

# **Myosin, seine Darstellung, Eigenschaften, Umwandlung in Syntonin und Rückbildung aus demselben.**

Von **A. Danilewsky.**

---

(Der Redaktion zugegangen am 30. Januar 1881).

---

Seitdem W. Kühne<sup>1)</sup> das Myosin entdeckt, und seine Darstellung und Eigenschaften beschrieben hat, ist dieser Körper nicht oft genug Gegenstand einer Untersuchung gewesen. Das ist umsomehr zu bedauern, als er einen grossen und wesentlichen Bestandtheil des Muskelgewebes ausmacht, und zweifellos einen der Träger der wichtigsten physikalisch-chemischen Prozesse des lebenden Muskels vorstellt.

Im Folgenden ist ein Versuch gemacht worden, diesen Körper einer eingehenden Untersuchung zu unterwerfen, um seine chemische Natur gegenüber anderen Eiweissstoffen, seine Umwandlungen und seine Bildungsweise wenigstens theilweise aufzuklären.

Was seine Darstellung betrifft, so ist die von W. Kühne angegebene und später von Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> verbesserte Kochsalzmethode eine ganz brauchbare, doch ist es noch besser, statt Kochsalz eine Salmiaklösung anzuwenden. Salmiak zeigt für Myosin ein viel grösseres Lösungsvermögen als Kochsalz, dem entsprechend sind beim Salmiak die lösenden Concentrationsgrenzen viel weiter als beim Kochsalz. Myosin wird von einer Salmiaklösung von 7, 8—20% und darüber leicht gelöst. Das Eintragen von trockenem Salmiak scheidet nur einen ganz kleinen Theil aus, dagegen wird Myosin aus

---

<sup>1)</sup> W. Kühne, Physiologische Chemie, Leipzig 1868.

<sup>2)</sup> F. Hoppe-Seyler, Handbuch physiologisch- u. pathologisch-chemischer Analyse.

seinen Salmiaklösungen durch Kochsalzstücke wie gewöhnlich ausgefällt. Aus den Muskeln wird Myosin durch Salmiak viel rascher und vollständiger ausgelaugt als durch Kochsalz.

Seine Darstellung läuft also auf Folgendes aus: Das fein zerhackte und vollständig mit Wasser ausgelaugte fett- und sehnenfreies Fleisch (am besten wenig gefärbtes, also vom Kalb, Kaninchen, Huhn, Frosch) wird schwach ausgepresst, mit 10—20% Salmiaklösung angerührt und mehrere Stunden ruhig stehen gelassen. Nach dem Coliren lässt sich die Flüssigkeit durch Papier gut filtrieren. Man erhält eine dicke, nicht fadenziehende, opalescirende Flüssigkeit, deren schwach saure Reaktion auf Lakmus lediglich vom Salmiak abhängt.

Die bis jetzt vom Entdecker selbst, von Hoppe-Seyler und Weyl<sup>1)</sup> bekannt gemachten Eigenschaften des Myosins beziehen sich nur auf seine Lösungs- und Fällungsverhältnisse und geben gar keinen Einblick in seine chemische Beschaffenheit. Dessen ungeachtet sind die von den genannten Autoren gemachten Angaben so für Myosin charakteristisch, dass man dasselbe mit keinem anderen den «Globulinen» nicht angehörigen Eiweisskörper verwechseln kann. Wir wissen danach, dass Myosin eine leicht veränderliche Substanz ist, dass es durch schwache Wärme, durch Trocknen, selbst durch viel Wasser (Weyl) seine Löslichkeit in neutralen Salzlösungen einbüsst, dass es durch verdünnte Mineralsäuren schnell in Syntonin übergeführt wird. Als die schärfsten Merkmale des Myosins müssen seine Löslichkeit in Salzlösungen ( $\text{ClNa}$  und  $\text{ClNH}_4$ ), seine Fällbarkeit durch Wasser und Kochsalzstücke angesehen werden.

Zu diesen vielfach bestätigten Angaben kann ich nun auf Grund meiner Erfahrungen neue Thatsachen zu seiner Charakteristik anführen; dasselbe werde ich auch für Syntonin und andere Stoffe thun können. Wir fangen aber mit Myosin an.

I. Myosin. Hat man sich mittelst 12—15% Salmiaklösung aus fein zerkleinerten und gut von Blut befreiten

<sup>1)</sup> Zeitschrift f. physiologische Chemie, Bd. I. S. 72.

Muskeln eine dicke, opalescirende aber klare Lösung des Myosins dargestellt, und tropft man sie in ein hohes Gefäss mit destillirtem Wasser, so werden die Tropfen trüblich und zerfallen bald. An ihrer Stelle findet sich im Wasser ein äusserst feines, zartes Gerinnsel, welches langsam den Boden des Gefässes gewinnt. Giesst man das überstehende Wasser weg, und spült das Gerinnsel mit sehr wenig Wasser nach, so zeigt es die Eigenschaften des normalen Myosins.

Je weniger man Salmiaklösung für die gleiche Menge Muskelsubstanz angewendet hat, desto dickflüssiger ist die Myosinlösung und desto zusammenhängender und fester erscheint das Gerinnsel auf Wasserzusatz. Die Salmiaklösung des Myosins wird bei 42—43° etwas trüblich, bei 45—50° stark trübe und bei 55° wird die Substanz flockig ausgeschieden. Je concentrirter die angewandte Salmiaklösung, bei desto niedrigerer Temperatur erfolgt die Trübung und Ausscheidung, jedoch nie unter 40°. Das rasch mit nicht zu viel Wasser durch Decantation ausgewaschene Gerinnsel zeigt nun folgende Eigenschaften.

1. Es bindet Mineralsäuren. Wird das Myosingerinnsel in wenig Wasser vertheilt, zu dem Gemisch unter Umrühren tropfenweise  $\frac{1}{10}$  normaler Salzsäure zugesetzt und nach jeden 1—5 Tropfen die Flüssigkeit mittelst Tropaeolin 00<sup>1)</sup> auf einer Porzellanfläche geprüft, so sieht man, dass eine grosse Menge der Säure vom Myosin unter gleichzeitiger Auflösung gebunden und durch Tropaeolin als freie Säure nicht mehr angezeigt wird. Macht man parallel einen Versuch mit gleicher Menge Wasser anstatt Myosinmischung so zeigen die ersten Säuretropfen die Reaktion der freien Säure auf Tropæolin. Setzt man die Salzsäure hinzu bis Tropæolin einen kleinen Ueberschuss, d. h. freie Säure anzugeben anfängt, verdampft die Lösung und trocknet den Rückstand bei 100° bis zu constantem Gewicht, so findet man in der Substanz eine grosse Menge Chlor. Dasselbe Resultat wird erhalten, wenn Myosin aus den Muskeln mit irgend einer anderen Säure als Salzsäure ausgezogen war, durch Neutralisation

<sup>1)</sup> Centralblatt f. d. med. Wissenschaften 1880, Nr. 51.

der Säure mit Soda gefällt, mit Wasser ein wenig gewaschen und dann wie oben mit Salzsäure behandelt wird.

