

BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE.

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

N° 7.

Juillet

1902.

- Sommaire:** 43. M. CASIMIR KOSTANECKI. La fécondation artificielle et la parthénogénèse expérimentale sur les oeufs de *Mactra*.  
44. M. ÉMILE GODLEWSKI fils. Sur la régénération des *Tubularia*.  
45. M. ADAM BOCHENEK. Quelques nouveaux détails sur la structure de la glande pituitaire des amphibiens.  
46. M. MIECISŁAS JAWOROWSKI. „L'apparato reticolare“ de M. Golgi dans les cellules des ganglions spinaux des vertébrés inférieurs (oiseaux, amphibiens).  
47. M. ST. NIEMENTOWSKI. Sur les limites de formation des composés diazoamidés et sur quelques colorants azoïques.  
48. M. ST. NIEMENTOWSKI. Sur l'acide chloraldianthranilique.  
49. MM. WŁ. BACZYŃSKI et ST. NIEMENTOWSKI. Études sur la bromuration des benzimidazols.  
50. M. VICTOR SYNIEWSKI. Sur l'action de l'aldéhyde formique sur l'amidon et sur une combinaison de l'iode avec l'amyloextrine.  
51. M. VICTOR SYNIEWSKI. Sur la constitution de l'amidon.  
52. PUBLICATIONS DE LA CLASSE.

Séance du lundi 7 Juillet 1902.

PRÉSIDENCE DE M. E. GODLEWSKI.

43. M. CASIMIR KOSTANECKI m. t. *Sztuczne zapłodnienie i sztuczny partenogenetyczny podział jajek mięczaka Mactra. (Ueber künstliche Befruchtung und künstliche parthenogenetische Furchung bei Mactra).* (La fécondation artificielle et la parthénogénèse expérimentale sur les oeufs de *Mactra*).

Während des Aufenthalts an der zoologischen Station in Neapel im Monat April und Anfang Mai l. J. habe ich zunächst Versuche mit der künstlichen Befruchtung bei *Mactra* (*Mactra stultorum*, *Mactra helvacea*) vorgenommen. Die sich hierbei abspielenden Vorgänge lassen sich am lebenden Material nur in den allgemeinsten Zügen verfolgen, denn die Eier von *Mactra* sind wegen der dichten Anhäufung des Dotters wenig durchsichtig. Behufs genaueren Studiums wurden sämtliche Stadien fixiert, gehärtet und in Paraffin eingebettet und ich hoffe in einiger Zeit eine eingehendere Beschreibung des Processes geben zu können.

Von den an lebenden Eiern gemachten Beobachtungen seien nur einige hervorgehoben: Unbefruchtete Eier von *Mactra*, ins



Meerwasser gebracht, zeigen keine Veränderungen, selbst nach 5—7 Stunden sieht man in der Mitte des Eies das grosse kugelige Keimbläschen. Ohne Befruchtung wird also bei *Mactra*, im Gegensatz zu vielen anderen Thierspecies, die Richtungsmitose nicht eingeleitet. Nach Zusatz von Sperma fängt dagegen in einigen Minuten das Keimbläschen an, seine Contouren zu verlieren und in etwa 15—20 Minuten sieht man an Stelle des grossen kugeligen Keimbläschens in der Mitte des Eies ein helleres Feld, an dem man die dicentrische Anordnung der Strahlungen beobachten kann: offenbar das Bild der die Eimitte einnehmenden I Richtungsspindel. Sowohl für dieses Stadium als auch für die nachfolgenden Stadien kann man bezüglich der Zeit, in welcher die Prozesse ablaufen, grosse individuelle Schwankungen feststellen, was am besten daraus ersichtlich ist, dass in einigen Serien die Ausstossung des I Richtungskörpers in 35 Minuten, die Theilung des Eies in zwei Tochterzellen in 1 Stunde 30 Minuten, in anderen dagegen die Ausstossung des I Richtungskörpers erst in 45 bis 50 Minuten, die Theilung des Eies erst in 1 Stunde 50 Minuten, selbst in 2 Stunden und einigen Minuten erfolgte.

Am lebenden Ei konnte man das Hinaufrücken der I Richtungsspindel gegen die Eiperipherie, die Emporwölbung eines protoplasmatischen Hügels und die Abschnürung des vollkommen homogenen hellen I Richtungskörpers ganz gut verfolgen. Unter dem abgeschnürten I Richtungskörper erfolgt dann in dem helleren Feld, in welchem offenbar die Ausbildung der II Richtungsspindel vor sich geht, eine dicentrische Anordnung der plasmatischen Theile und hierauf die Ausstossung des II Richtungskörpers.

Den Spermakern sammt seiner Strahlung konnte man am lebenden Object nicht wahrnehmen; einige Zeit nach Ausstossung des II Richtungskörpers sieht man nur in der Mitte der Eizelle ein helleres Feld, das bald Hantelform annimmt, und in 25 bis 30 Minuten nach Ausstossung der beiden Richtungskörper erfolgt sodann die Durchschnürung der Eizelle in zwei ungleiche Tochterzellen; nach weiteren 30—35 Minuten (bei sich rasch entwickelnden Serien in 2 Stunden 15 Minuten vom Augenblick der Befruchtung an) hat man schon 4 Furchungszellen, von denen 3 ungefähr gleich gross, die vierte aber viel grösser ist; die weiteren Furchungstheilungen verlaufen in sehr raschem Tempo, in etwa 10 Minuten geht das 4-Zellen Stadium ins 8-Zellen Stadium über (vergl. Fig. 1.).

Nach erfolgter Befruchtung erscheint das Ei von einer dünnen Membran umgeben, welche dem Ei dicht anliegt, so dass nur ein kleiner Zwischenraum zwischen derselben und dem Ei zu bestehen scheint; man gewahrt sie viel deutlicher in dem Augenblick,

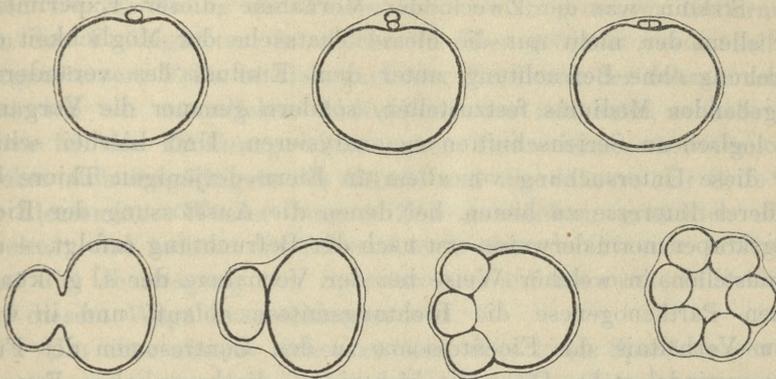


Fig. 1.

wo sie durch den sich abschnürenden I Richtungskörper abgedrängt wird, oder wenn sich das Ei in zwei Tochterzellen theilt und sie die tiefen Einbuchtungen zwischen den Zellen überbrückt.

Macra ist ein Material, welches in Neapel, allerdings nur bei gutem Wetter und ruhigem Meer, ziemlich leicht zu beschaffen ist. Dabei bietet es für die künstliche Befruchtung insofern günstige Verhältnisse, als die Thiere zur Zeit der Geschlechtsreife die Geschlechtsproducte in grossen Mengen enthalten, so dass sie sich beim blossen Anschneiden der Geschlechtsorgane in grosser Menge entleeren. Da zudem die Thiere getrenntgeschlechtlich sind, so beschloss ich zu versuchen, ob bei denselben sich nicht auch die seit den Arbeiten von Loeb so in den Vordergrund der Discussion getretene s. g. künstliche Parthenogenese erreichen liesse.

Dabei leiteten mich mehrere Gesichtspunkte: Zunächst ist die Frage der s. g. künstlichen Parthenogenese überhaupt so neu, dass die Ausdehnung der Experimente auf neue Thiergruppen von selbst geboten erscheint, da einerseits nur dadurch festgestellt werden kann, ob die Möglichkeit derselben nur auf einige Thiergruppen beschränkt oder allgemeiner verbreitet ist, andererseits es sich von vorneherein erwarten lässt, dass bei neuen Thiergruppen vorge-

nommene Experimente auch neue Thatsachen bringen und neue Gesichtspunkte eröffnen können. Zudem sind gerade bei Mollusken Versuche, die von positivem Erfolg begleitet wären, bisher nicht verzeichnet; die diesbezüglichen Versuche *Ariolas* bei *Dentalium entalis* fielen negativ aus.

Sodann war der Zweck der Vornahme dieser Experimente vor allem der, nicht nur die bloße Thatsache der Möglichkeit der Furchung ohne Befruchtung unter dem Einfluss des veränderten umgebenden Mediums festzustellen, sondern genauer die Vorgänge cytologisch an Serienschnitten zu analysieren. Und hierbei schien mir diese Untersuchung vor allem an Eiern derjenigen Thiere besonderes Interesse zu bieten, bei denen die Ausstossung der Richtungskörper normalerweise erst nach der Befruchtung erfolgt, — um festzustellen, in welcher Weise bei der Vornahme der s. g. künstlichen Parthenogenese die Richtungsmitose abläuft und in welchem Verhältnis das Eicentrosoma zu den Centrosomen der Furchungsspindel steht. Denn die bisherigen, diesbezüglichen Experimente, die cytologisch genauer untersucht wurden, betrafen nur Echinodermen und zwar diejenigen, bei denen die Richtungskörper bereits vorher innerhalb der Geschlechtsorgane ausgestossen waren; bei den Experimenten an anderen Thieren wurde den Richtungskörpern wenig Beachtung geschenkt; nur für die Eier von *Chaetopterus pergamentaceus* haben wir die Beobachtung *Meads*, dass die Richtungskörper ganz so wie bei den durch Spermatozoën befruchteten Eiern ausgestossen werden; die Vorgänge, welche sich aber in der Eizelle nach Ausstossung des II Richtungskörpers vor der Theilung in zwei Furchungszellen abspielen, hat *Mead*, der, wie es scheint, nur Eier in toto beobachtet hat, nicht genauer analysiert. Die Eier von *Mactra*, an denen im gewöhnlichen Meerwasser, mögen sie darin noch solange liegen, ohne Befruchtung die Richtungsmitose nicht eingeleitet wird, schienen mir zur Vornahme der Versuche mit der s. g. künstlichen Parthenogenese ein besonders geeignetes und günstiges Material zu bilden.

Bei der Vornahme der Experimente kommt es natürlich vor allem darauf an, die Möglichkeit der Befruchtung der zum Experiment verwendeten Eier durch Spermatozoën zu verhüten; und bei *Mactra* besteht hierbei die hauptsächlichste Schwierigkeit darin, dass das Geschlecht der Thiere äusserlich nicht zu erkennen ist. Ich suchte daher diesen Übelstand durch eine Reihe anderer Vor-

sichtsmassregeln zu heben. Vor allem suchte ich die Thiere, soweit es nur möglich war, zu isolieren, indem ich die Individuen, welche am nächsten Tage zum Experiment verwendet werden sollten, einzeln in je ein kleines Bassin mit durchfliessendem Meerwasser legte, bisweilen sogar einige Tage die Thiere auf diese Weise isoliert hielt. Die Eröffnung der Thiere habe ich in grösserer Entfernung von den Flüssigkeiten, in welche die Eier gebracht werden sollten, vorgenommen. Falls es sich nach der Eröffnung der Schaal zeigte, dass ich ein männliches Individuum vor mir hatte, so habe ich, bevor ich die Eröffnung eines neuen Individuums vornahm, zunächst aufs sorgfältigste die Hände und die Scheere mit Seife unter fliessendem Wasser längere Zeit gewaschen, gründlich abgetrocknet und sodann die Scheere noch über der Flamme erhitzt, so dass die Übertragung von Spermatozoën auf das zweite Individuum auf diesem Wege ausgeschlossen war.

Um aber absolut sicher zu sein, dass keine Spermatozoën das Experiment verunreinigen, bin ich in der Weise vorgegangen, dass ich stets zu je einem Experiment die Eier von nur je einem Individuum verwendete (was bei der grossen Menge der sich aus den Geschlechtsorganen entleerenden Eier mehr als genug ist) und immer die sich zunächst in die innerhalb der Muschelschalen befindliche Flüssigkeit entleerenden Eier, welche also naturgemäss noch am ehesten mit etwaigen Spermatozoën in Berührung hätten kommen können, in ein Gefäss mit gewöhnlichem Meerwasser als Controlleier brachte und erst die hierauf aus den angeschnittenen Geschlechtsorganen herausfliessenden Eier zu dem eigentlichen Experiment verwendete, indem ich sie in die jeweilige zum Experiment dienende Flüssigkeit abfliessen liess.

Ich habe dann jedesmal in verschiedenen Zeitabständen von den Controlleiern grössere Proben entnommen und unter dem Mikroskop untersucht; um nachträgliche Wiederholungen zu vermeiden, muss ich von vorneherein bemerken, dass ich in keinem einzigen Falle, selbst nach 5—7 Stunden, je irgendwelche Veränderungen an irgend einem Ei bemerkt habe; die Eier waren nicht gefurcht, sie hatten keine Richtungskörper ausgestossen und man konnte in ihnen, ganz wie in den frischen unbefruchteten Eiern, in der Mitte das grosse, kugelige Keimbläschen wahrnehmen. Auf diese Weise hatte ich, glaube ich, die sicherste Gewähr dafür, dass das Experiment — und dies gilt für alle — in dieser Beziehung „rein“ war.

Ich habe diese Experimente erst, nachdem ich vorher sämtliche Stadien der normal befruchteten Eier gesammelt hatte, gegen den 20. April begonnen; da in diesem Jahre in Neapel Ende April und Anfang Mai die Witterung sehr ungünstig und das Meer sehr bewegt war, so konnte ich leider das in solchen Fällen nur selten und schwer zu beschaffende Material von Maetra, trotz des lebenswürdigsten Entgegenkommens Dr. Lobianco's, nicht in der Menge erhalten, wie es zur Durchführung einer grösseren Reihe von Experimenten erforderlich gewesen wäre. Das Material, welches ich zur Verfügung hatte, war aber immerhin ausreichend, um doch eine ganze Reihe von fundamentalen Versuchen auszuführen, welche es mir auch ermöglichten, die verschiedenen Stadien zu fixieren und behufs weiterer genauerer cytologischer Untersuchung in Paraffin einzubetten.

Bevor ich die Ergebnisse dieser, jedenfalls längere Zeit in Anspruch nehmenden Untersuchung, von der ich mir wichtige Aufschlüsse verspreche, mittheilen kann, möchte ich hier die am lebenden Material gewonnenen Beobachtungen, die an sich allein schon manches Interesse bieten, vorführen.

Ich habe mich behufs Erhöhung der Concentration des Meerwassers dreier der von Loeb angewandten Salzlösungen bedient, nämlich Normallösungen von KCl, NaCl und CaCl<sub>2</sub>, sodann habe ich auch die Concentration durch Hinzugabe eingedampften Meerwassers erhöht. Jede Versuchsserie bot unter gewissen Umständen ein positives Resultat bezüglich der Einleitung der parthenogenetischen Furchung, da aber bei jeder sich in den Einzelheiten besondere Eigenthümlichkeiten ergaben, so will ich sie auch einzeln hier vorführen.

#### A. Versuche mit Zusatz von KCl.

##### I. Versuchsreihe.

2 $\frac{1}{2}$ n. KCl-Lösung . . . . .	5 ccm.
normales Meerwasser . . . . .	95 "

Mit dieser Concentration habe ich drei Versuche angestellt, in jedem habe ich aber die Eier in der Lösung verschieden lange Zeit verbleiben lassen.

Versuch 1. Nach 45—50 Minuten sieht man bei einer grossen Zahl der Eier die Abschnürung des I Richtungskörpers.

Der II Richtungskörper wird nur bei einem sehr geringen Bruchtheil der Eier abgeschnürt, etwa in einem Ei auf mehrere Hundert. Die Eier verbleiben in der Flüssigkeit 4 Stunden. Bis zu dieser Zeit sieht man keine Furchung des Eies. Die Flüssigkeit wurde nach 4 Stunden abgossen und die Eier in eine grosse Menge normalen frischen Seewassers gebracht. Ein verhältnismässig kleiner Theil der Eier theilt sich nach einigen Minuten in 2 theils gleiche, theils ungleiche Tochterzellen; andere, wiewohl sie 2 Richtungskörper ausgestossen haben, bleiben auch nach 6 Stunden ungetheilt; auch die Eier, welche sich getheilt haben, gehen über das 2-Zellenstadium nicht hinaus.

Versuch 2. Die in die Flüssigkeit hineingelegten Eier wurden in der Flüssigkeit 45 Minuten belassen. Während dieser Zeit habe ich die Eier von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop untersucht. Schon nach 15 Minuten sah man, dass das in der Mitte des Eies gelegene grosse Keimbläschen seine Contouren verlor, man konnte, ähnlich wie bei den durch Spermatozoën befruchteten Eiern an Stelle desselben ein helleres Feld mit dicentrischer Anordnung der plasmatischen Theile bemerken und nach einiger Zeit sah man die karyokinetische Figur gegen die Oberfläche hinauf-rücken, darauf, in einigen Eiern nach etwa 45 Minuten von Beginn des Experiments<sup>1)</sup>, sich den I Richtungskörper abschnüren, ganz wie bei den durch Spermatozoën befruchteten Eiern. Darauf sah man in dem helleren Feld unter dem abgeschnürten Richtungskörper, wiederum ganz wie in den befruchteten Eiern, eine dicentrische Anordnung und darauf, in 1 Stunde 20—25 Minuten ungefähr, die Ausstossung eines II Richtungskörpers; ein bedeutender Unterschied in der Zeit der Ausstossung des I und II Richtungskörpers besteht also zwischen diesen Eiern und den durch Spermatozoën befruchteten nicht. Jedoch muss hervorgehoben werden, dass in einem ziemlich grossen Procentsatz der Eier sich die Ausstossung der beiden Richtungskörper bedeutend verzögerte, ebenso wie auch bezüglich der weiterhin zu beschreibenden Vorgänge bedeutende zeitliche Schwankungen vorkamen; bei einem anderen Theil der Eier traten überhaupt keine Veränderungen ein.

Schon kurze Zeit nachdem die Eier in die Flüssigkeit ge-

<sup>1)</sup> Die Zeitangaben beziehen sich überall, wo nicht etwa speciell anderes angegeben ist, auf die vom Beginn des Experimentes verflossene Zeit.

bracht wurden, zeigte sich auf der Oberfläche eine feine Membran, die vollkommen dasselbe Aussehen bot wie bei den normalen befruchteten Eiern (vergl. Fig. 2.).

Nach Ausstossung der beiden Richtungskörper tritt dann eine längere Pause ein, während welcher es wegen der grossen angesammelten Deutoplasmamassen sehr schwer ist, am lebenden Ei

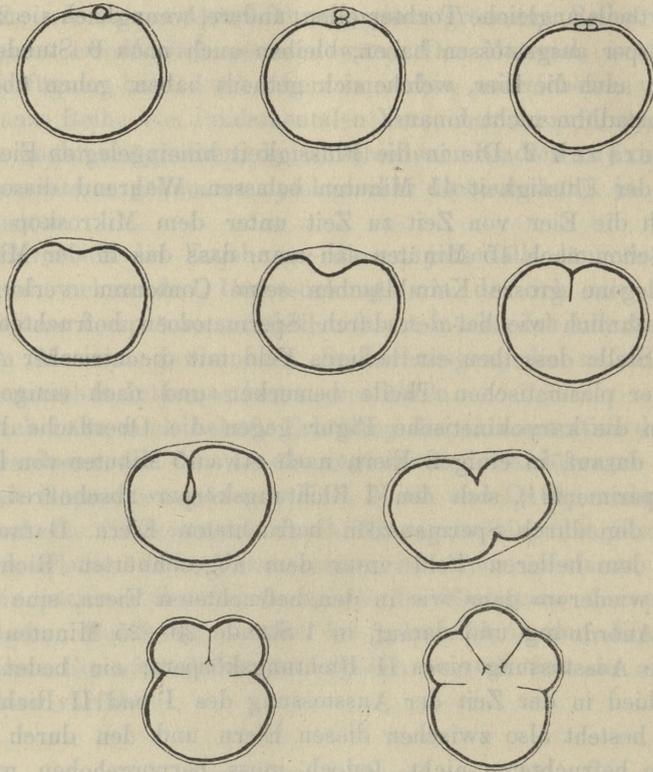


Fig. 2.

zu verfolgen, was in der Eizelle vorgeht. Erst in 5—6 Stunden konnte man aus der hantelförmigen Gestalt des helleren Feldes in der Mitte der Eizelle schliessen, dass eine dicentrische Anordnung der plasmatischen Theile stattgefunden hat. Nach 6 Stunden konnte man dann an der Mehrzahl der Eier den Beginn der Zweitheilung feststellen. Wenn wir die Zeit des Eintrittes der Zweitheilung dieser Eier (ungefähr 6 Stunden) mit der Zweitheilung bei den be-

fruchteten Eiern (— auch bei den langsam sich entwickelnden Serien ungefähr 2 Stunden —) vergleichen, so sehen wir eine sehr bedeutende Verzögerung; einige Eier theilten sich sogar erst nach 7 Stunden. Nach 10 Stunden war ein Theil der Eier in 6 Zellen getheilt, darüber gingen sie nicht hinaus.

Versuch 3 ist ganz identisch mit dem Versuch 2, nur dass die Eier in der Flüssigkeit, anstatt 45 Minuten, 1 Stunde verblieben. Sowohl bezüglich der Ausstossung der Richtungskörper als auch bezüglich des Zeitpunktes des Eintrittes der Zweitheilung war in beiden Versuchen kein Unterschied zu verzeichnen.

## II. Versuchsreihe.

2 $\frac{1}{2}$ n. KCl . . . . .	10 ccm.
Meerwasser . . . . .	90 „

Ich habe zunächst eine Reihe von Versuchen angestellt, in denen ich die Eier längere Zeit hindurch in der Lösung verbleiben liess, so im 1. Versuch 4 Stunden, im 2. Versuch 3 $\frac{1}{2}$  Stunden, im 3. Versuch 3 Stunden, im 4. Versuch 2 $\frac{1}{2}$  Stunden, im 5. Versuch 2 Stunden, im 6. Versuch 1 $\frac{1}{2}$  Stunden.

Alle diese 6 Versuche zeigten den gleichen Verlauf:

In der grossen Mehrzahl der Eier sah man das kugelige Keimbläschen schwinden und offenbar die karyokinetische Figur sich ausbilden, indessen erfolgte die Ausstossung der Richtungskörper bei einem nur sehr geringen Theil dieser Eier, ungefähr in einem Ei auf etwa 100—200 Eier und hierbei konnte man wiederum wahrnehmen, dass meist nur ein Richtungskörper ausgestossen wurde, nur in ganz seltenen Fällen zwei. Die eventuelle Ausstossung des I Richtungskörpers erfolgte in etwa 45—50 Minuten, die des II nach sehr wechselnder Frist. In den Eiern, welche, trotz der Auflösung des Keimbläschens, keine Richtungskörper ausgestossen haben, konnte man bisweilen mehrere Strahlungen wahrnehmen, welche etwa vielpolige karyokinetische Figuren oder dgl. vermuthen liessen.

Der weitere Verlauf war in diesen Versuchen (gleichgiltig, wie lange die Eier in der Lösung verbleiben, bevor sie ins frische Meerwasser gebracht wurden, ob wie im 1. Versuch 4 Stunden, oder wie im 6. Versuch 1 $\frac{1}{2}$  Stunden) stets derselbe: nach ungefähr 3, 3 $\frac{1}{2}$ —4 Stunden sah man die Eier in die Länge gestreckt,

sodann an der mehr abgeflachten Seite eingeschnürt und sodann erfolgte, (aber nicht an allen Eiern gleichzeitig, bisweilen mit grosser Verzögerung), die Durchschnürung in zwei, meist ähnlich wie bei der normalen Befruchtung, ungleiche Zellen, bisweilen aber auch zwei gleich grosse Tochterzellen (vergl. Fig. 3.). Hierbei konnte man feststellen, dass die Theilung in zwei Furchungszellen an einer überwältigend grösseren Zahl der Eier erfolgte, als die Zahl derjenigen war, an denen man die Ausstossung der Richtungskörper wahrnehmen konnte. Hieraus ergab sich nothwendiger Weise der Schluss, dass in einer ganzen Zahl der Eier die Ausstossung der beiden Richtungskörper, theilweise nur des II Richtungskörpers, unterdrückt

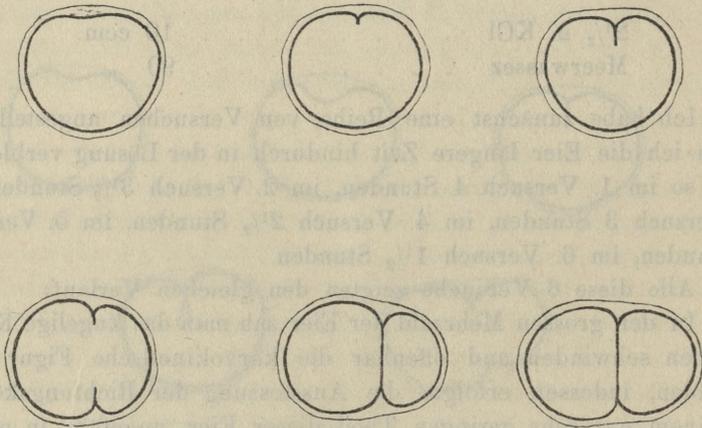


Fig. 3.

wurde, und das Ei sich unmittelbar in zwei Furchungszellen theilte. Ich muss hinzufügen, dass die Schnittbilder diese Vermuthung bestätigen, die Besprechung der hiebei sich abspielenden Vorgänge muss ich mir für eine fernere Publication vorbehalten.

Nach 6 Stunden waren die Eier theils in 3, theils in 4, theils in 5 oder 6 Zellen getheilt, am anderen Morgen, d. h. nach 24 Stunden sah ich die Theilung weiter fortgeschritten, es waren einige Eier in mehr als 10 Zellen getheilt, dieselben boten aber das Bild von absterbenden Zellen.

Versuch 7. Die Eier verblieben in der Lösung 30 Minuten. Während dieser Zeit sah man die typischen Veränderungen an dem kugeligen Keimbläschen, in etwa 45—50 Minuten erfolgte,

(schon in dem frischen Meerwasser), die Ausstossung des I, sodann die des II Richtungskörpers. Die Eier bieten, auch was die Eimembran anbetrifft, ganz dasselbe Aussehen, wie die normalen durch Samenfäden befruchteten Eier. Die Theilung in 2 Zellen beginnt nach  $3\frac{1}{2}$  Stunden, in 4 Stunden ist die Mehrzahl der Eier, nach 6 Stunden etwa  $\frac{3}{4}$  der Eier theils in 2, theils in 3, ein Theil in 4 Zellen getheilt, darauf sammelt sich jedoch um die Kerne an der Stelle, wo die achromatische karyokinetische Figur liegt, die normalerweise die Eiperipherie einnehmende grobkörnige Plasmamasse, wodurch der innere Theil der Zellen dunkel erscheint, der oberflächliche Theil dagegen viel heller (während für gewöhnlich das Umgekehrte der Fall ist) und die Eier theilen sich nicht weiter.

Im Vergleich zu den Versuchen 1—6 einerseits und zu dem Versuch 7 andererseits bot ein interessantes Ergebnis der Versuch 8, bei dem ich die Eier in der Lösung eine Stunde verweilen liess. Während dieser Zeit erfolgte an der grossen Mehrzahl der Eier der Schwund des kugeligen Keimbläschens, aber nur an einem sehr geringen Bruchtheil, etwa in 1 Ei auf 100—200 sah man nach etwa 45—50 Minuten die Ausstossung des I Richtungskörpers; als die Eier aber nach Verlauf von 1 Stunde in frisches Meerwasser gebracht wurden, sah man ganz rasch an der Mehrzahl der Eier den I, sodann den II Richtungskörper sich abschnüren. Der weitere Verlauf bot ganz dasselbe Bild wie im Versuch 7. dar.

### III. Versuchsreihe.

#### 1. und 2. Versuch.

Die Eier wurden in eine Lösung von

$2\frac{1}{2}$ n K Cl . . . . .	5 ccm
normales Meerwasser . . . . .	95 „

gelegt, in derselben verblieben sie im 1. Versuch eine Stunde 30 Minuten, im 2. Versuch zwei Stunden, während welcher Zeit eine grosse Zahl der Eier in etwa 45—50 Minuten den I Richtungskörper ausgestossen hat, bei einer nur sehr geringen Zahl erfolgte dann in etwa 1 Stunde 20—25 Minuten die Ausstossung des II Richtungskörpers, bei den meisten blieb es bei der Ausstossung nur eines Richtungskörpers. Darauf wurde zu den Gefässen zur Hälfte eine stärker concentrirte Lösung, nämlich

$2\frac{1}{2}$ n K Cl . . . . .	15 ccm
normales Meerwasser . . . . .	85 „

beigefügt, so dass sich die Eier von jetzt ab in einer Lösung von

$2\frac{1}{2}$ n K Cl . . . . .	10 ccm
normales Meerwasser . . . . .	90 „

befanden.

