

Anhang.

Untersuchungen über den chemischen Bau der Eiweissstoffe.

Von C. Fr. W. Krukenberg.

Erste Mittheilung.

Es musste auffallen, dass einige, für sehr beständig und widerstandsfähig angesehene Albuminoide (Keratin, Spongin, nach M. S. Schultze und Horbaczewski auch das Elastin) durch überhitztes Wasser verhältnissmässig rasch gelöst werden, und ich warf deshalb die Frage auf, warum die auf diesem Wege so leicht aufzuschliessenden Substanzen von keinem der beiden proteolytischen Enzyme angegriffen werden. Ich habe gezeigt, dass die schliesslichen Zerfallsproducte (Tyrosin, Leucin, Glykocoll) keine Entscheidung dieser Frage zu treffen erlauben, glaube aber jetzt den Nachweis liefern zu können, dass der Grund für die Unverdaulichkeit jener albuminoiden Stoffe in ihrer primären Zersetzungsweise zu suchen ist. Von Bedeutung sind in dieser Hinsicht folgende meiner Versuchsresultate.

Mehrere dickwandige Glasröhren wurden mit je 2 gr. zuvor mit Wasser, Alkohol und Äther ausgezogenem, über conc. Schwefelsäure getrocknetem Fibrin und mit 50 cbc. destillirtem Wasser beschickt. Darauf wurden die Röhren zugeschmolzen und 30 Stunden lang auf 160—170° C. erhitzt. In den meisten Röhren hatte sich das Fibrin bis auf unbedeutende Trübungen zu einer mehr oder weniger alkalischen Flüssigkeit gelöst, welche filtrirt und mit Salzsäure resp. Salpetersäure neutralisirt wurde. Das mit kaltem Wasser gewaschene Neutralisationspräcipitat wurde mit 5 %iger Kochsalz- resp. 5 %iger Salpeterlösung ausgekocht und hinterliess einen für verdünnte Mineralsäuren sehr unlöslich, für Pepsin unverdaulich gewordenen Eiweisskörper, der in 2 %iger Soda noch zu lösen war und ausnahmslos sämtliche Eiweissreactionen zeigte. Es darf derselbe hiernach als Antialbumid an-

gesprochen werden, während der von den heissen Neutralsalzlösungen aufgenommene Körper seinem ganzen Verhalten nach (gegen Salpetersäure, Essigsäure u. Ferrocyanium etc.) reine Hemialbumose war. Das Filtrat vom Neutralisationsniederschlage wurde mit neutralem Ammoniumsulfat gesättigt, in Folge dessen sich abermals Hemialbumose ausschied, die Ammoniumsulfat enthaltende Lösung durch Baryt zersetzt, eingedampft, durch eine eben ausreichende Schwefelsäuremenge vom Baryt befreit und mit positivem Resultate auf Pepton geprüft. — Der Inhalt einiger anderer Röhren wurde nach dem Neutralisiren bei schwach alkalischer Reaction auf dem Wasserbade eingedampft, der Verdampfungsrückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht, der alkoholische Auszug über Chlorcalcium und conc. Schwefelsäure verdunstet. Der Rückstand enthielt neben langen, spiessigen Krystallen Leucin wie Tyrosin, und wir ersehen hieraus, dass die Zersetzung des Fibrins durch überhitztes Wasser entsprechend verläuft als beim Erwärmen mit Schwefelsäure von 3—5 % auf 100° C.

Ähnliche Versuchsreihen habe ich an reinem Serumeiweiss und Eieralbumin ausgeführt. Es ist unnöthig, auf diese specieller einzugehen; allemal ergab sich als entscheidender Punkt, dass Serumeiweiss wie Eieralbumin durch das überhitzte Wasser einen Zerfall in Stoffe aus der Anti- (Antialbumid) und der Hemigruppe (Hemialbumose, Hemipepton, Leucin und Tyrosin) erfahren hatten, dass echte Eiweissstoffe durch überhitztes Wasser ebensowie unter der Einwirkung der verdauenden Enzyme oder heisser verdünnter Mineralsäuren eine Spaltung erleiden. Es sei nur noch erwähnt, dass, wenn 2 gr. jahrelang trocken aufbewahrtes Eieralbumin mit 50 cbc. destillirtem Wasser 20—30 Stunden auf 160—170° C. erhitzt waren, sich stets ein gelbbrauner, durchsichtig gallertiger Rückstand mit allen charakteristischen Eiweissreactionen erhalten hatte. Dieser Rest trug kein Zeichen einer Gerinnung an sich, war aber weder durch mehrmaliges Aufkochen mit verdünnten Mineralsäuren, noch mit 2 %iger Sodalösung aufzuschliessen und wurde weder durch kräftige Pepsinsalzsäure, noch durch sehr wirksames Trypsin (in 1 % Soda oder in 0.1 % Salicylsäure) bei tagelangem Erwärmen auf 38° C. in irgendwie ersichtlichem Masse angegriffen; mit 5 %iger Kochsalzlösung ausgekocht, war keine Hemialbumose daraus zu gewinnen.

Die Erfahrungen über die Veränderungen der echten Eiweisssubstanzen (sei es durch Säuren oder Alkalien, sei es durch überhitztes Wasser oder durch die Enzyme) deuten an, dass es sich

dabei um einen molecularen Zerfall handelt; um einen molecularen Zerfall jedoch, der im ersten Stadium nicht einer derartigen Spaltung wie z. B. an den Glykosiden gleicht, sondern der darin besteht, dass aus einer Doppelverbindung eine zusammenhängende Reihe von Atomcomplexen abgespalten wird, welche sich dann, und zwar noch neben anderen Atomgruppen in dem zweiten primären Spaltungsproducte, gleichsam in dem Reste des ursprünglichen Eiweissmolecüls wiederfindet. So entstehen aus den echten Eiweissstoffen im ersten Stadium der Spaltung Producte (Stoffe der Hemigruppe), welche alle verschiedenen Atomcomplexe jener noch in sich führen, daneben aber solche, welchen der labilste oder die labilsten Atomcomplexe des Eiweisses bereits fehlen können und deren Verhalten bei den einzelnen Eiweissreactionen uns deshalb einen Aufschluss darüber zu geben vermag, an welcher Stelle dieser letztere Eiweisspaarling (Antikette) von dem Stamme (Hemikette) des ursprünglichen Eiweissmolecüls durch die angewendeten Agentien abgesplissen wurde und welcher Atomcomplex in letzterem die beiden Ketten eigentlich verankerte. Die Albuminoide und Skeletine würden hiernach in eine Reihe mit den Körpern der Antigruppe zu stellen sein, während die echten Eiweissstoffe als Doppelverbindungen dieser mit Körpern der Hemigruppe zu gelten hätten; die Albuminoide und Skeletine unterscheiden sich von den echten Eiweisssubstanzen somit nicht nur dadurch, dass ihnen ein oder mehrere, allen echten Albuminen zukommende Atomcomplexe mangeln, sondern weiterhin noch dadurch, dass ihnen jene ganze, complicirt zusammengesetzte Hemikette mit den, für die echten Eiweisskörper am typischsten, zugleich aber labilsten Atomgruppen abgeht¹⁾. Die Albuminoide und Skeletine verhalten sich — um einen sehr einfachen Vergleich zu ziehen — zu den Eiweissstoffen nicht wie das Methyl zu dem Methylalkohol, sondern wie das Methyl zu dem Methyläther. Aus diesen Betrachtungen folgt, dass kein einziges Albuminoid oder Skeletin den Verdauungsenzymen, deren Wirkungen ausnahmslos in Spaltungen bestehen, direct zugänglich sein kann, wenigstens niemals in der Weise wie

¹⁾ Vermuthlich entstehen mehrfach im Organismus Albuminoide, indem die Hemialbumose abgespalten, gelöst, resorbirt und alsdann auch in Transsudaten nachweisbar wird.

