landwehr in seiner letzten Publication «Zur Lehre von der Resorption des Fettes» sich wohl dahin ausgesprochen, dass das Mucin (mit Ausnahme des Gallenmucins) als eine chemische Verbindung von «thierischem Gummi» mit einer Globulinsubstanz aufzufassen sei; damit hat er zwar seine frühere Angabe widerrufen, wonach dieselben Gemenge seien, indem die reducirende Substanz aus einem zugleich mit dem Mucin ausgefällten Körper entstehe, jedoch hat er keine Gründe für die Umwandlung seiner Anschauung angegeben. Unter dem Eindrucke der früheren Angabe Landwehr's habe ich die Gründe gesammelt und Versuche angestellt, welche keinen Zweifel darüber zulassen, dass das Mucin aus der Sehne ein chemisches Individuum ist. Es ergibt sich dies 1. aus der Constanz seiner Zusammensetzung, nachdem es durch verschiedene Fällungsmittel, Essigsäure und Salzsäure, abgeschieden wurde, und nachdem das einmal ausgefällte Mucin wieder mit verdünnter Sodalösung gelöst und nochmals gefällt wurde.

2. Aus der Eigenschaft des Mucins, unverändert in eine saure Lösung überzugehen; für verdünnte alkalische Lösungen war dies Verhalten stets angenommen. Landwehr¹⁾ machte die Bemerkung, dass Essigsäure, wenn sie länger über Mucin steht, dann den reducirenden Körper enthält, er deutete dies in der Weise, dass die Essigsäure dem Mucin den beigemengten reducirenden Körper entzieht. Ich habe vollkommen gereinigtes Sehnemucin

1) L. c. S. 45.

5 Monate lang mit 5procentiger Essigsäurelösung bedeckt gehalten, während welcher Zeit überdies der Niederschlag häufig aufgerührt wurde. Eine nach dieser Zeit entnommene Probe der Essigsäure gab nach stärkerem Ansäuern mit Ferrocyankalium keine Trübung, auch mit ClNa und SO_4Mg in Stücken liess sich kein Niederschlag erzeugen, sie enthielt somit kein Acidalbumin in Lösung. Es wurde die essigsäure Mucinlösung mit Wasser verdünnt und die Essigsäure am Wasserbade unter wiederholtem Zusatz von Wasser abgejagt. Der in Wasser aufgeschwemmte, nunmehr flockige spärliche Rückstand gab nach dem Auskühlen auf Zusatz von Kupfersulfat einen flockigen Niederschlag, der sich auf Zusatz von Kalilauge mit blauer Farbe löste. Eine Probe dieser Lösung gekocht schied nach längerem Kochen einen schwarzen Niederschlag ab, nach dessen Absitzen die darüber stehende Flüssigkeit blauviolett gefärbt war — sie verhielt sich also ganz in gleicher Weise, wie unverändertes Mucin. Wäre in der Essigsäure das Kohlehydrat als solches schon in Lösung gewesen, so hätte sich beim Kochen mit Kupferoxydkali die blau-weiße Kupferverbindung des thierischen Gummis bilden müssen. Diese erhielt ich mit Kupferoxyd in alkalischer Lösung aber erst dann, als ich eine Probe des obigen Rückstandes mit verdünnter Schwefelsäure am Wasserbade so lange digerirt hatte, bis das Gemisch eine gelbliche Färbung annahm, nach weiterem Digeriren bis zur beginnenden Braunfärbung erhielt ich in alkalischer Lösung Reduction des Kupferoxyds. Die Essigsäure hatte demnach dem Mucin das Kohlehydrat nicht entzogen, sondern löste das Mucin als Ganzes.

3. Die Schwierigkeit der Abspaltung des reducirenden Körpers aus dem Mucin. Ich habe im Verlaufe dieser Darstellung mehrere Male darauf hingewiesen, dass man das angesäuerte Reaktionsgemisch längere Zeit bis zur Braunfärbung kochen muss, um eine glatte Reduction zu erhalten. Nachdem ich die Eigenschaften des Kohlehydrates kennen lernte, gelang es mir durch Unterbrechen der Säurewirkung, nachdem sich die Flüssigkeit gelb färbte, den Niederschlag der basischen Kupferverbindung zu erhalten.

