

# Über die Bildung von Rechtsmilchsäure bei der Autolyse der tierischen Organe.

## III. Mitteilung.

### Die Milchsäurebildung bei der Autolyse des Muskels.

Von

**Katsuji Inouye und K. Kondo.**

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität zu Kyōto.)

Der Redaktion zugegangen am 20. Januar 1908.)

Daß sowohl bei der Tätigkeit wie bei der Totenstarre des Muskels eine Zunahme der darin enthaltenen Milchsäure stattfindet, ist allgemein anerkannt und durch zahlreiche Versuche festgestellt. Aber die Frage, ob diese Milchsäurebildung auf einer Lebenstätigkeit des Protoplasmas beruhe oder zu einem Fermentprozeß gerechnet werden muß, ist bis jetzt noch nicht mit Sicherheit entschieden worden.

Schon Emil Du Bois Reymond<sup>1)</sup> hat durch die Versuche, die die Lebenstätigkeit der Muskelzelle ausschließen, wahrscheinlich gemacht, daß die Säuerung des ausgeschnittenen Muskels durch ein Ferment bewirkt wird. Er hat nämlich sechs Muskeln, A, B, C, D, E, F, in Wasser von 45°, 50°, 55°, 60°, 75°, 100° getaucht und folgendes beobachtet: «Alle verlieren natürlich ihre Leistungsfähigkeit und werden totenstarr, die den höheren Temperaturen ausgesetzten sogar doppelt totenstarr, wegen der Gerinnung nicht nur des Muskelfaserstoffes, sondern auch des Muskeleiweißes. Untersucht man die Reaktion des Querschnittes dieser sechs Muskeln, so stößt man auf ein sehr unerwartetes Ergebnis. Muskel A reagiert, wie schon gesagt,

---

<sup>1)</sup> Emil Du Bois Reymond, Muskel- und Nervenphysik, 1877, Bd. II, S. 17—18.

entschieden sauer. Die Reaktion von Muskel B und C ist sehr zweifelhaft, die von B mehr säuerlich, die von C mehr neutral. Muskel D ist durchaus neutral, Muskel E neigt zum Alkalischen, und endlich Muskel F, der fünf Minuten in siedendem Wasser verweilt hat, reagiert ganz deutlich alkalisch.»

Otto Nasse<sup>1)</sup> hat auch in überzeugender Weise dargestellt, daß die unter den verschiedenen Bedingungen sich geltend machende Milchsäurebildung im Muskel durch einen Fermentprozeß bedingt ist und sich unabhängig von einer Einwirkung des lebenden Protoplasmas vollzieht.

In der Tat ist es Julius Stoklasa<sup>2)</sup> und seinen Schülern gelungen, ein Ferment aus Muskel darzustellen, das die Milchsäure aus Traubenzucker zu bilden vermag.

Dagegen fielen eine Reihe von Versuchen einiger Forscher zu Ungunsten der Fermenttheorie aus. E. Salkowski<sup>3)</sup> digerierte die Schenkelmuskulatur von einem Hunde mit Chloroformwasser 67—92 Stunden lang bei Bruttemperatur und hat die Digestionsprodukte der genaueren Untersuchung unterworfen. Hierbei konnte er auffallenderweise nicht eine Bildung von Milchsäure und in Wasser löslicher Säure überhaupt beobachten. Auf Grund dieser Beobachtung glaubt er annehmen zu dürfen, daß «der Muskel nicht Milchsäure bildet, weil er stirbt, sondern weil er lebt, und sie nur bildet, so lange er lebt.» Für diese Anschauung trat Arthur Heffter<sup>4)</sup> auf, indem er zeigte, daß bei der Katze und dem Frosch die im Muskel enthaltene Milchsäure keine Vermehrung bei der Totenstarre erfährt.

Die Versuche von Salkowski sind ferner von Heinrich Schwiening<sup>5)</sup> mit der Muskulatur von Kaninchen wiederholt und glatt bestätigt worden. Er sagt: «Insofern bestätigen meine Versuche jedoch die früheren, daß der Prozeß der Autodigestion

<sup>1)</sup> Otto Nasse, Hermanns Handbuch d. Physiologie, Bd. I, S. 277.

<sup>2)</sup> Stoklasa, Zentralbl. f. Physiol., Bd. XVI, S. 712.

<sup>3)</sup> E. Salkowski, Zeitschr. f. klinische Medizin, Bd. XVII, Suppl. S. 96—97.

<sup>4)</sup> Heffter, Archiv f. experim. Pathol. und Pharmakol., Bd. XXXI, S. 250.

<sup>5)</sup> Schwiening, Virchows Archiv, Bd. CXXXVI, S. 450.

keinen vermehrenden Einfluß hat auf die Bildung von in Wasser löslichen Säuren.

An dieser Stelle ist auch die Arbeit von M. Fletscher und F. Gowland Hopkins<sup>1)</sup> zu erwähnen. Sie stellten ausgedehnte Untersuchungen über das Verhalten und die Quantität der unter den verschiedenen Bedingungen in Muskeln von Froschschenkeln gebildeten Milchsäure an und gelangten zu dem Ergebnis, daß die Bildung von Milchsäure lediglich auf die Wirkung des lebenden Protoplasmas zurückzuführen ist.

