

Ueber gerinnungshemmende Agentien im Organismus höherer Wirbelthiere.

Von

Dr. E. P. Pick in Wien

und

Dr. K. Spiro, Privatdocenten und erstem Assistenten des Instituts.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 41.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Oktober 1900.)

I.

Seitdem Schmidt-Mühlheim¹⁾ und Fano²⁾ vor etwa 20 Jahren in C. Ludwig's Laboratorium die Entdeckung von der Uncoagulirbarkeit des Blutes nach Injection von Produkten der Pepsinverdauung gemacht haben, hat sich das Interesse der zahlreichen Forscher, welche diese Erscheinung studirten, in erster Linie dem dabei im Organismus stattfindenden Vorgang als solchem zugewandt. Man hat die mit der Ungerinnbarkeit des Blutes einhergehenden morphologischen und chemischen Veränderungen am Blute selbst, die Veränderungen an der Lymphe (Lymphorrhöe) und Niere, die Senkung des Blutdrucks ebenso wie die Veränderung der Blutalkalescenz und endlich die dabei beobachtete eigenthümliche Immunität eingehend studirt. — Ueber die Natur des den ganzen Erscheinungscomplex auslösenden Agens sind bisher dagegen auffallend wenig Untersuchungen angestellt worden.

Während sich Schmidt-Mühlheim und Fano entweder die benutzten Peptone³⁾ durch künstliche Verdauung selbst

1) Archiv f. Physiologie 1880. S. 50.

2) Ebenda 1881. S. 277.

3) Die meisten Autoren, welche sich mit vorliegendem Gegenstande beschäftigt haben, gebrauchen die Bezeichnung «Pepton» oder «Peptone» im Sinne Lehmann's und Brücke's für die Verdauungsprodukte schlechtweg ohne scharfe Unterscheidung der einzelnen Bestandtheile dieser Gemenge. Auch im Nachfolgenden ist dieser Sprachgebrauch vornehmlich, wo es sich nicht um bestimmte Produkte handelt, beibehalten.

darstellten oder von käuflichen (Grübler'schen) Präparaten Gebrauch machten, benutzte W. Kühne in Gemeinschaft mit S. Pollitzer¹⁾ gereinigte Präparate, die nach seiner Methode dargestellt waren. Hierbei ergab sich, dass unter den Pepsin-Verdauungsprodukten zweien, der Protoalbumose (von der Heteroalbumose durch Dialyse getrennt) und dem Antipepton, ein Einfluss auf die Blutgerinnung nicht zukommt.

Auch A. Grosjean²⁾ wandte bei seinen unter L. Fredericq's Leitung angestellten Untersuchungen «über die physiologische Wirkung von Propepton und Pepton» die Kühne'schen Darstellungsmethoden an. Die durch Pepsin-Chlorwasserstoffsäure (resp. Magenschleimhaut und Säure) aus Schweinsfibrin bereiteten Albumosen wurden mit Ammonsulfat gesättigt: Der Niederschlag, nach der Dialyse aus seiner Lösung mit Alkohol gefällt und gewaschen, stellte das «Propepton» dar, während die Mütterlauge, eingedampft, vom ausgeschiedenen Salz abgossen, mit 2 Volumen Alkohol gefällt, durch Erwärmen vom Alkohol und durch Baryumcarbonat und Baryumhydrat vom Ammonsulfat befreit, das «Pepton» lieferte. Bei der intravenösen Injection ergab sich, dass die Behinderung der Coagulation nur durch das «Propepton», nicht durch das «Pepton» erzielt werden konnte, ein Resultat, das später mit der gleichen Methode von A. Ledoux³⁾ bestätigt wurde. Zu erwähnen wäre ferner, dass auch nach den Untersuchungen von Ellinger und dem einen von uns⁴⁾ dem nach verschiedenen Methoden dargestellten sog. «Antipepton» ein coagulationshemmender Einfluss nicht zukommt.

Bei allen diesen Untersuchungen kamen Verdauungsprodukte des Fibrins zur Anwendung. Erst Arthus und

1) Verhandlungen des Naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg N. F. Bd. 3. S. 292. 1885.

2) Travaux du laboratoire de L. Fredericq, T. IV., Liège 1892. S. 42.

3) Archive de biologie, Bd. 14., S. 63. 1896.

4) Spiro und Ellinger, Der Antagonismus gerinnungsbefördernder und gerinnungshemmender Stoffe im Blute und die sogenannte Peptonimmunität. Diese Zeitschrift, Bd. XXIII. S. 114, 1897.

Huber¹⁾ suchten zu zeigen, dass auch die Albumosen des Caseins (dargestellt durch Coagulation von Kuhmilch mittelst Lab und Auflösen des Coagulums in einem Glycerinextract von Hundepankreas) und die «Gelatosen» (aus einer starken Gelatinelösung mit künstlichem Pankreassaft gewonnen) ähnlich wie käufliches Fibrinpepton (Wittepepton) wirkten. Freilich waren von diesen Präparaten ausserordentlich hohe Dosen erforderlich: denn während von Wittepepton 0,3 g pro Kilo Thier mit Sicherheit bewirken, dass eine Blutprobe, die 2½ Stunden nach der Injection entnommen wird, noch eine Stunde braucht, um fest zu werden, und dass die normale Gerinnbarkeit erst nach 3½ Stunden bei dem Versuchsthier wiederkehrt, waren von den Albumosen des Caseins 1,5—1,75 g pro Kilo Thier und bei den Gelatosen gar 2 g nöthig, ohne jedoch stets eine volle Wirkung hervorzurufen. Diese Angaben wurden später auch von Chittenden, Mendel und Henderson²⁾ bestätigt, die allerdings reine Gelatinpeptone ganz unwirksam fanden. Im Gegensatz zu diesen Resultaten, welche die nach Pepton-injection beobachteten Wirkungen ebenso wie deren grosse Toxicität mehr oder minder den meisten Albumosen zukommen lassen, führte eine Arbeit von E. Fiquet³⁾ zu ganz abweichenden Ergebnissen. Derselbe zeigte im Laboratorium von A. Gautier, dass Albumosen, die nach dessen Verfahren gereinigt, d. h. einer combinirten Ammonsulfat-Alkohol-Behandlung unterworfen waren, absolut keine allgemein toxischen Wirkungen mehr zeigten, so dass z. B. ein Kaninchen die Injection von 10 g Pepton an einem Tage ohne Schaden ertrug. Auf die Bedeutung dieser Befunde für die Untersuchungen über die Nichtgerinnbarkeit des Peptonblutes hat M. Nencki⁴⁾ ausdrücklich hingewiesen.

In jüngster Zeit endlich steuerten noch Chittenden und Mendel mit Mc. Dermott⁵⁾ resp. Henderson umfang-

1) Archive de physiologie, Bd. 28, S. 857, 1896.

2) Americ. Journal of Physiology, Bd. 2, S. 457, 1899.

3) Comp. rend. soc. de biolog., Bd. 49, S. 459, 1897.

4) Maly's Jahresbericht, Bd. 27., S. 196, 1898.

5) Americ. Journal of Physiology, Bd. 1, S. 255, 1898.

reicherer Material für die vorliegende Frage bei, indem sie einmal verschiedene Eiweisskörper verdauen liessen, andererseits auch Papain als verdauendes Agens benutzten: Während die mit Pepsin und Trypsin aus coagulirtem Eieralbumin erhaltenen Verdauungsprodukte im Ganzen wie die des Fibrins wirkten, zeigten Präparate von Hemipepton und «einer albumoseähnlichen Substanz», die ohne Zusatz von Fermentlösungen nur durch Einwirkung von Schwefelsäure gewonnen waren, eine auffallend geringe Wirkung. Auch ein aus reinem Edestin gewonnenes Antialbumid erwies sich als wenig, vielleicht gar nicht wirksam (normale Gerinnungszeit 3 Minuten, nach der Injection 4, resp. 9, resp. 4, resp. 5 Minuten).

Die durch Papain gewonnenen Produkte wirkten im Allgemeinen in kleineren Dosen und stärker als die durch animalische Verdauungsmittel erhaltenen.

W. H. Thompson¹⁾ endlich hat bei seiner umfangreichen und sorgfältigen Analyse der «Peptonwirkung» nur Grübler'sche Präparate verwandt.

Diese Uebersicht über die vorhandene Litteratur zeigt wohl, dass das bisher für die einschlägigen Studien gebrauchte Pepton etc. durchaus als nicht einwandfreies Material zu bezeichnen ist. Zunächst ist das meist als Ausgangsmaterial verwandte Fibrin (und dasselbe gilt mehr oder weniger auch für die anderen nativen Eiweissstoffe) nicht nur ein Gemenge verschiedener Eiweisskörper, sondern auch ein Substrat, dem noch verschiedene andere Stoffe, zumal auch Fermente, anhaften. Ferner ist die zur Darstellung der Albumosen angewandte Methode der künstlichen Verdauung insofern nicht einwandfrei, als dabei eine in ihrer Zusammensetzung und Wirkung unbekanntere Verdauungslösung benutzt wird. Und dass endlich die zur Reinigung der Albumosen verwandten Methoden nicht ausreichend sind, braucht nach der eingehenden Arbeit des einen von uns (E. P. Pick)²⁾ wohl nicht neuerdings dargelegt zu werden.

1) Journal of Physiology, Bd. 24, S. 378, 1899.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 246, 1897 und Bd. XXVIII, S. 219, 1899.

Wenn somit aus den bisherigen Untersuchungen nicht mit Sicherheit geschlossen werden kann, dass die beobachteten Pepton-wirkungen in der That den Albumosen- oder doch bestimmten Spaltungsprodukten der Eiweisskörper zukommen, so verdienen jene Arbeiten um so mehr Beachtung, welche bei Anwendung eines völlig andersartigen Materials eine jener der Peptone analoge oder doch wenigstens ähnliche Wirkung sicherstellten. Hier ist neben dem seit Hayercraft viel studirten Blutegelextract, dessen Eiweissnatur nach gelegentlichen eigenen, unveröffentlichten Untersuchungen zweifelhaft zu sein scheint,¹⁾ zunächst eine Beobachtung Fano's anzuführen. Die mit Hülfe von Trypsin dargestellten Peptone zeigen bekanntlich nicht die gleichen Wirkungen wie die durch Pepsin erhaltenen Produkte. Bedingung hierfür ist jedoch, wie schon Fano fand, dass die Trypsinverdauung unter Ausschluss von Fäulniss stattfindet; war die Fäulniss bei der Bereitung der Tryptone nicht vermieden, so verhalten sich die erhaltenen Produkte wie Pepsin-Peptone, sie hemmen die Blutgerinnung. Offenbar können also Bacterienprodukte wie Fibrin-albumosen wirken.

Noch wichtiger für die Beurtheilung der Albumosen-wirkung sind Versuche, die Albertoni²⁾ noch vor der Entdeckung Schmidt-Mülheim's über die Wirkung von Pepsin und Pankreatin auf das Blut angestellt hat, und aus denen hervorgeht, dass schon sehr geringe Mengen von den käuflichen Präparaten beider Fermente eine sehr starke anti-coagulirende Wirkung auszuüben im Stande sind.

Aehnliche Beobachtungen hat J. Salvioli³⁾ an diastatischen Fermenten gemacht: Hundespeichel, Ptyalin, diastatisches Leberferment heben, in den Kreislauf von Hunden injicirt, die Gerinnbarkeit sofort auf und wirken auch im Uebrigen (z. B. auf die Alkalescenz des Blutes) wie Peptone,⁴⁾ was auch in

1) Vgl. W. L. Dickinson, Journal of Physiology, Bd. 11, S. 566, 1890.

2) Centralblatt für die med. Wissensch. 1878 und 1879.

3) Centralblatt für die med. Wissensch. 1885, Nr. 51.

4) Salvioli, Veränderung des Blutes durch Peptone und lösliche Fermente, Maly's Jahresbericht Bd. 22, S. 89, 1892.

neuerer Zeit noch von Ch. Contejean¹⁾ bestätigt und von H. Hildebrandt²⁾ weiter ausgeführt worden ist.

Ebenso können vielleicht auf Fermente Beobachtungen zurückgeführt werden, wie sie Mosso³⁾ am Murenidenserum, Delezenne⁴⁾ am Aalserum, weiter Abelous und Billard⁵⁾ an der Leber der Crustaceen und namentlich des Flusskrebsses, und endlich C. J. Martin⁶⁾ am Gift der australischen schwarzen Schlange (*Pseudechis porphyriacus*) gemacht hat. Namentlich die Beobachtungen am Schlangengift, wo 0,00001 g des Secretes pro Kilo Thier genügt (also ein Verhältniss 1 : 100 Millionen), um bei intravenöser Injection Hundeblood ungerinnbar zu machen, zeigen, wie minimaler Quantitäten es bedarf, um die Vorgänge der Blutgerinnung total zu ändern.

In diesen Fällen macht die ausserordentlich geringe Dosis, die zur Hervorrufung der Peptonwirkung genügt, eine chemische Untersuchung des wirksamen Principes unmöglich, daneben aber besitzen wir Erfahrungen, in denen den Eiweisskörpern nahe stehende, nicht durch Verdauung erhaltene Stoffe oder deren Spaltungsprodukte dieselbe Wirkung entfalten. Hier sind die Erfahrungen von C. A. Pikelharing⁷⁾ zu nennen, der nach Einverleibung kleinerer Nucleoalbumindosen beobachtete, dass das Blut sich vollkommen wie Peptonblut verhielt. Hier wäre endlich noch die gerinnungshemmende Wirkung zu erwähnen, die nach den bekannten Untersuchungen Kossel's⁸⁾ und Lilienfeld's⁹⁾ dem in Zellkernen vorkommenden Nucleohiston, resp. dessen Spaltungsprodukten zukommt. Durch diese Untersuchungen ist das schon von Alexander Schmidt behauptete Vorkommen von gerinnungs-

1) Compt. rend. soc. biolog. Bd. 46. S. 833, 1895.

2) Virchow's Archiv, Bd. 121, S. 1, 1890.

3) Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 25, S. 111, 1890.

4) Arch. de Physiol., Bd. 9, S. 646, 1897.

5) Compt. rend. soc. biol., Bd. 49, S. 991 und S. 1078, 1897.

6) Journal of Physiology, Bd. 15, S. 379, 1895.

7) Deutsch. med. Wochenschrift 1892, S. 1133.

8) Berl. klin. Wochenschr. 1893, Nr. 21.