✓ 2) Myosin enthält Ca, Mg und Phosphorsäure. Aeschart man möglichst wenig mit Wasser behandeltes Myosingerinnsel ein, so zeigt die Asche eine alkalische Reaktion. Der wässerige Auszug der Asche enthält nur CaO, keine Spur Magnesium und Phosphorsäure. Der unlöslich gebliebene Rückstand der Asche enthält Calciumphosphat, Magnesiumphosphat und schwefelsauren Kalk. Die Schwefelsäure der Asche muss von dem Schwefel des Myosins herkommen. Charakteristisch für Myosin ist das Vorkommen des mit unorganischen Elementen nicht verbundenen Calcium. Weiter unten werden genauere Thatsachen darüber angeführt werden.

3) Starke Basen werden vom Myosin nicht gebunden. Ich konnte mit Tropæolin 000 Nr. 1<sup>1)</sup>, welches freie lösliche Metallhydroxyde anzeigt, keine sichere Bindung dieser Basen durch Myosin constatiren. Ich kann aber nicht verschweigen, dass eine kleine Menge Natronlauge, welche zu Myosin zugesetzt und dasselbe eben nur aufgelöst hat, nicht so scharf von Tropæolin angezeigt wird, wie dieselbe Menge Natronlauge in einem entsprechenden Volum Wasser. Da aber andere lackmusröthende Eiweissstoffe wie z. B. Casein das Natron so binden, dass es Tropæolin gar nicht verändert, und darum das Natron mit Casein zu einem Salz verbunden anzunehmen ist, so ist es sicher, dass im Falle die Base vom Myosin wirklich gebunden wird, dieses auf eine andere Art, als beim Casein geschieht. Das Verhalten beider Körper zu Lackmus führt zu demselben Resultat, da Casein Lackmus stark röthet, Myosin aber gar nicht.

4) Wird Myosin mit 50% Alkohol gekocht und heiss filtrirt, so wird das Filtrat durch sehr starke Abkühlung nicht getrübt.

5) Wird eine concentrirte Salzlösung des Myosins durch Erhitzen coagulirt, so enthält die klar abgesetzte Flüssigkeit eine ansehnliche Menge Calcium. Wird eine salzsaure Myosinlösung mit Natronlauge gefällt, der feuchte Niederschlag für

<sup>1)</sup> Centralblatt f. d. medicinischen Wissenschaften 1880, Nr. 51.  
Zeitschrift f. physiologische Chemie V.

sich erhitzt und stark coagulirt, so enthält die Flüssigkeit stets Calcium.

6) Myosin wird leicht, schnell und vollständig durch angesäuerte Pepsinlösung, dagegen langsam und unvollständig durch alkalische Trypsinlösung peptonisirt. Für Eieralbumin oder für Casein ist der Satz umgekehrt gültig.

Für manche Versuche ist die Salzdarstellungsmethode des Myosins unbequem, denn, wie schon Weyl<sup>1)</sup> gezeigt hat, wird das mit Wasser ausgefällte Myosin durch Auswaschen in Salzen unlöslich, was auf einer weiter unten zu besprechenden Umwandlung beruht. Es gibt eine andere nicht minder einfache Darstellungsmethode, welche von diesem Uebel freier ist und in Folgendem besteht.

Man meint und man gibt gewöhnlich in Lehrbüchern an, dass Myosin durch verdünnte Salzsäure rasch in Syntonin übergeführt wird. Nur Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> machte die Beobachtung, dass diese Umwandlung keine zu schnelle ist, indem er bemerkt, dass wenn man eine nicht zu lange gestandene salzsaure Myosinlösung durch Neutralisation fällt, im Niederschlag unverändertes Myosin wieder erhalten wird. Beide Angaben sind richtig, jede in ganz bestimmten Grenzen und Bedingungen.

Wir haben oben gesehen, dass Myosin Salzsäure bindet und zu gleicher Zeit in Lösung übergeht. Diese Angabe muss jetzt in der Weise vervollständigt werden, dass eine gegebene Menge in Wasser vertheiltes Myosin, zu welcher man tropfenweise unter Umrühren verdünnte Salzsäure zufügt, sich schon dann vollständig auflöst, wenn noch nicht die ganze verbindbare Menge Säure zugesetzt war. Ich habe gefunden, dass ungefähr die Hälfte dieser Säure genügt, um die ganze Menge Myosin in Lösung zu halten. Eine solche Myosinlösung mit zur Sättigung unzureichender Salzsäuremenge kann wochenlang bei gewöhnlicher Temperatur stehen bleiben, ohne dass das Myosin seine normalen Eigenschaften verliert. Ja noch mehr, diese Lösung kann sogar bis 30—35° C. eine Stunde und länger erhitzt werden, ohne Veränderung des Myosins.

<sup>1)</sup> Loc. cit.

Man stellt sich eine solche Myosinlösung dar, indem man die blutfreie, fein zerkleinerte Muskelmasse mit wenig Wasser anrührt, in zwei ungefähr gleiche Theile theilt, und zu der einen verdünnte Salzsäure unter Umrühren so lange zusetzt, bis Tropæolin 00 eine nicht mehr mit der Zeit verschwindende Reaktion der freien Mineralsäure anzeigt. Jetzt werden beide Fleischpartien zusammengemischt, die Masse gut umgerührt, stehen gelassen, colirt und filtrirt.

Hat man in den Händen eine Myosinlösung sogar mit einem kleinen Ueberschuss der Salzsäure, so ist für sie die Beobachtung Hoppe-Seyler's massgebend. Ist aber der Säureüberschuss gross, und besonders ausserdem die Temperatur etwas erhöht, so geht die Umwanlung in Syntonin rasch von Statten.

Die Myosinlösung mit unzureichender Salzsäure wird durch Neutralisation der Säure mit Natronlauge, Soda- oder Kalkwasser gefällt.

Ist die Lösung sehr concentrirt, so fällt Myosin in durchscheinenden, gallertartigen Klumpen, welche innwendig hartnäckig eine gewisse Menge der sauren Lösung enthalten, so dass ungeachtet der vollständigen Ausfällung diese Klumpen Lakmuspapier gut röthen. Um neutrales Myosin zu erhalten, muss man darum nicht zu concentrirte saure Lösungen in Arbeit nehmen. Andererseits muss man sich auch gegen zu verdünnte saure Lösungen in Acht nehmen, denn die grosse Wassermenge kann verändernd auf das ausgeschiedene Myosin einwirken. Man muss aber nie vergessen, dass wie die Umwandlung in Syntonin, so auch die Veränderung durch Wasser stets mit Verlust der Löslichkeit in Kochsalz- oder Salmiaklösungen einhergeht. Man hat also in diesem Lösungsverhältniss ein ganz sicheres Prüfungsmittel um den Myosinzustand der neutralen Substanz zu constatiren.

Alle von mir oben angegebenen charakteristischen Eigenschaften des Myosins aus Salmiaklösung beziehen sich in derselben Weise auch auf Myosin aus Salzsäurelösung.