Die Gründe, welche mich bestimmen, die Albuminoide und Skeletine den Anti- und nicht den Hemiproducten der Eiweisspaltung an die Seite zu stellen, können erst in einer spätern Abhandlung näher erörtert werden.

die Eiweisskörper, die einen Atomcomplex enthalten, der die Hemi- und die Antikette verbindet und von den Enzymen derart zu verändern ist, dass die Doppelverbindung in Folge dessen in ihre beiden Componenten auseinanderfällt. Das schliesst natürlich nicht aus, dass nach vorausgegangenen anderweitigen Eingriffen auch aus den Albuminoiden und Skeletinen Producte erhalten werden, welche enzymatisch zu verändern sind wie z. B. das Glutin aus dem Collagen, sondern dieses Beispiel kann uns nur in der Ansicht bestärken, dass die Kraft der Enzyme lediglich in Spaltungsprocessen beruht.

Die vorgetragene Auffassung gründet sich nun auf folgende Versuche. Wird nach den üblichen Methoden gereinigtes und durch anhaltende Pepsin- wie Trypsineinwirkung von allem Verdaulichen befreites Keratin (aus Kuhhorn) in gleicher Art wie vom Fibrin beschrieben wurde, dem Einflusse überhitzten Wassers ausgesetzt, so erfolgt unter günstigen Umständen eine vollständige Lösung zu einer bräunlich-gelben, mehr oder minder stark alkalischen, nach Schwefelwasserstoff riechenden, opalisirenden Flüssigkeit; diese filtrirt, giebt einen Neutralisationsniederschlag, der sich bis auf wenige Fäserchen in siedender 5%iger Kochsalzlösung auflöst. Der lösliche Antheil der Fällung besteht ausschliesslich aus einem Producte, welches direct aus dem Keratin hervorgegangen ist; wir wollen diesen Stoff Keratinose nennen und erhalten denselben sehr reichlich, wenn das Filtrat vom Neutralisationsniederschlage mit neutralem Ammoniumsulfat gesättigt, die Fällung abfiltrirt, mit destillirtem Wasser aufgenommen und durch Dialyse im fliessenden Wasser von dem Ammoniumsalze gereinigt wird. Unterwirft man eine derartige Keratinoselösung vor dem Aussalzen mit Ammoniumsulfat der Dialyse, concentrirt das Dialysat und sättigt nun mit Ammoniumsulfat, so entsteht regelmässig noch ein Niederschlag, der wegen der Nichtfällbarkeit in wässriger Lösung durch Essigsäure keine Keratinose, allen Analogiefällen gemäss aber auch kein Pepton sein kann. Dieselbe Erscheinung beobachtet man, wenn das Dialysat von peptisch verdautem Eiweiss mit Ammoniumsulfat gesättigt wird. Jener durch Sättigen mit Ammoniumsulfat aus dem Dialysate der zersetzten Keratinflüssigkeit gewonnene Körper ist von mir nicht näher untersucht; theils deshalb nicht, weil das analoge Product, welches bei der Eiweisszersetzung gebildet wird, noch völlig unbekannt ist, theils auch deshalb nicht, weil ich fand, dass es nur durch den Ausfall gewisser Fällungsreactionen von der Keratinose abweicht

und das Verhalten reiner Keratinoselösungen gegen Fällungsmittel durch die geringen Mengen jener diffusiblen Beimengung deshalb nicht alterirt werden kann.

Von den Keratinosereactionen, welche unten in der Tabelle zusammengestellt sind, seien nur einige besonders hervorgehoben. Reine Keratinoselösungen geben die Biuretprobe schon ohne erwärmt zu werden, und werden durch Mineralsäuren (Salzsäure, Salpetersäure, Metaphosphorsäure) wie durch Essigsäure in der Kälte gefällt; diese Niederschläge lösen sich beim Kochen wieder vollständig auf, kehren beim Abkühlen zurück und gestatten dieses abwechselnde Auflösen und Fällungen eine unbeschränkte Anzahl von Malen. Ebenfalls starke Fällungen erzeugen Phosphormolybdänsäure und Gerbsäure, welche beim Kochen aber nur theilweise verschwinden, sowie Quecksilberchlorid, Alaun, Silbernitrat, neutrales und basisches Bleiacetat, die im Ueberschuss des Reagens unlöslich sind; beim Kochen mit dem Silbersalze, erfährt letzteres eine Reduction. Eisenchlorid ruft keine Veränderung hervor. Eine Uebereinstimmung der charakteristischen Keratinosereactionen mit denen der Hemialbumose liegt auf der Hand, doch kann von einer Identität beider Substanzen schon deshalb keine Rede sein, weil Keratinose wohl die Millon'sche Reaction giebt, aber weder auf die Kochprobe mit conc. Salzsäure, noch auf die Adamkiewicz'sche Probe reagirt.

Wird Keratinose mit ausdialysirtem Pepsin und 0.1% iger Salzsäure bei Brutwärme digerirt, so verwandelt sich dieselbe in Keratinpeptone, in jene Körper, welche nach Sättigung des, durch überhitztes Wasser aus dem Keratin gewonnenen Lösungsgemisches mit neutralem Ammoniumsulfat in Lösung verbleiben und aus dieser nach Ausfällen der Schwefelsäure durch Barytwasser und Concentriren der Flüssigkeit genügend rein darzustellen sind. Die Keratinpeptone unterscheiden sich ausser durch ihr bedeutendes Diffusionsvermögen vornehmlich dadurch von der Keratinose, dass sie weder durch Mineralsäuren und Essigsäure, noch durch Quecksilberchlorid, neutrales Bleiacetat, Alaun und Ammoniumsulfat gefällt werden. Erst aus ihnen werden die Amidosäuren (Tyrosin und Leucin) entstanden zu denken sein, welche durch siedenden Alkohol nicht nur aus den durch überhitztes Wasser zersetzten Keratinen auszuziehen, sondern neben Keratinose auch in den Pellagraborken von Schmetzer aufgefunden sind.

Das bislang über das Keratin Gesagte gilt selbstverständlich nur für die peptisch wie tryptisch völlig unverdaubar gewordenen

echten Keratine. In den Eierschalen der Selachier liegt aber z. B. ein Secretionsproduct vor, an welchem sich der Verhornungsvorgang erst sehr allmählich, und zwar unter unseren Augen vollzieht. Während ihres intrauterinen Aufenthaltes sind diese Gebilde für Pepsin leicht verdaulich, und aus der verdauten Masse lässt sich Antialbumose abscheiden; in Uebereinstimmung hiermit resultirt bei der Zersetzung (von Schalen aus dieser Entwicklungsperiode) durch überhitztes Wasser alsdann auch Antialbumid, von dem bei Verwendung vollkommen keratinisirter und unverdaubar gewordener Hüllen nichts nachzuweisen ist.