Hierin verblieben sie bis zu 3 Stunden, darauf wurden sie in eine grosse Menge normalen Meerwassers gebracht, worauf dann bald (3 Stunden 15 Minuten vom Beginn des Versuches) eine sehr regelmässige Theilung in zwei ungleiche Zellen, ganz wie bei normal befruchteten Eiern erfolgte.

#### B. Versuche mit Na Cl.

Die Eier wurden in eine Lösung:

$2\frac{1}{2}$ n Na Cl . . . . .	15 ccm
normales Meerwasser . . . . .	85 „

gebracht; im Versuch 1 verblieben sie in dieser Lösung die ganze Dauer des Experiments hindurch; im Versuch 2 nur 2 Stunden, worauf sie in eine grössere Menge frischen Meerwassers gebracht wurden. In der Lösung verändern die Eier Anfangs ihre Gestalt, sie erscheinen wie eingebuchtet, hutförmig, ein Theil wird darauf zackig, während andere zur runden Form zurückkehren. Man sieht in den Eiern das runde Keimbläschen geschwunden, indessen bleibt die Ausstossung der Richtungskörper aus.

In beiden Versuchen konnte man nach 5 Stunden an einem geringen Theil der Eier die Theilung in zwei Zellen beobachten; im Versuch 2 boten dieselben ein dem normalen ähnliches Bild dar, indem die beiden Furchungszellen ungleich gross waren, im Versuch 1 dagegen waren die Zellen gleich gross.

#### C. Versuche mit Ca Cl<sub>2</sub>.

Diese Versuche, welche gleichfalls von positivem Erfolg bezüglich der Einleitung der s. g. parthenogenetischen Furchung begleitet wurden, boten ausserdem manche interessanten Befunde.

Versuch 1: Die Eier wurden in eine Lösung von

$2\frac{1}{2}$ n. Ca Cl <sub>2</sub> . . . . .	10 ccm
normales Meerwasser . . . . .	90 „

gebracht; darin verblieben sie 1 Stunde 5 Minuten, auf diesem Stadium wurde ein Theil der Eier fixiert, die übrigen wurden in eine grössere Menge frischen Meerwassers gebracht, hierin begannen sie sich in ungefähr  $4\frac{1}{2}$  Stunden zu theilen. Abgesehen von dem zeitlichen Unterschied in dem Eintritt der Zweitheilung stimmte dieser Versuch mit den beiden folgenden so vollkommen überein, dass ich die an den Eiern sich abspielenden Vorgänge zusammen besprechen will.

Versuch 2:  $2\frac{1}{2}$  n. Ca Cl<sub>2</sub> . . . . . 20 ccm  
normales Meerwasser . . . . . 80 „

Die Eier verblieben darin 1 Stunde, ein Theil davon wurde fixiert, der Rest in frisches Meerwasser gebracht.

Versuch 3. Dieselbe Flüssigkeit wie in Versuch 2, nur verblieben die Eier darin zwei Stunden.

In allen drei Versuchen macht sich im Vergleiche mit den vorhergehenden Versuchen vor allem folgende Eigenthümlichkeit bemerkbar: Schon nach einigen Minuten, nachdem die Eier in die Flüssigkeit hineingelegt worden waren, sieht man, dass sich eine deutliche Membran an der Oberfläche des Eies abzuheben beginnt, nach 15—20 Minuten sieht man diese Membran schon ringsherum gleichmässig abgehoben und zwischen dem Ei und der Membran einen Zwischenraum gebildet, der sich noch allmählich vergrössert, so dass sich die Eizelle wie in einem grossen von Flüssigkeit erfüllten, von der Membran umgebenen Raum befindet, während die Membran sonst der Eizelle dicht anliegt. Man konnte in den Eiern schon nach einigen Minuten Veränderungen am Keimbläschen wahrnehmen, nach etwa 15—20 Minuten war dasselbe völlig geschwunden, darauf trat jedoch die Ausstossung der Richtungkörper überhaupt nicht ein.

Bisweilen hatte es den Anschein, als ob sich ein Richtungkörper über die Oberfläche des Eies erhöbe, aber diese vermeintlichen Richtungkörper erwiesen sich als Klümpchen des mit Deutoplasmamassen vermengten Eiinhalts, welche über die Oberfläche hervorquollen; ab und zu sah man sogar, wie ziemlich plötzlich in diese Protoplasmafrügel sich weitere Theile des Eiinhalts gewissermassen überzugiessen begannen und sie so vergrösserten, dass bisweilen sogar die Eizelle sodann das Aussehen bot, als ob sie sich in zwei gleiche Zellen theilen sollte; jedoch kam es in derartig ver-

änderten Zellen nicht zur Theilung und die Eier entwickelten sich nicht weiter.

Nach Schwund des Keimbläschens trat eine längere Pause ein, während der man am lebenden Ei keine weiteren Veränderungen verfolgen konnte. Die Theilung in zwei Furchungszellen begann in dem Versuch 1, wie oben bemerkt, in  $4\frac{1}{2}$  Stunden, in Versuch 2 und 3 in  $3\frac{1}{4}$  Stunden; in den Versuchen 2 und 3 furchten sich dann die Eier weiter, wenn auch bezüglich der Zeit sehr verschieden, indem z. B. nach 5 Stunden einzelne Eier erst

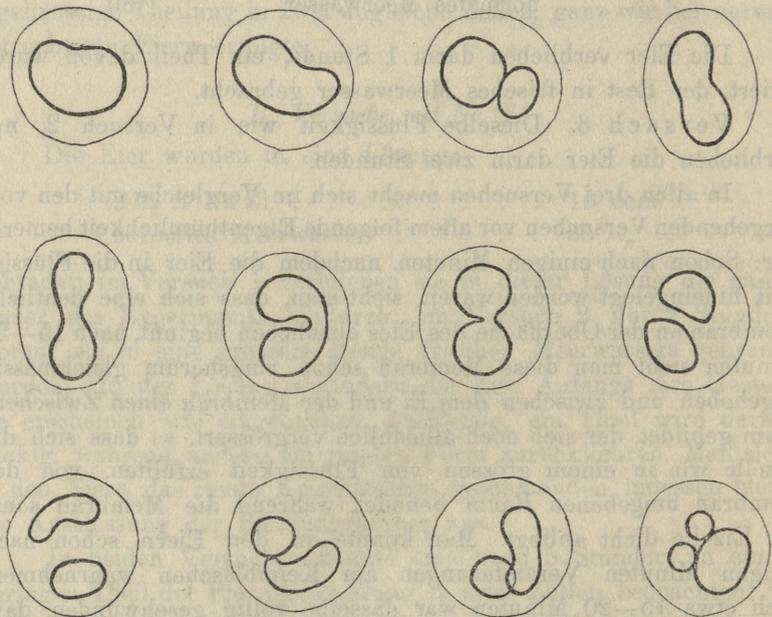


Fig. 4 a.

den Beginn der Zweitheilung zeigten, andere dagegen schon in 8 Zellen getheilt waren, nach 6 Stunden waren einige Eier in 12—16 Zellen getheilt.

Die Furchung verlief aber bei diesen Versuchen in einer vom normalen Typus abweichenden Weise, was durch die starke Abhebung der Eimembran verursacht wurde. Die Theilung in 2 Zellen wurde dadurch eingeleitet, dass das Ei sich streckte und an dem einen Pol eine Einsenkung erschien; darauf schritt bei einigen Eiern diese Einsenkung weiter vor, so dass die Eier wie

hufeisenförmig erschienen, bis sie sich durchtheilten, oder aber die Eier nahmen Hantelform an, und die beiden Eihälften waren durch eine Brücke verbunden, deren Durchschnürung die Trennung der beiden Tochterzellen herbeiführte. In der Mehrzahl der Eier

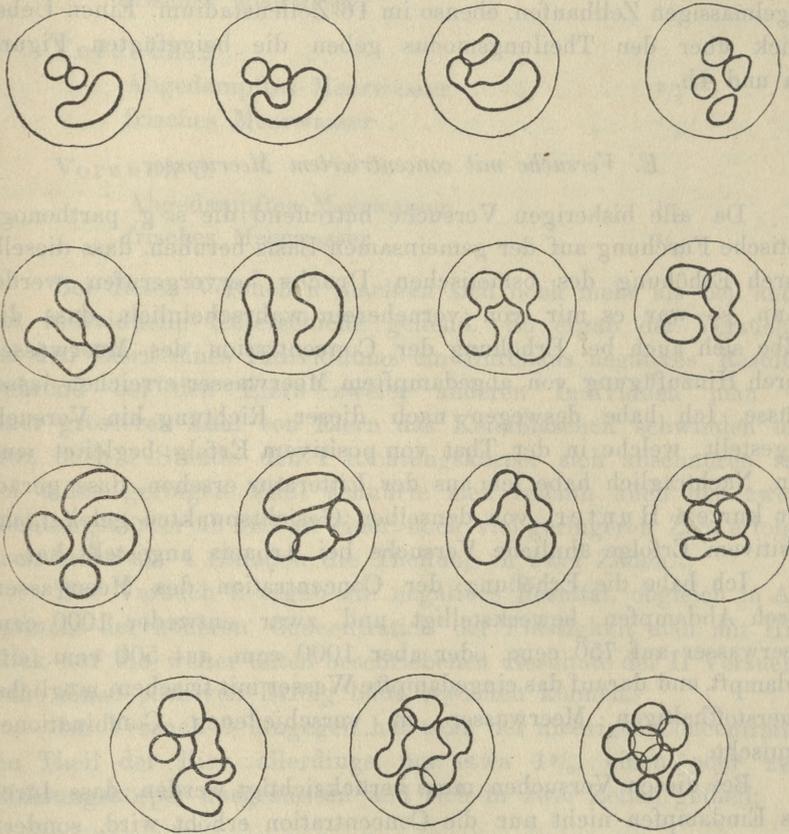


Fig. 4 b.

erfolgte die Theilung in zwei gleiche Zellen, in einigen jedoch auch in zwei ungleiche, eine grössere und eine kleinere, also in einer den normalen befruchteten Eiern entsprechenden Weise.

Nach erfolgter Durchschnürung entfernten sich sodann die beiden ersten Furchungszellen und lagen gesondert in der grossen von Flüssigkeit erfüllten, von der Membran umgebenen kugeligen

Höhle; ihre gegenseitige Lage war eine sehr verschiedene, deswegen sind auch die Bilder des Stadiums, wo sich die beiden Furchungszellen hantelförmig strecken und sodann in 4 Zellen theilen, sehr verschieden, ebenso auf dem Uebergang zum 8-Zellen-Stadium. In letzterem Stadium sieht man gewöhnlich einen unregelmässigen Zellhaufen, ebenso im 16-Zellenstadium. Einen Ueberblick über den Theilungsmodus geben die beigegefügtten Figuren 4a und 4b.

#### *E. Versuche mit concentrirtem Meerwasser.*

Da alle bisherigen Versuche betreffend die s. g. parthenogenetische Furchung auf der gemeinsamen Basis beruhen, dass dieselbe durch Erhöhung des osmotischen Drucks hervorgerufen werden kann, so war es mir von vorneherein wahrscheinlich, dass dieselbe sich auch bei Erhöhung der Concentration des Meerwassers durch Hinzufügung von abgedampftem Meerwasser erreichen lassen müsse. Ich habe deswegen nach dieser Richtung hin Versuche angestellt, welche in der That von positivem Erfolg begleitet wurden. Nachträglich habe ich aus der Litteratur ersehen, dass gerade vor kurzem Hunter, von denselben Gesichtspunkten geleitet, mit positivem Erfolge ähnliche Versuche bei *Arbacia* angestellt hat.

Ich habe die Erhöhung der Concentration des Meerwassers durch Abdampfen bewerkstelligt und zwar entweder 1000 ccm. Meerwasser auf 750 ccm., oder aber 1000 ccm. auf 500 ccm. eingedampft, und darauf das eingedampfte Wasser mit frischem, möglichst sauerstoffhaltigen Meerwasser in verschiedenen Combinationen gemischt.

Bei diesen Versuchen muss berücksichtigt werden, dass durch das Eindampfen nicht nur die Concentration erhöht wird, sondern auch die chemische Constitution geändert wird, indem ein Theil der Salze gefällt wird, (was beim Abdampfen auf 500 ccm. in höherem Grade erfolgt), d. h. die Erhöhung des Gehalts ist nicht für alle Salze gleichmässig.

Diese Versuche boten in mancher Beziehung sehr interessante Eigenthümlichkeiten und Abweichungen im Vergleich mit den anderen Experimenten.

## I. Versuchsreihe,

mit Meerwasser, das von 1000 ccm. auf 750 ccm. eingedampft war.

## Versuch 1. (3 mal wiederholt).

Abgedampftes Meerwasser . . . . .	$\frac{1}{2}$
frisches Meerwasser . . . . .	$\frac{1}{2}$

## Versuch 2.

Abgedampftes Meerwasser . . . . .	$\frac{2}{3}$
frisches Meerwasser . . . . .	$\frac{1}{3}$

## Versuch 3.

Abgedampftes Meerwasser . . . . .	$\frac{1}{3}$
frisches Meerwasser . . . . .	$\frac{2}{3}$

Bei diesen Versuchen machten sich noch mehr als bei anderen individuelle Unterschiede geltend. So ergab der Versuch 1 bei den Eiern eines Individuums ein durchaus negatives Resultat, während bei den Eiern zweier anderen Individuen man an einer grösseren Zahl von Eiern das Keimbläschen schwinden und etwa nach 1 Stunde den I Richtungskörper sich abschnüren sah, bei einer geringen Zahl schnürte sich sodann auch der zweite Richtungskörper ab und an einer noch viel geringeren Zahl erfolgte nach mehr als 4 Stunden die Theilung in zwei Zellen.

Der Versuch 2 ergab ein negatives Resultat, obgleich in Anbetracht der höheren Concentration der Flüssigkeit man mit Hinblick auf die weiter unten beschriebenen Resultate der II Versuchsreihe einen positiven Erfolg hätte erwarten können.

Im Versuch 3 hingegen hat trotz der niedrigen Concentration ein Theil der Eier, allerdings nur etwa 1 $\frac{0}{10}$ , einen oder zwei Richtungskörper ausgestossen und sich in zwei Zellen getheilt.

## II. Versuchsreihe,

mit Meerwasser, das auf die Hälfte eingedampft war.

## Versuch 1 und 2.

Eingedampftes Meerwasser . . . . .	75 ccm
frisches Meerwasser . . . . .	25 ccm.

Die Eier verblieben die ganze Zeit hindurch in der Lösung. Ich habe diesen Versuch 2 mal wiederholt und beide Male dieselben Resultate erhalten.

Schon nach einigen Minuten nimmt die Mehrzahl der Eier eine eigenthümliche Hut- oder Becherform an, indem an einer Seite sich eine Delle bildet, die sich immer mehr vertieft, bisweilen erscheinen einige Eier von beiden Seiten dellentartig vertieft, die Eier nehmen eine Gestalt an, die sich mit der Gestalt der rothen Säugethierblutkörperchen vergleichen liesse.

Nach ungefähr 15 Minuten fängt die Eimembran an, sich von der Oberfläche des Eies abzuheben und erscheint nach etwa einer halben Stunde im ganzen Umfange gleichmässig und sehr bedeutend vom Ei entfernt.

Unterdessen sind die Eier allmählich wieder zur runden Gestalt zurückgekehrt, und man kann dann an ihnen wahrnehmen, dass

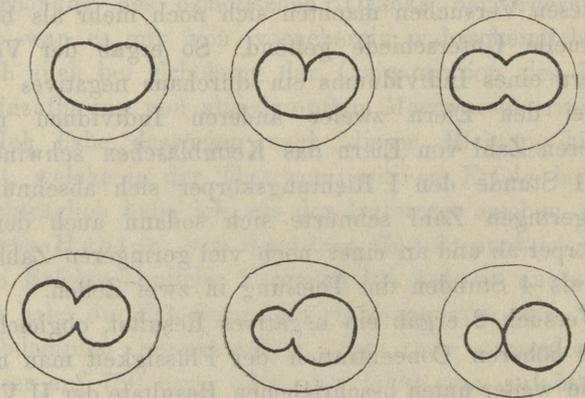


Fig. 5.

das grosse Keimbläschen im Centrum des Eies geschwunden ist. Ein Vorrücken des die Lage der karyokinetischen Spindel kennzeichnenden helleren Feldes gegen die Oberfläche konnte man nicht wahrnehmen, ebensowenig eine Ausstossung der Richtungskörper, dagegen fingen die Eier an, einige schon nach einer halben Stunde, einige nach einer Stunde, eine gestreckte Gestalt anzunehmen, ähnlich wie die normal befruchteten Eier oder die mit anderen Flüssigkeiten behandelten Eier, wenn sie sich zur Theilung in zwei Furchungszellen anschicken (vergl. Fig. 5.).

Und in der That, nach 1 Stunde 20 Minuten fangen die Eier an, sich zu theilen, nach etwa 1 Stunde 30 Minuten ist die Mehrzahl in zwei Zellen getheilt, bisweilen in zwei gleich grosse Zellen,

bisweilen, ähnlich wie bei anderen Versuchen und bei normal befruchteten Eiern in zwei ungleiche Zellen; nach 2 Stunden 20 Minuten sieht man die Zweitheilung der Furchungszellen weiter fortschreiten, man sieht bisweilen 3, dann 4 Furchungszellen, welche sich daraufhin wiederum strecken und zur weiteren Theilung vorbereiten, jedoch erscheinen die Zellen nach etwa 3 Stunden wie geschrumpft, mit unregelmässigen Contouren, und die weitere Theilung ist sistiert.

Man gewinnt in diesen Versuchen ganz den Eindruck, dass hier die Ausstossung der Richtungskörper übersprungen wird und dass die karyokinetische Figur, welche sich im Ei gebildet hat, anstatt zur Ausstossung des I Richtungskörpers direct zur Theilung des Eies in zwei Furchungszellen verwendet wird.

Wenigstens nur auf diese Weise lässt es sich erklären, dass hier die Theilung des Eies schon nach etwa 1 Stunde 20 Minuten eintritt, während sie bei anderen Versuchen stets erst nach 3, 4 oder sogar mehr Stunden erfolgte.

Versuch 3, 4, 5, 6.

Eingedampftes Meerwasser . . . . .	75 ccm.
frisches Meerwasser . . . . .	25 „

Die Eier verblieben beim 3. und 4. Versuch 40 Minuten, beim 5. Versuch 1 Stunde, beim 6. Versuch 2 Stunden in der Lösung, worauf sie in eine grosse Menge frischen Meerwassers gebracht wurden.

Die Anfangsstadien verliefen bis zur der Zeit, wo die Eier aus der Lösung in frisches Meerwasser gebracht wurden, in ganz derselben Weise, wie bei den Versuchen 1 und 2, dagegen war der weitere Verlauf ein verschiedener. Bei den Versuchen 3 und 4, wo die Eier 40 Minuten in der Lösung verblieben und einige schon eine gestreckte Form anzunehmen begannen, konnte man wahrnehmen, dass, sobald sie in frisches Meerwasser kamen, sie wiederum zur runden Gestalt zurückkehrten, darauf sah man nach 1½ Stunden den I Richtungskörper, in einigen zwei Richtungskörper ausgestossen, nach 3 Stunden fangen dann die Eier an, sich zu theilen, aber die Theilungsfiguren bieten sehr eigenthümliche Bilder. Dieselben werden vor allem dadurch verursacht, dass, sobald die Eier aus der Lösung in frisches Meerwasser gebracht werden, die Eimembran zu zerfliessen anfängt; man kann un-

ter dem Mikroskop Schritt für Schritt verfolgen, wie die Membran dünner wird, dann an einigen Stellen schwindet, wie dann ihre Reste als dünne Häutchen flottieren, bis sie schliesslich gänzlich sich auflöst (vergl. Fig. 6).

Da auf diese Weise die Eier im Moment, wo sie sich zur Theilung anschicken, nicht mehr von einer Membran umgeben sind, so gewinnen sie eine langgestreckte Gestalt, dann entsteht zwischen den beiden Theilhälften eine langgezogene, meist körnige dünne

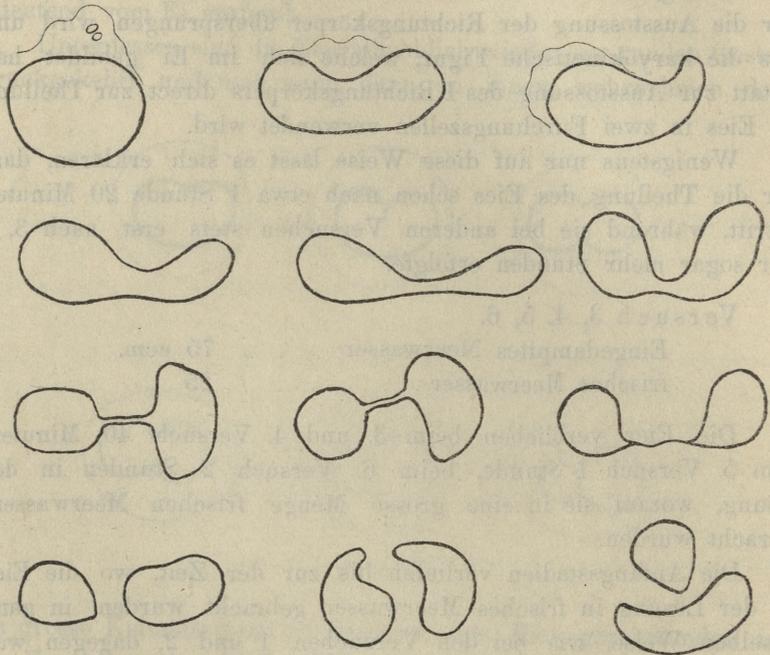


Fig. 6.

Brücke, welche schliesslich reisst, worauf die beiden Blastomeren sich völlig von einander trennen (vergl. Fig. 6.). Diese Bilder erinnern sehr an das von Herbst beschriebene Auseinandergehen von Furchungszellen von *Echinus microtuberculatus* im kalkfreien Medium.

Wenn die Eier während dieser Zeit ruhig liegen gelassen werden und nicht etwa gerührt werden, so bleiben die Blastomeren trotz ihrer Isolierung beisammen liegen, dagegen genügt eine kleine Erschütterung, um ihr völliges Auseinandergehen zu veranlassen.

Andererseits habe ich bemerkt, dass, wenn die Eier in dem Stadium, wo die Eimembran sich schon auflöste, die Eier aber noch eine kugelförmige Gestalt besaßen, nahe beieinander lagen und sich berührten, sie sich an der Berührungsstelle abplatteten und allmählich mit einander zu zweien, dreien oder mehreren verschmolzen (vergl. Fig. 7.). Wenn dann die Theilung der Eier in zwei Zellen eintrat, so traten die Wände an den anfänglichen Berührungsstellen wieder auf, so dass dann doppelt soviel Zellen sich bildeten, als anfänglich

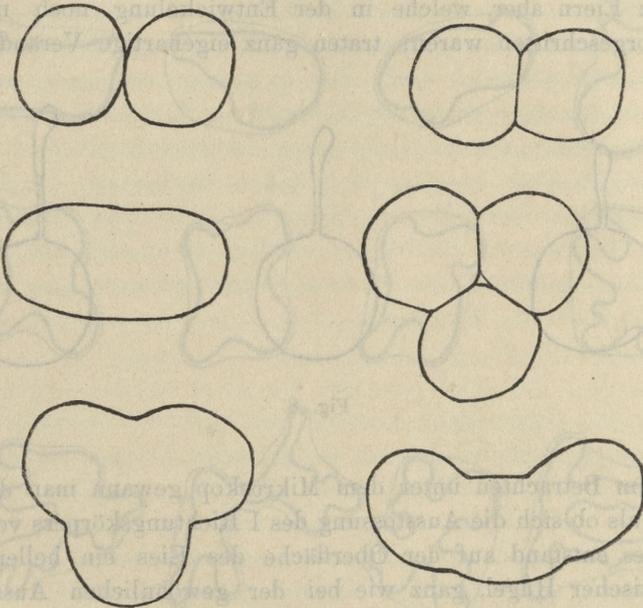


Fig. 7.

Eier verschmolzen waren; die Blastomeren lagen dann, wenn sie keine Erschütterung erfuhren, in einem gemeinsamen Zellhaufen.

Im 5. Versuch, wo die Eier in der Lösung 1 Stunde verweilten, konnte man bemerken, dass die Eier, in frisches Meerwasser gebracht, zur runden Gestalt zurückkehrten, einige schickten sich zur Ausstossung des Richtungskörpers an, indem sich ein heller protoplasmatischer Hügel über die Eioberfläche emporzuheben begann. Indessen kam es zur Abschnürung des Richtungskörpers nicht, sondern der sich schon ausbildende Richtungskörper verblieb in Verbindung mit der Eizelle und verschmolz wieder mit ihr,

oder aber es ergoss sich in ihn eine grössere Menge des Eiinhalts. Nach ungefähr 2 Stunden und 15 Minuten begann eine Theilung der Zellen ganz ähnlich wie im 4. Versuch.

Im Versuch 6 habe ich die Eier in der Lösung 2 Stunden liegen lassen; dieselben befanden sich schon auf dem Stadium, wo einige Eier sich bereits (ganz wie in dem Versuch 1 und 2) in zwei Zellen getheilt hatten, andere sich zur Theilung vorbereitend eine langgestreckte Form angenommen hatten; in diesen verlief der Theilungsprozess nach Uebertragung in frisches Meerwasser weiter; bei den Eiern aber, welche in der Entwicklung noch nicht so weit vorgeschritten waren, traten ganz eigenartige Veränderungen

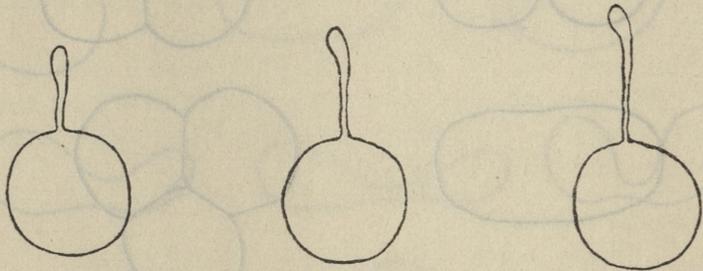


Fig. 8.

ein: beim Betrachten unter dem Mikroskop gewann man den Eindruck, als ob sich die Ausstossung des I Richtungskörpers vollziehen sollte; es entstand auf der Oberfläche des Eies ein heller protoplasmatischer Hügel, ganz wie bei der gewöhnlichen Ausstossung des I Richtungskörpers, plötzlich aber ergoss sich in diesen Hügel der Inhalt des Eies in grosser Menge, ihn vor sich hertreibend, und so entstand auf der Oberfläche des Eies ein keulenförmiger Auswuchs (vergl. Fig. 8.). Zur Abschnürung desselben kam es nicht, und solche Eier zeigten einstweilen keine weiteren Veränderungen.

#### Versuch 7.

Eingedampftes Meerwasser . . . . .	50 ccm.
frisches Meerwasser . . . . .	50 „

Dieser Versuch nahm einen ganz abweichenden Verlauf. Anfangs nahmen die Eier, ähnlich wie in den vorigen Versuchen, eine hutförmige Gestalt an, nach etwa 1 Stunde fingen die Eier

an zur runden Gestalt zurückzukehren; es erfolgte aber, soweit man an den Eiern in toto ersehen konnte, die Ausstossung der Richtungskörper nicht. Das grosse Keimbläschen in der Mitte sah man nicht mehr.

