

63. C. Wurster: Beiträge zur Kenntniss der Oxydationsverhältnisse im Thierkörper.

(Vorgetragen in der Sitzung vom Verfasser.)

Obwohl die in einer früheren Abhandlung¹⁾ beschriebenen Amine speciell das Tetramethylparaphenyldiamin kaum als ganz geeignete Substanzen betrachtet werden dürften, um die Oxydationsverhältnisse des Thierkörpers zu studiren, da sie schon durch Körpersecrete, wie Speichel und gewissen Schweiß, in farblose, nicht mehr leicht erkennbare Producte durch Verbrennung einzelner Methylgruppen verändert werden, so sah ich mich, um Missverständnisse, welche in der Litteratur sich vorfinden, aufzuklären, dennoch genöthigt, die betreffenden Körper einer eingehenden Untersuchung über ihr Verhalten im Thierkörper zu unterwerfen.

Das Tetramethylparaphenyldiamin Warmblütern, Tauben, Kaninchen, Meerschweinchen subcutan oder intravenös beigebracht, erzeugt den Tod des Thieres unter Auftreten von heftigen Krämpfen.

Was den Befund bei der Section anlangt, so ist derselbe in der Regel ein negativer. Bis auf wenige Stellen der Haut und an den der Injectionsstelle zunächst gelegenen Muskelschichten ist durch schwache Oxydation in saurer Lösung kein Tetramethylparaphenyldiamin mehr nachzuweisen, dasselbe ist zu dem farblosen Körper oxydirt. Zuweilen finden sich in der Leber, der Galle noch Spuren des Amins vor.

Auch frisch gefangene Frösche oxydiren das Tetramethylparaphenyldiamin, wenn die Lösungen verdünnt und das salzsaure Salz der Base angewandt wird. In essigsaurer oder schwefelsaurer Lösung findet man bei subcutaner Injection zuweilen die direct unter der Haut liegenden Muskeln schon während des Lebens blauviolett. Die Farbstoffbildung geht an der Luft rasch weiter. Die Haut, die schon Pigment enthält, scheint den Farbstoff langsamer zu oxydiren, wie die wenig gefärbte Haut des Bauches, welche in den meisten Fällen das Tetraderivat schon oxydirt hatte.

Nachdem die Frösche längere Zeit in der Gefangenschaft gehungert hatten, verbrannten sie das Tetramethylparaphenyldiamin weit schwieriger, auch wenn man sie zu Muskelbewegungen zwang, etwas besser jedoch, wenn dem salzsauren Salz der Base eine sehr schwache Zuckerlösung beigelegt wurde.

Bei intravenöser Injection des Tetraderivates beim Frosche findet sich nach dem Tode der unveränderte Körper im Blute, der Leber, der Galle, einzelnen Muskeln und dem Centralnervensystem vor, welche

¹⁾ Diese Berichte XIX, 3195.

beim Behandeln mit Natronlauge und Ausschütteln mit Aether an denselben die freie Base abgeben. Auch Behandeln des Blutes, der Galle, der Leber mit einer Lösung von Kupfersulfat oder Jodwasser erzeugt die blauviolette Färbung des Tetraderivates.

Die Leber wird an der Luft tief blauviolett. Einzelne Muskelpartien, besonders die des Rumpfes sind schon während des Lebens beim Oeffnen des Frosches violett und dunkeln an der Luft nach; während die Muskeln der unteren Extremitäten, welche noch am längsten Bewegungen ausführen, frei von Farbstoff befunden werden, denselben also wahrscheinlich oxydirt haben, während die Arme des Frosches, welche zuerst schwach oder gelähmt werden und den Oberkörper niedersinken lassen, den violetten Farbstoff enthalten¹⁾.