Seit den Arbeiten von Kühne und Ewald weiss man allgemein, dass das Collagen, um verdaubar zu werden, künstlich einer Metamorphose unterworfen werden muss, und dass diese nicht nur durch Erhitzen mit Wasser, sondern auch durch Behandeln mit Säuren zu erreichen ist. Erst das daraus entstandene Glutin ist ein spaltungsfähiger und somit auch ein verdaulicher Stoff, von dem wir zur Zeit zwar nur die nächsten Spaltungsproducte (Semiglutin und Hemicollin) kennen. Noch schlechter ist es mit unseren Kenntnissen von der Verdaulichkeit des Elastins bestellt. Meine in den Gang gesetzten Versuche über die Einwirkung von überhitztem Wasser auf Elastin wurden dadurch vereitelt, dass die Röhren bei dem 20—30 Stunden langem Erhitzen auf 160° C. bis auf eine zersprangen, und in der erhalten gebliebenen sich das Elastin (im Widerspruch mit den Angaben von Schultze und Horbaczewski) nur unvollkommen angegriffen zeigte. Nach den Erfahrungen, welche ich an dem flüssigen Inhalte dieser Röhre wie über die Verdaulichkeit und die Verdauungsproducte des Elastins sammeln konnte, scheint es mir, dass das Elastin sowohl durch die Enzyme wie auch durch überhitztes Wasser unmittelbar, also ähnlich wie die Eiweissstoffe und nicht wie das Collagen oder Keratin, gespalten wird, indem sich mit dem Hemi-elastin zugleich geringe Mengen einer vielleicht sehr einfachen Verbindung bilden. Das Hemi-elastin wird durch Ammoniumsulfate aus seiner Lösung vollständig gefällt, die Elastinpeptone dagegen nicht; ersteres ist nicht nur ein constantes Product bei der Pepsin- und Trypsinverdauung des Elastins, sondern tritt auch bei der Zersetzung des letzteren durch überhitztes Wasser auf und wird durch Pepsin wie durch Trypsin in Peptone zerlegt.

Ausser den genannten Stoffen ist kein anderer bekannt geworden, welcher die Wirkungen der Verdauungsenzyme besser

aufzuklären im Stande wäre als das Spongini; denn dass gegen Alkalien, gegen überhitztes Wasser und gegen Säuren so resistente Substanzen wie das Fibroin, Cornein, Conchiolin und Chitin auch unverdaulich sind, kann wahrlich nicht Wunder nehmen. Das Spongini wird aber, wie ich zuerst beobachtet habe, von überhitztem Wasser vollkommen gelöst, und hier wirft sich wiederum die Frage auf, warum die Enzyme demselben gegenüber so wirkungslos bleiben. Eine Erklärung liefern folgende Versuche, welche bis zu jenem Körper hin, den wir Spongionose nennen werden, nur auf successive Veränderungen des Spongins, nicht auf Spaltungen schliessen lassen.

12 zugeschmolzene Glasröhren, von denen jede 1 gr. gereinigtes, zuvor auch mit Alkohol und Aether extrahirtes Spongini und 40 cbc. destillirtes Wasser enthielt, wurden 24 Stunden auf 170° C. erhitzt. In den meisten Röhren war das Spongini verflüssigt, in dreien derselben ein ungelöster Rest geblieben. Die mehr oder weniger stark alkalisch reagirenden Flüssigkeiten wurden mit Salzsäure neutralisirt und das Neutralisationspräcipitat abfiltrirt. Letzteres stellt ein Gemisch mehrerer Substanzen dar: die eine ist ein Alkalispongini, die anderen erwiesen sich als Producte hochgradiger Zersetzung, die keine Eiweissreactionen gaben und durch Hitze tiefgreifend veränderten Zuckerstoffen glichen.

Nach mehrwöchentlicher Maceration von Sponginstückchen mit gesättigtem Barytwasser wird, wie ich anderen Ortes mittheilte, das Spongini gelöst. Neutralisirt man dann den Baryt durch Salzsäure und schafft das Chlorbaryum sowie die im Ueberschuss zugesetzte Salzsäure durch Dialyse fort, so scheidet sich ein durch den Baryt in Lösung gehaltenes Sponginderivat aus. Dasselbe löst sich leicht in verdünnter Schwefelsäure, Salzsäure und Essigsäure, erweist sich dagegen als unlöslich in 2% Soda und giebt mit 5% iger Kochsalzlösung gekocht keinen Körper ab, der ähnlich der Hemialbumose auf Säuren und Salze reagirt. Dieses Sponginderivat erhielt ich nicht in der zu einer Elementaranalyse erforderlichen Quantität, doch konnte ich durch 24stündiges Erhitzen von 0.8 gr. völlig aschefreier Substanz mit 30 cbc. destillirtem Wasser im zugeschmolzenen Glasrohre auf 160° C. constatiren, dass dasselbe in einen, für Wasser leicht löslichen indiffusiblen Körper (Spongionose) und schliesslich in Sponginepton überzuführen ist. Mit jener Substanz nun, welche eine Vorstufe der Spongionose und des Spongineptons vorstellt, scheint mir das als Alkalispongini bezeichnete Product identisch zu sein.

Bei der Darstellung der Spongionose hielt ich mich an die durch überhitztes Wasser aus dem Spongin gewonnene Flüssigkeit und schlug zu ihrer Abscheidung folgendes Verfahren ein. Die von dem Neutralisationsniederschlage abfiltrirte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und betreffs der Untersuchung auf einige andere Stoffe, von welchen später die Rede sein soll, mit absolutem Alkohol ausgekocht. Der vom Alkohol nicht aufgenommene Rückstand wurde in Wasser gelöst, durch Sättigen mit Ammoniumsulfat die Spongionose gefällt, diese abfiltrirt, wiederum in Wasser gelöst und durch Dialyse von dem beigemengten Ammoniumsulfat befreit. Die im Dialysor zurückgebliebene Spongionoselösung verhielt sich folgendermassen: Fällbar durch Silbernitrat, durch neutrales wie basisches Bleiacetat, nicht fällbar durch Quecksilberchlorid und Alaun; sie gab keine der Farbenreactionen des Eiweisses mit Ausnahme der Biuretprobe.

Sowohl durch zuvor ausdialysirtes Pepsin wie durch weitere Behandlung mit überhitztem Wasser von 160° C. ging die Spongionose vollständig in Sponginpepton über, welches aus der, durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat von der Spongionose befreiten Flüssigkeit auf folgendem Wege bereitet wurde. Die mit Ammoniumsulfat gesättigte Lösung wurde filtrirt, das Filtrat mit Barytwasser schwach überneutralisirt, eingedampft, der überschüssige Baryt durch Sättigen mit Kohlensäure beseitigt, das Filtrat auf dem Wasserbade eingeengt und abermals filtrirt. Diese Sponginpeptonlösung wurde allein noch gefällt durch Gerbsäure, Phosphormolybdänsäure wie durch basisches Bleiacetat und gab von den Farbenreactionen des Eiweisses ausschliesslich die Biuretprobe.

Die Farbenreactionen des Eiweisses haben uns als untrügliche Wegweiser gedient, uns mittelst der vergleichenden Methode einen Einblick in das labyrinthische Gefüge der Eiweissstoffe zu verschaffen. Weit schwerer mag es fallen, die Uebereinstimmungen in den Atomgruppierungen im Molecüle, welche die Fällungsnachweise zur Anschauung bringen, herauszufinden und von dem zu unterscheiden, was sich in der Reaction zwar gleich, aber in dem Wesen des Zustandekommens als grundverschieden gestaltet. Die Coagulationsverhältnisse und in Verbindung damit sicherlich auch die Effecte vieler Fällungsmittel variiren bei immerhin nahestehenden Producten ganz ausserordentlich; ich erinnere nur daran, dass richtige Eiweisslösungen in der Hitze gerinnen und das Coagulum sich alsdann beim Abkühlen nicht wieder löst, dass die Hemial-

bumose- und die Keratinosefällungen sich dagegen beim Erwärmen lösen um beim Abkühlen wieder zu erscheinen, dass neutrale oder schwach saure Hemicollinlösungen ähnlich dem Eiweiss zwar bei höherer Temperatur gerinnen, sich beim Abkühlen aber sofort wieder klären und dass Pepton- wie Glutininlösungen durch Erwärmen bekanntlich garnicht zur Gerinnung zu veranlassen sind. Ein gewisser Werth indess liesse sich vielleicht dem Umstande beilegen, dass einige Fällungsreactionen (z. B. mit Gerbsäure und Phosphormolybdänsäure) sich durch die ganze Reihe der Eiweissderivate bis zum Verschwinden der Biuretgruppe hindurchziehen; erst die reinen Hyaline (z. B. die Chondroitinsäure) und die Abkömmlinge des Chitins, in welchen Reste der Indol liefernden Gruppe noch nachweisbar sind, geben dieselben nicht mehr. Ein Urtheil darüber, ob das Eintreten dieser Fällungen die Anwesenheit einer Leucin oder Glycin bildenden Gruppe nothwendig voraussetzt, bleibt uns, da versäumt wurde, die Hyaline auf derartige Spaltungsproducte zu prüfen, noch versagt.