Angesichts der so widersprechenden Anschauungen erschien uns im Interesse einer weiteren Aufklärung der Frage nach der Entstehung der Rechtsmilchsäure im Muskel die Anstellung systematischer Versuche erwünscht. Zu diesem Zwecke haben wir die Muskeln von den verschiedenen Tierarten der Autolyse unterworfen und die dabei gebildeten Digestionsprodukte auf Rechtsmilchsäure untersucht. Nach den Forschungsergebnissen der letzten Jahre darf es als festgestellt gelten, daß alle autolytischen Vorgänge ihr Zustandekommen den in den Zellen enthaltenen Fermenten, Endoenzymen, zu verdanken haben. Wenn nun bei der Autolyse des Muskels die Vermehrung der darin vorhandenen Rechtsmilchsäure mit Sicherheit erwiesen wäre, so wäre man berechtigt, zu behaupten, daß im Muskel ein milchsäurebildendes Ferment vorliegt, welches unter Ausschluß von vitalen Prozessen wirksam ist.

Die Versuchsanordnung erfolgte genau nach der Vorschrift von J. Mochizuki und R. Arima. Einem soeben getöteten Tiere wurde die Muskulatur entnommen, fein zerhackt und gewogen; darauf wurde die gewogene Masse mit doppeltem Volumen sterilisierten Wassers versetzt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform in den Brutschrank gestellt.

Die Ausführung der Milchsäurebestimmung geschah in der von J. Mochizuki und R. Arima<sup>2)</sup> geübten Weise.

<sup>1)</sup> M. Fletscher und F. Gowland Hopkins, *Journal of Physiology*, Vol. XXXV, p. 296.

<sup>2)</sup> J. Mochizuki und R. Arima, *Diese Zeitschrift*, Bd. XLIX, S. 108.

### I. Versuche mit den Kaninchenmuskeln.

Andreas Takács<sup>1)</sup> hat zuerst den Gehalt der Kaninchenmuskeln an Milchsäure auf 0,32 bis 0,905 % angegeben, aber in den meisten Bestimmungen 0,3 bis 0,5 % gefunden. Astaschewsky<sup>2)</sup> erhielt 0,244 bis 0,275 % milchsaures Zink aus den frisch verarbeiteten Muskeln von Kaninchen. R. Blome<sup>3)</sup> stellte als Durchschnittswert der Milchsäure 0,894 % fest, wobei sich Schwankungen von 0,873—0,931 % fanden. Die angeführten Zahlenwerte sind leider nicht ganz brauchbar, denn wir haben durch die besonderen Versuche bewiesen, daß die Methoden, welche die genannten Forscher für die Bestimmung der Milchsäure angewandt hatten, an verschiedenen Mängeln leiden. Wir haben deshalb einen Kontrollversuch auf jeden autolytischen Versuch folgen lassen, um sicher zu ermitteln, welchen Einfluß die Autolyse des Muskels auf die darin vorgebildete Rechtsmilchsäure ausübt.

#### Versuch 1.

Ein mittelgroßes gut gefüttertes Kaninchen wurde durch Verbluten aus der Carotis getötet. Sofort nach dem Tode die Muskeln von Knochen abgelöst, zerhackt und zwei Anteile zu je 298 g abgewogen. Der eine Anteil wurde gleich auf Milchsäure verarbeitet, der andere nach 7 tägiger Digestion.

Es wurden gefunden:

Aus dem frisch verarbeiteten Anteile	0,4109 g Zinklactat.
Aus dem 7 Tage digestierten	1,8386

#### Versuch 2.

Zwei gut ernährte Kaninchen wurden durch Durchschneidung der Carotis getötet. Von den abpräparierten und zerkleinerten Muskeln wurden 5 Portionen zu 200 g abgewogen, die erste nach vorherigem Kochen 7 Tage lang bei Bruttemperatur erhalten und dann auf Milchsäure verarbeitet, die

<sup>1)</sup> A. Takács, Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 372.

<sup>2)</sup> Astaschewski, Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 402.

<sup>3)</sup> R. Blome, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXVIII, S. 123.

übrigen auf die übliche Weise digeriert. Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Dauer der Autolyse	Gewicht der Muskeln g	Gewicht des erhaltenen Zinklactates g	Bemerkungen
7 Tage	200	0,5365	Vor der Digestion gekocht
1 Tag	200	0,8357	
2 Tage	200	0,9861	
4 „	200	0,5390?	
7 „	200	0,8593	

Die einzelnen Portionen des Zinklactates aus den autolysierten Muskeln wurden vereinigt und durch Umkrystallisation aus heißem Wasser gereinigt.

Gehalt an wasserfreiem Zinklactat in 100 ccm Lösung = 3,46 g, Rohrlänge = 2 dm: die beobachtete Drehung bei 20° C. = - 0,58°. Hieraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} = - 8,38^\circ.$$

0,3163 g Substanz verloren bei 110° C. 0,0414 g H<sub>2</sub>O = 13,09% H<sub>2</sub>O  
 0,1208 „ wasserfreier Substanz gaben 0,0404 „ ZnO = 27,07% Zn  
 0,1557 „ „ „ „ 0,1713 „ CO<sub>2</sub> = 30,01% C  
 und 0,0590 „ H<sub>2</sub>O = 4,24% H.

Berechnet für (C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Zn + 2 H <sub>2</sub> O:	Gefunden:
H <sub>2</sub> O = 12,9%	13,09%
C = 29,57%	30,01%
H = 4,19%	4,24%
Zn = 26,86%	27,07%

Die Portionen des Zinklactates aus den frischen Kaninchenmuskeln wurden auf die gleiche Weise behandelt wie das Zinksalz aus den autolysierten und erwiesen sich als identisch mit dem rechtsmilchsauren Zink.

Eine wässrige Lösung, die in 13 ccm 9,4497 g wasser-

freies Zinksalz enthielt, drehte im 2 dm-Rohr bei 20° C. 0,58° nach links. Demnach:

$$[\alpha]_D^{20} = - 8,38^\circ.$$

0,5167 g Substanz verloren bei 110° C. 0,0669 g H<sub>2</sub>O  $\approx$  12,94% H<sub>2</sub>O  
 0,2053 g wasserfreier Substanz gaben 0,0695 g ZnO = 27,19% Zn.