Diese beiden Lösungsmittel ziehen das Myosin aus der Muskelmasse so schnell und bei wiederholter Behandlung mit

erneuerten Mengen' so vollständig aus, ohne die übrigen Bestandtheile der blutfreien Muskeln zu verändern, dass sie ohne Zweifel zu quantitativen Bestimmungen des Myosins in den Muskeln Anwendung finden werden. Für diesen Zweck muss nur die verändernde Einwirkung des Wassers auf Myosin berücksichtigt werden, welche auch auf das noch im Muskelbündel sich befindenden Myosin zu Stande kommen kann. Um dieser Veränderung, welche überhaupt nur sehr langsam und von sehr grossen Wassermengen hervorgebracht wird, vorzubeugen, muss man, nachdem das meiste Blut entfernt ist, die grossen Wassermassen durch wiederholtes schwaches Auspressen des mit wenig Wasser angerührten feinen Muskelbreies zu ersetzen suchen.

Da die Säurebindung durch Myosin so charakteristisch ist und da die von mir angegebenen Erkennungsmittel dieser Bindung bei einiger Uebung und Gewohnheit beständig und scharf genug sind, so habe ich die gebundenen Säuremengen mehrmals quantitativ bestimmt. Eine unbekante Menge von feuchtem, frisch gefälltem, durch Fliesspapierlager von dem grössten Theil des Wassers rasch befreitem, neutral reagirendem und in Salniak löslichem Myosin wird in wenig Wasser vertheilt und eine  $\frac{1}{10}$  normale Chlorwasserstoffsäure aus einer Bürette unter Umrühren so lange in die Mischung eingetragen bis die Tropæolinflecke 00 auf Porcellan einen nicht mehr verschwindenden Ueberschuss der Säure anzeigen. Die saure Lösung wird verdampft, bei 100—105° C. bis zu constantem Gewicht getrocknet, gewogen, verascht und die Asche wieder gewogen. Die auf diese Weise erhaltenen Zahlen haben nun Folgendes ergeben.

(Tabelle I. auf folgender Seite.)

Die angeführten Zahlen zeigen manches Interessante, was weitere Forschung verdient. Ich habe keinen Grund, die grossen Unterschiede der Sättigungscapazität der Myosine verschiedener Thiere als einen Bestimmungsfehler anzusehen und glaube vielmehr, dass die angedeuteten Unterschiede zwischen verschiedenen Myosinen wirklich existiren können.

Tabelle I.

Nr.	Substanz und ihre Quelle.	Ihre Menge + Salzsäure bei 100—105° Cels.	Cl H-Gehalt in %.	Die Substanz lieferte Asche in %.	Eigenschaften der Salze.
1.	Myosin aus Ochsenfleisch mit Salzsäure dargestellt.	2,7372	4,08	1,37	Schwach alkalisch. Der Wasserauszug gibt Ca und keine Spur von Mg an.
2.	Dasselbe.	2,9507	3,41	0,50	Dieselben.
3.	Dasselbe.	1,3916	4,00	0,75	Dieselben.
4.	Dasselbe.	2,1945	3,86	0,60	Wie oben.
5.	Dasselbe.	0,7734	3,80	0,55	Wie oben.
6.	Myosin aus Ochsenfleisch m. Salmiaklösung dargestellt.	1,9233	3,56	—	—
7.	Myosin aus Kalbfleisch mit Salzsäure dargestellt.	1,3966	4,87	1,30	Wie oben.
8.	Myosin aus Kaninchenfleisch mit Salzsäure dargestellt.	5,8200	3,12	1,14	Wie oben.

Die stark geglühte Myosinasche enthält stets etwas Calciumoxyd, welches vom Wasser aufgenommen wird. Ich habe dreimal diese Menge Calciumoxyd bestimmt, indem ich es mit sehr verdünnter, kalter Essigsäure aus der Asche extrahirte und auf gewöhnliche Weise zuletzt als Calciumoxyd wog. Es wurde erhalten 0,12; 0,10; 0,14% CaO vom Myosin-gewicht. Das genauere Studium der Myosinasche hat aber gezeigt, dass stets ein Theil seines Calcium durch die beim Verbrennen sich bildende Schwefelsäure gebunden wird. Um einen richtigeren Ueberblick über die unorganischen Bestandtheile des Myosins zu gewinnen, habe ich die letztere in einer grösseren Myosinmenge bestimmt, indem ich das abgewogene Myosin in einer schwachen Lösung von chemisch reiner Soda unter Erwärmen aufquellen liess, wieder trocknete und erst dann verbrannte.

Es wurden 13,9370 gr. salzsaures Myosin bei 100 - 105°C. getrocknet in Arbeit genommen. Aus einer anderen kleineren

Portion wurden 0,93% Asche erhalten. In der Asche der grossen Portion wurden Calcium, Phosphorsäure und Magnesium bestimmt und gefunden:

Ca — 0,06547 gr.; PO<sub>4</sub> — 0,04248 gr.; Mg — 0,0100 gr.

Ca — 0,47%; PO<sub>4</sub> — 0,30%; Mg — 0,07%.

Um die gegenseitigen Beziehungen dieser Elemente im Myosin zu interpretiren, muss man unbedingt folgende Beobachtungen berücksichtigen.

Es ist schon oben angegeben worden, dass Myosin bei seiner Coagulation durch die Hitze Calcium verliert, welches in die Flüssigkeit übergeht. Ich konnte in dieser Flüssigkeit neben Calcium nie sicher Magnesium nachweisen, welches aber in der Asche des Coagulums vorhanden ist. Diese Asche ist stets neutral und gibt dem Wasser nichts ab. Dagegen ist die Asche des Myosins, sogar des salzsauren Myosins immer eine schwach alkalische und gibt im Wasser Calcium ab. Man ist dadurch gezwungen, anzunehmen, dass ein Theil (wenigstens) des Calcium im Molekül nicht mit der unorganischen Säure, (resp. Phosphorsäure) verbunden ist, dagegen scheint das Magnesium vollständig an diese Säure geknüpft zu sein. Berechnet man nach diesem Prinzip die gefundenen Zahlen, so findet man, dass zur Sättigung der ganzen Menge Phosphorsäure das sämmtliche Magnesium und 0,0100 gr. von der vorhandenen Calciummenge erforderlich sind, und dass 0,0556 gr. Calcium = 0,39% frei für anderweitige Bindungen übrig bleiben.

Dieses quantitative Resultat stimmt also sehr schön mit den oben beschriebenen Erscheinungen der Abspaltung von Calcium bei gewissen Umwandlungen des Myosins.

*Bemerkung.* Die Summe der drei bestimmten unorganischen Myosinbestandtheile ist etwas kleiner als die von demselben Präparat gelieferte Asche; man muss aber nicht vergessen, dass diese Asche einen Zuwachs durch die gebildete und an Calcium gebundene Schwefelsäure erlitten hat.

Die ungemein leichte Abtrennung dieses Calciumtheiles, selbst durch viel Wasser, durch eine Temperatur, welche kaum 70° erreicht, ja wie es scheint durch Wasserverlust

beim langen Liegen des feuchten Myosins auf Fliesspapier und vielleicht auch durch Pressen des feuchten Myosins, spricht dafür, dass das Calcium oder vielmehr das Calciumoxyd an irgend welche organische Atomgruppen des Moleküls, welche die Rolle sehr schwacher Säuren spielen, gebunden ist. (Vielleicht sind es gerade diese Gruppen, welche ihr Calciumoxyd gegen Natriumoxyd beim Behandeln des Myosin mit dem letzteren, austauschen und dadurch die Wirkung der zugesetzten Natronlauge auf Tropæolin 000 Nr. 1 etwas schwächen? S. oben.) Ueber die mögliche Erkenntniss dieser das Calciumoxyd bindenden Atomgruppen wird weiter unter die Rele sein.

