

Ueber den Stoffwechsel der Cephalopoden.

Von

Dr. Otto v. Fürth,

Privatdocent und Assistent am physiologisch-chemischen Institut
zu Strassburg i. E.

Aus der zoologischen Station zu Neapel und aus dem physiologisch-chemischen Institut
zu Strassburg i. E.)

(Der Redaction zugegangen am 3. November 1900.)

Unsere Kenntnisse von den Excretionsvorgängen im Stoffwechsel wirbelloser Thiere sind überaus spärlich. Die wenigen auf diesem Gebiete festgestellten Thatsachen beziehen sich im Grossen und Ganzen auf die Ermittlung der chemischen Beschaffenheit von in den Ausscheidungsorganen gefundenen Concrementen, wobei man sich in der Regel mit der Ausführung der Murexidreaction und dergleichen, sowie wie mit der Feststellung der Lösungsverhältnisse und etwa noch der anorganischen Bestandtheile begnügte. Dort, wo die Untersuchung Excremente betraf, konnte im Allgemeinen an eine Trennung des Nierensecrets von den Ausscheidungen des Darmes gar nicht gedacht werden.

Eine eingehende chemische Untersuchung des von den Nieren eines wirbellosen Thieres ausgeschiedenen Harns als solchen ist meines Wissens nie ernstlich in Angriff genommen worden, trotzdem es auf der Hand liegt, dass ohne eine solche ein Urtheil über die Art der Stickstoffausscheidung nicht zu gewinnen war.

Ich benutzte daher einen mehrmonatlichen Aufenthalt an der zoologischen Station zu Neapel, um Materialien zur Lösung dieser Frage zu sammeln. Als Studienobject wählte ich Cephalopoden. Die Lebhaftigkeit und Gefrässigkeit derselben deutete von vornherein auf einen regen Stoffwechsel; die Grösse

und Lebensfähigkeit mancher Repräsentanten dieser Ordnung, namentlich der grossen Octopoden, das häufige Vorkommen derselben im Golfe von Neapel, sowie die anatomischen Verhältnisse liessen den Versuch, auf dem Wege vivisectorischer Eingriffe zu einem Ergebnisse zu gelangen, nicht aussichtslos erscheinen. Meine Erwartungen wurden nicht enttäuscht. Ich erfülle eine angenehme Pflicht, indem ich den Herren Geheimrath Prof. Dr. Dohrn, Prof. Eisig, Prof. Mayer, Cavaliere Dr. Lo Bianco und Dr. Weinland für das mir zu Theil gewordene freundliche Entgegenkommen, Herrn Dr. Lo Bianco insbesondere auch für die reichliche Versorgung mit Thiermaterial meines herzlichen Dankes versichere. Ich möchte es bei dieser Gelegenheit nicht unterlassen, auf den, wie ich glaube, im Kreise der Fachgenossen noch nicht allgemein gewürdigten Umstand hinzuweisen, dass die physiologische Abtheilung der zoologischen Station zu Neapel auch über ein gut ausgestattetes chemisches Laboratorium verfügt, das die Ausführung der gewöhnlichen chemischen Untersuchungen und Operationen an frischen Material an Ort und Stelle gestattet.

I. Historisches.

Die Nierensäcke der Cephalopoden, sowie die sogenannten Venenanhänge, deren anatomisches Verhalten weiter unten kurz dargelegt werden soll, wurden als solche und in ihrer physiologischen Bedeutung im Jahre 1835 von Mayer¹⁾ erkannt. Siebold²⁾ fand darin Anhäufungen carmoisinrother rhombischer Krystalle, die von Krohn³⁾ bei der Sepia regelmässig angetroffen, beim Octopus, sowie beim Calmar (Loligo) stets vermisst wurden.

Genauere Angaben über die genannten corpusculären Elemente der Sepien rühren von Harless⁴⁾ her. Harless

1) Analecten für vergleichende Anatomie, Bonn 1835.

2) Anatomie comparée, Bd. 1, S. 392.

3) Ueber das Vorkommen von Entozoen und Krystallablagerungen in den schwammigen Anhängen der Cephalopoden, Froriep's Notizen.

4) Ueber die Nieren der Sepia oder die sogenannten Venenanhänge. Arch. f. Naturg., Bd. 13, S. 1—8, 1847.

fand die Menge derselben sehr verschieden, zuweilen sehr spärlich, zuweilen so reichlich, dass der Grund der Nierensäcke damit angefüllt schien. Die mikroskopische Untersuchung ganz frischer, ohne Wasserzusatz angefertigter Präparate ergab zwei Formen der zinnoberrothen Concremente: einerseits Kugeln, andererseits Krystalle von rhombischer Grundform. Setzte man Wasser zu, so fanden sich nur sehr wenig Kugeln, während die Menge der Krystalle vorherrschend erschien. Wurden die Kugeln mit concentrirter Kalilösung behandelt, so ging der Farbstoff in Lösung, während ein System concentrischer Ringe zum Vorschein kam: das farblose Gerüst löste sich erst theilweise bei längerem Kochen. Wurde ein Präparat gequetscht, so trat eine röthliche Flüssigkeit aus den kugeligen Concremente aus, aus der schöne grosse Krystalle sich abschieden. Harless folgert aus diesen Beobachtungen, dass die vorgefundenen Krystalle nicht nativ vorkommen, sondern vielmehr erst secundär durch Austritt des in den Kugeln in flüssigem Zustande enthaltenen Farbstoffs entstanden seien. Er fand die Krystalle unlöslich in kaltem Wasser, in Alkohol, Aether, in organischen und kalten Mineralsäuren, schwer löslich in heissem Wasser, sehr leicht löslich in Aetzalkalien: sie lösten sich in kochender Salpetersäure mit orangegelber Färbung, die auf Ammoniakzusatz in Purpurroth umschlug. Diesem Verhalten zufolge spricht Harless die Krystalle als Harnsäure an. Das nach Extraction des Farbstoffs zurückgebliebene Gerüst der Concremente enthalte kohlensauren Kalk und Kieselsäure.

Blasius¹⁾ fand in Concrementen aus den Harnsäcken von Nautilus nicht die geringsten Spuren von Harnsäure. Dieselben bestanden hauptsächlich aus phosphorsaurem Kalk; daneben fand sich phosphorsaure Ammoniakmagnesia, phosphorsaures Eisenoxyd, ferner schwefel- und phosphorsaurer Kalk.

Paul Bert²⁾ bestätigte das Vorkommen der Harnsäure

1) Bronn, Klassen und Ordnungen des Thierreichs, Bd. 3, S. 1390—91, 1861.

2) Mémoire sur la physiologie de la Seiche. — Mem. de la Soc. des Sciences de Bordeaux T. 5, 1867, S. 115—137.

bei der Sepia. Er gibt an, dass der Urin von Sepia keinen Harnstoff enthalte: doch war das von ihm angewandte Verfahren, wie L. Fredericq (s. u.) richtig bemerkt, eher dazu angethan, etwa vorhandenen Harnstoff zu zerstören, als nachzuweisen, indem er die filtrirte Urinflüssigkeit mit Salpetersäure eindunstete.

Léon Fredericq¹⁾ fällte 18 ccm. aus den Nierensäcken mehrerer Individuen gesammelten Octopus-Harns von der Dichte 1035 mit dem mehrfachen Volumen Alkohol; es bildete sich ein zum Theil aus eiweissartigen Substanzen bestehender Niederschlag. Das Filtrat desselben wurde am Wasserbade eingedampft, der Rückstand in wenig absolutem Alkohol aufgenommen; die nach Abdunsten des Alkohols zurückgebliebenen Tröpfchen liessen nach Zusatz von etwas Salpetersäure keine für salpetersauren Harnstoff charakteristischen Krystallformen erkennen. Die Alkoholfällung wurde mit Wasser wiederholt ausgekocht. Der Rückstand der wässerigen Lösung zeigte weder eine Krystallisation auf Salpetersäurezusatz, noch gab er die Murexidreaction. Es konnte also weder das Vorkommen von Harnstoff, noch von Harnsäure nachgewiesen werden.

Fredericq untersuchte ferner Concremente, die den Venenanhängen von Octopus anhafteten. Diese lösten sich unter leichtem Aufbrausen in heisser Salpetersäure: die Lösung hinterliess einen citronengelben Rückstand: Zusatz von Ammoniak bewirkte keine Purpurfärbung; dagegen trat auf Zusatz eines Tropfens Kalilauge Rothfärbung auf, die beim Erwärmen in ein schönes Violett überging. Fredericq glaubt aus dieser Reaction auf die Abwesenheit von Harnsäure und auf die Gegenwart von Xanthin oder Guanin im Harn des Octopus schliessen zu sollen.