Der Versuch 1 zeigt, daß ungefähr viermal soviel Rechtsmilchsäure in den der 7tägigen Digestion ausgesetzten Muskeln aufzufinden ist, als in den frisch verarbeiteten; aus dem Versuch 2 geht auch hervor, daß die Quantität der gewonnenen Rechtsmilchsäure vom 1. bis zum 2. Digestionstage allmählich ansteigt. Somit ist mit Sicherheit erwiesen, daß bei der Autolyse der Kaninchenmuskeln die Bildung von Rechtsmilchsäure erfolgt.

Da nun diese Ergebnisse mit den Angaben von E. Salkowski und Heinrich Schwiening in direktem Widerspruch stehen, so konnten wir nicht umhin, nachstehende Versuche genau nach den von ihnen beschriebenen Methoden<sup>1)</sup> anzustellen.

### Versuch 3.

Ein kräftiges Kaninchen durch Verblutung aus Carotis getötet. Die schnell abpräparierten Muskeln zerhackt und zwei Portionen von je 267 g abgewogen: die eine sofort mit 2670 ccm Chloroformwasser in einer sterilisierten Flasche bei Bruttemperatur digeriert (Hauptversuch A), die andere nach dem Kochen mit Wasser auf die gleiche Weise behandelt wie in Hauptversuch (Kontrollversuch B): Nach 48stündiger Digestion wurden die beiden Portionen auf Milchsäure verarbeitet. Es wurden gefunden:

Bei A: 0,3750 g Zinklactat

» B: 0,1164 » »

### Versuch 4.

Die Muskeln von einem soeben getöteten Kaninchen wurden zerkleinert und dann zwei Portionen von je 270 g genau so behandelt, wie es in Versuch 3 angegeben ist. Nach 48stündiger Digestion wurden gefunden:<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> a. a. O.

<sup>2)</sup> Die Milchsäurebestimmung geschah genau nach der Vorschrift von Schwiening. Vgl. a. a. O.

Bei A: 1,4656 g Zinklactat

» B: 0,7862 »

Wie aus den folgenden analytischen Daten hervorgeht, erwies sich das bei den Hauptversuchen gewonnene Zinklactat als identisch mit dem rechtsmilchsauren Zink.

0,4651 g Zinklactat verloren bei 110° C.	0,0607 g H <sub>2</sub> O	= 13,05% H <sub>2</sub> O
0,1667 » wasserfreier Substanz gaben	0,0554 » ZnO	= 26,70% Zn
0,2099 »	0,2279 » CO <sub>2</sub>	= 29,70% C
	0,0803 » H <sub>2</sub> O	= 4,29% H
	und 0,0703 » ZnO	= 26,81% Zn.

Aus den erwähnten Versuchen ist ohne weiteres eine gewaltige Zunahme der Rechtsmilchsäure bei der Digestion der Kaninchenmuskeln mit Chloroformwasser bei Bruttemperatur wahrnehmbar. Worauf die abweichenden Beobachtungen von E. Salkowski und Heinrich Schwiening beruhen, läßt sich nicht erklären.

## II. Versuche mit Hühnermuskeln.

Über den Gehalt der Vogel­muskeln an Milchsäure liegt bisher nur eine Angabe von B. Demant<sup>1)</sup> vor. Er untersuchte die Pectoralmuskeln gut gefütterter und hungernder Tauben auf die Extraktivstoffe und fand in den ersteren ein wenig mehr Milchsäure, 0,297 bis 0,41%, als in den letzteren, 0,229 bis 0,371%. Welcher Art diese Milchsäure gewesen war, darüber ist keine Klarheit vorhanden.

### Versuch 5.

Ein großer Hahn durch Dekapitation getötet. Von den zerhackten Muskeln wurden zwei Portionen zu 300 g abgewogen, die erste sofort, die zweite nach 24 stündiger Digestion auf Milchsäure verarbeitet. Es wurden gefunden:

aus den frischen Muskeln: 1,5920 g Zinklactat

» autolysierten Muskeln: 2,4615 g Zinklactat.

### Versuch 6.

Ein Hahn durch Dekapitation getötet. Sofort nach dem Tode die Muskeln abpräpariert und zerhackt, zwei Portionen von je 230 g abgewogen und folgendermaßen behandelt:

<sup>1)</sup> B. Demant, Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 386.

Die eine Portion mit doppeltem Volumen Wasser gekocht und dann nach dem Erkalten mit Chloroform und Toluol versetzt, die andere ohne weiteres mit doppeltem Volumen chloroform- und toluolhaltigen Wassers übergossen. Die beiden Portionen wurden nach 7 tägiger Digestion auf Milchsäure verarbeitet.

Es wurden gefunden:

aus der vorher gekochten und dann digestierten Portion

0,5486 g Zinklactat,

aus der direkt digerierten Portion 0,9531 g Zinklactat.

### Versuch 7.

Ein großer, kräftiger Hahn enthauptet. Von den zerhackten Muskeln wurden 5 Portionen zu 110 g abgewogen, die erste sofort verarbeitet, die übrigen digeriert. Die folgende Tabelle weist die erhaltenen Resultate auf.

Tabelle II.

Dauer der Autolyse	Gewicht der Muskeln g	Gewicht des gewonnenen Zinklactats g
Sofort verarbeitet	110	0,2689
1 Tag	110	0,4732
2 Tage	110	0,5315
4	110	0,7210
7	110	0,5170

Zur Analyse wurden die einzelnen Portionen des aus den autolysierten Hühnermuskeln dargestellten Zinklactates vereinigt und durch Umkrystallisation aus heißem Wasser unter Zusatz von Alkohol gereinigt.