9) Diese Zeitschr., Bd. 20, S. 103, 1895.

hemmenden Factoren in den Zellen (Cytoglobulin und Praeglobulin) zwar mit Sicherheit bewiesen, die von Liliensfeld gegebene Erklärung der Gerinnungshemmung und seine Ansicht über die Natur des wirksamen Agens hat aber theilweise lebhaften Widerspruch erfahren.¹⁾ Exacte Untersuchungen hat ferner in jüngster Zeit W. H. Thompson²⁾ über die physiologische Wirkung der Protamine und ihrer Spaltungsprodukte ausgeführt, in denen gezeigt wurde, dass den Protaminen neben einer Art agglutinirender auch eine gerinnungshemmende Wirkung zukommt, und dass dieselbe schon nach einer zehnfach kleineren Dosis eintritt, als man bei den Albumosen zu reichen gewohnt ist. Durch Kochen mit verdünnter Säure, wobei die Protamine in die Protone A. Kossel's übergeführt werden, sah er die anticoagulirende Wirkung fast gänzlich verschwinden.

Von besonderer Wichtigkeit endlich sind mit Rücksicht darauf, dass als Ausgangsmaterial für die angewandten Albumosen Fibrin benutzt wird, die Untersuchungen von E. Gley³⁾ über die anticoagulirende Wirkung von Kaninchenblut auf das Blut des Hundes. Aehnlich nämlich, wie nach den Untersuchungen Hayem's ein Hund, dem dreimal das eigene Blut entzogen und durch Pferdeblut ersetzt wird, ungerinnbares Blut liefert, wird ebenfalls bei dem Hund durch Kaninchenblut die Gerinnbarkeit noch mehr herabgesetzt. Werden 20 bis 30 ccm. Carotisblut vom Kaninchen möglichst schnell einem Hund von 5 bis 8 kg in die vena saphena injicirt, so bleibt das Blut des letzteren ca. 2 Stunden flüssig, nachdem es der Ader entnommen ist; das Serum des Kaninchens dagegen hat diese Wirkung nicht. Man darf danach vermuthen, dass die Substanz, welche die eigenthümliche anticoagulirende Wirkung bedingt, beim Fibrin oder den geformten Blutbestandtheilen zurückbleibt. An echten, genuinen Eiweissstoffen selbst hat man bisher eine anticoagulirende Wirkung noch nicht

1) Vgl. Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie. 4. Aufl. S. 164—167. 1899.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX. S. 1. 1899.

3) Compt rend. soc. biol. Bd. 48, S. 759. 1896.

beobachtet. Heidenhain¹⁾ führt zwar gelegentlich seiner Versuche über die lymphtreibende Wirkung der Albumosen auch ein Experiment an, in dem eine native Eiereiweisslösung lymphorrhöisch wirkte und eine ungerinnbare Lymphe lieferte, dem gegenüber hat jedoch der eine von uns²⁾ schon zeigen können, dass bei Injection krystallisirten Serumalbumins diese Wirkung vermisst wurde, wie auch wahrscheinlich gemacht werden konnte, dass an der Wirkung der Albumosen ihre colloidale Beschaffenheit nicht betheiligt ist.

Aus all diesen in der Litteratur vorhandenen Angaben kann ein Schluss darauf, ob die genannten oder bestimmte Verdauungsprodukte als solche Träger der Peptonwirkung sind, oder aber ihnen anhaftende Beimengungen, nicht gezogen werden: immerhin muss bei der, wie man sieht, grossen Verbreitung antieoagulirend wirkender Stoffe und bei der ausserordentlich geringen Dosis, die bei einzelnen für eine volle Entfaltung ihrer Wirkung nöthig ist, die letztere Möglichkeit ernstlich ins Auge gefasst werden.

II.

Das Auftreten der gerinnungshemmenden Substanz bei Eiweisspaltung ist nicht an Darstellung durch Fermente gebunden.

Da erfahrungsgemäss Eiweiss unter dem Einfluss von verschiedenen Fermenten, von Säuren und Alkalien dieselben oder doch sehr ähnliche Spaltungsprodukte liefert, wurde zunächst untersucht, ob ebenso wie bei Pepsinverdauung bei anderen Formen der Eiweisspaltung gerinnungshemmend wirkende Produkte auftreten. Als Ausgangsmaterial diente zunächst Fibrin.

Spaltung durch Fermente.

1. Pepsinverdauung.

Dank der allgemeinen Zugänglichkeit dieser Methode sind auch bei weitaus den meisten Versuchen, die seit Schmidt-

1) Versuche und Fragen zur Lehre von der Lymphbildung, Pflüger's Archiv, Bd. 49, S. 209, 1891. Vgl. S. 240 und Protokoll XXI, S. 294.

2) Spiro, Ueber Diurese. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 41, S. 148, 1898.

Mühlheim über Peptonwirkung angestellt worden sind, Präparate benutzt worden, welche mit Hülfe künstlicher Magenverdauung, sei es im Laboratorium, sei es fabrikmässig gewonnen waren. Leider ist diese Methode nicht ganz einwandfrei: wie schon oben auseinandergesetzt, hat Albertoni gezeigt, dass dem Rohpepsin als solchem eine anticoagulirende Wirkung zukommt: wenn nun auch im Allgemeinen diese Fehlerquelle wegen der kleinen Quantitäten Pepsin, die zur Verdauung nöthig sind, nicht allzusehr in Betracht kommen wird, so ist doch damit ein wechselnder und unkontrollirbarer Factor eingeführt, der um so störender sein kann, als, wie ja bei dem Gift der schwarzen Schlange gezeigt, schon minimale Quantitäten eines wirksamen Stoffes eine ausserordentliche Wirkung ausüben können.

Um zu erfahren, ob die Anwesenheit von Pepsinpräparaten, bezw. von Pepsinferment überhaupt zur Bildung der gerinnungshemmenden Produkte nöthig ist, wurde der Versuch gemacht, sie bei Darstellung der Albumosen ganz zu umgehen.

Spaltung mit Säuren.

Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe besitzen wir genaue, quantitative Angaben mit möglichster Charakterisirung der entstandenen Produkte in der Dissertation unseres leider so früh verstorbenen Freundes Dr. Franz Goldschmidt.¹⁾ Derselbe wies nach, dass schon bei ganz schwachem Gehalt an Salzsäure, z. B. $\frac{1}{16}$ -Normalsäure (ungefähr gleich der Concentration der Magensalzsäure) von vornherein bei Zimmertemperatur Albumosen in reichlicher Menge auftreten, und dass gerade diese Concentration es ist, welche für die Bildung löslicher, dem Zerfall zugänglicher Acidalbumine die günstigste ist. Es verlaufen bei dieser Concentration an Salzsäure die Spaltungen ganz ähnlich, wie bei der künstlichen Magenverdauung, nur dass der Magensaft der 0.2%igen Salzsäure insofern überlegen ist, als er den Spaltungsvorgang in hohem Maasse beschleunigt. Diesen Er-

¹⁾ Inaug.-Diss. Strassburg i. E. 1898. Dasselbst auch ein vollständiger Ueberblick über die frühere Litteratur.

fahrungen entsprechend haben auch wir bei unseren Spaltungen eine 0,2—0,4%ige Salzsäure angewandt und dabei reichlich Albumosen erhalten. Behufs Vermeidung von Pilz- und Schimmelpflanzung wurde mit Toluol versetzt.

Die Wirksamkeit der so erhaltenen Produkte zeigt das folgende Protokoll:

Versuch I.

2 kg frischen Fibrins wurden sorgfältig gewaschen und in 4 Liter 0,4%iger Salzsäure suspendirt durch 4 Tage der Bruttemperatur ausgesetzt. Nach dieser Zeit wurde das stark gequollene Fibrin von dem in Lösung gegangenen mittelst Colirens getrennt, die Lösung aufgeköcht, neutralisirt und der dabei löslich gebliebene Theil vom Coagulum und dem Acidalbumin abfiltrirt. Die filtrirte Lösung wurde auf dem Wasserbade eingedampft; der Trockenrückstand, der mit schwach saurer Reaction in Lösung ging, enthielt reichlich Albumosen aller Spaltungsphasen und Peptone. 5 g des Trockenrückstandes wurden in 55 ccm. Wasser gelöst, die Lösung mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht und einem Hund im Gewicht von 9 kg 100 g in die vena femoralis injicirt.

Blutentnahme aus der a. femor.	Zeit der Gerinnung im Reagensglas	Zeit der Gerinnung in der Capillare ¹⁾
11 ⁴⁵ Normalprobe	11 ⁴⁷	11 ⁵⁰
11 ⁴⁶ —11 ⁴⁸ Injection		
11 ⁴⁹ tonisch-clonische Krämpfe aller Extremitäten. Trismus, tiefe Athmung;	}	bleiben durch die zwei nächst- folgenden Tage flüssig.
11 ⁵² tiefe Narkose.		
11 ⁵⁶ Blutdruck unbeeinflusst.	2 ⁰⁰	2 ¹⁵
12 ⁰³	2 ⁰⁰	2 ²⁰
12 ⁰⁸ zeitweises Auftreten von Trismus u. Extremitätenkrämpfen.		
12 ¹⁰	2 ⁰⁰ geronnen vorgefunden	1 ³⁶
12 ¹⁶	2 ⁰⁰	1 ³⁰
12 ²⁴	2 ⁰⁰ geronnen vorgefunden	1 ³⁰
12 ³⁴	—	1 ³⁰

Um 2⁰⁰ liegt der Hund noch immer in tiefer Narkose; 2³⁰ Exitus.

Wie man sieht, zeigen die durch Säureeinwirkung aus Fibrin erhaltenen Produkte in Betreff der Wirkung aufs Blut dasselbe Verhalten im Organismus, wie die durch künstliche

¹⁾ Zur Bestimmung der Gerinnungszeit verfahren wir in der von Spiro und Ellinger angegebenen Weise. Diese Zeitschrift, Bd. 23. S. 119. 1897.

Magenverdauung gewonnenen. Zur Bildung der gerinnungshemmenden Substanz ist somit das Pepsin entbehrlich.

Es mag hier daran erinnert werden, dass auch die Protamine, deren albumoseähnliches Verhalten im Thierkörper W. H. Thompson im Kossel'schen Institut gezeigt hat, durch Säurespaltung aus den Spermatozoen dargestellt sind.

Da die Verhältnisse einer solchen künstlichen Säure-digestion — übrigens auch der üblichen künstlichen Verdauungsversuche — nicht in jeder Richtung mit jenen bei natürlicher Magenverdauung zusammenfallen, so war es von Interesse, festzustellen, ob auch in letzterem Fall die Bildung von toxischen bezw. gerinnungshemmenden Stoffen erfolgt.

Versuch II.

$\frac{1}{2}$ kg Pferdefleisch wurde gut zerhackt, zweimal durch $\frac{1}{2}$ Stunde behufs Entfernung irgend welcher etwa vorhandenen Eiweisspaltungsprodukte ausgekocht und einem Hunde, der 24 Stunden vorher zuletzt gefüttert wurde, gereicht. Auf der Höhe der Verdauung (nach 4 Stunden) wurde der Hund getödtet, der Magen abgeschnürt und der Mageninhalt herausgehoben. Derselbe wurde in Wasser suspendirt und zur Entfernung der coagulablen Eiweisskörper bei der nativ schwach sauren Reaction aufgeköcht und das neutralisirte Filtrat zur Trockne eingedampft. Die gebildeten Verdauungsprodukte waren mit Ammonsulfat theils leicht ausfällbar ($\frac{1}{2}$ -Sättigung erzeugte massenhafte Fällung, $\frac{2}{3}$ - und Ganzsättigung der neutralen und sauren Lösung Trübungen), theils bestanden sie aus Peptonen, die erst durch Zusatz von Jodquecksilberkalium mit HCl abzuscheiden waren und schöne Biuretprobe lieferten. Von diesen Produkten wurden 4 g in alkalischer, 15 ccm. fassender Lösung einem 8 kg schweren Hund intravenös beigebracht.

Blutentnahme aus der a. femoralis	Zeitpunkt der Gerinnung im Reagensglas	Zeitpunkt der Gerinnung in der Capillare
9 ⁴¹	Normalprobe	9 ⁴⁴
	9 ⁴⁴ —9 ⁴⁵ Injection der Lösung	9 ⁴¹
9 ⁴⁷	Eintritt von narkot. Wirkg.	} Alle Proben wurden erst den nächsten Morgen geronnen vorgefunden.
9 ⁵⁶	Blutdrucksenkung; Abgang von Fäces.	
10 ⁰³		
10 ⁰⁹		

Das Thier bleibt am Leben.

Aus diesem Versuch geht also hervor, dass auch innerhalb des Organismus Verdauungsgemenge, welche die typische Wirkung haben, gebildet werden, dass somit nicht irgend

welche äusseren Bedingungen der künstlichen Pepsinverdauung, z. B. ein anderes quantitatives Verhältniss von Ferment und Salzsäure, an der Bildung der toxischen Produkte Schuld trägt.

B. Trypsinverdauung.

Den oben angeführten Versuchen von Fano und anderen gegenüber, wonach die Trypsinpeptone der Blutwirkung entbehren, bleibt der Einwand bestehen, dass in Folge der bekanntlich ausserordentlich rapid verlaufenden Pankreasverdauung andere und zwar einfacher gebaute Produkte zur Untersuchung kamen, als bei der so viel langsamer verlaufenden Pepsinverdauung. Aus diesem Grunde haben wir noch mit einer nur ganz kurz dauernden Trypsinverdauung einen Versuch angestellt, wo im verwandten Präparat durch Halbsättigung¹⁾ mit Ammonsulfat fällbare Albumosen reichlich vorhanden waren.

Versuch III.

4 g dieses Präparates in 12 ccm. Wasser wurden einem 5200 g schweren Hund in die Vene eingebracht. Die Gerinnungszeit des Blutes änderte sich nicht. Trotzdem erwies sich das Thier bei einer eine halbe Stunde später vorgenommenen Injection von früher sehr wirksam gefundenem „Säurepepton“ als immun.

Dass die Immunität aber nur eine durch die Pankreasalbumosen bedingte war, ergab sich aus einem fünf Tage später ausgeführten Kontrollversuch, wo Wittepepton am selben Thier seine gewöhnliche Wirkung entfaltete.

Die somit neuerdings nachgewiesene Unwirksamkeit der Pankreasprodukte konnte in einer besonderen Art der entstehenden Albumosen ihren Grund haben oder aber darin, dass die Trypsinverdauung bei neutraler oder schwach alkalischer Reaction (so waren unsere Präparate hergestellt) vorgenommen wird. Ob bei Pankreasverdauung in schwach saurer Lösung, z. B. bei Ueberschuss von Salicylsäure, etwa doch noch wirksame Gemenge entstehen, haben wir nicht geprüft.

¹⁾ Ueber die Bildung von Albumosen bei der Pankreasverdauung vgl. Kurajeff. Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. XXVI, S. 504. 1898. Ueber eingehendere, im hiesigen Institut angestellte, diesbezügliche Untersuchungen wird demnächst Herr Dr. F. Baum berichten.