Eine allgemeine Eigenthümlichkeit der bekannt gewordenen Hyaline besteht darin, durch basisches Bleiacetat gefällt zu werden; auch dem salzsauren Glykosamin kommt dieses Verhalten zu, wenn seine sauren Affinitäten zuvor durch Ammoniak gebunden wurden, und mit ihm bei der Chitinzersetzung gleichzeitig auftretende Körper von verwandter Constitution, über welche ich demnächst ausführlicher berichten will, werden durch basisches Bleiacetat direct gefällt. Es handelt sich bei diesen Stoffen um Eiweissderivate, bei welchen die Indol bildende und die Kupferoxyd reducirende Atomgruppe ihre Selbständigkeit im Molecul eingebüsst haben und, wenn man so will, zu einem einheitlichen Atomcomplexe, wahrscheinlich zu einem Amidokohlehydrate verschmolzen sind. In Uebereinstimmung hiermit ist die Fällbarkeit durch basisches Bleiacetat, wo dieselbe an Eiweissderivaten auftritt, auch gewöhnlich von einem ausgesprochenen Reductionsvermögen begleitet und wir dürfen für ihr Eintreten gewiss mit Recht jenen in den Hyalinen und Chitinderivaten so sehr in den Vordergrund tretenden stickstoffhaltigen Kohlehydratrest verantwortlich machen.

Die übrigen auf nachstehender Tabelle verzeichneten Fällungsnachweise gestatten meines Erachtens noch keine nähere Definition. Ich bemerke dazu, dass die Angaben über die Elastinderivate der Arbeit Horbaczewski's entnommen sind, dass die über das Semiglutin und Hemicollin von Hofmeister, die über

das Onuphin von Schmiedeberg herrühren, und alle übrigen Daten auf eigenen Untersuchungen resp. Nachprüfungen basiren. Ich verkenne dabei keineswegs die Unsicherheit, welche sich der Verwerthung von Versuchen verschiedener Autoren auf einem Gebiete entgegenstellt, wo man ganz im Dunkeln tappt und leitende allgemeinere Gesichtspunkte der Beurtheilung des Beobachteten keine Hülfe gewähren. Bei dem, mir zugängigen Materiale habe ich mich bemüht, auch die Salze und die flüchtigen Stoffe auf's Sorgsamste zu beseitigen. Als Repräsentant eines gelösten Eiweisskörpers bediente ich mich reinen Serumeiweisses, die Hemialbumose und Peptone wurden durch Pepsinverdauung aus rohem Fibrin dargestellt und nach den Kühne'schen Methoden durch Ammoniumsulfat isolirt. Die Hemialbumose wurde in siedendem Wasser gelöst und durch Dialyse von dem zugesetzten Kochsalz befreit. Aus der Peptonlösung wurde die Schwefelsäure durch Barytwasser und schliesslich das Ammoniak durch Eindampfen auf dem Wasserbade entfernt.

„Heutzutage“, sagt Brücke¹⁾, „zweifelt niemand mehr daran, dass die Tyrosinreactionen des Eiweisses von einem aromatischen Atomcomplexe herrühren, der auch im Tyrosin enthalten ist und der nach O. Nasse's Beobachtungen²⁾ über die Verbreitung jener Reactionen in allen einfach hydroxyilirten aromatischen Verbindungen vorausgesetzt werden muss³⁾.“ Ebenso sichergestellt

1) E. Brücke, Über das Alkophyr und über die wahre und die sog. Biuretreaction. Sitzungsber. d. math.-nat. Classe der k. Acad. d. Wiss. zu Wien. Bd. 87. Abth. 3. 1883. S. 142.

2) O. Nasse, Über die aromatische Gruppe im Eiweissmolecül. Sitzungsber. d. naturf. Gesellsch. zu Halle. 1879. S. 25.

3) Obiger Satz wird entsprechend den neueren Untersuchungen, welche ergaben, dass diejenigen, zu den Eiweisskörpern in naher Beziehung stehenden Substanzen, unter deren Zersetzungsproducten sich Tyrosin nicht findet, auch die Millon'sche Reaction nicht zeigen, dahin eingeschränkt werden müssen, dass die Anwesenheit der Tyrosin bildenden Gruppe in den Eiweiss- und eiweissartigen Substanzen für das Zustandekommen der Millon'schen Reaction ein unbedingtes Erforderniss zu sein scheint. Damit soll aber natürlich nicht gesagt werden, dass die Millon'sche Reaction in diesem Auftreten vom Tyrosin als solchem und nicht von einem weit einfacheren Atomcomplexe bedingt wird, welcher im Tyrosin, oder richtiger gesagt, in der Tyrosin liefernden Gruppe mitenthalten ist.

Um einen weitem Aufschluss über die Tyrosin bildende Gruppe im Eiweiss zu gewinnen, versuchte ich, die Piria'sche Probe mit Eiweiss und albuminoiden Substanzen, welche noch auf die Millon'

ist jetzt auch die Thatsache, dass die Xanthoproteinsäurereaction ausser jener Tyrosin liefernden Gruppe noch einem Atomcomplexe

sche Probe reagiren, zu erhalten. Ich erinnere daran, dass bezüglich der Piria'schen Probe früher L. Barth (Zur Geschichte des Tyrosins. Sitzungsber. d. math.-nat. Classe der k. Akad. d. Wiss. zu Wien. Bd. 52. Abth. 2. 1865. S. 164) geäussert hat: „Die violette Farbenreaction der sulfotyrosinsauren Salze mit Eisenoxydsalzlösungen ist, wie ich mich überzeugt habe, auch auf Rechnung der Paroxybenzoesäure zu schreiben. Stellt man die Piria'sche, von Staedeler modificirte Tyrosinreaction mit Paroxybenzoesäure an, so erhält man eine dunkelrothe Farbenercheinung.“ — Mit voller Deutlichkeit habe ich die Piria'sche Reaction sowohl an Serumeiweiss und Keratin als auch an Fibroin eintreten sehen. Wie die Methode vorschreibt, waren die Substanzen mit conc. Schwefelsäure 20 Minuten lang auf dem Wasserbade erwärmt, die blutrothen resp. gelbbraunen Flüssigkeiten mit Baryumcarbonat neutralisirt und die Filtrate mit sehr verdünnter Eisenchloridlösung versetzt. Damit der violette Farbenton in den gewöhnlich stark alkalischen Proben scharf hervortritt und nicht durch ausgeschiedenes Eisenoxydhydrat verdeckt wird, erwies es sich als zweckdienlich, einen Tropfen reiner Salzsäure vorsichtig, der Wandung des Gefässes entlang, an den Grund der fertig gestellten Probe treten zu lassen. Die Skeletine habe ich auf den Eintritt dieser Reaction nicht geprüft; denn ich gewann die Überzeugung, dass negative Resultate hier wenig besagen, und nur durch die warme Schwefelsäure aus den Eiweissstoffen in Freiheit gesetztes Tyrosin, nicht die Tyrosin liefernde Gruppe im Eiweissmolecul den sehr unsicheren positiven Ausfall der Probe bedingt. Für ein Verständniss des Gelingens und Nichtgelingens der Millon'schen wie mehrerer anderer Reactionen an Eiweiss und seinen einzelnen Abkömmlingen sind diese Befunde von der allergrössten Wichtigkeit; denn sie lehren, dass grobe Täuschungen nicht ausgeschlossen bleiben, wenn man ohne ein ausgiebiges Vergleichsmaterial, allein folgend den chromophoren Gruppen, auf die Anwesenheit der chemisch einfachst zusammengesetzten, reactionsfähigen Körper dieser Art als bedingendes Moment zurückgreift. Es ist zwar gesagt, die Piria'sche Tyrosinprobe sei eine sehr delicate Reaction, welche keine erheblichere Beimengungen gestatte und nur mit ziemlich reinen Tyrosinlösungen gelinge. Ich verstehe nicht, wie eine an die neutrale Beschaffenheit der Lösung so eng geknüpfte und durch ihre Farbe so scharf markirte Reaction durch die gewöhnlichen Beimengungen, welche weder auf Eisenchlorid noch auf Tyrosin reagiren, verdeckt werden soll. Man darf allerdings nicht erwarten, unter solchen Umständen, zumal wenn nur Spuren von Tyrosin zugegen sind, die Flüssigkeit im halben Reagenzrohre gleichmässig violett zu bekommen; bei Anwendung von Serumalbumin oder von Keratin glückte mir das nur wenige Male.