II. Syntonin. Obwohl dieser Körper genug studirt ist, so glaube ich doch in Folgendem einige neue chemische Züge in ihm gefunden zu haben, welche zu seiner besseren Charakteristik dienen können.

1) Syntonin bindet bei gewöhnlicher Temperatur Säuren. Die kleinste Menge der Säure, welche es in gequollenen Zustand überführt, verursacht eine Röthung des Lakmus. Nur Tropæolin 00 gibt die gebundene und die überschüssige Menge Säure an. Zu seiner Lösung genügt ungefähr die Hälfte der zur Sättigung nothwendigen Säure (ClH).

2) Syntonin enthält zwischen 0,5 und 0,7% unorganische Elemente, welche aus Calcium, Magnesium und Phosphorsäure bestehen. Die von Syntonin beim Verbrennen gebildete Asche ist stets neutral und gibt dem Wasser nichts ab.

3) Salmiaklösung zwischen 10—20% löst Syntonin gar nicht. Er quillt darin sogar nicht auf und setzt sich bald zu Boden. Mischungen von Myosin und Syntonin können durch sehr concentrirte Salmiaklösung in der Weise getrennt werden, dass Myosin in Lösung geht und Syntonin mit der Zeit bei ganz ruhigem Stehen in einem hohen Gefässe langsam zu Boden fällt.

4) Für die Frage, ob Syntonin Alkalien bindet, gilt dasselbe was bei Myosin gesagt wurde.

Syntonin wird sehr leicht aus Myosin gebildet, aber dazu müssen ganz bestimmte Bedingungen zugegen sein, welche

die Quantität der Säure und die Temperatur betreffen. Ich habe schon oben erwähnt, dass Myosin in für seine Sättigung unzureichender Salzsäure gelöst wochenlang bei Zimmertemperatur ohne Veränderung stehen bleiben kann. Es ist aber nicht der Fall, wenn man eine solche Lösung erwärmt. Erwärmt man eine salzsaure Myosinlösung mit der Hälfte der zur Sättigung nothwendigen Säure bei 30° eine Stunde lang, so zeigt die vorsichtig durch Neutralisation ausgeschiedene Substanz alle normalen Myosinmerkmale, hauptsächlich löst sie sich vollständig und schnell in 12—20% Salmiaklösung, ohne nach mehreren Stunden irgend welche Flöckchen oder eine Trübung erscheinen zu lassen. Unterhält man die Erwärmung der salzsauren Myosinlösung eine Stunde bei 40° C., so findet man im Neutralisationspräcipitate eine ganz kleine Menge Syntonin, welches in der Salmiaklösung des unverändert gebliebenen Myosins eine Trübung verursacht und sehr langsam in sehr zarten Flocken zu Boden sinkt. Bei 45° C. wird mehr Syntonin gebildet. Bei 50° C. findet man mehr Syntonin als Myosin. Bei 55° C. habe ich nur noch sehr wenig Myosin angetroffen.

Untersucht man die Asche von dem gebildeten Syntonin und noch zurückgebliebenen Myosin, so ist die des ersteren neutral, die des zweiten schwach alkalisch und gibt an Wasser Calciumoxyd ab.

Man muss also die Temperatur 40—45° C. als eine kritische für die Bindungsweise des Calcium im Myosinmolekül ansehen, oberhalb welcher diese Verbindung in Gegenwart von sogar gebundener Salzsäure nicht stabil wird.

Diese Umwandlung des Myosins geht viel rascher vor sich bei 40—50° C., wenn man einen kleinen Ueberschuss der Salzsäure über die Sättigung des Myosins in Lösung bringt. Da Myosin bei seinem Uebergang in Syntonin sicher Calcium verliert, so lag es auf der Hand anzunehmen, dass ein Theil der Salzsäure damit in Verbindung tritt. Ist dieses wirklich der Fall, so müsste man diese Bindung der Säure durch Calcium des Myosins mit Tropæolin verfolgen können. Dies gelingt in der That auf folgende Weise. Man nehme ungefähr

einen halben Liter einer mässig concentrirten salzsauren Myosinlösung mit so viel Säure, dass Tropæolin nur eben schwach verdunkelt wird und erhitzte es 5--10 Minuten auf 35--40°. Prüft man jetzt einen abgekühlten Tropfen der Flüssigkeit mit Tropæolin, so giebt dieses keinen Ueberschuss der Säure an, d. h. es wird nicht verdunkelt. Fügt man jetzt nochmals Säure hinzu bis Tropæolin wieder einen Ueberschuss angibt, erwärmt von Neuem und prüft wieder, so ist auch dieser Ueberschuss verschluckt und so weiter bis man beim vierten — sechsten Male findet, dass der Ueberschuss zuerst langsamer und endlich gar nicht mehr verschwindet. Untersucht man parallel mit Tropæolinprüfung das Neutralisationspräcipitat kleiner Flüssigkeitsproben mit Salmiaklösung, so bemerkt man allmählichen Zuwachs der Menge des Syntonin, welches zuletzt allein vorhanden ist, denn die Flüssigkeit über den in einer Salmiaklösung zu Boden gefallen Syntoninflocken erscheint wasserklar und enthält nur Spuren von organischer Substanz.

Es war von Interesse zu wissen, wie gross dieser Syntonin bildende Ueberschuss der Salzsäure sein kann. Für diesen Zweck habe ich eine grosse Menge Myosin aus Ochsenfleisch mit Salzsäure sorgfältig gesättigt. Von der filtrirten Flüssigkeit wurden 1) 50 Cc. abgemessen, in welchen die Quantität der Substanz bei 100—105° bestimmt wurde und 2) 500 Cc., in welchen durch wiederholten Zusatz von  $\frac{1}{10}$  norm. Salzsäure das Myosin vollständig in Syntonin übergeführt wurde. Mit einer dritten Portion feuchten Myosins wurde die von ihm gebundene Menge Salzsäure bestimmt. Nach den Angaben sub 1) wurde die Substanzmenge in 500 Cc. Myosinlösung berechnet. Es sind folgende Zahlen erhalten worden:

- a) Myosin bindet 4,0% ClH.
- b) 500 Cc. Lösung enthielten 6,3740 grm. salzsaures Myosin mit 0,2550 gr. ClH.
- c) 6,3740 gr. salzsaures Myosin haben beim Uebergang in Syntonin 0,0380 gr. ClH verbraucht, welche auf Myosin bezogen, 0,62% und auf die Salzsäure des salzsauren Myosins bezogen 16,8% ausmacht.

Wie gesagt, lag es auf der Hand, anzunehmen, dass dieser Syntonin bildende Säureüberschuss dem Myosin das Calcium raubt, ob es aber nur dieses thut, war ganz unbestimmt. Die gefundenen Zahlen aber lassen sich sehr gut zu einer Aufklärung dieser Frage folgenderweise benutzen.