C. Autolyse.

Durch die Untersuchungen von E. Salkowski¹⁾ und A. Dastre²⁾ wissen wir, dass feuchtes Fibrin in Salzlösungen oder Chloroformwasser aseptisch aufbewahrt sich langsam auflöst, dabei Albumosen und Peptone und dann endlich auch Aminosäuren bildend. Es liegt am nächsten, darin die Wirkung eines dem Fibrin anhaftenden Fermentes zu sehen, das eine autolytische Wirkung in ähnlicher Weise entfalten kann, wie dies die von Salkowski in anderen Organen nachgewiesenen und von M. Jacoby besonders an der Leber studierten autolytischen (früher Autodigestions-) Fermente zeigen.

Wir benutzten zu unseren Versuchen Fibrin, das längere Zeit in Alkohol gelegen hatte, nachdem es vorher wiederholt und gründlich in der bekannten Weise ausgewaschen war. Trotzdem löste sich dasselbe beim Aufbewahren im Brutschrank bei einer Temperatur von 40° in einer 1%igen Kochsalzlösung unter Toluol ziemlich schnell bei neutraler Reaction. Von dem wenigen Ungelösten wurde abfiltrirt und die Lösung bei ganz schwach saurer Reaction coagulirt, das die entstandenen Albumosen und Peptone enthaltende Filtrat (A) eingedampft und in der üblichen Weise weiter verarbeitet.

Das erhaltene Produkt stellte einen stark hygroskopischen Syrup dar, der neben einer schönen Biuret-, Millon'schen Reaction eine nur schwache Schwefelbleiprobe lieferte. Die Kohlenhydratreaction nach Molisch war positiv. Von Albumosen liessen sich alle Spaltungsstufen nachweisen, die leicht mit Ammonsulfat aussalzbaren Produkte waren in geringerer Menge vorhanden, reichlicher die bei $\frac{2}{3}$ - und Ganzsättigung der neutralen Lösung ausfallenden Albumosen. Auf Zusatz von Säure zur salzgesättigten neutralen Lösung erhielt man nur Opalescenz. Im albumosenfreien Filtrate waren durch Biuretreaction und durch Fällung mit Jodquecksilberkalium mit Salzsäure nachweisbare Peptone vorhanden.

Das durch Kochen erhaltene Gerinnsel wurde mit 0,4%iger Salzsäure bei Brutttemperatur digerirt, die Lösung wie in den früher angeführten Säureversuchen weiter behandelt (B).

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 7, S. 92, 1889.

2) Compt. rend., Bd. 118, S. 959, 1894.

Versuch IV.

Injection von 5,5 g der spontan in Lösung gegangenen Produkte (A) an einem 9 kg schweren Hund ergab keine Verlängerung der Gerinnungszeit, keine Fibrinolyse, auch keine Wirkung auf das Centralnervensystem und den Blutdruck.

Eine 40 Minuten später zur Kontrolle vorgenommene Injection von Wittepepton zeigte die typische Wirkung: unter Blutdrucksenkung Ungerinnbarkeit des Blutes.

Versuch V.

5,5 g wurden einem 10 kg schweren Hund beigebracht. Das Ergebniss war ebenso negativ wie in Versuch IV.

Es erhebt sich nunmehr, da die bei der Autolyse aus dem Fibrin entstehenden Albumosen sich als unwirksam erwiesen haben, die Frage: ist die wirksame Substanz — ohne über deren Natur etwas aussagen zu wollen, ob Albumose oder nicht — gar nicht entstanden oder bei der Autolyse zerstört worden?

Eine Entscheidung dieser Frage war vielleicht zu erhalten durch Untersuchung der Säureeinwirkungsprodukte von A und B. Wir haben beide daher in der oben angegebenen Weise der Säureeinwirkung unterworfen und die dabei entstehenden Albumosen einem Hund intravenös injicirt.

Versuch VI.

Einem 15 kg schweren Hund wurden 10,5 g der durch Säurewirkung aus dem Gemenge A erhaltenen Produkte, welche immerhin noch geringe Mengen durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbarer Albumosen enthielten, intravenös beigebracht. Das Ergebniss war völlig negativ. Ein nachträglich mit Wittepepton ausgeführter Kontrollversuch ergab die völlige Empfänglichkeit des Thieres für Peptonwirkung.

Versuch VII.

Ein 14,5 kg schwerer Hund erhielt 8 g der durch Säure aus dem Coagulum B erhaltenen Produkte, welche reichlich die verschiedenen Formen der Albumosen und echten Peptone enthielten, intravenös.

Injection 11 Uhr 26 Min. bis 11 Uhr 28 Min. Nach zwei Minuten tritt tiefe Narkose ein, der Blutdruck ändert sich nicht (?). Die um 11 Uhr 30 Min., 11 Uhr 36 Min., 11 Uhr 43 Min., 11 Uhr 51 Min. entnommenen Blutproben bleiben 24 Stunden lang ungeronnen. Der Hund wird den andern Tag morgens todt im Käfig vorgefunden.

Aus diesem und dem vorhergehenden Versuche ergibt sich daher das Folgende: Die bei der Autolyse des Fibrins entstehenden Produkte haben weder als solche, noch nach der Säurespaltung eine anticoagulirende Wirkung, andererseits jedoch wird durch den Vorgang der Autolyse die Muttersubstanz des anticoagulirenden Agens nicht zerstört: denn wenn man den Process der Autolyse zu einer Zeit unterbricht, wo noch nicht alle in Lösung gegangenen Eiweisskörper in Albumosen oder weiterstehende Produkte gespalten sind, so liefert der coagulable Antheil bei Säureeinwirkung gerinnungshemmende Produkte. Dabei bleibt allerdings unentschieden, ob die coagulablen Eiweisskörper als solche, oder eine ihnen beigemengte andere Substanz das gerinnungshemmende Agens liefert.

Spaltung durch Säure und Alkali.

Dass Säure auch ohne Mitwirkung von Pepsin aus Rohfibrin und aus den vom Fibrin bei der Autolyse erhältlichen coagulablen Produkten das gerinnungshemmende Agens bildet, ist aus den oben angeführten Versuchen ersichtlich.

Es konnte danach erwartet werden, dass auch die Alkalispaltung zum gleichen Resultat führen würde. Die Vermuthung bestätigte sich aber nicht.

Versuch VIII.

Fibrin wurde mit 0.3%iger Sodalösung eine Woche hindurch bei 40° C. digerirt und hierauf aus der Digestionsflüssigkeit in üblicher Weise Albuminsäure und «Alkalialbumose»¹⁾ ausgefällt.

In dem Gemenge der in Lösung gegangenen Spaltungsprodukte ergab die Prüfung mit gesättigter Ammonsulfatlösung, dass insbesondere die bei $\frac{1}{2}$ - und $\frac{2}{3}$ -Sättigung ausfällbaren Albumosen in reichlicher Menge vorhanden waren. Volle Sättigung der neutralen und schwach sauren Lösung erzielte in den angestellten Proben nur eine Opalescenz. Im albumosenfreien Filtrate trat noch deutliche Biuretreaction auf, nach Zusatz von Gerbsäure Fällung, während Jodjodkalium und Jodquecksilberkalium mit HCl keine oder nur unbedeutende Reaction aufwiesen.

1) Vgl. Otto Maas, Ueber die ersten Spaltungsprodukte des Eiweisses bei Einwirkung von Alkali. Diese Zeitschr., Bd. XXX, S. 61, 1900.

Ein 8 kg schwerer Hund erhält 4,5 g der Produkte gelöst in 27 ccm. schwach alkalischen Wassers intravenös injicirt. Es wurde nur eine vorübergehende narkotische Wirkung, keine Aenderung des Blutdrucks und namentlich auch der Blutgerinnbarkeit beobachtet.

Dass das Thier nicht von vornherein gegen Pepton immun war, ergab die eine halbe Stunde später vorgenommene Injection von Wittepepton, welche in jeder Richtung typisch wirkte.

Aus den angeführten und zahlreichen anderen im gleichen Sinne verlaufenen Versuchen lässt sich entnehmen, dass das Auftreten der gerinnungshemmenden Substanz nicht an die Spaltung durch ein Ferment geknüpft ist, da das Trypsin und das proteolytische Ferment der Autolyse in dieser Richtung unwirksam, Pepsin zum Mindesten entbehrlich ist.

Hiermit soll der Frage, ob nicht andere Fermente bei Abwesenheit von Säure aus Fibrin und anderen Eiweissgemengen ein gerinnungshemmendes Agens erzeugen, nicht vorgegriffen sein. Die oben angeführten Versuche von Chittenden, Mendel und Henderson über die Wirksamkeit der Papainverdauung lassen sich wohl in diesem Sinne deuten, ebenso die Beobachtung von Albertoni, dass aus dem Fermentgemenge des Pankreas an und für sich schon bei der intravenösen Injection gerinnungshemmende Stoffe erhalten werden können; auch die Erfahrungen Fano's, dass Tryptone, bei deren Bereitung Fäulniss nicht ausgeschlossen war, wirksam waren, können hier herangezogen werden.

Wir haben bis jetzt die Sache nach dieser Richtung nicht weiter verfolgt, ebenso wenig wie die naheliegende Frage, ob Alkali, Trypsin und autolytische Fermente etwa den durch Säure gebildeten gerinnungshemmenden Körper zerstören.

Für die uns wesentlich beschäftigende Frage, ob das gerinnungshemmende Agens eine Albumose ist, ergibt sich aus dem Vorgeführten zunächst:

Albumosengemenge aus Rohfibrin, wenn sie durch Einwirkung von Trypsin, Autolyse oder Alkali erhalten sind, besitzen keine Wirkung auf die Blutgerinnung; obgleich sie nachweisbar Albumosen enthalten, die sich von den durch Pepsinsalzsäure oder Säure allein erhältlichen zur Zeit nicht unterscheiden lassen.

III.

Aus reinen Eiweisskörpern (Edestin, Casein) lässt sich keine gerinnungshemmende Substanz gewinnen.

Nachdem wir in der Einwirkung verdünnter Säuren ein Mittel kennen gelernt hatten, welches ermöglichte, unter Vermeidung von Fermentpräparaten zu wirksamen Spaltungsprodukten zu gelangen, lag es nahe, die Versuchsanordnung noch weiter zu vereinfachen und die Säure auf reine, von den an nativen Eiweissgemengen stets anhaftenden Beimengungen freie Eiweisskörper einwirken zu lassen. Hier konnte mit aller Klarheit entschieden werden, ob die gerinnungshemmende Substanz regelmässig ein Spaltungsprodukt der Eiweissstoffe darstellt, wie das zu erwarten, wenn sie mit einer der durch Säure entstehenden Albumosen zusammenfiel.

Als leicht zugängliche Eiweisskörper, die auch in genügender Reinheit zu beschaffen waren, erwiesen sich Casein und Edestin.¹⁾ jenes thierischen, dieses pflanzlichen Ursprungs. Bei beiden ging die Albumosenbildung in verdünnter Säure nur recht langsam vor sich, zumal das Casein in verdünnten Säuren gar nicht, das Edestin nicht sehr löslich ist. Die entstandenen Albumosen, deren Reinigung und Charakterisirung nicht im Rahmen dieser Arbeit lag, waren schön ausschende weisse Körper.

Versuch IX.

200 g nach Hammarsten's Angaben dargestelltes, von Höchst bezogenes Präparat wurden mit 1 Liter 0,4%iger Salzsäure durch 4 Tage bei Bruttemperatur digerirt, der dabei entstandene, stellenweise von eingetretener Liebermann'scher Reaction violett verfärbte dickliche Brei in ca. 2 Liter Wasser aufgeschwemmt, bis zur schwach sauren Reaction abgestumpft und behufs Coagulation des ungespaltenen Restes durch 1½ Stunden auf dem Wasserbade gekocht. Die von dem bei der Neutralisirung sich abscheidenden Acidalbumin und vom ausgefallenen Coagulum abfiltrirte Flüssigkeit wurde bei neutraler Reaction auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Die Gesammtmenge, der so er-

1) Die negativen Resultate, die Chittenden, Mendel und Henderson in einem Falle mit dem Edestin schon erhalten haben ohne es weiter zu verfolgen, sind schon oben angeführt worden (S. 238)

haltenen Substanz betrug an 20 g. Eine Probe davon am Platinblech verascht hinterliess einen nur geringen anorganischen Rückstand. Das Präparat löste sich leicht in H_2O , die Lösung reagierte sauer und zeigte mit Ammonsulfat geprüft die Anwesenheit sämtlicher Albumosen-fractionen, besonders reichlich der durch Halbsättigung und der durch Ganzsättigung erhältlichen Antheile.¹⁾

15 g der Substanz wurden in ca. 50 ccm. Wasser gelöst, mit Soda schwach alkalisch gemacht und einem 7.5 kg schweren Hunde intravenös einverleibt.

Blutentnahme aus der a. femoralis	Zeitpunkt der Gerinnung	
	Eprouvette	Capillare
11 ⁰⁹ Normalprobe 11 ¹² -11 ¹⁶ intravenöse Injection in die v. femor.	11 ¹⁶	11 ¹⁴ bleibt geronnen
11 ¹⁸ schwache Narkose, starke Blutdrucksenkung	11 ³⁶	11 ³⁰ sofort nach der Gerinnung tritt Fibrinolyse ein ²⁾
11 ²⁴	11 ⁴¹	11 ⁴² später eintretende, schwächere Fibrinolyse als vorher
11 ³⁰	11 ⁴⁴	11 ⁴⁴ der gleiche Befund
11 ³⁹	11 ⁵¹	11 ⁴⁷ »
11 ⁴⁴	11 ⁵⁵	11 ⁵¹ »

Alle Fibrinolyse aufweisenden Proben bleiben tagelang gelöst. Hund am nächsten Morgen todt im Käfig aufgefunden.

Versuch X.

Säurespaltung des Edestins.

100 g krystallisirten Edestins wurden eine Woche hindurch bei Bruttemperatur mit 0.8%iger Salzsäure stehen gelassen und nach Ablauf dieser Zeit die Spaltungsprodukte in der von uns geübten Weise isolirt. Die Spaltung ging relativ langsam vor sich, und auch die Menge der erhaltenen Produkte war gering. Der grösste Theil des zur Spaltung angewandten Materials fiel als Acidalbumin aus oder blieb bei der nachfolgenden Coagulation zurück. Die nach dem Einengen auf dem Wasserbade erhaltenen Produkte stellten eine schön weiss gefärbte Masse dar. Die gesammte Ausbeute betrug ungefähr 10 g. Das Präparat löste sich mit schwach saurer Reaction leicht in Wasser, in concentrirter Lösung hinterliess es eine Trübung, die auch auf Zusatz von schwachem Alkali nicht völlig schwand. Die Lösung gab eine schöne Biuret- und Millon'sche

1) Vgl. F. Alexander, Diese Zeitschr., Bd. XXV, S. 411.

