

Über den Abbau von Hexosephosphorsäure und Lactacidogen durch einige Organpreßsäfte.

Von

Gustav Embden, Walter Griesbach und Fritz Laquer.

(Aus dem chemisch-physiologischen Institut der Universität Frankfurt.)
(Der Redaktion zugegangen am 22. September 1914.)

Durch die voranstehenden Arbeiten wurde es in hohem Maße wahrscheinlich, daß das Lactacidogen der quergestreiften Säugetiermuskulatur eine in seiner Struktur der Hexosephosphorsäure ähnliche Substanz ist.

Auf die Gründe, die zu dieser Annahme führten, soll hier nicht nochmals im einzelnen eingegangen werden. Es sei nur darauf hingewiesen, daß unter gewissen Versuchsbedingungen der Muskelpreßsaft äquimolekulare Mengen Milchsäure und Phosphorsäure bildet, daß bei der Hefegärung gebildete Hexosephosphorsäure im Gegensatz zu allen anderen bis dahin untersuchten Substanzen durch Muskelpreßsaft unter Bildung von Milchsäure und Phosphorsäure zerlegt wird. Vor allem aber sei an das Hauptergebnis der voranstehenden Arbeit von Embden und Laquer erinnert, wonach sich durch Barytfällung und durch Bleifällung eine Lösung gewinnen läßt, die das Lactacidogen enthält. In dieser Lösung findet sich, von anderen Substanzen abgesehen, ein allem Anscheine nach an Phosphorsäure gebundenes reduzierendes Kohlehydrat, das während der Milchsäure- und Phosphorsäurebildung im Preßsaft verschwindet.

Fügt man solche Lactacidogenlösungen einem Muskelpreßsaft hinzu, so wird dadurch eine vermehrte Milchsäure-

bildung und in vielen Fällen auch ein vermehrtes Auftreten von Phosphorsäure hervorgerufen.

Das Lactacidogen findet sich nicht in jeder Muskulatur. So konnten für sein Vorhandensein in der glatten Muskulatur des Uterus keine Anhaltspunkte gewonnen werden¹⁾; trotzdem vermag Uteruspreßsaft zugesetztes Hexosephosphat zu Phosphorsäure und Milchsäure abzubauen.²⁾

In der vorliegenden Untersuchung haben wir nun Preßsäfte aus einigen anderen Organen auf ihre Fähigkeit untersucht, zugesetzte Hexosephosphat- und Lactacidogenlösungen unter Milchsäure- und Phosphorsäurebildung zu spalten.

Unsere Versuche erstrecken sich bisher nur auf die Niere, den Hoden und die Milz. Doch ist ihre weitere Ausdehnung beabsichtigt.

Methodisches.

Wir waren auf die Verwendung von Schlachthausorganen angewiesen. Diese wurden sobald wie möglich den getöteten Tieren — es handelte sich ausschließlich um Rinder — entnommen und unter Kühlung ins Institut gebracht. Die ebenfalls unter Kühlung gewonnenen Preßsäfte (beim Hoden, der nach der Zerkleinerung eine flüssige Masse bildet, wurde vom Verreiben mit Quarzsand abgesehen) wurden genau, wie es früher für den Muskelpreßsaft beschrieben wurde³⁾ zum Teil sofort unter dreifacher Verdünnung nach Schenck gefällt, zum Teil blieben sie bei 40° während 90—120 Minuten stehen, um dann ebenfalls unter dreifacher Verdünnung nach Schenck verarbeitet zu werden.

Für jeden Einzelversuch kamen 80 ccm Preßsaft zur Anwendung. Den zum Stehen bei 40° bestimmten Ansätzen wurden je 10 ccm gesättigter Natriumbikarbonatlösung zugesetzt und außerdem die zu untersuchende Flüssigkeit resp. im

¹⁾ Cohn und Meyer, Diese Zeitschrift, Bd. 93, S. 46.

²⁾ Hagemann, Diese Zeitschrift, Bd. 93, S. 54.

³⁾ Embden, Griesbach und Schmitz, Diese Zeitschrift, Bd. 93, S. 5.

Leerversuch ein ihr gleiches Volumen Ringer-Lösung (ohne Traubenzucker und Natriumbikarbonat). Die zugesetzten Lösungen wurden in genau der gleichen Weise, wie früher beschrieben, hergestellt. Bei der Herstellung der Hexosephosphatlösungen gingen wir ebenso wie Embden, Griesbach und Schmitz¹⁾ von etwa 1,23 g Baryumhexosephosphat aus. Die Zersetzung dieses Salzes geschah genau wie in den Versuchen dieser Autoren. Etwas weniger als die Hälfte der gewonnenen neutralisierten barytfreien Lösung wurde dem einzelnen Ansatz zugefügt.

Die Lactacidogenlösungen wurden zum Teil aus einfachen Barytfällungen in der in der voranstehenden Arbeit²⁾ beschriebenen Weise gewonnen.

Die so erhaltenen Zusätze sind im folgenden einfach als «Barytfällung» bezeichnet.

In einem Versuche wurde die mit Schwefelsäure zersetzte Barytfällung in der von den genannten Autoren ebenfalls bereits geschilderten Weise eben gerade mit Bleizucker ausgefällt, der gründlich gewaschene Bleizuckerniederschlag wieder mit Schwefelsäure zersetzt, die gewonnene schwefelsaure Lösung mit dem dreifachen Volumen Aceton gefällt, und aus dem klaren Filtrat dieser Fällung das Aceton im Vakuum bei ganz niedriger Temperatur verjagt. Die mit Natronlauge neutralisierte Flüssigkeit, die in Versuch 9a zur Anwendung kam, ist hier einfach als »Acetonfiltrat« bezeichnet.