Aber auf dem Wasserbade wird selbst dieser Punkt erst nach $\frac{1}{2}$ —1stündigem Kochen mit 5% Schwefelsäure oder Salzsäure erreicht, viel rascher gelangt man zum Ziele, wenn man im Porcellanschälchen über der Gasflamme die Spaltung vornimmt. Auch Hammarsten¹⁾ hebt hervor, dass die Abspaltung der reducirenden Substanz aus dem Mantelmucin mit 2—5% Salz- und Schwefelsäure oft erst nach 3—5stündigem Erhitzen im Wasserbade gelang, und auch er verwerthet diese Beobachtung dahin, «dass die beim Sieden des Mantelmucins mit verdünnten Säuren entstehende, reducirende Substanz wirklich durch eine schwer herbeizuführende Spaltung des Mucins und nicht durch die Umsetzung eines beigemengten Kohlehydrates entsteht».

Hierfür zeugt auch das Verhalten des Mucins beim Behandeln mit Wasser. Kochendes Wasser entzieht dem säurefreien Mucin auch nach Einwirkung von mehreren Stunden den reducirenden Körper nicht. Wurde in Wasser aufgeschwemmtes Mucin im zugeschmolzenen Glasrohr im kochenden Wasser 5 Stunden lang digerirt, dann enthielt die Flüssigkeit nur sehr geringe Mengen des Kohlehydrates. Beim Kochen mit Kupferlösung und Kalilauge schieden sich wenige bläulich weisse Flocken der basischen Kupferverbindung des Kohlehydrates ab, während die darüberstehende Lösung durch ihre Violettfärbung anzeigte, dass auch von der eiweissartigen Componente des Mucins die entsprechenden Mengen in Lösung gingen. Erst nach Erhitzen auf 110° C. im zugeschmolzenen Rohr mit Wasser, wobei sich der Röhreninhalt gelbbraun färbte, gab die Flüssigkeit mit Kupferoxydkali reichliche Reduction.

4. Dem Sehnenmucin ist kein Nuclein beigemengt, in der Asche desselben war Phosphorsäure nicht enthalten.

5. Wenn das Sehnenmucin ein Gemenge eines Globulins mit einem Kohlehydrat darstellen würde, dann könnte es aus der Sehne durch Kalkwasser nicht mehr extrahirt werden,

1) L. c. S. 12.

wenn man den Sehnen ein etwa nach der Extraction mit Wasser noch darin befindliches Globulin entziehen würde.

Es wurden daher die mit Wasser, bis zum Aufhören der Eiweissreaction in der Waschflüssigkeit, ausgelaugten Sehnenstücke mit $\frac{1}{3}$ gesättigter Kochsalzlösung kräftig verrieben und mit der gleichen Kochsalzlösung übergossen, einige Stunden hingestellt. Die Sehnen quellen dabei ein wenig auf und die Fäden des Bindegewebes lockern sich in ähnlicher Weise für das Auge, als wie wenn die Stücke in Kalkwasser lägen. Die hernach durch ein Faltenfilter ablaufende schleimige Flüssigkeit schied nach Eintragen von Steinsalzstücken Flocken ab. Die gesammelten Flocken, zwischen Filtrirpapier abgepresst und in Wasser gelöst, gaben sämtliche Reactionen einer Myosinlösung. Es wurden nun die Sehnenstücke zum zweiten Male mit $\frac{1}{3}$ Kochsalzlösung behandelt, aus dem dünnflüssigen Filtrate wurde durch Kochsalzkrystalle nichts mehr abgeschieden. Nun wurden die Sehnenstücke so lange mit Wasser gewaschen, bis die Chlorreaction verschwunden war, und hierauf mit halbgesättigtem Kalkwasser zur Extraction des Mucins behandelt. Die nach 48stündigem Stehen von den Sehnen abfiltrirte Flüssigkeit gab mit verdünnter Essigsäure einen flockigen, im Ueberschuss des Fällungsmittels unlöslichen Niederschlag. Derselbe bestand aus Sehnenmucin, mit dem er in allen Reactionen übereinstimmte.