Aus der oben beim Myosin angeführten sehr sorgfältig gemachten Aschenanalyse wissen wir, dass Myosin 0,39% Calcium lose, an organische Atomgruppen gebunden enthält. Die Syntonin bildende Salzsäure macht 0,62% des Myosins aus und entspricht 0,60% Chlor. Nun aber fordern 0,39 gr. Calcium zu ihrer Sättigung 0,69% Chlor.

Will man nicht pedantisch mit dergleichen Versuchen umgehen, so muss man für bewiesen halten, dass die Syntonin bildende Säuremenge gerade zum Abspalten des lose gebundenen Calcium des Myosin verbraucht wird.

Die Bestimmungen der Sättigungscapacität des Syntonins mit Salzsäure geben folgende Zahlen:

Tabelle II.

Nr.	Substanz.	Salzsaures Syntonin bei 100—105°.	Salzsäure in %.	Asche in %.	Cl H im salzsaurem Myosin, aus welchem Syntonin dargestellt wurde.
1.	Syntonin aus Ochsenfleisch. Aus Myosin Nr. 1 der Tabelle.	1,8535	3,50	0,75 neutral.	4,08%
2.	Syntonin aus Kalbfleisch. Aus Myosin Nr. 7 der Tabelle.	1,6249	4,36	0,57 neutral.	4,87%
3.	Syntonin aus Kaninchenfleisch. Aus Myosin Nr. 8 der Tabelle.	2,7907	2,80	0,60 neutral.	3,12%

Die Tabelle zeigt eine interessante Thatsache, nämlich, dass Syntonin stets eine etwas kleinere Sättigungscapacität zeigt, als das Myosin aus welchem es herkommt.

Es war in physiologischer Hinsicht wichtig zu wissen, ob in den Muskeln Syntonin vorgebildet vorhanden ist, oder ob nur Myosin dort vorkommt. Man könnte zur Entscheidung dieser Frage zwei Mittel anwenden: erstens die Unlöslichkeit des Syntonins in Salmiaklösung; da Syntonin nicht minder in für seine Sättigung unzureichender Salzsäuremenge löslich ist als Myosin, so musste es sich falls es im Fleische zugegen ist, in ungenügender Salzsäuremenge mit dem Myosin auflösen und durch Neutralisation ausgefällt, sogleich durch Salmiaklösung angezeigt werden. Mehrfache Versuche beweisen aber, dass, ausser Spuren, welche von Salmiaklösung nicht angezeigt werden, im Fleische vorgebildetes Syntonin sich nicht vorfindet, denn die Neutralisationspräcipitate der fractionirt dargestellten salzsauren Auszüge aus sorgfältig zerkleinertem und ausgewaschenem Fleische lösen sich leicht und vollständig in Salmiakflüssigkeit auf.

Das zweite Mittel gründete sich auf die kleinere Sättigungscapacität des Syntonins. Wäre letzteres im salzsauren Auszuge des Fleisches vorhanden, so müsste Myosin, das mit Salmiak aus dem Fleische extrahirt war, eine grössere Sättigungscapacität zeigen als das Myosin des salzsauren Auszuges. Die Zahlen der Tabelle I liefern aber ein negatives Resultat. Beide Mittel führen also zu dem Schluss, dass frische, aber abgestorbene Muskeln kein Syntonin vorrätig enthalten. Dieser Schluss kann begreiflich nicht ohne Weiteres auf den lebendigen Muskel in seinen verschiedenen physiologischen Zuständen bezogen werden.

III. Unlöslich gewordenes Myosin und Syntonin. Wir haben oben gesehen, dass, wenn Myosin sein lose gebundenes Calcium an Salzsäure abgibt, es in Syntonin verwandelt wird. Das Abspalten dieses Calciums scheint für diese Umwandlung massgebend zu sein. Allein es gibt noch ein Mittel dieses Calcium abzuspalten, und das Produkt dieses Vorganges ist kein Syntonin. Das Mittel besteht in der bekannten (Weyl, loc. cit.) Einwirkung von viel destillirtem Wasser auf Myosin, welches aus Salmiaklösung mit Wasser oder aus salzsaurer Lösung durch Neutralisation ausgeschieden

war. Um in beiden Fällen das Calcium vollständiger abzuspalten, müssen die Bodensätze nicht auf dem Filter, sondern nur durch Decantation mit viel Wasser behandelt werden. Prüft man von Zeit zu Zeit kleine Proben mit Salmiaklösung und mit 0,1% Salzsäure, so sieht man, dass Myosin allmählig und zuerst seine Löslichkeit in Salmiak verliert, aber noch ein wenig darin aufquillt und glasartig wird, dann wird auch diese Eigenschaft allmählig verloren, noch später verschwindet die leichte Löslichkeit in Salzsäure und es hinterbleibt nur noch eine glasartige Aufquellung in dieser Säure. Verbrennt man jetzt die Substanz, so hinterlässt sie eine neutrale Asche, welche wenig Calcium, mehr Magnesium und Phosphorsäure enthält. Die Substanz ist unlöslich in Kalkwasser. Sie ist kein Syntonin, und differirt vom Myosin in mehr Hinsichten als Syntonin (siehe weiter unten Tabelle III). Es muss also Myosin bei dem Uebergange in den unlöslichen Zustand durch Wassereinwirkung mehr Veränderungen erlitten haben, als blosse Calciumabspaltung. Eine dieser Veränderungen lässt sich sogleich anzeigen. Das unlöslich gewordene Myosin, wenn es auch in Salzsäure bei gewöhnlicher Temperatur unlöslich ist, bindet doch diese Säure in gequollenem Zustande (wie dies auch z. B. Blutfibrin thut). Seine Sättigungscapacität ist aber kleiner als die des Syntonins. So z. B. band Myosin 4,08% ClH, Syntonin aus diesem Myosin band 3,50% ClH und das unlöslich gewordene Myosin (0,5722 gr. salzsaure Substanz) enthielt nur 2,93% ClH. Basen werden von ihm nicht gebunden. Weyl, (loc. cit.) der diesen Körper beobachtet hat, nennt ihn kurzweg coagulirtes Albumin, das ist aber unrichtig, wie wir weiter unten sehen werden.

Es ist lange bekannt, dass feuchtes Syntonin beim Liegen unter Wasser oder auf dem Filter mit Wasser gewaschen, allmählig seine Löslichkeit in Salzsäure und in Kalkwasser verliert. Die Tabelle III (weiter unten) zeigt, dass Syntonin dabei Veränderungen im Molekül erlitten hat. Die Sättigungscapacität hat sich vermindert, denn 1,1442 gr. salzsaure Substanz enthielten nur 2,52% ClH, während Syntonin, sein Mutterstoff, 3,50% Salzsäure band.

Dieser Körper löst sich allmählig in 0,1% Natronlauge auf. Wird er sogleich oder nach ein Paar Stunden durch Neutralisation gefällt, so zeigt er dieselben Eigenschaften wie vorher. Wird aber die alkalische Lösung bei 35—45° eine halbe bis eine Stunde gehalten und dann gefällt, so erhält man einen Körper mit allen Eigenschaften des normalen Syntonins.