Nach etwas mehr als drei Stunden fingen dann die Eier an, sich in die Länge zu strecken, aber zugleich breite Ausläufer auszusenden, so dass die Eier Formen aufwiesen, wie etwa ein Leukocyt in amoeboider Bewegung (vergl. Fig. 9.). Diese Ausläufer wurden

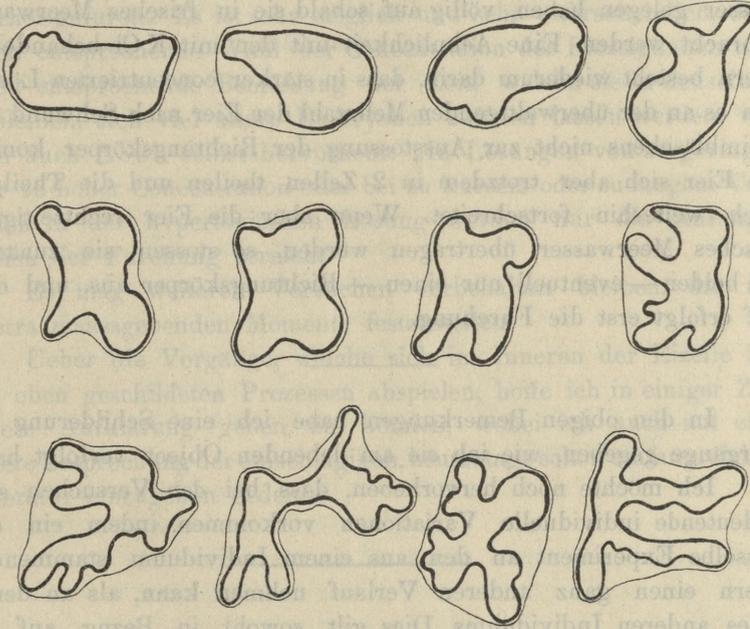


Fig. 9.

nach 4—5 Stunden immer zahlreicher, länger oder gleichsam baumartig verzweigt.

Ein Theil der Eier wurde nach  $3\frac{1}{2}$  Stunden, als die Ausläufer der Zellen noch weniger zahlreich und weniger verzweigt waren, in frisches Meerwasser gebracht und die Eier nahmen wiederum runde Gestalt an, einige theilten sich sodann sogar in zwei ungleiche Zellen, ähnlich wie die normal befruchteten oder die mit  $\text{Ca Cl}_2$  behandelten Eier; über das Zweizellenstadium gingen die Eier jedoch selbst nach 7 Stunden nicht hinaus.

Die Versuche, in denen die Eier in concentrirtes Meerwasser gebracht wurden, bieten manches Interesse dar, wenn wir sie einerseits mit den Versuchen vergleichen, in denen zum Meerwasser  $\text{CaCl}_2$ , andererseits mit denen, in welchen  $\text{KCl}$  hinzugefügt wurde.

Eine Aehnlichkeit mit den mit  $\text{CaCl}_2$  behandelten Eiern besteht in Bezug auf die starke Abhebung der Eimembran über die Eioberfläche; während aber bei jenen diese Membran auch nach Uebertragung der Eier in frisches Meerwasser erhalten bleibt, löst sie sich bei den Eiern, welche längere Zeit in concentrirtem Meerwasser gelegen haben, völlig auf, sobald sie in frisches Meerwasser gebracht werden. Eine Aehnlichkeit mit den mit  $\text{KCl}$  behandelten Eiern besteht wiederum darin, dass in stärker concentrirten Lösungen es an der überwältigenden Mehrzahl der Eier nach Schwund des Keimbläschens nicht zur Ausstossung der Richtungskörper kommt, die Eier sich aber trotzdem in 2 Zellen theilen und die Theilung auch weiterhin fortschreitet. Wenn aber die Eier rechtzeitig in frisches Meerwasser übertragen werden, so stossen sie zunächst die beiden — eventuell nur einen — Richtungskörper aus, und darauf erfolgt erst die Furchung.

In den obigen Bemerkungen habe ich eine Schilderung der Vorgänge gegeben, wie ich sie am lebenden Object verfolgt habe.

Ich möchte noch hervorheben, dass bei den Versuchen sehr bedeutende individuelle Variationen vorkommen, indem ein und dasselbe Experiment an den aus einem Individuum stammenden Eiern einen ganz anderen Verlauf nehmen kann, als an denen eines anderen Individuums. Dies gilt sowohl in Bezug auf die Zahl der die Richtungskörper ausstossenden und der sich theilenden Eier im Verhältnis zu den Eiern, welche überhaupt keine Veränderungen zeigen, als auch bezüglich des Zeitpunktes, in welchem die einzelnen Phasen eintreten. In letzterer Beziehung bestehen auch ganz frappante Unterschiede zwischen den Eiern eines und desselben Individuums, indem man in einem und demselben Versuch Eier beobachten kann, welche bereits in mehrere Furchungszellen sich getheilt haben, während in anderen erst die Ausstossung der Richtungskörper im Gange ist. Die oben bei jedem einzelnen Versuch verzeichneten Zeitangaben beziehen sich daher nur auf die Eier, in denen die Veränderungen am frühesten eintreten.

Auf Grund der obigen Versuche können wir feststellen, dass bei *Mactra* auf ungeschlechtlichem Wege durch Erhöhung der Concentration des Meerwassers, infolge von Zusatz verschiedener Salze sowohl die Ausstossung der Richtungskörper hervorgerufen, als auch die Furchung eingeleitet werden kann. Ich habe, wie wir oben sahen, nach Anwendung verschiedener Flüssigkeiten und je nach der Zeit, welche ich die Eier in ihnen belassen habe, in den verschiedenen Experimenten Furchungsstadien von 4, 6, 8, 12 Zellen erhalten, über 16 Zellen hinaus haben sich in keinem Falle die Eier gefurcht. Es ist sehr möglich und sehr wahrscheinlich, dass durch entsprechende Wahl der Concentration der Flüssigkeiten und durch entsprechende Bemessung der Zeit, welche sie in denselben verbleiben, sich viel ältere Embryonen züchten lassen werden, wie denn auch Loeb selbst hervorhebt: „In Lösungen von zu geringer oder zu hoher Concentration oder bei zu kurzem oder zu langem Verweilen in der hypertonischen Lösung werden nur die Anfangsstadien der Furchung erreicht.“

Es mag weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, die für *Mactra* maassgebenden Momente festzustellen.

Ueber die Vorgänge, welche sich im Inneren der Eizelle bei den oben geschilderten Prozessen abspielen, hoffe ich in einiger Zeit nähere Aufklärung geben zu können, wobei ich auch auf eine nähere Besprechung der einschlägigen, heutzutage schon umfangreichen Litteratur einzugehen gedenke.

44. M. ÉMILE GODLEWSKI fils. **O regeneracyi tubularyj.** (*Regeneration in Tubularia after longitudinal splitting. Preliminary Communication*). (*Sur la régénération des Tubularia*). Mémoire présenté par M. C. Kostanecki m. t.

The chief object of this preliminary paper is to describe the process of the regeneration of *Tubularia mesembryanthemum* when the stem is cut in two longitudinally. Later I will publish more fully the results of the experiments which I have carried out on the regeneration of pieces cut longitudinally and of several other phenomena of regulation which I have observed.

The process of regeneration of the longitudinally cut pieces

of tubularia was mentioned by Bickford<sup>1)</sup>, Driesch<sup>2)</sup> and in two recent papers by Morgan<sup>3)</sup> but, I think, it has not yet been sufficiently examined. We do not find in the literature the histological study of this process. Morgan (02) says in his second paper that, when pieces of the stem are cut longitudinally, „in the course of a few minutes the coenosarc withdraws slightly from the cut end of the perisarc and then a thin membrane develops that ultimately closes the end“. „This membrane is composed of ectoderm on its outer and endoderm on its inner surface“.

The development of hydranths, when the stem is cut longitudinally, is also not sufficiently described. It was mentioned by Driesch (97) and Morgan (01). But Morgan himself stated his experiment were not complete<sup>4)</sup>.

This work was done during my stay at the Naples Zoological Station.

In my experiments the stem of tubularia was cut in two longitudinally. Two half-cylinders were obtained in this way. They are composed of the perisarc (fig. 1. p) on the outer and coenosarc (fig. 1. c) (ecto-

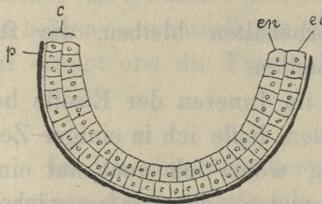


Fig. 1.

derm and endoderm) on the inner surface. The central cavity of the stem is now open.

The first process which we can observe is the formation of the new cavity. This process is not in all cases a process of closing over of the old cavity but as we shall see sometimes a new cavity is formed.

There are many difficulties in splitting tubularia so that both

<sup>1)</sup> Bickford Elizabeth E. Notes on Regeneration and Heteromorphosis of Tubularia Hydroids. Journ. of Morphology, Vol. IX. 1894.

<sup>2)</sup> Driesch H. Studien über Regulationsvermögen der Organismen. I. Von den regulativen Wachstums- und Differenzierungsfähigkeiten der Tubularia. Arch. f. Entwicklungsmechanik. Bd. V. 1897.

<sup>3)</sup> Morgan T. H. Regeneration in Tubularia. Arch. für Entwicklungsmechanik. Bd. XI. 1901.

Morgan T. H. Further Experiments on the Regeneration of Tubularia. Arch. für Entwicklungsmechanik. Bd. XIII. 1902.

<sup>4)</sup> „A further study of these longitudinal pieces will, I think, fully repay the investigator“. (Morgan, 01, p. 366).

pieces are half-cylinders. There remains usually more of the tissue of the stem on one side than on the other. The process of formation of the cavity is dependent on the amount of substance in the half-cylinder.

1. I will describe the process first in those cases in which one piece is bigger than the other.

In the course of a few minutes one can see<sup>1)</sup> in the living material that the two longitudinally cut-edges form new walls on each side which grow towards one another. The inner edges of the new wall come together first in those regions where they were less widely separated at the beginning. A suture is formed along the line of meeting of the edges. The old cavity exposed by the operation is closed by the union of two walls which form the closing membrane.

In many cases, not in all, I could see in the course of closing of the longitudinally-cut stems a circulation of the fluid within the two walls that were closing in. This circulation takes place within the enlarged swollen edges of the half-cylinder and not in the cavity. After formation of the closing membrane the circulation can be seen in the united new walls along the line of suture. This circulation is in the beginning very slight, but becomes later more distinct. When the closing of the cavity is finished, i. e. when the edges are united and the closing membrane is formed, the circulation disappears in the tissue around the suture and can be seen soon afterwards in the closed central cavity of the stem.

There are many difficulties in determining in the living material where the first preliminary circulation develops. Therefore I was induced to study it by means of microscopical sections. The material was fixed at intervals of a few minutes after the operation.

In the earliest stages the formation of the walls (fig. 2. w) along the whole length of the piece can be seen. I could recognize by direct observation of my sections that the wall in the earliest

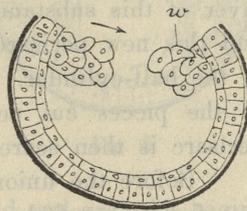


Fig. 2.

<sup>1)</sup> My observations were carried out with a binocular microscope of Greenough.

stages is composed only of the endodermal cells. Karyokinetic division does not take place, and the closing of the walls at the edges is brought about by change in form of the cells in the layer of endoderm. The rapid elongation of the cells of this layer (fig. 2) causes the layer itself to become thinner. The endodermal cells accumulate along the cut-edges of the wall and form material for the development of the closing membrane.

In the next stage (one hour after the operation) the ectoderm of the edges overgrows the endodermal wall. At the time of the union of the walls the endodermal cells are often still not completely covered by the ectoderm (fig. 4). We can see in this case that the closing membrane is composed in the median part only

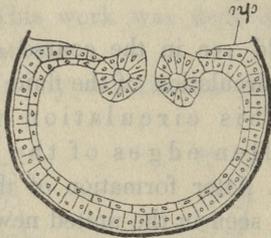


Fig. 3.

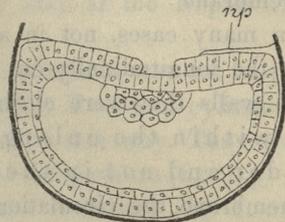


Fig. 4.

of the endodermal cylindrical cells. These ectoderm cells afterwards produce the new perisarc. A very narrow layer of this substance covers the closing membrane (fig. 3, 4 np.) and this new perisarc layer is in connection with the old perisarc of the half-cylinder. The fact of the regeneration of the perisarc in the pieces cut across was mentioned by Morgan: „A thin perisarc is then secreted over the end“.

Before the union of the walls takes place and before definitive formation of the closing membrane, the cells in the centre of the thickened edge become filled with many granules. The central cells disintegrate and in their place a lumen arises (fig. 3) in which the circulation of the granules appears. The granules are, as was ascertained by Miss Stevens<sup>1)</sup>, „part of the cell-material from the disintegrated“ endodermal elements. This process of disinte-

<sup>1)</sup> Stevens N. M. Regeneration in *Tubularia mesembryanthemum*. Arch. für Entwicklungsmechanik der Organismen, Bd. XIII. 1901.

gration appears in the endodermal cells of the wall and shows where the preliminary circulation takes place, although the physiological importance of this circulation is not clear to me.

2. When two pieces (half-cylinders), obtained by longitudinal cutting, are almost equal, the course of the closing of the cavity is the following. The process begins as in the case just described. We can see in the living material the thickening of the edges. After three or four hours a circulation of the interior fluid begins within the thickened edges. The impression is produced that each thickened edge contains a canal in which the circulation takes place. The further process is different from that in the former case. The walls do not grow towards one another forming a cross bridge over the old cavity, but we see here a gradual thickening of the whole old wall. Simultaneously a widening of the inner canal of the walls takes place. The fluid of the canal contains an ever increasing number of globules, and the circulation becomes faster. Six or seven hours after operating, the two thickenings which take place simultaneously on both sides come together in the median line of the bottom of the half-cylinder, forming by the union of the two canals a single cavity. The entire process may be observed in the living material.

Sections of the earliest stages show that the endodermal cells accumulate along the whole length of the edges. The new endodermal walls are soon afterwards overgrown by the ectoderm. In the following stages the cells in the center of the new walls disintegrate and give rise to the first globules which we see afterwards in circulation. In place of the disintegrated cells a kind of canal is formed in which the circulation of the fluid and granules begins. Later the innermost wall (fig. 5. a) of the canal extends downwards parallel to the old wall of the half-cylinder (in diagram 5. the direction of downgrowth is indicated by the arrow) and the widening of the canal is thus effected.

The direction of the growth of this closing membrane is here different from the former case in which the folds have grown across towards another forming a bridge over the old cavity. The downgrowth of the closing membrane takes place here simulta-

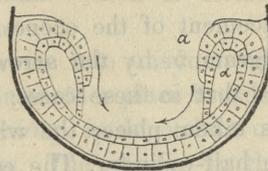


Fig. 5.

neously on both sides. The inner walls (fig. 5. a) of the canals ( $\alpha$ ) which grow downwards reach the median line, unite and form from the two separate canals a single cavity (fig. 6). During the whole of this process the covering ectoderm grows down more slowly than the endoderm.

The closing membrane extends parallel to the old wall of the stem. It is clear that the stem retains in these cases the form of the half-cylinder even after the complete closing of the cavity (fig. 6).

It may be asked, Where does the material come from for the formation of the closing membrane?

For the formation of the first walls at the edges of the coenosarc the material arises from the endodermal layer. After formation of the canal within the wall the further process involves the dis-

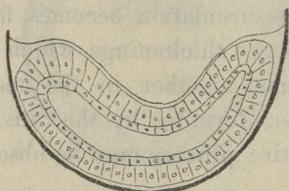


Fig. 6.

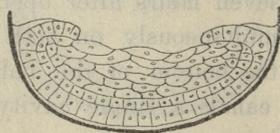


Fig. 7.

placement of the coenosarc in the direction which is indicated in diagram 5. by the arrow. This observation accounts also for the fact that in these cases, after the formation of the definitive cavity has taken place, the whole coenosarc lies often in the bottom of the half-cylinder. The edges of the perisarc are prominent on both sides of the coenosarc (fig. 6). Karyokinetic division does not take place during the formation of the cavity.

3. In those cases in which the half-cylinder is very thin and contains very little of the living substance, the endodermal cells accumulate soon after the operation and form several layers overlying the primitive endoderm (fig. 7). The cells in these endodermal layers have often very different forms from those of the primitive endoderm. I think it very probable that this difference of form can be explained by the amoeboid movements which the cells have executed.

In the following stages (1—2 hours after the operation) the

ectoderm begins to overgrow the endodermal cells which are arranged in several layers; soon afterwards this endodermal tissue becomes surrounded by the ectodermal layer. The process of the disintegration and the production of the globules begins at several places in the endodermal layer (fig. 8), while the overgrowth is taking place. Later a circulation of the globules appears, and the cavity arising from degeneration of several cells becomes wider. At last only two layers bounding the cavity remain: the endodermal cells forming the inner and ectodermal the outer layer.

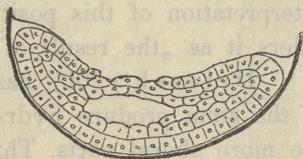


Fig. 8.

Whence arises this considerable number of endodermal cells in the early stages of formation? An examination of these pieces of the stem after the formation of the new cavity gives evidence in favour of the view that the arrangement in several layers of the endoderm is the result of the migration of the cells from oral and aboral end to the middle part of the piece; we find at both ends only the perisarc while the coenosarc was accumulated in the more central part of the half-cylinder (comp. Morgan<sup>1</sup>) (01) fig. 25, p. 52). The new cavity which is formed in these cases is not the old cavity closed by the regenerative process, but an entirely new canal which is formed from the tubularian stem.

If the stem of tubularia is split lengthwise into unsymmetrical pieces which have in one place narrower, in another place broader walls, the manner of the formation of the cavity is dependent on the relative thickness of the different regions. The closing in the different regions follows one or the other of the precedent methods of closure according to the breadth of the region.

The first *Anlage* of the hydranth appears 2 to 4 days after the operation. Within these limits the time is variable and is always longer than in pieces split crosswise.

The part where the hydranth develops thickens and soon afterwards the tentacle „Anlagen“ appear as longitudinal folds of

<sup>1</sup>) Morgan H. T. Regeneration. New-York. The Macmillan Company. 1901.

the coenosarc. In my complete paper the histology of the process will be treated more fully. It is not very different from the process of hydranth formation described by Stevens (01). I should state, however, that the first tentacle „Anlagen“ appear here first on the old wall of the stem and afterwards on the closing membrane. After the formation of the tentacles the hydranth emerges from the perisarc by breaking through it. The hydranth with a small piece of the stem projects at right angle from the perisarc. The interpretation of this position is given by Morgan (01) who considers it as „the result of negative stereotropism“.

Driesch<sup>1)</sup> (00) has shown that pieces from the oral end of the stem produce hydranths in a shorter time than pieces from the more aboral parts. This fact which I could often observe for the cross-cut pieces cannot be extended to those split lengthwise.

It is known that the hydranth in pieces cut crosswise develops at first at the anterior end and afterwards a hydranth develops also at the posterior end. The process of the development of the hydranth at the aboral end was discovered by Loeb<sup>2)</sup> who gave the name heteromorphosis to this phenomenon. But we see in the longitudinally split pieces that the hydranth can develop often at first at the aboral end (heteromorphosis: Loeb, Morgan) or in several cases, as I will describe later, in the middle of the stem. Only when a very small part has been removed lengthwise from the stem, does the latter produce the hydranth, first at the oral (anterior) end. In other cases the development of the hydranths at the anterior and posterior end is going on almost simultaneously or at very short intervals from each other. In many cases the hydranth is formed only at one end.

In those cases in which the stem is split lengthwise the operation brings about, I think, somewhat different internal conditions in the living organism. This change carries with it, I think, a change of the factors that have a determining influence upon the process of regeneration. Therefore the course of regeneration is here somewhat different from the process in pieces cut across.

<sup>1)</sup> Driesch H. Studien über das Regulationsvermögen der Organismen. Archiv für Entwicklungsmechanik. Bd. IX. 1900.

<sup>2)</sup> Loeb J. Untersuchungen zur physiologischen Morphologie. Würzburg, 1890.

But the most interesting results are those from pieces cut lengthwise unsymmetrically. The formation of the hydranths takes place in many cases under these conditions [in the middle

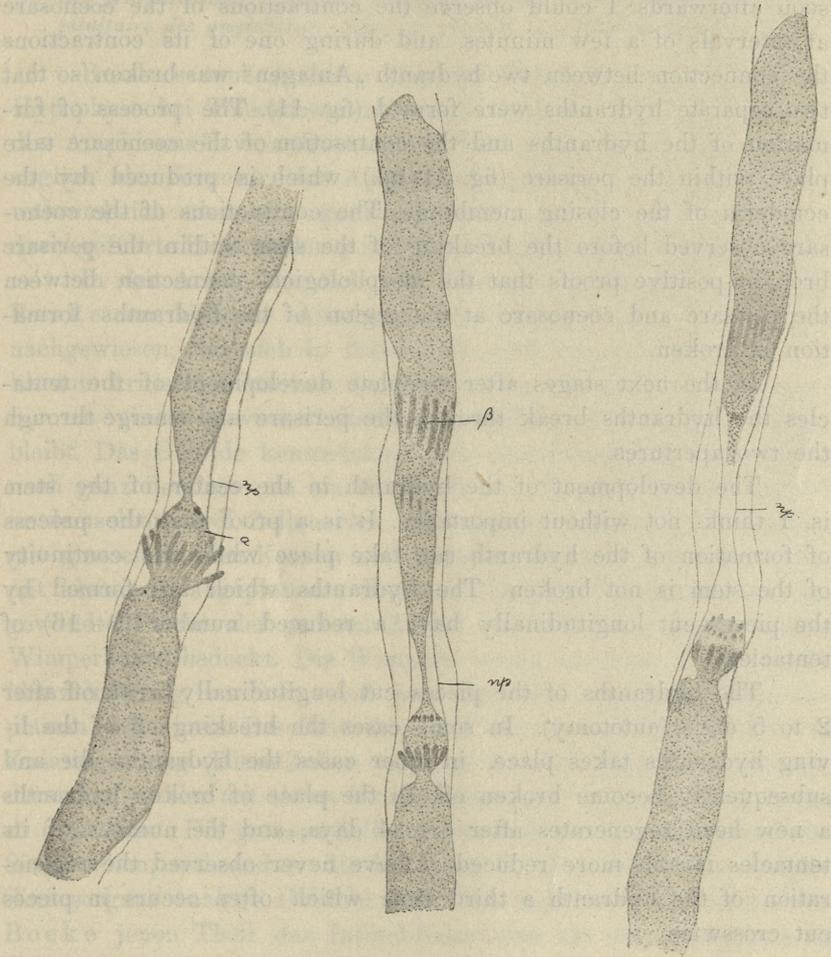


Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

of the length of the stem. Four days after the operation I could see near the thinner region of the stem, almost in the middle of its length, a much thickened part which gives the impression of a small vesicle (fig. 9. a). After one hour the tentacle „Anlagen“ appeared at the base of this vesicle which remains in con-

nection with the rest of the stem. Within the vesicle the circulation of the globules may be seen very distinctly. On the opposite side of the thin region tentacle „Anlagen“ appear also (fig. 10 $\beta$ ) soon afterwards. I could observe the contractions of the coenosarc at intervals of a few minutes, and during one of its contractions the connection between two hydranth „Anlagen“ was broken so that two separate hydranths were formed (fig. 11). The process of formation of the hydranths and the contraction of the coenosarc take place within the perisarc (fig. 11 np.) which is produced by the ectoderm of the closing membrane. The contractions of the coenosarc observed before the breaking of the stem within the perisarc brought positive proofs that the morphological connection between the perisarc and coenosarc at the region of the hydranths formation is broken.

In the next stages after complete development of the tentacles the hydranths break through the perisarc and emerge through the two apertures.

The development of the hydranth in the center of the stem is, I think, not without importance. It is a proof that the process of formation of the hydranth can take place while the continuity of the stem is not broken. The hydranths which are formed by the pieces cut longitudinally have a reduced number (9—16) of tentacles.

The hydranths of the pieces cut longitudinally break off after 2 to 5 days (autotomy). In some cases the breaking off of the living hydranths takes place, in other cases the hydranths die and subsequently become broken off. In the place of broken hydranths a new head regenerates after 3 to 4 days, and the number of its tentacles is still more reduced. I have never observed the regeneration of the hydranth a third time which often occurs in pieces cut crosswise.

Napoli. Zoological Station.

45. M. ADAM BOCHENEK. Nowe szczegóły do budowy przysadki mózgowej plazów. (*Neue Beiträge zum Bau der Hypophysis cerebri bei Amphibien*). (*Quelques nouveaux détails sur la structure de la glande pituitaire des amphibiens*). Mémoire présenté par M. C. Kostanecki m. t.

Boeke's neue Arbeiten über den Bau und die Bedeutung der Hypophyse bei Teleostierembryonen<sup>1)</sup> und der Infundibularregion des Amphioxus<sup>2)</sup> veranlassen mich, hier kurz meine Befunde bezüglich der Structur der Amphibienhypophyse zu veröffentlichen, während ich über eine genauere, auch an anderen Wirbelthieren durchgeführte Untersuchung in einiger Zeit berichten zu können hoffe.

In der Arbeit, die sich auf Teleostierembryonen bezieht, hat Boeke am hinteren Abschnitt des Infundibulums ein Gebilde nachgewiesen, das sich in frühen Entwicklungsstufen bildet und bis zum kritischen Stadium der Embryonen (die Embryonen konnten nur zu einem gewissen Stadium gezüchtet werden) unverändert bleibt. Das Gebilde kennzeichnet sich dem Charakter seiner Zellen nach ganz deutlich als ein Sinnesorgan. Boeke konnte nämlich in demselben zwei Zellenarten nachweisen: erstens grosse Zellen mit grossen runden Kernen und zweitens kleinere, schlanke Zellen mit kleineren, abgeplatteten Kernen. Die dem Ventrikellumen zugewandte Fläche der grossen Zellen war mit einer Reihe starker Wimperhaare bedeckt. Die Wimpern waren an ihren freien Enden bläschenförmig verdickt, und jede derselben stand im Zellprotoplasma mit einem Basalknötchen und mit einer feinen Fibrille in Zusammenhang. Diese Zellen scheinen Boeke darauf hinzuweisen, dass man es hier mit einem Sinnesorgane und nicht mit einer Drüse zu thun habe. Die grossen Zellen betrachtet Boeke als eigentliche Sinneszellen, während er die kleineren für den Stützzellen anderer Sinnesorgane analoge Gebilde hält. Dem Baue nach betrachtet also Boeke jenen Theil der Infundibularwand als ein, wenigstens in Embryonalstadien, morphologisch angelegtes Sinnesorgan.

In der Infundibularregion des Amphioxus hat Boeke auch ein ähnliches Organ nachweisen können. Es bestand aus wimpern-

<sup>1)</sup> J. Boeke. Die Bedeutung des Infundibulums in der Entwicklung der Knochenfische. Anat. Anzeiger. Bd. 20. S. 17. 1902.

<sup>2)</sup> J. Boeke. On the infundibular region of the brain of Amphioxus lanceolatus. Berichte der königlichen Akademie der Wissenschaften zu Amsterdam. 19. April 1902.

tragenden Zellen. An diesen konnte man mit Hilfe der Apáthy'schen Nachvergoldungs-Methode Fibrillen nachweisen, die an der Zellenbasis in die Zelle hineintraten, ein Fibrillennetz um den Kern bildeten und zwischen den Ansatzpunkten der Wimpern endeten. Es gelang jedoch Boeke nicht, die Fibrillen auf eine längere Strecke, bevor sie an die Zelle traten, zu verfolgen. Auch hier haben die Zellen den ausgesprochenen Charakter von Sinneszellen, so dass Boeke das ganze Infundibularorgan des Amphioxus als ein Sinnesorgan betrachtet, das dem von ihm bei Teleostierembryonen nachgewiesenen Infundibularorgane zu entsprechen scheint. Die Function dieses Organes bleibt für Boeke räthselhaft, vielleicht bildet, wie er vermuthet, der gesteigerte oder verminderte Gehirndruck den zur Perception gelangenden Reiz.

Als ich vor einigen Jahren meine Untersuchungen über das Vorderhirn der Amphibien<sup>1)</sup> veröffentlichte, habe ich schon damals darauf hingewiesen, dass zahlreiche Nervenfasern in den vorderen Abschnitt der Hypophyse hineindringen und hier endigen. Schon damals habe ich vermuthet, dass man es in der Infundibulardrüse mit einem rückgebildeten Sinnesorgane zu thun habe. Ich wandte mich daher zur Untersuchung der Fische, namentlich des Karpfens, bei dem ich eine ganz ähnliche Nervenbahn gefunden habe, wie bei den Amphibien. Das genauere Verhältnis der Nervenbahn zur Hypophyse habe ich beim Karpfen bisher nicht genauer feststellen können, da ich vorläufig das nöthige embryonale Material nicht zur Verfügung hatte.

Meine bisherigen Untersuchungen beziehen sich auf *Salamandra maculosa*, *Triton taeniatus* und *Rana*. Die Hauptresultate verdanke ich der Golgi'schen Chromsilberimprägnation, doch zog ich auch Präparate, die mit Hilfe anderer Methoden angefertigt wurden, in Betracht. In hohem Grade zweckmässig erwiesen sich Serienpräparate von Gehirnen, die mit der Schädelkapsel fixiert und mit den entkalkten Schädelknochen geschnitten wurden. Nur an der Hand solcher Präparate kann man eine richtige Anschauung über die Gestalt des Gehirnes gewinnen. Sogar beim sorgfältigsten Präparieren wird immer die äussere Gestalt des Gehirns geändert.