In einer Reihe von Versuchen wurde das Filtrat der Bleizuckerfällung mit Bleiessig und Ammoniak oder mit Bleizucker und Ammoniak ausgefällt. Die gründlich gewaschene Fällung wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt und schließlich wieder mit Natronlauge neutralisiert. Die so gewonnenen Zusatzflüssigkeiten sind in den Bemerkungen zu den Einzelversuchen als «Bleiessig-Ammoniakfällung» bezeichnet.

Zweimal gelangte auch die durch Acetonzusatz aus der mit Schwefelsäure zersetzten Bleizuckerfällung erhaltene nu-

¹⁾ Dieselben, l. c., S. 38 und 39.

²⁾ Embden und Laquer, S. 99.

cleinsäureartige Substanz nach dem Umfällen aus schwefelsaurer Lösung zur Anwendung. Die Substanz wurde vor dem Versuch in etwas Schwefelsäure gelöst und dann wieder mit soviel Natronlauge versetzt, bis blaues Lackmuspapier eben nicht mehr gerötet wurde. Der Zusatz dieser Substanz ist in den nachfolgenden Tabellen als «Acetonfällung» gekennzeichnet.

Die Bestimmung von Milchsäure und Phosphorsäure geschah ganz in derselben Weise wie in der voranstehenden Arbeit von Embden, Griesbach und Schmitz.

Wir gehen nunmehr zur Besprechung der Nierenversuche über. In sechs von den sieben Leerversuchen (Tabelle 1, Kolonne 2 bis 7) wurden Milchsäurebestimmungen ausgeführt. In 5 Versuchen zeigte sich, wie aus Kol. 6 hervorgeht, eine Milchsäurebildung, doch liegt diese überall ziemlich dicht an den Fehlergrenzen der Bestimmung oder innerhalb der letzteren. Das wird namentlich deutlich, wenn man die in den Leerversuchen bei sofortiger Verarbeitung des Preßsaftes erhaltenen Milchsäurewerte mit den entsprechenden Werten unter Zusatz verschiedener Substanzen vergleicht. So ist im Leerversuch 1 (Kol. 3) der nach dem Stehen bei 40° erhaltene Milchsäurewert kaum größer als der sofort unter Zusatz von Hexosephosphat gewonnene. Das gleiche gilt auch für Versuch 6, in dem der unter Zusatz von Barytfällung gewonnene A-Wert (Kol. 8) dem ohne Zusatz gewonnenen Leerwert B nahekommt. Immerhin scheint Nierenpreßsaft bei kurzdauerndem Stehen eine allerdings unbedeutende Milchsäuremenge bilden zu können.

Deutlicher ist in einem Teil der Leerversuche die Phosphorsäurebildung. So in Versuch 1 und in den Versuchen 4—7. Sie erreicht in Versuch 5 den höchsten Wert von etwa 0,06% (Kolonne 7).

Aus den Kolonnen 8—15 ist die Einwirkung der verschiedenen Zusätze auf den Umfang der Milchsäure- und Phosphorsäurebildung ersichtlich.

Mit Hexosephosphat wurden drei Versuche angestellt (Versuche 1, 2a und 4b). In allen drei Fällen trat eine sehr

erhebliche Vermehrung der Milchsäure- und der Phosphorsäurebildung durch diesen Zusatz auf (siehe Kol. 12 und 13). Zieht man in den zwei Versuchen (Versuch 1 und 4b), in denen die Bildung beider Säuren im Leerversuch ermittelt wurde, die Beträge derselben ab, so gelangt man zu den in den Kolonnen 14 und 15 verzeichneten Zahlen. Darnach wurde in Versuch 1 rund 0,08% Milchsäure und 0,11% Phosphorsäure aus Hexosephosphat gebildet, in Versuch 4b etwas über 0,11% Milchsäure und annähernd 0,11% Phosphorsäure. Die Milchsäure und auch die Phosphorsäurebildung aus Hexosephosphat durch Nierenpreßsaft ist im ganzen merklich größer als die früher¹⁾ unter Einwirkung von Preßsaft aus quergestreiften Muskeln beobachtete.

Gerade wie in den früheren Versuchen am Muskelpreßsaft²⁾ wurde auch hier durch Zusatz von Traubenzucker keine Vermehrung der Milchsäure erzielt. In dem unter Zusatz von Traubenzucker vorgenommenen Versuch 3a ist die Milchsäurebildung unter Traubenzuckerzusatz (Kol. 12) noch geringer als die im Leerversuch beobachtete, in Versuch 4a nicht merklich größer.

Ebensowenig wie Traubenzucker bildete die durch Acetonfällung gewonnene nucleinsäureartige Substanz, die in der vorangehenden Arbeit von Embden und Laquer beschrieben wurde, Milchsäure; auch trat keine außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung liegende Phosphorsäurebildung ein. (Versuch 5).

Dagegen erwiesen sich Lactacidogenlösungen in einer Reihe von Versuchen (Versuch 2b, 3b, 6a, 6b, 7a, 7b) als Milchsäure- und Phosphorsäurebildner. Die Milchsäure- und Phosphorsäurebildung aus Lactacidogen erreichte zum Teil

¹⁾ Embden, Griesbach und Schmitz, l. c., S. 40ff.