IV. Genauere Betrachtung der chemischen Vorgänge bei den Verwandlungen des Myosins. Die erste Aufgabe besteht darin, aufzuklären so weit wie es möglich ist, auf welche Art und Weise das Myosinmolekül die Salzsäure und Calcium gebunden enthält.

Was die Säure betrifft, so zerfällt die Frage in die, ob sie mit dem unorganischen oder mit dem organischen Theil des Moleküls verbunden ist und in die, mit welchen Atomgruppen sie sich in unmittelbarer Verbindung befindet.

Zu der oben erwähnten Tropäolinerscheinung, welche das Verschwinden der zu Myosin zugesetzten freien Säure angiebt, können noch einige Beobachtungen, welche die Bindung der Salzsäure überhaupt beweisen, hinzugefügt werden.

Macht man eine salzsaure Myosinlösung mit zur Sättigung unzureichender Säuremenge, so wird Lakmuspapier nur auf der Stelle geröthet, welche eben von der Substanz bedeckt ist. Wird nach Tropäolinanweisung ein Ueberschuss der Säure hinzugesetzt, so wird die ganze nasse Stelle geröthet.

Wird eine salzsaure Myosinlösung ohne Säureüberschuss bis zur Trockne verdampft und bei 100° C. selbst mehrere Tage erhitzt, so hinterbleibt eine durchscheinende schwach gelbliche Masse, welche viel Chlor einschliesst. Enthält aber die saure Myosinlösung einen Ueberschuss der Säure, also eine Quantität der ungebundenen Säure, so wird die Substanz beim Trockenwerden braun bis schwarz.

Da das Myosin lose gebundenes Calcium enthält, so könnte man von vornherein sich vorstellen, das die Salzsäure mit Calcium in Verbindung tritt. Obwohl schon manche oben erwähnte Beobachtungen dem widersprechen, so will ich doch alle übrigen dagegen sprechenden Thatsachen hier anführen.

Wäre diese Vorstellung richtig, so könnte eine Myosinlösung die nach Tropäolinangabe keine freie Säure enthält, weder eine stark saure Reaction auf Lakmus zeigen, noch durch Kalkwasser unter Verschwinden der sauren Reaction gefällt werden. Eine salzsaure Myosinlösung wird aber bei gewöhnlicher Temperatur sogar von Marmorstücken (unter öfterem Umrühren) bis zu vollständiger Ausscheidung der Substanz und Verschwinden der sauren Reaction zerlegt.

Endlich aber ist die Calciummenge im Molekül, wie wir dies bei der Syntoninbildung sahen, nur so gross, dass es ungefähr 16—17 % der vom Myosin gebundenen Salzsäure sättigen könnte, und wenn dies der Fall wird, so kann das gebildete Chlorcalcium nicht mit dem Molekül in Verbindung bleiben.

Nach alledem unterliegt es keinem Zweifel, dass die vom Myosin gebundene Salzsäure sich mit dem organischen Theil des Moleküls verbindet, es bleibt nur zu erforschen, durch welche Atomgruppen sie unmittelbar festgehalten wird.

Die oben beschriebene Art und Weise der Syntoninbildung vermittelt des Syntonin bildenden Salzsäureüberschusses zeigt an, dass bei gewöhnlicher Temperatur oder sogar bei schwacher Erwärmung die vom Myosin gebundene Salzsäure nicht mit dem Calcium des Moleküls zusammenkommen kann. Das Calcium aber ist ja äusserst lose im Molekül gebunden zu denken, da schon reines Wasser es abspalten kann. Man ist also dadurch gezwungen, anzunehmen, dass eben die Salzsäure es ist, welche ziemlich kräftig durch gewisse Atomgruppen angezogen wird. Dieses kann aber nur durch eine Atomgruppe herbeigeführt werden, welche selbst genügend starke basische Eigenschaften besitzt. Durch diese und noch andere ähnliche Betrachtungen bin ich zu der Vermuthung geführt worden, dass die Säure durch amidoartige Atomgruppen des Moleküls gebunden wird. War diese Vorstellung richtig, so hoffte ich, dass sie sich durch eine Doppelverbindung mit Platinchlorid besser beweisen liesse. Es war mir schon aus Erfahrung bekannt, dass die Platinverbindungen der verschiedenen Eiweisskörper sich nur sehr

schwer darstellen lassen, indem immer Spuren von Platin und Salzsäure ins Waschwasser übergehen. Ich musste daher von vornherein auf die Werthe von Platin und Chlor in Bezug auf das Myosinmolecül verzichten und nur die Atomverhältnisse beider unorganischen Elemente im Auge halten. Um aber in dieser Hinsicht ein beweiskräftigeres Resultat zu erlangen, habe ich parallel mit Myosin eine Doppelplatinchloridverbindung unter sonst gleichen Bedingungen auch mit einem solchen Eiweissstoff dargestellt, welcher bei gewöhnlicher Temperatur gar keine Salzsäure bindet. Dazu ist sehr Albumin  $\beta^1$ ) geeignet, welches frisch bereitet, sich leicht ohne jegliche Erwärmung in verdünnter Salzsäure löst.

Zu den salzsauren Lösungen des Myosins (mit einem Ueberschuss der Säure) und des Albumins  $\beta$  setze ich Platinchloridlösung im Ueberschusse zu und wasche den gelben Niederschlag durch Decantation zuerst mit Wasser dann aber mit verdünntem Weingeist (30—50%) so lange, bis die Waschflüssigkeiten nur Spuren von Platin und Salzsäure aufnehmen. Die getrockneten und gewogenen Niederschläge werden mit chlorfreier Natronlauge aufgequollen und verbrannt.

Platin und Chlorbestimmungen haben nun Folgendes ergeben:

I. 2,0912 gr. Myosinplatinchloridverbindung bei 100-105° getrocknet, gaben:

0,1979 gr. Platin = 9,46% und

0,1548 gr. Chlor = 7,26%.

Das Atomverhältniss beider zu einander stellt sich wie  $Pt_{1,0}$  zu  $Cl_{4,3}$  heraus.

II. 2,1454 gr. Albuminplatinchloridverbindung bei 100 bis 105° getrocknet, gaben:

0,1806 gr. Platin = 8,46% und

0,0289 gr. Chlor = 1,30%.

Das Atomverhältniss beider zu einander ist  $Pt_{1,0}$  zu  $Cl_{0,33}$ .

<sup>1)</sup> Seine Bereitung, siehe *Moniteur scientifique universel*, octobre 1880, und *Centralblatt f. d. medicin. Wissenschaften* 1880, Nr. 42.

Der Unterschied ist eclatant in der That, und wenn man berücksichtigt, dass Myosin im Stande ist, wenn auch in kleinerem Maasstabe, Platin ohne Chlor (wie dies im Albumin geschieht) festzuhalten (vielleicht an der Stelle des durch den Ueberschuss der Säure abgerissenen Calcium) und dass also ein Theil des fixirten Platins sich auf diese Weise im Molecül vorfindet, so wird es mehr als blos wahrscheinlich, dass die analysirte Verbindung des salzsauren Myosins mit Platinchlorid das ganze Chlor und den grössten Theil des Platins im Zustande einer Amidoplatinchloridverbindung enthält.

