

CHEMISCH WEEKBLAD.

Orgaan van de Nederlandsche Chemische Vereeniging.

ONDER REDACTIE VAN

Dr. L. TH. REICHER (Amsterdam) en Dr. W. P. JORISSEN (Helder).

Uitgever: D. B. CENTEN, Amsterdam.

Agent voor Ned. Indië: H. VAN INGEN, Soerabaia.

Het auteursrecht van den inhoud van dit Blad wordt verzekerd volgens de Wet van 28 Juni 1881, Staatsblad No. 124.

N^o. 38.

Amsterdam, 18 Juni 1904.

1^e Jaargang.

INHOUD: Prof. Dr. SVANTE ARRHENIUS, Die physikalische Chemie in der Serumtherapie. — Nederlandsche Chemische Vereeniging. — Industriële mededeelingen. — Ingekomen boeken, separatafdrukken, enz. — Correspondentie. — Ingekomen verhandelingen.

Die physikalische Chemie in der Serumtherapie

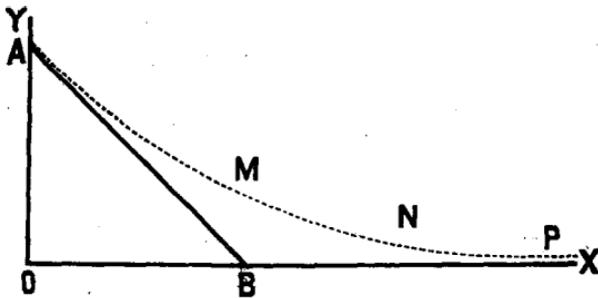
VON

SVANTE ARRHENIUS.

Bekanntlich beruht die Serumtherapie darauf, dass es in vielen Fällen gelingt durch Einspritzen von bestimmten mehr oder weniger schädlichen Körpern, die Toxine genannt werden, in lebendige Tiere spezifische Gegenkörper, Antitoxine genannt, zu gewinnen, welche die Wirkungen der entsprechenden Toxine herabsetzen oder sogar verhindern. Die von chemischem Gesichtspunkt naheliegendste Erklärung dieses Verhaltens der Antikörper gipfelt in der Annahme, dass durch eine chemische Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin unschädliche Verbindungen entstehen. Dieser Ansicht, welche vorzugsweise von deutschen Autoren gehegt wurde und die jetzt wegen ihrer Uebersichtlichkeit wohl allgemein angenommen ist, stand bis vor kurzem eine andere Anschauungsweise gegenüber, die hauptsächlich von französischen Forschern aufrechtgehalten wurde. Nach dieser letzten Anschauung sollten sich die Antitoxine gewissermassen als Stimulantia im Kampf der Lebewesen gegen die Toxine verhalten. Dieser Ansicht kommt eine neuerdings von NERNST ausgesprochene, dass die Antitoxine als Katalysatoren bei der Zerstörung der Toxine zu betrachten wären, recht nahe.

Die erste Betrachtungsweise, der ich mich mit der überwiegenden Mehrzahl der Serumtherapeuten im folgenden anschliessen will, nimmt eine Neutralisation des Toxins durch sein speci-

fisches Antitoxin an, die ungefähr nach derselben Art erfolgen sollte, wie die Neutralisation einer Basis durch eine Säure. Wenn man nun zwei Normallösungen hat, eine basische z. B. Natronlauge, und eine saure z. B. Chlorwasserstoff, und einem



Liter der ersten Lösung Dosen von je 10 cc. der letzten zusetzt, so verschwinden für jeden Zusatz genau gleich grosse Mengen der freien Natronlauge. Die Menge freier Natronlauge kann durch eine gerade Linie AB im nebenstehenden Diagramm dargestellt werden, worin die Abscisse OX die Menge von zugesetztem Chlorwasserstoff, die Ordinate dagegen die nach dem betreffenden Zusatz noch übrige Menge von freier Natronlauge bedeutet. Danach erwarteten die Serumforscher dass bei Zusatz von gleich grossen Dosen von Antitoxin die Giftigkeit einer bestimmten Menge von Toxin gleich stark abnehmen würde um bei einem bestimmten Zusatz gänzlich zu verschwinden. Die Erfahrung entsprach aber keineswegs dieser Berechnung, vielmehr wirkt die erste Dosis von Antitoxin im Allgemeinen kräftiger wie die zweite, diese wiederum kräftiger wie die dritte und so fort. Das Schwinden der freien Giftmenge durch zunehmende Zusätze von Antitoxin lässt sich also durch eine Kurve, die ungefähr der punktierten Kurve AMNP entspricht, darstellen. Um diese Erscheinung, welche nach dem Entdecker das EHRlich'sche Phänomen genannt wird, verständlich zu machen, nahm EHRlich an, dass die Toxine aus mehreren verschiedenen giftigen Bestandteilen zusammengesetzt sind, von welchen demnach im allgemeinen zuerst die giftigsten und danach immer weniger giftige durch successiven Zusätzen von Antitoxin neutralisiert werden sollten. Eine andere Anschauung, die den Vorteil der Einfachheit bietet, ist diejenige dass der chemische Umsatz zwischen Toxin und Antitoxin nicht vollständig ist, sondern dass ein Gleichgewichtszustand zwischen ihnen und ihren Reaktions-

produkten herrscht, wie dies ja, besonders im Gebiet der organischen Chemie, recht häufig eintritt. Wenn wir im oben angeführten Beispiel an Stelle von der starken Basis, Natronlauge, und der starken Säure, Chlorwasserstoff, eine schwache Basis, wie Ammoniak, und eine schwache Säure, wie Borsäure, zur Neutralisation verwendet hätten, so würde in der That die Neutralisationskurve nicht die Form AB sondern eine der Kurve AMNP ähnliche aufgewiesen haben.

Ein genaues Studium der Verhältnisse auf diesem Gebiete, welches ich theils mit dem Direktor des staatlichen Serum-Instituts in Kopenhagen, DR. TH. MADSEN, theils auf freundlicher Veranlassung vom Vorstand des preussischen Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt am Main, Geh.-Rath P. EHRLICH, angestellt habe, und wozu DR. MADSEN durch eigene oder in Gemeinschaft mit Herrn WALBUM ausgeführte Versuche wesentlich beigetragen hat, zeigte nun dass chemische Gleichgewichtsverhältnisse hier eine sehr grosse Rolle spielen. Es sind diese Versuche, worüber ich im folgenden kurz berichten will.