Huxley²⁾ gibt an, dass die Concremente im Harn der Cephalopoden vorwiegend aus phosphorsaurem Kalk bestehen und keine Spur Harnsäure enthalten.

1) Sur l'organisation et la physiologie du poulpe. — Bull. de l'Ac. royale de Belgique. 2. Serie. T. 46. No. 11, 1878.

2) The anatomy of invertebrate animals, S. 524, 1877.

Vigelius¹⁾ widerspricht der Angabe von Harless, dass die von Letzterem beschriebenen Krystalle sich erst secundär durch Austritt von Farbstoff aus den kugeligen Elementen bilden, und schreibt den Krystallen eine selbständige Entstehungsweise zu. Er fand die Krystalle in ihrer Form mit Harnsäurekrystallen übereinstimmend, doch gelang es ihm nicht, eine ausgesprochene Murexidreaction zu erhalten. Neben den von Harless beschriebenen corpusculären Elementen fanden sich im Harn frischer Thiere constant in grosser Menge scharf conturirte Kügelchen von schwach grüner Farbe, die wohl als farbloses Stadium der vorbeschriebenen Kugeln zu betrachten sein dürften.

Zweifeln gegenüber, die an der secretorischen Natur der Venenanhänge der Cephalopoden überhaupt laut geworden waren, wies Solger²⁾ nach, dass injicirtes indigschwefelsaures Natron, als dessen specifisches Ausscheidungsorgan bei Säugethieren von Heidenhain die Niere erkannt worden war, durch die Venenanhänge nach aussen geschafft wird und auf seinem Wege das Epithel derselben zu färben vermag.

Krukenberg³⁾ fand in den durch Alkohol conservirten Venenanhängen eines Cephalopoden⁴⁾ schöne Krystalrosetten, aus gefärbten Täfelchen mit abgerundeten Ecken bestehend; die Krystalle gaben in ausgezeichneter Weise die Murexidreaction.

Endlich wären zwei aus neuester Zeit stammende Angaben über den Cephalopodenharn zu erwähnen.

Schönlein⁵⁾ erhielt durch Anschneiden der Harnsäcke

1) Ueber das Excretionssystem der Cephalopoden, *Niederländ. Archiv für Zoologie*, Bd. 5, S. 129, 1880.

2) Zur Physiologie der sogenannten Venenanhänge der Cephalopoden, *Zool. Anzeiger*, Bd. 4, 1881, S. 379—380.

3) Untersuchungen des physiolog. Instituts Heidelberg, Bd. 2, 1882, S. 412—413.

4) Die Species ist in der betreffenden Abhandlung nicht angegeben. Aus einem Hinweise in Krukenberg, *Vergl. physiol. Vorträge*, Heidelberg 1886, S. 33, ist jedoch zu entnehmen, dass es sich um *Sepia officinalis* gehandelt habe.

5) Notiz über den Harn von *Octopus*. *Zeitschrift für Biologie* Bd. 36, 1898, S. 548.

von Octopus einige Cubikcentimeter eines sauren Harns, der meist sandige, orangerothe Concremente enthielt: diese verbrannten unter Horngeruch, waren löslich in Alkohol und gaben Murexidreaction: der Harn gab auf Zusatz von Calciumchlorid einen reichlichen Gypsniederschlag.

Lindemann¹⁾ (s. u.) unterband bei einer kleinen Cephalopodenart (*Eledone moschata*) die Nierenausführungsgänge und sah darauf die Thiere innerhalb einiger Tage zu Grunde gehen. Ueber den Harn äussert er sich folgendermassen:

Bei der Section habe ich die Nephridialsäcke prall mit schleimig trüber Flüssigkeit gefüllt gefunden. Die Flüssigkeit enthielt Sphärokrystalle der Harnsäure, ziemlich viel Zellen (fast ausschliesslich flache Epithelzellen) und bei der chemischen Untersuchung habe ich Ammoniak und Harnstoff nachweisen können. Die Flüssigkeit wurde mit Alkohol gefällt; durch Verdunsten des Alkohols entstand ein krystallinischer Niederschlag, der sich in absolutem Alkohol zum Theil löste. Nach Abdampfen dieses zweiten Extractes entstanden ziemlich zahlreiche Krystalle, welche von Bromlauge unter Gasbildung zersetzt wurden und mit Salpetersäure und Oxalsäure die charakteristischen krystallinischen Verbindungen gaben. Auch war eine ziemlich grosse Menge eines Eiweisskörpers darin enthalten, durch Essigsäure fällbar, löslich in Alkali. Näher habe ich ihn nicht untersucht; allerdings scheint er mit dem Globulin des Blutes nicht identisch zu sein. »

II. Die Gewinnung des Cephalopodenharns.

Bevor ich zur Beschreibung des zum Zwecke der Gewinnung des Cephalopodenharns von mir geübten Verfahrens übergehe, möchte ich eine kurze, zum Verständniss nothwendige Darlegung der anatomischen Verhältnisse, soweit sie die Octopoden betreffen, vorausschicken. Ich folge dabei im

¹⁾ Urämie bei Cephalopoden. Ziegler's Beiträge zur pathol. Anat. 27. Bd., 1900. S. 490—93.

Wesentlichen den Darlegungen von Vigelius und Grobben,¹⁾ dessen wichtigen Untersuchungen es in erster Linie vorbehalten war, die einschlägigen, von ihren Vorgängern in sehr widerspruchsvoller Weise gedeuteten Verhältnisse aufzuklären, sowie der übersichtlichen von Vogt und Jung²⁾ gegebenen Darstellung.

Bei den Octopoden ist der Bauchtheil des sogenannten Mantels durch eine mediane Muskelmasse mit der die Eingeweide überkleidenden Haut verbunden; wird diese Muskelmasse durchgeschnitten und nach Aufschlitzen des Mantels die Kiemenhöhle besichtigt, so erblickt man den ventralen Theil des Eingeweidesackes, dessen rückwärtiger Abschnitt fast ganz von den beiden, von der Eingeweidehaut überzogenen Harnsäcken eingenommen wird. Diese sind bei Männchen von der Bauchseite her ohne Weiteres zugänglich, bei Weibchen jedoch theilweise von den grossen Nidamentaldrüsen bedeckt. Zu beiden Seiten gewahrt man die auf der Ventralfläche des Harnsackes aufsitzenden kurzen, papillenartig vorspringenden Ureteren. Diese sind beim Octopus asymmetrisch gestellt. Die rechte Ureterpapille liegt nahe der Kiemenbasis; die linke ist weit medianwärts gerückt. Auch die Harnsäcke sind asymmetrisch entwickelt; der rechte ist grösser als der linke. Die Harnsäcke buchten sich nicht nur nach vorn und nach rückwärts von den Papillen aus, sondern schlagen sich auch lateralwärts um die dorsale Seite der Eingeweide herum. (Man kann sich leicht einen Begriff von ihrer Ausdehnung machen, wenn man eine Canüle in die Ureteren einführt und Luft einbläst.) Die Bauchwand des Harnsackes ist glatt, zart und lässt sich nur schwer von der Körperwand lösen. Bei unaufmerksamer Präparation reisst man die Wand des Harnsackes ein, worauf sich die « Venenanhänge » vordrängen. So geschah es denn, dass ältere Autoren die glatte Innenwand des Harnsacks als Bauchfelltasche

1) C. Grobben, Morphologische Studien über den Harn- und Geschlechtsapparat, sowie die Leibeshöhle des Cephalopoden. Arb. a. d. zool. Inst. der Univ. Wien, Bd. V, Heft 2, 1883.

2) Vogt und Jung, Lehrb. d. vergl. Anatomie, 1888, Bd. I, S. 885.

auffassten. Die Rückenwand der Harnsäcke ist stark gefaltet, indem sie die schwammigen Anhänge der Hohlvenen überzieht und allen ihren Windungen folgt. Die Venenanhänge ragen in Gestalt spongiöser, geblicher, birn- oder keulenförmiger Gebilde ins Lumen der Harnsäcke hinein. Die Venenanhänge sind bläschenförmige Ausstülpungen der Venenwände: die zahlreichen darin enthaltenen Muskelfasern bewirken die lebhaften schlangenförmigen Bewegungen dieser Gebilde, welche bei der Beobachtung am lebenden Thiere auffallen. Die Venenanhänge sind mit einem Cylinderepithel überkleidet. Die Zellen sind von stark lichtbrechenden Körnern durchsetzt und zeigen eine Streifung an der Basis; die glatten Theile der Nieren säcke sind dagegen von einem Pflasterepithel überzogen. Die Wände der Ureteren sind dicker, längsgefaltet, besitzen eine innere Schicht von Längsmuskeln und eine äussere Schicht von Kreisfasern, sowie ein Cylinderepithel. Aeltere Autoren haben angenommen, dass Meerwasser in die Säcke eindringe, um die Gefässe zu bespülen. Paul Bert¹⁾ widerlegte diese Annahme durch Versuche mit gefärbten Flüssigkeiten und auch Léon Fredericq²⁾ wies auf die Unrichtigkeit dieser Vorstellung hin. Die Muskulatur der Ureteren schliesst im Allgemeinen die Säcke gegen das Meerwasser ab; nur von Zeit zu Zeit wird der Inhalt der Letzteren nach aussen getrieben: die Thiere besitzen sonach die Einrichtung einer echten intermittirenden Harnentleerung.