Nachdem nun in dieser Weise den Sehnen sämtliche Eiweisskörper entzogen wurden und nichtsdestoweniger nach Einwirkung von Kalkwasser Mucin aus denselben extrahirt wurde, so darf man wohl annehmen, dass das Mucin als solches, möglicher Weise als Mucinogen — in dem Sinne, wie Hammarsten dieses durch die Schwerlöslichkeit des durch Essigsäure aus dem Schleim gewonnenen Niederschlages in verdünnten Alkalien ekaracterisirte —, immerhin aber als chemisches Individuum im Protoplasma vorhanden ist und durch verdünnte Alkalien aus diesem, unbeschadet seiner chemischen Integrität, aufgenommen wird.

Die Wirkung der verdünnten Alkalien auf das im Protoplasma befindliche Mucin stelle ich mir aber nicht nur als

Lösung durch Ueberführung einer in Wasser unlöslichen Säure in das entsprechende in Wasser lösliche Salz vor, sondern als eine Verflüssigung des in Wasser bei Gegenwart von Neutralsalzen quellungsfähigen Körpers in der Weise, dass durch die Gegenwart des freien Alkalis an das im Protoplasma befindliche Molekül, welches ich nach Hammarsten als Mucinogen bezeichnen will, allmählig Wasser angelagert wird. Für diese Anschauung, zu welcher ich durch die Einwirkung von Alkalien und Säuren auf das Mucin gelangte, finde ich eine grosse Stütze in dem Verhalten, wie es Hammarsten für das Mucinogen, typische Mucin und veränderte Mucin des von ihm aus dem Epiphragma von *Helix pomatia* gewonnenen Mantelmucins schildert. Die Beobachtung Landwehr's, dass das Mucin durch verdünnte Säuren und Alkalien in Syntonin und Albuminat überführt wird, fasse ich nach meinen Erfahrungen, da hierbei niemals eine gleichzeitige Abspaltung des conjugirten Kohlehydrates angegeben ist (ausser man wirkt bei höherer Temperatur ein), nur so auf, dass das Mucinmolekül hydratisirt wird, ohne in seiner Integrität verletzt zu sein; daher habe ich auch stets von der Syntonin- oder Albuminat-ähnlichen Modification des Mucins gesprochen, aber nie davon, dass dasselbe zu Syntonin oder Albuminat wird. Demgemäss fasse ich die Fällung des Mucins aus seiner Lösung durch verdünnte Säuren als eine Ueberführung desselben in ein Anhydrid auf. Wohl kann man sich die Fällung des Mucins durch verdünnte Säuren schematisch so erklären, dass das Mucin als schwächere Säure von der stärkeren abgeschieden wird, jedoch macht auch die Ausfällung des Mucins deutlich den Eindruck der Schrumpfung durch Wasserentziehung. Wenn man allmählig fällt, so sieht man im Anfang das Ausscheiden von viscidem wasserreichen durchscheinenden Fasern, die erst während des Umrührens opak werden, sich dann unter weiterer Einwirkung der Essigsäure zu grösseren Klumpen aggregiren, die nach längerem Einwirken derselben schliesslich zu kleinen Körnchen schrumpfen. Mit dieser Ansicht stimmt auch der Umstand, dass das durch Einwirkung von Säuren und Alkalien weiter

hydratisirte Mucin nunmehr durch Essigsäure nicht mehr abgeschieden wird, und auch das Vorkommen von resistenteren Mucinen, welche wie das Sehnenmucin nach längerer Einwirkung von verdünnten Alkalien ihre Fällbarkeit durch Essigsäure nur zum Theil verlieren, indem sie nach längerer Einwirkung derselben wieder abgeschieden werden (s. S. 47), lässt sich mit dieser Auffassung vereinbaren.