Aeusserst interessant ist bei der intravenösen Injection der Darmtractus. Auf dem Durchschnitt des Darmes und des Magens ist die Schleimhaut farblos, von dieser scharf abgegrenzt hebt sich die Muscularis ab, welche an der Luft violett wird, um nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde sich wieder zu entfärben. Die gebläute Muscularis ist ebenfalls ein günstiges Object, um zu zeigen, wie rasch bei Luftmangel der Farbstoff durch Reduction verschwindet, um bei Luftzutritt bald wieder zu erscheinen. Das Tetramethylparaphenylendiamin beweist deshalb, dass das Protoplasma, obwohl selbst reducirend, bei Luftzutritt die stärksten Oxydationen zu vollführen vermag, dass auch nach dem Tode die überlebenden Zellen bei Zutritt von Sauerstoff weitere Oxydationen bewirken, und zwar die Organe, die im Leben Glycogen aufstapeln, wie die ruhenden Muskeln und die Leber, das Tetramethylparaphenylendiamin nur zu dem Producte, welches einer inneren Condensation im Molekül entspricht, oxydiren, die thätigen Muskeln, die Drüsen des Darmtractus, der Haut, das Centralnervensystem, das Amin zu der farblosen Verbindung weiter oxydiren.

Aehnlich verhält sich das Dimethylparaphenylendiamin. Wie bei diesem die Farbstoffbildung besonders durch Wasserstoffsuperoxyd so sehr viel langsamer eintritt, wie beim Tetraderivat, so geht auch hier die Verbrennung zu dem farblosen Körper schwieriger vor sich.

20 bis 40 ccm. einer $\frac{1}{2}$ bis 3procentigen Lösung von salzsaurem Dimethylparaphenylendiamin von drei verschiedenen Darstellungen herührend, Warmblütern subcutan oder intravenös injicirt, erzeugt raschen, tödtlichen Ausgang unter heftigen Krämpfen, die ganz dem Bilde entsprechen, welches Brieger für die Vergiftung mit dem Tetanin giebt.

¹⁾ Tödtet man das Thier sofort nach der Injection, so gelingt es, den Sartorius farbstoffhaltig zu finden, derselbe ist zart blauviolett gefärbt, herausgeschnitten entfärbt sich der Muskel bei der Zuckung, wird an der Luft wieder blau, und kann der Versuch auch bei mechanischer Reizung des Muskels einige Male wiederholt werden.

¹⁾ Diese Berichte XIX, 3119.

Bei Anwendung schwacher salzsaurer Lösungen von 0.2 bis 0.5 pCt. gelingt es bei Warmblütern das Dimethylparaphenylendiamin ganz zu oxydiren. Durch Natronlauge und Aether lassen sich an den den Injectionsstellen zunächst gelegenen Muskeln noch deutliche Mengen des Diamins extrahiren und durch die rothe Färbung mit Chromsäure in Eisessig erkennen. Auch bei Anwendung einer 3 procentigen Lösung und subcutaner Injection bei kräftigen Thieren ist bis auf wenige äussere Muskellagen und zuweilen an dem Zwerchfell, welche intravital violett und blau gefärbt sind, das Diderivat durch Oxydation in saurer Lösung nicht mehr nachweisbar, obwohl in der Thränenflüssigkeit auch nach Curarisirung und manchmal bei künstlicher Athmung in der Peritonealflüssigkeit noch das Dimethylparaphenylendiamin vorhanden ist und sich hier demonstrieren lässt.

Bei intravenöser Injection des salzsauren Salzes ebenso der freien Base tritt der Tod ausserordentlich rasch ein. Die Organe, in Thätigkeit beobachtet, besonders Herz und Lunge durch die Gad'sche Freilegung des Herzens, besitzen während des Lebens alle ihre normale Farbe, nur in der Lunge wird zuweilen schon das blaue Oxydationsproduct des Dimethylparaphenylendiamins vorgefunden.

Bei hungernden Thieren färbte sich die äussere Fläche sämmtlicher Muskeln an der Luft bald violett und tief blauschwarz, ebenso die Oberfläche des Herzens und der Leber.

Im Blute ist nur das unveränderte Amin enthalten, welches daraus gewonnen werden kann, erst bei der Gerinnung oder der Zersetzung des Blutes findet die Farbstoffbildung statt.

Die Leber ist strotzend mit Blut gefüllt und wird an der Luft zuerst violett, dann blauschwarz. Eigenthümlicher Weise enthielt in den meisten Fällen die Galle kein Amin, ebensowenig der Harn.