Es wird also höchst wahrscheinlich, dass Myosin (und auch alle seine säurebindenden Abkömmlinge) so zu sagen, offene Amidogruppen oder ihre Derivate im Molecül enthält, durch welche sie mit Mineralsäuren Verbindungen einzugehen vermögen.

Schwerer und unsicherer geht es mit der Aufklärung der Verbindungsart des Calciums im Myosin, doch führe ich hier Alles das vor, was ich beobachtet habe. Wäre Calcium im Myosin durch Carboxylgruppen festgehalten, so müsste Syntonin ausgeprägt saure Eigenschaften zeigen, wie z. B. Casein, oder wie die von mir beschriebenen sauren Protalbstoffe<sup>1)</sup>, welche eben unter Abspaltung (unter anderem) von Calcium aus indifferentem Eieralbumin entstehen. Syntonin zeigt aber gar keine sauren Eigenschaften. Man muss also annehmen, dass das Calcium durch solche Atomgruppen festgehalten wird, welche nur ganz schwach saure Eigenschaften äussern können. Um ihre Natur annähernd zu bestimmen, müssen wir möglichst genau und in mannigfaltiger Hinsicht diejenigen Eigenschaften des Myosins und seiner Umwandlungsprodukte kennen lernen, welche die Gegenwart von bekannten, oder wenn auch unbekanntem, aber bestimmten Atomgruppen im Molecül angeben. So z. B. müssen die Millon'sche, die Biuret- und die Pettenkofer'sche Reaction, welche von ganz bestimmten, wenn auch der Constitution

<sup>1)</sup> Moniteur loc. cit., u. Journal d. russischen chemischen Gesellschaft 1879, Nr. 3 und 4.

nach unbekanntem Atomgruppen des Eiweissmolecls abhängen, studirt werden. Zu solchen cardinalen Eiweissreactionen muss ich eine neue hinzufügen, welche im Weiteren uns einige Dienste leisten wird.

Nachdem ich die Inositgruppe vom Albumin abgespalten,<sup>1)</sup> habe ich gefunden, dass in manchen Eiweissstoffen die Gegenwart dieser Atomgruppe sich durch die für sie so charakteristische Scherer'sche Reaction ohne Weiteres nachweisen lässt, wenn auch nicht so scharf, als z. B. in dem von mir abgespaltenen krystallinischen Produkte. Nur müssen dabei einige Vorsichtsmassregeln ausgeführt werden.<sup>2)</sup>

Nun hat sich aus vielen Versuchen ergeben, dass Myosin eine schwache, aber deutlich erkennbare Inositreaction liefert. Syntonin erzeugt sie noch etwas deutlicher. Dagegen mit dem calciumfreien unlöslich gewordenen Myosin ist diese Reaction gar nicht zu erhalten. Man muss sich aber nicht zu der Annahme verleiten lassen, dass bei dieser Umwandlung des Myosins die Inositgruppe abgespalten wird. Das ist ganz und gar unrichtig, denn erwärmt man dieses unlöslich gewordene Product mit verdünnter Salzsäure oder mit 0,1% Natronlauge, so zeigt das Neutralisationspräcipitat aus diesen Lösungen die Inositreaction von Neuem wie Myosin. Man ist also genöthigt, die Thatsache des Verschwindens der Inositreaction beim Unlöslichwerden des Myosin anders zu erklären. Die Inositgruppe bleibt sicherlich im Molecül, sie

<sup>1)</sup> Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft in Berlin. Jahrg. 1880., Heft Nr. 18.

<sup>2)</sup> Man nehme sehr wenig trockene Substanz etwa 2—3 mohn-grosse Körnchen, erhitze sie unter Auflösung mit einigen Tropfen concentrirter Salpetersäure auf einem Platindeckel fast bis zur Trockne, bergiesse den Rest mit 6—8—10 Tropfen mässig concentrirter Chlorcalciumlösung, setze hinzu ein Paar Tropfen Ammoniak und verdampfe über einem ganz kleinen Feuer zur Trockne. Manchmal bemerkt man schon jetzt rosaroth Flecke. Ist dies nicht der Fall, so weiche man den Rückstand durch Wasserdampf oder durch Hauchen auf und trockne sehr vorsichtig ohne Schaum hervorzubringen nochmals, und wenn nöthig wiederhole man das Aufweichen und Trocknen zum dritten Male. Im Falle die Substanz die Inositreaction zu geben fähig ist, so kommt sie durch diese Wiederholungen besser zum Vorschein.

wird nur, so zu sagen, unsichtbar, unnachweisbar durch eine für sie charakteristische Reaction. Die allerwahrscheinlichste Erklärung für dieses Latentwerden der Atomgruppe besteht in der Annahme, dass sie im Momente der Myosinumwandlung sich mit einer anderen Atomgruppe verbindet und auf diese Weise dem Nachweis entgeht. Gleichzeitig mit diesem Latentwerden der Inositgruppe unterliegt das Myosin zweien uns schon bekannten Veränderungen, nämlich 1) ein kleiner Theil seiner säurebindenden Amidogruppen werden auch latent, werden gesättigt, denn das unlöslich gewordene Myosin bindet bedeutend weniger Säure als Myosin selbst, 2) es verliert sein lose gebundenes Calcium.

Da die alkoholischen Atomgruppen des Inosits sich wie bekannt, mit Basen lose verbinden können, so wird es sehr wahrscheinlich, dass das Calcium im Myosin eben durch die Inositgruppe festgehalten wird, welche sich im Momente der Abspaltung des Calciums mit einem äquivalenten Theil der Amidogruppen verbindet und auf diese Weise der directen Nachweisung entgeht. Diese Hypothese wird dadurch unterstützt, dass das Abspalten des lose gebundenen Calcium bei Syntoninbildung nicht vom Verschwinden der Inositgruppe begleitet wird, denn dieses Abspalten des Calciums geschieht zu einer Zeit wo die Amidogruppen durch die kräftige Salzsäure gesättigt sind. Dagegen geht die Bildung des unlöslichen Myosins in Gegenwart von Amidogruppen mit freien basischen Affinitäten von statten.

Wir haben also so weit, so sicher wie dieses auf dem uns beschäftigendem Felde beim jetzigen Zustande unserer Kenntnisse möglich war, uns die Umwandlungen des Myosins zu erklären gesucht. Künftigen Forschungen muss es obliegen, die gegebenen Hypothesen zu erweitern, besser zu beweisen, oder durch richtigere zu ersetzen.

Vergleicht man, wie oben angedeutet war, noch andere cardinale Reactionen der Eiweisskörper mit Myosin und seinen Umwandlungsproducten, so findet man, dass manche Veränderungen sich dabei auch noch in anderen Atomgruppen ausser den oben abgehandelten, vollziehen. Da aber die Natur

dieser Atomgruppen uns ganz und gar unbekannt bleibt, so will ich die beobachteten Veränderungen ohne jede Betrachtung bloß angeben. Zur besseren Uebersicht gebe ich sie alle in tabellarischer Form. Es versteht sich von selbst, dass die vergleichenden Reactionen mit den Körpern unter möglichst gleichen Bedingungen anzustellen sind.