²⁾ Embden, Kalberlah und Engel, Über Milchsäurebildung im Muskelpreßsaft. I. Biochem. Zeitschr., Bd. 45, S. 57ff (Versuch 9 und 10 der Tab.), 1912. Kura Kondo, Über Milchsäurebildung im Muskelpreßsaft, II. ibidem, S. 71 und 72 (Versuch 12, 13, 14, 16, Tab. 3), 1912. Embden, Griesbach und Schmitz, l. c., S. 14.

sehr beträchtliche Werte und war entschieden höher, als in den entsprechenden Versuchen mit Muskelpreßsaft.¹⁾

Die Menge der aus Lactacidogen frei gewordenen Milchsäure schwankt zwischen etwas über 0,06% in Versuch 7b (Kol. 14) und mehr als 0,12% in Versuch 6a, wo eine «Bleissigammoniakfällung» zur Verwendung gelangte. In Versuch 2b und 3b kamen Barytfällungen verschiedener Darstellungen aus Pferdefleisch zur Anwendung. Die Milchsäurebildung betrug in Versuch 3b etwas über 0,1%, in Versuch 2b läßt sie sich mangels der entsprechenden Leerbestimmungen nicht genau angeben, ist aber von ganz ähnlicher Größe. Im Parallelversuch erwies sich, wie bereits erwähnt, Traubenzucker als ohne Wirkung auf die Milchsäurebildung.

Auch die Phosphorsäurebildung aus Lactacidogen trat in den Nierenversuchen ausnahmslos ein. Die Menge der Phosphorsäure ist in einem Teil der Versuche recht erheblich, so namentlich in Versuch 2b (Kol. 13), wo sich der Betrag der aus Lactacidogen gebildeten Phosphorsäure nicht genau berechnen läßt, da die entsprechende Bildung im Leerversuch nicht bestimmt wurde. In Versuch 3b («Barytfällung» aus Pferdefleisch) wurden über 0,08% Phosphorsäure aus Lactacidogen gebildet, aber auch in den übrigen Versuchen ist die Phosphorsäurebildung aus den zugesetzten Lactacidogenlösungen sehr deutlich.

Ganz ähnlich wie der aus Nieren, verhält sich auch der aus Hoden gewonnene Preßsaft, nur daß hier der Umfang der Milchsäure- und Phosphorsäurebildung aus Lactacidogenlösungen zum Teil noch beträchtlicher war.

In den Leerversuchen trat nirgends eine außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung liegende Milchsäure- oder Phosphorsäurebildung auf (Tab. 2, Kol. 6 und 7).

Umso deutlicher tritt die Bildung beider Säuren in den Zusatzversuchen hervor (Kol. 12 bis 15). So wurden unter Lactacidogenzusatz in den Versuchen 8, 10a, 10b nahezu 0,2% Michsäure gebildet, in den Versuchen 8 und 10a, die

¹⁾ Embden und Laquer, l. c.

Tabelle 1.

Nierenpreßsäfte.

1	Ohne Zusatz						Mit		Zusatz						16	
	Milchsäure in 100 ccm des		Phosphorsäure in 100 ccm des		In 100 ccm des Preßsaftes B neugebildete		Milchsäure in 100 ccm des		Phosphor- säure in 100 ccm des		In 100 ccm des Preßsaftes B neugebildete		Aus der zuge- setzten Substanz in 100 ccm Preßsaft gebildete			Bemerkungen
	sofort verar- beiteten Preß- saftes A	nach dem Stehen bei 40° verar- beiteten Preß- saftes B	sofort verar- beiteten Preß- saftes A	nach dem Stehen bei 40° verar- beiteten Preß- saftes B	Milch- säure	Phos- phor- säure	sofort verar- beiteten Preß- saftes A	nach dem Stehen bei 40° verar- beiteten Preß- saftes B	sofort ver- arbei- teten Preß- saftes A	nach dem Stehen bei 40° ver- arbei- teten Preß- saftes B	Milch- säure	Phos- phor- säure	Milch- säure	Phos- phor- säure		
1	0,1747	0,1985	0,1390	0,1691	0,0238	0,0301	0,1931	0,2962	0,1532	0,2980	0,1031	0,1448	0,0793	0,1147	Mit Hexosephosphat.	
2 a	—	0,2052	—	0,1728	—	—	0,1863	0,2612	0,1685	0,2774	0,0749	0,1089	—	—	Mit Hexosephosphat.	
2 b	—	—	—	—	—	—	0,1931	0,3051	0,5473	0,6831	0,1120	0,1358	—	—	Mit Barytfällung aus Pferdefleisch.	
3 a	—	—	—	—	—	—	0,2018	0,2167	0,1517	0,1511	0,0149	Keine Bildung	Keine Bildung		Mit je 1,1 g Traubenzucker.	
3 b	0,1991	0,2198	0,1580	0,1717	0,0207	0,0137	0,1883	0,3146	0,5690	0,6642	0,1263	0,0952	0,1056	0,0815	Mit Barytfällung aus Pferdefleisch.	
4 a	—	—	—	—	—	—	[0,1561]	0,1907	—	0,2259	0,3446	0,0502	0,0117	0,0040	Mit je 1,1 g Traubenzucker.	
4 b	[0,1561]	0,1790	0,1757	0,2219	0,0229	0,0462	0,1561	0,2930	0,1871	0,3421	0,1369	0,1550	0,1140	0,1088	Mit Hexose- phosphat.	
5	0,1973	0,2006	0,1487	0,2103	Keine Bildung	0,0616	0,1998	0,1957	0,1538	0,2283	Keine Bildung	0,0745	Keine Bildung	0,0129	Mit Acetonfällung.	
6 a	—	—	—	—	—	—	0,2385	0,3975	0,1675	0,2530	0,1590	0,0855	0,1268	0,0358	Mit Bleiessig-Ammoniakfällung.	
6 b	0,2251	0,2572	0,1437	0,1934	0,0322	0,0497	0,2460	0,3690	0,6066	0,7086	0,1230	0,1020	0,0908	0,0523	Mit Barytfällung.	
7 a	—	—	—	—	—	—	0,2227	0,3561	0,1664	0,2726	0,1334	0,1062	0,1199	0,0544	Mit Bleiessig-Ammoniakfällung.	
7 b	0,2211	0,2346	0,1569	0,2087	0,0135	0,0518	0,2312	0,3071	0,5976	0,7123	0,0759	0,1147	0,0624	0,0629	Mit Barytfällung.	