Wichtig ist das Verhalten der Lunge. Die dem Zwerchfell zunächst aufliegenden Lungen-Lappen sind schmutzigweiss gefärbt und färben sich auch an der Luft nicht, trotz des starken Gehaltes an Diamin. Die oberen Theile der Lunge sind öfters blaugrün marmorirt bei Anwendung der freien Base, oder braun gefärbt beim salzsauren Salz. Auf dem Durchschnitt der Lunge zeigt dieselbe sich oft tief blau oder schwarz marmorirt.

Es kann demnach während des Lebens in den Lungen dasselbe blaue Oxydationsproduct entstehen wie das neutrale Wasserstoffsuperoxyd der Pflanzensäfte oder neutrales chromsaures Kali dies mit den Lösungen des Dimethylparaphenylendiamins erzeugen.

Ganz dasselbe Verhalten zeigen Frösche bei subcutaner oder intravenöser Injection der Dimethylderivate. Gut genährte Frösche verbrennen 5 ccm einer 0.1- bis 0.5procent. Lösung des salzsauren Salzes des Diderivates, ausgehungerte auch dieses nicht mehr, selbst wenn man sie lebhaft excerciren lässt, auch kann das unveränderte Amin

durch Oxydation in saurer Lösung durch die fuchsinrothe Farbe, in neutraler Lösung, durch die blaue Färbung nachgewiesen werden und zwar in beinahe jedem Organe.

Eigenthümlich ist das Verhalten des Frosches. Während bei den Warmblütern die Krämpfe in den Vordergrund treten, wirkt das Dimethylparaphenylendiamin auf die Frösche betäubend und lähmend ein, sie sitzen wie in tiefer Narcose oder Hypnose da.

Bei subcutaner Injection des schwefelsauren oder essigsauren Salzes von 0.3 bis 1 pCt. färben sich zuweilen während des Lebens die Muskeln und die Haut tief blauschwarz, rascher tritt diese Färbung der Muskeln, des Herzens und der Leber ein, wenn dieselben an die Luft gebracht werden.

Der gekochte Muskel wirkt nicht mehr farbstoffbildend, hingegen that dies das frische Fleisch, das beim Schlächter geholt wurde, es verhält sich also der Muskel ähnlich wie die Fibrinflocke, welche wie Scherer¹⁾ fand, in gekochtem Zustande Wasserstoffsuperoxyd nicht mehr zersetzt die activirenden Eigenschaften durch das Kochen also verschwinden.

Es gehen demnach im lebenden thierischen Organismus Oxydationsprocesse vor sich, welche sowohl das Di- als das Tetramethyl-Paraphenylendiamin, wie die gewöhnlichen Oxydationsmittel durch Einwirkung eines Sauerstoffatoms in Farbstoffe überführen oder durch weitere Oxydation unter Verbrauch von 6 Sauerstoffatomen 2 Methylgruppen unter Kohlensäurebildung abspalten und die Amine in farblose Derivate verwandeln²⁾.

Die Verbrennung der Amine findet nicht im Blute, sondern in den Geweben statt.

Da die Körpersecrete noch stark oxydirend befunden wurden, so kann ausser der normalen physiologischen Verbrennung in der Zelle auch eine Oxydation ausserhalb der Zelle durch das gebildete Wasserstoffsuperoxyd noch stattfinden.

¹⁾ Scherer, Liebigs Annalen 1841, Bd. XL, S. 15.

²⁾ So wünschenswerth es auch wäre, diese farblosen Producte im Körper nachzuweisen, so habe ich darauf verzichtet, da hierbei falsche Deutungen und Irrthümer kaum auszuschliessen sind. Ich habe diese farblosen Azoderivate, welche theoretisch von grossem Interesse wären, da sie wahrscheinlich als die Muttersubstanzen der Farbstoffe zu betrachten sind, welche sich vom Dimethylparaphenylendiamin und dem Phenylendiamin ableiten, in den Händen, jedoch, da die Chloride, obwohl gut krystallisirt, sehr zerfliesslich sind, bis jetzt keine analytischen Daten erhalten können. Auch zersetzen dieselben sich durch ätzende Alkalien unter Ammoniakentwicklung, und dürfte wahrscheinlich ein Gemenge mehrerer Körper vorliegen. Die farblosen Producte wirken ebenfalls stark toxisch rascher auf den Frosch wie auf die Kaninchen, da die subcutan aplicirte Lösung nur langsam resorbirt wird und erzeugt strychninartige Krämpfe, besonders beim Frosch mit erhöhter Reflexerregbarkeit.