2) Dass das Caseinpräparat noch ein proteolytisches Ferment enthielt, konnte in besonderen Versuchen durch Autolyse in Kochsalzlösung gezeigt werden.

Reaction, liess sich fällen durch 95%igen Alkohol, verdünntes Kupfersulfat, sowie Essigsäure mit Ferrocyankalium. Die Reaction nach Molisch, sowie die Schwefelbleireaction blieben negativ. Gesättigte Ammonsulfatlösung erzeugte:

bei $\frac{1}{2}$ -Sättigung:	$\frac{2}{3}$ -Sättigung:	voller Sättigung der neutr. Lösung:	voller Sättigung der saur. Lösung:
massenhafte flockige Fällung	Opalescenz	Flocken	Trübung

Das albumosenfreie Filtrat zeigte Biuretreaction und gab mit Jodjodkalium, sowie mit Jodquecksilberjodkalium und Salzsäure Fällung. Es waren demnach bei der Säuredigestion sowohl verschiedene Albumosen wie auch Peptone entstanden.

Ein Hund von 3,2 kg erhält intravenös 4 g, gelöst in 12 ccm. mit Soda schwach alkalisch gemachten Wassers.

Es tritt weder Gerinnungsverzögerung noch Fibrinolyse auf. Auch andere Wirkungen der «Peptone» fehlen.

Nach 6 Tagen erhielt das Thier behufs Prüfung auf etwaige Peptonimmunität Wittepepton injicirt, worauf es in typischer Weise reagierte.

Aus den angeführten Versuchen geht übereinstimmend hervor, dass das aus reinem Material nach einwandfreier Methode dargestellte Albumosengemenge, obgleich im Wesentlichen nur die bisher als besonders wirksam angesehenen, durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbaren Spaltungsprodukte injicirt wurden, einen Einfluss auf die Blutgerinnung nicht zeigt.

IV.

Die durch Säure gebildeten Spaltungsprodukte verlieren ihre gerinnungshemmende Wirkung bei entsprechender Reinigung.

Wie oben hervorgehoben, wirken nach Kühne und Pollitzer alle durch Pepsinverdauung des Fibrins erhältlichen Produkte mit Ausnahme der Protalbumose und des Antipeptons gerinnungshemmend, nach Grosjean und Ledoux das durch Sättigung mit Ammonsulfat fällbare «Propepton», nicht aber das der Fällung dabei entgehende «Pepton».

Nachdem es dem einen von uns (Pick) gelungen war, durch Salzfractionirung und anschliessende Alkoholbehandlung die einzelnen Verdauungsprodukte schärfer als bisher zu trennen und zu charakterisiren, lag es nahe, die Wirksamkeit der gereinigten Produkte zu untersuchen.

Zunächst wurde untersucht, ob die Fällung mit Ammonsulfat allein zur Abtrennung gerinnungshemmender Fractionen führt.

Versuch XI.

a) Durch Ammonsulfathalbsättigung fällbare Fraction.

Dieselbe ist im Wesentlichen ein Gemenge von Proto- und Heteroalbumose. Sie wurde derart dargestellt, dass Wittepeptonlösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt und der gut abgepresste Niederschlag in Wasser gelöst zur Entfernung des Salzes der Dialyse unterworfen wurde. Die nach 5-tägiger Dialyse theilweise ausgefallene Heteroalbumose löste sich nach Zufügen von Kochsalz. Die Lösung war 3% ige.

Einem 10,7 kg schweren Hunde werden 2 Mal 50 ccm. dieser Lösung injicirt.

Die nach der ersten Injection entnommenen Blutproben blieben Stunden lang ungeronnen. Die zweite, 20 Minuten später ausgeführte Injection war ohne deutlichen Erfolg.

Versuch XII.

b) Filtrat der nach Zweidrittel-Ammonsulfatsättigung abgeschiedenen Produkte.

Diese Fraction enthielt mit Ausnahme der sogenannten «primären» Albumosen und der Albumosenfraction A alle übrigen im Wittepepton vorhandenen Produkte, also die schwerer aussalzbare Fraction B, die Albumose C, die Peptone und die nicht mehr Biuretreaction gebenden, im Wittepepton enthaltenen Körper. Die Darstellung des Präparates erfolgte derart, dass die mit doppeltem Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällte Wittepeptonlösung von dem entstandenen Niederschlage filtrirt und durch 4 Tage dialysirt wurde. Hierauf konnte der nach dem Eindampfen der dialysirten Flüssigkeit erhaltene Trockenrückstand in schwach alkalischer Lösung zur Injection verwendet werden.

Einem 7 kg schweren Hund wurden 3,5 g des Trockenrückstandes injicirt. Die nach der Beibringung entnommenen Blutproben waren noch am anderen Tag ungeronnen.

Versuch XIII.

c) Filtrat nach Ausfällung der Albumosen durch Sättigung der neutralen Lösung mit Ammonsulfat.

Die Darstellung der hier verwendeten Produkte erfolgte derart, dass von dem bei voller Sättigung der Wittepeptonlösung mittelst Eintragung von gepulvertem Ammonsulfat abgeschiedenen Albumosenkuchen abgegossen wurde und in der stark salzhaltigen Lösung die Hauptmenge des Ammonsulfats durch vorsichtiges Fällen mit Alkohol entfernt wurde. Die hierauf eingengte, noch immer etwas salzhaltige Lösung enthielt

nur die Albumose C, die Peptone und die nicht mehr Biuret gebenden Körper. Von diesen Produkten wurden 4 g in 4 ccm. bei schwach alkalischer Reaction gelöst und einer 8 kg schweren Hündin intravenös eingespritzt.

Die nach der Injection entnommenen Blutproben waren noch am anderen Tage ungeronnen.

Aus diesen Versuchen scheint im Gegensatz zu den älteren Angaben hervorzugehen, dass die Gerinnungshemmung nicht auf bestimmte Salzfraktionen beschränkt ist. X

Wir verzichteten daher auf die Weiterführung dieser Trennungsversuche und wändten uns der Combination der Salzfallung und Alkoholbehandlung zu, die dem einen von uns bei der Trennung der Proto- und Heteroalbumose besondere Dienste geleistet hatte.¹⁾

Versuch XIV. und XV.

Wirkung der Protoalbumose und Heteroalbumose.

Die Darstellung erfolgte in der von dem einen von uns beschriebenen Weise. Die Trennung der Protoalbumose von der Heteroalbumose wurde durch fünfständiges Erhitzen des Gemenges beider Albumosen mit dem gleichen Volumen 95° igeu Alkohols erzielt.

Protoalbumose.

2 g der trockenen Protoalbumose wurden in 50 ccm. 0.9° iger Kochsalzlösung gelöst und einem 6.5 kg schweren Hunde intravenös beigebracht. Es tritt Blutdrucksteigerung ein! Das Blut zeigt keine Veränderung seiner Gerinnbarkeit, auch keine Fibrinolyse. X

Eine 1/2 Stunde später vorgenommene Injection von Wittepepton ergibt Blutdrucksenkung auf die Hälfte der normalen Höhe, aber keine Fngerinnbarkeit des Blutes.

Versuch XVI.

Heteroalbumose.

Auch in diesem Fall war die Trennung der beiden durch Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbaren Albumosen mit kochendem Alkohol erzielt worden.

Ein 5 kg schwerer Hund erhielt 1.8 g der aschefreien, in verdünnter Sodalösung gelösten Substanz intravenös.

Der Blutdruck steigt um 40 mm an, Gerinnungsverzögerung trat nicht ein, ebensowenig Fibrinolyse.

¹⁾ Vgl. E. P. Pick. Zur Kenntniss der peptischen Spaltungsprodukte des Fibrins. Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 219, 1898.

Nachträgliche Injection von Wittepepton erzielt sehr starke Blutdrucksenkung, aber keine Gerinnungsverzögerung.

Versuch XVII.

Heteroalbumose.

Bei der Darstellung dieses sehr reinen Präparats hatte die zur Abtrennung der Protalbumose angewandte Behandlung mit Alkohol in der Kälte stattgefunden.

Einer 6,3 kg schweren Hündin wurden 3 g in 30 ccm. Sodalösung in die vena femoralis injicirt.

Der Blutdruck sinkt vorübergehend stark, erreicht aber bald die ursprüngliche Höhe. Eine Verzögerung der Gerinnung tritt nicht ein.

Nachträgliche Injection von Wittepepton ist ohne Wirkung.

Aus den mitgetheilten Versuchen ergibt sich der auffällige Widerspruch, dass reine Proto- und Heteroalbumose auf die Blutgerinnung ohne Wirkung sind, während sich das Gemenge der beiden, wie es in dem durch Halbsättigung mit Ammonsulfat erhältlichen Niederschlag vorliegt, sich als kräftig wirksam erwiesen hatte. Dadurch wird die Vermuthung wachgerufen, dass die bei der Reindarstellung der Proto- und Heteroalbumose benutzte Alkoholbehandlung das Verschwinden der Gerinnungswirkung bedingt.

Dies konnte in der That nachgewiesen werden: Es genügt eine mehr oder weniger intensive Behandlung des sonst so wirksamen Wittepeptons, also des gesammten Albumosengemenges mit Alkohol, um ihm die gerinnungswidrige Wirkung ganz oder doch zum grössten Theil zu nehmen.

Versuch XVIII.

Wirkung des Alkoholniederschlags aus Wittepepton.

Die Lösung von 200 g Wittepepton in 1500 ccm. H₂O wurde in einem grossen Kolben 5 Stunden lang unter Rückfluss mit dem gleichen Volumen 95%igen Alkohols gekocht. Nach dem Abkühlen wird der entstandene Niederschlag von der alkoholischen Lösung getrennt und beide für sich behandelt.

Wirkung des Niederschlags.

Der gut abgepresste Niederschlag wird in Sodalösung zur Injection verwandt. Derselbe enthält neben viel Heteroalbumose auch alle anderen bei verschiedener Ammonsulfatsättigung fällbaren Albumosen und Peptonfractionen.

4 g werden in 30 ccm. H₂O bei alkalischer Reaction gelöst und einem 9,250 kg schweren Hunde intravenös injicirt.

Es trat keine Aenderung der Gerinnbarkeit ein. Aber auch eine nachträglich vorgenommene Kontrollinjection von Wittepepton war ohne Wirkung.

Versuch XIX.

Wirkung des alkohollöslichen Antheils des Wittepeptons.

Die alkoholische Lösung wurde zur Trockene eingedampft, die spröden, leimartigen Massen fein pulverisirt und behufs Injection in schwach alkalische wässrige Lösung gebracht. Die Lösung enthält ausser Protalbumose reichlich alkohollösliche Antheile aller Albumosen- und Peptonfractionen.

Angewandte Menge: 5,2 g. gelöst in 50 ccm.; Gewicht des Hundes: 10,2 kg.

Blutentnahme aus der a. femor.	Zeit der Gerinnung in Eprouvetten	Capillaren	
12 ⁰⁶	12 ⁰⁹	12 ¹¹	
12 ⁰⁹ Injection, Blutdrucksenkung, Narkose			
12 ¹⁵	12 ²⁰	12 ¹⁹	} Fibrinolyse nach 1 Stunde
12 ¹⁹ Narkose vorbei, Blutdruck normal			
12 ²¹	12 ²⁷	12 ³¹	
	lockere Gerinnsel		
12 ³²	12 ³⁷	12 ³⁵	
12 ³⁸	12 ⁴⁰	12 ⁴²	

Versuch XX.

Wirkung des mit Alkohol gekochten Wittepeptons.

200 ccm. einer 10%igen Wittepeptonlösung wurden mit dem gleichen Volumen 95%igen Alkohols gefällt, ca. 10 Stunden lang auf dem kochenden Wasserbade unter Rückfluss erhitzt und hierauf die gesammte Flüssigkeit in offener Schaal auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft. Die Lösung des Trockenrückstandes reagirt neutral; dieselbe wird mit Soda schwach alkalisch gemacht und zur Injection verwandt.

Gewicht des Hundes beträgt 6½ kg. Injicirt wurden 2,5 g in 10 ccm. H₂O gelöst.

Blutentnahme aus der a. axillaris	Zeitpunkt der Gerinnung in der Eprouvette	Capillaren
12 ⁰⁵	12 ⁰⁷	
12 ⁰⁵ -12 ⁰⁷ Injection in d. v. axillar.		
12 ⁰⁹ Blutdruck stark gesunken. Narkose	12 ¹⁵ Auftreten einzelner Gerinnsel ¹⁾	12 ²⁷
12 ¹⁵	12 ²² „ „ „ „ „ 1)	
12 ²¹ Blutdruck normal	12 ²⁴ „ „ „ „ „ 1)	
12 ²⁵	12 ³⁰ „ „ „ „ „ 1)	
12 ³⁹	12 ⁴⁰ total geronnen	
12 ⁴⁵	12 ⁴⁶ „ „ „ „ „	

1) Die Blutproben blieben ihrer Hauptmenge nach ungeronnen.

Wir führen absichtlich diesen Versuch als Beispiel dafür an, dass die Alkoholbehandlung nicht in allen Fällen die gerinnungshemmende Wirkung ganz beseitigt. — Vermuthlich ist die Dauer des Erhitzens, namentlich aber die Reaction von besonderem Einfluss.

Wir haben darauf verzichtet, unsere zahlreichen, mühsamen und kostspieligen Versuche in dieser Richtung bis zur Ausarbeitung eines stets wirksamen Verfahrens fortzusetzen, einmal, weil das Wittepepton sich uns als ein Präparat von wechselnder Zusammensetzung ergab, und ferner, weil das gewünschte Ziel später in einfacher und zuverlässiger Weise mit anderem Material erreicht wurde.

Da die bisher vorgeführten Erfahrungen sämmtlich an Wittepepton, also einem mit Pepsinsalzsäure gewonnenen Produkte, gemacht waren, empfahl es sich, Versuche weiterhin mit Material anzustellen, das ausschliesslich durch Säurewirkung gewonnen war.

Dabei konnte den Bedingungen, unter denen der Alkohol die gerinnungshemmende Substanz bzw. ihre Vorstufe zerstört, näher nachgegangen werden.

Es wurde demgemäss geprüft, ob

1. Fibrin schon als solches durch Alkoholbehandlung so verändert wird, dass es mit Säure keine gerinnungshemmende Substanz mehr liefert, oder
2. ob die durch Säure aus Fibrin erhältlichen wirksamen Produkte erst durch Alkohol ihre Wirkung einbüssen, wobei wieder auf den Einfluss der Reaction Bedacht genommen werden konnte.