Tabelle 2.

Hodenpreßsaft.

1 Nr. des Ver- suchs	2 Ohne Zusatz						3 Mit		4 Zusatz				5 Aus der zuge- setzten Substanz in 100 ccm gebildete		6 Bemerkungen
	7 Milchsäure in 100 ccm des		8 Phosphorsäure in 100 ccm des		9 In 100 ccm des Preßsaftes B neugebildete		10 Milchsäure in 100 ccm des		11 In 100 ccm des Preßsaftes B neugebildete		12 Aus der zuge- setzten Substanz in 100 ccm gebildete				
	13 sofort verar- beiteten Preß- saftes A	14 nach dem Stehen bei 40° verar- beiteten Preß- saftes B	15 sofort verar- beiteten Preß- saftes A	16 nach dem Stehen bei 40° verar- beiteten Preß- saftes B	17 Milch- säure	18 Phos- phor- säure	19 sofort verar- beiteten Preß- saftes A	20 nach dem Stehen bei 40° verar- beiteten Preß- saftes B	21 sofort ver- arbei- teten Preß- saftes A	22 nach dem Stehen bei 40° ver- arbei- teten Preß- saftes B	23 Milch- säure	24 Phos- phor- säure	25 Milch- säure	26 Phos- phor- säure	
8	0,1215	0,1323	0,0956	0,0993	0,0108	0,0037	0,1296	0,3362	0,5871	0,7614	0,2066	0,1748	0,1958	0,1711	Mit Barytfällung.
9 a							0,1350	0,1903	0,9430	1,0010	0,0553	0,0580	0,0553	0,0453	Mit Acetonfiltrat.
9 b	0,1309	0,1269	0,0877	0,1004	Keine Bildung	0,0127	0,1255	0,2052	0,1136	0,1564	0,0743	0,0428	0,0743	0,0301	Mit Bleiessig-Ammoniakfällung.
10 a							0,1377	0,3591	0,6150	0,7999	0,2214	0,1849	0,2066	0,1786	Mit Barytfällung.
10 b	0,1215	0,1363	0,1062	0,1125	0,0148	0,0063	0,1323	0,3429	0,1146	0,2193	0,2106	0,1047	0,1958	0,0984	Mit Bleiessig-Ammoniakfällung.
11 a							0,1458	0,2700	0,5242	0,5865	0,1242	0,0623	0,1242	0,0586	Mit Barytfällung.
11 b	0,1390	0,1228	0,0940	0,0977	Keine Bildung	[0,0037]	0,1390	0,2916	0,1057	0,1669	0,1526	0,0612	0,1526	0,0575	Mit Bleiessig-Ammoniakfällung.

unter Zusatz von «Barytfällung» vorgenommen wurden, erreichte auch die Phosphorsäurebildung sehr hohe Werte (Mehr als 0,17%). In Versuch 10b, in dem »Bleiessigammoniakfällung» als Zusatzsubstanz diente, ist die Phosphorsäurebildung erheblich geringer (nicht ganz 0,1%, Kol. 15).

Auch in den übrigen, in die Tabelle aufgenommenen Versuchen trat überall deutliche Milchsäure- und Phosphorsäurebildung aus Lactacidogen ein. Dabei ist in diesen Versuchen, namentlich wenn man die mit «Barytfällung» und «Bleizuckerfällung» angestellten einerseits, die mit «Bleiessigammoniakfällung» andererseits für sich ins Auge faßt, ein gewisser Parallelismus zwischen Milchsäure- und Phosphorsäurebildung unverkennbar, wenngleich die Menge freigewordener Phosphorsäure stets hinter der neugebildeten Milchsäure zurückbleibt. (Kol. 14 und 15). (In Versuch 8: 0,1958% Milchsäure und 0,1711% Phosphorsäure. In Versuch 9a: 0,0553% Milchsäure und 0,0453% Phosphorsäure. In Versuch 10a: 0,2066% Milchsäure und 0,1786% Phosphorsäure).

In Versuch 11a, wo ebenfalls eine «Barytfällung» zur Anwendung gelangte, findet sich neben einer Milchsäurebildung von 0,1242%, allerdings nur eine neugebildete Phosphorsäuremenge von 0,0586%.

In den Versuchen mit Zusatz von «Bleiessigammoniakfällung» ist das Zurückbleiben der Phosphorsäure hinter der Milchsäurebildung stärker, als in den eben besprochenen Versuchen mit Barytfällung». So sind in Versuch 9b neben 0,0743% Milchsäure nur 0,0301% Phosphorsäure aufgetreten. In Versuch 10b neben 0,1958% Milchsäure 0,0984% Phosphorsäure. In Versuch 11b neben 0,1526% Milchsäure nur 0,0575% Phosphorsäure.

Wir haben bereits früher¹⁾ auf Grund unserer Versuche am Muskelpreßsaft darauf hingewiesen, daß das Freiwerden überwiegender Mengen Milchsäure aus einem kohlenhydratphosphorsäureartigen Molekularkomplex nur dann denkbar ist, wenn die Phosphorsäure außer an Kohlenhydrat noch an eine

¹⁾ Embden und Laquer, l. c.

andere Komponente gebunden ist. In den Lactacidogenzusatzversuchen am Muskelpreßsaft, in denen es häufig zu erheblicher Milchsäurebildung aus Lactacidogen kam, ohne daß gleichzeitig Phosphorsäure daraus frei wurde, ja in denen bisweilen die im Leerverbrauch vorhandene Phosphorsäurebildung mehr oder weniger gehemmt wurde, war allem Anscheine nach bei relativ gut erhaltenem Milchsäureabspaltungsvermögen die Fähigkeit, die Phosphorsäure von der noch unbekanntem Komponente zu trennen, schwerer geschädigt, als in den entsprechenden Versuchen mit Hoden- und auch mit Nierenpreßsaft.