<sup>1)</sup> A. Bochenek. Drogi nerwowe przedmóżdża salamandry plamistej. (Die Nervenbahnen des Vorderhirns von *Salamandra maculosa*). Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie. Juillet 1899.

Die Hypophyse der Amphibien ist bis jetzt von Edinger<sup>1)</sup>, Braem<sup>2)</sup> und Bela Haller<sup>3)</sup> genauer untersucht worden. Eine Beschreibung derselben bei verschiedenen Amphibiengruppen finden wir aber nur in der Arbeit von Haller.

Haller's Untersuchungen haben die Unterschiede des Baues der Hypophyse der Anuren und Urodelen festgestellt. Mit den sehr genauen Untersuchungen Haller's stehen auch meine Untersuchungen im allgemeinen in Uebereinstimmung. Dank der Golgi'schen Methode konnte ich jedoch manches nachweisen, was Haller bei seinen Untersuchungen entgangen ist.

Bei den Urodelen ist die Hypophyse viel einfacher gebaut als bei den Anuren, bei denen das ganze Gehirn eine weit compliciertere Structur aufweist. Der Drüsentheil der Hypophyse bildet bei den Urodelen ein einheitliches, aus Drüsenschläuchen zusammengesetztes Organ.

Der zweite vordere Abschnitt der Hypophyse, die „glandula infundibuli“<sup>4)</sup> ist beim Triton und Salamander „ein durchaus massives, mehr oder weniger mächtiges Gebilde“. Beim Salamander soll sich dasselbe mit dem „Hypophysenpolster“ in innigster Weise verbinden. Hypophysenpolster nennt Haller eine Verdickung des einfachen Epithels, das vom oberen Rande der Glandula Infundibuli zur Basis des III Gehirnventrikels hinzieht.

Die Glandula Infundibuli, die selbst als eine Verdickung des primären Nervenepithels des Infundibulums zu betrachten ist, steht durch eine einfache Epithelschicht mit dem unteren Theile des Infundibulums im Zusammenhang. Dieses Epithel liegt in seiner ganzen Breite der vorderen Fläche der Hypophysendrüse an. Eine

<sup>1)</sup> L. Edinger. Untersuchungen über die vergleichende Anatomie des Gehirns. 2. Das Zwischenhirn der Selachier und der Amphibien. Abh. der Senckenbrg. Naturforsch. Gesell. Frankfurt a. M.

<sup>2)</sup> F. Braem. Epiphysis und Hypophyse von Rana. Zeitschr. für wissenschaftliche Zoologie. Bd. 63. 1897.

<sup>3)</sup> Bela Haller. Untersuchungen über die Hypophyse und die Infundibularorgane. Morphologisches Jahrbuch. Bd. 25. 1896.

<sup>4)</sup> An der Hypophyse der Amphibien sind von Haller zwei drüsige Abschnitte nachgewiesen. Der vordere (Fig. 1. Gl. Inf.) steht mit dem Nervensysteme im Zusammenhang und bildet die „Glandula Infundibuli“ oder Infundibulardrüse, der hintere dagegen entspricht dem drüsigen Theile der Hypophyse der Säuger und bildet die sogenannte Hypophysendrüse.

ähnliche Epithelschicht zieht von der Glandula Infundibuli zur unteren Fläche des III Gehirnvatrikels (Fig. 1.).

Die Glandula Infundibuli entspricht ihrer Lage nach genau diesem Abschnitte der Infundibularwand, in der Boeke die Sin-

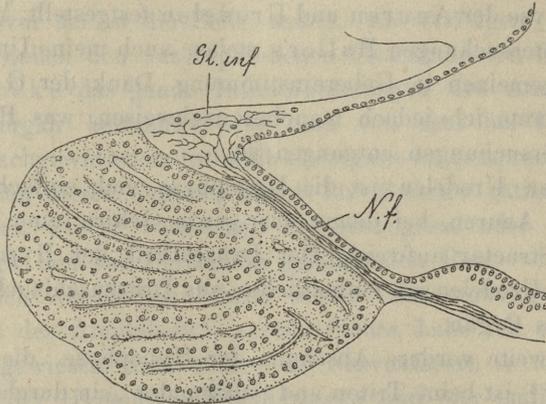


Fig. 1. Sagittalschnitt durch die Hypophyse vom Salamander (Schema).  
Gl. inf. Glandula Infundibuli; N. f. Nervenfasern.

neszellen bei Teleostierembryonen nachgewiesen hat; dass sie ein dem Infundibularorgane Boeke's homologes Gebilde darstellt, scheint mir ausser jedem Zweifel zu sein. Auf die Glandula Infundibuli beziehen sich auch meine neuen Befunde.

Aus dem untersten Theile der Infundibularwand, die aus Nervenzellen und Nervenfasern besteht, begeben sich zahlreiche Nervenfasern (Fig. 1 N. f.) in der Richtung der Glandula Infundibuli. Auf ihrem Verlauf gegen die Infundibulardrüse liegen sie unter der epithelialen Schicht, welche die vordere Wand der Hypophysendrüse bedeckt. Zur Hypophysendrüse geben die Fasern keine Zweige ab, sie bilden nur unter dem Epithel eine flache Schicht, in der sie sich in mannigfacher Richtung durchkreuzen. Infolge ihrer zahlreichen Kreuzungen erscheinen sie in Schnitten, welche mehr parallel zur Epithelschicht geführt wurden, als ein vielmaschiges Nervennetz, das der vorderen Fläche der Hypophysendrüse anliegt.

Indem ich nach dem Ursprung dieser Fasern suchte, konnte ich den Zusammenhang einiger derselben mit Nervenzellen der unteren Wand des Infundibulums ganz genau feststellen. Ob aber

manche von ihnen nicht auch aus anderen Regionen des Vorderhirns stammen, lässt sich nicht sicher ausschliessen.

An der vorderen Wand der Hypophysendrüse gelangen die Fasern in die Infundibulardrüse, wo sie einen äusserst dichten Nervenfilz bilden. An weniger imprägnierten Präparaten, in denen man einzelne Fasern ganz sicher verfolgen konnte, war es mir möglich, die Endverzweigungen der Fasern zu beobachten. In drei oder vier terminale kleine Ästchen getheilt, endeten sie in der Glandula Infundibuli. Der dichte Nervenfilz bildet den Hauptbestandtheil der Infundibulardrüse, die spärlichen Zellen derselben sind, wie es mir am wahrscheinlichsten erscheint, der Überrest der primären Sinneszellen, die Boeke nachgewiesen hatte; das Epithel, das die Glandula bedeckt, hat aber den Charakter des Sinnesepithels gänzlich verloren.

Der fibrilläre Bau der Glandula Infundibuli war auch Halter bekannt, er kam aber zu der irrigen Meinung, man habe es hier mit einem neurogliösen Gebilde zu thun. Indessen können wir ganz sicher feststellen, dass die Fibrillen nervöser Natur sind, da die Neuroglia bei Amphibien nur in Gestalt von Ependymzellen vorkommt.

Unsere Untersuchungen haben also nachgewiesen, dass Nervenfasern in die Infundibulardrüse hineindringen und hier enden. In derselben Gegend also, in welcher Boeke bei Teleostiern sein Infundibularorgan nachgewiesen hat, finden wir bei Amphibien eine Nervenbahn, die hier ihr Ende findet. Die Existenz eines Sinnesorgans ohne einer Nervenbahn wäre ja gar nicht denkbar.

Die Nervenfasern, die sich also in der Glandula Infundibuli der Amphibien auffinden liessen, scheinen dazu gedient zu haben, die Reize, welche die Sinneszellen des Infundibularorgans trafen, weiter zu leiten. Eine solche Bahn liess sich auch ganz sicher beim Karpfen darstellen.

Beim Salamander, wenigstens beim erwachsenen Thier, scheint die Infundibulardrüse ihre primäre Bedeutung als Sinnesorgan gänzlich verloren zu haben, da die kleinen Zellen derselben jedes Merkmals von Sinneszellen entbehren, die Nervenbahn aber, welche die Zellen mit dem übrigen Gehirn in Verbindung setzte, ist noch deutlich vorhanden.

Die Hypophyse des Frosches, den ich als Repräsentanten der Anuren untersucht habe, zeigt in mancher Hinsicht mehr compli-

cierte Verhältnisse als die der Urodelen. Die Hypophysendrüse bietet wenig veränderte Verhältnisse, dagegen ist die Glandula Infundibuli viel mächtiger entwickelt. Sie bildet ein längliches, an beiden Enden stark verdicktes Organ, an dem zwei verschiedene Segmente zu unterscheiden sind, das vordere ähnelt ganz der Glandula Infundibuli der Urodelen, das zweite hintere enthält zahlreiche Zellen, die ihrem Verhalten zu Farbstoffen nach als den Zellen der Hypophysendrüse nahe stehende Elemente erscheinen. Die Golgi'sche Methode zeigt im vorderen Segmente derselben ganz ähnliche Verhältnisse wie die der Glandula Infundibuli der Urodelen. Eine Nervenbahn, die im unteren Abschnitte des Infundibulums

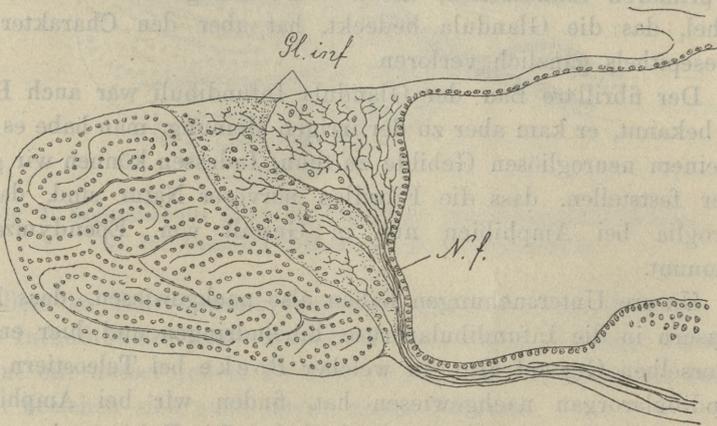


Fig. 2. Sagittalschnitt durch die Hypophyse des Frosches. (Schema)  
Gl. inf. Glandula Infundibuli; N. f. Nervenfasern.

beginnt, tritt unter dem nervösen Epithel in die Infundibulardrüse und bildet hier ein dichtes Geflecht. Da die Fasern beim Frosche sehr zahlreich sind, so bilden sie ein dichteres Netz, als wir es beim Salamander fanden.

Während aber die Glandula Infundibuli der Urodelen ein einheitliches Gebilde darstellte, tritt bei den Anuren der hintere Abschnitt der Glandula hinzu. Derselbe steht auch mit der in den vorderen Abschnitt der Glandula gelangenden Nervenbahn im Zusammenhang. Zahlreiche Nervenfasern verlassen die Haupttrichtung der Nervenbahn, die sich in den vorderen Abschnitt der Glandula biegt, und treten in den hinteren Theil derselben hinein. Hier verzweigen sich diese Fasern und enden zwischen den Zellen

dieses Glandulasegmentes. Dasselbe ist ein neues Gebilde, das noch bei den Urodelen nicht aufzufinden war. Es bildet, wie es mir scheint, die Anlage der ganzen Infundibulardrüse höherer Wirbelthiere. Es scheint bei den Anuren phylogenetisch neu angelegt zu sein.

Die Resultate meiner Untersuchung sind also folgende:

1. In die Hypophyse tritt vom unteren Theile des Infundibulums eine Nervenbahn ein, die in der Glandula Infundibuli endet.

2. Die Glandula Infundibuli besteht bei Urodelen aus einem einzigen Segmente, sie ist auch bei ihnen fast ausschliesslich durch ein dichtes Nervenfaserngeflecht gebildet. Bei Anuren dagegen sind in der Glandula Infundibuli zwei Segmente zu finden, das vordere entspricht ganz dem Baue nach der Glandula Infundibuli der Urodelen, das hintere dagegen ist ein bei den Anuren neu erscheinendes Gebilde.

3. Die Meinung Boeke's, man habe das Infundibularorgan als ein Sinnesorgan zu betrachten, erhält durch den Nachweis einer in die Glandula Infundibuli (dem Infundibularorgane homologes Gebilde) hinziehenden Nervenbahn eine neue Stütze.

- 
46. M. MIECISŁAS JAWOROWSKI. „Apparato reticolare“ Golgi'ego w komórkach zwojów międzykręgowych niższych kręgowców. („Apparato reticolare“ von Golgi in Spinalganglienzellen der niederen Wirbelthiere). („L'apparato reticolare“ de M. Golgi dans les cellules des ganglions spinaux des vertébrés inférieurs (oiseaux, amphibiens)). Mémoire présenté par M. C. Kostanecki m. t.

(Planche XXXIII).

In den letzten Jahren hat Golgi in einer Reihe von Arbeiten<sup>1)</sup> im Protoplasma der Nervenzellen von erwachsenen Säuge-

<sup>1)</sup> C. Golgi: Intorno alla struttura delle cellule nervose. (Boll. della Soc. med. chir. di Pavia. 1898. No. 1 e Arch. ital. de Biologie t. XXX. fasc. 1).

— Sulla struttura delle cellule nervose dei gangli spinali. (Boll. della Soc. med. chir. di Pavia. 1898. No. 2 e Arch. ital. de Biologie t. XXX. fasc. 2).

thieren und Säugethierembryonen auf Grund seiner ein wenig modifizierten Chromsilbermethode ein neues Gebilde beschrieben, bestehend aus netzförmig sich verbindenden Fasern, welches er mit dem Namen „*apparato reticolare*“ belegt hat.

In den Präparaten, in welchen die Imprägnation gut gelungen ist, bildet der „*apparato reticolare*“ ein sehr unregelmässiges, aus gelbbraunlich gefärbten Fäden gebildetes Netz, welches einen grösseren Theil des Zellprotoplasmas einnimmt. Die Fäden, welche das Netz bilden, sind von ungleichmässiger Dicke; in einigen Zellen sind sie sehr fein und dünn, in anderen hingegen dicker, doch kommt es vor, dass auch in derselben Zelle das Netz aus Fasern verschiedener Dicke besteht. Die einzelnen Fäden verbinden sich miteinander, und von der Zahl dieser Verbindungen hängt die Dichte des Netzes ab, wodurch letzteres in manchen Zellen eng, in manchen wiederum weitmaschiger wird. An den Stellen, wo sich die Fäden miteinander verbinden, sieht man gewöhnlich mehr intensiv gefärbte Knötchen, welche Golgi als „*dischetti nodali*“ bezeichnet. Ähnliche Knötchen fand Golgi aber auch im Verlaufe des Fadens, nicht selten auf dem freien Ende desselben.

Die Lage des Netzes in der Zelle ist verschiedenartig, es ordnet sich entweder um den Kern oder an den Polen der Zelle an; in letzterem Falle ist es gegen die Zellperipherie mit seiner breiten, convexen Seite gerichtet, während einzelne Fäden der Mitte sich zuwenden. Öfters befinden sich in einer Zelle mehrere Netze, welche entweder getrennt oder durch einfache Fäden miteinander verbunden sind. Der „*apparato reticolare*“ stellt sich in diesem Falle wie aus Lappchen zusammengesetzt dar. Diesen lappigen Bau sah Golgi besonders deutlich in den Spinalganglienzellen des Pferdes ausgeprägt. In diesen Zellen bildete der „*apparato reticolare*“ grössere oder kleinere Knäuel, welche mit feinen Fäden verbunden waren.

Der „*apparato reticolare*“ kann sich in allen Schichten des Zellprotoplasmas befinden, sogar auch an den der Peripherie nahe

— Di nuovo sulla struttura delle cellule nervose dei gangli spinali. (Boll. della Soc. med. chir. di Pavia 1899. No. 1. e Arch. ital. de Biologie t. XXXI. fasc. 2).

— Sulla struttura delle cellule nervose del midollo spinale. (Società med. chir. di Pavia. Luglio 1899).

— Intorno alla struttura delle cellule nervose della corteccia cerebrale. (Verhandl. der Anat. Gesellschaft. XIV Versammlung in Pavia. 1900).

gelegenen Theilen; immer jedoch findet sich zwischen der Zelloberfläche und dem Netze ein Raum, der von ganz fadenlosem Protoplasma eingenommen ist. Dieser kann kleiner oder grösser sein, ist aber stets deutlich wahrzunehmen; Golgi stellt also fest, dass der „apparato reticolare“ ein deutlich endocelluläres Gebilde ist (... „apparato reticolare mentre é abbastanza nettamente limitato all'esterno“...), er steht in keinem Zusammenhange mit den interstitiellen Räumen und mit den Fasern, welche die Oberfläche der Zelle umgeben.

Sehr oft fand Golgi auch einen vom „apparato reticolare“ freien Protoplasmastreif rings um den Kern herum, in manchen Fällen jedoch traten an die Oberfläche des letzteren einzelne Fasern des „apparato“. Bei Untersuchung des intracellulären Netzes bei Säugethierembryonen in verschiedenen Entwicklungsstadien kam Golgi zur Überzeugung, dass dasselbe bei diesen seltener und weniger ausgebildet ist als in Nervenzellen älterer Thiere. Bei letzteren tritt sein charakteristischer Bau viel deutlicher hervor, das Netz ist dichter und stärker. In den Nervenzellen der Embryonen dagegen, besonders in den frühen Entwicklungsstadien, kann man an verschiedenen Stellen der Zelle, am häufigsten in der Nähe des Kernes, einzelne Schlingen nachweisen, welche ein feines und lockeres Netz bilden. Der Charakter des Netzes hängt auch von der Grösse der Zelle ab; in den kleineren Zellen war das Netz viel deutlicher als in den grösseren, in welchen die Bestandtheile des Netzes die Tendenz zur Bildung isolierter Bündel und Schlingen zeigen.

Golgi hat den „apparato reticolare“ in den Spinalganglienzellen, in den grossen Zellen, von welchen der IV Gehirnnerv ausgeht, in den Purkinje'schen und in den Zellen des Rückenmarkes und der Gehirnrinde nachgewiesen.

Die Arbeiten Golgi's haben ein reges Interesse hervorgeufen und gaben Anlass zu einer ganzen Reihe von Untersuchungen, die sich zur Aufgabe nahmen, das Wesen dieses interessanten Gebildes zu erklären.

Veratti fand bald nach Golgi das intracelluläre Netz in Ganglienzellen des Sympathicus<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> E. Veratti: Ueber die feinere Structur der Ganglienzellen des Sympathicus (Anat. Anz., Bd. XV., No 11, 12, 1898).

In diesen Zellen besteht der „apparato reticolare“ ähnlich wie in Spinalganglienzellen aus sehr feinen oft miteinander anastomosierenden Fasern und nimmt das ganze Zellprotoplasma mit Ausnahme eines engen, oberflächlichen Streifens der Zelle ein. Die Fäden dringen niemals in den Kern selbst ein, oft jedoch hat man den Eindruck, dass sie seine Oberfläche berühren. Der Verlauf der Fäden ist sehr verwickelt und ihr Aussehen verschieden. Einige sind voneinander weiter entfernt und erscheinen intensiver gefärbt, andere liegen näher beieinander und weisen dunklere Knötchen auf.

Der Charakter des Netzes ist also bei dem Untersuchungsobject Veratti's im allgemeinen ähnlich dem von Golgi beschriebenen.

Die Resultate der Untersuchungen von Golgi und Veratti hat unlängst auch Soukhanoff<sup>1)</sup> für die Spinalganglienzellen des Kaninchens bestätigt.

Golgi und Veratti haben auch die Frage über die Natur des von ihnen nachgewiesenen „apparato reticolare“ erörtert.

Dass man es im „apparato reticolare“ nicht mit denselben Fibrillen zu thun hat, welche in letzten Zeiten Apáthy<sup>2)</sup> und Bethe<sup>3)</sup> in der Nervenzelle nachgewiesen haben, war leicht zu entscheiden. Der „apparato reticolare“ war den von Bethe beschriebenen Fibrillen nicht im mindesten ähnlich, von den Apáthy'schen Fibrillen unterschied er sich gänzlich, da er ein ausschliesslich in einer Zelle eingeschlossene Organ bildete, während Apáthy's Fibrillen von einer Zelle zur anderen sich begeben und dieselben direct verbinden.

Andere Gebilde, deren Identität mit dem „apparato retico-

<sup>1)</sup> S. Soukhanoff: Réseau endocellulaire de Golgi dans les éléments nerveux des ganglions spinaux (Revue neurologique. T. IX. No 24. Paris 1901).

<sup>2)</sup> Apathy: Das leitende Element des Nervensystems und seine topographischen Beziehungen zu den Zellen. (Mittheilungen aus der zoologisch. Station zu Neapel. Vol. XII. 1897).

<sup>3)</sup> Bethe: Das Nervensystem von Carcinus Maenas. (I. II. III. Arch. für mikrosk. Anatomie. Vol. L, 1897.; Vol. LI, 1898).

— Ueber die Primitivfibrillen in den Ganglienzellen von Menschen und anderen Wirbelthieren. (Morphol. Arbeiten. Vol. VIII, 1898).

— Ueber die Neurofibrillen in den Ganglienzellen von Wirbelthieren und ihre Beziehung zu den Golginetzen. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LV. 1900).

lare“ man in Betracht ziehen konnte, waren „die Kanälchen“, welche Holmgren<sup>1)</sup> durch verschiedene Methoden in einer ganzen Reihe von Nervenzellen nachgewiesen hat. Holmgren selbst glaubt fest an die Identität dieser beiden Gebilde, Golgi jedoch trat seiner Auffassung entgegen, da „die Kanälchen“ von Holmgren deutlich mit den intercellulären Räumen communicieren, während sein „apparato reticolare“ mit der Oberfläche der Zelle in keiner näheren Beziehung steht.

Eine dritte Möglichkeit war die, dass man es hier mit einem specifisch differenzierten Protoplasma zu thun hat. Diese Vermuthung könnte in der Thatsache eine Unterstützung finden, dass einige Schüler Golgi's dem „apparato reticolare“ ähnliche Gebilde auch in anderen Zellen und nicht nur in den Nervenzellen fanden.

Pensa<sup>2)</sup> und Negri<sup>3)</sup> entdeckten ähnliche Gebilde in den Zellen mancher Drüsen (Nebenniere, Ohrspeicheldrüse, Bauchspeicheldrüse, Schilddrüse), Pensa ausserdem in den Knorpelzellen.

Alle oben erwähnten Autoren haben ihre Forschungen ausschliesslich an Säugethieren angestellt. Die Frage, ob der „apparato reticolare“ Golgi's sich nur in den Zellen der Säugethiere vorfindet, oder ob er auch bei den niederen Wirbelthieren vorhanden ist, blieb bis jetzt unbeantwortet. Golgi erwähnt nur gelegentlich in einer seiner Arbeiten, dass er den „apparato reticolare“ auch in Purkinje'schen Zellen des Kleinhirns eines Vogels (*Strix flammea*) fand.

Da an niederen Thieren, als den einfacheren Organismen, angestellte Forschungen die oftmals nicht ganz klaren Resultate der an Säugethieren ausgeführten Untersuchungen aufzuklären im

<sup>1)</sup> Holmgren: Zur Kenntniss der Spinalganglienzellen des Kaninchens und des Frosches. (*Anat. Anz.*, XVI Bd., No 7. 1899).

— Weitere Mittheilungen über den Bau der Nervenzellen. (*Anat. Anz.*, XVI Bd., No. 15, 16. 1899).

— Studien in der feineren Anatomie der Nervenzellen. (*Anat. Hefte.*, XV. Bd., XLVII. Heft. 1900.)

<sup>2)</sup> A. Pensa: *Sopra una fina particolarità di struttura di alcune cellule delle capsule suprarenali* (*Soc. med. chir. di Pavia*, 1899).

— *Osservazioni sulla struttura delle cellule cartilaginee*. (*Soc. med. chir. di Pavia* 1901.; *Compte Rendu de l'Association des Anatomistes*. 1901. III. Session).

<sup>3)</sup> A. Negri: *Di una fina particolarità di struttura delle cellule di alcune ghiandole dei mammiferi*. (*Soc. med. chir. di Pavia*. Dicembre 1899).

Stunde sind, beschloss ich, mit der von Golgi angegebenen und von Verratti modificierten Imprägnationsmethode den Bau der Nervenzellen der Vögel und Amphibien zu untersuchen.

Als Repräsentanten der Vögel wählte ich hiezu die Taube (*Columba domestica*), als den der Amphibien den Frosch (*Rana temporaria*).

Vorsichtig präparierte Spinalganglien der Taube oder des Frosches legte ich ins Verratti'sche Gemisch, welches aus 10 Theilen einer 1% Osmiumsäure und aus ebenso vielen Theilen von 5% Kali bichromicum und Platinchlorid in einer Lösung von 1:1000 besteht. In diesem Gemisch verblieben die Präparate 5—6 Tage in einem dunklen Raum aufbewahrt. Diese Zeit erwies sich nach mehreren Proben als die beste zur Gewinnung einer guten Imprägnation der Nervenzelle. Nach dieser Zeit legte ich die Spinalganglien in eine 0.75% Lösung von *Argentum nitricum*. Um die Präparate hiebei von allen Seiten gleichmässig der Wirkung des Silbernitrats auszusetzen, legte ich sie auf ein kleines Stück Watte, worauf ich das Gefäss ins Dunkle stellte. Obwohl die Imprägnation der Zellen auch beim Verbleiben der Präparate im Tageslichte erfolgte, war sie doch viel deutlicher und gelang in einer grösseren Zahl von Zellen bei der Behandlung mit Silbernitrat im Dunklen. In der Silberlösung verblieben die Präparate 2 bis 3 Tage, dann führte ich dieselben durch 96% und absoluten Alkohol hindurch, worauf ich sie in Celloidin einbettete. Ich verfertigte nun grobe, 40—50  $\mu$  dicke Schnitte (um ganze Zellen auf einem Schnitt untersuchen zu können), worauf ich die Schnitte in Alkohol entwässerte und dann durch Chloroform in Cedernholzöl überführte, in welchem ich die Präparate auf Objectträgern aufbewahrte.

Die Spinalganglienzellen der Taube zeigen den Säugethieren ähnliche Typen. Ein grosser, bläschenförmiger Kern liegt in der Mitte der Zelle, und das Protoplasma zeigt in den mit der Nissl'schen Methode gefärbten Präparaten grosse Mengen der chromaphilen Körnchen. Was die Grösse der Zellen betrifft, so findet man unter ihnen ziemlich bedeutende Unterschiede; der Unterschied der Grösse ist aber niemals so stark, wie wir ihn später beim Frosche antreffen werden. Im Verhältnis zum Kerne, welcher sich immer in der Mitte der Zelle befindet, nimmt der „*apparato reticolare*“ eine ganz ähnliche Lage ein, wie bei den Säugethieren.

In der centralen Schicht des Protoplasmas zwischen dem Kern und der Zelloberfläche vertheilt sich das ganze Netz der Fäden, welche den „apparato reticolare“ bilden. Diesen Typus der Anordnung sieht man am besten auf dünnen Präparaten, wo die Zelle angeschnitten ist (Fig. 4). Man sieht ausserdem an der Oberfläche der Zelle rings um den „apparato“ eine helle Protoplasmaschicht, in welcher wir den „apparato“ nicht finden. Die Fäden selbst sind von sehr verschiedener Dicke (Fig. 2) und verbinden sich entweder korbformig um den Kern (Fig. 1), oder sie bilden lose Schlingen und von einander unabhängige Bündel (Fig. 3), was besonders in den grösseren Zellen vorkommt.

An den Stellen, wo sich die einzelnen Fäden verbinden, bemerkt man sehr deutliche Ausbreitungen und Verdickungen, ähnlich wie es Golgi bei den Säugethieren beobachtete, sie kommen aber auch öfters an den freien Enden der Fäden des „apparato“, vor. Auf manchen Fäden selbst sieht man hie und da mehrere solcher Knötchen (Fig. 4), welche sich an einander reihend den Fäden ein rosenkranzartiges Aussehen verleihen. Überhaupt scheint das Netz bei den Vögeln nicht so dick zu sein und seine Maschen sind verhältnismässig gross und weniger zahlreich. Ich habe bei den Vögeln — geradeso wie Golgi bei den Säugethieren — den „apparato reticolare“ niemals in der äusseren Protoplasmaschicht vorgefunden, ebensowenig das Eindringen der Fäden in den Achsenzyliinderfortsatz gesehen.