Allerdings lässt sich fragen, wieso es kommt, dass das direct in Wasser aufgenommene Mantelmucinogen nach seiner Ausfällung durch Essigsäure, in verdünnten Alkalien viel schwerer sich löst, als das typische Mucin, welches aus seiner alkalischen Lösung gefällt wurde. Doch glaube ich diese Erscheinung so deuten zu sollen, dass das Mantelmucinogen im secernirten Schleim ebenfalls als Anhydrokörper im Zustande der Quellung existirt. Wird diesem durch Essigsäure nun noch Wasser entzogen, so wird er durch verdünnte Alkalien viel schwieriger gelöst, wie das typische Mucin, welches durch Fällung eines schon hydratisirten Mucins entstanden ist. Dass ich zur Erklärung dieses Verhaltens mehrere Hydratationsstufen des Mucins annehmen muss, bildet kein Hinderniss für diese Annahme, sind doch Syntonin, Hemialbumose und Pepton ebenfalls nur Hydrate desselben Albumins mit immer steigenden Mengen an Wasser. Auch die Annahme, dass ein Körper im Protoplasma in anhydridischer Form vorkommt, hat für uns nichts Fremdartiges, nachdem wir die Bildung von ätherartigen Verbindungen im lebenden Protoplasma — Harnstoff, Hippursäure, aromatische Aetherschwefelsäuren — beobachtet haben. Dass aber Mucinogen, typisches Mucin und durch verdünnte Alkalien verändertes Mucin nur durch ihren verschiedenen Gehalt an Hydratwasser ein verschiedenes chemisches Verhalten zeigen, wird auch durch Hammarsten's Analyse dieser drei Stufen des Mantelmucins von *Helix pomatia* erwiesen. Ich erlaube mir zum Mindesten die von Hammarsten durch die Analyse gefundenen Zahlen in diesem Sinne zu deuten, wenn auch Hammarsten die Differenzen, welche diese 3 Mucine am Stickstoffgehalt zeigen, 13,62, 13,47

und 13,10, für diese letztere Zahl in der Weise zu deuten für möglich hält, dass sie die Folge einer durch Alkali-Einwirkung allmählig auftretenden Herabsetzung des Stickstoffgehaltes in dem Mucin sei. Doch ist bisher eine Herabsetzung des Stickstoffgehaltes durch die Analyse nur nach längerer Einwirkung von 5% Kalilauge constatirt, nicht, wie im obigen Falle, nach der von 0,01% Kalilauge. Auch lässt Hammarsten ja selbst die Möglichkeit offen, dass jene Differenz im Stickstoffgehalt von einem Fehler in der Analyse herrührt.

Aus der Auffassung der Mucine als chemische Individuen und aus der Möglichkeit, dieselben durch verdünnte Mineralsäuren bei höherer Temperatur in ein Kohlehydrat und in einen eiweissartigen Körper zu zerlegen, folgt, dass wir dieselben als im Protoplasma des Thierkörpers vorkommende Glycoside betrachten dürfen. Wie die Erfahrung lehrt, ist sowohl die Qualität als die Menge der Kohlehydrate in den Mucinen verschiedener Art, möglicher Weise werden auch die stickstoffhaltigen Paarlinge Eiweisskörper verschiedener Art sein. Durch vollständige Saccharificirung der in den verschiedenen Mucinen enthaltenen Kohlehydrate dürfte es gelingen, bei denselben nachzuweisen, in welchem Zahlenverhältniss sich die Kohlehydrate zu dem Eiweisspaarling befinden. Einen Versuch in dieser Richtung möchte ich mir für die nächste Zeit vorbehalten.

An den hier mitgetheilten Untersuchungen haben sich meine früheren Herren Assistenten Dr. Arthur Looss und Dr. Benno Köhnlein mit regem Eifer und Interesse betheiligt, wofür ich ihnen hiermit meinen besten Dank erstatte.