Bei Behandlung mit einer warm bereiteten Molybdänsäurelösung in concentrirter Schwefelsäure nehmen nach Fröhde (Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 145. S. 376) die Albuminstoffe in festem Zustande

Die wichtigsten Reactionen der

+ = Reaction erfolgt, 0 = Reaction bleibt aus.

U. l. bedeutet im Ueberschuss des Reagens löslich.

U. u. „ „ „ „ „ unlöslich.

Wo Untersuchungen fehlen

	Gelöstes Ei- weiss	Hemialbumose	Peptone	Hemielastin	Elastinpepton
Salpetersäure	+ (U. W. u.)	+ (W. l.)	0	+ (U. l.)	0
Essigsäure	+ (U. W. u.)	+ (U. W.	0	+	
Essigsäure + Ferro- cyankalium	+ (W. u.)	+ (W. l.)	0	+	0
Metaphosphorsäure .	+ (U. W. u.)	+ (U. u. W. z. Th. l.)	0		
Phosphormolybdän- säure	+ (U. W. u.)	+ (W. z. Th. l.)	+ (W. z. Th. l.)		+
Gerbsäure	+ (W. u.)	+ (W. z. Th. l.)	+ (W. l.)	+	+
Neutrales Bleiacetat	+ (U. l.)	0	0		+ m. Am- moniak
Basisches Bleiacetat	+ (U. l.)	0	Trübung	+ (U. l.)	+
Silbernitrat	+ (U. u.)	+ (U. u.)	+ (U. u.)		
Neutral. Eisenchlorid	0	0	0		
Quecksilberchlorid .	+	+ (U. W. u.)	0	+ (U. l.)	+
Alaun	Trübung	0	0		
A d a m k i e w i c z's Reaction	+	+	+	0	0
Kochprobe mit conc. Salzsäure	+	+	+		
Millon's Reaction	+	+	+	+	+
Xanthoproteinsäure- reaction	+	+	+	+	+
Biuretprobe	+	+	+	+	+

Eiweisskörper und ihrer Derivate.

W. l. bedeutet beim Erwärmen löslich.

W. u. „ „ „ unlöslich.

U. W. l. „ im Ueberschuss des Reagens wie beim Erwärmen löslich.

blieb die Rubrik unausgefüllt.

Keratinose	Keratinpepton	Glutin	Semiglutin	Hemicollin	Spongionose	Spongin-pepton	Chondroit-säure	Onuphin
+	0	0	0	0	0	0	0	
(W. l.)								
+	0	0			0	0	+	
(W. l.)							frisch	
+	0	0			0	0	0	
(W. l.)								
+	0	+			0	0	0	
(W. l.)								
+	+	+	+	+	+	+	0	
(W. z.			(W. z.					
Th. l.)			Th. l.)					
+	+	+	+	+	+	+	0	0
(W. l.)			(W. l.)			(W. l.)		
+	0	0	0	0	+	0	0	
(W. l.								
U. u.)								
+	+	0	0	+	+	+	+	
(W. l.	(U. z.							
U. u.)	Th. l.)							
+	+	0	0	+	+	0	0	
0	0	0	0	0			+	
+	0	+	+	+	0	0	0	0
(U. u.)			(W. l.)					
+	0	0			0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	
+	+	0	0	0	0	0	0	
+	+	schwach			0	0	0	
+	+	+	+	+	+	+	0	

Giebt keine Eiweissreactionen.

zukommt, welcher constanter als jene und ebenfalls aromatischer Natur, aus dem aber kein Tyrosin abzuspalten ist. Dagegen sind die Gründe, welche für die Coincidenz der Biuretreaction des Eiweisses resp. seiner Abkömmlinge mit der Anwesenheit einer Harnstoff bildenden Gruppe angeführt werden konnten, weit weniger bindende. Die Analogieen zwischen der Pepton- und der wahren Biuretreaction waren allerdings auffallende; denn für beide war gezeigt, dass 1. die roth gefärbten Lösungen durch Kohlensäure lasurblau, durch Kalizusatz wiederum roth werden (Brücke), dass 2. dieselben an Substanzen gebunden sind, welche beim Auflösen in kalter conc. Schwefelsäure nicht verändert werden (Brücke);

eine intensiv blaue Farbe an; dieses Blau geht bei den echten Eiweisskörpern, welche die Adamkiewicz'sche Reaction zeigen und dementsprechend schon durch concentrirte Schwefelsäure allein roth oder rothbraun gefärbt werden, bald in letztere Farben über. Am reinsten geben die Reaction diejenigen Albuminoide, welche die Adamkiewicz'sche Reaction nicht eingehen, wie z. B. die Keratine und das Fibroin, sehr schön, aber weniger beständig auch die Elastine. Ausser an allen echten Eiweisskörpern, an den Proteiden und Fibrinpeptonen, der Hemialbumose und den genannten Albuminoiden tritt die Reaction fernerhin an dem Elastoidin auf; am Cornein bleibt sie schwach und verschwindet bald. Glutin, Spongin, Conchiolin und Chitin geben dagegen in reinem Zustande bei Behandlung mit Fröhde's Reagenz auch nicht die leiseste Andeutung des Auftretens eines blauen oder bläulichen Farbtones; durch die Schwefelsäure nehmen diese Substanzen erst nach kürzerer oder längerer Zeit eine Verfärbung in's Röthliche oder Rothbraune an. Im Bereiche der Eiweissstoffe und ihrer Derivate deckt sich somit die Fröhde'sche vollkommen mit der Millon'schen, nicht mit der Xanthoproteinsäurereaction, obschon sie in ihrer allgemeinen Verbreitung eher der letzteren als der ersteren an die Seite zu stellen ist; denn nicht nur die einfach (Phenol, Salicylsäure, Salicin, Tyrosin), sondern auch die mehrfach (Brenzkatechin, Hydrochinon, Gallussäure) hydroxylierten Benzolderivate nehmen bei Behandlung mit Fröhde's Reagenz neben violetten, rothen, grünen und gelben Färbungen eine azurblaue Farbe an, während die Reaction an aromatischen Verbindungen mit nicht hydroxyliertem Benzolkerne (Benzoesäure, Hippursäure und Nitrobenzol) wie am Trinitrophenol und an den Fettkörpern versagt. Unter allen, von mir mit Fröhde's Reagenz geprüften chemisch reinen Substanzen erwies sich bei keiner das Blau so rein und beständig als beim Tyrosin; doch lässt sich mit derartigen Thatsachen bei den Eiweissreactionen wenig rechnen. Beweist doch auch das Nichteintreten der Fröhde'schen Reaction am Glutin, dass das Gelingen der Xanthoproteinsäurereaction an diesem nicht, wie man versucht sein könnte anzunehmen, auf die Anwesenheit eines mehrfach hydroxylierten Benzolderivates bezogen werden darf.

dass 3. das Spectrum der Reaction in beiden Fällen das nämliche ist (Hewlett Brown). Hierzu kommt noch, dass die rothen Reactionsproducte durch Alkohol nicht gefällt werden und diffusibel sind (Krukenberg). Das Diffusionsvermögen für vegetabilisches Pergamentpapier theilt aber nur die Pepton- mit der wahren Biuretreaction; die an reinen Eiweiss- und Albumoselösungen durch Kali- und Kupfersulfat erzielten rothen Farbstoffkörper sind indiffusibel und so leicht von jenen zu unterscheiden.