Durch einfaches Anschneiden der Harnsäcke gewinnt man selbst bei den grössten Exemplaren nur wenige Cubikcentimeter Urin. Um zur chemischen Untersuchung ausreichende Quantitäten davon zu erhalten, ging ich so vor, dass ich die Ureteren unterband, die Thiere einige Tage am Leben liess und sodann den in reichlicher Menge in den prall gefüllten Harnsäcken angesammelten Urin aus denselben entnahm.

Die Unterbindung der Ureteren beim Octopus erfordert einen operativen Eingriff, insofern der Mantel eingeschnitten werden muss, um dieselben bequem zugänglich zu machen. Die Ureteren lassen sich

1) l. c.

2) l. c. S. 34 f.

zwar allenfalls auch ohne Weiteres mit einer von der Mantelspalte aus eingeführten langen Pincette fassen, doch ist es beim lebenden, sich mächtig contrahirenden Thiere wohl schwerlich möglich, in dieser Art die Unterbindung durchzuführen, da das zarte Gewebe der Ureterpapillen bei stärkerer Zerrung einreißt. Was den operativen Eingriff selbst betrifft, musste derselbe, da das Thier nach demselben in möglichst normalen Verhältnissen weiterleben sollte, in möglichst schonender Weise und insbesondere derart ausgeführt werden, dass die Athmung durch die Läsion der Mantelmuskulatur in keiner Weise gestört wurde. Nach mannigfachen Versuchen ergab sich mir folgendes Verfahren als zweckmässig.

Der Octopus wird nach dem von Uexküll angegebenen Verfahren¹⁾ derart gefesselt, dass die 8 Arme in einen Sack gesteckt wurden, worauf man diesen oberhalb der Augen fest zusammenschnürte: eine Manipulation, die in Anbetracht der grossen Kraft und Geschmeidigkeit des Thieres einige Uebungen erfordert. Das Thier wird nun auf einem passend geformten Gestell, das den Sack mit den Armen in eine Art Korb zu lagern gestattet, mit dem Bauche nach aufwärts festgebunden und sogleich mittelst eines von der Mantelspalte aus in die Kiemenhöhle eingeführten Glasrohres, durch einen kräftigen Strom Seewassers für die Athmung gesorgt. Nunmehr wird an der Bauchfläche des Mantels zunächst durch die Haut, sodann durch die ganze Dicke der Muskelschicht ein Einschnitt gemacht, der auf einer Seite etwa 2 cm. von der Mittellinie und 3 cm. vom oberen Mantelrande beginnend in der Richtung von innen nach hinten aussen in der Länge von 2—3 cm. verläuft. Werden die Schmittränder von einem Assistenten mit Haken auseinander gedrängt, so gelingt es nun leicht, die Ureterpapille der betreffenden Seite zu finden, mit Hülfe einer Hakenpincette vorsichtig vorzuziehen und zu unterbinden. Nun wird die Mantelwunde sogleich durch eine Reihe von Knopfnähten verschlossen, wobei man sich einer starken, gekrümmten Nadel bedienen und die Vorsicht gebrauchen muss, die Bewegungen derselben durch den von oben her durch die Mantelspalte eingeführten Zeigefinger der linken Hand zu überwachen, da sonst, angesichts der oft mächtigen Muskelcontractionen des Thieres, das dicke Wasserstrahlen durch die Mantelwunde herausspritzt, es leicht geschehen kann, dass der Harnsack angestochen wird. Sodann wird die Hautwunde durch eine Matratzennaht geschlossen, die gleiche Operation auf der anderen Seite ausgeführt und das Thier ins Bassin zurückgebracht. Meist erholt sich der Octopus schnell und die Athmung nimmt bald den

1) Eine Beschreibung dieses Fixirungsverfahrens, sowie eine Abbildung der angewandten Vorrichtung findet sich in einer Arbeit von Ida Hyde, Beobachtungen über die Secretion der sogenannten Speicheldrüsen von *Octopus Macropus*. Zeitschrift für Biologie Bd. 35, S. 459—477.

normalen Rhythmus an. Das angegebene Verfahren besitzt den Vortheil, dass ein dicker, den Mantelrand umgebender Muskelring dabei intact bleibt und so die Athembewegungen weniger gestört erscheinen, als wenn durch einen vom Mantelrande her verlaufenden Einschnitt diese Muskelfasern durchtrennt werden.

Die so operirten Thiere zeigten mit Ausnahme eines kleinen Octopus, der nach 2 Tagen todt aufgefunden wurde, in ihrem Aussehen und Verhalten, sobald sie sich nach Ablauf einiger Stunden vom Eingriffe erholt hatten, keinen Unterschied gegenüber normalen Thieren, mit Ausnahme des Umstandes, dass sie keine Nahrung zu sich nahmen.

Ich pflegte die frisch aus dem Meere gebrachten Thiere womöglich eine Woche, zum Mindesten aber einige Tage vor der Operation in den Bassins des Laboratoriums zu belassen. Da ich die Untersuchung von Stoffwechselprodukten im Auge hatte, musste ich darauf Werth legen, die Thiere womöglich im Zustande der Verdauungsthätigkeit zu operiren und vorher reichlich zu füttern. Es standen ihnen daher in den Bassins stets lebende Exemplare ihrer Lieblingsbeute, *Carcinus maenas*, in ausreichender Menge zur Verfügung. Die Mehrzahl der Octopoden begann denn auch, nach mehrtägigem Aufenthalte im Bassin, Nahrung zu sich zu nehmen.

Ich muss das, mit Ausnahme der Nahrungsverweigerung, anscheinend normale Verhalten der operirten Octopoden um so mehr betonen, als, wie vorerwähnt, Lindemann nach Unterbindung der Ureteren bei einer nahe verwandten Cephalopodenart, *Eledone moschata*, einen sehr auffallenden Symptomencomplex mit pathognostischer Stellung der Extremitäten u. dgl. beschrieben hat, der nach kurzer Zeit den Tod herbeiführte und den er als «Urämie» anspricht. Da die im vergangenen Jahre gleichfalls an der zoologischen Station ausgeführte Untersuchung leider erst, nachdem ich Neapel verlassen hatte, zu meiner Kenntniss gelangte, habe ich es unterlassen, meine Versuche auf *Eledone moschata* auszudehnen. Ich kann aber nicht verhehlen, dass die Deutung der Erscheinungen als Urämie mir um so mehr einer Nachprüfung bedürftig erscheint, als sich doch ein grosser Gegensatz im physiologischen Verhalten so nahe verwandter Gattungen, als es Octopus und *Eledone*¹⁾ sind, kaum erwarten lässt.

In jenen Fällen, wo ich die operirten Octopoden erst nach Ablauf von mehr als 4 Tagen tödtete, fanden sich die Harnsäcke rupturirt und zwar in der Regel an der Stelle des Ansatzes der Ureterpapille, wo durch das Einschneiden der Ligatur ein locus minoris resistentiae entstanden war. Ich pflegte daher die Thiere 1—3 Tage nach der Operation zu öffnen. Man sieht dann nach Durchtrennung des Mantels die ge-

1) Nach Vigelius (l. c.) stimmt die Octopusniere mit der *Eledone*-niere bis auf geringe Unterschiede morphologisch überein.

füllten Harnsäcke in Form von gelblichen Blasen sich vorwölben, und nachdem der Mantel umgestülpt worden ist, gelingt es leicht, während das Thier freischwebend gehalten wird, durch einen Einschnitt am abhängigsten Theile des Sackes, den Inhalt vollständig zu entleeren. Anfangs pflegte ich so vorzugehen, dass ich eine feine Canüle in die Ureteren einführte und den Urin durch Ansaugen mit Hülfe einer Pipette gewann, doch empfiehlt sich dies weniger, namentlich weil ein etwa vorhandenes Sediment, das sich in einem Zipfel des vielfach gebuchteten Sackes abgesetzt hat, auf diese Weise leicht der Beobachtung entgeht und eine vollständige Gewinnung des angesammelten Urins, wofern man am lebenden Thiere arbeitet, dabei nicht gewährleistet ist. So gab ich denn auch bald den Versuch auf, dasselbe Thier nach neuerlicher Unterbindung der Ureteren und neuerlicher Naht zu wiederholter Uringewinnung zu benutzen.