Vordem ich aber dazu übergehe, will ich zum besseren Verständniss kurz die Versuchsmethoden andeuten, welche benutzt werden. Sie sind grösstenteils von Hrn. EHRLICH ausgearbeitet. Bei denselben sind vorwiegend Hämolytine angewandt, weil sie der quantitativen Messung leicht zugänglich sind. Die Hämolytine zeichnen sich dadurch aus, dass sie in rote Blutkörper hineindringen und dieselben vergiften, was dadurch sich kundgibt, dass der rothe Farbstoff aus den Blutkörperchen heraustritt und die umgebende Flüssigkeit blutroth färbt. Als umgebende neutrale Flüssigkeit muss man dabei eine mit den Blutkörperchen isotonische Lösung verwenden — sonst werden die Blutkörperchen durch osmotische Vorgänge verändert. Das Gewöhnliche ist dass man zu diesem Zweck s. g. physiologische Kochsalzlösung benutzt, welche etwa 0.8 procentig ist. Diese Lösung wird bei allen Verdünnungsoperationen benutzt, ungefähr wie man bei gewöhnlichen physikalisch-chemischen Versuchen reines Wasser verwendet. Bei Versuchen, welche zur Feststellung der Wirkung von Chlornatrium dienen sollen, muss man natürlich eine andere isotonische Lösung, z. B. von Rohrzucker, als Verdünnungsmittel verwenden. Die Blutkörperchen werden durch Centrifugierung gewonnen und man macht von ihnen eine Aufschlemmung von beispielsweise 2.5 cc. Blutkörper

in 97,5 cc. physiologische Salzlösung. Zu dieser Aufschlemmung setzt man die Körper, die man in Bezug auf hämolytische Wirkung studieren will.

Zu den hämolytisch wirksamen Körpern zählen sehr viele anorganische Körper, wie die Basen, viele einfache Toxine, wie das Tetanolytin, und viele Körper, die aus der Zusammenwirkung von mehreren Körpern entstehen, wie z. B. Cobralysin, das aus Cobragift und Lecithin gebildet wird oder die Lysine, die aus Amboceptoren und Complementen gebildet werden, wovon weiter unten. Setzt man nun zu einer 2,5 procentigen Aufschlemmung von Pferdeblut, wovon 10 cc. in einem Probierröhrchen eingegossen sind, wechselnde Mengen einer 0,1 normalen NH_3 -Lösung und ausserdem soviel Salzlösung, dass das ganze 11 cc. beträgt, schüttelt die Mischung und stellt dieselbe während einer Stunde in ein Wasserbad von 37°C . und danach während 18 Stunden in einen Eisschrank von $2-3^\circ \text{C}$., so beobachtet man folgendes. Bei sehr geringen Zusätzen — bis 0,04 cc. NH_3 -Lösung — ist die Wirkung Null, d. h. alle Blutkörperchen haben sich unversehrt zu Boden gesetzt und die obenstehende Lösung ist nicht blutgefärbt. Bei etwas grösseren Mengen von NH_3 ist nur ein geringer Teil der Blutkörperchen hämolysiert, z. B. bei Zusatz von 0,1 cc. 0,7 Procent. Die hämolysierte Menge wächst danach rasch mit der zugesetzten Ammoniakmenge, sie beträgt bei den Dosen 0,2, 0,3, 0,5 und 0,65 cc. bzw. 12, 37, 65 und 100 Prozent. Bei noch höheren Zusätzen bleibt die Hämolyse konstant, sie kann nicht über 100 Prozent kommen, s.g. totaler Hämolyse entsprechend. Die Messungen sind am genauesten bei einer Hämolyse von 1—20 Prozent, Zusätzen von 0,11 bis 0,24 cc. entsprechend, also zu einem recht geringen Intervall beschränkt. Die Bestimmung der hämolysierten Menge in Prozent geschieht ganz einfach durch Vergleichung mit einer Blutskala, in welcher man mit 100 eine Mischung bezeichnet von 2,5 cc. Blutkörperchen und 107,5 cc. Wasser, welches durch Osmose vollkommene Hämolyse zustande bringt. Die übrigen Prozentsätze der Skala werden durch Mischung dieser Lösung mit Wasser bereitet, z. B. der mit 50 bezeichnete durch Mischung von gleichen Teilen Wasser und der mit 100 bezeichneten Lösung.

Wenn man nun mit Hilfe dieser Versuchsmethode die Toxizität von Mischungen aus beispielsweise Tetanolytin und seinem Gegenkörper messen will, verfährt man folgendermassen. Man

bereitet zwei Standard-Lösungen, eine von Tetanolyisin (A) und eine von Antitoxin (B). Ausserdem hat man eine physiologische Kochsalzlösung (C), zu Verdünnungen. Man nimmt 2 cc. von A und 2 cc. von C, mischt sie und setzt verschiedene Mengen x davon zu 10 cc. 2,5%-ige Blutaufschlemmung + $(1-x)$ cc. von (C). Man findet, dass $x=0.23$ cc. eine 20-prozentige Hämolyse hervorruft. Gleichzeitig setzt man eine Versuchsreihe von x cc. einer Mischung, die aus 2 cc. von (A), 0,15 cc. von (B) und 1,85 cc. von (C) besteht, zu 10 cc. Blutaufschlemmung und $(1-x)$ cc. von (C). Man findet dass in dieser Reihe $x=0.46$ ebenfalls eine 20-prozentige Hämolyse hervorruft. (Bei dieser Bestimmung wird eventuell Interpolation verwendet). Nachdem nun von der zweiten Lösung 0,46 cc., dagegen von der ersten nur 0,23 cc. nötig sind um dieselbe hämolytische Wirkung hervorzurufen, so sagt man, dass die zweite Lösung 0,23/0,46, d. h. gerade halb so giftig ist wie die erste. Auf diese Weise bestimmt man die Giftigkeit von Lösungen, die bei einer konstanten Menge Tetanolyisin verschiedene Mengen Antitoxin enthalten.