Versuch XXI.

Wirkung der Säureprodukte aus alkoholbehandeltem Fibrin.

$\frac{1}{2}$ kg gut gewaschenen, frischen Fibrins wurde abgepresst, mit etwa $1\frac{1}{2}$ Liter 95%igen Alkohols versetzt und im Kolben unter Rückfluss 24 Stunden hindurch auf dem Wasserbade gekocht, vom Alkohol durch sorgfältiges Abpressen befreit und mit 0,4%iger Salzsäure durch 2×24 Stunden bei 40° digerirt. Die Flüssigkeit wurde dann vom ungelösten Fibrin durch Coliren getrennt, die schwachsaure Lösung durch längeres Kochen auf dem Wasserbade coagulirt, neutralisirt und vom ausgeschiedenen Acidalbumin abfiltrirt. Nach Einengen des Filtrates bis

zur Trockene wurde die Lösung des Trockenrückstandes zur Injection verwendet. Dieselbe enthielt alle bei der Säurespaltung nachgewiesenen Albumosen und Peptone in reichlicher Menge.

42 ccm. einer alkalischen, 8 g der Trockensubstanz fassenden Lösung wurden einem 9,5 kg schweren Hunde injicirt.

Sofort trat Narkose, Blutdrucksenkung und Verlangsamung der Athmung ein. Die nach der Injection entnommenen Blutproben blieben tagelang ungeronnen.

Versuch XXII.

Ein Theil des im vorigen Versuch erhaltenen Trockenrückstandes wird in Wasser gelöst und die sauer reagirende Lösung mit etwas mehr als dem doppelten Volumen 95%igen Alkohols gefällt und das Ganze im Kolben unter Rückfluss 24 Stunden lang auf dem Wasserbade gekocht. Ein grosser Theil der Produkte geht in die alkoholische Lösung. Dieselbe wird auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung enthält neben Protoalbumose auch die übrigen durch Ammonsulfat schwer oder nicht fällbaren Spaltungsprodukte.

5 g dieser werden in 15 ccm. H_2O bei schwach alkalischer Reaction gelöst und einem 8 kg 300 g schweren Hunde in die vena femoralis eingespritzt.

Die unmittelbar nach der Injection entnommene Blutprobe gerinnt, zeigt aber nachträglich Fibrinolyse. Die weiteren im Laufe einer Viertelstunde entnommenen Blutproben blieben tagelang ungeronnen.

Versuch XXIII.

Fein zerhacktes Fibrin wird 24 Stunden in 95%igem Alkohol unter Rückfluss auf dem Wasserbade gekocht, hierauf durch mehrere Tage mit Verdauungssalzsäure im Brutschrank digerirt, die nach Coagulation und Abscheidung des Acidalbumins erhaltenen, sauer reagirenden Spaltungsprodukte in wässriger Lösung mit Soda deutlich alkalisch gemacht und nochmals nach Zusatz des doppelten Volums 95%igen Alkohols durch 24 Stunden auf dem Wasserbade unter Rückfluss gekocht. Sowohl der Trockenrückstand der in Alkohol gelösten Produkte als auch der in Alkohol unlösliche Theil werden vereinigt und in Wasser gelöst. Die Lösung reagirt alkalisch. Ein Theil der Produkte bleibt auch bei alkalischer Reaction wasserunlöslich (Dysalbumose, die sich beim Kochen mit Alkohol reichlich gebildet hatte). Die wasserlöslichen Produkte gaben neben intensiver Biuret-, Millon's- und Molisch's-Reaction auch eine sehr starke Schwefelbleiprobe. Durch Aussalzen mit gesättigter Ammonsulfatlösung erhält man bei Zusatz des gleichen Volumens eine starke flockige Fällung, bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung und bei voller Sättigung der neutralen Lösung Trübung, und bei Sättigung der sauren Lösung Opalescenz. Das albumosenfreie Filtrat enthielt Peptone, die sich mit Jodquecksilberkalium und HCl fällen liessen.

Zu dem nachfolgenden Versuch wurden 2,8 g der wasserlöslichen Substanz verwendet. Dieselben, in 22 ccm. H₂O bei alkalischer Reaction gelöst, wurden einem 5 kg 200 g schweren Hunde in die vena femoralis injicirt.

Das Resultat war negativ: Es fehlte Narkose und Blutdrucksenkung. Die Gerinnungszeit des Blutes schien eher verkürzt. Auch Fibrinolyse fehlte. Aber auch eine 40 Minuten später ausgeführte Kontrollinjection von Wittepepton liess eine Blutwirkung vermissen.

Aus diesem und weiteren im gleichen Sinn ausgefallenen Versuchen lässt sich schliessen:

1. dass die gerinnungshemmende Substanz durch Alkohol in schwach alkalischer, nicht aber in saurer Lösung zerstört wird;
2. dass die gerinnungshemmende Substanz im Rohfibrin nicht präformirt sein dürfte, da sie trotz intensiver Alkoholbehandlung des Rohfibrins aus diesem nachträglich durch Säurebehandlung noch freigemacht werden kann.

Dies führt zu dem Wahrscheinlichkeitsschluss, dass das Rohfibrin nur eine Vorstufe des gerinnungshemmenden Körpers enthält, welche gegen Alkohol sehr resistent ist.

Diesen Schluss näher zu prüfen wird dadurch erschwert, dass weder das leicht veränderliche Fibrinogen, noch Fibrin selbst in irgend einer die Intactheit des Eiweisskörpers gewährleistenden Form in die Blutbahn gebracht werden kann. Ein Versuch mit Acidalbumin, das aus Fibrin bereitet war, hatte ein negatives Ergebniss.

Versuch XXIV.

Bei der Digestion mit Verdauungssalzsäure in Lösung gegangenes Fibrin wurde mit verdünnter Sodalösung neutralisirt und ein Theil des dabei ausgefallenen massenhaften Niederschlages in verdünnter Natronlauge gelöst. Trotzdem das verwandte Fibrin möglichst gründlich ausgewaschen worden war, ist dabei immer mit einer Verunreinigung von Körpern zu rechnen, die aus dem Blute bei der Gerinnung in das Fibrinmaschenwerk mit eingeschlossen wurden. Es dürfte demnach auch das von uns erhaltene Acidalbumin noch andere Bestandtheile des Blutes, insbesondere Globuline des Serums mit enthalten. Die durch Natronlauge in Lösung gebrachte Menge des Acidalbumins liess sich nicht genau bestimmen und kann nur schätzungsweise auf 1,5—2 g Trockengewicht angegeben werden.

Der zum nachfolgenden Versuch verwendete Hund wog 4 kg 200 g. Die Injection hatte keinen Einfluss auf die Gerinnungszeit, und Fibrinolyse trat nicht ein.

Auch eine zur Kontrolle ausgeführte Injection von Wittepepton war ohne Einfluss auf die Blutgerinnung, doch trat Fibrinolyse auf.

Fasst man die Ergebnisse dieser Versuchsreihe ins Auge, so kommt man zu dem Schluss, dass die dem Wittepepton und den durch Säureeinwirkung erhaltenen Produkten des Rohfibrins zukommende Wirkung nicht den in diesen Gemengen enthaltenen typischen Albumosen und Peptonen zuzuschreiben ist, sondern einer diesen anhaftenden, leicht durch Alkohol zerstörbaren Beimengung.

Damit soll natürlich vorläufig nicht gesagt sein, dass der Stoff sicher nicht albumosenartiger Natur ist, da wir über seine chemische Beschaffenheit gar nichts auszusagen in der Lage sind und somit den Vermuthungen der freieste Spielraum offen steht.

Die Blutwirkung ist nur eine einzelne unter den mannigfachen oben erwähnten toxischen Wirkungen des Wittepeptons und der Säureprodukte des Fibrins überhaupt: das ausserordentlich mannigfaltige Vergiftungsbild nach Peptoninjection — Ungerinnbarkeit des Blutes, Lymphorrhöe, Aenderung im Trockengehalt von Blut und Lymphe, Blutdrucksenkung, Verminderung der Blutalkalescenz, Verschwinden der Leucocyten aus dem circulirenden Blute, Anurie, tiefe Narkose und endlich profuse Gallensecretion — lassen es nicht unwahrscheinlich erscheinen, dass es sich um eine Summation der Vergiftungsbilder mehrerer wirksamer Agentien handelt.

Durch Versuche zu entscheiden, ob die einzelnen Symptome der « Peptonwirkung » bestimmten Agentien zuzuschreiben seien, und die Natur dieser Agentien festzustellen, lag vorläufig ausserhalb unseres Versuchsplanes. Doch möchten wir an dieser Stelle einige einschlägige Beobachtungen anführen.

I. Einfluss der Peptoninjection auf die Blutalkalescenz.

Ueber diesen Punkt besteht eine recht umfangreiche, übrigens in ihren Resultaten sich mannigfach widersprechende

Litteratur, auf die an dieser Stelle nicht des Genaueren eingegangen werden soll. Zahlreiche Versuche, die Herr Dr. W. Pemsel und der eine von uns mit einer Methode gemacht haben, die im Uebrigen bei Kontrollbestimmungen gut übereinstimmende Werthe ergab, führten bei Anwendung verschiedener Wittepeptonpräparate zu wechselnden Resultaten. Bei Anwendung gereinigter Präparate jedoch erhielten wir scharf mit einander übereinstimmende Zahlen, die an anderer Stelle dargelegt werden sollen, und die in dem Umfang, als die angewandte Methodik Alkalescenzdifferenzen anzugeben im Stande ist, zeigt, dass nach Injection reiner Proto- und Heteroalbumose die sonst beobachtete Blutalkalescenzverminderung nicht eintritt.

II. Einwirkung auf die Lymphbildung.

Versuch XXV.

Einem 20 kg schweren Hunde wird nach der Heidenhain'schen Methode in tiefer Narkose eine Lymphfistel am ductus thoracicus angelegt, die normaler Weise abgeschiedene Lymphmenge in der üblichen Weise in Zwischenräumen von 5 Minuten bestimmt und nach Injection der alkohollöslichen Produkte die Lymphmenge in analoger Weise wieder gemessen.

Vor der Injection betrug die Lymphmenge in 35 Minuten 37,5 ccm.; nach der Injection von 10 g des alkohollöslichen Antheils von Wittepepton in 50 ccm. alkalischer Lösung 62,4 ccm. in 56 Minuten.

Es hatte somit eine Vermehrung des Lymphflusses nicht stattgefunden.

Nach den angeführten Versuchen scheint die Alkoholbehandlung dem «Pepton»-Gemenge neben der Wirkung auf die Blutgerinnung auch jene auf die Lymphbildung und auf die Blutalkalescenz zu nehmen. Aus den früher angeführten, am Kymographion angestellten Versuchen scheint das Gleiche auch für den Blutdruck, und ebenso auch für die Narkose zu gelten.

Hervorgehoben sei ferner noch die beachtenswerthe Thatsache, dass in einer Reihe von Versuchen (z. B. XIV, XV, XVI, XVII, XVIII), wo die Versuchshunde mit Alkohol behandelte Albumosen injicirt erhielten, die hinterher ausgeführte Injection von Wittepepton in Betreff der Gerinnungswirkung

durchaus erfolglos war. Da von Haus aus peptonimmune Thiere bei geeigneter Vorbehandlung durchaus selten sind, wie ich mich in den letzten Jahren an einem weit über 100 Thiere umfassenden Material überzeugt habe, so kann dieses Vorkommniss, das die Kontrollprüfung zum Theil vereitelte, nur so gedeutet werden, dass die Injection der an sich unwirksamen Präparate doch genügte, die Thiere gegen wirksames Pepton immun zu machen; hierfür bringen andere noch anzuführende Versuche weiteres Material bei.

V.

Ueber Vorkommen und Eigenschaften von gerinnungshemmenden Stoffen in den Geweben.

Wie aus der Eingangs gegebenen Uebersicht hervorgeht, hat man sich bisher bei Aufsuchung der gerinnungshemmenden Substanz unter den Spaltungsprodukten von Rohfibrin, Eiereiweiss u. s. w. fast ausschliesslich der fermentativen Spaltung (vorwiegend mit Pepsin, selten mit Trypsin und Pepsin) bedient. Da nun die angewandten Fermentpräparate in sich selbst die Vorstufe der gerinnungshemmenden Substanz beherbergen können (man vergleiche weiter unten die Erfahrungen über Säuredigestion der Magenschleimhaut), so sind, wie schon angedeutet wurde, die damit gewonnenen Erfahrungen nicht unzweideutig.

Diesem Vorwurfe ist die von uns angewandte Digestion mit verdünnter (Verdauungs-) Salzsäure (ohne Pepsinzusatz) nicht ausgesetzt. Sie bietet daher ein treffliches Mittel, der Herkunft des im Fibrin enthaltenen gerinnungshemmenden Agens, bezw. seiner zymogenähnlichen Vorstufe, nachzuspüren. Denn die Vermuthung, dass diese Substanz nicht im Blute entsteht, sondern ihm von den Geweben zugeführt wird, liegt äusserst nahe.

Wir haben daher eine Reihe von Organen in dieser Richtung untersucht:

Als Material benutzten wir dabei die leicht erhältlichen Organe vom Rind oder Schwein, wie sie vom Schlachthaus bezogen werden.

Ein vollkommen negatives Resultat lieferten Thymus,

Hoden, Nebennieren und Milz, Submaxillarisdrüse, Lymphdrüsen und Oesophagusschleimhaut. Obgleich, wie die folgenden Ausführungen zeigen, die erhaltenen Präparate besonders reich an (primären) Albumosen und Peptonen waren, so trat bei ihrer Injection doch keine oder nur eine verschwindende Wirkung ein.

Versuch XXVI.

Stierhoden.

2 frische Stierhoden werden zerkleinert und der Säuredigestion durch 12 Stunden ausgesetzt, die Digestionsflüssigkeit nach Entfernung des coagulablen Eiweisses und des beim Neutralisiren ausgefallten Acidalbumins bei neutraler Reaction auf dem Wasserbade eingedampft. Die so erhaltenen Produkte gaben neben einer schönen Biuret- und Molisch'schen Probe eine besonders intensive Millon'sche Reaction und starke Dunkelfärbung beim Kochen mit Bleiacetat und Natronlauge. Mittelst Aussalzung durch Ammonsulfat waren neben sehr reichlich vorhandenen sogenannten primären Albumosen und bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung und voller Sättigung der neutralen und sauren Lösung ausfällbaren « secundären » Albumosen ebenfalls Peptone nachweisbar.

4 g der Säureprodukte des Hodens werden in 17 ccm. einer etwas alkalischen Lösung einer 8 kg schweren Hündin beigebracht. Es tritt weder Narkose noch Blutdrucksenkung ein, das Blut zeigt dauernd die gewöhnlichen Gerinnungsverhältnisse. Auch Fibrinolyse fehlt.