Die Spinalganglienzellen des Frosches unterscheiden sich deutlich von jenen der Vögel und Säugethiere dadurch, dass der Kern grösstentheils nicht in der Mitte, sondern näher der Peripherie oder auch ganz nahe an der Zelloberfläche liegt (Fig. 6 und 7). Untereinander unterscheiden sich die Zellen deutlich durch ihre Grösse; aus den genauen Messungen Lenhossék's<sup>1)</sup> wissen wir, dass der Durchmesser der grössten Zellen 90 $\mu$ , der kleinsten kaum 10 $\mu$  beträgt.

Es ist mir gelungen, das Netz in den Zellen jeder Grösse nachzuweisen. Sein Charakter jedoch ist in verschiedenartigen Zel-

<sup>1)</sup> M. v. Lenhossék: Untersuchungen über die Spinalganglien des Frosches (Archiv. für mikrosk. Anat., 26. Bd. 1886).

— Centrosom und Sphäre in den Spinalganglienzellen des Frosches (Arch. für mikrosk. Anatomie, 46 Bd. 1895).

len verschieden. Da ich meine Untersuchungen über die Froschzellen in der Winterszeit begonnen hatte, so hatte ich es mit Fröschen zu thun, welche den Winter im Aquarium verlebten. In den Spinalganglienzellen dieser Frösche traten intensiv schwarz gefärbte Fettkügelchen auf, und der „apparato reticolare“ liess sich nur in wenigen Zellen, und nur in Gestalt einzelner Knäuel nachweisen. Als die Frühlingszeit es mir dann ermöglichte, frische Frösche als Material zu benützen, konnte ich in denselben den „apparato reticolare“ sehr deutlich wahrnehmen. Ob ich die ungenügende Ausbildung des „apparato“ in den von mir im Winter untersuchten Fröschen dem thatsächlichen Fehlen desselben oder meiner noch nicht hinreichenden Erfahrung in der Handhabung der Untersuchungsmethode zuschreiben soll, bin ich vorläufig nicht im Stande zu beurtheilen. Thatsache ist es jedenfalls, dass in den Zellen der frischen Frösche die Fettkügelchen, die sich bei den Winterfröschen immer vorfanden, gänzlich fehlten.

Lange Zeit hindurch erhielt ich die Bilder vom „apparato reticolare“ nur in Zellen kleiner und mittlerer Grösse, später jedoch auch eine grosse Reihe von Präparaten, in welchen das Netz ebenso scharf in kleineren, wie auch in grösseren Zellen hervortrat. Der „apparato“ bestand am häufigsten aus einzelnen Läppchen, welche sich mit einander mittels Fäden verbanden. Die Thatsache, dass es in kleineren Nervenzellen leichter ist, den „apparato reticolare“ deutlich sichtbar zu machen, steht wahrscheinlich im Zusammenhange mit der für die kleineren Zellen charakteristischen Eigenschaft der grösseren Absorbtionsfähigkeit von Chromsalzen. Bekanntlich absorbieren nämlich die kleineren Spinalganglienzellen des Frosches mehr Chromsalze als die grossen, weshalb sie auch „chromophile Zellen“ benannt werden. Dieselbe grössere Tinctionsfähigkeit der kleinen Zellen, welche Golgi auch bei den Säugethieren beobachtete, fand ich auch in den Spinalganglienzellen der Taube und des Frosches. Was das genauere Verhalten des Netzes betrifft, so muss ich vor allem erwähnen, dass sich nicht alle Fäden gleich imprägnieren. Einige sind ganz dunkel, andere heller gefärbt, andere wieder imprägnieren sich nur an ihren Rändern, während die Mitte lichter bleibt. Die Fäden sind von verschiedener Grösse, es sind dünnere und gröbere miteinander vermisch. Die dünneren anastomosieren häufiger miteinander als die gröberen und bilden ein mehr compactes Netz. An den Verbindungs-

stellen der Fäden sind oft dunklere, in Gestalt und Grösse verschiedenartige Körner sichtbar. Es sind gewöhnlich Knötchen, welche in ihrer Mitte eine kleine Öffnung besitzen, was ihnen das Aussehen eines Ringes verleiht. Auch am Ende und in dem Verlaufe des Fadens sah ich solche Verdickungen.

Wie ich schon oben erklärte, liegt der Kern in den Spinalganglienzellen des Frosches excentrisch und nicht selten ganz nahe der Oberfläche der Zelle. Der „apparato reticolare“ richtet sich nach der Lage des Kernes. In manchen Fällen schliesst er (Fig. 6, a) den Kern ein, wie dies bei Säugethieren und Vögeln der Fall ist, in anderen dagegen wird er vom Kerne auf die Weise abgedrängt, dass er nur einen Theil der Zelle einnimmt (Fig. 6, b und 7). In grösseren Zellen entsendet der „apparato“ in solchen Fällen einzelne Fäden, welche zwischen den Kern und die Zellperipherie eindringen. In diesen wie auch in vielen anderen Fällen liegen die einzelnen Fäden an der Oberfläche des Kernes (Fig. 6, b), niemals jedoch habe ich dieselben in letzteren selbst eindringen sehen. In der überwiegenden Mehrzahl bestand der „apparato reticolare“ aus grösseren und kleineren Knäueln, welche sich miteinander durch längere Fäden verbanden (Fig. 5 und 7). Das Netz zeigte dadurch einen dem von Golgi in Nervenzellen des Pferdes beobachteten ähnlichen lappigen Bau.

Alle diese Einzelheiten im Baue des „apparato reticolare“ beziehen sich auf die kleinen und mittleren Nervenzellen. In den grossen Zellen stellt er sich ein wenig anders dar. Der „apparato reticolare“ nahm in ihnen immer nur einen Theil der Zelle ein und besass sehr unregelmässige Formen (Fig. 5).

In den Zellen aller Typen, in den grossen wie in den kleinen, befand sich der „apparato reticolare“ nur in der mittleren Schicht des Zellprotoplasmas und um das Netz ringsum blieb immer ein freier, wenn auch bisweilen nur kleiner, Protoplasmastreifen. In keinem von meinen zahlreichen (von ungefähr 70 Fröschen stammenden) Präparaten habe ich jedoch die Fäden des „apparato reticolare“ aus der Zelle herausgehen oder seine Oberfläche berühren gesehen.

Meine Untersuchungen stehen also in dieser Hinsicht in Übereinstimmung mit den von Golgi erhaltenen Resultaten und im Widerspruch mit denen Holmgren's, welcher Verbindungen dieser Fasern mit der Zelloberfläche erwähnt. Wir sehen also, dass

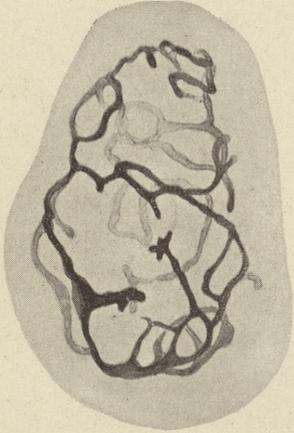
der „apparato reticolare“ bei Vögeln und Amphibien ein aus Fäden zusammengesetztes Gebilde ist, welches nur die inneren Protoplasmaschichten einnimmt und sich bezüglich seiner Lage der Lage des Kerns anpasst, und dass derselbe ein nicht nur den Nervenzellen der Säugethiere, sondern auch denen der Vögel und Amphibien eigenthümliches Gebilde darstellt. Eine Erklärung des Wesens des „apparato reticolare“ geben auch meine Untersuchungen nicht. Ähnlich wie es Golgi für die Säugethiere behauptet hat, müssen auch wir feststellen, dass der „apparato reticolare“ weder den Nervenfibrillen von Apáthy noch den von Holmgren beschriebenen „Kanälchen“ entspricht. Während nämlich die Apáthy'schen Fibrillen einerseits von einer Zelle zu der anderen hinüberziehen und sie unmittelbar mit einander verbinden, die „Kanälchen“ von Holmgren andererseits mit den pericellulären Räumen in Zusammenhang stehen, ist der „apparato reticolare“ sowohl bei Vögeln und Amphibien wie auch bei Säugethieren ein in einer Zelle eingeschlossenes Gebilde, welches in keinem Zusammenhange mit ihrer Oberfläche steht.

Da ich in meinen vergleichend-histologischen Untersuchungen keinen Aufschluss über das Wesen des „apparato reticolare“ erhielt, so habe ich in letzter Zeit eine Reihe von Versuchen vorgenommen, um mir über dessen Bedeutung eine Aufklärung zu verschaffen, und ich hoffe in einiger Zeit deren Ergebnisse mittheilen zu können.

In der Anschaffung der für meine Arbeit nöthigen Litteratur fand ich eine grosse Unterstützung dank dem freudlichen Entgegenkommen des Herrn Dr. E. Veratti aus Pavia, welcher so liebenswürdig war, mir fast alle diesbezüglichen Arbeiten zu übersenden; ich erfülle hiermit die angenehme Pflicht, ihm hiefür meinen besten Dank auszusprechen. Ebenso bin ich verpflichtet, den gleichgefühlten Dank gegenüber dem Herrn Privatdocenten Dr. A. Bochenek, welcher mir im Verlaufe meiner Untersuchungen öfters und stets gerne hilfbereit an die Hand ging, hier zum Ausdruck zu bringen.

Aus dem anatomischen Institut der Jagellonischen Universität in Krakau.

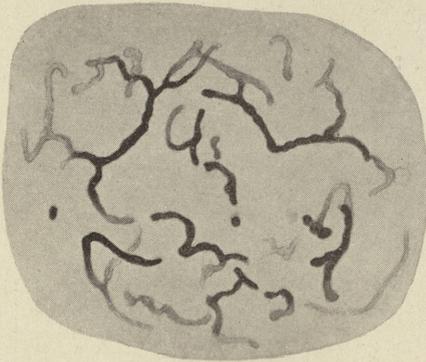




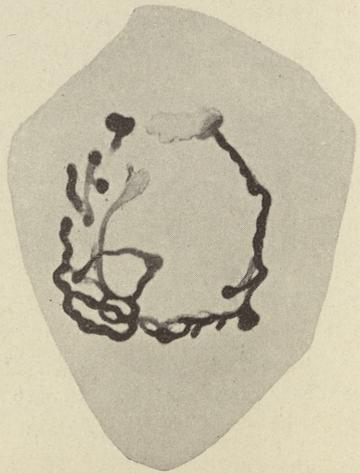
*Fig. 1.*



*Fig. 2.*



*Fig. 3.*



*Fig. 4.*

*M. Jaworowski.*

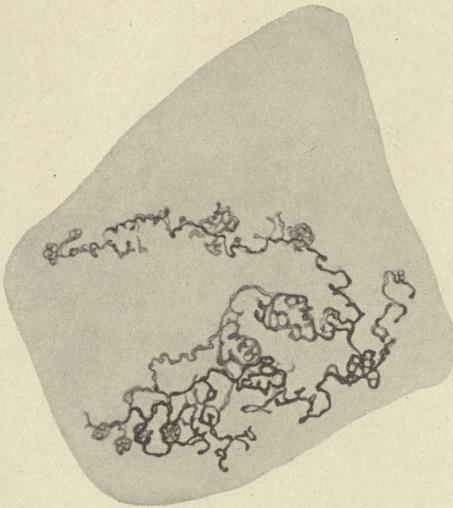


Fig. 5.

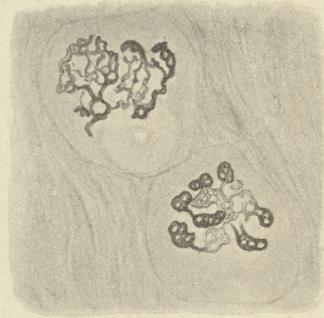


Fig. 7.

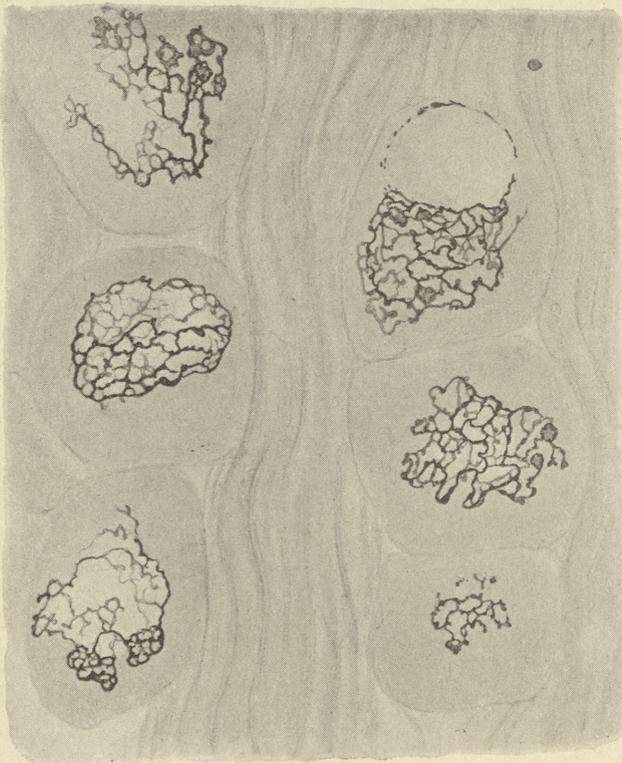


Fig. 6.



## Tafelerklärung.

Fig. 1—4: Spinalganglienzellen der Taube. Zeiss. Apochr. Imm. 2 mm. Comp. Oc. No 8.

Fig. 5—7: Spinalganglienzellen des Frosches. Zeiss. Apochr. Imm. 2 mm. Comp. Oc. No 4.

Die Zeichnungen hat Herr Dr. Johann Barącz mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates angefertigt.

47. M. ST. NIEMENTOWSKI m. c. **O granicach tworzenia się związków dwuazoaminowych i o pewnych barwikach azowych.** (*Über die Grenzen der Bildung der Diazoaminverbindungen und über gewisse Azofarbstoffe.*) (*Sur les limites de formation des composés diazamidés et sur quelques colorants azoïques.*)

Anschliessend an eine gemeinschaftlich mit J. Roszkowski „Über die Diazotierung des Anilins“ publizierte Arbeit<sup>1)</sup>, diejenigen Aufgaben verfolgend, welche ich mir vor zehn Jahren gelegentlich einer Untersuchung der m-h-Anthranilsäure<sup>2)</sup> gestellt habe, unterzog ich mich zum Theil in Gemeinschaft mit Hrn. Cezar Wichrowski der näheren Prüfung des Verhaltens einer Reihe primärer aromatischer Amine gegenüber salpetriger Säure. Es handelte sich hauptsächlich um Bestimmung derjenigen Säuremenge, bei welcher die Entstehung der Diazoaminverbindungen unterbleibt, und um die Erforschung der Abhängigkeit dieser Grösse von der Natur und Stellung der neben der Aminogruppe im Benzolkern des aromatischen Amins enthaltenen Substituenten. In den Kreis der Untersuchung wurden einbezogen die 3 isomeren Toluidine, das m-Xylidin, die beiden isomeren Naphtylamine, alle drei isomeren Chlor- und Nitraniline, Aminophenole, Aminobenzonitrile und Aminobenzoesäuren. Ausserdem wurden von den früheren auf das Anilin bezüglichen Versuchen diejenigen nachgeprüft, deren Richtigkeit von Hantzsch und Schumann<sup>3)</sup> vor einigen Jahren angefochten worden ist. Was den letzteren Punkt anbetrifft, so soll

<sup>1)</sup> Stefan von Niementowski und Johann von Roszkowski: Ztschr. für physikal. Chemie. **22.** 145. (1897).

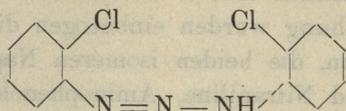
<sup>2)</sup> Rozpr. Wydz. mat.-przyrodn. Ak. Um. **24.** 290. (1892).

<sup>3)</sup> A. Hantzsch und M. Schumann: Ber. d. d. chem. Ges. **32.** 1691. (1899).

sogleich bemerkt werden, dass unter den von Niementowski und Roszkowski angegebenen Bedingungen, bei Anwendung der käuflichen Kahlbaum'schen Präparate, in allen Versuchen, welche jetzt zur Controlle von mir angestellt wurden, immer das Diazoaminobenzol, wenngleich in wechselnden Quantitäten, auftrat. Betreffs der übrigen oben aufgezählten Amine kann an dieser Stelle unter Vermeidung aller Einzelheiten nur angedeutet werden, dass sich im grossen und ganzen die Voraussicht bestätigt hat, dass die Entstehung der Diazoaminoverbindungen aus denjenigen Aminokörpern begünstigt wird, welche einen wenig ausgesprochenen chemischen Charakter haben, deren Basicität also durch Anwesenheit von Chlor, Nitrogruppen, Cyangruppen u. drgl. herabgesetzt ist; es sind das durchgehends Körper, deren Salze in wässrigen Lösungen stark hydrolytisch gespalten sind. Dahingegen erfolgt die Bildung der Diazoaminoverbindungen unter sonst gleichen Reactionsbedingungen in verhältnismässig geringen Mengen bei drei isomeren Toluidinen, beim *m*-Xylidin, den isomeren Aminophenolen und Aminobenzoensäuren. Die beiden Naphtylamine nehmen bezüglich ihrer Diazotierungsfähigkeit bis zu einem gewissen Grade eine Mittelstellung ein.

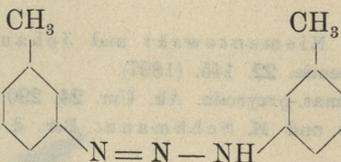
Im Laufe dieser Untersuchungen bot sich öfters die Gelegenheit dar zur Ergänzung mancher Lücken in den Reihen der Diazoaminoverbindungen und der einfachsten  $\beta$ -Naphtol-azofarbstoffe. Es wurden also zum ersten Mal rein dargestellt und näher untersucht:

**2,2'-(o)-Dichlordiazoaminobenzol,**



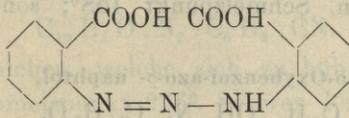
Goldgelbe Spiessen oder derbe Krystalle; erweichen bei 80°, schmelzen bei 90°. Sehr leicht löslich in organischen Solventien.

***m*-Diazoaminotoluol,**



welches unterdessen schon von Mehner<sup>1)</sup> beschrieben worden ist.

**o-Diazoaminobenzoessäure,**

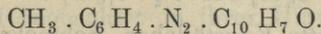


Braungelbe, sechsseitige Täfelchen vom Schmelzpunkt 123°. In organischen Solventien sehr leicht löslich. Unlöslich in Wasser, löslich in Ammoniak und Alkalien.

Die Untersuchung der Diazoaminoverbindungen der drei isomeren Aminophenole ist noch nicht abgeschlossen.

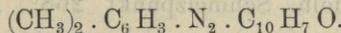
Von den  $\beta$ -Naphtolazokörpern sind folgende dargestellt worden:

**m-Toluol-azo- $\beta$ -naphtol,**



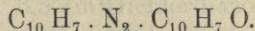
Hellrothe Nadeln, Schmelzpunkt 141°. Löslich in organischen Solventien. Sehr schwer löslich in alkalischen Laugen. In concentrirter Schwefelsäure löslich mit violettrother Farbe.

**as-m-Xylyl-azo- $\beta$ -naphtol,**



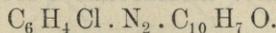
Feurig rothe, glänzende Nadeln, Schmelzpunkt 166°. Löslich in Alkohol, Aether und drgl., unlöslich in Wasser, Ammoniak, alkalischen Laugen und verdünnten Säuren. In concentrirter Schwefelsäure löslich mit dunkel kirschrother Farbe.

**$\alpha$ -Naphtyl-azo- $\beta$ -naphtol,**



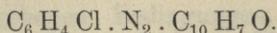
Violettrothe Säulen, mit Kanthariden-ähnlichem Schimmer. Schmelzpunkt 228° bis 229°. Sehr schwer löslich in Alkohol, etwas leichter löslich in Toluol. Unlöslich in Wasser, Alkalien und verdünnten Säuren; in concentrirter Schwefelsäure mit violetter Farbe löslich.

**o-Chlorbenzol-azo- $\beta$ -naphtol,**

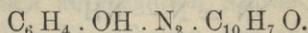


Rothe Säulen. Schmelzpunkt 163°. Löslich in organischen Solventien. In Wasser, Alkalien und verdünnten Säuren unlöslich.

<sup>1)</sup> Hans Mehner: Journ. f. pr. Chem., 65., 444. (1902).

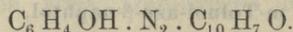
**m-Chlorbenzol-azo- $\beta$ -naphthol,**

Rothe Blättchen. Schmelzpunkt 158°; sonst ähnelt es dem vorhergehenden.

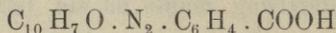
**o-Oxybenzol-azo- $\beta$ -naphthol,**

Krystallisiert aus Essigäther in dunkelvioletten, kupferglänzenden derben Krystallen vom Schmelzpunkt 193°. Löslich in organischen Solventien.

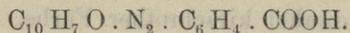
Lösungsfarbe: in verdünnter alkalischer Lauge: weinroth,  
in concentrirter Schwefelsäure: violett.

**p-Oxybenzol-azo- $\beta$ -naphthol,**

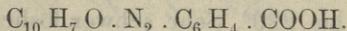
Indischrothe, matte Kryställchen. Schmelzpunkt 194°. Löslichkeitsverhältnisse und sonstiges gleich dem orto-Isomeren.

 **$\beta$ -Naphthol-o-azobenzoessäure,**

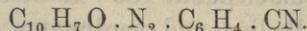
Ziegelrothe Nadeln. Schmelzpunkt 268°. Löslich in Aceton, Alkohol u. drgl. In concentrirter Schwefelsäure mit violettrother Farbe löslich, sehr schwer löslich in Alkalilaugen.

 **$\beta$ -Naphthol-m-azobenzoessäure,**

Hellrothe Nadeln. Schmelzpunkt 243°. Gleich im Verhalten dem obigen Isomeren.

 **$\beta$ -Naphthol-p-azobenzoessäure,**

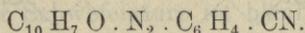
Rothe Nadeln. Schmilzt mit Zersetzung bei 301°. In den meisten organischen Solventien sehr schwer löslich, etwas leichter in Eisessig. Löslich in Alkalilaugen mit rother, in concentrirter Schwefelsäure mit intensiv kirschrother Farbe.

 **$\beta$ -Naphthol-m-azobenzonitril,**

Orangerothe Kryställchen. Schmelzpunkt 186°. Sehr leicht löslich in Aceton, etwas schwerer löslich in Alkohol und Aether. Lös-

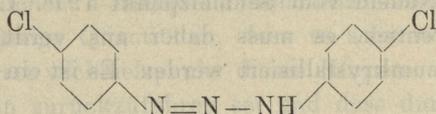
lich in Alkalilaugen und concentrirter Schwefelsäure mit kirschrother Farbe.

**$\beta$ -Naphthol-p-azobenzonitril,**

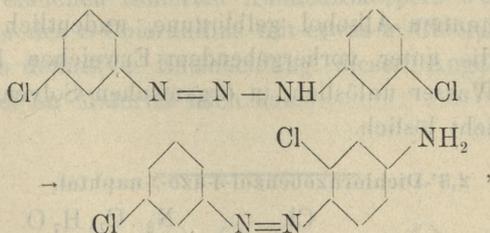


Blutrothe Säulchen, welche sich zu hübschen Sternchen zusammenlagern. Schmelzpunkt 236°. Schwer löslich in organischen Solventien; löslich mit dunkelkirschrother Farbe in concentrirter Schwefelsäure; schwer löslich in kochender Lauge. Der Auflösung in Laugen geht wahrscheinlich an beiden Isomeren die Verseifung der Cyangruppe voraus.

Gelegentlich der näheren Untersuchung der drei isomeren Dichlordiazoaminobenzole wurde ein unerhoffter und recht merkwürdiger Unterschied beobachtet in ihrer Umwandlungsfähigkeit zu isomeren Dichloraminoazoverbindungen. Es war nämlich vorauszu- sehen und wurde thatsächlich durch das Experiment bestätigt gefunden, dass das 4,4'-(p)-Dichlordiazaminobenzol

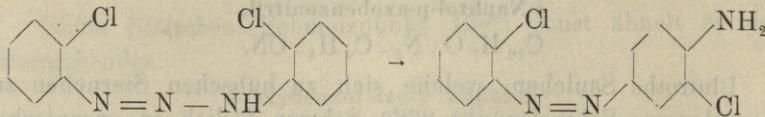


der Umwandlung in ein Aminoazoderivat unfähig ist, weil die para-Stellung durch Chlor besetzt ist; dahingegen hätte man erwarten sollen, dass die beiden anderen isomeren Dichlordiazoaminobenzole glatt in isomere Aminoazobenzole sich umlagern werden. Ich fand indessen, dass nur das 3,3'-(m)-Dichlordiazoaminobenzol mit salzsau- rem m-Chloranilin glatt unter Bildung des 4-Amino- 2,3'-dichlor- azobenzols reagiert:



während das vom o-Chloranilin derivierende 2,2'-(o)-Dichlordiazo- aminobenzol die Aminoazoumlagerung derart schwer eingeht, dass

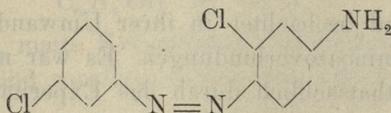
das entsprechende Derivat, das 4-Amino-3,2'-dichlorazobenzol, in einer kaum 2% der theoretisch zu erreichenden Ausbeute entsteht:



Wir haben es hier also mit einem seltenen Falle einer sterischen Hinderung der Aminoazoumlagerung zu thun, welcher interessant genug erscheint, um auch an anderen Verbindungen näher erforscht zu werden.

Im Verlaufe dieses Theiles der Arbeit habe ich noch folgende neue Körper dargestellt und analysiert:

**4-Amino-2,3'-dichlorazobenzol,**

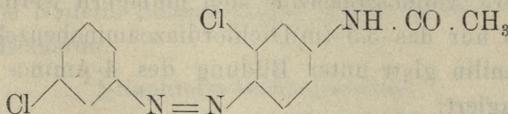


Goldgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 127°. Leicht löslich in organischen Solventien, es muss daher aus verdünntem Alkohol oder aus Benzin umkrystallisiert werden. Es ist ein basischer Farbstoff, dessen

**Chlorhydrat,**

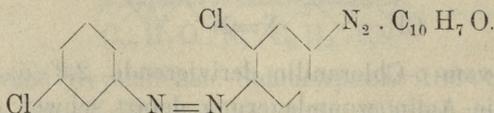
$C_{12}H_9Cl_2N_3 \cdot HCl$ , derbe violette Kryställchen bildet.

**4-Acetamino-2,3'-dichlorazobenzol,**



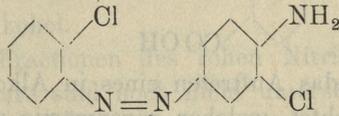
Aus verdünntem Alkohol gelbbraune, undeutlich krystallinische Massen, die unter vorhergehendem Erweichen bei ca. 165° schmelzen. In Wasser unlöslich, in organischen Solventien, auch in Aether, sehr leicht löslich.

**2,3'-Dichlorazobenzol-4-azo-β-naphtol,**



Scharlachrothe mikroskopische Kryställchen. Schmelzpunkt 226°. Nur in Eisessig etwas leichter löslich, sodann in Toluol, in anderen organischen Solventien sehr schwer löslich. Die Lösungs-farbe in concentrirter Schwefelsäure ist bläulich grün.

4-Amino-3,2'-dichlorazobenzol,

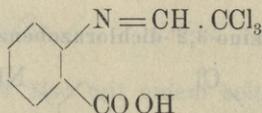


Gelbe, in Büscheln verwachsene Nadeln. Schmelzpunkt 113°. Sehr leicht löslich in organischen Solventien. Mit  $\beta$ -Naphthol gekuppelt, ergiebt der Körper einen dunkel rothen Diazofarbstoff vom Schmelzpunkt 226°, welcher in concentrirter Schwefelsäure sich mit bläulichgrüner Farbe löst. Angesichts des gleichen Schmelzpunktes und der sonstigen gleichen Eigenschaften dieses Diazofarbstoffes mit dem vom m-Chloranilin abgeleiteten Isomeren erscheint es überhaupt zweifelhaft, ob man es hier mit verschiedenen Körpern zu thun hat. Vom angeblichen 4-Amino-3,2'-dichlorazobenzol besass ich bis jetzt derartig winzige Quantitäten, dass es sehr wohl möglich ist, dass der niedrigere Schmelzpunkt dieses Körpers auf geringfügige Verunreinigungen zurückzuführen sei und dass durch wiederholtes Umkrystallisieren derselbe bis auf 127°, das ist der Schmelzpunkt des 4-Amino-2,3'-dichlorazobenzols, gebracht werden könnte.