Meine Bemühungen, eine Versuchsanordnung zum Zwecke der Beobachtung des zeitlichen und quantitativen Verlaufs der Harnsecretion auszuarbeiten, führten einstweilen zu keinem befriedigenden Erfolge; die geringe Intensität des Secretionsvorganges, das grosse Volumen der Harnsäcke, die Empfindlichkeit des Circulations- und Respirationsapparates, der, wie man sich am Anblick der Kiemenherzen ohne Weiters überzeugen kann, in Unordnung geräth, sobald die Kiemenhöhle in Folge Durchtrennung des Mantels breit freigelegt wird, stehen da hindernd im Wege. Doch zweifele ich nicht daran, dass diese Hindernisse keineswegs unüberwindlich sind. Ein Erfolg wäre um so erwünschter, als das physiologische und pharmakologische Studium der Functionen dieses Secretionsapparates, der sich in so weitgehender Weise von den analogen Organen des Wirbelthieres unterscheidet und gewissermaassen mit einem ungeheueren Glomerulus verglichen werden könnte, über den der Harnsack nach Analogie mit der Baumann'schen Kapsel gestülpt ist, vielversprechend wäre.

Der gewonnene Harn bildete eine etwas zähe, ganz klare, deutlich saure, schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit.

Was die Menge desselben betrifft, unterliegt dieselbe jedenfalls bedeutenden Schwankungen, die wohl in erster Linie von der Ernährung, aber vermuthlich auch von anderen Verhältnissen abhängig sein dürften. In wie weiten Grenzen sich die Schwankungen bewegen, geht z. B. daraus hervor, dass von 2 annähernd gleich grossen Octopoden nach vorhergehender Krabbenfütterung und 3 tägiger Ureterenunterbindung der eine 46 ccm., der andere dagegen 140 ccm. Urin producirt hatte. Letztere Menge bildet das Maximum des mir von einem Thiere gelieferten Nierensecretes. Aus einer Reihe von 9 Beobachtungen an Thieren, die nach 1—4 Tagen getödtet worden

waren, ergibt sich für die pro Tag gelieferte Harnmenge

als Minimum	15 ccm.,
als Maximum	80 ccm.,
als Mittelwerth	36 ccm.,

wobei bemerkt werden muss, dass die grössten von der Station gelieferten Octopusexemplare im Gewichte von mehreren Kilo zu den Versuchen benutzt worden sind. Im Allgemeinen scheint mir sowohl die Harnmenge, als insbesondere auch die Menge des Sediments bei gut genährten Thieren grösser zu sein als bei hungernden. Da ich, wie erwähnt, im Beginne meiner Versuche, wo ich den Urin durch Aushebern gewann, nicht genügend auf den Umstand geachtet hatte, dass erhebliche Sedimentmengen in Zipfeln der Harnsäcke versteckt bleiben können, vermag ich über diesen Punkt keine genauen Angaben zu machen.

Auffallend ist es immerhin, dass sich sowohl die weitaus grösste Tagesmenge¹⁾ Urin, (80 ccm. bei einem 4 kg schweren Octopus), als auch die weitaus grösste Menge Harnsäuresediment (s. u.) bei einem Thiere fanden, das unmittelbar nach einer ganz ungewöhnlich reichlichen Mahlzeit operirt worden war: es handelte sich um einen grossen Octopus, der ein kleineres, im selben Bassin befindliches Exemplar der gleichen Species in der Nacht überfallen und zum Theile verzehrt hatte.

Durch eine weitere Versuchsreihe, die das Gewicht und die Ernährung des Versuchsthieres, die Dauer des Versuchs, die Menge und den Stickstoffgehalt des Harns und des Sediments sowie den Gehalt desselben an Harnsäure genau zu berücksichtigen hätte, wäre es leicht, über diesen Punkt ins Klare zu kommen. Ich beabsichtige das Versäumte bei nächster Gelegenheit nachzuholen.

Die angesammelten Urine wurden, insoweit ich sie nicht sogleich verarbeitete, in gut verschliessbaren Flaschen nach

1) Eine relativ noch grössere Urinproduktion ergab sich bei einem Thiere, das 4 Stunden nach subcutaner Injection einer Ammoniumacetatlösung zu Grunde gegangen war und innerhalb dieser Zeit 44 ccm. Urin geliefert hatte.

Zusatz von soviel reinen Toluols aufbewahrt, dass dieses eine zusammenhängende Schichte über der Flüssigkeitsoberfläche bildete.

III. Untersuchung des Harnsedimentes.

Wie oben erwähnt, fand sich im Harn eines grossen Octopus, der nach einer ungewöhnlich reichlichen Mahlzeit operirt worden war, eine verhältnissmässig beträchtliche Menge von Sediment. Dasselbe bestand aus mohnkorngrossen, röthlich gefärbten Concrementen von unregelmässiger Begrenzung, die bei mikroskopischer Untersuchung eine körnige Beschaffenheit ohne deutliche Structur zeigten.

Eine Probe des Sedimentes hinterliess beim Eindampfen mit Salpetersäure einen citronengelben Rückstand. Zusatz von Ammoniak bewirkte eine orangerothe Färbung, keine Purpurfärbung. Auf Zusatz von Natronlauge trat eine prachtvoll violettrothe Färbung auf.

Eine Probe wurde in warmer verdünnter Natronlauge gelöst. Aus der mit Salzsäure übersättigten Lösung schied sich nach eintägigem Stehen ein feinkörniger Bodensatz ab.

Das gesammte Sediment wurde nunmehr unter verdünnte Salzsäure gebracht. Am nächsten Tage ergab die mikroskopische Untersuchung, dass sich ein grosser Theil desselben in eine farblose Krystallmasse umgewandelt hatte. Die Krystalle bestanden aus dicken Säulen und Nadeln. Die Nadeln lagen theils einzeln, meist aber waren dieselben zu fächerförmigen Rosetten vereinigt. Die Säulen waren an den Enden theils schräg, theils anscheinend senkrecht zu den Seitenflächen begrenzt, theils aufgefasert und erschienen oft treppenartig an einander gereiht. Neben den beschriebenen Formen fanden sich auch sehr feine, parallel an einander gelagerte, beiderseits zugespitzte Nadeln.

Nachdem das Sediment mehrere Wochen in Berührung mit der Salzsäure geblieben war, wurde es mit der Säure am Wasserbade eingeengt, wobei der grösste Theil der Masse in Lösung ging.

Der spärliche Rückstand wurde durch Centrifugiren ab-

getrennt, zweimal mit Wasser aufgeschwemmt und neuerlich centrifugirt. Bei mikroskopischer Untersuchung erwies er sich aus unregelmässig begrenzten Schollen (Zellresten?) bestehend. Er gab keine Murexidreaction.

Proben der klaren gelben Salzsäurelösung zeigten folgendes Verhalten:

Ammoniakalische Silberlösung bewirkte einen reichlichen, gelblich weissen flockigen Niederschlag, der im Ueberschuss von Ammoniak sich auch beim Erwärmen nicht löste. Das Filtrat von diesem Niederschlage, mit ammoniakalischer Magnesiummischung versetzt, gab keine weitere Fällung mehr. Wurde der Silberniederschlag einige Minuten gekocht, so schwärzten sich die Flocken.

Phosphorwolframsäure gab einen gelblichen Niederschlag. Dieser löste sich vollständig beim Erwärmen und schied sich beim langsamen Erkalten in Form sehr regelmässig ausgebildeter bräunlichgelber Würfelchen oder würfelähnlicher Rhomboeder wieder ab. Der Niederschlag wurde durch Decantation gewaschen, mit einigen Tropfen concentrirter Salpetersäure am Wasserbade eingedunstet; der gelbliche Rückstand, in eine Ammoniakatmosphäre gebracht, färbte sich schön rosenroth.

Jodquecksilberkalium bewirkte keine Fällung; auf Zusatz von Natronlauge fiel ein röthlichbrauner Niederschlag aus.

Eine Probe blieb auf Zusatz einer gesättigten wässerigen Pikrinsäurelösung zunächst klar; nach einigem Umschütteln kam es zur Abscheidung eines gelben Krystallpulvers. Bei mikroskopischer Untersuchung erwies sich dieses als durchaus homogen und aus eigenthümlichen y-förmigen Gebilden bestehend, deren zugespitzte Schenkel an den einander zugekehrten Rändern sägeförmige Zähnelungen trugen; die Krystalle lösten sich beim Erwärmen.