Das Thier war, wie eine vor einer Woche vorgenommene Peptoninjection gelehrt hatte, nicht peptonimmun.

Versuch XXVII.

Thymus.

1 Stück Kalbsthymus wird mit der Hackmaschine fein zerkleinert und bei Bruttemperatur über Nacht der Säuredigestion unterworfen. Morgens wird dieselbe unterbrochen und die Flüssigkeit in der gewöhnlichen Weise behandelt. Man erhält eine relativ bedeutende Menge von Spaltungsprodukten, die sich grösstentheils mit saurer Reaction in Wasser glatt lösen; die Lösung gibt intensive Biuretreaction, ebenso die nach Millon und Molisch, enthält mit Blei in alkalischer Lösung abspaltbaren Schwefel und neben reichlichen Mengen aller mit Ammonsulfat fällbaren Fractionen auch mit Jodjodkalium und Jodquecksilberkalium mit HCl fällbare Peptone. Diese Produkte, mit Soda schwach alkalisch gemacht, wurden zum nachfolgenden Versuch verwandt: Ein Hund vom Gewichte 5 kg 200 g, der durch eine mehrere Tage vorausgehende Wittepeptoninjection als nicht natürlich-immun erkannt worden war, erhielt intravenös 25 g obiger Produkte in 15 ccm. fassender, alkalischer Lösung.

Narkose und Blutdrucksenkung. Blutgerinnbarkeit bleibt normal. Fibrinolyse fehlt.

Versuch XXVIII.

Nebennieren.

50 Stück gut zerhackter Rindsnebennieren wurden 2×24 Stunden der Säuredigestion unterworfen und dann in üblicher Weise aus der Digestionsflüssigkeit die Spaltungsprodukte isolirt, die nach der oben angewandten Spaltungsdauer bereits in erheblicher Menge gebildet waren. Dieselben stellten nach dem Eindampfen eine dunkelbraune, syrupöse Masse dar, deren wässrige Lösung sauer reagierte. Millons-, Molisch's- Reaction gab und beim Kochen mit alkalischem Bleiacetat sich braun färbte und schwarzen Bodensatz von ausgeschiedenem Schwefelblei lieferte. Die rothviolette Farbe der Biuretreaction wurde durch die Gelbbraunfärbung der Lösung verdeckt. Mittelst Ammonsulfat liessen sich durch Halbsättigung fällbare Albumosen nachweisen, ebenso trat bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung der Lösung reichliche flockige Fällung auf. Sättigung der neutralen Lösung schied spärliche Flocken ab und trübte die Flüssigkeit; Säurezusatz erzeugte Opalescenz. In dem albumosenfreien Filtrate fanden sich reichlich Peptone, wie aus der angestellten Biuretreaction und der dichten Trübung nach Zusatz von Jodquecksilberkalium mit HCl hervorging. Die Lösung färbte sich auf Zusatz von Eisenchlorid schön grün; die Grünfärbung schlug nach Hinzufügen von 2 Tropfen einer Sodalösung in ein prachtvolles Rothviolett um. Es war also auch die durch diese Reactionen charakterisirte blutdrucksteigernde Nebennierensubstanz vorhanden.

Ueber 2 g des obigen Syrups wurden in 10 cem. H_2O gelöst, die Lösung schwach alkalisch gemacht und einem 3 kg schweren Hunde, der sich bereits früher auf Albumoseninjection empfindlich erwiesen hatte, intravenös injicirt.

Nach 4 Minuten Herzstillstand. Das inzwischen aus der Carotis entnommene Blut zeigt weder Verminderung der Gerinnbarkeit, noch Fibrinolyse. Die sogleich vorgenommene Eröffnung des Brustkorbs liess weder im rechten Herzen noch in den grossen Gefässstämmen Gerinnsel erkennen.

Ob die sonst bei keinem der untersuchten Produkte angetroffene letale Giftwirkung, wie zu vermuten, auf das in der Lösung nachweisbare «Suprarenin», bei dessen Einführung in grosser Menge in die Blutbahn v. Fürth¹⁾ schwere Vergiftungserscheinungen beobachtete, oder auf die Wirkung von Säurespaltungsprodukten zurückzuführen ist, ist bei der Unmöglichkeit, nachträglich die Menge des injicirten Suprarenins abzuschätzen, nicht sicher zu entscheiden.

Versuch XXIX.

Submaxillaris.

2 Stück der Unterkieferspeicheldrüsen des Rindes wurden fein zerhackt, mehrere Tage mit 0.4%iger HCl bei Bruttetemperatur digerirt.

1) Vgl. diese Zeitschrift. Bd. XXIX, S. 105, 1899.

der in Lösung gegangene Theil mittelst Colirens vom unzersetzten getrennt, die schwach saure Flüssigkeit aufgeköcht, neutralisirt, vom ausgefallenen Eiweisscoagulum und Acidalbumin filtrirt und auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft. Die so erhaltenen Produkte bestanden zum allergrössten Theil aus Albumosen, zum kleinsten aus Peptonen und höheren Spaltungsprodukten und gaben Biuretreaction, Millon's Reaction. Reaction nach Molisch (schön violett) und schwache Braunfärbung nach Kochen mit Bleiacetat in alkalischer Lösung. Durch Ammonsulfat liessen sich bei halber, $\frac{2}{3}$ und voller Sättigung der neutralen Lösung reichliche Albumosenniederschläge erhalten. Die albumosenfreie Lösung gab Biuretreaction und milchige Trübung nach Zusatz von Jodquecksilberkalium mit HCl.

Von diesen Produkten wurden 4,5 g in 10 cem. betragender wässriger, schwach alkalischer Lösung intravenös injicirt. Gewicht des Hundes betrug $6\frac{1}{2}$ kg.

Es trat weder Verzögerung der Blutgerinnung noch sonst ein Vergiftungssymptom auf.

Eine nachträglich vorgenommene Injection von Wittepepton lehrte, dass das Thier nicht peptonimmun war.

Versuch XXX.

Lymphdrüsen.

Halslymphdrüsen des Rindes, in üblicher Weise vorbehandelt, wurden durch einige Tage der Säuredigestion unterworfen und die Digestionsflüssigkeit wie früher bearbeitet. Die schliesslich erhaltenen Produkte gaben eine positive Millon'sche- und Biuretreaction und eine deutliche Reaction nach Molisch; der Ausfall der Schwefelbleiprobe blieb zweifelhaft. Durch Salzzusatz wurden Albumosen bei halber, $\frac{2}{3}$ wie auch bei voller Sättigung der neutralen Lösung mit Ammonsulfat in dichten Fällungen ausgeschieden. Säurezusatz erzeugte in der salzgesättigten Lösung eine Opalescenz. Das albumosenfreie Filtrat enthielt Körper, die mit Jodquecksilberkalium und Salzsäure zu fällen waren und Biuretreaction zeigten.

$4\frac{1}{2}$ kg schwerer Hund. Die zur Injection verwandte Menge betrug 5 g in 12,5 cem. H₂O. Die Lösung reagirte schwach alkalisch.

Der Injection folgt rasch vorübergehende, tiefe Narkose bei unverändertem Blutdruck. Die Gerinnbarkeit des Blutes bleibt unverändert.

Eine nachträglich vorgenommene Einspritzung von Wittepepton ergibt die typische Wirkung.

Versuch XXXI.

Oesophagusschleimhaut.

Die von der Muscularis abgelöste Schleimhaut der Speiseröhre des Rindes wurde nach vorhergegangener Reinigung fein zerhackt, eine Woche lang der Säuredigestion im Brutschrank ausgesetzt und in üblicher

Weise weiter behandelt. Die erhaltenen, vom coagulablen Eiweiss und Acidalbumin befreiten Produkte lösten sich zum grössten Theil leicht in Wasser; die in Wasser gelösten Körper waren durch Biuret-, Millon's und Molisch's Reaction characterisirt und gaben auch eine schwache Schwefelbleireaction in alkalischer Lösung. Mittelt Ammonsulfats erhielt man bei $\frac{1}{2}$ -Sättigung der neutralen Lösung massenhafte Fällung; bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung Opalescenz und bei voller Sättigung wiederum reiche flockige Abscheidung. Säurezusatz zur gesättigten, neutralen Lösung erzeugte eine kaum merkliche Opalescenz. Die durch Ammonsulfatsättigung von Albumosen befreite Lösung gab eine nur schwache Biuretreaction, reichliche Abscheidung auf Zusatz von Jodquecksilberkalium mit HCl, enthielt also noch weitere Produkte der Säurespaltung.

Hund, 41½ Kilo schwer; 2,5 g in 10 ccm. Wasser gelöst und mit Soda schwach alkalisch gemacht gelangten zur Injection.

Weder Narkose noch Blutdruckwirkung. Die Blutgerinnbarkeit ändert sich nicht. Eine $\frac{1}{2}$ Stunde später vorgenommene Einspritzung von Wittepepton gibt typische Wirkung.

Diesen negativen Ergebnissen stehen die mit Magen-, Dünndarm-, Dickdarm-Schleimhaut und mit Pankreas erhaltenen positiven Befunde gegenüber.

Versuch XXXII.

Magenschleimhaut.

Die Schleimhaut zweier Schweinemägen wurde von der Muskelschicht abpräparirt, fein zerhackt und durch 3 Tage im Brutschrank in 1 Liter 4%iger HCl digerirt. Die Lösung, in gewöhnlicher Weise behandelt, lieferte reichlich Spaltungsprodukte von nachfolgendem Verhalten: Sie waren leicht löslich in Wasser, gaben intensive Biuret-, Millon's und Molisch's Reaction und enthielten reichlich mit alkalischem Blei in der Wärme abspaltbaren Schwefel. Die fractionirte Fällung mit Ammonsulfat ergab auf Zusatz von

gleichem Volumen	Doppeltem Volumen	bei Sättigung	bei Sättigung
gesätt. Lösung	gesätt. Lösung	d. neutr. Lösung	d. saur. Lösung
Opalescenz	starke Opalescenz	massenhafte	Opalescenz
		flockige Fällung	

Das Filtrat nach Abscheidung der Albumosen gab eine schöne Biuretreaction und Fällung bei Zusatz von Jodquecksilberkalium mit Salzsäure.

Von diesem vorliegenden Albumosenpeptongemenge wurden 24 ccm. einer schwach alkalischen, 5 g Trockensubstanz enthaltenden Lösung einem 8250 g schweren Hunde intravenös beigebracht.

Blutentnahme aus der a. femoralis	Zeitpunkt der Gerinnung Eprouvette Capillare	
	10 ⁰⁷	10 ⁰⁸ 10 ⁰⁸
Normalprobe		
10 ⁰⁹ —10 ¹¹ Injection in die v. femoralis		
10 ¹²	10 ¹⁸ später Fibrinolyse	
10 ¹⁷	} Blut stark viscos, bleibt tagelang ungeronnen } tiefe Narkose	
10 ²²		
10 ²⁶	bleibt durch 2 nachfolgende Tage ungeronnen	
10 ³¹	am zweitnächsten Tage erst geronnen	
	der gleiche Befund.	

Hund nach Beendigung des Versuches somnolent, erholt sich auch später nicht und wird um 2 Uhr todt im Käfig aufgefunden.

Versuch XXXIII.

Dünndarmschleimhaut.

Die sorgfältig gewaschene Dünndarmschleimhaut des Rinderdarmes gelangte in gleicher Weise wie die Dickdarmschleimhaut zur Verarbeitung. Auch hier betrug die Digestionsdauer 4 Wochen. Die am Schlusse erhaltenen Spaltungsprodukte gaben eine schöne Biuretreaction, keine Reaction nach Millon und Molisch. Durch Ammonsulfat war bei den verschiedenen Sättigungsgraden nur eine Opalescenz der Lösung zu bewirken. Das saure, salzgesättigte Filtrat gab Biuretreaction und Fällung auf Zusatz von Jodquecksilberkalium mit Salzsäure. Gewicht des Hundes: 4¹/₂ kg. Die injicirte Menge betrug 1 g gelöst in 5 cem H₂O.

Blutentnahme a. d. a. femor.	Zeitpunkt der Gerinnung in d. Eprouvette Capillare	
	11 ⁵⁷	11 ⁵⁸ 11 ⁵⁸
Normalprobe		
12 ⁰² Injection in die v. femor.		
Im Moment der In- jection clonisch-tonische Krämpfe		
12 ⁰³	Blutdruck normal. Narkose	12 ²⁶ nachträglich Fibrinolyse
12 ⁰⁹	} alle Proben } bleiben } ungeronnen } 1 ³³	} Die Proben } wurden } 1 ³⁰ geronnen } vorgefunden
12 ¹⁷		
12 ²⁷		
12 ³⁵		

Versuch XXXIV.

Dickdarmschleimhaut.

Gründlich ausgewaschene Dickdarmschleimhaut wurde von der Muscularis abgeschabt, fein zerhackt und der Säuredigestion bei Bruttemperatur unterworfen. Die Digestionsdauer betrug 4 Wochen. Nach

dieser Zeit waren nur Spuren coagulablen Eiweisses in der Lösung zurückgeblieben, der grösste Theil derselben war weiter gespalten worden. Die Flüssigkeit wurde bei schwach saurer Reaction aufgeköcht, neutralisirt, von dem spärlichen Niederschlag filtrirt und auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft. Der Trockenrückstand löste sich bis auf einen geringen Rest glatt in Wasser. Die wässrige Lösung verhielt sich folgendermaassen: Bei Anstellung der Biuretreaction erfolgte auf Zusatz von verdünntem Kupfersulfat Fällung, die sich bei Laugenzusatz löste; die Lösung zeigte einen schwachen rothbraunen Farbenton. Millon's Reagens erzeugte eine Trübung und schwache flockige Fällung. Die Flocken färben sich selbst bei langem Kochen nur leicht braun; die Lösung selbst bleibt gelb gefärbt. Auch die Reaction nach Molisch bleibt negativ. Die Schwefelbleiprobe ergibt eine leichte Braunfärbung der Lösung. Bei Salzfällung durch Ammonsulfat erhielt man bei

Halbsättigung	$\frac{2}{3}$ -Sättigung	Ganzsättigung
Opalescenz	Opalescenz	spärliche, flockige Abscheidung

Das saure salzgesättigte Filtrat gab keine Biuretreaction, dagegen Fällung auf Zusatz von Jodquecksilberkalium.

Aus diesen Reactionen ergibt sich, dass der grösste Theil der Spaltungsprodukte weder den Albumosen noch den Peptonen zuzurechnen ist, sondern in die Gruppe der nicht mehr die Biuretreaction gebenden Körper¹⁾ fällt. Sowohl Albumosen, wie auch Peptone waren einwandfrei nur in der geringsten Menge, wenn überhaupt nachweisbar.