Dadurch würde der Nachweis geliefert werden, dass der vom o-Chloranilin derivierende Diazoaminokörper sich in ein Aminoazoderivat unter den von mir eingehaltenen Reactionsbedingungen nicht umlagern könne; die geringen Mengen von 1 bis 2% des bei diesen Versuchen isolirten Aminoazokörpers würden von Verunreinigungen des o-Chloranilins mit etwas m-Chloranilin herrühren können. Eine definitive Entscheidung dieser Angelegenheit steht wegen Mangel an Material noch aus.

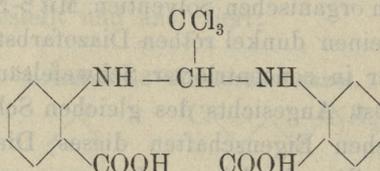
48. M. ST. NIEMENTOWSKI m. c. **O kwasie chloraldwanantranilowym.** (*Ueber die Chloraldianthranilsäure*). (*Sur l'acide chloraldianthranilique*).

Bei der Darstellung der Chloralanthranilsäure (Trichloräthylidenanthranilsäure)



wurde seiner Zeit<sup>1)</sup> das Auftreten eines in Alkohol schwerer löslichen Körpers beobachtet, welcher gegenwärtig als

**Chloraldianthranilsäure**

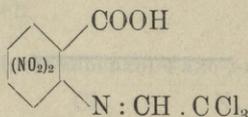


erkannt wurde. Graue, undeutlich geformte Kryställchen vom Schmelzpunkt 165°. Etwas über den Schmelzpunkt erhitzt, erleidet derselbe unter Entwicklung von Chlorwasserstoff eine tiefgehende Zersetzung. Auch in Lösungen ist der Körper offenbar leicht spaltbar; bei Versuchen zur Bestimmung seines Molekulargewichtes auf kryoskopischem Wege wurden nämlich immer Werte erhalten, welche auf eine Aufspaltung in zwei oder drei Stücke hindeuten. Der Körper ist löslich in Alkalilaugen und Ammoniak, unlöslich in verdünnten Mineralsäuren; löslich in Alkohol, Aceton, kochendem Aether u. dgl.; unlöslich in Wasser.

Durch Salpetersäure vom sp. Gew. 1.52 bei 5°—10° nitriert, erlitt der Körper wenigstens theilweise eine Aufspaltung unter gleichzeitiger Nitrierung; es wurde nämlich aus einer Fraction der Reactionsproducte eine

**Dinitro-trichloräthylidenanthranilsäure**

(Dinitro-chloralanthranilsäure),



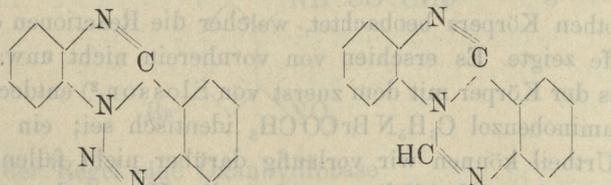
<sup>1)</sup> Stefan Niementowski i Bronisław Orzechowski: Rozpr. Wyd. mat.-przyrod. Ak. Um. 30., 233. Auch Berichte d. d. ch. Ges. 28., 2812. (1895).

isoliert. Hübsche wetzstein- und meisselförmige Kryställchen mit etwas gewölbten Flächen; wahrscheinlich Zerrformen in die Länge gezogener sechsseitiger Tafeln; gelblich-braun gefärbt; schmilzt mit Ausschäumen bei 187°. Unlöslich in Wasser und verdünnten Mineralsäuren, löslich mit blutrother Farbe in alkalischen Laugen. Sehr schwer löslich in kochendem Aether, leicht löslich in Aceton, minder leicht in Alkohol.

Die anderen Fractionen des rohen Nitrierungsproductes der Chloraldianthranilsäure sind noch nicht untersucht worden.

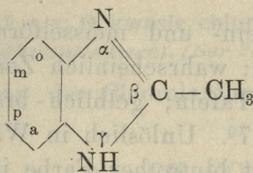
49. MM. WL. BACZYŃSKI et ST. NIEMENTOWSKI m. c. **Study nad bromowaniem benzimidazolów.** (*Bromierung der Benzimidazole*). (*Études sur la bromuration des benzimidazols*).

Durch frühere Untersuchungen von Niementowski ist nachgewiesen worden, dass die Benzimidazole, sodann Azimide der Benzimidazole und die Dianhydroverbindungen



durch die Fähigkeit ausgezeichnet sind, mit Brom in Eisessig-Lösung zu reagieren unter Bildung orangeroth gefärbter Verbindungen<sup>1)</sup>. Es wurde seiner Zeit als wahrscheinlich die Ansicht ausgesprochen, dass diese Körper zwei Bromatome im Imidazolring an der Stelle der doppelten Stickstoff-Kohlenstoffbindung enthalten. Hauptsächlich aus dem Bestreben, diese Anschauung durch möglichst exacte, experimentelle Beweise zu stützen, entstand eine Arbeit, deren erster nunmehr zu publizirender Theil hauptsächlich die Derivate des  $\beta$ -Methylbenzimidazols

<sup>1)</sup> Stefan Niementowski: Rozpr. Wydz. mat.-przyr. 22, 217 [1892]; 38, 114 [1899]; 35, 83 [1898].

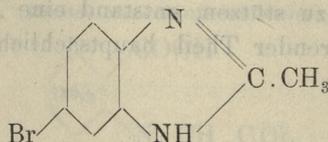


behandelt.

#### I. Abschnitt: Derivate des $\beta$ -Methylbenzimidazols aus bromierten o-Nitracetaniliden.

Für die Constitutionsbestimmungen der beim directen Bromieren des  $\beta$ -Methylbenzimidazols entstehenden Substitutionsproducte war es nothwendig, einige Derivate dieser Gruppe auf anderen Wegen zu gewinnen. Am besten geeignet erwies sich hiezu nach einigen Vorversuchen der Weg durch Reduction der bromierten o-Nitracetanilide. Das p-Brom-o-nitracetanilid ist noch im J. 1874 von Remmers <sup>1)</sup> zur Anhydrobase reducirt worden, doch waren wir genöthigt wegen der Unterschiede in den Schmelzpunktangaben, diese Arbeit zu wiederholen. Bei der Darstellung des Ausgangsmaterials des p-Bromacetanilids durch Einleiten der Bromdämpfe in eine Eisessig-Lösung des Acetanilids wurde die Bildung eines orangerothern Körpers beobachtet, welcher die Reactionen der Chlorstickstoffe zeigte. Es erschien von vornherein nicht unwahrscheinlich, dass der Körper mit dem zuerst von Slosson <sup>2)</sup> entdeckten Acetylaminobenzol  $C_6H_5N BrCOCH_3$  identisch sei; ein abschließendes Urtheil können wir vorläufig darüber nicht fällen, weil die Substanz nicht einheitlich war, was die Untersuchung sehr erschwerte. Gewisse Beobachtungen würden sich vielleicht mit einer anderen Constitutionsauffassung besser decken, deswegen muss die Entscheidung dieser Angelegenheit der späteren Zeit vorbehalten bleiben.

Durch Reduction mit Zinnchlorür und Salzsäure wurde aus o-Nitro-p-Bromacetanilid das  $\beta$ -Methyl-p-brombenzimidazol



<sup>1)</sup> Ludw. Remmers: Ber. d. d. chem. Ges. 7. 346 [1874].

<sup>2)</sup> E. E. Slosson: Ber. d. d. chem. Ges. 28, 3265 [1895].

vom Schmelzpunkt 218° erhalten. Remmers gab für diesen Körper einen um 12° niedrigeren Schmelzpunkt an. Charakteristisch für diese Verbindung ist die Stabilität, mit welcher das Bromatom am Benzolkern haftet: erst nach achtzehnstündigem Kochenlassen von 1 Theil Base mit 6·5 Theilen Zinkstaub und 18 Th. Eisessig war kaum  $\frac{1}{4}$  Th. zum  $\beta$ -Methyl-benzimidazol vom Schmelzpunkt 173° entbromt. Von den Salzen des  $\beta$ -Methyl-brombenzimidazols wurden folgende analysiert:

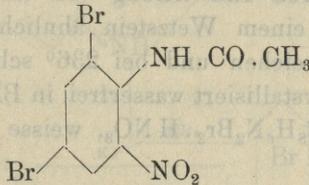
Chlorhydrat  $C_8H_7N_2Br \cdot HCl + 1 aq$ ; dicke Tafeln, in Wasser sehr leicht löslich; schmilzt mit Zersetzung bei 260°.

Nitrat  $C_8H_7N_2Br \cdot HNO_3$ , feine Nadeln, Zersetzung bei 212°; in Wasser schwerer löslich als das Chlorhydrat.

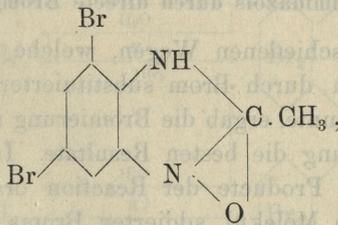
Platinsalz  $[C_8H_7N_2Br]_2 \cdot H_2PtCl_6 + 2 aq$ , orangegelbe Nadeln, Schm. mit Zersetzung 260°, in Wasser leicht löslich.

Goldsalz  $C_8H_7N_2Br \cdot HAuCl_4 + 1 aq$ , gelbe Nadeln, Schmelzpunkt 237°.

Die Reduktion des Dibrom-o-Nitro-p-acetanilids, Schmelzpt. 212°,



ergab in der Regel eine Oxanhydrobase



nur ein einziges Mal wurde das sauerstofffreie Benzimidazol beobachtet.

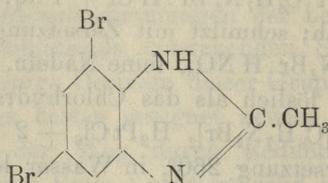
Das  $\beta$ -Methyl-m,a-dibrom-oxbenzimidazol krystallisiert in vierseitigen rhombischen, fast quadratischen Tafeln; es erweicht bei 255° und schmilzt bei 269°. In organischen Solventien sehr schwer löslich. Es bildet ein charakteristisches

Kaliumsalz  $C_8H_5KN_2Br_2O$ , ausserdem ein

Chlorhydrat  $C_8H_6N_2Br_2O \cdot HCl$ , seideglänzende Nadeln; Schmelzpkt. mit Zersetzung; bei  $320^\circ$  erweicht, bei  $350^\circ$  bereits zersetzt; und ein

Nitrat  $C_8H_6N_2Br_2O \cdot 2HNO_3$ , welches merkwürdiger Weise zwei Moleküle Salpetersäure enthält. Blassgelbe Platten, Zersetzungstemperatur  $130-135^\circ$ .

**$\beta$ -Methyl-m, a-dibrombenzimidazol,**

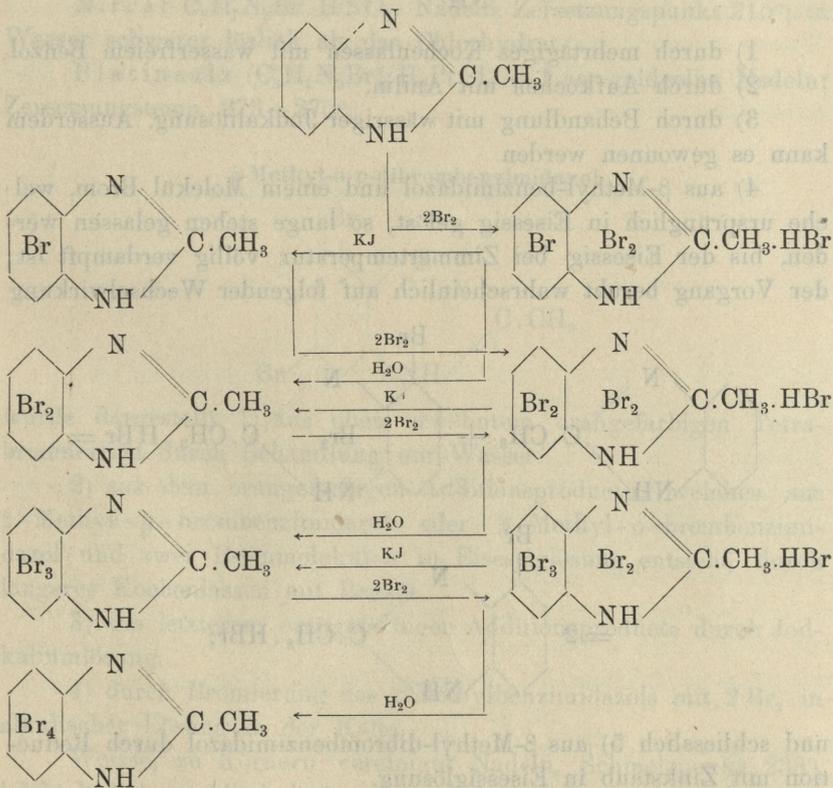


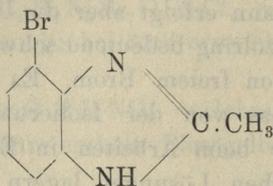
wurde, ausser auf dem üblichen Wege der Reduction der entsprechenden Nitroverbindung hauptsächlich aus der vorhergehenden Oxanhydroverbindung durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid gewonnen. Es bildet einem Wetzstein ähnlich geformte Blättchen, welche bei  $230^\circ$  erweichen und bei  $236^\circ$  schmelzen. Bromhydrat  $C_8H_6N_2Br_2 \cdot HBr$ , krystallisiert wasserfrei in Blättchen. Zersetzungspunkt  $290^\circ$ . Nitrat  $C_8H_6N_2Br_2 \cdot HNO_3$ , weisse Nadeln. Zersetzungspunkt  $194^\circ$ .

**II Abschnitt: Einführung von Brom in den Benzolring des  $\beta$ -Methylbenzimidazols durch directe Bromierung.**

Von den verschiedenen Wegen, welche man zur Darstellung von im Benzolkern durch Brom substituierter  $\beta$ -Methylbenzimidazole einschlagen könnte, ergab die Bromierung in Eisessiglösung und in alkalischer Lösung die besten Resultate. In beiden Fällen entstehen als primäre Producte der Reaction orangegefärbte Verbindungen, welche ein Molekül addierten Broms  $Br_2$  im Imidazolring enthalten. Diese Additionsproducte sind beständig bei Zimmertemperatur und bei Ausschluss von Wasser, verändern sich aber beim Zusammentreffen mit Wasser, wasserhaltigen organischen Lösungsmitteln, Alkalien u. dgl., indem sie meistens auf Kosten des addierten Broms in weisse nunmehr im Benzolring durch Brom substituierte Derivate übergehen. Einen ganz glatten, fast quantitativen

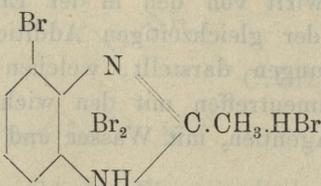
Verlauf haben diese Reactionen bis einschliesslich zum  $\beta$ -Methyl-dibrombenzimidazol, dann erfolgt aber die Übertragung des addierten Broms an den Benzolring bedeutend schwerer, in der Regel unter theilweisem Verlust von freiem Brom. Es erhellt schon aus dem eingangs gesagten, dass von der Isolierung der orangegefärbten Additionsproducte nur beim Arbeiten in Eisessiglösung die Rede sein kann, in alkalischen Lösungen lagern sich diese Verbindungen fast momentan in beständige Substitutionsproducte um. Der besseren Übersicht halber schicken wir der systematischen Beschreibung der dargestellten Verbindungen eine Tabelle voraus, welche ein Bild entwirft von den in der Eisessiglösung stattfindenden Vorgängen der gleichzeitigen Addition und Substitution, sowie die Veränderungen darstellt, welchen die orangefarbenen Körper beim Zusammentreffen mit den wichtigsten hier in Betracht kommenden Agentien, mit Wasser und Jodkali, unterliegen.



$\beta$ -Methyl-o-brombenzimidazol,

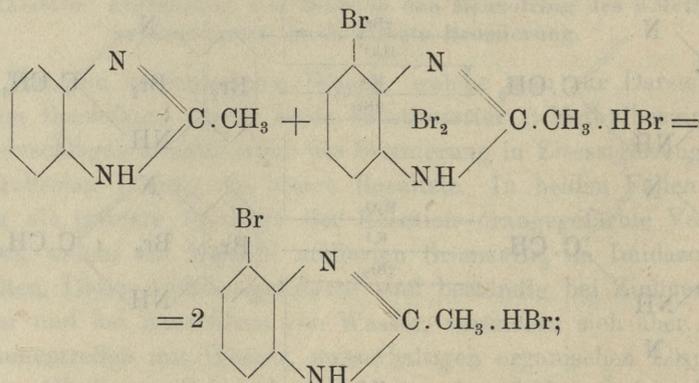
Blättchen, Schmelzpunkt 210—211°.

Es entsteht aus dem orangefarbigen Einwirkungsproduct von 2 Br<sub>2</sub> auf  $\beta$ -Methyl-benzimidazol in Eisessiglösung



- 1) durch mehrtägiges Kochenlassen mit wasserfreiem Benzol.
- 2) durch Aufkochen mit Anilin.
- 3) durch Behandlung mit wässriger Jodkalilösung. Ausserdem kann es gewonnen werden

4) aus  $\beta$ -Methyl-benzimidazol und einem Molekül Brom, welche ursprünglich in Eisessig gelöst, so lange stehen gelassen werden, bis der Eisessig bei Zimmertemperatur völlig verdampft ist; der Vorgang beruht wahrscheinlich auf folgender Wechselwirkung



und schliesslich 5) aus  $\beta$ -Methyl-dibrombenzimidazol durch Reduktion mit Zinkstaub in Eisessiglösung.

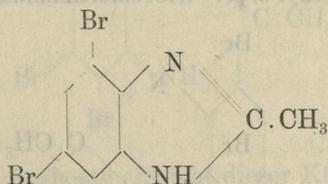
Der Körper ist sehr leicht löslich in Alkohol, Aether und anderen Solventien mit Ausnahme von Benzin; löslich in alkalischen Laugen, bedeutend weniger in Ammoniak, er fällt aus diesen alkalischen Lösungen durch Einleiten von Kohlensäure unverändert aus. Löslich in siedendem Wasser. Derselbe erleidet keine Spaltung des Imidazolringes durch Benzoylchlorid und Natronlauge; behält sein Brom trotz vierstündigen Erhitzens im Rohr auf  $235^{\circ}$  mit frisch gefälltem Silberoxyd, dagegen verliert er es infolge sechsstündigen Kochenlassens mit 6 Theilen Zinkstaub und 18 Theilen Eisessig, indem er in das  $\beta$ -Methylbenzimidazol v. Schm.  $173^{\circ}$  rückverwandelt wird (ein bemerkenswerter Unterschied im Verhalten der isomeren bei  $218^{\circ}$  schmelzenden Verbindung). Von Salzen wurden dargestellt:

Chlorhydrat  $C_8H_7N_2Br \cdot HCl + 1 aq.$  weisse Blättchen. Zersetzungstemperatur  $260$  bis  $285^{\circ}$ . Sehr leicht löslich in Wasser.

Nitrat  $C_8H_7N_2Br \cdot HNO_3$ . Nadeln, Zersetzungspunkt  $215^{\circ}$ ; in Wasser schwerer löslich als das Chlorhydrat.

Platinsalz  $(C_8H_7N_2Br)_2 H_2PtCl_6 + 1 aq.$  goldgelbe Nadeln; Zersetzungstemp.  $273-275^{\circ}$ .

$\beta$ -Methyl-o, p-dibrombenzimidazol,



wurde dargestellt 1) aus oben erwähntem orangefarbigen Tetra-bromderivat durch Behandlung mit Wasser.

2) aus dem orangefarbigen Additionsproducte, welches aus  $\beta$ -Methyl-p-brombenzimidazol oder  $\beta$ -Methyl-o-brombenzimidazol und zwei Brommolekülen in Eisessiglösung entsteht, durch längeres Kochenlassen mit Benzol.

3) aus letzterem orangefarbigem Additionsproducte durch Jodkaliumlösung.

4) durch Bromierung des  $\beta$ -Methylbenzimidazols mit  $2 Br_2$  in alkalischer Lösung in der Kälte.

Weisse, zu Körnern vereinigte Nadeln, Schmelzpunkt  $238^{\circ}$ , leicht löslich in Alkohol, Aceton und drgl., sehr schwer in Aether,

praktisch unlöslich in Benzin, Wasser und Ammoniak; löslich in alkalischen Laugen, daraus fällbar durch Kohlensäure. Durch Zinkstaub in Eisessiglösung geht es in das Methyl-o-brombenzimidazol über, was insoferne bemerkenswert ist, als bekanntlich von beiden isomeren Monobromderivaten das in o-Stellung bromierte minder beständig ist; es wird also aus dem Dibrombenzimidazol gerade dasjenige Bromatom entfernt, welches im Monobrombenzimidazol fester sitzt. Gegen Einwirkung von Benzoylchlorid in alkalischen Lösungen ist der Körper unempfindlich.

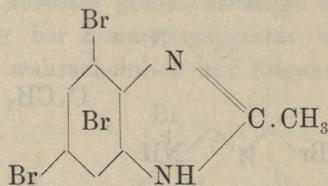
Chlorhydrat  $C_8H_6N_2Br_2 \cdot HCl$ . Weisse Nadeln, welche in Wasser schwerer löslich sind als das Bromhydrat und das Chlorhydrat des bei  $211^\circ$  schmelzenden Monobromderivates.

Bromhydrat  $C_8H_6N_2Br_2 \cdot HBr + 3 aq$ , weisse Nadeln, mässig löslich im heissen Wasser, Zersetzungspunkt  $265^\circ$ .

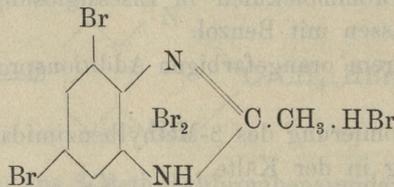
Nitrat  $C_8H_6N_2Br_2 \cdot 2HNO_3$ , bemerkenswert wegen des Gehalts von 2 Molekülen Salpetersäure; längliche weisse Platten, in Wasser minder löslich als das Bromhydrat; Zersetzungspunkt  $300^\circ$ .

Platinsalz  $(C_8H_6N_2Br_2)_2 H_2PtCl_6$ , gelbe Nadeln, die bis  $300^\circ$  unverändert bleiben.

$\beta$ -Methyl-o. p. ? - tribrombenzimidazol,



entsteht 1) in schlechter Ausbeute (wegen theilweiser Bromentwicklung) neben  $\beta$ -Methyldibrombenzimidazol aus dem orangefarbenen Bromhydrat des Dibrom- $\beta$ -methyl-dibrombenzimidazols



durch Behandeln mit heissem Wasser;

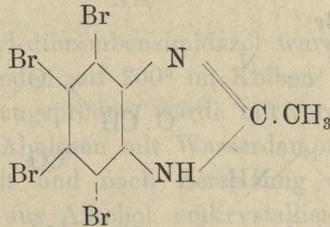
2) in besserer Ausbeute aus  $\beta$ -Methyl-o,p-dibrombenzimidazol durch Bromierung in alkalischer Lösung mit einem Brommolekül in der Wärme.

Weisse, körnige Kryställchen, die sich unter dem Mikroskop zu schön ausgebildeten Säulen auflösen. Es erweicht bei  $273^{\circ}$ , völlig geschmolzen ist es erst bei  $278^{\circ}$ . Mässig löslich in heissem Alkohol, besser in Aceton, sehr schwer löslich in Aether; praktisch unlöslich in Wasser, löslich in Alkalilauge, daraus fällbar durch Kohlensäure. Durch achtstündiges Kochenlassen von 5 g. dieser Verbindung mit 18 g. Zinkstaub und 50 g. Eisessig wurde reines  $\beta$ -Methyl-o-brombenzimidazol erhalten.

Chlorhydrat  $C_8H_5N_2Br_3 \cdot HCl + 1 aq$ , weisse glänzende Nadeln, schwer löslich in Wasser. Bei  $260^{\circ}$  färbt sich das Salz dunkel und schmilzt mit Zersetzung bei  $280^{\circ}$ .

Nitrat  $C_8H_5N_2Br_3 \cdot HNO_3$ , weisse Nadeln. Schmelzpunkt bei  $313^{\circ}$ . Sehr schwer löslich in Wasser.

$\beta$ -Methyl-o, m, p, a-tetrabrombenzimidazol.



In schlechter Ausbeute entsteht dieser Körper aus dem orangegefärbten nicht analysierten Additionsproducte, welches durch Einwirkung von fünf Brommolekülen  $5 Br_2$  auf  $\beta$ -Methyl-tribrombenzimidazol in der Temperatur des kochenden Wasserbades in Eisessiglösung dargestellt wurde, durch Aufkochen mit Wasser neben dem zurückgebildeten  $\beta$ -Methyl-tribrombenzimidazol. Bedeutend reiner und in besserer Ausbeute lässt sich der Körper durch erschöpfende Bromierung in alkoholischer Lösung darstellen, ausgehend von einem beliebigen niedriger bromierten Derivate, ja sogar durch Bromieren des bromfreien Methylbenzimidazols, natürlich unter Anwendung entsprechender Quantitäten von Brom.

In sämtlichen organischen Solventien sehr schwer löslich oder unlöslich; kann noch am besten aus Eisessig umkrystallisiert

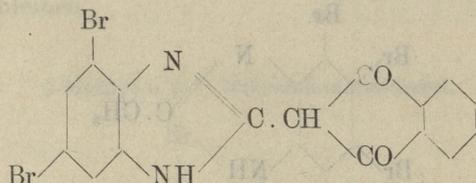
werden; es bildet weisse, lebhaft glänzende, grob krystallinische Körner vom Schmelzpunkt 317°. Unlöslich in Wasser; löslich in Alkalilaugen, daraus durch Kohlensäure fällbar.

Chlorhydrat  $C_8H_4N_2Br_4 \cdot HCl$ , weisse Nadeln, sehr schwer löslich in Wasser, es färbt sich dunkel bei 260°, schmilzt unter Zersetzung bei 278—280°.

Nitrat  $C_8H_4N_2Br_4 \cdot HNO_3$ , weisse Nadeln; schmilzt ohne Zersetzung bei 313°.

Zur Entscheidung der Frage, ob in den beschriebenen Mono-, Di-, Tri- und Tetra-bromderivaten des  $\beta$ -Methylbenzimidazols die sämtlichen Bromatome faktisch, wie oben angenommen wurde, im Benzolring enthalten sind, wurden aus  $\beta$ -Methyl-o-p-dibrombenzimidazol und aus  $\beta$ -Methyltetrabrombenzimidazol die Phtalone und Benzylidenderivate dargestellt und schliesslich wurden noch die letzteren zu methylfreien Verbindungen, nämlich zum Dibrom- und Tetra-brombenzimidazol oxydiert.

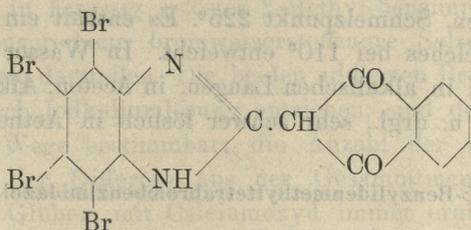
Phtalon des  $\beta$ -Methyl-o-p-dibrombenzimidazols,



Ein inniges Gemisch von 2 gr. Methyl-dibrombenzimidazol und 3 gr. Phtalsäureanhydrid wurde auf 250° zwei Stunden lang im Kolben erhitzt und die resultierende Schmelze mehrere Male mit 30% Essigsäure ausgekocht.

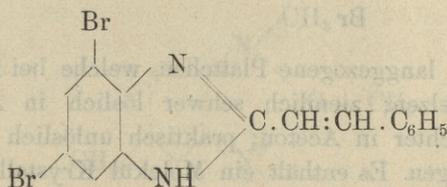
Der Rückstand schmolz noch nicht bei 370°; war unlöslich in den meisten organischen Solventien, äusserst schwer löslich in Eisessig und Nitrobenzol; er bestand aus orangegelben, mikroskopischen Nadeln und Plättchen und ergab, nachdem er noch mit Eisessig ausgekocht ward, für obiges Phtalon richtige Analysenresultate. In Laugen unlöslich, färbt es sich jedoch infolge der Salzbildung oberflächlich roth. In heisser concentrirter Schwefelsäure mit röthlicher Farbe löslich, wird es daraus unverändert durch Wasser in gelben Flocken ausgefällt.

**Phtalon des  $\beta$ -Methyltetrabrombenzimidazols,**



Die Darstellung und die Eigenschaften dieser Verbindung sind gleich denen der vorhergehenden. Schmelzpunkt ca.  $270^{\circ}$  unter Schwärzung.