Da nun die Giftwirkung auf die Menge von anwesendem Tetanolyisin beruht, so ist es es die naheliegendste Annahme die man machen kann, dass in dem chemischen Gleichgewicht zwischen Blutkörperchen (in konstanter Menge) Tetanolyisin, Antitoxin und den daraus entstehende Körpern, die gleiche Menge von freiem Tetanolyisin vorhanden ist, wenn gleich starke Hämolyse eintritt. Wenn man ferner die zugesetzte Menge Tetanolyisin zufolge der Versuchsanordnung kennt, und aus dem Versuch die Menge von freiem Tetanolyisin berechnet, so kennt man auch die Menge von gebundenem (oder umgesetztem) Tetanolyisin. Die damit äquivalente Menge Antitoxin ist ebenfalls umgesetzt, also kennt man die Menge von freiem Antitoxin. Die Äquivalentzahl wird aus den Beobachtungen bestimmt. Man kann dann versuchen ob die experimentellen Daten sich darstellen lassen durch die Formel des chemischen Gleichgewichts:

(Freies Tetanolyisin) (Freies Antitoxin) = K (Gebundenes Toxin)ⁿ
 worin die eingeklammerten Quantitäten Konzentrationen darstellen. Man findet in der Tat, dass die Gleichung sehr gut die Beobachtungen wiedergiebt, falls man $n=2$ annimmt. Diese Annahme bedeutet dass aus einem Molekül Tetanolyisin und einem Molekül Antitoxin bei ihrer Reaktion zwei Moleküle sich bilden. Wie gut diese Formel die von MADSEN ausgeführten Ver-

suche darstellt zeigt sich aus folgender Tabelle, wo die berechnete Toxicität (T) neben der direkt beobachteten geschrieben ist. Es wurde dabei aus den Versuchen berechnet, dass 0,276 cc. der Lösung (B) mit 2 cc. der Lösung (A) äquivalent sind, sowie dass die Konstante K der Gleichung 0,115 beträgt.

Die zugesetzte Antitoxinmenge (in cc.) ist mit n bezeichnet.

Toxicität (T) von Mischungen aus Tetanolysin und
seinem Antitoxin.

n=	T (beob.)	T (ber.)	n=	T (beob.)	T (ber.)
0	4,45	(4,45)	0,5	0,45	0,46
0,05	3,67	3,67	0,7	0,27	0,28
0,1	3,13	2,95	1,0	0,18	0,18
0,15	2,32	2,29	1,3	0,12	0,13
0,2	1,62	1,72	1,6	0,09	0,11
0,3	0,97	1,03	2,0	0,08	0,09
0,4	0,63	0,62			

Bei den letzten Ziffern ($n > 1.0$) sind die Versuchsfehler zufolge von verschiedenen Umständen relativ bedeutend.

Um nun zu untersuchen ob der Verlauf der nämliche sei bei einem Lysin, das sicher als ein einheitlicher Körper zu betrachten ist, haben MADSEN und ich Ammoniak untersucht. Als Gegenkörper kann man eine Säure benutzen. Die meisten Säuren wirken aber in sehr geringer Konzentration selbst hämolysierend — nur wird die Blutflüssigkeit tiefbraun und nicht roth gefärbt — sie sind infolgedessen als Gegenkörper nicht geeignet. In der Borsäure haben wir eine Säure gefunden, die jedenfalls in den bei unsren Versuchen vorkommenden Konzentrationen keine merkliche Hämolyse hervorruft. Wir untersuchten also nach ganz derselben Methode, welche für Tetanolysin verwendet wurde, wie die Giftigkeit von Ammoniak durch Zusatz von Borsäure erniedrigt wird. Durch eine spezielle Untersuchung über das dabei stattfindende Gleichgewicht wurde festgestellt, dass dieselbe Gleichung wie für das Tetanolysin zu verwenden ist. Es zeigt sich, dass 1 Molekül Ammoniak mit einem Molekül Borsäure äquivalent ist, was der Bildung des Salzes $\text{NH}_4\text{O}_3\text{BH}_2$ entspricht. Die Konstante war 1,02. Die folgende Tabelle giebt die Resultate wieder.

Toxicität von Mischungen aus NH_3 und $\text{H}_3\text{O}_3\text{B}$.

n	T (beob.)	T (ber.)	n	T (beob.)	T (ber.)
0	6,0	(6,0)	1	1,51	1,62
0,167	5,1	4,7	1,333	1,21	1,10
0,333	4,1	3,8	1,667	0,77	0,79
0,667	2,6	2,5	2	0,60	0,60

Das EHRlich'sche Phänomen tritt ebenso deutlich hier, wie beim Tetanolysin hervor, lässt sich aber mit genügender Genauigkeit aus der theoretischen Formel berechnen.

In ähnlicher Weise sind von MADSEN und WALBUM eine Reihe von anderen Lysinen, nämlich Staphylolysin, Streptolysin und Vibriolysin, deren Namen ihre Herkunft andeuten, untersucht. Sie fanden dabei ähnliche Verhältnisse wie die oben geschilderten. Dasselbe scheint auch nach MYERS' Untersuchungen für Schlangengift und sein Gegengift Antivenin in Bezug auf seine hämolytischen Eigenschaften gültig zu sein.

Das in praktischer Hinsicht wichtigste von allen Heilsera ist das Diphtherieserum. Es wird bekanntlich von Thieren — speziell werden Pferde dazu verwendet — produziert, in deren Blutbahn das von Diphtheriebacillen producierte Diphtheriegift eingespritzt worden ist. Bei diesen Versuchen werden nicht Blutkörperchen, sondern lebende Tiere — gewöhnlich Meerschweine — als Indikatoren bei der Messung der Giftigkeit verwendet. Eine eingespritzte Giftmischung — man nimmt immer dasselbe Volumen — ist um so giftiger, je schneller das Tier stirbt oder je grösser seine Gewichtsabnahme pro Tag ist. In diesem Fall zeigen sich die Versuchsfehler bei einer Einzelmessung sehr bedeutend und man muss folglich Mittel aus einer grossen Zahl von Messungen nehmen, um nicht all zu unsichere Resultate zu erhalten. Das Messverfahren ist dem oben geschilderten analog.