Gewicht des Hundes: 4 $\frac{1}{2}$ kg. 2 g der Trockensubstanz in 10 cem. gelöst wurden zur Injection verwandt.

Blutentnahme		Zeitpunkt der Gerinnung
a. d. a. femor.		Eprouvette Capillare
11 ⁴⁵		11 ⁴⁷ 11 ⁴⁷
	11 ⁵³ Injection in d. vena femor.	
11 ⁵⁷	tiefe Narkose. Blutdruck unverändert	} alle Blutproben bleiben bis zur ein- getretenen Fäulniss ungeronnen.
12 ⁰⁵		
12 ¹¹		
12 ²⁰		

Versuch XXXV.

Pancreas.

2 Stück Rinderpancreas werden gut zerhackt und durch 24 Stunden mit 0,4% iger Salzsäure bei 40° stehen gelassen, hierauf die Lösung abcolirt, filtrirt, durch Aufkochen coagulirt, das Filtrat genau neutralisirt und auf

¹⁾ S. E. Zunz, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXVIII, S. 132.

dem Wasserbade eingedampft. Das so in reichlicher Menge gewonnene, etwas hygroskopische Produkt war leicht in Wasser löslich, die Lösung reagierte sauer, gab eine schöne Biuret- und Millon'sche Reaction, intensiv violett gefärbte Probe nach Molisch und mit verdünntem Bromwasser Fällung und Violettfärbung, beim Kochen mit Bleiacetat und Natronlauge starke Schwefelblei-Abscheidung. Gesättigte Ammonsulfatlösung erzeugte bei Zusatz von

gleichem Vol.	doppeltem Vol.	bei voller Sättg.	bei voller Sättg.
Trübung	Trübung	der neutr. Lösung	der saur. Lösung
		flockige Fällung	deutl. feinfl. Niederschl.

Das Filtrat nach Ausfällung der Albumosen gab Biuretreaction und trübte sich nach Jodquecksilberkalium und Säurezusatz. Es waren also reichlich Albumosen und Pepton vorhanden. Von diesem Produkte wurden 7.5 g in 25 ccm. gelöst zum nachfolgenden Versuch verwandt:

Intravenöse Injection beim Hunde.

Gewicht des Thieres 9 kg.

Blutentnahme a. d. a. femor.		Zeitpunkt der Gerinnung	
		Eprouvette	Capillare
447		452	452
	Normalprobe		
	448—450 Inject. in d. v. femor.		
451		500	500 (weiches Gerinnsel, später tritt Fibrinolyse auf.)
454	Narkose. Athmung langsam und tief	(bleibt durch 2 nachfolg. Tage ungeronnen.	
500		(bleibt den nächstfolg. Tag ungeronnen.	
506		der gleiche Befund	
511		" " "	
517		(am nächsten Tag geronnen vorgefunden.	

Die vorgeführten Versuche genügen, um zu zeigen, dass gerinnungshemmende Stoffe, bezw. ihre Vorstufen bei den höheren Wirbelthieren nicht bloss im Blute vorkommen, sondern eine grosse Verbreitung besitzen. Eine bestimmte Beziehung dieses Vorkommens zu den einzelnen Organen lässt sich daraus vorläufig nicht mit Sicherheit entnehmen.

Es macht zwar den Eindruck, dass die Drüsen des Verdauungstractus einschliesslich der demselben zugehörigen grossen Drüsen besonders reich an Vorstufen des gerinnungshemmenden Stoffes sind, doch bildet die Unterkieferspeichel-

drüse und, wie weiter noch erörtert werden soll, die Leber eine Ausnahme.

Hingegen sieht man deutlich, dass dort, wo die Gerinnungswirkung sich nachweisen lässt, auch die anderen typischen Symptome der Pepton-Vergiftung nicht fehlen. Insbesondere ist die hohe Giftigkeit des aus Magenmucosa dargestellten Präparates bemerkenswerth.

Weiter geht aber aus diesen Versuchen hervor, dass die gerinnungshemmende und toxische Wirkung dem Gehalt an Albumosen und Pepton ganz und gar nicht parallel geht. So war die bei wochenlanger Digestion der Darmschleimhaut mit Salzsäure erhaltene, stark wirksame Lösung fast vollkommen frei von Albumosen und Peptonen. Die Spuren, die von diesen beiden Körperklassen nach den Fällungs- und Farbenreactionen noch anwesend waren, können jedenfalls nicht als Ursache der Gerinnungshemmung angesehen werden, so dass auch durch diese Versuche gezeigt ist, dass nicht den Verdauungsprodukten als solchen eine gerinnungshemmende Wirkung zukommt, sondern einer beigemengten, möglicher Weise in sehr kleiner Menge vorhandenen, aber sehr wirksamen Substanz.

Dies geht auch aus einem Befunde hervor, den hier mitzuthellen uns Herr Dr. Conradi gestattet hat. Presssäfte mancher ganz frischen Organe bewirken bei intravenöser Einspritzung sehr ausgesprochene Verzögerung der Blutgerinnung. Nun sind aber erfahrungsgemäss frische Gewebe (vom Verdauungsschlauch und Pankreas abgesehen) frei von typischen Albumosen und Peptonen: es kann sich somit auch hier nur um eine anderweitige, specifisch in dieser Richtung wirksame Substanz handeln.

Fasst man die bisher vorgeführten Thatsachen kurz zusammen, so ergibt sich:

1. Es gelingt durch Eiweisspaltung (z. B. durch Trypsin, Autolyse, Alkali, bei Casein und Edestin auch durch Säure) typische Albumosen und Peptone zu erhalten, welche ins Blut injicirt jeden Einfluss auf den Blutdruck vermissen lassen. Aber auch die durch Säure oder Pepsin und Säure dargestellten,

typisch wirksamen Produkte verlieren durch eine wenig eingreifende Reinigung (Behandlung mit Alkohol) ohne Einbusse ihres chemischen Charakters diese Wirksamkeit.

2. Es gelingt, Präparate zu erhalten, welche die gerinnungshemmende Wirkung in ausgesprochenem Maasse und ausgezeichneter Weise entfalten, dabei aber nur Spuren von Albumosen und Peptonen (z. B. Dickdarmschleimhaut) oder gar keine enthalten (Presssäfte frischer Organe).

Oder kurz in der hier meist üblichen Redeweise:

Es gibt Peptone ohne Peptonwirkung und Peptonwirkung ohne Peptone.

Unter diesen Verhältnissen ist es behufs Vermeidung von Irrthümern nothwendig, von der üblichen Bezeichnungsweise abzugehen. Ohne über die Natur dieser ausserordentlich wirksamen Substanz etwas Näheres aussagen zu wollen, möchten wir der Kürze halber einen Namen für dieselbe wählen, und da über ihre chemische Natur bis jetzt etwas auszusagen unmöglich ist, scheint uns zur vorläufigen Bezeichnung ein Name am geeignetsten, der an die Geschichte der Substanz anklingt: die uns von Herrn Prof. Hofmeister vorgeschlagene Bezeichnung Peptozym. Dass mit diesem Namen auch über die Einheitlichkeit der supponirten Substanz, bezw. die Identität der aus verschiedenem Material erhaltenen, nichts ausgesagt sein soll, braucht kaum besonders betont zu werden. Die Muttersubstanzen, aus welchen das Peptozym des Fibrins, der Leber etc. erhalten werden kann, dürften dann vorläufig als Peptozymogene bezeichnet werden können.

Ueber die allgemeinen Eigenschaften des Peptozyms gestatten die bisherigen Versuche immerhin Einiges auszusagen, dabei haben wir vor Allem das am genauesten untersuchte Peptozym des Fibrins im Auge.

Charakterisirt ist es durch die Fähigkeit, bei intravenöser Injection das Blut des Hundes ungerinnbar zu machen (indirekte Gerinnungshemmung), während es dem aus der Ader gelassenen Blut beigemischt ohne Wirkung ist.

Es ist selbst gegen lang dauernde Einwirkung von schwachen Mineralsäuren resistent, ebenso auch gegen Er-

wärmen in neutraler resp. schwach alkalischer Lösung. Eine Resistenz auch gegen Papainverdauung lehren ferner die oben erwähnten Untersuchungen Chittenden's und seiner Mitarbeiter.

Gegen Alkali ist die Substanz jedenfalls empfindlicher als gegen Säuren: so wird sie durch längere Behandlung mit freiem, sehr verdünntem Alkali zerstört. Noch grösser scheint diese Empfindlichkeit der Substanz gegen Alkali zu sein, wenn nicht in wässriger, sondern in alkoholischer Lösung gearbeitet wird. Denn während die Substanz durch Kochen mit Alkohol in saurer oder neutraler Lösung nicht zerstört wurde, sahen wir sie ihre Wirksamkeit bald verlieren, als sie in einem Kontrollversuche in alkalischer Lösung gekocht wurde.

Im Rohfibrin ist das Peptozym, wie oben erwähnt, vermuthlich nicht als solches, sondern in Form einer Vorstufe vorhanden, als Peptozymogen, das der Einwirkung des Alkohols und der Autolyse widersteht, ähnlich wie sich nach Untersuchungen von Herrn Dr. Karl Glaessner aus Prag im hiesigen Institut, die uns Herr Prof. Hofmeister mittheilte, das Zymogen des Labs und des Pepsins durch eine sehr bedeutende Resistenz — im Vergleich zu den daraus erhältlichen Fermenten — auszeichnet.

VI.

Vergleich der Wirkung des Peptozyms mit jener anderer die Gerinnung beeinflussender Factoren des Organismus.

Durch eine grosse Reihe von Forschern ist in den letzten Jahren nachgewiesen, dass zwischen der Einwirkung von Blutegelextract und Pepton auf die Blutcoagulation ein fundamentaler Unterschied besteht: Während in den Köpfen der Blutegel ein direkt die Coagulation hemmender Stoff vorhanden ist, wird (Fano) unter dem Einfluss des Peptons erst eine Verbindung gebildet, welche dem Blut die Befähigung zum Gerinnen raubt.

Bezeichnet man, einem jetzt herrschenden Sprachgebrauch folgend, solche direkt, also auch in vitro, die Wirkung des

Fibrinfermentes (Thrombin) aufhebende Stoffe als «Anti-thrombine», so lässt sich dieser Befund so ausdrücken, dass die Blutegel ein Antithrombin enthalten, das Peptozym aber erst im Organismus das Auftreten eines Antithrombins veranlasst.

Als dasjenige Organ, welches nach der Peptoninjection das Antithrombin bereitet, ist von vielen Autoren (Gley, Contejean, Starling, Hédou und Delezenne, Spiro und Ellinger), die Leber erkannt worden.

Auf Grund dieser Thatsachen hat vor Kurzem M. Jacoby¹⁾ im hiesigen Institut direkte Beziehungen der Leber zur Blutgerinnung nachzuweisen gesucht. Er fand aber, dass proteolytisch wirksamer Lebersaft, intravenös injicirt, nicht gerinnungshemmend wirke, dass ferner dialysirter Lebersaft fibrinolytisch wirke, nicht dialysirter Lebersaft aber zwar eine geringe Antithrombinwirkung *in vitro* aufweise, eine nachträgliche Fibrinolyse aber vermissen lasse.

Trotzdem sich in diesen Versuchen nur eine geringe Einwirkung der Leber auf die Gerinnung erkennen liess, haben wir doch einige Versuche über die Einwirkung von Säuren auf Leber angestellt, da ja die Peptonwirkung als eine Ausschwemmung von präformirtem Antithrombin angesehen und auch mit jenen bekannten Experimenten in Analogie gebracht werden konnte, in denen das in der Leber aufgestapelte Glykogen unter dem Einfluss von Giften als Traubenzucker ausgeschwemmt wird: findet ja doch auch thatsächlich bei der Peptoninjection Vermehrung des Leberlymphflusses und der Gallensecretion statt.

Bei der Einwirkung der Säure auf die Leber fiel uns zunächst der abnorm schnelle chemische Verlauf der Spaltung auf. Trotzdem wir, wie in den anderen Versuchen, nur eine 0,4%ige Salzsäure anwandten, ging sichtbar ein grosser Theil des Lebereiweisses bald in Lösung, während ein anderer Theil desselben der Verdauung dauernd widerstand. Die Beschaffenheit der Lösung geht aus der ausführlichen chemischen Be-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 169. 1900.

schreibung hervor, die zeigt, wie weit in kurzer Zeit die Spaltung der Eiweisskörper gegangen war.

Versuch XXXVI.

½ kg frischer Rindsleber wird fein zerhackt und mit Verdauungssalzsäure 1½ Tage bei Bruttemperatur gehalten. Auffallenderweise erwies sich nach dieser kurzen Säurebehandlung der allergrösste Theil der Lebereiweisskörper gelöst und auch nicht durch Neutralisirung als Acidalbumin oder durch Coagulation ausfällbar. Die klare, gelblich gefärbte Flüssigkeit, auf dem Wasserbade eingengt, stellt braune, hygroscopische Massen dar, die sich leicht in Wasser lösen und schwach sauer reagiren. Ammonsulfat vermag bei keinem Sättigungsgrade, selbst nicht bei saurer Reaction, eine Fällung oder Trübung der Lösung zu erzeugen; 95% iger Alkohol fällt die wässerige Lösung. Essigsäure erzeugt eine im Ueberschusse des Reagens sich lösende Fällung, auf Zusatz von Ferrocyankalium Grünfärbung. Biuretreaction blieb negativ. Millon's Reagens färbte die Lösung beim Kochen schön roth, Molisch's Reaction verlief positiv; Reduction beim Kochen mit alkalischer Kupferlösung liess sich nicht nachweisen. Bromwasser erzeugte schwache Trübung und geringe Violettfärbung; bei vorsichtigem Erwärmen mit alkalischer Bleiacetatlösung trat Braunfärbung durch abgeschiedenen Bleischwefel ein. Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Pikrinsäure, Zinkacetat, Uranylacetat, Jodquecksilberjodkalium in saurer Lösung brachten Fällungen hervor. Nessler's Reagens liess nur Spuren Ammoniak erkennen, dagegen trat nach Erwärmen mit Magnesia starke Ammoniakentwicklung ein.

Die angeführten Reactionen zeigen, dass die Säurespaltung der Lebereiweisskörper sich in überraschend schneller Weise vollzieht; nach 1½ tägiger Digestion waren ausser nucleinartigen Körpern keine irgendwie als Eiweisskörper zu charakterisirenden Spaltungsprodukte nachweisbar, sondern nur Körper, die jenseits der Phase der Albumosen und Peptonbildung lagen und wohl in Analogie mit den von Zunz¹⁾ bei der Pepsinverdauung gefundenen und von Pfaundler²⁾ charakterisirten Körpern zu bringen sind.