Aus diesem Verhalten geht hervor, daß das völlige oder nahezu völlige Ausbleiben der Phosphorsäurebildung in einem Teil der Versuche mit Muskelpreßsaft nicht auf eine während der Darstellung der Lactacidogenlösung erfolgte Abspaltung der Phosphorsäure zurückgeführt werden kann, sondern wohl in der von Embden und Laquer angenommenen Weise erklärt werden muß.

Bei Verwendung von «Bleiessigammoniakfällung» bleibt allerdings auch in den Nieren- und Hodenversuchen die Phosphorsäurebildung überall soweit hinter der Milchsäurebildung zurück, daß hier an eine schon während der Gewinnung der genannten Fraktion erfolgte Phosphorsäureabspaltung gedacht werden muß.¹⁾

Milzpreßsaft war in mehreren Versuchen zum Mindesten weit weniger wirksam als Nieren- und Hodenpreßsaft.

Doch möchten wir vor Anstellung weiterer Milzversuche nicht im einzelnen auf die an diesem Organ gewonnenen Ergebnisse eingehen.

Jedenfalls geht aus den eben besprochenen Versuchen mit Nieren- und Hodenpreßsaft hervor, daß die Fähigkeit, Lactacidogenlösungen unter Bildung von Milchsäure und Phos-

¹⁾ Anm.: Auf eine während der Darstellung der Bleiessigammoniakfällung eingetretene chemische Änderung weist auch die Tatsache hin, daß die mit Schwefelwasserstoff aus Bleiessigammoniakfällungen gewonnenen Zersetzungsflüssigkeiten nicht mehr vollständig mit Baryt fällbar sind.

phorsäure abzubauen, keineswegs an die Muskulatur gebunden ist, wenn auch die bisherigen Untersuchungen darin übereinstimmen, daß es zu beträchtlichen Ablagerungen von Lactacidogen ausschließlich in der quergestreiften Muskulatur kommt.

Wenn unabhängig von derartigen Ablagerungen auch andere Organe, wie Niere und Hoden, Lactacidogen unter Milchsäure- und Phosphorsäurebildung spalten, ja diese Spaltung mit ganz besonderer Leichtigkeit vollziehen, so dürfen wir in diesem Verhalten vielleicht einen Hinweis darauf erblicken, daß auch außerhalb der Muskulatur beim Abbau von Hexose zu Milchsäure der intermediären Bindung des Kohlenhydrats an Phosphorsäure eine wichtige Rolle zukommt.

Zum Schlusse der in den voranstehenden Arbeiten veröffentlichten Untersuchungsreihe möchten wir noch einige Punkte berühren, die uns für die biologische Wertung der festgestellten Tatsachen von Belang erscheinen.

Von verschiedenen Autoren ist in neuerer Zeit die Anschauung ausgesprochen worden, daß die Muskelkontraktion durch eine Produktion von Säure verursacht wird, einerlei ob man in der Säure die Verkürzungssubstanz selber erblicken will, oder nur eine Reizsubstanz, die auf mehr indirektem Wege die Muskelverkürzung verursacht.¹⁾

Bereits in einer früheren Untersuchung²⁾ haben wir hervorgehoben, daß die als Lactacidogen bezeichnete Milchsäurevorstufe, die mit besonderer Leichtigkeit Milchsäure bildet, gerade bei der raschen Muskelkontraktion eine wichtige Rolle spielen dürfte.

Diese Annahme gewinnt, wie wir glauben, durch die Ergebnisse der voranstehenden Arbeiten außerordentlich an Wahrscheinlichkeit. Denn wir konnten dartun, daß das im

¹⁾ Schwenker, Über Dauerverkürzung quergestreifter Muskeln, hervorgerufen durch chemische Substanzen, Pflügers Archiv, Bd. 157, S. 372, 1914.

²⁾ Embden, Kalberlah und Engel, l. c., S. 62.

sich rasch kontrahierenden quergestreiften Säugetiermuskel reichlich vorhandene Lactacidogen in der langsam arbeitenden Muskulatur des Uterus völlig oder nahezu völlig fehlt.¹⁾

Ferner ist es, wie wir glauben, durch unsere Untersuchungen sehr wahrscheinlich geworden, daß das Lactacidogen des quergestreiften Muskels als ein intermediäres Produkt beim Kohlenhydratabbau in der Muskulatur anzusehen ist.

Allem Anschein nach spielt das Lactacidogen für den intramuskulären Kohlenhydratabbau eine ähnliche Rolle, wie die Hexosediphosphorsäure für die alkoholische Hefegärung und, ebenso wie die alkoholische Gärung des Traubenzuckers, beginnt der über Milchsäure führende Abbau des Traubenzuckers im Tierkörper mit einer synthetischen Phase.

Wenn in der rasch sich kontrahierenden Muskulatur ein synthetisches Zwischenprodukt des Kohlenhydratabbaus abgelagert ist, um im gegebenen Augenblick, d. h. auf einen erfolgenden Reiz hin unter Milchsäure- und Phosphorsäurebildung zu zerfallen, so darf man vielleicht die Ablagerung von Lactacidogen mit dem Spannen eines Gewehrrahms vergleichen, seinen Zerfall unter Bildung von Milchsäure und Phosphorsäure (oder jedenfalls unter Freiwerden saurer Valenzen der Phosphorsäure) mit dem Abdrücken des Gewehrrahmes.