Nach Brücke soll eine Differenz zwischen der Pepton- und der wahren Biuretprobe darin bestehen, dass der bei ersterer auftretende rothe Farbstoff nicht zur Krystallisation zu bringen ist, während aus der wahren Biuretprobe rothe „auffallend pleurodichroitische Krystalle“ auswittern. Ich überzeugte mich indess, dass das rothe Product der Peptonreaction ebenfalls krystallisirt, und gewann die Krystalle auf folgende Weise: Eine wässrige Lösung von viel Fibrinpepton wurde so lange mit Natronlauge und Kupfervitriollösung kalt versetzt, als die Purpurfärbung sich eben noch verstärkte, kein bläulicher Farbenton der Probe auf einen Überschuss an Kupfervitriollösung hinwies. Das dazu erforderliche Reagenzquantum war durch einige Vorversuche leicht ausfindig zu machen gewesen. Darauf wurde die purpurrothe Flüssigkeit mit dem 3 bis 4fachen Volum 90 %igen Alkohols gemischt, 48 Stunden stehen gelassen, filtrirt und im Exsiccator über wenig concentrirter Schwefelsäure verdunstet. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich in dem, während weniger Tage entstandenen rothen Ringe am Rande der Schale neben zahlreichen ungefärbten Nadeln von Natron röthliche Krystalle, welche aus nichts anderem als dem Peptonbiuret bestehen konnten. Die gut ausgebildeten Krystalle lagen vereinzelt neben einander und stellten Prismen mit doppelten oder einfachen, an beiden Enden unter verschiedenen Winkeln aufgesetzten Endflächen dar; am gewöhnlichsten waren sechseckige, dünne Krystallplättchen, die, von oben gesehen, schwach geröthet erschienen und einen intensiveren Farbenton erst bei einer divergenteren Stellung annahmen. Vom Rande des Deckglases hinzutretende Salzsäure löste die Krystalle ohne Kohlensäureentwicklung auf, jeden derselben zu Beginn der Einwirkung in einen öligen Tropfen verwandelnd. Auf demselben Wege liessen sich auch die von Brücke beschriebenen Krystalle aus dem Biuret erhalten, welche mit den Farbstoffkrystallen der Peptonbiuretreaction nicht identisch sind. Dieses kann aber gewiss ebenso wenig überraschen als die missglückten Versuche,

den Farbstoff der Eiweissbiuretreaction in krystallisirter Form abzuscheiden.

Wird eine Eiweisslösung mit Natron und Kupfersulfat gekocht, die purpurfarbige Flüssigkeit mit dem 4fachen Volum absoluten Alkohols gemischt, der entstandene Niederschlag nach einigen Tagen abfiltrirt und das Filtrat über concentrirter Schwefelsäure verdunstet, so stellt sich bald eine Missfärbung der Lösung ein, und es hinterbleiben grünschwarze, von der Unterlage beim Eintrocknen leicht abspringende Schollen mit eigenthümlich blauem Reflexe. Die Verfärbung, welche die Flüssigkeit beim Eintrocknen annimmt, indem sie ihren purpurnen Farbenton mit einem unansehnlich blauschwarzen vertauscht, scheint mir allein schon anzudeuten, dass die an der Unterseite der Schollen regelmässig zu beobachtenden violettblauen Krystallbüschel ein weit abliegendes Zerfallsproduct des Eiweissbiuretes darstellen.

Nimmt man zu allen diesen Erfahrungen über die Biuretreaction noch die rasch eintretende Vermehrung der Harnstoffausscheidung nach gesteigerter Eiweisszufuhr hinzu, berücksichtigt man, dass selbst noch die Skeletine beim Kochen mit Alkalien einen Theil ihres Stickstoffs leicht als Ammoniak entwickeln¹⁾ (und dass gerade aus dieser Stickstoffabgabe Nasse²⁾ schloss, der locker gebundene Stickstoff des Eiweisses sei ähnlich „wie im Harnstoff, in den Aminsäuren und den Säureamiden, d. h. also gebunden in Form von Amid an Carbonyl“), und dass Zufuhr von Ammoniumsalzen die Menge des ausgeschiedenen Harnstoffes vermehrt, so muss die Abhängigkeit des Eintretens der Biuretreaction von der Anwesenheit einer Harnstoff liefernden Gruppe mehr als wahrscheinlich werden. Die Zeretzungsweise des Spongins macht diese Überlegung zur annähernden Gewissheit.

Unter den echten Skeletinen ist keines so sehr zu einer vollständigen und tiefgreifenden Zersetzung disponirt als das Spongini, so widerstandsfähig dasselbe auch im intacten Zustande erscheinen mag. Gelingt es seinen chemischen Bau an einer Stelle zu lockern,

1) Aus dem Chitin, welches neben der Glykosidgruppe nur noch den Indol liefernden Atomcomplex führt und die Biuretreaction nicht giebt, entwickelt sich erst beim Eindampfen mit concentrirter Kalilauge reichlicher Ammoniak.

2) O. Nasse, Über den Stickstoff der Eiweisskörper. Sitzungsber. naturf. Gesellsch. zu Halle. 1872. S. 16—19 u. Studien über die Eiweisskörper. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 6. 1872. S. 589—616.

so zerfällt es in sehr einfache Bestandtheile, das ganze Spongimolecül zerbröckelt gleichsam in die es zusammenfügenden Atom-complexe. Bei Behandlung mit überhitztem destillirten Wasser erfolgt eine energische Ammoniakentwicklung, Leucin wird nachweisbar, die Anwesenheit von Brenzkatechin und ein intensiver Caramelgeruch deuten auf einen verbrannten Zuckerstoff, welcher, wenn die Erhitzung nicht zu hoch getrieben wurde, sich auch an seinem Reductionsvermögen zu erkennen giebt und selbst im krystallisirten Zustande abgeschieden werden konnte. Die Glykosegruppe ist von allen Atomcomplexen im Spongimolecül am mächtigsten vertreten und damit mag es auch zusammenhängen, dass wir bei den Gummischwämmen statt des Spongins ein Hyalogen antreffen, welches beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure nicht weniger als 40% einer krystallisirten Zuckerart liefert, von der ich über 30 gr. besitze, die aber noch der Untersuchung harret.

Beim Oeffnen einiger mit Spongimolecül und destillirtem Wasser stundenlang über 100° C. erhitzter Röhren hatte ich schon vor einem Jahre einen widerwärtigen Geruch wahrgenommen, der den penetranten Ammoniak- und Caramelgeruch maskirte und an den des Haifischfleisches erinnerte. So kam ich auf den Gedanken, die in dem einen wie dem andern Falle sich bemerkbar machenden übeln Gase mit einer Harnstoffzersetzung in Beziehung zu bringen und wurde in dieser Auffassung noch mehr bestärkt, als ich fand, dass die Biuretgruppe im Spongimolecül die exponirteste Lage einnimmt und so viele Argumente für deren Harnstoffnatur beigebracht werden konnten.