EHRlich und nach ihm mehrere andere Forscher glaubten beim Diphtheriegift, besonders wenn es eine Zeit aufbewahrt worden war, festgestellt zu haben, dass es von den ersten Zusätzen von Antitoxin (Diphtherieserum) nicht geschwächt wird, dass aber weitere Zusätze von Antitoxin eine Schwächung nach dem oben geschilderten Typus hervorruft. Es sollte demnach nach EHRlich's Auffassungsweise der zuerst durch Antitoxin gebundene Teil des Diphtheriegifts ungiftig sein, danach kämen

die giftigen Teile durch weitere Zusätze von Antitoxin zur Sättigung, und zwar zuerst die giftigsten, dann immer weniger giftige.

Eine genaue Untersuchung der im staatlichen Serum-Institut zu Kopenhagen bisher verwendeten Diphtheriegifte, wobei alle Beobachtungen zur Berechnung verwendet wurden — vorhin hatte man nur einen sehr geringen Teil des Versuchsmaterials benutzt, — zeigte nun, dass das Diphtheriegift sich ganz ähnlich wie das Tetanolyisin verhält. Die Giftigkeit von Mischungen aus Gift und Gegengift lässt sich nach der obenstehenden Formel berechnen, wobei die verwendete Giftdose mit 0,4 cc. Diphtherieserum sich äquivalent zeigte und $K = 0,0122$ gefunden wurde.

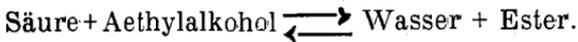
Die folgende Tabelle zeigt die Versuchsergebnisse:

Toxicität von Mischungen aus Diphtheriegift und Diphtherieserum.

n	T (beob.)	T (beob.)	T (ber.)
	Febr. 1902.	Sept. 1903.	
0	100	100	100
0,1	72,8	75,1	75,1
0,15	57,6	62,6	62,7
0,2	49,8	47,6	50,6
0,25	32,2	45,8	38,6
0,3	28,0	25,9	27,3
0,35	17,2	17,3	17,5
0,4	11,1	9,6	9,9
0,45	5,6	5,3	6,0
0,5	1,2	3,1	4,1
0,6	—	1,6	2,6

Die Giftigkeit des reinen Giftes wurde hier gleich 100 gesetzt. Das Gift war in der Tat während der Aufbewahrung während 17 Monaten (Febr. 1902—Sept. 1903) auf etwa die Hälfte geschwächt. Dessenungeachtet hatten seine Fähigkeit Antitoxin zu binden und die Gleichgewichtskonstante K sich nicht merklich geändert. Um dieses Verhalten verständlich zu machen, nehmen **MADSEN** und ich nach **EHRlich** an, dass das Gift beim Aufbewahren sich allmählich in eine ungiftige Modifikation, Syntoxoid genannt, verwandelt, die dieselbe Bindungsfähigkeit für Antitoxin und dieselbe Gleichgewichtskonstante wie das unveränderte

Gift besitzt. Eine nähere Ausführung dieser Betrachtungsweise führt zum Schluss, dass die beiden Moleküle, die bei der Reaktion von Toxin und Antitoxin in diesem Falle entstehen, ungleich sind, und dass der eine dieser Moleküle auch bei der Reaktion von Syntoxoid mit Antitoxin entsteht. Es ähnelt also diese Reaktion sehr derjenigen bei der Esterbildung:



Das Antitoxin entspricht hier dem Aethylalkohol, das Diphteriegift oder das Syntoxoid der Säure, das Wasser dem bei der Reaktion entstehenden gemeinsamen Bestandteil, der Ester dem Reaktionsprodukt, das für Gift und Syntoxoid verschieden ist.

Gerade für die Bindung von Diphteriegift durch sein Antitoxin ist EHRlich der Ansicht, dass sie sehr fest ist, und dass folglich in einer Giftmischung, die durch Antitoxinzusatz für Meerschweinchen unschädlich gemacht worden ist, kein freies Gift existiert. Dagegen müsste dies der Fall sein, wenn hier, wie wir annehmen, Gleichgewichtsverhältnisse vorliegen. Um diesen Punkt aufzuklären, haben MADSEN und WALBUM eine Reihe von Versuchen nach der folgenden Anordnung angestellt. Eine für Meerschweinchen vollkommen unschädliche Diphterie-Giftmischung mit Antitoxin wurde präpariert. In ein Probierröhrchen wurde 10,5 cc. einer 10-prozentigen Gelatinelösung gegossen, welche in einem Eisschrank (2—3° C.) zu einer festen Säule erstarrte. Auf diese Säule wurden 2 cc. der genannten, unschädlichen Giftmischung gegossen. Nach 66 Tagen wurde das Probierröhrchen aus dem Eisschrank genommen, die obenstehende Giftmischung abgegossen und die Gelatinesäule durch Zerschlagen des Röhrchens herausgenommen und mit starker physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Der oberste Teil (0,5 cc.) der Säule zeigte einen Ueberschuss an Antitoxin, der untere Teil (10 cc.) wurde durch gelindes Erwärmen verflüssigt und die Hälfte einem Meerschweinchen injiziert, welches nach 4,5 Tagen starb. Andere ähnliche Versuche ergaben sämtlich gleiche Resultate.

Dies Verhalten war vorausgesehen. Sowohl Diphteriegift als sein Antitoxin diffundieren langsam aus der obenstehenden Flüssigkeit in die Gelatinesäule hinein. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist aber viel (etwa 10 mal) grösser für das Gift als für das Gegengift, wie ältere Versuche von MADSEN und mir erwiesen. In

den 66 Tagen war folglich ein Teil des Giftes zu tieferen Schichten der Gelatinesäule hervorgedrungen, wo kein Gegengift noch angelangt war. Es war also gelungen freies Gift auf diese Weise aus einer „neutralen“ Giftmischung zu isolieren, was nicht möglich gewesen wäre, wenn nicht „freies“ Gift in der Mischung vorhanden gewesen wäre.

Dieser Versuch beweist, dass die Auffassung von EHRlich vollkommen unhaltbar ist, und dass im Gegenteil ein chemischer Gleichgewichtszustand zwischen Toxin, Antitoxin und ihre Reaktionsproducte stattfindet.