Im lebenden Muskel, wenigstens im Froschmuskel, hält allem Anschein nach die assimilatorische Vereinigung von Hexose und Phosphorsäure dem dissimilatorischen Zerfall von Lactacidogen die Wage, so daß auch die bei intensiver Tätigkeit eintretende Milchsäurebildung nicht von einer Phosphorsäurebildung begleitet ist.²⁾ Erst wenn die assimilatorischen Vorgänge durch Wärmestarre, namentlich in Verbindung mit mechanischer Schädigung, herabgesetzt werden, tritt die Phosphorsäurebildung hervor. Es ist übrigens sehr möglich, daß bei anderen Muskelarten durch sehr intensive Muskeltätigkeit Phosphorsäure oder ein organischer Phosphorsäurekomplex aus dem Lactacidogen frei wird und zur Ausscheidung gelangt.

¹⁾ Cohn und Meyer, l. c., S. 46 ff.

²⁾ Laquer, F., Diese Zeitschrift, Bd. 93, S. 67.

Wir erinnern in dieser Hinsicht an die alten verschiedentlich bestätigten Versuche G. Engelmanns über vermehrte Phosphorsäureausscheidung nach angestrenzter Muskeltätigkeit, auf die wir bereits früher hinwiesen¹⁾ und eine neuere Arbeit von Loewe,²⁾ aus der hervorgeht, daß es bei epileptischen Anfällen zu einer vermehrten Ausscheidung organisch gebundenen Phosphors durch den Harn kommen kann, wenn auch der Autor selber nicht geneigt ist, seine Beobachtungen mit der vermehrten Muskeltätigkeit als solcher in Zusammenhang zu bringen.

Wenn, wie es zum mindesten sehr möglich ist, die spezifische Muskelenergie gewonnen wird durch Spaltung von Lactacidogen, unter Bildung von Milchsäure und Phosphorsäure,³⁾ die mit einer positiven Wärmetönung verbunden ist, wobei immer wieder neues Lactacidogen aufgebaut wird, so braucht diese Reaktion nicht notwendig mit oxydativen Vorgängen verbunden zu sein.

Das stimmt aufs beste überein mit dem auf Grund sehr verschiedenartiger Versuche gewonnenen Ergebnis, daß der Muskel auch unter anaeroben Bedingungen zu arbeiten vermag. Es ist hier nicht der Ort, auf diese Untersuchungen im einzelnen einzugehen. Wir wollen nur auf ältere Versuche aufmerksam machen, aus denen hervorgeht, daß auch in sauerstoffreicher Atmosphäre der isolierte Muskel noch recht lange arbeiten kann, auf die schönen Versuche Weizsäckers,⁴⁾ dem es gelang, den Sauerstoffverbrauch des isolierten Froschherzens durch Blausäure sehr stark zu vermindern, ohne daß

¹⁾ Embden, Griesbach und Schmitz, l. c.

²⁾ S. Loewe, Über den Phosphorstoffwechsel bei Psychosen und Neurosen, I, Zeitschrift f. d. ges. Neurologie u. Psychiatrie, Bd. 4, S. 250, 1911. II. ibidem, Bd. 5, S. 445, 1911.

³⁾ Vielleicht kommt es für gewöhnlich nicht zu einem völligen Freiwerden von Phosphorsäure, sondern möglicherweise bleibt die Phosphorsäure an einen organischen Rest gebunden, worauf wir im folgenden keine Rücksicht nehmen.

⁴⁾ Weizsäcker, Arbeit und Gaswechsel am Froschherzen, II. Pflügers Archiv, Bd. 147, S. 135, 1912.

zunächst eine entsprechend starke Abnahme der Arbeitsleistung eintrat, und der auch bei völlig fehlendem Sauerstoffverbrauch das Herz noch einen sehr erheblichen Teil seiner ursprünglichen Arbeit leisten sah.

Vor allem aber muß hier auf die thermodynamischen Untersuchungen Hills¹⁾ verwiesen werden. Hill konnte dar- tun, daß in einer Sauerstoffatmosphäre arbeitende isolierte Froschmuskeln die Hauptwärmemenge während der Arbeits- pausen produzieren unter Bedingungen, unter denen nach den Untersuchungen von Fletcher²⁾ sowie Fletcher und Hopkins³⁾ vermehrte Kohlensäureproduktion und Verschwin- den von Milchsäure eintritt. Bei den unter anaeroben Be- dingungen arbeitenden Muskeln kommt diese starke Wärme- produktion während der Ruhepause in Wegfall, während die mit der Kontraktion erfolgende Wärmebildung erhalten bleibt. Auch Hill wurde bekanntlich durch seine Versuche zu der Vor- stellung geführt, daß die Arbeitsreaktion an sich kein oxyda- tiver Vorgang ist.

Wir wollen auf weitere experimentelle Untersuchungen auf diesem Gebiete hier nicht eingehen, sondern nur nochmals her- vorheben, daß die Auffassung der Arbeitsreaktion des Muskels als einer mit positiver Wärmetönung einhergehenden Spaltung mit den experimentell ermittelten Tatsachen übereinstimmt.

Auf den ersten Blick bereiten die bei dieser Reaktion in Betracht kommenden energetischen Verhältnisse dem Ver- ständnis einige Schwierigkeit. Nehmen wir an, die bei der Spaltung von Lactacidogen unter Milchsäurebildung auftretende Wärmemenge sei von ähnlicher Größenordnung, wie die bei der Umwandlung von Traubenzucker zu Milchsäure freiwerdende (sie dürfte voraussichtlich etwas größer sein), so ist bei dieser Reaktion natürlich nur ein sehr geringer Bruchteil der ge-

¹⁾ Hill, The energy degraded in the recovery processes of sti- mulated muscles. Journ. of phys., Bd. 46, S. 28, 1913.