Eine wässrige Lösung, die in 16,5 ccm 0,8056 g wasserfreien Zinklactates enthielt, drehte im 2 dm-Rohr im Mittel mehrerer Beobachtungen bei 20° — 0,788°, demnach ist:

$$[\alpha]_D^{20} = -8,07^\circ.$$

0,4203 g Zinklactat verloren bei 110° C. 0,0549 g H<sub>2</sub>O = 13,06% H<sub>2</sub>O  
 0,2255 » wasserfreie Substanz gaben 0,0749 » ZnO = 26,68% Zn  
 0,1506 » » » » 0,1626 » CO<sub>2</sub> = 29,44% C  
 » » » » 0,0560 » H<sub>2</sub>O = 4,18% H  
 und 0,0505 » ZnO = 26,94% Zn

Das aus den frischen Hühnermuskeln gewonnene Zinklactat erwies sich nach einmaliger Umkrystallisation aus heißem Wasser unter Zusatz von Alkohol als analysenrein.

Eine wässerige Lösung, die in 16,5 ccm 0,5808 g wasserfreien Zinklactates enthielt, drehte im 1 dm-Rohr bei 20° C. 0,296° nach links, daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} = - 8,40^\circ.$$

0,6693 g Zinklactat verloren bei 110° C.	0,0885 g H <sub>2</sub> O	= 13,22% H <sub>2</sub> O
0,1970 g wasserfreier Substanz gaben	0,2124 g CO <sub>2</sub>	= 29,44% C
	0,0734 g H <sub>2</sub> O	= 4,17% H
	und 0,0662 g ZnO	= 26,99% Zn.

Der Gehalt der Hühnermuskeln an Rechtsmilchsäure ist ziemlich großen Schwankungen unterworfen. Wir fanden in den geschilderten Versuchen 0,173 bis 0,370%.

Vergleicht man nun bei jedem Versuche die Quantität der aus den frischen Muskeln erhaltenen Rechtsmilchsäure mit derjenigen der aus den autolysierten Muskeln dargestellten, so läßt sich nicht verkennen, daß bei der Autolyse eine bedeutende Zunahme der Rechtsmilchsäure erfolgt. Der Versuch 7 zeigt ferner, daß die Menge der Rechtsmilchsäure fortwährend vom 1. bis zum 4. Digestionstage ansteigt, um vom 7. ab, wahrscheinlich noch früher, wieder abzusinken.

### III. Versuche mit Karpfenmuskeln.

In seiner berühmten Arbeit über die Bestandteile der Flüssigkeiten des Fleisches äußert sich Justus von Liebig<sup>1)</sup> folgendermaßen: «Die Fleischflüssigkeit, welche z. B. aus Hechtfleisch erhalten wird, dampft man zur Sirupkonsistenz ab und vermischt sie mit einer Auflösung von Gerbsäure in Wasser, wodurch ein dicker, gelblichweißer, in der Wärme pechartig zusammenfließender Niederschlag gebildet wird; die davon getrennte Flüssigkeit wird im konzentrierten Zustande, ganz wie oben angegeben, mit Schwefelsäure oder Oxalsäure behandelt, und man behält zuletzt in ätherischer Lösung ein Gemenge von

<sup>1)</sup> Justus Liebig, Liebigs Annal., Bd. LXII, S. 328.

Gallussäure (durch Oxydation der Gerbsäure) und Milchsäure, aus der die Gallussäure noch bei Entfernung des Äthers zum Teil auskrystallisiert. Ohne diese Krystalle zu trennen, sättigt man das Säuregemenge mit Kalkmilch, filtriert die Flüssigkeit von dem sich tief dunkelbraun oder schwarz färbenden Rückstand ab, behandelt dieselbe, wenn sie gefärbt ist, mit Blutkohle und dampft sie zur Krystallisation ein, wo nach einiger Zeit milchsaurer Kalk von vollkommener Weise auskrystallisiert. Es gebührt also das Verdienst Justus von Liebig, zuerst das Vorkommen von Milchsäure in Fischmuskeln dargetan zu haben.

Hinsichtlich der quantitativen Analyse der Milchsäure des Fischfleisches müssen die Beobachtungen von H. Limpricht<sup>1)</sup> Erwähnung finden, nach denen die Fleischflüssigkeit der Plötzen 0,064% Milchsäure enthält.

#### Versuch 8.

Nach der Entfernung des Kopfes und der Schuppen wurden die Muskeln von einem Karpfen zerhackt, 3 Portionen zu 170 g abgewogen, die eine sofort verarbeitet, die übrigen zur Digestion angesetzt.

Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

Dauer der Digestion	Gewicht der Muskeln g	Gewicht des gewonnenen Zinklactates g
Sofort verarbeitet	170	0,4199
2 Tage	170	0,6805
4 .	170	0,7798

#### Versuch 9.

Ein großer Karpfen enthauptet und abgeschuppt. Von der zerhackten Muskelmasse wurden 4 Portionen von je 300 g abgewogen und genau so behandelt wie im 8. Versuch. Das weitere zeigt die Tabelle.

<sup>1)</sup> H. Limpricht, Liebigs Annal., Bd. CXXVII, S. 188.

Tabelle IV.

Dauer der Digestion	Gewicht der Muskeln g	Gewicht des gewonnenen Zinklactates g
Sofort verarbeitet	300	1,3157
1 Tag	300	1,4222
2 Tage	300	1,3923
4 »	300	1,3015

Die Einzelportionen des aus den autolysierten Muskeln erhaltenen Zinklactates wurden vereinigt und durch Umkrystallisation gereinigt.