MADSEN und WALBUM haben ähnliche Versuche mit dem in den Samen von *Ricinus cominunis* vorkommenden Blutgift Ricin und seinem Antikörper, dem Antiricin, angestellt. Zuerst stellten sie fest, dass die Absättigung des Giftes dem obenstehenden Gesetz folgt. Ricin agglutiniert die Blutkörperchen und die Agglutinationsfähigkeit wurde mit Hilfe der Durchsichtigkeit der die Proben enthaltenden Probierröhrchen gemessen. In diesem Fall schwand das Gift allmählich, aber so, dass gleichzeitig ihre antiricinbindende Fähigkeit abnahm. Auch bei Mischungen von Ricin und Antiricin gelang es MADSEN und WALBUM die beiden Komponente durch Ausschütteln mit rothen Blutkörperchen von Kaninchen zu trennen.

Aehnlich wie das Diphteriegift verhalten sich ferner das Labferment, welches Milch coaguliert, mit seinem Gegenkörper Antilab, der im Pferdeserum normal vorkommt. Ebenfalls folgt das Nervengift Tetanospasmin, welches vom *Bacillus Tetani* ausgeschieden wird, ähnlichen Gesetzen bei seiner Neutralisation durch sein Antitoxin.

Der quantitativen Messung sind ebenfalls die Agglutinine zugänglich, wie die umfassenden Untersuchungen von EISENBERG und VOLK zeigen. Wenn man ein Pferd mit Typhusbacillen (in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt) einspritzt, so enthält das Serum seines Blutes nach einiger Zeit ein spezifisches Agglutinin, welches eine Aufschwemmung von Typhusbacillen agglutiniert, so dass sie sich zum Boden aus der umgebenden Flüssigkeit herabsetzen. Die Menge des Agglutinins in einer Lösung kann man auf die Weise bestimmen, dass man ermittelt, wie weit man die Lösung verdünnen kann ohne dass die Agglutinationsfähigkeit gänzlich verschwindet. Man kann auf diese Weise die Agglutininmenge in

einer Lösung feststellen, vordem und nachdem sie mit einer bestimmten Menge von Bakterien in Kontakt gestanden hat. Es zeigt sich dass ein beträchtlicher Teil des Agglutinins in die Bakterien aufgenommen wird. Solche Bestimmungen sind in grosser Anzahl von EISENBERG und VOLK ausgeführt worden. Ihre Versuchsdaten lassen sich innerhalb der Versuchsfehler durch folgende Formel berechnen:

$$x = K(a-x)^{2/3}$$

worin x die Konzentration des Agglutinins in den Bakterien, $(a-x)$ diejenige des Agglutinins in der umgebenden Flüssigkeit bedeuten. Bei konstanter Bakterienmenge, wie in den betreffenden Versuchen, kann man x und $a-x$ die relativen Mengen des absorbierten und des frei gebliebenen Agglutinins bedeuten lassen. a ist dann die Menge des Agglutinins in der Flüssigkeit vor dem Zusatz der Bakterien. Folgende Tabelle für Choleraagglutinin aus Pferdeserum möge die Anwendbarkeit der Formel andeuten:

Absorption von Choleraagglutinin durch Cholerabacillen.

a	x	x	a	x	x
	(obs.)	(ber.)		(obs.)	(ber.)
2	2	1,97	200	120?	173
20	20	19,1	2000	1300	1380
40	38	37,2	11000	6500	5740
67	60	59,7	20000	10000	9250

Die mit ? markierte Ziffer ist nach E. und V. als unsicher zu bezeichnen.

Die benutzte Konstante ist im vorliegenden Fall 19.

Dieselbe Formel, welche eine Verteilung des Agglutinins zwischen den Bakterien und der umgebenden Flüssigkeit darstellt, wobei das Molekulargewicht in den Bakterien 1,5 mal kleiner ist als in der Flüssigkeit, scheint ebenfalls nach einigen Versuchen, die Prof. MORGENROTH und ich angestellt haben, für die Absorption in Blutkörperchen gültig zu sein. Wir benutzten dabei Blutkörperchen von Ochsen und als absorbierbare Substanz einen sogenannten Amboceptor, den man im Blutserum eines Kaninchen findet, der mit rothen Blutkörperchen von einem Ochsen eingespritzt worden ist. Das Blutserum dieses Kanin-

chens enthält ein Hämolysin, welches rote Blutkörperchen von Ochsen hämolysiert.

Dieses Hämolysin besteht nach EHRlich aus einer Verbindung aus einem Körper, Amboceptor genannt, der wärmebeständig ist, und einem anderen Körper, Komplement genannt, der durch Erwärmung auf 60° C. zerstört wird. Bei Erwärmung des Hämolysins auf 60° C. bleibt — wegen des partiellen Zerfalls in die beiden Komponente — der Amboceptor allein zurück. Diesen Amboceptor haben MORGENROTH und ich in Bezug auf seine Absorption durch Ochsenblutkörperchen untersucht und gefunden, dass er demselben Gesetz folgt wie die Agglutinine bei ihrer Absorption.

Man kann die hämolysierende Eigenschaft des Amboceptors wiederherstellen, wenn man ein Komplement zufügt, welches sich mit ihm zu Hämolysin verbindet. Solche Komplemente finden sich in den meisten natürlichen Blutseris.¹⁾ Man kann die Menge des gebildeten Hämolysins nach der Stärke der Hämolyse beurteilen. In den folgenden Berechnungen ist es der Einfachheit halber angenommen, dass die Hämolyse dem Quadrat der Hämolysinenge proportional ist, eine Annahme, die in vielen Fällen sich als der Wirklichkeit recht genau entsprechend erwiesen hat. Bei den im folgenden Beispiel angeführten Versuchen sind angewandt: als Komplement (b) natürliches Meer-schweinserserum, als Amboceptor (a) das Serum einer Ziege, die mit rothen Blutkörperchen eines Ochsen vorbehandelt war. Die Blut-aufschlammung enthielt 2% von roten Blutkörperchen eines Ochsens.