²⁾ Fletcher, The survival respiration of muscle. Journ. of phys., Bd. 23, S. 68—85, 1898 und Bd. 28, S. 359 u. 497, 1902

³⁾ Fletcher und Hopkins, Lactic acid in amphibian muscel. Journ. of physiology, Bd. 35, S. 290, 1907.

samten im Traubenzuckermolekül steckenden Energie frei geworden. Die ganze noch in der Milchsäure vorhandene Verbrennungsenergie ginge, wenn sie nicht in mechanische Arbeit umgewandelt wird, anscheinend nutzlos verloren.

Wir wissen nun aber, aus mit sehr verschiedenartiger Methodik angestellten Untersuchungen, daß die Muskelmaschine mit einem sehr beträchtlichen Wirkungsgrade arbeitet, daß arbeitende Menschen und Tiere und auch isolierte Muskeln unter aeroben Bedingungen etwa 30 % der bei der Arbeit freiwerdenden Gesamtenergie in mechanische Arbeit überführen. Ginge die in der Milchsäure vorhandene Energie, die nicht sehr viel geringer ist, als die des Traubenzuckers (Verbrennungswärme des Traubenzuckers ca.: 677 Kal., Verbrennungswärme der Milchsäure (2 Mol.): 659 Kal.) bei der Milchsäureverbrennung nutzlos verloren, so könnte die Muskelmaschine unmöglich mit einem Wirkungsgrad von 30 % arbeiten.

In Wahrheit wird nun aber allem Anscheine nach die chemische Energie der Milchsäure der Muskelmaschine wieder nutzbar gemacht.

Schon vor längerer Zeit haben Embden und Salomon¹⁾ den Nachweis geführt, daß Milchsäure im Organismus pankreasloser Hunde sehr leicht in Zucker umgewandelt wird, ein Verhalten, das durch Untersuchungen von Mandel und Lusk²⁾ am phloridzindiabetischen Tiere bestätigt wurde. Mandel und Lusk zeigten, daß der Übergang von Milchsäure in Zucker beim maximalen Phloridzindiabetes ein quantitativer ist. Diese Befunde wurden in jüngster Zeit durch Dakin und Dudley³⁾ erweitert und vertieft.

Bereits auf Grund der eben genannten Versuche von Embden und Salomon, sowie auf Grund der von Embden

¹⁾ Embden und Salomon, Fütterungsversuche am pankreaslosen Hund. Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. 6, S. 63, 1905.

²⁾ Mandel und Lusk, Lactid acid in intermediary metabolism. Americ J. of Phys., Bd. 16, S. 139, 1906.

³⁾ Dakin und Dudley, The interconversion of α -aminoacids, α -hydroxyacids and α -ketonic aldehydes. Journ. of biol. Chem. Band 15, S. 143, 1913.

und Almagia¹⁾) an der künstlich durchströmten Leber beobachteten Umwandlung von Traubenzucker in Milchsäure haben v. Noorden und Embden²⁾) die Vermutung ausgesprochen, daß die im Muskel aus Kohlenhydrat gebildete Milchsäure, soweit sie nicht weiter verbrennt, wieder zu Traubenzucker regeneriert wird, und sie haben den Abbau von Kohlenhydrat zu Milchsäure und den Wiederaufbau von Milchsäure zu Kohlenhydrat als eine Art von «chemischem Kreislauf von Kohlenhydrate» betrachtet.

Die Tatsache, daß nach Leberexstirpation der Zucker aus dem Blute mehr oder weniger vollständig verschwindet, während reichlich Milchsäure im Blute auftritt (Minkowski), ließ sie vermuten, daß als Ort der Zuckerregeneration die Leber anzusehen sei.

Neuere Versuche an der Schildkrötenleber von Parnas und Baer³⁾), an der Säugetierleber von Barrenscheen⁴⁾), sowie demnächst an dieser Stelle zu veröffentlichenden Versuche von Baldes und Silberstein haben den direkten Beweis erbracht, daß tatsächlich die isolierte Leber imstande ist, Milchsäure in Kohlenhydrat umzuwandeln. Diesem Vorgange kann nun, wie bereits früher von Embden und Oppenheimer⁵⁾) angedeutet wurde, für die Muskeltätigkeit eine hervorragende Bedeutung zukommen.

Wenn die dem Muskel bei der Tätigkeit entströmende Milchsäure — die Steigerung des Milchsäuregehalts bei der Muskeltätigkeit ist eine längst bekannte und immer wieder

¹⁾ Embden und Almagia (Zitiert nach v. Noorden und Embden, siehe nächstes Zitat).

²⁾ v. Noorden und Embden, Einige Probleme des intermediären Kohlenhydratstoffwechsels. Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffwechsels, 1906, Heft 1, S. 1.

³⁾ Parnas und Baer, Zuckerabbau und Zuckeraufbau im tierischen Organismus. Biochem. Zeitschr., Bd. 41, S. 386, 1912.

⁴⁾ Barrenscheen, Glykogen und Zuckerbildung in der isolierten Warmblüterleber. Biochem. Zeitschr., Bd. 58, S. 299, 1913.

⁵⁾ Embden und M. Oppenheimer, Über den Abbau der Brenztraubensäure im Tierkörper. Biochem. Zeitschr., Bd. 45, S. 196, 1912.

bestätigte Tatsache¹⁾ — in der Leber durch einen endothermen Prozeß, also unter Energieaufnahme, in Zucker zurückverwandelt wird, so kann dieser Zucker, wenn er der Muskulatur mit dem Blute wieder zugeführt wird — vielleicht stets auf dem Umwege über das Lactacidogen — sich von neuem an der spezifischen Arbeitsreaktion des Muskels beteiligen.