Da das Wasserstoffsuperoxyd und der active Sauerstoff so starke desinficirende Eigenschaften besitzen, so ist das Studium der Bildung derselben im Organismus wohl auch vom klinischen Standpunkte aus von Wichtigkeit.

Die Schnelligkeit, mit welcher das Dimethylparaphenylendiamin im Thierkörper verbrannt wird, während Wasserstoffsuperoxyd und verdünnte Salzsäure im Glase dies nur langsam thun, legt die Vermuthung nahe, dass im Thierkörper die Oxydation durch atomistischen Sauerstoff geschieht, wir aber in den Körpersecreten das freie Sauerstoffatom natürlich nicht nachweisen können, sondern nur unter besonderen günstigen Verhältnissen wie in den Secreten der Schweiss- und Speicheldrüsen dessen Verbindung mit Wasser das Wasserstoffsuperoxyd finden.

Es spricht das Verhalten des Dimethylparaphenylendiamins unbedingt zu Gunsten der Ansicht Hoppe-Seyler's, dass das active Wasserstoffatom des Protoplasmas das Sauerstoffmolekül spaltet, das frei gewordene Sauerstoffatom erst Wasserstoffsuperoxyd bildet und gegen die Ansicht von Moritz Traube, dass das Wasserstoffsuperoxyd durch Reduction des Sauerstoffmoleküls entsteht durch Anlagerung zweier Wasserstoffatome an das Sauerstoffmolekül. Es würden meine Untersuchungen die Erfahrungen Baumann's¹⁾ und Richarz's²⁾ bestätigen, obwohl bei der Schnelligkeit, mit welcher das Wasserstoffsuperoxyd des Speichels Ammoniak in salpetrige Säure überführt, wie ich dies jüngst gezeigt, ein Mitwirken der salpetrigen Säure bei Verbrennungsprocessen im Thierkörper durchaus nicht auszuschliessen ist.

Die oben mitgetheilten Untersuchungen treten in scharfen Gegensatz zu den Arbeiten des Herrn Professor Ehrlich, welche derselbe in seinem Buche: »Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885« niedergelegt hat.

Ich finde in den mit Blut d. h. mit Sauerstoff versorgten Organen, während des Lebens, und nach dem Tode an der Luft starke Oxydationsvorgänge, welche auf die von mir angewandten Basen farbstoffbildend oder Methylgruppen verbrennend einwirken.

Dort wo Ehrlich den Sitz der höchsten Oxydation hinverlegt, in Herzen und im Gehirn, finde ich keine Farbstoffbildung, wohl aber eine durch Oxydation erfolgte Blaufärbung in der Lunge, welche nach Ehrlich den Ort der höchsten Reduction darstellt.

Dieser Widerspruch ist um so auffallender, als Ehrlich eigentlich mit demselben Körper gearbeitet haben will, wie ich, da nämlich das Indophenolweiss nach Ehrlich selbst im Organismus in seine Componenten in Dimethylparaphenylendiamin und Naphtol zerfallen soll, wenigstens will dies im Harne Ehrlich nachgewiesen haben.

¹⁾ Baumann, Diese Berichte XVI, 2146.

²⁾ Richarz, Verh. Phys. Gesellsch., Berlin, December 1886.

Da Ehrlich unter seinen küpenbildenden Farbstoffen die Indophenolversuche als entscheidend betrachtet und alle seine weitläufigen theoretischen Betrachtungen darauf basirt, so werde ich nur auf die Indophenolversuche Rücksicht nehmen.

Ehrlich benutzt zu seinen Injectionen nicht etwa das reine Indophenol, indem er daraus mit Traubenzucker und Natronhydrat eine Küpe bildet, sondern das Indophenolweiss des Handels und zwar soll dies nach Ehrlich selbst sowohl Zinnchlorür als Zinnchlorid enthalten.