MORGENROTH und SACHS hatten bei ihren Versuchen über die Hämolysinbildung in ähnlichen Fällen gefunden, dass zur kompletten Hämolyse oft um so mehr Amboceptor nötig war, je geringer die Komplementmenge genommen wurde. Dieses deutet auf ein Gleichgewichtsverhältniss zwischen Amboceptor (a), Komplement (b) und Hämolysin (h). In allen von mir untersuchten Fällen hat sich diese Annahme bestätigt. Ich habe dementsprechend Formeln zur Berechnung aufgestellt; so ist für die folgende Berechnung folgende Formel angewandt:

$$(5a-h)(20b-h) = 90h$$

¹⁾ Welche an und für sich äusserst schwach hämolysisch wirken.

Die danach berechneten Werte stehen neben den beobachteten in der folgenden Tabelle.

Bildung von Hämolysin aus Meerschweinenserum und Ziegen Serum-Amboceptor.

Gebildete Hämolysinmenge	beob. ber.				
Amboceptor a =	10	30	100	300	900
Komplement b = 60	40 46	— —	— —	— —	— —
40	37 45	— —	— —	— —	— —
25	38 42	— —	— —	— —	— —
15	39 37	— —	— —	— —	— —
10	38 33	71 84	98 100	100 100	— —
6	22 25	59 60	85 98	98 100	— —
4	20 20	45 44	75 65	82 73	— —
2,5	— —	24 29	51 43	47 47	— —
1,5	— —	15 18	25 25	22 28	24 29
1	— —	— —	15 17	15 19	18 20
0,6	— —	— —	11 10	13 11	13 12

Die Uebereinstimmung ist vollkommen innerhalb der Versuchsfehler. a, b und h sind in willkürlichen Einheiten angegeben.

Eine grosse Aehnlichkeit mit diesen Versuchen zeigen diejenigen, bei welchen Cobragift auf Lecithin einwirkend ein hämolytisches Gift, Cobralysin, bildet. Die folgende Tabelle giebt die betreffenden Versuche wieder:

Bildung von Cobralysin aus Cobragift und Lecithin.

Stärke der Hämolyse	beob. ber.					
Lecithin a =	1	2	3	10	30	100
Cobragift b = 250	4 0	100 100	— —	— —	— —	— —
250	2 0	88 92	— —	— —	— —	— —
150	0 0	80 52	100 100	— —	— —	— —
100	— —	32 36	72 72	— —	— —	— —
75	— —	32 28	64 52	— —	— —	— —
50	— —	20 16	36 36	— —	— —	— —
35	— —	12 12	32 28	88 80	— —	— —
25	— —	— —	— —	60 56	80 100	— —
15	— —	— —	— —	36 32	72 76	100 100
10	— —	— —	— —	— —	60 52	88 100
7,5	— —	— —	— —	— —	40 40	68 88
5	— —	— —	— —	— —	36 24	64 60
3,5	— —	— —	— —	— —	— —	40 40
2,5	— —	— —	— —	— —	— —	40 28

In diesem Fall zeigt sich eine Eigentümlichkeit, indem keine Hämolyse erfolgt, falls nicht die zugesetzte Lecithinmenge eine gewisse Grenze überschreitet, die Menge von Cobragift möge noch so gross sein. Diese Menge wurde durch besondere

Versuche gleich 1.5 (0,15 cc. einer 0,01 procentigen Lösung in 2,5 cc. 2 procentiger Ochsenblutkörperchenaufschlammung) gefunden, Die obenstehenden Versuche sind nach folgender Formel berechnet:

$$b(a-1.5)^{2/3} = 1.8h^2 = 1.8H$$

worin h die Menge Hämolysin und H der mit deren Quadrat proportionelle Grad der Hämolyse bezeichnen.

In diesem Fall scheint die Menge gebildeten Hämolysins sehr gering zu sein, nachdem es bei der Berechnung sich nicht nötig erweist dieselbe von den Mengen b oder a abzuziehen, wie in dem vorletzten Fall. Wenn die gebildete Menge Hämolysin von den Mengen Amboceptor und Komplement abzuziehen ist, so entspricht dies der Annahme, dass bei der Bildung von Hämolysin äquivalente Mengen von Amboceptor und Komplement verbraucht werden. Es findet also nach diesen Versuchen ein chemischer Umsatz zwischen diesen beiden Körpern unter Neubildung von Hämolysin statt. Bei der Bildung von Cobralysin kann man diesen Schluss aus der Formel, welche die Versuche darstellt, nicht schliessen. Die Untersuchungen von KYES haben aber auf anderem Weg für diesen Fall zu dem Schluss geführt, dass Cobralysin eine Verbindung von einem Bestandteil des Cobragiftes mit Lecithin ist.

In dem letzten Fall kommt die Lecithinmenge zur Potenz $\frac{2}{3}$ in der Formel vor. Diese Potenz oder bisweilen die Potenz $\frac{1}{3}$ entspricht auch einigen Versuchen mit Serum-Amboceptoren.

Ich habe auch die Wirkung von sogenannten Antikomplementen untersucht. Diese Körper entstehen im Blutserum eines Tieres, welches mit einem Komplement, d. h. einem normalen Serum, eingespritzt wird. Nach EHRlich's Versuchen sollte das Antikomplement mit dem Amboceptor um das Komplement konkurrieren und auf diese Weise die Bildung von Hämolysin herabsetzen. Dies scheint auch nach meinen Versuchen der Fall zu sein. Aber ausserdem scheint das Antikomplement ein direktes Antihämolysin zu enthalten, also einen Körper, welcher mit dem Hämolysin sich zu einem unschädlichen Produkt verbindet.

Diese Untersuchungen zeigen sämtlich, dass die Versuche auf diesem Gebiete nach der quantitativen Seite verfolgt werden können und dass sie so regelmässig ausfallen, dass sie mit Hülfe

von einfachen Formeln zu berechnen sind. Diese Formeln deuten an, dass die betreffenden Reaktionen unvollständig sind und dem GULDBERG-WAAGE'schen Gesetz für das chemische Gleichgewicht unterworfen sind. Die vielen Erscheinungen, welche bei Annahme von vollständigen Reaktionen unverständlich oder schwer begreiflich erschienen, haben auf diese Weise eine einfache Deutung erhalten.

Stockholm, im Juni 1904.

Nederlandsche Chemische Vereeniging.

AANGENOMEN ALS LID:

J. G. ROEST, T., Scheikundige van de Naaml. Vennootsch. „Onderlinge Pharmaceutische Groothandel” te Utrecht, Hamburgerstraat 38.