In gewisser Weise kann man also die Umwandlung von Kohlenhydrat bzw. Lactacidogen in Milchsäure der Entladung eines Akkumulators vergleichen, die Regeneration von Milchsäure zu Zucker seiner Wiederaufladung.

Die eben geäußerte Vorstellung, wonach der Leber für die Rückverwandlung von Milchsäure zu Zucker eine besondere Bedeutung zukommt, kann natürlich nur für den Gesamtorganismus Geltung haben. Manche in der letzten Zeit von englischen Autoren, namentlich von Fletcher and Hopkins²⁾ und von Hill³⁾ erhobenen Befunde lassen es sehr möglich erscheinen, daß auch innerhalb der Muskulatur eine Regeneration der Milchsäure zur «Milchsäurevorstufe» erfolgen kann.

Im Sinne der voranstehenden Arbeiten würde das bedeuten, daß der Muskel nicht nur die Synthese von Kohlenhydrat mit Phosphorsäure bewirken kann, sondern daß er auch ganz ähnlich wie die Leber imstande ist, Milchsäure in Kohlenhydrat zurückzuverwandeln.

Welche Substanzen die für die endotherme Umwandlung von Milchsäure in Kohlenhydrat notwendige Energie liefern, ist einstweilen völlig unbekannt. Mancherlei spricht dafür, daß ein Teil der Milchsäure unter aeroben Verhältnissen im Muskel verbrennen kann, aber an sich wäre es denkbar, daß jeder mit positiver Wärmetönung einhergehende Prozeß die

¹⁾ Siehe hierüber H. Fries, Über das Vorkommen von Milchsäure im menschlichen Blut. Biochem. Zeitschr., Bd. 35, S. 368, 1911. (Hier findet sich auch die ältere Literatur über den Gegenstand.)

²⁾ Fletcher und Hopkins, l. c., S. 292—296. S. auch Fletcher und Brown. The carbon dioxide production of heat rigor in muscle and the theory of intramolecular oxygen. Journ. of phys., Bd. 48, S. 204, 1914.

³⁾ Hill, The oxidative removal of lactic acid. Journ. of phys., Bd. 48. [Proc. of the phys. soc.] pag. X, 1914.

für die endotherme Umwandlung von Milchsäure in Traubenzucker notwendige chemische Energie auf dem Wege irgendwelcher gekoppelter Reaktionen liefert.

Je nach dem, ob auf Kosten von Fett, Eiweiß oder Kohlenhydrat die Zuckerregeneration aus Milchsäure — unter oxydativem Abbau der Energie liefernden Substanzen — erfolgt, wird der respiratorische Quotient ein verschiedener sein. Hiernach wäre die Tatsache, daß Muskelarbeit unter Verbrennung sehr verschiedenartiger Nahrungsstoffe erfolgen kann, keineswegs ein Beweis dafür, daß diese verschiedenen Substanzen sich selber an der spezifischen Arbeitsreaktion im Muskel beteiligen. Eiweiß, Fett usw. sind vielmehr allem Anschein nach in diesem Falle gleichsam nur als verschiedenartiges Brennmaterial zu betrachten, das die Energie für eine ganz bestimmte endotherme Reaktion, eben die Zuckerbildung (oder Lactacidogenbildung) aus Milchsäure liefert.

Wenn es richtig ist, daß eine bestimmt lokalisierte Säuerung den Kontraktionsprozeß verursacht, und die Erschlaffung der Muskulatur durch Fortschaffen der Säure bedingt ist, so lassen sich über den Chemismus der Säuerung und Entsäuerung auf Grund der in den voranstehenden Arbeiten erhobenen Befunde etwas bestimmtere Vorstellungen gewinnen.

Wenn ein Lactacidogenmolekül gespalten wird, so werden nach dieser Anschauung aus dem Kohlenhydratkomplex des Lactacidogens zwei Moleküle Milchsäure, und auch aus seinem Phosphorsäurekomplex, zwei saure Valenzen frei, die im Lactacidogen esterartig an Kohlenhydrat gebunden waren. Das Freiwerden gerade der Phosphorsäurevalenzen dürfte zu einer stärkeren Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration führen, als es bei ausschließlicher Milchsäurebildung der Fall wäre.

Bei der Entsäuerung würde, falls unsere Vorstellungen richtig sind, die Milchsäure entweder durch Austritt ins Blut oder durch Verbrennung oder durch Regeneration zu Kohlenhydrat oder vielleicht auch durch eine irgendwie erfolgende Neutralisation beseitigt werden, während die bei der Lacta-

cidogenspaltung freigewordenen sauren Phosphorsäurevalenzen wieder esterartig an Kohlenhydrat gebunden würden.

Hiernach wird also im quergestreiften Muskel die zur Kontraktion führende Säuerung durch Freiwerden von Milchsäure und von Phosphorsäurevalenzen verursacht.

Anders liegen vielleicht die Verhältnisse bei der glatten Muskulatur des Uterus, in der Milchsäurebildung von irgend in Betracht kommendem Umfange nicht beobachtet werden konnte, wohl aber Bildung von Phosphorsäure.

Wenn, wie es sehr möglich ist, bei sehr verschiedenen, raschverlaufenden vitalen Vorgängen Säuerungs- und Entsäuerungsprozesse eine Rolle spielen, so muß nach diesem Befund an der Uterusmuskulatur jedenfalls an das Vorhandensein verschiedenartiger « Acidogene » gedacht werden.