Als ich nun den Inhalt jener 12 Röhren, welcher mir zugleich zur Darstellung der Spongionose und des Spongimolecüls diente, nach der Neutralisation auf dem Wasserbade eingedampft und mit absolutem Alkohol ausgekocht hatte, erhielt ich aus dem alkoholischen Filtrate einen syrupösen Verdampfungsrückstand, der über conc. Schwefelsäure 2 Wochen stehen blieb und in dem sich dann bei der mikroskopischen Untersuchung neben Leucinknollen spiessige Krystalle zeigten, die zu definiren mir misslang. Anorganischer Beschaffenheit konnten dieselben nicht sein, da das zu den Versuchen verwandte Spongimolecül sich als aschenfrei erwiesen hatte und 1 gr. des alkoholischen Verdampfungsrückstandes nach dem Glühen keine Asche hinterliess.

Eine Probe des alkoholischen Verdampfungsrückstandes wurde in einem Uhrgläschen mit Salpetersäure, eine andere mit Oxalsäurelösung verrieben; in beiden Fällen entstanden Krystallaus-

scheidungen, welche unter dem Mikroskope betrachtet den entsprechenden Harnstoffverbindungen täuschend ähnlich waren. Durch eine so hohe und so lange fortgesetzte Erhitzung mit destillirtem Wasser, wie sie bei der Zersetzung des Spongins von mir angewendet war, sah ich aber sehr erhebliche Harnstoffmengen vollständig dissociirt werden, und falls der alkoholische Verdampfungsrückstand des zersetzten Spongins thatsächlich Harnstoff enthielt, so liess sich dessen Unzersetzbleiben nur durch ein Entstehen desselben am Schlusse der überhitzten Wassereinwirkung erklären; erwies sich das Spongin doch nicht in allen Röhren vollständig gelöst und war, wenn unsere Deutung der Biuretgruppe zutrif, unter günstigen Umständen aus dem Spongin doch auch eine reiche Harnstoffausbeute zu erwarten.

Um diese Erwägungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, stellte ich mir nochmals reines Spongin dar, füllte 8 Röhren mit je 1 gr. desselben und mit 35—40 cbc. destillirtem Wasser, erhitzte vier derselben aber nur auf 105—110° C., die vier anderen bis auf 120° C. und zwar nicht länger als 6 Stunden. Von dem Spongin war nach dem Erwärmen in einigen Röhren noch viel vorhanden, in anderen weit mehr gelöst, und auch bezüglich der Reaction boten sich Unterschiede; es war unmöglich, bei diesen Versuchen durch Einhaltung derselben Bedingungen einen gleichen Effect zu erzielen. Ich sah deshalb davon ab, den Inhalt der weniger hoch erhitzten Röhren gesondert zu untersuchen oder eine Trennung nach dem schwächeren oder stärkeren Alkalescenzgrade der Inhaltsmassen vorzunehmen und unterzog die Flüssigkeiten aus allen 8 Röhren gemeinsam der Prüfung auf Harnstoff.

Das Filtrat wurde wie bei dem ersten Versuche mit Salzsäure neutralisirt, auf dem Wasserbade zur Syrupsconsistenz eingedickt, mit absolutem Alkohol ausgekocht und das alkoholische Filtrat über Chlorcalcium und conc. Schwefelsäure langsam verdunsten gelassen. Eine Probe des Rückstandes gab wie das erste Mal sowohl mit Salpetersäure als mit Oxalsäurelösung weisse harte Krystallisationen, die von denen der Harnstoffverbindungen in der Art des Ausscheidens und in der Form der einzelnen Krystalltäfelchen, welche zwar erst bei Hartnack IX deutlich hervortraten, nicht abwichen. Der mehrere Gramm betragende alkoholische Verdampfungsrückstand wurde mit etwa 15 cbc. Wasser aufgenommen, filtrirt, das Filtrat in einen Schlauch von Pergamentpapier gefüllt und der Dialyse gegen 60—70 cbc. absoluten Alkohols unterworfen. Nachdem die Dialyse 3 Tage unterhalten

war, wurde das alkoholische Dialysat auf dem Wasserbade eingedampft, der braune Rückstand auf's Neue mit etwas Alkohol aufgenommen, der Rückstand des Filtrates mit Petroläther gewaschen und in Essigäther gelöst. Auf Zusatz von Salpetersäure resp. von alkoholischer Oxalsäurelösung entstanden in dieser Lösung wieder die nämlichen krystallinischen Niederschläge, aber auch keine grössere Krystalltäfelchen als in dem ursprünglichen alkoholischen Verdampfungsrückstände.

Aus diesen Befunden glaube ich auf die Entstehung von Harnstoff bei der Zersetzung des Spongins schliessen zu dürfen, wenn schon ich zugeben muss, dass erst das Resultat eines in grösserem Massstabe ausgeführten Versuches, den meine Hilfsmittel nicht anzustellen erlauben, hierüber die nöthige Gewissheit gewährt wird. Entgegen den widersprechenden Urtheilen anderer Autoren (Subbotin, F. Lossen u. A.) hält Béchamp¹⁾ noch immer an seiner früheren Angabe fest, dass Albumin, ja dass sämtliche Eiweisssubstanzen bei Behandlung mit Kaliumhypermanganat eine gewisse Menge von Harnstoff liefern. Er dürfte Recht behalten! Ich habe bei den Spongininuntersuchungen ganz den Eindruck empfangen, als ob unter den angegebenen Versuchsbedingungen, wegen der leichten Zersetzlichkeit des Harnstoffes, nur die beim Abbrechen des Versuches entstehenden Mengen dieses Körpers unverändert bleiben und dass deshalb meist wohl nur Spuren davon in unsere Hände gelangen; nicht viel günstiger gestalten sich die Verhältnisse, wenn wir durch andere Mittel als durch überhitztes Wasser spaltend auf die Eiweisskörper einwirken.

„Keine thatsächlichen Gründe existiren,“ bemerkt Baumann²⁾, „welche gegen die Annahme, dass die Atomcomplexe der Spaltungsproducte des Eiweisses im Eiweissmolecül enthalten seien, sprechen, doch giebt es solche, welche für dieselbe geltend gemacht werden können.“ Dieser kühne Ausspruch — ich erinnere nur an das Indol — wird für die Leucin liefernde Gruppe noch am zutreffendsten sein. In den einfachsten Eiweissderivaten, in welchen dieser Atomcomplex erhalten blieb, im Spongin und Conchiolin, erscheint bei den mannigfachsten Zersetzungs Vorgängen das Leucin als constantes Product und Vorstufen desselben sind lediglich in

¹⁾ Dumas, Rapport sur le Mém. relatif aux matières albuminoides, présenté à l'Acad. par M. A. Béchamp. Compt. rend. T. 94. 1882. p. 1281.

²⁾ E. Baumann, Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 29. 1882. S. 419.

Producten gegeben, welche sich von der Muttersubstanz nur in den Löslichkeitsverhältnissen unterscheiden dürften, der elementaren Zusammensetzung nach von jener in kaum bestimmbarer Weise abweichen. Einen besonderen Hinweis verdient jedenfalls auch der Umstand, dass aus Eiweiss und den verdaulichen Eiweissderivaten Leucin (ebenso wie das Tyrosin) schon durch die blosser Einwirkung der Enzyme abgesplissen wird. Die geringen Mengen von Leucin, welche gegenüber den Zersetzungsproducten des Zuckers noch das auf wenige unterscheidbare Atomcomplexe reducirte Spongin bei einer gelungenen vollständigen Spaltung liefert, lässt die Mächtigkeit der Leucin bildenden Gruppe im Eiweissmolecul gering erscheinen. Quantitative Bestimmungen des bei Zersetzung verschiedener Eiweiss- und eiweissartiger Stoffe auftretenden Leucins sind von mir zwar mehrfach unternommen, führten aber zu keinem befriedigenden Resultate. Denn einerseits war das Leucin von dem Tyrosin nicht genügend zu trennen, und andererseits blieb der grösste Theil desselben mit den Peptonen vereinigt. Dieser Schwierigkeiten sind auch andere Untersucher nicht Herr geworden, und die z. B. von Erlenmeyer und Schoeffler quantitativ bestimmten Leucinmengen geben uns schon aus diesem Grunde kein Bild von der Betheiligung der Leucin bildenden Gruppe am Aufbau des Eiweissmolecöles.