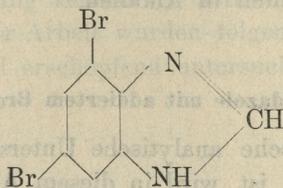
**$\beta$ -Benzylidenmethyl-dibrombenzimidazol,**



5 gr.  $\beta$ -Methyl-dibrombenzimidazol wurden mit 2.25 gr. Benzaldehyd zwei Stunden auf  $200^{\circ}$  im Kolben unterm Kühlrohr erhitzt. Das Einwirkungsproduct wurde mit verdünnter Salzsäure aufgenommen, durch Abblasen mit Wasserdampf vom überschüssigen Benzaldehyd befreit und nach Zersetzung des salzsauren Salzes durch Ammoniak aus Alkohol umkrystallisiert. Es erweicht bei  $182^{\circ}$ , schmilzt bei  $186^{\circ}$ . Hellgelbe Nadeln, welche ein halbes Molekül Krystallwasser enthalten; löslich in Alkohol, Aether, Aceton und Benzol, sehr schwer löslich in Benzin; unlöslich in Wasser, Laugen und verdünnten Säuren.

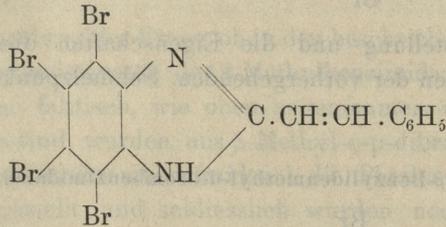
Mit Kaliumpermanganat oxydiert ergiebt dieser Körper direct das

**o-p-Dibrombenzimidazol,**



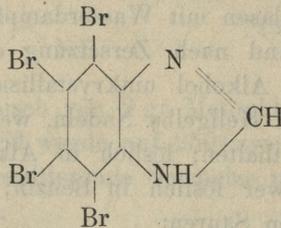
Ausbeute 44.5% der theoretisch berechneten. Mikroskopische weiße Plättchen. Schmelzpunkt 225°. Es enthält ein Molekül Krystallwasser, welches bei 110° entweicht. In Wasser praktisch unlöslich. Löslich in alkalischen Laugen, in Aceton, Alkohol, verdünnter Essigsäure u. dgl., sehr schwer löslich in Aether.

**β-Benzylidenmethyltetrabrombenzimidazol,**



Hellgelbe, langgezogene Plättchen, welche bei 240° erweichen, bei 246° schmelzen; ziemlich schwer löslich in Alkohol, Aether und Benzol, leichter in Aceton; praktisch unlöslich in Wasser und alkalischen Laugen. Es enthält ein Molekül Krystallwasser, welches bei 110° entweicht. Mit Kaliumpermanganat oxydiert ergibt es

**Tetrabrombenzimidazol,**

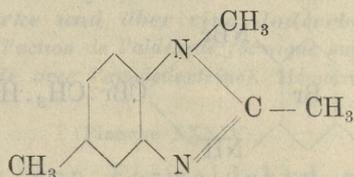


Mikroskopische, hellgelbe Säulen vom Schmelzpunkt 339°. Löslich in Essigsäure und Aceton, schwer löslich in Alkohol und Benzol, nur in Spuren löslich in Aether. Unlöslich in Wasser und verdünnten Säuren, löslich in Alkalien.

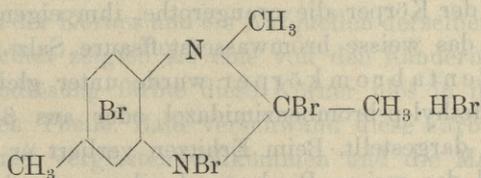
**III Abschnitt: Benzimidazole mit addiertem Brom im Imidazolring.**

Durch systematische analytische Untersuchung, deren kurze Wiedergabe unmöglich ist, wird in diesem Abschnitte der Beweis

erbracht, dass die orangeroth gefärbten ersten Einwirkungsproducte von Brom auf in Eisessig gelöstes  $\beta$ -Methyl-benzimidazol und dessen Substitutionsproducte bromwasserstoffsäure Salze der Dibromadditionsproducte darstellen. Die beiden addierten Bromatome lassen sich leicht durch Jodkaliumlösung entziehen, sind demnach auf jodometrischem Wege bestimmbar; die Anzahl der übrigen Bromatome gleicht der Differenz aus der Gesamtmenge von Brom, welche durch Glühen mit Calciumoxyd immer eruiert wurde und der jodometrisch gefundenen Zahl. Eine äusserst willkommene Stütze für ihre Auffassung der Constitution der orangegefärbten Verbindungen gewannen die Verfasser in der Analyse eines von Niewentowski vor fünfzehn Jahren dargestellten Dibromproductes, welches vom 2,  $\beta$ ,  $\gamma$ , -Trimethylbenzimidazol

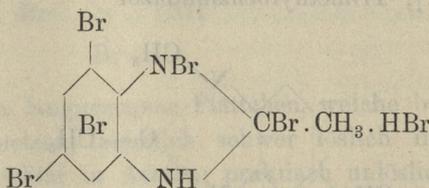
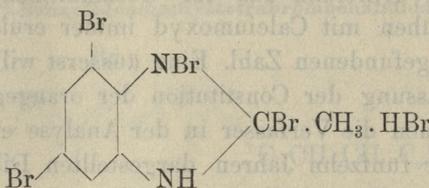
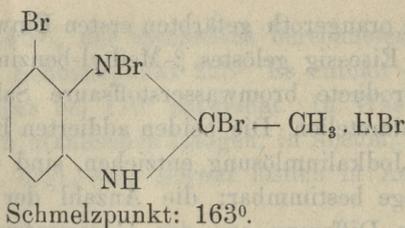


derivirte. Dieses enthielt nach der gegenwärtig ausgeführten jodometrischen Bestimmung zwei addierte Bromatome, es muss also folgende Constitution besitzen



Das Ergebnis der Analyse ist noch insofern bemerkenswert, als es schlagend die Beständigkeit der orangerothenen Additionsproducte in der trocknen Atmosphäre darthut und weiter beweist, dass zur Bildung dieser Additionsproducte die Anwesenheit der Imidgruppe im Imidazolring keineswegs nothwendig ist.

Im Laufe dieser Arbeit wurden folgende Dibromadditionsproducte dargestellt und erschöpfend untersucht:



Der Tetrabromkörper wird am besten dargestellt durch Eintragen von zwei Molekülen Brom ( $2 \text{ Br}_2$ ) in kalte eisessigsäure Lösung von 1 Molekül Benzimidazol. Es bildet orangegefärbte derbe Kryställchen vom Schmelzpunkt  $163^\circ$ ; bei langsamen Erhitzen verliert der Körper die orangerothe, ihm eigenthümliche Farbe und geht in das weisse bromwasserstoffsäure Salz über.

Der Pentabromkörper wurde unter gleichen Bedingungen aus  $\beta$ -Methyl-p-brombenzimidazol oder aus  $\beta$ -Methyl-o-brombenzimidazol dargestellt. Beim Erhitzen verliert er die orangerothe Färbung und das weisse Product schmilzt noch nicht bei  $270^\circ$ .

Der Hexabromkörper kann nur aus dem  $\beta$ -Methyl-tri-brombenzimidazol durch Bromeinwirkung in der Temperatur des kochenden Wasserbades dargestellt werden.

Alle drei hier aufgeführten Dibromadditionsproducte verlieren das addierte Brom in feuchter Atmosphäre, besonders rasch in directem Sonnenlichte, beim Behandeln mit Alkalien, Kochenlassen in alkoholischer oder benzolischer Suspension u. drgl. Selbstverständlich wird das addierte Brom auch beim Kochenlassen der wässrigen Suspensionen aus dem Imidazolringe eliminiert. Wie schon aus dem im II-ten Abschnitte mitgetheilten, und besonders aus der dort

angegebenen tabellarischen Zusammenstellung zu ersehen ist, erfolgt unter dem Einfluss von Wasser bis einschliesslich zum  $\beta$ -Methyl-dibrombenzimidazol glatt eine Substitution der Wasserstoffatome des Benzolkernes auf Kosten des addierten Broms; beim hexabromierten Körper ist eine derartige Umwandlung durch Wasser quantitativ nicht mehr erreichbar, sie gelingt nur unvollkommen. Durch Jodkalium, Benzol und Anilin werden die addierten Bromatome glatt aus dem Molekül entfernt.

50. M. VICTOR SYNIEWSKI. O działaniu formaldehydu na skrobię i o połączeniu jodu z amylodekstryną. (*Ueber die Einwirkung von Formaldehyd auf Stärke und über eine Jodverbindung des Amylodextrins*). (*Sur l'action de l'aldéhyde formique sur l'amidon et sur une combinaison de l'iode avec l'amyloextrine*). Mémoire présenté par M. St. Niementowski m. c.

(Planche XXXIV)

Einwirkung von Formaldehyd auf Kartoffelstärke. Es wurden 20 gr. reiner Kartoffelstärke in einem Kolben mit 100 cc. käuflicher Formaldehydlösung (von 40%) übergossen und stehen gelassen. Nach drei Tagen begannen die Stärkekörner ihr Aussehen zu ändern. Beim Aufwirbeln sah man ein deutliches Zusammenkleben der Körner und ein Aufquellen derselben; unter dem Mikroskop betrachtet zeigten sie eine von den Rändern ausgehende „Verglasung“. Jodlösung färbte diese Körner blos in ihrem mittleren unveränderten Theile. Bald verschwand diese Färbbarkeit vollständig, die Körner verglasten vollkommen und die Masse im Kolben quoll zu einer zusammenhängenden Gallerte auf. Die Gallerte wurde nach einiger Zeit dünner und es wurden dann noch weitere 100 cc. Formaldehydlösung hinzugegeben. Nach im ganzen zweimonatlicher Einwirkung war die Masse fast so dünnflüssig, wie es eine rein wässerige sogen. Stärkelösung von derselben Concentration wäre. Die Lösung war opalescent und diese Eigenschaft verschwand auch nach weiterer vierwöchentlicher Einwirkung nicht. Sie liess sich auch durch ein Vacuumfilter sehr schwer filtrieren und gab mit Jod keine Färbung.

Die Stärke war hier offenbar irgend eine Verbindung mit dem Formaldehyd eingegangen, da sie die charakteristische Jod-

reaction verloren hatte. Zuvor hatte ich mich nämlich überzeugt, dass eine mit Formaldehyd versetzte Stärkelösung gleich nach dem Zusammenmischen, also bevor eine Verbindung eintreten konnte, sich in der bekannten Weise mit Jod färbte, es also ausgeschlossen war, dass die blosse Anwesenheit von Formaldehyd die Jodfärbung verhinderte.

Verbindungen von Formaldehyd mit Stärke wurden von Claassen<sup>1)</sup> dargestellt. Eine derartige Verbindung, von ihm Amyloform benannt, soll auf 1 Mol. Stärke ( $C_6H_{10}O_5$ ) 1 Mol. Formaldehyd enthalten, sehr beständig sein, so dass sie bis  $180^\circ$  erhitzt werden kann, ohne Zersetzung zu erleiden, mit Jod eine blaue Färbung geben und amorph sein. Die von mir erhaltene Verbindung von Stärke und Formaldehyd ist von der Claassen'schen durchaus verschieden. Sie kann nicht bis  $180^\circ$  erhitzt werden, ohne eine Zersetzung zu erleiden, gibt mit Jod überhaupt keine Färbung und ist nicht amorph. Über ihre Zusammensetzung kann ich mich nicht bestimmt aussprechen, sondern blos Vermuthungen anführen, die sich freilich auf gewisse Thatsachen stützen. Eine Lösung von Stärke in Formaldehyd trocknet beim langsamen Verdunsten schliesslich krystallinisch ein, ohne sich vorher in einen festen und einen flüssigen Theil getrennt zu haben, so dass man die festen Krystalle von der überschüssigen Formaldehydlösung nicht trennen konnte. Beim Erhitzen der Masse auf  $105^\circ$  verflüchtigt sich das Formaldehyd nach einiger Zeit vollständig und die zurückbleibende Substanz färbt sich mit Jod rein blau.

Mit viel Wasser verdünnt erleidet der durch Lösung von Stärke in Formaldehyd erhaltene Körper nach und nach eine Zersetzung. Diese Zersetzung geht äusserst rasch vor sich, wenn man die Lösung mit etwas Säure versetzt. Charakteristisch ist hiebei die Erscheinung, dass mit dem Fortschreiten dieser Zersetzung die Färbbarkeit mit Jod wiederkehrt und hiebei eine ganze Farbenscala vom schwachen Braun über Braun, Rothbraun, Roth, Violett bis zum reinen Indigoblau durchlaufen wird.

Diese Zersetzung des obigen Körpers ist der hydrolytischen Wirkung des Wassers auf andere Körper analog. Es unterliegt des-

<sup>1)</sup> Chem. Centr. Bl. 1897. I. 395.

ibid. 1897. I. 939.

ibid. 1897. II. 456.

ibid. 1899. I. 160.

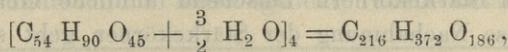
halb, glaube ich, keinem Zweifel, dass der hier stattfindende Zersetzungsprocess eine Hydrolyse ist.

Aus einer derart zersetzten Lösung der Formaldehydverbindung der Stärke lässt sich durch Alkohol ein nach dem Trocknen weisser, in kaltem Wasser wenig, in heissem vollkommen löslicher Körper fällen. Seine wässerige, etwas opalisierende Lösung unterscheidet sich sonst durch nichts von einer Amylodextrinlösung.

Die Elementaranalyse dieser Substanz ergab folgende Resultate:

$$C = 43.71; 43.54. \quad H = 6.30; 6.37.$$

Dieselben entsprechen der Formel des von mir beschriebenen Amylodextrins<sup>1)</sup>:



welche  $C = 43.63$  und  $H = 6.26$  verlangt.

Wenn auch aus einigen geringen Unterschieden, wie der schwierigeren Lösung in kaltem Wasser und der Opalescenz dieser Lösungen der Verdacht geschöpft werden kann, dass dieser Körper mit Amylodextrin nicht vollkommen identisch ist, so geht aus der Analyse doch das eine ganz sicher hervor, dass nämlich diese Substanz ein hydrolytisches Zersetzungsproduct der Stärke ist.

Formaldehyd wirkt also in concentrirter Lösung auf Stärke hydrolytisch ein, und zwar ist dieser Process eine Carbinolhydrolyse, da die entstandene Substanz Fehling'sche Lösung nicht reducirt.

Mit diesem carbinolhydrolytischen, sehr wahrscheinlich mit Amylodextrin identischen Product geht Formaldehyd eine Verbindung ein, die äusserst leicht hydrolysierbar ist.

Diese Verbindung kann direct aus Amylodextrin erhalten werden. Wenn man Amylodextrin in Formaldehyd einträgt, so löst es sich fast so leicht wie Zucker auf und geht hiebei mit dem Lösungsmittel eine Verbindung ein. Anfangs färbt sich die Lösung mit Jod noch tiefblau, bald aber beginnt sich die Färbung mit Jod zu ändern. Die Lösung färbt sich mit Jod violett, dann roth, rothbraun, braun und schliesslich verschwindet die Färbbarkeit voll-

<sup>1)</sup> Siehe die folgende Abhandlung.

kommen. Wenn man mit Wasser verdünnt oder mit Säure versetzt, so vollzieht sich die oben beschriebene Hydrolyse und die Färbungen mit Jod laufen dieselbe Farbenscala in entgegengesetzter Richtung durch.

Wenn man einen Tropfen der Lösung von Amylodextrin in Formaldehyd auf einem Objectträger mit einem Deckgläschen bedeckt unter das Mikroskop bringt, so kann man bereits nach einigen Stunden den Beginn der Krystallisation bemerken. Nadelförmige Krystalle schiessen anfangs zu sternförmig gruppierten Büscheln an; mit der Zeit aber werden diese Büschel von regelmässig concentrisch gelagerten Schichten, gegen den Mittelpunkt gerichteter, äusserst feiner Nadelchen umgeben, welche dann unter dem Mikroskope den Stärkekörnern täuschend ähnliche Gebilde hervorbringen. Diese Nachahmung der Stärkekörner geht so weit, dass man auch zusammengesetzte Körner entstehen sieht. Alle diese Körner sind aus doppelbrechenden Nadelchen zusammengesetzt und zeigen im polarisierten Lichte prachtvoll das bei den Stärkekörnern bekannte dunkle Kreuz.

Die beigegebene Tafel (XXXIV) bringt photographische Abbildungen von solchen aus Krystallnadeln zusammengesetzten Körnern.

Fig. 1 und 2 sind Abbildungen von Körnern im gewöhnlichen Licht; sie zeigen deutlich die sogen. Schichtung. Fig. 3 stellt eine Abbildung der Körner im polarisierten Licht dar.

Über die Einwirkung von Jod auf Amylodextrin. Das aus Kartoffelstärke erhaltliche Amylodextrin gibt mit Jodjodkaliumlösung die allbekannte schöne blaue Färbung. Über das Wesen dieser Erscheinung ist viel herumgestritten worden. Die einen haben die Färbung einer einfachen Lösung von Jod in Stärke zugeschrieben, andere sahen sie als die natürliche Farbe einer chem. Verbindung von Jod mit Stärke an.

Über die Zusammensetzung dieser Jodstärke haben F. Mylius<sup>1)</sup>, F. Seyferth<sup>2)</sup>, C. Meinecke<sup>3)</sup> und F. Rouvier<sup>4)</sup> grössere Arbeiten veröffentlicht. Völlige Übereinstimmung gibt es bei diesen Autoren nicht; aus ihren Arbeiten scheint aber das eine

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., 20, p. 688.

<sup>2)</sup> Ztschr. f. ang. Ch., 1888, p. 18.

<sup>3)</sup> Chem. Ztg., 18., p. 157.

<sup>4)</sup> C. rendus, 117., p. 461.

mit Bestimmtheit hervorzugehen, dass die sog. Jodstärke etwa 20% Jod enthält.

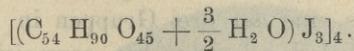
Im Verlaufe meiner Versuche über das durch Formaldehyd aus Stärke erhaltliche Amylodextrin bin ich dazu gekommen zu untersuchen, ob der aus Amylodextrin und Jod erhaltliche in Kochsalzlösung unlösliche Niederschlag eine bestimmte Menge Jod enthält, ob er also als eine chem. Verbindung anzusehen sei.

Es wurde eine bestimmte Menge Amylodextrinlösung mit einem Überschuss von Jodlösung versetzt und nach dem Abcentrifugieren des Niederschlages das nicht verbrauchte Jod in der Lösung bestimmt, mittelbar also auch in Erfahrung gebracht, wie viel Jod in den Niederschlag überging.

Die Resultate sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

Nr.	Menge von Amylodextrin	Hinzugegebene Jodmenge	Jodmenge in der Lösung	Jodmenge im Niederschlag	100 Th. Amylodextrin verbrauchten Th. Jod
1	0,1788	0,061815	0,028847	0,032968	18,39
2	0,1788	0,206050	0,161749	0,044301	24,77
3	0,0894	0,103025	0,081275	0,021750	24,32
4	0,1070	0,312166	0,284349	0,027817	25,07
5	0,1070	0,830360	0,803595	0,026765	25,01

Aus den Jodbestimmungen ersieht man, dass der aus Jod und Amylodextrin erhaltene Niederschlag eine constante Zusammensetzung hat, sofern Jod in einem gewissen Überschuss vorhanden ist; dass dieser Niederschlag also als eine bestimmte chem. Verbindung anzusehen sei. Ich lege demselben nachstehende Formel bei:



Um eine Verbindung von dieser Formel zu geben, müssen 100 Th. Amylodextrin 25,8 Th. Jod binden; meine Bestimmungen haben ziemlich nahegelegene Zahlen ergeben.

Diese Verbindung sollte theoretisch 20,50% Jod enthalten. Ich habe die Zahlen 19,90 und 19,87 erhalten, während Mylius 19,69, Rouvier 19,6, Seyferth 18,56 und Harz<sup>1)</sup> 20,86% Jod gefunden haben.

<sup>1)</sup> Apoth. Ztg. 1893, p. 260. Nach Duclaux *Traité de Microb.* 1899, II. p. 395.

Aus obiger Formel des Jodamyloextrins, welche einen neuen Beweis für die von mir aufgestellte Formel des Amyloextrins und der Stärke liefert<sup>1)</sup>, folgt, dass die Substanz auf jeden Amylogenrest 3 Atome Jod enthält, dass dann auf jede der drei Gruppen ( $C_{18}$ ) dieses Restes ein Atom Jod entfällt.

Wenn man die von mir aufgestellte Formel des Amylogenrestes hier zu Rathe zieht, so wirft sich gleich die Vermuthung auf, dass das Jod an den 3 endständigen primären Alkoholgruppen —  $CH_2OH$  gebunden wird. Diese Vermuthung wird fast zur Gewissheit, wenn man bedenkt, dass die Verbindung von Amylogen mit  $BaO$  von Jodlösung nicht gefärbt wird.  $BaO$  wird nämlich unzweifelhaft von der Gruppe —  $CH_2OH$  gebunden und diese ist dann eben nicht im Stande die gefärbte Verbindung mit Jod einzugehen.

Aus dem Obengesagten folgt mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass das Formaldehydamyloextrin, welches mit Jod keine Färbung gibt, das Formaldehyd an den primären Alkoholgruppen gebunden enthält. Vollkommen erklärlich wird dann auch die Erscheinung der Farbenänderung während der Hydrolyse der mit Jod versetzten Lösung. Das Formaldehydamyloextrin enthält nämlich an den drei Gruppen —  $CH_2OH$  eines jeden Amylogenrestes auf irgend eine Art Formaldehyd gebunden, kann deshalb das Jod nicht mehr binden, mit ihm also keine Färbung geben. In dem Maasse jedoch als durch hydrolytische Abspaltung des Formaldehyds die einzelnen Gruppen —  $CH_2OH$  frei werden, binden sie Jod und geben gefärbte Verbindungen.

Ich nehme an, dass eine derartige Verbindung in der Lösung braun ist, wenn bloss eine der drei Gruppen in den Amylogenresten frei wurde und Jod gebunden hat, carmoisinroth, wenn zwei dieser Gruppen in jedem Amylogenrest Jod gebunden haben und schliesslich blau, wenn alle drei Gruppen Jod addieren, also das Jodamyloextrin geben konnten.

Diese meine Annahme gründe ich auf die Thatsache, dass Amyloextrin während der diastatischen Hydrolyse ebenfalls mit Jod eine stete Farbenänderung zeigt.

Ich habe in meiner ersten Abhandlung über die Constitution

<sup>1)</sup> Siehe die folgende Abhandlung.

Fig. 1.

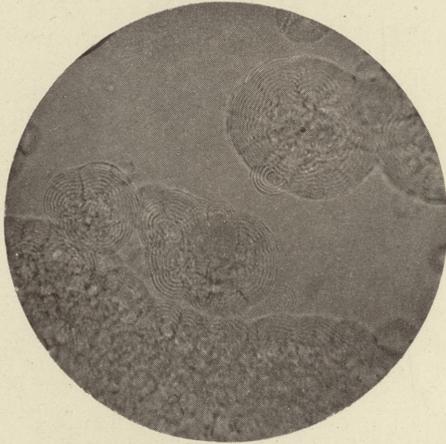


Fig. 2.

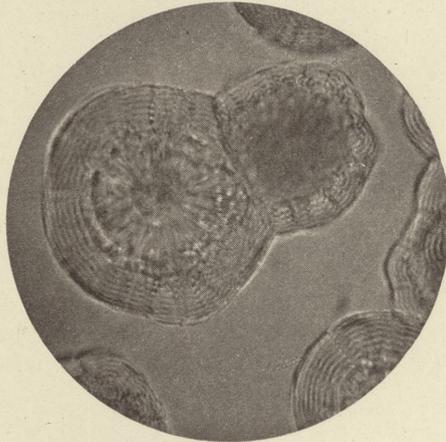
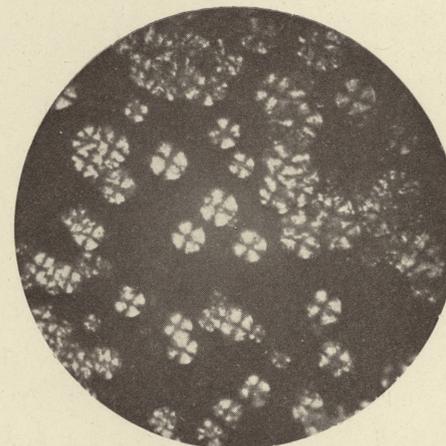


Fig. 3.



W. Syniewski.



der Stärke gezeigt<sup>1)</sup>, dass die von mir damals als typische Dextrine I u. II bezeichneten Substanzen, die sich in Lösung mit Jod carmoisinroth, resp. braun färben, aus Amylogenresten bestehen, aus denen bereits ein resp. zwei Maltosereste abgespalten wurden. Wie aus der Formel des Amylogenrestes zu ersehen ist, sind es eben diese Maltosereste in ihm, welche die endständige Gruppe — CH<sub>2</sub> OH enthalten. Wenn also ein Maltoserest abgespalten wird, so verschwindet auch eine primäre Alkoholgruppe aus dem Amylogenreste, diese eben, von welcher ich annehme, dass sie Jod bindet, und durch successive Abspaltung erklärt sich die Farbenänderung während der diastatischen Hydrolyse.

---

51. M. VICTOR SYNIEWSKI. O budowie skrobi. (*Sur la constitution de l'amidon*). Mémoire présenté par M. St. Niementowski m. c.

**Action d'un extrait chauffé de malt sur une solution d'amidon.**

J'ai espéré obtenir l'amylogène en traitant la fécule par un extrait chauffé de malt lequel, comme on l'admet généralement dans la pratique des industries de fermentation, n'exerce aucune autre influence sur l'empois d'amidon que de le liquéfier. Dans ce but, j'ai entrepris des recherches sur l'action d'un extrait de malt chauffé préalablement à 78°.

On prépare une solution d'amidon en chauffant de l'empois de fécule pendant 12 heures à 140° à l'autoclave. On détermine la teneur en carbone d'un volume connu de cette solution et, en se servant du chiffre obtenu, on calcule ensuite la teneur en amidon, évaluée en amylogène.

L'hydrolyse du corps en solution est faite à la température ordinaire. De temps à autre, on dose par pesée le maltose apparent qui se forme dans la solution saccharifiée. On obtient ainsi les résultats suivants :

(Voir la table à la page 442).

On déduit de ces chiffres qu'il s'effectue ici un processus chimique qui cesse après l'apparition de 30 à 31 p. 100 de maltose apparent, formé aux dépens de l'amylogène. On a constaté au pola-

<sup>1)</sup> Lieb. Ann. 309, p. 307.

Durée de l'hydrolyse	Pour-cent du corps réducteur formé aux dépens de l'amylogène et calculé en maltose	Coloration par l'iode
1 minute		
10 minutes		
30 "		
60 "		
2 heures		
4 "		
7 "		
24 "		Bleu pur.
48 "		{ Avec une petite quantité d'iode, violette; avec une plus grande quantité, rouge.
72 "	15.12	Rouge.
96 "	19.21	Rouge brunâtre.
120 "	25.32	idem.
168 "	27.81	Coloration faible.
192 "	29.45	Traces de coloration.
216 "	30.72	Aucune coloration.
240 "	31.33	
672 "	35.80	
1824 "	46.93	
2832 "	50.12	

rimètre que l'amylogène avait dans cette solution, au début de l'expérience, le pouvoir rotatoire  $[\alpha]^{20}_D = 193^{\circ}12'$ . Après 216 heures, c'est-à-dire à la fin de cette phase de l'hydrolyse, la substance dissoute avait le pouvoir rotatoire  $[\alpha]^{20}_D = 179^{\circ}48'$ .

Une partie de la solution hydrolysée fut soumise à une nouvelle hydrolyse au moyen d'un extrait frais de malt. Le maltose ainsi obtenu fut dosé par la liqueur de Fehling. On a trouvé les résultats suivants :

(Voir la table à la page 443).

Il résulte de ces chiffres que la solution qui contenait au début 30,71 p. c. de maltose apparent formé aux dépens de l'amylogène fut saccharifiée très rapidement par l'infusion fraîche de malt jusqu'à ce qu'il se soit formé aux dépens de la substance dissoute

Durée de l'hydrolyse	Maltose en p. 100 d'amylogène
1 heure	71.31
2 heures	72.97
4 "	75.39
18 "	88.13
48 "	92.36
96 "	93.05

primitive 92 p. 100 de maltose apparent. A partir de ce moment-là, la saccharification devint très lente.

Cette hydrolyse, partagée en deux phases, a été effectuée à plusieurs reprises; on obtenait toujours les mêmes résultats.