Tannin bewirkte keine Fällung, ebensowenig Quecksilberchlorid; dagegen fiel auf Zusatz von Quecksilberacetat ein reichlicher, weisser, grobflockiger Niederschlag aus.

Metaphosphorsäure bewirkte eine aus mikroskopischen Körnchen bestehende, in Salzsäure unlösliche, in Natronlauge lösliche Fällung.

Einige Tropfen der salzsauren Lösung, mit concentrirter Salpetersäure eingedampft, hinterliessen einen gelben Rückstand, der sich, in eine Ammoniakatmosphäre gebracht, sogleich intensiv orangeroth färbte. Zusatz von einem Tropfen Natronlauge löste mit orangegelber Farbe; beim Abdunsten der Lösung nahm der Rückstand eine intensiv blaurothe Färbung an. Auf Zusatz von Wasser erfolgte wiederum Lösung mit orangegelber Färbung, beim Eindunsten Umschlag in Blauroth.

Einige Tropfen der salzsauren Lösung, mit frisch bereitetem Chlorwasser am Wasserbade eingedampft, hinterliessen einen braungelben Rückstand. Dieser, in eine Ammoniakatmosphäre gebracht, färbte sich zu-

nächst nicht. Beim Erwärmen färbte er sich rothbraun; auf Zusatz von Wasser erfolgte Lösung mit schön purpurrother Färbung, die beim Aufkochen verschwand; auf weiteren Zusatz von 1 Tropfen Natronlauge trat eine blaurothe Färbung auf (Weidels'sche Reaction).

Eine Probe der salzsauren Lösung, mit Ammoniak übersättigt und reichlich mit 15%iger Ammoniumchloridlösung versetzt, blieb zunächst klar, am nächsten Tage hatte sich ein krystallinischer aus nadelförmigen Prismen bestehender Bodenzusatz gebildet.

Da die mitgetheilten Erscheinungen, wie ersichtlich, es noch zweifelhaft erscheinen liessen, ob eine von der Harnsäure verschiedene Substanz vorliege, oder ob das Verhalten, insoweit es von demjenigen reiner Harnsäure abwich, durch Beimengungen bedingt sei, versuchte ich zum Zwecke weiterer Reinigung aus der Hauptmenge der salzsauren Lösung die Harnsäure nach dem von Jaffé angegebenen Verfahren in Form eines Pikrates abzuscheiden. Zu diesem Behufe wurde die salzsaure Lösung mit gesättigter, wässriger Pikrinsäurelösung versetzt: die Flüssigkeit blieb zunächst klar. Nach einigem Umschütteln und Reiben der Gefässwände mit einem Glasstabe begann die Abscheidung von Krystallen.

Die mikroskopische Untersuchung des schweren Krystallpulvers ergab ein von dem vorbeschriebenen Pikrate durchaus abweichendes Verhalten. Es fanden sich Tafeln mit schiefen Winkeln, einzeln liegend oder aber Rosetten und Durchwachungen bildend, theils dünn, theils zu dicken Platten und Prismen geformt.

Das nach eintägigem Stehen abgetrennte Krystallpulver wurde mit Pikrinsäurelösung, sodann mit Alkohol ausgewaschen und lufttrocken mit verdünnter Salzsäure behandelt. Beim Aufkochen erfolgte Lösung. Beim Erkalten schied sich Pikrinsäure in langen, intensiv gelb gefärbten Krystallnadeln ab. Es wurde nunmehr mit Aether geschüttelt, wobei sich die Krystalle mit gelber Farbe im Aether lösten: das Ausschütteln wurde mit neuen Portionen Aether so lange wiederholt, als dieser noch eine gelbe Färbung annahm. Noch während des Ausschüttelns begann in der nunmehr entfärbten wässrigen Schichte die Abscheidung farbloser Krystalle.

Bei mikroskopischer Untersuchung erwiesen sich diese

durchwegs aus sehr regelmässig ausgebildeten, langen schlanken Säulchen mit parallel verlaufenden Seitenläufen und gerader Begrenzung bestehend. Die Krystalle lösten sich nicht in starkem Ammoniak, dagegen leicht in verdünnter Natronlauge und in Natriumcarbonat. Die Lösung in Natriumcarbonat, auf mit Silbernitrat befeuchtetes Filtrirpapier getupft, bewirkte daselbst dunkle, beim Trocknen des Papiers deutlich hervortretende Flecken.

Eine Probe des abgetrennten Krystallpulvers hinterliess beim Eindampfen mit concentrirter Salpetersäure einen gelben Rückstand, der sich bei stärkerem Erhitzen schwach röthete und auf Zusatz von Ammoniak eine prachtvolle Purpurfärbung, auf weiteren Zusatz von 1 Tropfen Natronlauge eine schöne blauviolette Färbung annahm.

Eine Probe entfärbte Fehling'sche Flüssigkeit beim Kochen: doch kam es zu keiner Abscheidung von Kupferoxydul.

Es ist also sicher ein Stoff vorhanden, der die qualitativen Reactionen der Harnsäure zeigt. Ein quantitativer Nachweis war im Hinblick auf die geringe Menge nicht zu führen. Vermuthlich war ursprünglich eine Beimengung vorhanden, die die Murexidprobe beeinträchtigte.

IV. Untersuchung der Harnflüssigkeit.

Der Harn von Octopus enthält auffallender Weise stets Eiweiss: ich habe dieses niemals vermisst, gleichviel, ob der Harn nach Unterbindung der Ureteren oder ohne diesen Eingriff dem lebenden Thiere entnommen war. Der Eiweissgehalt ist nicht sehr bedeutend (in einem Falle fand ich 0,12^o/_o, in einem andern 0,07^o/_o), immerhin ist diese physiologische Albuminurie eine beachtenswerthe Erscheinung.

Der Harn begann sich bei langsamem Erhitzen jenseits 50° zu trüben: die Trübung nahm allmählich zu, ballte sich jedoch erst zwischen 75—80° zu einem grobflockigen Niederschlag. Der durch Ammonsulfat ausgesalzene, abfiltrirte und neuerlich in Wasser gelöste Eiweisskörper coagulirte nunmehr bei 80°. Halbe Sättigung des Harnes mit Ammonsulfat bewirkte reichliche, aber nicht vollständige Fällung. Stark verdünnte Essigsäure oder Salzsäure gaben reichliche, im Ueber-

schusse sehr leicht lösliche Niederschläge. Der von Eiweiss befreite Harn gibt weder Biuretreaction noch Fällung mit Essigsäure, enthält sonach weder Mucin noch Pepton.

Das Blut des Octopus enthielt unvergleichlich grössere Eiweissmengen als der Harn (nach L. Fredericq 8—9%). Die für das Blut charakteristische Proteinsubstanz ist das kupferhaltige Hämocyanin: es coagulirt nach Angaben des vorerwähnten Autors zwischen 65—75° und wird von Neutralsalzen innerhalb der Globulinfällungsgrenzen nicht niedergeschlagen. An eine Identität desselben mit dem Harneiweiss ist umsoweniger zu denken, als sich die Beimengung selbst kleiner Hämocyaninmengen zum Harn sofort durch eine charakteristische bläuliche Färbung zu erkennen gibt, die beim Schütteln mit Luft noch erheblich zunimmt. Ich konnte mich wiederholt bei Gelegenheit des Katheterisirens lebender Thiere davon überzeugen, da es dabei leicht geschieht, dass man die zarten Venenanhänge mit der Canüle verletzt. Wurde der Harn erst einige Zeit nach dem Tode entnommen (z. B. bei Thieren, die von den Fischern todt herbeigebracht wurden), so zeigte derselbe häufig eine zähe, schleimige Beschaffenheit.

Um die Frage nach dem Auftreten von Harnstoff mit Rücksicht auf Lindemann's positive Angaben, sowie auf den Ausfall der Bestimmungen nach Mörner-Sjöqvist (s. u.) zu entscheiden, habe ich zu wiederholten Malen grössere Harnportionen zu 30—40 cem., meist von gut gefütterten Thieren herrührend, sowohl ganz frisch, dem lebenden Thiere entnommen, als auch unter Toluol conservirt, nach dem Lüdyschen Verfahren auf Harnstoff untersucht. Zu diesem Zwecke wurde der durch Kochen über freier Flamme enteweisste Harn am Wasserbade eingedampft, der Rückstand wiederholt mit kochendem 95%igen Alkohol extrahirt, die filtrirte alkoholische Lösung unter Zusatz einer alkoholischen Lösung von O-Nitrobenzaldehyd eingedampft, der körnige Rückstand so lange mit kochendem Alkohol extrahirt, als sich dieser mit salzsaurer Phenylhydrazinlösung noch röthlich färbte, sodann mit ein wenig 10%iger Schwefelsäure gekocht und salzsaures

Phenylhydrazin hinzugefügt. In keinem Falle trat auch nur eine Spur der charakteristischen Rothfärbung auf.