0,6460 g wasserfreien Zinklactates, in 10 ccm H<sub>2</sub>O gelöst und in 1 dm langem Rohre und bei 20° C. beobachtet, bewirkten eine Drehung von — 0,547°. Daraus ergibt sich:

$$[\alpha]_D^{20} = - 8,47^\circ.$$

0,2428 g Substanz verloren bei 110° C.	0,0317 g H <sub>2</sub> O = 13,05% H <sub>2</sub> O
0,3320 » » » 110° »	0,0423 » » = 12,74% »
0,1728 » wasserfreien Salzes gaben	0,0574 » ZnO = 26,69% Zn
0,1503 » » » »	0,1633 » CO <sub>2</sub> = 29,63% C
	0,0558 » H <sub>2</sub> O = 4,15% H
	und 0,0501 » ZnO = 26,78% Zn.

Das gereinigte Zinklactat aus den frischen Muskeln gab bei der Untersuchung der optischen Eigenschaft und den Analysen die folgenden Werte.

0,4371 g wasserfreien Zinklactates, in 10,5 ccm H<sub>2</sub>O gelöst und in 1 dm langem Rohre und bei 20° C. beobachtet, zeigten eine Drehung von — 346°. Daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D^{20} = - 8,31^\circ.$$

0,5024 g Substanz verloren bei 110° C.	0,0653 g H <sub>2</sub> O = 12,99% H <sub>2</sub> O
0,1980 » wasserfreien Salzes gaben	0,0662 » ZnO = 26,67% Zn
0,1249 » » » »	0,1353 » CO <sub>2</sub> = 29,52% C
	0,0490 » H <sub>2</sub> O = 4,39% H
	und 0,0418 » ZnO = 26,88% Zn.

Es scheinen die Karpfenmuskeln die Rechtsmilchsäure in wechselnden Mengen zu enthalten, wir fanden nämlich bei den

obigen Versuchen 0,181 bis 0,321‰. Bei der Digestion dieser Muskeln macht sich eine Zunahme der Rechtsmilchsäure bemerkbar, wenn auch nicht so bedeutend wie bei der Autolyse der Muskeln von Warmblütern. Daß im Verlauf der Autolyse die gebildete Rechtsmilchsäure hier auch allmählich der Zersetzung anheimfällt, geht aus den in die Tabellen III und IV eingetragenen Zahlen hervor.

Im Anschluß an die Beobachtungen von Adolf Magnus Levy,<sup>1)</sup> J. Mochizuki und R. Arima<sup>2)</sup> und T. Kikkoji<sup>3)</sup> konnten wir in den obigen Versuchen zeigen, daß bei der Digestion der Muskeln von den verschiedenen Tieren mit dem das Chloroform und Toluol enthaltenden Wasser bei der Bruttemperatur die Bildung von Rechtsmilchsäure stattfindet, die vom 1. bis zum 4. Tage fortbesteht. Sollte aber die Digestion über 5 Tage fortgesetzt sein, so macht sich stets eine milchsäurezerstörende Wirkung geltend.

Wer in diesen Ergebnissen nun einen Beleg dafür sehen wollte, daß die Bildung von Rechtsmilchsäure mit dem Absterben der Muskeln aufhöre, und daß es also das lebende Protoplasma sei, das die Rechtsmilchsäure zu bilden imstande ist, den möchten wir zuerst an die Angaben von E. Salkowski<sup>4)</sup> erinnern, die lauten wie folgt: Hefe, die man mit gesättigtem Chloroformwasser behandelt hat, hat ihre wesentlichsten, vom Leben des Protoplasmas abhängigen Eigenschaften eingebüßt: sie vermag keine Gärung mehr zu erregen und sich nicht zu vermehren. Dasselbe gilt für entwickelte Bakterienformen (nicht für Sporen). Es ist nicht abzusehen, warum das Protoplasma der tierischen Zellen sich anders als Hefezellen und Bakterien verhalten soll, es ist um so weniger abzusehen, als ich gefunden habe, daß das Chloroform beim lebenden Tiere eine spezifisch deletäre

<sup>1)</sup> Adolf Magnus Levy, Hofmeisters Beiträge, Bd. II, S. 261.

<sup>2)</sup> J. Mochizuki und R. Arima, Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 108.

<sup>3)</sup> T. Kikkoji, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 415.

<sup>4)</sup> E. Salkowski, Zeitschrift f. klin. Mediz., Bd. XVII, Suppl., S. 96—97.

Wirkung auf das Protoplasma ausübt, Organeeiweiß zum Zerfall bringt.» Wir möchten ferner hervorheben, daß Emil Fischer und Paul Lindner<sup>1)</sup> durch die Versuche festgestellt hatten, daß das Toluol eine genügende antiseptische — protoplasmaschädigende — Kraft besitzt, ohne einen wesentlichen Einfluß auf die Wirkungen der Fermente auszuüben. Wir möchten endlich erwähnen, daß es von alters her bekannt ist, daß die Muskeln in Wasser in kurzer Zeit unter starker Quellung un-erregbar werden.

Diese Tatsachen, zu welchen noch andere hinzutreten, deren Aufzählung hier zu weit führen würde, machen wenigstens in unseren Fällen die Wirkung von lebendigem Protoplasma unwahrscheinlich, lassen dagegen die Annahme eines den Fermenten nahestehenden Agens wohl begründet erscheinen, das in Muskeln vorhanden ist.

Um jeden Zweifel an der Unabhängigkeit der Milchsäurebildung von der Lebenstätigkeit der Muskelzellen zu beseitigen, haben wir die folgenden Versuche angestellt.