De ces recherches nous concluons que l'amidon a subi une décomposition totale au moment de l'apparition de 30 à 31 p. 100 de maltose apparent formé aux dépens de l'amylogène.

Cette solution ne donne que de très petites quantités de glucosazone et de maltosazone; il résulte de ce fait qu'il n'y a pas eu production de sucre, le corps obtenu étant évidemment une dextrine. Je l'ai nommé dextrine-limite II, en réservant la dénomination dextrine-limite I pour la dextrine résistante, décrite déjà dans mon premier mémoire<sup>1)</sup>.

On peut isoler la dextrine-limite II d'une solution saccharifiée par l'extrait chauffé de malt en employant de l'alcool comme réactif précipitant. Cette dextrine se trouve dans la fraction du précipité soluble dans l'alcool à 80—85° Tr. Le rendement de la dextrine brute est très fort; j'ai obtenu dans un cas 97 p. 100 de l'amidon traité.

La dextrine-limite II est une poudre d'un jaune pâle, amorphe, un peu douce, contenant des cendres. Elle est soluble assez aisément dans l'alcool bouillant à 80° Tr; dans l'alcool à 90° Tr, elle n'entre pas en solution. On n'a pas réussi à obtenir cette substance à l'état cristallin. Le pouvoir rotatoire est  $[\alpha]_D^{20} = 179^{\circ}36'$ , le pouvoir réducteur  $R = 30.0$  p. c. de  $R_{\text{maltose}}$ . La détermination cryoscopique fournit le nombre 1039 comme poids moléculaire.

<sup>1)</sup> Lieb. Ann. Bd. 309, p. 301.

L'analyse élémentaire a donné :

$$C = 43.31 - 43.70 \quad H = 6.38 - 6.43.$$

Ces nombres s'accordent avec la formule brute  $C_{36}H_{62}O_{31}$  qui exige pour  $C = 43.63$ , pour  $H = 6.26$  et 990 pour poids moléculaire.

Un extrait frais de malt saccharifie très rapidement la dextrine limite II. Après une action de 25 heures on a obtenu comme résultat de cette saccharification 95,31 p. 100 de maltose.

Si l'on compare le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur de la dextrine-limite II pure avec le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur ( $[\alpha]_D^{20} = 179.48'$  et  $R = 30$  à 31 p. 100 de  $R_{\text{maltose}}$ ) de la solution d'amidon hydrolysée par l'extrait chauffé de malt et si l'on prend aussi en considération la réaction de l'extrait frais de malt sur la dextrine et sur cette solution, il faut conclure que l'amidon se transforme intégralement pendant cette hydrolyse en dextrine-limite II.

Il est sûr que ma dextrine-limite II est identique avec la maltodextrine- $\alpha$  de Ling et Baker, l'achroodextrine II de Lintner et la maltodextrine de Brown et Morris.

Si l'on ne pousse pas l'hydrolyse de cette dextrine jusqu'au bout, on peut au moyen de l'alcool isoler de cette solution encore une autre dextrine. On la trouve dans la partie du précipité qui est soluble dans l'alcool bouillant à 87–89° Tr. Je l'ai nommé  $\gamma$ -maltodextrine.

Cette substance est aussi une poudre d'une légère teinte jaunâtre, très fine, d'une saveur agréablement douce, contenant des cendres. Elle est soluble dans l'alcool à 85° Tr, mais elle l'est très faiblement dans l'alcool à 90° Tr. Le pouvoir rotatoire est  $[\alpha]_D^{20} = 172.17'$ , son pouvoir réducteur  $R = 42.7$  p. 100  $R_{\text{maltose}}$ . Par la méthode cryoscopique dans l'appareil de Beckmann on a obtenu le nombre 595 comme poids moléculaire.

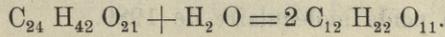
L'analyse élémentaire a fourni les résultats suivants :

$$C = 43.23 \quad 43.97 \quad H = 6.42 \quad 6.28$$

ce qui correspond à la formule  $C_{24}H_{42}O_{21}$  qui exige pour  $C = 43.24$ ; pour  $H = 6.30$ ; et pour poids moléculaire le nombre 666.

La  $\gamma$ -maltodextrine est attaquée très facilement par l'extrait frais de malt. On a obtenu après 24 heures 94.06 p. 100 de maltose.

Le dédoublement hydrolytique de la  $\gamma$ -maltodextrine ne peut s'effectuer que selon l'équation suivante :



On devrait obtenir finalement du maltose pur, c'est à dire 100 p. 100 de ce corps. Mais je n'en ai jamais obtenu plus de 94,06 p. 100.

Si l'on évapore jusqu'à consistance de sirop cette solution hydrolysée et si l'on épuise ce sirop à plusieurs reprises par l'alcool bouillant à 96° Tr, le maltose entre en solution et il reste un résidu. En traitant ce résidu par la phénylhydrazine, on obtient une osazone qui fond à 150—153°. Cette osazone contient 9.85 p. 100 d'azote; c'est donc l'isomaltosazone de Lintner. Cela prouve que la  $\gamma$ -maltodextrine se dédouble par l'hydrolyse en maltose et en isomaltose de Lintner et cela explique pourquoi on n'obtient que 94 p. 100 de maltose apparent par l'action de l'extrait frais de malt sur cette substance.

En posant le pouvoir réducteur du maltose = 100 et le pouvoir réducteur de l'isomaltose = 84.5 p. 100 de  $R_{\text{maltose}}^1$ , et en admettant qu'une molécule de  $\gamma$ -maltodextrine se dédouble en une molécule de maltose et une molécule de l'autre substance, on devra trouver dans la dissolution saccharifiée  $51.3 + \frac{51.3 \times 84.5}{100} = 94.6$  p. 100 de maltose rapporté à 100 de matière dissoute, ce qui s'accorde avec l'observation.

J'ai préparé cet isomaltose à l'état de pureté en partant de la dextrine-limite I.

On obtient la dextrine-limite I en traitant par l'extrait frais de malt à la température ordinaire une solution d'amidon, préparée en chauffant de l'empois de féculé à l'autoclave à une température de 140°. Cette dextrine est une poudre amorphe, tout à fait blanche. La détermination cryoscopique donne le nombre 1897 comme poids moléculaire de cette substance; Lintner a trouvé le nombre 1963 pour son achroodextrine I qui est sûrement identique avec ma dextrine-limite I.

L'analyse élémentaire de ce corps a fourni les résultats suivants:

On verra plus loin que l'isomaltose pur a le pouvoir réducteur  $R = 84.5$  p. 100 de  $R_{\text{maltose}}$ .

$C = 42.54; 43.63; 43.37$        $H = 6.30; 6.71; 6.67,$   
 ce qui correspond à la formule  $C_{72} H_{124} O_{62}$  qui exige  $C = 43.63;$   
 $H = 6.26$  et un poids moléculaire de 1980.

En ajoutant à une solution aqueuse à 5 p. 100 de cette dextrine une solution d'amylase pure précipitée, on lui fait subir une décomposition hydrolytique. On laisse l'action se prolonger trois semaines, on évapore jusqu'à consistance de sirop et on traite celui-ci par l'alcool bouillant à 96° Tr. Le glucose se dissout, l'isomaltose reste insoluble. On épuise ce résidu par l'alcool méthylique qui dissout l'isomaltose et on place cette solution avec de l'alcool absolu sous une cloche de verre. Après quelque temps, il apparaît une croûte cristalline sur les parois du verre. On lave cette croûte à l'alcool méthylique, puis à l'alcool absolu, et on la sèche dans le vide au moyen de l'acide phosphorique anhydre jusqu'à ce que son poids devienne constant.

L'analyse de ce corps a fourni les résultats suivants:

$C = 41.99; 41.94$        $H = 6.76; 6.67.$

La détermination cryoscopique a donné le nombre 321 comme poids moléculaire. Ces nombres sont en accord parfait avec la formule  $C_{12} H_{22} O_{11}$  qui exige  $C = 42.10; H = 6.43$  et le nombre 342 comme poids moléculaire. Le pouvoir rotatoire de ce corps était  $[z]^{20}_D = 141.40'$  et le pouvoir réducteur  $R = 84.5$  p. 100 de  $R_{\text{maltose}}$ .

L'osazone de cette substance fondait à 150—153° et avait la composition:  $C = 55.38; H = 6.52; N = 10.63—10.70.$  L'hexobiosazone  $C_{12} H_{20} O_9 (N_2 HC_6 H_5)_2$  exige pour  $C = 55.38; H = 6.15$  et  $N = 10.76.$

Cette substance n'est pas identique avec l'isomaltose décrite par M. Émile Fischer; par conséquent elle doit être appelée autrement. Je l'ai nommé dextrinose, parce qu'elle est un composant des deux dextrines-limite et par conséquent de toutes les dextrines supérieures dérivant de l'amidon.

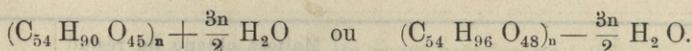
#### L'hydrolyse carbinolique de l'amidon.

Si l'on chauffe un empois d'amidon à 5 p. 100 à l'autoclave à une température de 140°, on obtient une solution limpide qui, traitée par l'alcool, donne un précipité blanc, soluble à froid dans l'eau. Cette solution se colore en bleu par l'iode et ne réduit pas la liqueur de Fehling. Dans mon premier mémoire sur la consti-

tution de l'amidon, j'ai déjà mentionné que le corps ci-dessus ne peut prendre naissance aux dépens de l'amidon que par une hydrolyse carbinolique. L'analyse élémentaire fournit les nombres suivants:

$$C = 43.75; 43.56 \quad H = 6.18; 6.11.$$

On peut en conclure que ce corps est composé selon la formule suivante:



Cette formule exige pour  $C = 43.63$  et pour  $H = 6.26$ . J'ai appelé ce corps amyloextrine. Son éther acétique, la peracétylamyloextrine, obtenu en chauffant de l'amyloextrine avec l'acide acétique anhydre en présence du carbonate de sodium, avait la composition suivante:

$$C = 49.51; 49.32 \quad H = 5.35; 5.63.$$

Elle contenait 47.12 et 48.81 p. 100 de  $C_2 H_3 O$ . Ces nombres sont en accord avec la formule:  $n [(C_{54} H_{66} O_{48} - \frac{3}{2} H_2 O) (C_2 H_3 O)_{30}]$  qui exige pour  $C = 49.83$ ; pour  $H = 5.57$  et 46.99 p. 100 de  $C_2 H_3 O$ .

Je conclus de la formule de l'amyloextrine et de celle de la peracétylamyloextrine que la molécule du premier corps diffère de celle de l'amidon en ceci que les restes amylogènes dans l'amyloextrine contiennent 3 hydroxyles de plus que les restes amylogènes de l'amidon.

Une solution aqueuse, chaude, à 10 p. 100 d'amyloextrine, laisse précipiter après quelque temps un dépôt blanc, insoluble dans l'eau froide, dépourvu de cendres. Ce dépôt a la composition suivante:

$$C = 43.74; 43.82 \quad H = 6.55; 6.35$$

qui est en accord avec la formule  $(C_{54} H_{90} O_{45})_n + \frac{2n}{2} H_2O$ . On voit par cette formule que c'est un produit de déshydratation différant de l'amyloextrine en ce qu'il n'a que 2 hydroxyles de plus dans chaque reste amylogène que les restes similaires de l'amidon, tandis que l'autre substance en a 3 de plus dans chaque reste amylogène.

L'extrait frais de malt attaque ce produit très facilement à la température ordinaire. Le maltose se détache et entre en solution et il reste un résidu insoluble. Ce résidu peut être saccharifié par l'extrait frais de malt après dissolution préalable dans de l'eau chaude.

Trois expériences de saccharification ont fourni les résultats suivants:

Durée de l'action de l'extrait frais	Maltose qui s'est détaché et qui est entré en solution	Maltose obtenu du résidu après sa dissolution dans l'eau chaude	Total
	pour 100 d'amylogène mis en oeuvre.		
5 heures	23.08	51.62	74.70
3 jours	47.08	27.89	74.97
14 "	59.12	34.25	93.37

Il résulte de ces expériences que le produit de réversion donne en peu de temps sous l'action de l'extrait de malt les  $\frac{2}{3}$  de la quantité de maltose que contient ce corps et que le dernier tiers résiste très longtemps à l'action de ce réactif. Après 14 jours il ne s'est dissout que 59.12 p. 100 de maltose, tandis qu'il y avait dans le produit de déshydratation 67.85 p. 100 de ce sucre.

On peut conclure de ces faits que la composition des produits hydrolytiques carbinoliques n'est pas sans influence sur le résultat de l'action hydrolytique de l'extrait de malt sur ces corps. Sous ce rapport on peut distinguer les différences suivantes:

La molécule d'amidon dont les restes amylogènes contiennent 27 hydroxyles, n'est point attaquée par l'extrait de malt à la température ordinaire. Si l'on veut la saccharifier, on doit lui faire subir préalablement une hydrolyse carbinolique.

L'amyloextrine, un des produits hydrolytiques carbinoliques dont les restes amylogènes contiennent 3 hydroxyles de plus que les restes similaires de l'amidon, est attaquée très facilement par l'extrait de malt, même à la température ordinaire et fournit  $\frac{3}{3}$ , c'est à dire la quantité totale de maltose qu'elle contient.

Le produit de déshydratation de l'amyloextrine dont les restes amylogènes ne contiennent que 2 hydroxyles de plus que les restes amylogènes de l'amidon est aussi attaqué facilement par

l'extrait de malt à la température ordinaire, mais on n'obtient que les  $\frac{2}{3}$  de la quantité de maltose que pourrait produire la molécule de ce corps.

Ces faits prouvent que les restes maltose ne se détachent des restes amylogènes de la molécule d'amidon que quand ceux-ci se sont annexés des hydroxyles, par l'hydrolyse carbinolique bien entendu. Donc il correspond à chaque hydroxyle additionné un reste maltose se détachant sous l'action de l'extrait de malt.

#### Sur la structure du reste amylogène.

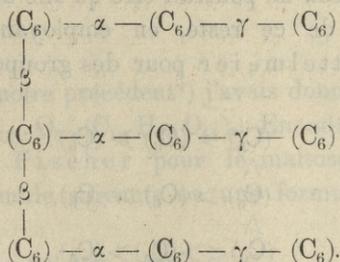
On doit conclure des résultats de l'action de l'extrait frais de malt sur l'amidon soluble et sur l'amylo-dextrine que le reste amylogène contient trois espèces de liaisons carbonyliques:

Des liaisons- $\alpha$ , comme je les ai appelées, qui se brisent pendant la première phase de la saccharification en donnant naissance à du maltose et à de la dextrine-limite I;

Des liaisons- $\beta$  qui se brisent pendant la seconde phase de la saccharification en donnant naissance finalement à du glucose par la décomposition hydrolytique des restes dextrine-limite I;

Des liaisons- $\gamma$  qui unissent les deux restes glucose dans la molécule de maltose.

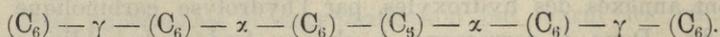
En employant le symbole  $(C_6)$  pour désigner le reste glucose et les lettres  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  pour désigner les dites liaisons, on peut exprimer la formule schématique du reste amylogène par:



A l'aide de cette formule, la décomposition de l'amidon par les deux manières s'explique très facilement. En faisant agir de l'extrait frais de malt sur les restes amylogènes de l'amylo-dextrine, on brise les liaisons- $\alpha$ ; on obtient du maltose et la dextrine-limite I, composée des restes  $3(C_6)$ . En faisant agir de l'extrait chauffé de malt sur les restes amylogènes de l'amylo-dextrine, on brise les

liaisons- $\beta$  et il en résulte uniquement une dextrine composée des restes dextrine-limite II.

Le poids moléculaire de cette dernière dextrine étant 990, il est évident qu'elle est composée de six restes glucose; sa formule schématique pourra être exprimée par:

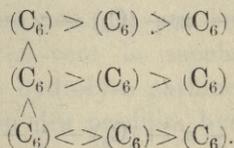


On voit par cette formule que la dextrine-limite II contient encore deux liaisons- $\alpha$ , et par conséquent deux restes maltose qui peuvent se détacher; l'expérience montre en effet que l'on peut effectuer ce dédoublement.

La dite formule nous apprend encore que les deux restes dextrine-limite II de ce corps dérivent de deux restes amylogènes, qu'ils sont par conséquent joints par une liaison carbinolique. Le corps  $(C_6) - (C_6)$  qui reste après la disparition de deux liaisons- $\alpha$ , et que j'ai appelé dextrinose, se compose alors de deux restes glucose joints aussi par une liaison carbinolique.

Le reste amylogène contient 9 restes glucose; par conséquent il doit contenir aussi 9 groupes carbonyles. Entre ces restes glucose doivent exister au moins 8 liaisons et au plus 9. Dans le premier cas, une de ces huit liaisons devra être bicarboxylique, dans le second au contraire toutes ces liaisons ne pourraient être que des liaisons monocarboxyliques.

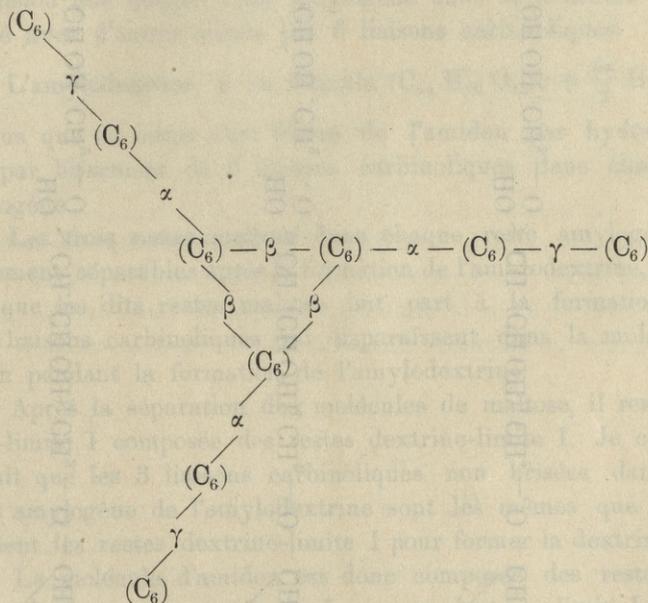
Dans le reste amylogène qui contiendrait une liaison bicarboxylique, cette liaison ne pourrait être qu'une des liaisons- $\alpha$  et la formule schématique de ce reste, en employant le symbole  $<$  de Scheibler et Mittelmeier pour des groupes carbonyles, devra être exprimée par



Cette formule ferait pressentir qu'on devrait obtenir deux dextrines-limite II, dont celle qui serait composée de restes  $(C_6) <> (C_6) > (C_6)$  n'exercerait aucun pouvoir réducteur sur la liqueur de Fehling. Or on ne trouve pas une pareille dextrine parmi les produits d'action de l'extrait chauffé de malt sur l'amylo-dextrine, et par conséquent on ne peut pas admettre que le reste amylogène

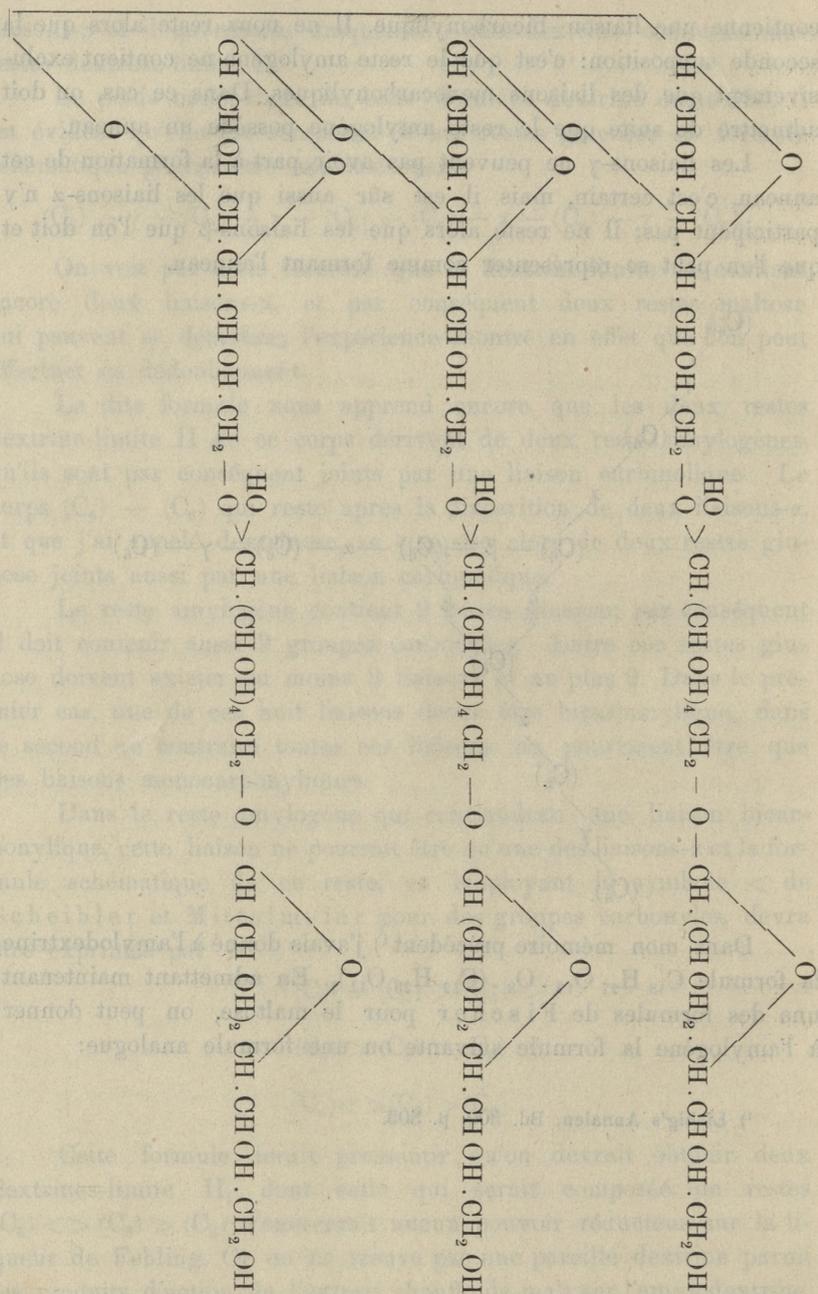
contienne une liaison bicarboxylique. Il ne nous reste alors que la seconde supposition: c'est que le reste amylogène ne contient exclusivement que des liaisons monocarboxyliques. Dans ce cas, on doit admettre de suite que le reste amylogène possède un anneau.

Les liaisons- $\gamma$  ne peuvent pas avoir part à la formation de cet anneau, c'est certain, mais il est sûr aussi que les liaisons- $\alpha$  n'y participent pas; il ne reste alors que les liaisons- $\beta$  que l'on doit et que l'on peut se représenter comme formant l'anneau.



Dans mon mémoire précédent<sup>1)</sup> j'avais donné à l'amyloextrine la formule  $C_{18} H_{27} O_{12} \cdot O_3 \cdot (C_{12} H_{23} O_{11})_3$ . En admettant maintenant une des formules de Fischer pour le maltose, on peut donner à l'amylogène la formule suivante ou une formule analogue:

<sup>1)</sup> Liebig's Annalen, Bd. 309, p. 303.



Sur la manière dont sont liés entre eux les restes amylogènes dans la molécule d'amidon.

La formule de l'amylogène est  $C_{54}H_{96}O_{48}$ , celle de l'amidon  $(C_{54}O_{90}O_{45})_n$  ou  $[(C_{54}H_{96}O_{48})_n - 3nH_2O]$ . La dernière formule exprime que  $n$  restes amylogènes se sont unis par déshydratation pour composer la molécule d'amidon.

En comparant les formules de ces deux corps, on arrive à la conclusion que chaque reste amylogène dans la molécule d'amidon est lié avec d'autres restes par 6 liaisons carbinoliques.

L'amyloextrine a la formule  $(C_{54}H_{90}O_{45})_n + \frac{3n}{2}H_2O$ . J'en conclus que ce corps s'est formé de l'amidon par hydratation et cela par brisement de 3 liaisons carbinoliques dans chaque reste amylogène.

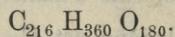
Les trois restes maltose dans chaque reste amylogène étant facilement séparables après la formation de l'amyloextrine, j'en conclus que les dits restes maltose ont part à la formation de ces trois liaisons carbinoliques qui disparaissent dans la molécule d'amidon pendant la formation de l'amyloextrine.

Après la séparation des molécules de maltose, il reste la dextrine-limite I composée des restes dextrine-limite I. Je conclus de ce fait que les 3 liaisons carbinoliques non brisées dans chaque reste amylogène de l'amyloextrine sont les mêmes que ceux qui unissent les restes dextrine-limite I pour former la dextrine susdite.

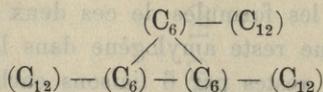
La molécule d'amidon est donc composée des restes amylogènes de la manière suivante: Les restes dextrine-limite I de chaque amylogène sont liés avec les restes similaires des autres amylogènes par 3 liaisons et les trois restes maltose de chaque amylogène par les 3 liaisons carbinoliques restantes avec les trois restes maltose des autres amylogènes. J'appelle d-carbinoliques les liaisons qui unissent les restes dextrine-limite I et m-carbinoliques les autres liaisons qui agissent entre les restes maltose.

Les restes dextrine-limite I restent liés après l'élimination des molécules de maltose de l'amyloextrine et la dextrine-limite I ayant un poids moléculaire qui s'accorde avec la formule  $C_{72}H_{124}O_{62}$  il est évident qu'elle est constituée par 4 restes dextrine. Or un reste amylogène ne contenant plus qu'un reste dextrine-limite I, il s'ensuit que la molécule d'amidon de laquelle dérive cette dex-

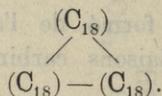
trine est composée de quatre restes amylogènes. Donc on doit écrire la formule de l'amidon:



En employant le symbole  $(C_6)$  pour le reste glucose et  $(C_{12})$  pour le reste maltose, on peut figurer la constitution de l'amylogène par le schéma suivant:

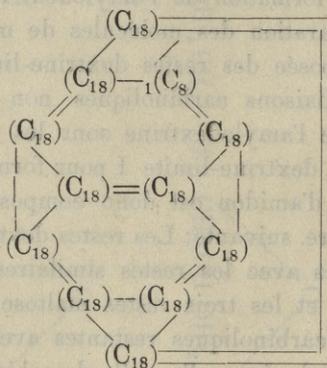


ou, après jonction de  $(C_6) - (C_{12})$  que nous écrivons  $(C_{18})$ ,



Les symboles  $(C_{18})$  représentent ici les restes dextrine-limite II et les tirets entre ces symboles les liaisons  $\beta$ -carbonyliques.

A l'aide de cette formule schématique de l'amylogène, on parvient à figurer la molécule d'amidon par le schéma suivant:



Les tirets entre deux restes  $(C_{18})$  des groupes ternaires représentent les susdites liaisons  $\beta$ -carbonyliques, les tirets doubles entre les restes  $(C_{18})$  représentent deux liaisons carbinoliques, une d-et une m-carbinolique.

## 52. PUBLICATIONS DE LA CLASSE.

Le Secrétaire dépose sur le bureau les dernières publications de la Classe:

- Rozprawy Akademii Umiejętności. Wydział matematyczno-przyrodniczy. Ser. II, tom XIX, ogólnego zbioru tom 39. (*Travaux de la Classe, Ser. II, vol. XIX.*), 8-o, p. 340, 7 planches et 10 gravures.
- M. Seńkowski. O metodzie badania czynności wydzielniczej wątroby. (*Sur une méthode servant à étudier la fonction de sécrétion du foie*), 8-o, p. 15.
- M. Siedlecki. O rozwoju płciowym Gregaryny *Monocystis ascidia* R. Lank. (*Sur la reproduction sexuelle de la Grégarine Monocystis ascidia* R. Lank.), 8-o, p. 29.
- L. Wewiórski. O kondensacyi glyksalu z aldehydem benzoesowym za pomocą amoniaku. (*Sur la condensation du glyoxale et de l'aldéhyde benzoïque au moyen de l'ammoniaque*), 8-o, p. 8.
- Katalog literatury naukowej polskiej. (*Catalogue of Polish Scientific Literature*), vol. II., 1902, fasc. I., 8-o, p. 22.
- Polskie słownictwo chemiczne. (*Terminologie chimique polonaise*), 16-o, p. 31.

---

Nakładem Akademii Umiejętności.

Pod redakcją

Członka delegowanego Wydziału matem.-przyr., Dra Władysława Natansona.

Kraków. 1902. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego. pod zarządem J. Filipowskiego.

26 Sierpnia 1902.