Das Indophenolweiss, wie mir dasselbe von Cassella & Cie. in bereitwilliger Weise zur Disposition gestellt wurde, bildet ein braunschwarzes Pulver, welches sich zum grössten Theile in ausgekochtem destillirten Wasser mit braungelber Farbe löst und auf Zusatz von kohlen-saurem Natron einen unlöslichen blauen Farbstoff auch ohne Luftzutritt abscheidet, durch Essigsäure jedoch wieder braun gefärbt wird.

Durch Oxydationsmittel wird das sogenannte Indophenolweiss ebenso rasch zerstört, wie das Dimethylparaphenylendiamin.

Die wässerige Lösung des Indophenolweiss enthält schon freies Dimethylparaphenylendiamin, im Thierkörper verhält sich dieselbe wie das Diderivat, indem zugleich ein grosser Theil des Farbstoffs in den Blutcapillaren im unlöslichen Zustande niedergeschlagen ist.

Ehrlich benutzt nun das sogenannte Indophenolweiss, welches durch kohlen-saures Natron ohne Luftzutritt schon blau wird, durch Säuren sich wieder entfärbt, als küpenbildenden Farbstoff und injicirt das Gemenge von Zinnsalzen, Indophenolweiss, Paraphenylendiamin u. s. w. und knüpft an die Resultate seiner Befunde die weitgehendsten theoretischen Betrachtungen, obwohl er seine Befunde selbst zu wiederholten Malen als »paradoxe« bezeichnet.

Nur wenige Organe findet Ehrlich während des Lebens blau gefärbt, besonders das Herz und das Gehirn. Dies sind nun die Orte der höchsten Oxydation. Da das sogenannte Indophenolweiss schon durch Neutralisiren blau wird, so wird es nicht Wunder nehmen, dass die mit arteriellem alkalischem Blut versorgten Organe, wie Herz und Gehirn, den blauen Farbstoff in den Geweben oder in den Blutcapillaren in unlöslichem Zustande enthalten.

Einzelne Organe, wie die Lunge und bestimmte Muskelgruppen des Kopfes, enthalten den Farbstoff während des Lebens, theilweise in reducirtem Zustande, und verbläuen nach dem Tode durch neutrales chromsaures Kali.

Diese Orte wie die Lunge stellen nach Ehrlich die Orte der höchsten Reduction dar.

In der Mehrzahl der Organe findet Hr. Ehrlich weder primäre Bläung noch Verbläung durch nachträgliche Oxydation, und nimmt Hr. Ehrlich an, dass die erst genannten Organe ein Electionsvermögen für den Farbstoff besitzen und denselben in sich aufstapeln.

Ausser den zwei Möglichkeiten, dass das sogenannte Indophenolweiss nicht nur als solches, oder als das blaue Product vorhanden sein kann, scheint Ehrlich ein dritter Fall, dass dasselbe weiter im Körper verändert werden könne, gar nicht vorgeschwebt zu haben. Verbrennt das Indophenolweiss im Körper zu einer Verbindung, die durch Oxydation mit chromsaurem Kali sich nicht mehr bläut, so werden diejenigen Organe, in denen Ehrlich nichts gefunden hat, zu den Orten der höchsten Oxydation, und dies sind die grosse Mehrzahl der Körperorgane, die Orte der höchsten Reduction wie die Lungen zum Orte einer mässigen Oxydation, das Herz, das Gehirn zu den Orten mit alkalischer Reaction und geringer Oxydation.

Ehrlich nimmt selbst eine Spaltung des Indophenolweiss in Dimethylparaphenylendiamin und Naphtol im Organismus an. Das Dimethylparaphenylendiamin verbrennt jedoch im Thierkörper, wie ich bestimmt nachgewiesen habe, seine Methylgruppen.

Wie Möhlau¹⁾ gefunden, spaltet Salzsäure beim Stehen in der Kälte das Indophenolblau schon in salzsaures Dimethylparaphenylendiamin und Chinon.