Da es mir aufgefallen war, dass ein ursprünglich schwach saurer Harn beim Eindampfen auf dem Wasserbade Ammoniak entwickelte, ging ich in zwei Fällen so vor, dass ich das Eindampfen am Wasserbade ganz vermied und die enteiussten Harne im Vacuum über Schwefelsäure bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur zur Trockene dunstete. Das Resultat war gleichwohl ein negatives.

Endlich erschien es mir wahrscheinlich, dass, falls Harnstoff überhaupt als Stoffwechselprodukt der Cephalopoden von wesentlicher Bedeutung sei, er doch wenigstens nach Zufuhr organischer Ammonsalze zum Vorschein kommen müsse, ähnlich wie dies bei Versuchen von W. v. Schröder an Fröschen thatsächlich gelungen ist. Ich injicirte daher einem grossen Octopus nach Unterbindung der Ureteren 7 ccm. einer 5%igen Lösung von essigsauerm Ammon unter die Rückenhaut. Das offenbar schwer vergiftete Thier ging nach Ablauf einiger Stunden zu Grunde. Auch hier gelang es nicht, in dem zähschleimigen, in der Menge von 44 ccm. angesammelten Harn Harnstoff nachzuweisen.

Was die Harnsäure betrifft, welche als wesentlicher Bestandtheil der Harnconcremente für den Stoffwechsel der Cephalopoden wohl von der allergrössten Bedeutung ist, konnte ich dieselbe im Harn als solchem durch die Murexidreaction höchstens in Spuren nachweisen.

Dagegen tritt eine andere Substanz aus der Puringruppe in grösserer Menge auf. 50 ccm. Harn wurden enteiusst, mit Ammoniak übersättigt, der entstandene gelatinöse Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Der ziemlich reichliche flockige Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, sodann in einigen Cubikcentimetern kochender Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,1 unter Zusatz einiger Harnstoffkryställchen (zur Vermeidung des Auftretens salpetriger Säure) gelöst. Aus der heiss filtrirten Lösung schied sich beim Erkalten ein schwerer, farbloser, krystallinischer Niederschlag vom Aussehen der

Hypoxanthinsilberverbindung ab, theils aus feinen graden, zu Büscheln angeordneten Nadeln, theils aus dünnen, länglichen, abgeschragten, zu zierlichen Rosetten angeordneten Plättchen bestehend. Das Krystallpulver wurde abfiltrirt; das salpetersaure Filtrat blieb beim Uebersättigen mit Ammoniak klar: es war sonach kein Xanthin vorhanden.¹⁾ Der Niederschlag wurde in Wasser aufgeschwemmt, durch Zusatz einiger Tropfen Schwefelammoniumlösung zersetzt, das Schwefelsilber abfiltrirt, das von Schwefel getrübe Filtrat eingedampft und der Rückstand in einer kleinen Menge kochenden Wassers aufgenommen. Die erkaltete klare Lösung, mit gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung versetzt, gab keine auf Adenin zu beziehende Fällung, wohl aber entstand auf weiteren Zusatz von 1 Tropfen Silbernitrat sogleich ein reichlicher, flockiger, gelbbrauner Niederschlag, der, abfiltrirt und gewaschen, an Ammoniak Pikrinsäure abgab, sonach wohl als die Pikrinsäuresilberverbindung des Hypoxanthins angesprochen werden dürfte.

Um einer noch etwa möglichen Verwechslung mit Guanin vorzubeugen, wurde aus einer anderen Harnfraction von 35 ccm., wie vordem, der mit ammoniakalischem Silber fällbare Niederschlag abgetrennt, sodann in Wasser suspendirt, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zersetzt, filtrirt, das Filtrat gekocht und eingeeengt. Metaphosphorsäurezusatz bewirkte keine Trübung: es konnte demzufolge die Gegenwart von Guanin ausgeschlossen werden, das nach Pohl²⁾ durch das genannte Reagens gefällt wird.

Um eine, wenn auch nur ganz ungefähre Vorstellung darüber zu gewinnen, wie sich die Menge der in fester Form eliminirten Harnsäure zu derjenigen des Harnhypoxanthins verhält, wurde ein nach reichlicher Krabbenfütterung operirtes Octopusweibchen nach 3 Tagen getödtet und einerseits das ziemlich reichliche, körnige, gelblich rothe Sediment; andererseits der klare, saure, etwas zähflüssige Harn (55 ccm.) möglichst ohne Verlust gesammelt. Sowohl das Sediment als

1) Vide Hoppe-Seyler. Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 6. Aufl. S. 493.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 13, p. 296.

auch die wie vordem erhaltene Fällung mit ammoniakalischem Silber wurden auf gewogene Filter gebracht, ersteres mit Wasser, letztere mit verdünntem Ammoniak gewaschen und bei 110° getrocknet. Das Gewicht des Sediments betrug 0,0377 g, das der Silberverbindung 0,0104 g, woraus sich die Menge von 0,0043 freiem Hypoxanthin in 55 ccm., von etwa 0,08 g im Liter Harn ergibt, ein Quantum, das die Menge der Purinbasen im Säugethierharn bedeutend übertrifft. Selbstverständlich ist kein Anhaltspunkt vorhanden, um zu beurtheilen, inwieweit das Harnsäuresediment frisch entstanden und inwieweit von früher her in den Harnsäcken angesammelt war.

Was andere im Säugethierharn vorkommende Substanzen betrifft, konnte ich Kreatinin weder durch die Nitroprussidreaction, noch durch die Jaffé'sche Pikrinsäureprobe nachweisen. Auch nachdem der Harn einige Zeit mit Salzsäure gekocht und dann wieder neutralisirt worden war, fielen die Reactionen negativ aus: sonach kann auch das Vorhandensein beträchtlicherer Kreatininmengen ausgeschlossen werden.

Zur Prüfung auf Hippursäure wurden 50 ccm. entweisten Harns durch Zusatz einiger Tropfen Natriumcarbonatlösung alkalisch gemacht, auf etwa 5 ccm. eingeeengt, mit Salzsäure angesäuert und einige Male mit Essigäther ausgeschüttelt. Der durch Schütteln mit Wasser gewaschene Essigäther hinterliess, bei 40° eingedunstet, nur eine minimale Menge eines fettigen Rückstandes: der Harn enthält sonach keine nachweisbaren Mengen Hippursäure.

Die Prüfung auf gepaarte Schwefelsäuren in der üblichen Art gab ebenfalls ein negatives Resultat. Ebenso die Untersuchung auf Zucker mit Hilfe der Trommer'schen Reaction, sowie derjenigen von Molisch.

Da das Taurin in den Muskeln der Cephalopoden in so reichlicher Menge auftritt, dass nach Angaben einiger Autoren der Fleischsaft dieser Thiere im Wesentlichen einer concentrirten Taurinlösung gleicht, schien es geboten, auch den Harn auf diese Substanz, die offenbar im Cephalopodenorganismus eine wichtige Rolle spielt, zu untersuchen.

Ich benutzte dazu eine grosse Fraction (80 ccm.) Harn; es war dies jener, nach einer ausserordentlich reichlichen Mahlzeit abgesonderte Harn, welcher das oben beschriebene Sediment geliefert hatte.

Der frische Harn wurde von Eiweiss durch Erhitzen befreit und sodann siedend heiss mit einem Ueberschuss frisch gefällten, gut gewaschenen Quecksilberoxyds versetzt. Nach einträglichem Stehen wurde filtrirt, der Filtrerrückstand ausgewaschen, in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die von Quecksilbersulfid befreite Flüssigkeit eingedampft, der Rückstand in eine kleine Menge heissen Wassers aufgenommen, filtrirt und das klare, gelbe, saure Filtrat bei Zimmertemperatur eingedunstet. Als die Flüssigkeit bis auf etwa 1 ccm. eingeeengt worden war, fand sich in derselben ein Bodensatz, der neben gekörnten Schollen kugelige Aggregate feiner Nadeln, tyrosinartige Büschel, sowie aus dickeren Nadeln zusammengesetzte Sterne, jedoch keinerlei für Taurin charakteristische Formen enthielt. Der negative Ausfall der Millon'schen Reaction lehrte, dass es sich nicht um Tyrosin handle. Die Mutterlauge enthielt reichliche Mengen Phosphorsäure.