Intravenöse Injection beim Hunde.

14 g der Substanz wurden in 3¼ cem. H₂O gelöst, mit Soda schwach alkalisch gemacht und zur Injection verwandt. Das Gewicht des Hundes betrug 9 kg.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 132. 1899.

2) Ibidem, Bd. XXX, S. 90. 1900.

Blutentnahme aus der a. femoralis	Zeitpunkt der Eprouvette	Gerinnung Capillare	
4 ²⁰ Normalprobe	4 ²³	4 ²³	
4 ²³ Injection v. 9 ccm. d. Lg.			} Alle Proben zeigen nach einiger Zeit völlige Ver- flüssigung.
4 ²⁴	4 ³⁰	4 ²⁸	
4 ²⁷ Injection v. 9 ccm. d. Lg.			
4 ²⁸	4 ⁴⁵	4 ³⁸	
4 ²⁹ Injection v. 9 ccm. d. Lg.			
4 ³⁰	4 ⁴⁵	4 ⁴⁰	
4 ³³ Injection v. 9 ccm. d. Lg.			
4 ³⁴	4 ⁴⁵	4 ⁴⁵	
4 ⁴¹	4 ⁵¹	4 ⁵⁰	
4 ⁴⁷	5 ⁰⁰	4 ⁵⁶	

Die erwartete Wirkung des dargestellten Produktes auf die Gerinnung bei intravenöser Injection blieb, wie aus dem Protokoll ersichtlich, vollkommen aus. Dass trotzdem in dem Präparat ein die Gerinnung beeinflussender Stoff vorhanden war, konnten wir dadurch beobachten, dass die geronnenen Blutproben sich rasch wieder verflüssigten, eine «Fibrinolyse» zeigten, die in einigen Fällen eine ganz ausserordentliche war. Eine ebensolche Fibrinolyse konnten wir auch nach der Injection von Pankreas- resp. Magenmucosa-Präparaten erkennen, nur dass sie hier mit einer direkten Peptozymwirkung combinirt war.

Endlich zeigt noch das Säureprodukt aus der Leber eine Wirkung auf die Gerinnung des aus der Ader gelassenen Blutes. Diese direkte, d. h. nicht von der Leber vermittelte Gerinnungshemmung, also eine echte Antithrombinwirkung, kann man jedoch mit Hilfe der Säureeinwirkung bei einer ganzen Reihe von Organen erzielen. Neben Leber, Pankreas und Magen wären auch hier z. B. Hoden und Thymus zu nennen, während wir beim Autolysat des Fibrins ein negatives Resultat erhielten. Auch für diese Gerinnungshemmung ist es charakteristisch, dass dieselbe nur bei schwach alkalischer Reaction erzielt werden kann, während eine Spur von saurer Reaction, ähnlich wie dies bei der Peptonwirkung gilt, die Gerinnungshemmung mehr oder weniger, aber immer sehr deutlich beeinträchtigt.

Die Antithrombinwirkung der übrigen von uns untersuchten Präparate gebe ich der Kürze wegen in Form einer Tabelle.

In allen Fällen wurde zu der, wo nichts Näheres bemerkt ist, schwach alkalischen Lösung des Präparates eine mehrfache Menge aus der Carotis entnommenen Blutes gefügt und die Gerinnungszeit verzeichnet.

Nr. des Versuchs	Präparat	Menge der Lösung	Menge des zugefügten Blutes	Thierart von der das Blut entnommen wurde	Gerinnt nach	Fibrinolyse
37	Säureprodukt der Leber. 5%ige Lösung	1	5	Hund	118 Minuten	
38	Säureprodukt der Leber, 5%ige Lösung	1	5	Kaninchen	mehreren Stunden	
39	Säureprodukt aus Pankreas. 5%ige Lösung	1	5	Hund	2 Tagen	
40	Autolysirtes Fibrin, doch neutral	1	6	"	9 Minuten	
	Autolysirtes Fibrin, doch alkalisch	1	6	"	3 Stunden	
41	Säureprodukt aus Magen- mucosa. 5%ige Lösung.					
	a) sauer	1	6	"	6 Minuten	
	b) schwach alkalisch .	1	6	"	Tagen	
42	Säureprodukt aus Thymus. 5%ige Lösung.					
	a) schwach sauer . . .	2	8	"	12 Minuten	} fehlt.
	b) alkalisch	2	8	"	32 Minuten	
43	Säureprodukt aus Stier- hoden. 5%ige Lösung.					
	a) schwach sauer . . .	1	8	"	35 Minuten	fehlt.
	b) schwach alkalisch .	2	8	"	mehreren Stunden	fehlt.
44	Nebennieren. 1) sauer	1	5	"	über 10 Stunden	
	alkalisch	1	5	"	über 10 Stunden	
45	Milz. 1) schwach alkalisch .	2	7	"	über 10 Stunden	
46	Submaxillaris. 2) alkalisch .	2	2	"		
	schwach alkalisch	2	8—10	"		
47	Lymphdrüsen. 2) alkalisch .	2	8—10	"	bis zur beginnenden Fäulniss ungeronnen	
48	Dickdarmmucosa. 2) sauer.	2	8—10	"	5 Minuten	
49	Dünndarmmucosa. 2)					
	schwach alkalisch	2	8—10	"	mehreren Tagen	
50	Oesophagusmucosa. 1)					
	schwach alkalisch	2	8—10	"	10 Stunden	

1) Säureprodukt in 5%iger Lösung.
2) Säureprodukt in 10%iger Lösung.

Für das Zustandekommen dieser Art von Gerinnungshemmung ist zum Theil eine einfache Deutung möglich.

Durch Arthus und Pagès¹⁾ ist bekanntlich die Nothwendigkeit der Kalksalze für die Gerinnung des Blutes und des Plasmas sicher bewiesen worden. Nun vermögen, wie erst kürzlich auch für einen Bestandtheil des normalen Serums und der Milch gezeigt worden ist,²⁾ auch in den Körpersäften enthaltene Eiweissstoffe Kalk-Ionen in der Art zu binden, dass dieselben mit bestimmten Säuren nicht mehr oder nur unvollständig reagiren. Auch die von uns benützten Verdauungsflüssigkeiten zeigen ein theilweise gleiches Verhalten, in der Art, dass sie die Ausscheidung von phosphorsaurem und kohlensaurem Kalk bis zu einem gewissen Grade verzögern oder verhindern. Dass in der That die Kalkbindung den Grund für das Ausbleiben der Gerinnung bildet, gelang uns in jenen Fällen, wo darauf geachtet wurde, dadurch nachzuweisen, dass bei vorsichtigem Zusatz von Calciumacetat noch ein nachträgliches Eintreten der Gerinnung beobachtet werden konnte.

Allerdings gelten alle diese Angaben nur für das Blut des Hundes. Die wesentliche Differenz in Bezug auf die Gerinnbarkeit des Blutes, die zwischen Kaninchen und Hund bei den Albumosen beobachtet ist, können wir auch bei unseren Agentien zeigen. Wir haben unser albumosenreiches Pankreaspräparat und unser albumosen- und peptonfreies Leberpräparat Kaninchen injicirt und hier anstatt der beim Hunde beobachteten indirekten oder fibrinolytischen Wirkung nichts gesehen als Gerinnungsbeförderung. Beide Thiere gingen alsbald nach der Injection unter den charakteristischen und durch die Autopsie bestätigten Erscheinungen multipler Embolien zu Grunde.

Versuch LI.

Einem 2300 g schweren Kaninchen wurden 2,5 g der Pankreassäureprodukte in 20 cem. alkalischer Lösung in die v. jugularis injicirt.

1) Archives de physiologie. Bd. 5. S. 739. 1890.

2) Spiro und Fuld, Diese Zeitschrift. Bd. XXXI. S. 132. 1900.

Blutentnahme aus der a. carotis	Zeitpunkt der Gerinnung		
	Eprouvette	Capillare	
10 ⁴⁷ Normalprobe	10 ⁵²	10 ⁵²	
10 ⁴⁹ —10 ⁵⁰ Injection			
10 ⁵³	11 ⁰¹	11 ⁰⁸	} Ueberall rasche Contraction der Gerinnung unter reichlicher Serumauspressung.
10 ⁵⁵	10 ⁵⁷	10 ⁵⁸	
10 ⁵⁷	11 ⁰¹	11 ⁰³	

Exitus. Pupillen colossal verengt. Bei sofortiger Thoraxeröffnung finden sich allenthalben in dem rechten Herzen und den grossen Venenstämmen, insbesondere der v. jugularis massenhafte Gerinnungsel.

Versuch LII.

Leber.

Einem 2750 g schweren Kaninchen wurde in die Jugularvene eine schwach alkalische Lösung von 3 g Säureprodukt aus Leber in 20 ccm. Wasser injicirt. Der Verlauf des Versuches war folgender:

Blutentnahme aus der a. carotis	Zeitpunkt der Gerinnung	
	Eprouvette	Capillare
10 ⁰⁰ Normalprobe	10 ¹⁰	10 ⁰³
10 ⁰² —10 ⁰⁴ Injection		
10 ⁰⁵	10 ⁰⁷	10 ⁰⁷
10 ⁰⁸	10 ⁰⁹	10 ⁰⁹
10 ¹⁰ exitus.		

Das Thier geht zu Grunde unter Krämpfen und plötzlichem Athemstillstand. Die sofortige Eröffnung des Thorax zeigt grosse, feste Thromben im rechten Herzen und der art. pulmonalis.

Bezüglich der vielstudirten «Peptonimmunität», die wir jetzt an obige Nomenclatur anschliessend als Peptozymimmunität bezeichnen wollen, können wir endlich auch noch einige That-sachen beibringen. Fano hat zuerst gezeigt, dass Stoffe, die, wie die Tryptone, gar keine anticoagulirende Wirkung zeigen, diese Immunität auch hervorrufen können. Ellinger und der eine von uns fanden ein ähnliches Verhalten für eine Reihe von Stoffen. Durch die oben angegebenen Versuche wird dies in weitem Maasse bestätigt, denn fast alle von uns dargestellten Eiweisspräparate — eine interessante Ausnahme machen die durch Autolyse und ebenso die aus der Submaxillaris und aus Lymphdrüsen gewonnenen Produkte — haben, ohne dass sie anticoagulirend gewirkt haben, auch eine Immunität erzeugt; die Peptozymimmunität ist also unabhängig von der Peptozymwirkung.

Worauf diese (künstliche) Immunität beruht, darüber lassen sich einstweilen nur Vermuthungen aussprechen. Die Injection von Albumosen findet ihr Analogon in der gleichfalls eine gewisse Immunität hervorrufenden Eiweissverdauung; die im Magen erfolgende Bildung von Peptozym und dessen allmählicher Uebertritt in die Leber oder der in der Leber anzunehmende Assimilationsvorgang kann zur Erklärung der fehlenden Antithrombinwirkung herangezogen werden.

Es erinnern diese Befunde, in denen Immunität gegen Peptozyme constatirt wurde, ohne dass der injicirte Stoff wie ein Peptozym gewirkt hatte, an die Befunde P. Ehrlich's und seiner Mitarbeiter, welche gewisse Modificationen der Toxine, die *Toxoide*, kennen lehrten, die, ohne eine Giftwirkung auszuüben, doch eine Antitoxinbildung (resp. Immunität) hervorzurufen vermögen. — Als eine einfachere und länger bekannte analoge Erscheinung bei Körpern mit bekannter Constitution sei die relative Immunität angeführt, welche häufigerer Alkoholgenuss (Alkoholintoxication) gegen Aether, Chloroform und andere Stoffe der Alkoholgruppe hervorruft.

In einigen Fällen endlich sahen wir zufällig als Folge der Albumoseninjection ein merkwürdiges Verhalten: so zeigte ein Hund, der 5 Tage vorher Trypsinalbumosen intravenös erhalten hatte, ein eigenthümlich trübes Plasma, was um so mehr auffiel, als ja die injicirten Albumosen, wie seit Hofmeister oft bestätigt wurde, die Blutbahn schnell verlassen. Das Plasma, das (in Folge einer Wittepeptoninjection) nur äusserst langsam gerann, coagulirte sofort auf Zusatz von jenen Trypsinalbumosen, die die eigenthümliche Immunität hervorgerufen hatten. Diese Coagulation, deren Analogie mit den in jüngster Zeit beobachteten Coagulinphänomenen ohne Weiteres einleuchtet, war übrigens keine *«specifische»*, da sie auch, wenn auch langsamer durch andere, mittelst Säure gewonnene Fibrinalbumosen, noch langsamer durch Wittepepton, oder Fibringlobulin oder eine Serumglobulinfraction (Euglobulin, nicht aber durch eine andere, die Pseudoglobulinfraction) hervorgerufen werden konnte.

Versuch LIII.

Einem 8 Kilo schweren Hunde, der einige Tage vorher Trypsinalbumosen erhalten hatte, wurden 4 g Wittepepton intravenös beigebracht.

Auf der Höhe der Peptonwirkung wurden diesem Hunde 50 ccm. arteriellen Blutes entnommen; das Blut blieb, wie die Kontrollproben zeigten, durch 24 Stunden ungerinnbar. Dasselbe wurde durch Centrifugiren von den rothen Blutkörperchen befreit und das trübe Plasma zu gleichen Theilen mit Lösungen nachfolgender Eiweisskörper versetzt:

	Gerinnungszeit	Bemerkung
Serumglobulinfraction I u. II	1 1/2 Stunden	Nach der Gerinnung tritt Lösung auf.
Serumglobulinfraction III .	Bleibt ungeronnen	
Säurespaltungsprodukte des Fibrins	10 Minuten	Der gleiche Befund.
Wittepeptonlösung	1/2 Stunde	Bleibt geronnen.
Tryptosenlösung des Fibrins	Gerinnt sofort	Bleibt geronnen.
Plasma allein	24 Stunden	Nach der Gerinnung tritt Lösung auf.

Dass diese auffallende, so lange anhaltende «Coagulinimmunität» mit der Peptozymimmunität nichts zu thun hat, geht am besten aus dem Versuche selber hervor. Denn dieser Hund, dessen Serum in Folge der Trypsinalbumoseninjection so trübe geworden war und mit Trypsinalbumosen unter Coagulation reagierte, war in Bezug auf sein Blut nicht peptonimmun», sondern zeigte nach Injection von Wittepepton sofort ungerinnbares Blut, dessen Plasma weiter trüb blieb. Die beiden unabhängig von einander verlaufenden Immunisirungsvorgänge gehen offenbar auch örtlich getrennt vor sich, der Process der Bildung des Antithrombins in der Leber, jener des Coagulins im Blute selbst.