#### Versuch 10.

425 g frischer, zerkleinerter Kaninchenmuskeln wurden mit Quarzsand fein zerrieben, mit 425 ccm Chloroformwasser durchgerührt und mittels einer Presse ausgepreßt. Das Extrakt lieferte nach Filtration eine Flüssigkeit, die sich unter dem Mikroskope als frei von Zelldetritus erwies: diese Flüssigkeit wurde in 2 Anteile von je 250 ccm geteilt, der eine nach dem Kochen, der andere sofort bei Gegenwart von Toluol bei Brutttemperatur digeriert. Nach 4 tägiger Digestion wurden die beiden Anteile auf Milchsäure verarbeitet. Es wurden gefunden

aus dem nach dem Kochen digerierten Anteile	0,3795 g Zinklactat
sofort	0,5123 »

#### Versuch 11.

785 g frischer, zerhakter Kaninchenmuskeln mit Quarzsand zerrieben, mit 785 ccm Chloroformwasser versetzt und dann auf die gleiche Weise behandelt wie in Versuch 11. Vom

<sup>1)</sup> Emil Fischer und P. Lindner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXVIII, S. 3035.

Filtrate des Extraktes wurden 3 Portionen zu 200 ccm abgemessen, die eine sofort verarbeitet, die übrigen in den Brutschrank gestellt. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle V.

Dauer der Digestion	Menge des filtrierten Extraktes ccm	Gewicht des erhaltenen Zinklactates g
Sofort verarbeitet	200	0,3779
2 Tage	200	0,4853
4 "	200	0,5521

Diese Versuche zeigen übereinstimmend, daß die Rechtsmilchsäure auch bei der Autolyse des zellfreien Extraktes aus Kaninchenmuskeln zunimmt. Diese Zunahme aber unterbleibt völlig, wenn das Extrakt vor der Digestion einmal zum Sieden erhitzt worden ist. Hierdurch ist mit Sicherheit erwiesen, daß die Entstehung der Rechtsmilchsäure in den autolytierten Muskeln nicht mit dem Zelleben im direkten Zusammenhang steht, sondern als rein chemischer Vorgang zu betrachten ist.

Was die Natur des Agens betrifft, das den genannten chemischen Vorgang hervorruft, so wird man nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß es sich um ein Ferment handelt. Ob dieses Ferment mit den von Julius Stoklasa und seinen Schülern<sup>1)</sup> isolierten identisch ist, muß durch weitere Untersuchung entschieden werden.

Es ist hier am Platze, der alten, berühmten Arbeit von O. Schultzen und L. Riess zu gedenken, die sich auf das Auftreten von Fleischmilchsäure im Harn bei der Phosphorvergiftung und der akuten gelben Leberatrophie bezieht. Daß diese Fleischmilchsäureausscheidung sich notwendig mit der Autolyse der Organe verknüpft, ist wohl zu erwarten und durch

<sup>1)</sup> Julius Stoklasa, a. a. O.

die Untersuchung der Phosphorleber höchst wahrscheinlich gemacht. So berichtet Martin Jakoby,<sup>1)</sup> daß die Phosphorleber schon im lebenden Tiere eine Veränderung erfährt (Auf-treten von Leucin und Tyrosin, Vermehrung des leicht austreibbaren Stickstoffs), wie sie einem autolytischen Prozeß entspricht. Adolf Magnus Levy<sup>2)</sup> hat ferner festgestellt, daß die Autolyse der Leber stets reichliche Bildung von der Rechtsmilchsäure und der inaktiven Milchsäure zur Folge hat. Daß sich bei der akuten gelben Leberatrophie ein Vorgang in der Leber vollzieht, welcher der Autolyse sehr nahe steht, brauchen wir nicht hervorzuheben. Wir können daher durchaus nicht W. M. Fletscher und F. Hopkins<sup>3)</sup> beistimmen, wenn sie behaupten: «Magnus Levy, who found (in the case of liver tissue) that lactic acid increased during aseptic, and to a less degree during antiseptic autolysis, suggested that Salkowski's negative results were due to the shortness of the period for autolysis allowed by the latter. We doubt if this explanation could hold in the case of muscle, and believe that, even though the liver was concerned, the production probably occurred in the earliest stages of Magnus Levys experiments and was a survival product rather than a post mortem autolytic product.»

Durch die Untersuchungen über die Wirkungen des Sauerstoffmangels auf den Gehalt des Harns an Eiweiß, Zucker und Rechtsmilchsäure ist von Torasaburo Araki<sup>4)</sup> der Nachweis erbracht, daß, so weit als diese Untersuchungen reichen, der Übertritt dieser Substanzen in den Harn als eine Folge des Sauerstoffmangels erscheint, gleichzeitig, ob in der einen oder andern Weise der Sauerstoffmangel herbeigeführt war. Es ist auch Hermann Zillessen<sup>5)</sup> gelungen, die Entstehung der Rechtsmilchsäure im lebenden Muskel beim Sauerstoffmangel darzutun, indem er den arteriellen Zufluß eines bestimmten Muskelgebietes eine Zeitlang abspernte, dann die Ligatur wieder löste

<sup>1)</sup> Martin Jakoby, Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 176.

<sup>2)</sup> Adolf Magnus Levy, a. a. O.

<sup>3)</sup> W. M. Fletscher und F. Hopkins, a. a. O., S. 274.

<sup>4)</sup> Torasaburo Araki, Diese Zeitschrift, Bd. XIX, S. 422.

<sup>5)</sup> H. Zillessen, Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 387.

und beträchtliche Rechtsmilchsäuremengen im aus der entsprechenden Vene abgeflossenen Blut fand.