Beachtenswerther Weise enthält Cephalopodenharn eine nicht unerhebliche Menge eines krystallisirten stickstoffhaltigen Körpers, der sich vorläufig mit keinem der bekannten Harnbestandtheile identificiren liess. Zur Darstellung derselben ging ich bei Verarbeitung einer weiteren Harnfraction so vor, dass ich den enteweissten Harn durch Fällung mit einem Ueberschusse von Barytwasser von Phosphaten, Sulfaten etc. befreite. Sodann wurde das Filtrat mit Schwefelsäure schwach angesäuert und die von schwefelsaurem Baryt befreite Flüssigkeit mit Natronlauge genau neutralisirt. Proben derselben wurden weder von Pikrinsäure, noch von Jodquecksilberkalium unter Zusatz von Salzsäure, noch von Quecksilberchlorid gefällt; dagegen bewirkte Quecksilberacétat einen reichlichen weissen Niederschlag. Nunmehr wurde die Gesamtmenge mit Quecksilberacétat gefällt, der ziemlich reichliche, gelblich-weiße Niederschlag abfiltrirt, gut mit Wasser gewaschen, sodann in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Schwefelquecksilber abfiltrirt und mit kochendem Wasser wiederholt extrahirt und das Filtrat am Wasserbade eingedampft. Aus der auf wenige Cubikeentimeter eingeeengten Flüssigkeit schieden sich Häutchen ab, deren Menge beim Erkalten zunahm.

Bei mikroskopischer Untersuchung zeigte es sich, dass die Häutchen ausschliesslich aus Aggregaten gerader, schlanker, zum Theile sehr langer, farbloser Nadeln bestanden: dieselben lagen theils einzeln, waren aber meist zu zierlichen Büscheln, Sternen und Rosetten angeordnet. Die Nadeln erschienen entweder an einem oder an beiden Enden zugespitzt oder aber prismatisch an beiden Enden durch ebene, anscheinend senkrecht oder etwas schräge zu den Seitenflächen verlaufende Flächen begrenzt.

Nach Zusatz von etwas Wasser gelang es, die Kryställchen durch Centrifugiren von der Mutterlauge abzutrennen und durch zweimaliges Centrifugiren nach Aufschwemmung mit Wasser zu waschen.

Die so gereinigten Nadeln erwiesen sich leicht löslich in heissem Wasser, in Ammoniak, sowie in concentrirter Salzsäure, unlöslich in Essigsäure und verdünnter Salzsäure, schwerlöslich, jedoch nicht unlöslich in Alkohol, unlöslich in Alkoholäther. Sie verbrannten am Platinbleche unter Schwärzung mit hornartigem Geruche. Sie gaben weder Murexid- noch Millon'sche Reaction. Ihre Lösung, durch Erwärmen mit Wasser hergestellt, wurde weder von salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure, noch von neutralem Bleiacetat, noch von Quecksilberchlorid und Mercurinitrat gefällt, wohl aber von Quecksilberacetat, sowie auch von Bleiessig. Die Untersuchung der Krystalle auf Kynurensäure mit der sehr empfindlichen Jaffé'schen Reaction (Erhitzen mit concentrirter Salzsäure bei Gegenwart von Kaliumchlorat: nach dem Erkalten Blaufärbung auf Ammoniakzusatz) fiel negativ aus.

Leider sind 2 Versuche, die Substanz aus grösseren Harfrac-tionen nach demselben Verfahren darzustellen, gescheitert, indem sich die aus den Quecksilberacetatniederschlägen durch Schwefelwasserstoff erhaltene Lösung beim Eindampfen unter Bildung schwarzer, fest gebundenen Stickstoff enthaltender Produkte zersetzte.¹⁾

¹⁾ Dieselben erwiesen sich noch nach längerem Kochen mit Barytwasser als stickstoffhaltig.

Das Filtrat der Quecksilberacetatfällung gab mit salzsäurehaltiger Phosphorwolframsäure noch einen in der Wärme löslichen, beim Erkalten in Form dunkler Globuliten wieder ausfallenden Niederschlag; durch Zerlegung desselben erhielt ich ein schwerlösliches, in regelmässig ausgebildeten mikroskopischen Prismen mit aufgesetzten Pyramiden krystallisirendes, organisches Barytsalz, das keine Murexidereaction gab; die Menge desselben war aber zu gering, als dass ich Näheres darüber auszusagen vermöchte.

Was endlich anorganische Substanzen betrifft, konnte ich im Harn Kalium, Natrium, Ammonium, Calcium, Magnesium, Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure nachweisen. Da die Phosphorsäure sich nach Schmiedeberg's¹⁾ Angaben im Seewasser nur in so geringen Spuren findet, dass sie bei den gewöhnlichen Wasseranalysen gar nicht und in Kesselsteinen von Seedampfern nicht regelmässig nachweisbar ist, muss sie als ein Stoffwechselprodukt der Cephalopoden angesehen werden.

V. Die Stickstoffvertheilung im Cephalopodenharn.

Kürzlich hat Pfaundler²⁾ ein Verfahren veröffentlicht, das bei Untersuchung von Harnen in bequemer Weise eine Orientirung darüber ermöglicht, auf welche Hauptkategorien stickstoffhaltiger Verbindungen sich der Harnstickstoff vertheilt und in welchen Mengenverhältnissen diese Verbindungen auftreten.

Ich habe mir das Pfaundler'sche Verfahren zu Nutze gemacht, um einen annähernden Aufschluss über die Art der Stickstoffbindung im Cephalopodenharn zu gewinnen.

Ich widmete diesen Versuchen die beiden grössten Harnfractionen, die mir zu Gebote standen und die, wie oben erwähnt, durch Toluolzusatz conservirt worden waren. Der eine

1) Schmiedeberg. Ueber die chemische Zusammensetzung der Wohnröhren von *Onuphis tubicola*. Mitth. a. d. zool. Station zu Neapel. 3. Bd. 1882. S. 389.

2) M. Pfaundler, Ueber ein Verfahren zur Bestimmung des Amidosäurenstickstoffs im Harn. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXX. S. 75, 1900. (Aus dem physiol.-chem. Institut zu Strassburg.)

dieser Harn (A) in der Menge von 140 cem. rührte von einem grossen Octopusweibchen her, dem ich nach mehrtägiger Fütterung mit *Carcinus maenas* beide Ureteren unterbunden hatte und das 3 Tage nach der Operation getödtet worden war.

Vom Harn B stand mir eine Menge von 120 cem. zu Gebote, die sich bei einem mittelgrossen Exemplare im Laufe von 2 Tagen nach vollzogenem Eingriffe angesammelt hatte.

Die Cephalopodenharn enthielten stets Eiweiss (s. o.). Dieses hatte sich, offenbar in Folge Schüttelns der toluolhaltigen Harn während des langdauernden Transportes von Neapel nach Strassburg, grösstentheils in Form grosser Flocken abgeschieden. Diese wurden auf gehärteten, zur Gewichtskonstanz getrockneten Filtern gesammelt, die in den Filtraten noch befindliche Eiweissmengen durch Kochen über freier Flamme coagulirt und aufs Filter gebracht, die gesammelten Eiweissniederschläge mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen und bei 110° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Zur Bestimmung der Trockensubstanz und des Mengenverhältnisses anorganischer und organischer Bestandtheile wurden 10 cem. des Harnes in einem Platintiegel eingedunstet, der Rückstand bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet und durch kurzdauerndes starkes Glühen verascht.

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs in abgemessenen Portionen des enteiweissten Harnes geschah nach Kjeldahl, die Bestimmung des Ammoniaks nach Schlösing.

Zur Bestimmung des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs wurden je 20 cem. Harn nach Pfaundler mit 40 cem. eines durch Auflösen von 100 g reiner krystallisirter Phosphorwolframsäure in 800 cem. Wasser unter Zusatz von 100 cem. Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,124) bereiteten Reagens versetzt. Der Niederschlag wurde nach zweitägigem Stehen in ammoniakfreier Atmosphäre auf einem aschearmen Filter gesammelt und mit der Fällungsflüssigkeit gewaschen.

Handelte es sich um Bestimmung des gesammten durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs, so wurde das Filter mit dem Niederschlag in einen Rundkolben gebracht und nach Kjeldahl zersetzt.

Pfaundler theilt aber diesen Stickstoff in 2 Fractionen, in einen Antheil, der durch Erhitzen mit Phosphorsäure auf 150° in Ammoniak übergeführt wird (n_1 , als Ammoniak abspaltbarer Stickstoff), und in einen zweiten Antheil, der diesem Verfahren widersteht (n_2 , nicht abspaltbarer Stickstoff). Ganz analog wird auch der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff in 2 Fractionen f_1 und f_2 getheilt. Bezüglich der Einzelheiten des Verfahrens verweise ich auf die Arbeit Pfaundler's.