Hinsichtlich der Indol liefernden Gruppe liegen die Dinge wesentlich anders. Die Indolentwicklung aus dem Chitin lässt sich nach der für diese Substanz ziemlich gesicherten empirischen Formel nur unter gleichzeitigem Austritt von Ammoniak verstehen, welcher bei dem Versuche in der That in reichlichem Masse statt hat.

Nachdem von mir ¹⁾ zuerst gezeigt wurde, wie aus Substanzen (Hyalogene), die in den entscheidenden Farbenreactionen den Eiweisskörpern durchaus gleichen, Kohlehydrate abgespalten werden können, und durch überhitztes Wasser aus jenen ebenso wie aus reinen Kohlehydraten Brenzkatechin in Freiheit zu setzen ist ²⁾, nachdem ich ³⁾ (später auch Paschutin ⁴⁾) auf die pathologische Kohlehydratentartung der Gewebe aufmerksam gemacht und die-

1) Ueber die Hyaline. Würzburg 1883.

2) Zeitschr. f. Biologie. Bd. 22. 1885. S. 269.

3) Chondrin und Chondroisäure. Sitzungsab. d. physik.-medic. Ges. zu Würzburg. 1884. S. 19—23.

4) V. Paschutin, Centralbl. f. d. medic. Wiss. 1884. S. 689—695 und Wratsch. 1884. No. 30.

selbe zu erklären versucht habe, in Uebereinstimmung damit schon früher von Kütz¹⁾ gefunden war, dass bei einem schweren Diabetiker 1240 gr. eingeführten Caseins etwa 360 gr. Harnzucker entsprechen, und mir²⁾ schliesslich auch die Trommer'sche Zuckerprobe an allen echten Eiweisskörpern gelang³⁾, wird die Anwesenheit einer äusserst resistenten Kohlehydratgruppe im Eiweiss und eine einfache Abspaltung derselben unter pathologischen Verhältnissen wohl nicht mehr in Zweifel gezogen. Alle Bemühungen, die Fette in der nämlichen einfachen Weise vom Eiweiss abzuleiten und sie in diesem präformirt zu finden, sind dagegen vollständig gescheitert; zu ihrer Bildung bedarf es sicherlich eines synthetischen Vorganges, wie wir dementsprechend Fettbildung aus Eiweiss unabänderlich an die Function lebender Zellen gebunden sehen. Während es uns geglückt ist, das Eiweisschema künstlich bis zum Keratin abzubauen, ja aus Eiweiss selbst Derivate künstlich erhalten wurden, an denen zugleich auch die Milon'sche Reaction versagt, und Zucker wie dem Gummi ähnliche Substanzen aus Eiweiss jetzt mehrfach abgespalten wurden, lässt sich der fettigen Metamorphose des Eiweisses allein erst die Eiweissbildung aus Leim und Tyrosin (T. Escher und L. Hermann) als eine besser durchsichtige Synthese an die Seite stellen⁴⁾. Man war sich wenig bewusst, dass eine gelungene Synthese verkündet

1) E. Kütz, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 6. 1877. S. 140—142.

2) Centrabl. f. d. medic. Wiss. 1885. S. 609 u. 610.

3) Ich vermag meine Verwunderung darüber nicht zu unterdrücken, dass Worm-Müller, der bei seinen zahlreichen Zuckerbestimmungen wiederholt (vgl. z. B. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 27. 1882. S. 54, 79, 90 etc.) zu dem v. Babo'schen Verfahren griff, niemals, auch nur der Controlle wegen, dasselbe an Eiweissstoffen versucht hat. Noch in einer seiner letzten Abhandlungen (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 35. 1885. S. 104) bezeichnet er das Eiweiss als eine „nicht reducirende Substanz.“

4) So lehrreich es auch sein würde, die Veränderungen des Alkalispongins und der Spongionose im thierischen Organismus und ihren relativen Nährwerth zu erfahren, so wird die Ausführung derartiger Versuche wegen der geringen Ausbeute an diesen Stoffen doch noch zu sehr erschwert. Trotzdem ich über 100 gr. Spongin mit Barytwasser zersetzte, gewann ich von den Körpern nicht so viel, um eine Elementaranalyse derselben mit Aussicht auf Erfolg unternehmen zu können. Es bilden sich, wie ich bereits hervorhob, aus dem Spongin zu leicht die Endproducte der Umsetzung, und unter der Baryteinwirkung nicht langsamer als unter der des überhitzten Wassers.

wurde, als man dem Glutin die Millon'sche Reaction absprach, dem Semiglutin dieselbe zugestand. Doch Alles was man künstlich mit den Eiweisskörpern vorzunehmen wusste, beschränkt sich auf Zerstückelungen ihres Molecüls und auch nicht zwei solcher Fragmente verstand man wieder zusammenzufügen.

Jena, d. 28. Dec. 1885.

Zur Beurtheilung des Nährwerthes der sogenannten Leube-Rosenthal'schen Fleischsolution.

Von C. Fr. W. Krukenberg.

In Folge von Untersuchungen über die Spaltung der Eiweisskörper durch überhitztes Wasser wandte sich mein Blick einem käuflichen Präparate zu, welches nach Leube's Vorschrift¹⁾ aus frischem Rindfleisch durch stundenlanges Erwärmen mit 2 %iger Salzsäure auf 110—120° C. dargestellt wird, und welches „wie die massenhaften Bestellungen“ in den, mit seiner Herrichtung betrauten Apotheken beweisen, „in kürzester Zeit in ganz Deutschland wie im Auslande Anwendung gefunden hat“. Ich meine die sog. Leube-Rosenthal'sche Fleischsolution, bei „deren Bereitung die Peptonisirung mindestens so weit getrieben“ sein soll, „als dies im Magen möglich ist“ (Rosenthal), welcher man „einen starken Peptongehalt“ zuschreibt und von der man annimmt, dass sie „grösstentheils als solche einfach resorbirbar“ (Leube) sei.

Seitdem uns Kühne²⁾ belehrt hat, dass unter den käuflichen, von Kühne in dieser Hinsicht geprüften Peptonen nur das durch Trypsinverdauung gewonnene Präparat von Sanders-Ezn zum grössten Theile aus wirklichem Pepton (Antipepton)

1) W. O. Leube, Ueber eine neue Art von Fleischsolution als Nahrungs- und Heilmittel bei Erkrankungen des Magens. Berliner klinische Wochenschr. 1873. No. 17. S. 193. — Vgl. auch: Leube, Sitzungsber. d. physik.-medic. Societät zu Erlangen. Heft 4. 1872. S. 85; Rosenthal, ebenda. Heft 5. 1873. S. 129; Leube, Ueber die Therapie der Magenkrankheiten. R. Volkmann's Sammlung klinischer Vorträge. No. 62. 1873.

2) Kühne, Albumosen und Peptone. Sep.-Abdr. a. d. Verhandl. d. naturh.-medic. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. 3. Heft 4. 1885.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft](#)

Jahr/Year:

Band/Volume: [NF 13 Supp I](#)

Autor(en)/Author(s): Krukenberg Carl Friedrich Wilhelm

Artikel/Article: [Untersuchungen über den chemischen Bau der Eiweissstoffe. 39-60](#)