Auf Grund der Untersuchungen von Torasaburo Araki und Hermann Zillesen glaubt Felix Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> annehmen zu dürfen, daß die Rechtsmilchsäure sich dann in den Organen bildet, wenn der Zutritt von Sauerstoff zu denselben auf irgend eine Weise verhindert ist. Diese Annahme steht keineswegs mit der Anschauung der fermentativen Rechtsmilchsäurebildung im Widerspruch. Es ist möglich, daß beim Sauerstoffmangel die Zellen ihre Regulationsfähigkeit gegen die Fermentwirkung einbüßen oder daß diese abgeschwächt wird, und infolge dessen die Fermente ihre Wirkungen im vollen Umfang entfalten. Wenn das rechtsmilchsäurebildende Ferment kräftiger auf die rechtsmilchsäuregebenden Substanzen einwirkt wie sonst, und wenn die neugebildete Rechtsmilchsäure von der Oxydation verschont bleibt, so ist erklärlich, daß der Sauerstoffmangel bei den gut ernährten Tieren stets eine bedeutende Ausscheidung der Rechtsmilchsäure im Harn zur Folge hat.

Wir wenden uns nun zu einem rechtsmilchsäurezerstörenden Prozeß, der im Verlauf der Autolyse in Erscheinung tritt. Wenn uns auch bis jetzt nicht gelungen ist, das Agens zu isolieren, das den genannten Prozeß hervorruft, sind wir geneigt, hier auch eine fermentative Wirkung anzunehmen. Hierfür sprechen die folgenden Versuche, nach denen die Fähigkeit des Muskelextraktes, Rechtsmilchsäure zu zerstören, durch Kochhitze vollständig aufgehoben wird.

### Versuch 12.

Ein kräftiges Kaninchen verblutet. 299 g Muskeln fein zerhackt, mit 598 ccm sterilisierten Wassers durchgerührt und unter Zusatz von Toluol und Chloroform bei 37° digeriert. Nach 4tägiger Digestion wurde die Digestionsmasse koliert und das Kolat in 3 gleiche Anteile geteilt. Der erste Anteil wurde sofort auf Milchsäure verarbeitet; der zweite, nachdem sie noch 3 Tage

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Festschrift zu Virchows Jubiläum, 1891, S. 1.

zur Digestion ausgesetzt war: der dritte wurde nach dem Kochen auf die gleiche Weise behandelt wie der zweite. Es wurden gefunden:

aus dem 1. Anteile	0,2413 g Zinklactat
2.	0,0972
3.	0,2323

### Versuch 13.

Ein großes Kaninchen verblutet. Von der zerhackten Muskelmasse wurden 3 Anteile zu 255 g abgewogen. Der erste Anteil sofort auf Milchsäure verarbeitet: der zweite mit doppeltem Volumen keimfreien Wassers versetzt, 10 Tage lang bei Gegenwart von Toluol und Chloroform digeriert und dann auf Milchsäure untersucht: der dritte unter den gleichen Bedingungen, wie bei dem zweiten, zur Digestion angesetzt, am 4. Digestionstage zum Sieden erhitzt und dann 6 Tage lang bei Bruttemperatur gehalten.

Es wurden gefunden:

Aus dem 1. Anteile	0,8105 g Zinklactat.
2	1,1299
3	1,3389 „

Ob das Muskelextrakt befähigt ist, *i*- und *l*-Milchsäuren in der gleichen Weise zu zerstören wie Rechtsmilchsäure, ob die zugesetzte Rechtsmilchsäure ebenso leicht abgebaut wird wie die neugebildete und welche Abbauprodukte dabei entstehen, bleibt der weiteren Untersuchung vorbehalten.

Wir gelangen endlich zur Erörterung der Frage über die Herkunft der Rechtsmilchsäure.

Die Bildung von Milchsäuren aus Kohlenhydraten außerhalb des Organismus kann bekanntlich leicht erreicht werden, nicht allein durch Bakterien verschiedener Art, sondern auch durch Einwirkung von Ätzalkalien.

Es fehlt auch nicht an Beobachtungen, welche dafür sprechen, daß die Rechtsmilchsäure aus Kohlenhydraten im Organismus entsteht. M. Berlinerblau<sup>1)</sup> leitete durch die Hin-

<sup>1)</sup> M. Berlinerblau, Archiv f. experim. Pathol. und Pharmakol., Bd. XXIII, S. 333.

terteile von Hunden und Kaninchen Blut, dem Glykogen oder Glukose zugesetzt worden war, und fand dabei eine beträchtliche Vermehrung der darin enthaltenen «Fleischmilchsäure». Aus den Versuchen, die Vaughan Harley<sup>1)</sup> an Hunden angestellt hatte, geht hervor, daß der in die Jugularvene injizierte Zucker sich unter Bildung von «Milchsäure» zersetzt. Torasaburo Araki<sup>2)</sup> gibt an, daß die Bildung von Rechtsmilchsäure im Tierkörper beim Sauerstoffmangel stets vom Verbrauch des Glykogens begleitet wird. G. Embden<sup>3)</sup> hat durch die künstlichen Durchblutungsversuche der glykogenhaltigen sowie glykogenfreien Leber den Nachweis erbracht, daß die «Milchsäure» als ein intermediäres Produkt beim Kohlenhydratstoffwechsel entsteht. Erwähnt seien noch die interessanten Versuche von Arthur R. Mandel und Graham Lusk<sup>4)</sup>, durch welche gezeigt wird, daß die reichlich vorhandene «Milchsäure» in dem Blute und dem Harn von den mit Phosphor vergifteten Hunden sofort verschwindet, wenn die letzteren durch die Verabreichung des Phloridzins diabetisch gemacht wird.

Zieht man die geschilderten Tatsachen in Erwägung, so unterliegt keinem Zweifel, daß die Kohlenhydrate, wenn auch nicht ausschließlich, als eine Quelle der Rechtsmilchsäure im tierischen Organismus anzusehen sind. Man muß daher Felix Hoppe-Seyler<sup>5)</sup> recht geben, wenn er sich über den Ursprung der Rechtsmilchsäure äußert wie folgt: «Die Milchsäure entsteht durch eine Spaltung aus Kohlenhydrat in Übereinstimmung mit der Wirkung der Spaltpilze auf die gleichen Kohlenhydrate bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff.»