Die Werthe n_2 und f_2 ergaben sich durch Berechnung. Zur Ausführung der Bestimmungen nach Mörner-Sjöqvist wurden Harnportionen

zu 10 ccm. mit 10 ccm. einer gesättigten Chlorbaryumlösung, die 5% Barythydrat enthielt, sodann mit 200 ccm. eines Gemenges gleicher Theile 96%igen Alkohols und Aether versetzt, am nächsten Tage in einem Rundkolben filtrirt, die Filtrate unter Zusatz von gekühlter Magnesia bei einer 60° nicht übersteigenden Temperatur abdestillirt. Der Rückstand wurde nun entweder ohne Weiteres zum Zwecke der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zersetzt, oder aber wiederum zur Feststellung jenes Stickstoffantheils benutzt, der sich daraus durch Erhitzen mit Metaphosphorsäure in Form von Ammoniak abspalten lässt.

Zu diesem Zwecke wurde der Destillationsrückstand durch Filtration von ungelöster Magnesia befreit, mit Wasser nachgewaschen, mit 5 g Metaphosphorsäure über Nacht auf 150°—160° erhitzt und das entstandene Ammoniak wie oben durch Destillation mit Magnesia bestimmt.

Ich führe die Ergebnisse der Analysen in tabellarischer Form an.

Die Eiweissbestimmung ergab für den Harn A einen Gehalt von 0,12%, für B von 0,07%.

Im Harn A fand sich: 94,68% Wasser,

3,63% anorganische Bestandtheile,

0,12% Eiweiss,

1,57% andere organische Substanzen.

100,00%

Zum Vergleiche führe ich eine von Léon Fredericq¹⁾ ausgeführte Analyse des Octopusblutes an:

86,3% Wasser,

3,0% Salze,

8,9% Eiweisskörper,

1,8% andere organische Substanzen.

100,0%

Art der Bestimmung	100 ccm. Harn A (enteiweisst) enthalten		100 ccm. Harn B (enteiweisst) enthalten	
	Gramm Stickstoff	Procent- Vertheil. des N ₂	Gramm Stickstoff	Procent- Vertheil. des N ₂
Gesamtstickstoff des Harns	0,00420) 0,00420)	100%	0,00340	100%
Ammoniakstickstoff (nach Schlössing)	0,00077	18,6%	0,00063	18,6%

1) l. c.

Art der Bestimmung	100 ccm. Harn A (enteiweisst) enthalten		100 ccm. Harn B (enteiweisst) enthalten	
	Gramm Stickstoff	Procent- Vertheil. des N.	Gramm Stickstoff	Procent- Vertheil. des N.
Harnstoffbestimmung nach Mörner-Sjöqvist		—	α) 0,00156	45,9%
dto. mit Abspaltung des N durch Phosphorsäure		—	β) 0,001121) γ) 0,00056	32,9% 16,5%
Phosphorwolframsäurenieder- schlag, Gesamtstickstoff . . .	0,00270	64,3%	0,00210	61,8%
Phosphorwolframsäurefiltrat Gesamtstickstoff berechnet	0,00150	35,7%	0,00130	38,2%
gefunden	0,00182	100,0%	—	100,0%
Phosphorwolframsäurenieder- schlag, abspaltbarer Stick- stoff n ₁ , gefunden	0,00175	41,7%	0,00119	35,0%
Phosphorwolframsäurenieder- schlag, nicht abspaltbarer Stickstoff n ₂ , berechnet	0,00095	22,6%	0,00091	26,8%
Phosphorwolframsäurefiltrat, abspaltbarer Stickstoff f ₁ , gefunden	0,00063	15,0%	0,00042	12,4%
Phosphorwolframsäurefiltrat, nicht abspaltbarer Stick- stoff f ₂ , berechnet	0,00087	20,7%	0,00088	25,8%
	0,00420	100,0%	0,00340	100,0%

Zum Vergleiche führe ich einige von Pfaundler ermittelte Werthe für die procentische Vertheilung des Stickstoffs im Harn des Menschen und des Hundes an.

	n ₁	n ₂	f ₁	f ₂	Ammoniak- Stickstoff
Menschlicher Harn	8,53	6,81	78,24	4,76%	—
Hund I	7,54	5,01	83,52	2,22%	4,30%
Hund II	6,96	2,23	85,91	4,30%	4,03%

1) Der Vorgang bei der Vornahme der beiden Bestimmungen war ein abweichender, insofern bei α) und γ) ein Gemenge von gleichen Theilen Alkohol und Aether, bei β) ein Gemenge von zwei Theilen Alkohol und einem Theil Aether angewandt wurde.

Die für die beiden untersuchten Harnen gefundenen Zahlen zeigen eine, in Anbetracht der Kleinheit der absoluten Werthe, um die es sich handelt, befriedigende Uebereinstimmung in Bezug auf das gegenseitige Verhältniss der Stickstoffvertheilung auf die einzelnen Fractionen. Die nähere Betrachtung unter Berücksichtigung der von Pfaundler für den Säugethierstoffwechsel festgestellten Beziehungen gestattet einige Schlüsse über die Art, in welcher der Cephalopodenorganismus seine Stickstoffausscheidung bewerkstelligt.

Die Fraction n_1 umfasst nach Pfaundler von den wichtigeren, bisher bekannten Harnbestandtheilen die Gesamtmenge des Ammoniaks und der Carbaminsäure, sowie einen Theil der Harnsäure, der Purinbasen und des Kreatinins. Im Octopus-harne ist die Fraction n_1 weitaus die grösste. Wie die direkte Bestimmung nach Schlösing lehrt, ist die relative Menge des Ammoniakstickstoffs eine sehr grosse und übertrifft diejenige des Hundes etwa um das Vierfache; der Octopus scheidet etwa $\frac{1}{5}$ seines gelösten Stickstoffs in Form von Ammoniak aus. Der Ammoniakstickstoff macht aber nur etwa die Hälfte der Fraction n_1 aus. Da die Harnsäure in gelöster Form kaum in Betracht kommt, Kreatinin nicht nachgewiesen werden konnte, so entfällt der Rest der Fraction auf Hypoxanthin. Die oben angeführte quantitative Bestimmung des Hypoxanthins lässt aber kaum die Annahme zu, dass dieses allein das erwähnte grosse Stickstoffdeficit decken könne. Es handelt sich jedenfalls daneben um andere Substanzen unbekannter Art.

In der Fraction f_1 traf Pfaundler den gesammten Harnstoff und etwa die Hälfte der Oxyproteinsäure an: auch Allantoin, Oxalursäure und Kreatin finden hier ihren Platz. Beim Säugethier ist diese Fraction die bei Weitem grösste; beim Octopus-harn ist sie gerade umgekehrt die kleinste. Diese Thatsache steht in Uebereinstimmung mit dem negativen Resultate der qualitativen Untersuchung auf Harnstoff. Immerhin müssen an Stelle des Harnstoffs andere, leicht Ammoniak abspaltende Substanzen vorhanden sein. Da ein Versuch ergab, dass bei Anwendung des Verfahrens von Mörner-Sjöqvist sich nach

Abdestilliren des Alkoholäthers eine durch Quecksilberacetat, nicht aber durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanz findet, ist die Vermuthung nicht ungerechtfertigt, dass die vorerwähnte durch Quecksilberacetat fällbare, in Nadelbüscheln krystallisirende, stickstoffhaltige Säure eine jener Substanzen sei, deren Stickstoff bei dem genannten Harnstoffbestimmungsverfahren, sowie auch in den Fractionen f_1 und f_2 zum Vorschein kommt.

Die Fraction f_2 enthält nach Pfaundler, neben dem Reste der Oxyproteinsäure, den Stickstoff der vorhandenen Amidosäuren, wie Hippursäure, Taurin, Cystin, Leucin, Tyrosin. Ich vermochte keine der letztgenannten Substanzen im Octopus-harne nachzuweisen, obgleich hier diese Fraction einen viel grösseren Theil des Stickstoffs ausmacht, als beim Säugethier.

Im Ganzen ergibt der Vergleich der Harnausscheidung der Cephalopoden mit derjenigen der Wirbelthiere, dass bei Ersteren die Verhältnisse der niedrigeren Entwicklungsstufe entsprechen. Während bei den Säugethieren der weitaus grösste Theil des Ammoniakstickstoffs vor der Ausscheidung durch die Nieren in Harnstoff umgeformt wird und diese Organe im normalen Zustande keinem Eiweisskörper in nennenswerther Menge den Durchtritt gestatten, sehen wir im Cephalopoden-harn viel Stickstoff in Form von Ammoniak den Körper verlassen: der Harnstoff scheint zu fehlen und ist, wenigstens zum Theil, ebenso wie bei den niedrigeren Wirbelthieren durch Harnsäure vertreten; endlich erscheint das normale Auftreten von Eiweiss im Harne als ein weiteres, vom vergleichend-physiologischen Standpunkte beachtenswerthes Moment.