Dr. A. SMITS, Eerste Scheik. Gem. Gasfabrieken, 36 Weesperzijde, Amsterdam.

CANDIDAAT-LID:

Dr. P. K. LULOFS, Leeraar H. B. S., Amersfoort. Voorgedragen door Dr. A. J. BOKS, Rotterdam, en Dr. H. C. BIJL, Amsterdam.

ADRESVERANDERING:

J. G. ROEST (zie hierboven).

VERBETERING.

In no. 37 staat abusievelijk achter den naam van het lid VOERMAN, chem. doct^s.; lees: Dr. G. L. VOERMAN.

Jaarvergadering.

Deze zal plaats vinden op Zaterdag 16 Juli a. s. in het Chemisch Laboratorium der Universiteit van Amsterdam (N. Prinsengracht bij de Roetersstraat.)

In de morgenvergadering zal Dr. C. H. WIND spreken over „de hypothese der electronen in verband met de chemie”; in de namiddagvergadering zullen eenige vraagpunten, opgegeven door leden onzer vereeniging, ingeleid wordeh door sprekers, die zich daarvoor beschikbaar stellen. Tevens bestaat dan gelegenheid tot het doen van wetenschappelijke mededeelingen van niet te grooten omvang.

Vragen, die men behandeld wenscht te zien, en opgaven van te houden voordrachten worden vóór 21 Juni ingewacht bij ondergeteekende.

Waarschijnlijk zal een gemeenschappelijk tweede ontbijt gebruikt worden in den tuin van „Artis”, terwijl de gemeenschappelijke

maaltijd plaats zal vinden in het Grand Hôtel te Zandvoort-Bad (prijs per couvert *f* 2,50). Op vertoon van de lidmaatschapskaart der Ned. Chem. Ver. wordt toegang verleend tot het middagconcert in het Concertgebouw te Amsterdam op Zondag 17 Juli tegen betaling van *f* 0.75, terwijl het bestuur zal trachten nog verder reductie te krijgen op eenige toegangsprijzen. Nadere mededeelingen betreffende de vergadering zullen bijtijds in dit weekblad worden opgenomen.

Ondergeteekende zal gaarne **zoo spoedig mogelijk** bericht ontvangen van hen, die voornemens zijn aan het diner deel te nemen en liefst ook van allen, die **vermoedelijk** de vergaderingen zullen bijwonen.

JAN RUTTEN, *Secretaris*.
Stationsweg 84, 's-Gravenhage.

Contributie.

Ondergeteekende verzoekt den leden, die de postquintantie niet betaalden, haar zoo spoedig mogelijk de contributie per postwissel te willen zenden.

A. GRUTTERINK, *Penningmeesteresse*.
Ziekenhuis, Coolsingel, Rotterdam.

Industriële Mededeelingen.

Naaml. Vennootsch. Watergas-Maatschappij systeem Dr. KRAMERS en AARTS.

Aan het verslag over het met 31 December 1903 geëindigde tweede boekjaar is het volgende ontleend:

„Wegens gebrek aan werkzaamheden werd in Februari de machinefabriek te Breda gesloten. Intusschen was een begin gemaakt met de opruiming der machinerieën, waarvan tot ult. December tot een bedrag van *f* 3191.16 werd verkocht.

Het kantoor en technisch bureau is 15 Juni verplaatst van Dongen, resp. Breda, naar Amsterdam. De hoofdingenieur der Maatschappij, de heer J. HAIMA VAN DER WAL, vroeg en verkreeg zijn ontslag, eveneens de directeur, de heer J. C. AARTS.

Het aantal der in het buitenland verkregen patenten werd vermeerderd met één, dat van Zweden. De patenten voor Rusland en de Ver. Staten van Noord-Amerika werden ook in dit jaar nog niet definitief verleend. Intusschen bestaat er alle kans, dat deze twee patenten in den loop van dit jaar zullen worden verkregen.

In den verkoop der patenten slaagde de Mij. niet, omdat de Maatschappijen in kwestie wel een licentie-contract wilden, maar geen bepaalde som voor de patenten wenschten te betalen.

Als de belangrijkste onder de pogingen om een opdracht voor de levering van een apparaat te verkrijgen, mogen zeker wel gelden de onderhandelingen gevoerd met de stad Stuttgart, die in Augustus eene commissie naar Zevenbergen afvaardigde om het systeem te bestudeeren. De toen nog onvoldoende toestand, waarin het proefapparaat te Zevenbergen verkeerde, was oorzaak, dat de studie niet de uitkomsten gaf, die zij had kunnen geven, en dat derhalve de bestelling bij een concurrerende Duitse firma werd gedaan.

Zoo was de Maatschappij na het tweede jaar van haar bestaan nog steeds

zonder eenige opdracht, en ware het niet dat de vele bemoeiingen, gedaan om de levering te Amsterdam althans aan een der gasfabrieken te krijgen, kans van succes schenen te bieden, dan zou het voorstel tot liquidatie niet zijn uitgesteld, te meer ook, omdat het ontbreken van financieele middelen een langer voortbestaan onmogelijk maakten.

Intusschen nemen de onderhandelingen met de gemeente Amsterdam over de bestelling van eene complete watergas-installatie van 60,000 kub. M. etmaalproductie, een steeds vasteren vorm aan. Het college van commissarissen betreurend, dat gebrek aan geldmiddelen het opheffen der Maatschappij noodzakelijk zou maken, alvorens eene beslissing door deze stad was genomen, besloot in hare vergadering van Augustus aan de Maatschappij onder verband harer bezittingen een tijdelijk voorschot van f 14,000 te verlenen.

De balans van dit boekjaar sluit wederom met een verlies.

De kleine verliespost, dien, tegen de verwachting, de exploitatie der gasfabriek te Zevenbergen opleverde, is hoofdzakelijk te wijten aan de slechte constructie der ovens en aan den onvoldoenden toestand van het buizenet.

Maatschappij tot Exploitatie der C. G. ROMMENHÖLLER'sche koolzuur- en zuurstofwerken.