Wenn nun die Kohlenhydrate die einzige Quelle sind, aus welcher durch die fermentative Wirkung die Rechtsmilchsäure im Muskel entsteht, so sollte man meinen, daß die Menge

<sup>1)</sup> V. Harley, Archiv f. Physiol. u. Anat., 1893, Suppl., S. 46. Leider ist nichts von der Natur der Milchsäure angegeben.

<sup>2)</sup> T. Araki, Diese Zeitschrift, Bd. XIX, S. 422.

<sup>3)</sup> G. Embden, Zentralbl. f. Physiol., Bd. XVIII, S. 832. Im Referat ist nichts von der Natur der Milchsäure angegeben.

<sup>4)</sup> A. R. Mandel und G. Lusk, Amer. Journ. of Physiol., Vol. XVI, 1906, p. 129.

<sup>5)</sup> F. Hoppe-Seyler, a. a. O.

der Rechtsmilchsäure mit dem Gehalt des Muskels an Kohlenhydraten im direkten Zusammenhang stehe, und daß das Verschwinden der Kohlenhydrate der Bildung von Rechtsmilchsäure ein Ende mache. Dies ist durchaus nicht der Fall. So berichtete B. Demant<sup>1)</sup>, daß beim Hungern der Gehalt der Taubenmuskeln an «Milchsäure» keine bemerkbare Verminderung erfährt. R. Boehm<sup>2)</sup> konnte zeigen, daß bei gleichbleibendem Glykogengehalt der Fleischmilchsäuregehalt des starren Muskels auf das Doppelte bis Dreifache steigt. Arthur Heffter<sup>3)</sup> hebt hervor, daß selbst bei dem bis zur äußersten Grenze ausgedehnten Hungern die «Milchsäure» noch in nachweisbarer Menge in Katzenmuskeln vorhanden war. Kurata Morishima<sup>4)</sup> bestimmte Glykogen- und Milchsäuregehalt bei arsenvergifteten Tieren und fand, daß das Glykogen wesentlich mehr verschwunden war, als die Rechtsmilchsäure mehr gefunden wurde. Auch Leon Ascher und Holmes C. Jackson<sup>5)</sup> sind der Ansicht, daß die Kohlenhydrate keine Neubildung von Rechtsmilchsäure im Tierkörper bewirken können. Von Interesse ist noch eine Beobachtung von Tamau Kikkoji,<sup>6)</sup> dem es gelang, bei der Autolyse der glykogenfreien Muskeln von Hungerkaninchen eine Zunahme der Rechtsmilchsäure nachzuweisen.

Es scheinen die Tatsachen, die wir oben angeführt haben, darauf hinzuweisen, daß außer den Kohlenhydraten mindestens noch ein Stoff im Muskel vorkommt, der als Muttersubstanz der Rechtsmilchsäure zu betrachten ist.

Eine große Reihe von Beobachtungen führte O. Minkowski<sup>7)</sup> zu der Überzeugung, daß die Quelle der Rechts-

<sup>1)</sup> Demant, a. a. O., S. 388.

<sup>2)</sup> R. Boehm, Pflügers Archiv, Bd. XXIII, S. 44.

<sup>3)</sup> A. Heffter, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXXI, S. 250.

<sup>4)</sup> K. Morishima, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XLIII, S. 217.

<sup>5)</sup> L. Ascher und H. C. Jackson, Zeitschrift f. Biol., Bd. XLI, 1901, S. 393.

<sup>6)</sup> T. Kikkoji, noch nicht veröffentlichte Versuche.

<sup>7)</sup> O. Minkowski, Archiv f. experiment. Pathol. und Pharmakol., Bd. XXI, S. 69.

milchsäure, die bei den entleberten Gänsen im Harn auftritt, nicht in Kohlenhydraten, sondern in Eiweißstoffen zu suchen ist. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen stehen die Angaben von C. Neuberg und L. Langstein,<sup>1)</sup> denen zufolge das Alanin, ein bekanntes Spaltungsprodukt der Eiweißstoffe, im Organismus des hungernden Kaninchens in «Milchsäure» übergeführt wird.

Es läßt sich also nicht leugnen, daß die Eiweißstoffe beziehungsweise deren Derivate das Material, aus welchem die Rechtsmilchsäure gebildet wird, darstellen können.

Überschauen wir das Gesagte, so liegt nahe, mit Olof Hammarsten<sup>2)</sup> und Emil Abderhalden<sup>3)</sup> zu schließen, daß sowohl die Kohlenhydrate wie die Eiweißstoffe als die Quellen der Rechtsmilchsäure im tierischen Organismus dienen. Es wird auch nicht zu gewagt erscheinen, wenn wir diesen Schluß auf die in den autolysierten Muskeln entstandene Rechtsmilchsäure übertragen wollen. Ob in jedem Falle die Kohlenhydrate in erster Linie als die Quelle der Rechtsmilchsäure benutzt werden und erst, wenn diese Quelle versagt, die Eiweißstoffe an die Reihe kommen oder umgekehrt, ob die beiden Stoffe gleichzeitig Verwendung dazu finden können, bleibt vorläufig dahingestellt.

<sup>1)</sup> C. Neuberg und L. Langstein, Archiv f. Anat. u. Physiol., 1903, Suppl., S. 514—515.

<sup>2)</sup> O. Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Chem., 6. Aufl., 1907, S. 463.

<sup>3)</sup> E. Abderhalden, Lehrbuch d. physiol. Chem., 1906, S. 331.