Die Blaufärbung durch chromsaures Kali ist kein Beweis für das Vorliegen von Indophenol in den Geweben, da das Dimethylparaphenylendiamin durch neutrales chromsaures Kali ebenfalls in blaue Farbstoffe übergeführt wird.

Das küpenbildende Indophenol, welches also durch den Luftsauerstoff schon blau werden sollte, wird nach Ehrlich durch Oxydationsmittel, wie chromsaures Kali, nachgewiesen, während das Dimethylparaphenylendiamin, welches nur durch activen Sauerstoff sich färbt, schon an der Luft durch einzelne Gewebe postmortal Farbstoffbildung bis zum Blauschwarz zeigt.

Ebenso zweideutig sind die vitalen Indophenolsynthesen Ehrlich's aus Dimethylparaphenylendiamin und α -Naphtol, da nicht nur die Gewebe, Aether, ja auch das sich zersetzende Blut aus dem Dimethylparaphenylendiamin allein schon blaue Farbstoffe zu bilden im Stande sind.

Im höchsten Grade auffällig ist es mir, dass Herr Ehrlich, welcher so lange mit dem Dimethylparaphenylendiamin gearbeitet haben will, niemals die rothe Färbung erwähnt, welche so charakteristisch für das Diderivat ist, welche durch Oxydation in saurer Lösung entsteht, niemals die violetten Farbstoffe, welche durch Oxydation in verdünnter, niemals die blauen Farbstoffe, welche durch Oxydation in neutraler und etwas concentrirter Lösung sich regelmässig bilden und von Allen, die mit Dimethylparaphenylendiamin gearbeitet haben, angeführt werden.

¹⁾ Diese Berichte XVI, 2843, XVIII, 2915.

Zum Schlusse möchte ich nochmals die ausserordentlich giftige Wirkung des Dimethylparaphenylendiamins hervorheben.

Als Baumann im Verlaufe seiner schönen Arbeit über die Aetherschwefelsäuren vorschlug, bei Phenolvergiftungen schwefelsaure Salze zu verabfolgen, war derselbe hierzu wohl berechtigt, da die Wirkung dieser schwefelsauren Salze auf den Organismus seit Jahrhunderten bekannt sind.

Da Herr Ehrlich nun davon spricht, mit Hülfe der Sulfosäuren des Dimethylparaphenylendiamins Naphtolvergiftungen »thatkräftig und prompt« bekämpfen zu wollen und dieser Schluss auf die Bildung von Indophenol im Thierkörper zurückzuführen ist, obwohl Ehrlich's Indophenolthiere ebenfalls starben, so möchte ich vor der Anwendung eines solchen Arzneimittels wie das Dimethylparaphenylendiamin es ist, denn doch ausdrücklich warnen, da alle meine Thiere sowohl thatkräftig, als auch oft sehr prompt zu Grunde gingen.

Die Thierversuche wurden im Verein und unter Beihülfe des Herrn Dr. Gad ausgeführt, welcher hierüber in den Berichten der physiologischen Gesellschaft referirt hat.

Gad's Abtheilung. Physiologisches Institut.
Berlin, im Januar 1887.

64. C. Wurster: Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds gegen Eiweiss.

(Vorgetragen in der Sitzung vom Verfasser.)

Ich habe vor Kurzem die eigenthümliche Thatsache schon erwähnt, dass Hühnereiweiss gegen Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer oder neutraler Lösung so ausserordentlich beständig ist, dass hingegen durch Wasserstoffhyperoxyd in saurer Lösung, und zwar benutzte ich in der Regel Milchsäure und Kochsalz, das Eiweiss oft in wenigen Minuten oder in einigen Stunden in einen, in Wasser unlöslichen, Eiweisskörper verwandelt wird. Es ist mir nun gelungen, diese Gerinnung der Eiweisslösungen durch Wasserstoffsuperoxyd in Gegenwart von Milchsäure und Kochsalz etwas genauer festzustellen.

Der rasche Eintritt der Fällung hängt einestheils ab von dem frischen Zustand der Eier, von der Concentration der Flüssigkeit, mehr jedoch von der Temperatur. Während bei einer Zimmertemperatur von 18—23° C. die Gerinnung sehr allmählich eintritt,