Aan het verslag over het met 31 December 1903 geëindigde boekjaar van de Maatschappij tot Exploitatie der C. G. ROMMENHÖLLER'sche koolzuur- en zuurstofwerken, gevestigd te Rotterdam, wordt het volgende ontleend:

De winst- en verliesrekening wijst een bruto-winst aan van M. 702,744,71, waarvan afgaan volgens de onkostenrekening M. 198,802.03, volgens de interestrekening M. 196,063.63 en aan reserve voor obligatierente M. 45,791.67, (de eerste leening bedraagt M. 2,166,666.67 en de tweede M. 2,000,000, waarvan in portefeuille M. 503,333.33), zoodat een netto winst overblijft van M. 260,087.38, waarbij komt saldo vorig jaar ad M. 7,032.72. Totaal M. 267,120.10.

De directie stelt voor op fabrieken en inrichtingen, alsmede op koolzuur- en zuurstofcylinders, gereedschappen, vrachtwagens en boorgereedschappen eene afschrijving te doen van M. 253,012.23, welke alsdan op de balans per 31 Dec. 1903 voorkomen met een bedrag van M. 6,961,200.61, en het overblijvende saldo van M. 14,107.87 op nieuwe rekening over te dragen.

Het reservefonds vertegenwoordigt per 31 Dec. j.l. een waarde van M. 20,751.45 en het extra-reservefonds een waarde van M. 50,000,

„Zelfs wanneer een hooger winstcijfer viel aan te wijzen, zou ik toch hebben voorgesteld”, zegt de directie, „dit geheel voor afschrijving aan te wenden op grond van de vaste lasten onzer Maatschappij in verband met de onzekere toestanden in de koolzuurindustrie.

Aan den anderen kant meen ik er op te mogen wijzen, dat tusschen de verschillende concurrenten onderhandelingen worden gevoerd om te trachten verbetering te brengen in den huidige toestand.

De afdeeling zuurstof heeft zich in het afgelopen jaar in zooverre gunstig ontwikkeld, dat na een hevigen concurrentiestrijd met de bestaande fabrieken ook in dit artikel een syndicaat tot stand gekomen is, en wel de „Vereenigde Sauerstoff-Werke G. m. b. H.” te Berlijn, in welke vereeniging wij met een flinke quote zijn opgenomen.

Deze vereeniging heeft reeds drie maanden met zeer goed succes gewerkt, zoodat wij nu eindelijk ook van de afdeeling zuurstof een goede winst kunnen verwachten.”

Ingekomen boeken, separatafdrukken, enz.

Rapport van den Scheikundige (Dr. A. LAM) bij den Keuringsdienst van Voedingsmiddelen te Rotterdam over de maanden Oct., Nov. en Dec. 1903.

Mededeelingen Coöp. Apoth. Ver. „De Onderlinge Pharm. Groot-handel”. Mei 1904. Utrecht.

Verslag van het Rijkslandbouwproefstation te Goes over het jaar 1902.

Congrès international de Laiterie. Sur les circonstances qui influent et qui dominant la composition du beurre. Rapport présenté par le Dr. A. J. SWAVING, directeur de la Station agronomique de l'Etat à Goes (Pays-Bas).

Correspondentie.

J. D. te Z. — Boeken en tijdschriften op chemisch gebied kunt u *tweedehands* krijgen o. a. bij J. L. BEIJERS, Utrecht; SWETS en ZEITLINGER, Amsterdam (67 Vijzelstraat); GUSTAV FOCK, Leipzig (Neumarkt 40); J. HESS, Ellwangen (Württemberg); W. F. CLAY, Edinburgh (18 Teviot Place); DIERIG und SIEMENS, Berlin C 22 (Gr. Präsidentenstrasse 3); MAIJER und MÜLLER, Berlin N. W. (Prinz Louis Ferdinandstrasse 2); SPEIJER und PETERS, Berlin N. W., 7 (Unter den Linden 43).

N. te A. — Zie: TH. OLIVER, Lead Poisoning in its Acute and Chronic Forms, Edinburgh, YOUNG J. PENTLAND, 1891.

H. F. KUIJPER en E. WINTGENS, Verslag omtrent een onderzoek naar het voorkomen van loodvergiftigingen in de aardewerkindustrie en eenige andere bedrijven in het jaar 1900. (Verslagen van de Inspecteurs van den Arbeid over 1899 en 1900.)

T. E. THORPE and TH. OLIVER, Report on the Employment of Compounds of Lead in the Manufacture of Pottery, their Influence upon the Health of the Workpeople with Suggestions as to the Means which might be adopted to counteract their Evil Effects, 54 d.

T. E. THORPE, Use of Lead in the Manufacture of Pottery, 1901, 2 d.

T. E. THORPE, Report on the Work of the Government Laboratory on the Question of the Employment of Lead Compounds in Pottery, 1901, 4 d. De laatste drie zijn verkrijgbaar bij EYRE and SPOTTISWOODE, East Harding Street, Fleet Street, London E. C.

„*Ander lid*” der *Nederl. Chem. Ver.* — Dat in het Weekblad „ongeveer niets dan math. chem. verhandelingen worden opgenomen”, kunnen wij u niet toegeven. Is het misschien niet ernstig bedoeld?

Behalve de verschillende redevoeringen, adressen, polemische stukken, verslagen, enz., zijn tot nu toe ongeveer 40 verhandelingen opgenomen.

Van deze is slechts een dertiental van fysisch-chemischen aard en daarvan is nog maar een klein deel mathematisch-chemisch. Bijna evenveel opstellen zijn analytisch-chemisch. Het overblijvende derde deel bestaat uit verhandelingen op organisch, technisch en ander gebied.

Wij kunnen ons best voorstellen, dat er onder de lezers van het Weekblad gevonden worden, die bovengenoemde verhouding anders zouden wenschen, maar hun zouden wij willen aanraden hierin verandering te brengen, door of zelf verhandelingen van gewenschten aard in te zenden, of hunne vrienden daartoe aan te sporen. Dit laatste willen wij ook gaarne doen, indien wij slechts een opgaaf van namen mogen ontvangen. Het zal ons niet aan goeden wil ontbreken.

De Redactie.

INGEKOMEN VERHANDELINGEN.

JAN RUTTEN, Beschrijving van een toestel tot regeling van den druk bij distillatie onder verminderden druk.

SUZE GROSHANS en DR. J. H. ADRIANI: J. A. GROSHANS.