Tabelle III.

	Myosin.	Syntonin.	Unlös. gewordenes Myosin.	Unlös. gewordenes Syntonin.
1) Millon'sche Reaction.	Tiefrother Bodensatz.	Tiefrother Bodensatz.	Hellrother Bodensatz.	Hellrother Bodensatz.
2) Biuret - Reaction ohne Erwärmung	Löst Kupferoxydhydrat mit violetter Farbe auf.	Dasselbe wie beim Myosin.	Löst nur sehr wenig Kupferoxydhydrat mit schwach violetter Farbe auf.	Löst nur sehr wenig Kupferoxydhydrat mit schwach violetter Farbe auf.
3) Pettenkofer'sche Reaction im Probircylinder mit gleichem Volum conc. $\text{SO}_4\text{H}_2$ ohne künstl. Erwärm.	Sogleich, oder nach wenigen Minuten eine tief-violette Färbung.	Dasselbe, oder vielleicht unbedeutend schwächer.	Nur Spuren von dieser Reaction sind sichtbar.	Dasselbe wie beim vorhergehenden Körper.
4) Scherer'sche Inositeration (Cautelen, s. oben im Texte.)	Schwach, aber deutlich erkennbar.	Deutlicher als beim Myosin.	Viel schwächer als beim Myosin. Spuren.	Fast wie beim Syntonin.
5) Bindung der Salzsäure.	3,12—4,87% (Tabelle I.)	2,8—4,36% (Tabelle II.)	2,93%	2,52%
6) Unorganische Bestandtheile.	Enthält lose an organische Gruppen gebund. Calcium.	Schliesst kein solches Calcium ein.	Dasselbe.	Dasselbe.
7) Löslich. in Kalkwasser.	Löslich.	Löslich.	Unlöslich.	Unlöslich.
8) Löslich. in Salmiak.	Löslich.	Unlöslich.	Unlöslich.	Unlöslich.
9) Löslich. in 0,1% $\text{ClH}$ .	Löslich.	Löslich.	Quillt glasartig auf.	Quillt glasartig auf.

V. Rückbildung des Myosins aus seinen Umwandlungsproducten und Bildung myosinoider Körper aus anderen Eiweissstoffen. Die Tabelle III zeigt, dass Syntonin in zwei Punkten vom Myosin differirt, in der Grösse der Sättigungscapacität und in dem Gehalte an lose gebundenem Calcium. Diese zwei intramolecülären Veränderungen genügen um dem Molecül neue Eigenschaften beizulegen oder vielmehr einige charakteristische Eigenschaften dem Myosin zu rauben wie z. B. seine leichte Löslichkeit in Kochsalz- oder Salmiakflüssigkeiten. Es schien mir, dass der Verlust des Calciums mehr zu der Syntoninbildung beiträgt, als das Latentwerden eines kleinen Theiles der Amidogruppen oder noch andere mögliche, mir bis jetzt unbekannte Veränderungen im Myosin. Diese Voraussetzung bewog mich, eine Rückbildung des Myosins aus Syntonin zu versuchen. Die Hauptaufgabe bestand darin, dass man Calciumoxyd in das Syntonin einführt. Zuerst habe ich Syntonin in Kalkwasser aufgelöst und nach mehrstündigem Stehen neutralisirt. Bei verschiedenartigen Variirungen dieser einfachen Versuche hat sich ergeben, dass wirklich ein Theil des Syntonins in Myosin überzugehen scheint, denn das Neutralisationspräcipitat löst sich theilweise in 15% Salmiaklösung auf, der andere Theil aber setzt sich mehr oder weniger schnell in zarten Flocken zu Boden. Dazu muss die alkalische Syntoninlösung nur mit schwachen Säuren, also z. B. mit sehr verdünnter Essigsäure nur so lange behandelt werden, bis in der Flüssigkeit eine gut ausgebildete Ausscheidung erscheint, was immer bei noch ganz schwacher, aber deutlicher alkalischer Reaction geschieht. Fügt man die Säure bis zu neutraler oder bis zu höchst schwach saurer Reaction hinzu, so ist der Niederschlag im Salmiak ganz wie Syntonin vollkommen unlöslich. Der Körper scheint also das von ihm gebundene Calcium leicht verlieren zu können und ihn sogar an wenig Wasser beim Liegen abzugeben. Um diese Wasserwirkung möglichst zu eliminiren, habe ich den Versuch folgenderweise abgeändert. In die klare Kalkwasserlösung des Syntonins trage ich trockenes Salmiakpulver fast bis zur

Sättigung ein, filtrire durch ein Faltenfilter und neutralisire die alkalische, opalescirende, dicke Lösung mit sehr verdünnter Salz- oder besser Essigsäure bis violettes Lakmuspapier keine Spur von alkalischer Reaction mehr angibt. Blaues Papier wird ziemlich stark geröthet, was von Salmiak herrührt. Wenn ein ganz kleiner Ueberschuss von Essigsäure eingetragen wird, so schadet dies nicht sehr, wohl aber der der Salzsäure. Hat man aber genau das Kalkwasser neutralisirt, so bleibt die Flüssigkeit dick, klar, schwach opalescirend und verhält sich vollständig so wie eine frisch bereitete Myosin-salmiaklösung. Tropft man sie in viel destill. Wasser, so werden die Tropfen in eine weisse, sich verbreitende Trübung verwandelt. Ist die Salmiaklösung in Bezug auf ihren organischen Theil concentrirt (man nehme am Besten nur so viel Kalkwasser als zur Lösung des Syntonins gerade nöthig ist, bei gewöhnlicher Temperatur) so bildeten sich im Wasser nach einiger Zeit zarte Gerinnsel, gerade so wie sie auch natives Myosin erzeugt. Diese Gerinnsel lösen sich, wenn ganz frisch gebildet, in Salmiak auf, später unvollständiger und endlich gar nicht mehr. Trägt man in die concentrirte Salmiaklösung Kochsalzstücke ein, so wird der Körper um diese Stücke herum gefällt. Diese Fällung, wenn frisch, löst sich beim vorsichtigen Wasserzusatz wieder auf. Erwärmt man die Salmiaklösung vorsichtig in einem Probierring mit eingesetztem Thermometer, so beobachtet man, dass bei 38 bis 42° C. in der Flüssigkeit eine Trübung sich auszubilden anfängt, welche bei 42—45° sehr stark wird und bei 50° sich in grosse Flocken verwandelt. Je weniger die Lösung in Bezug auf Salmiak concentrirt ist und hauptsächlich je weniger sie essigsäuren Kalk enthält, desto besser verträgt sie die Erwärmung und desto mehr nähert sie sich einer normalen Salmiak-Myosinlösung, welche bei 42—45° sich trübt und bei 50—55° eine Ausfällung gibt.

Neutralisirt man die noch alkalische Salmiaklösung genau bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction auf rothem Papier, mit verdünnter Salzsäure und fällt das Product mit wenig Wasser, sammelt es auf Fliesspapier, trocknet und

verbrennt ohne das bei der Coagulation ausgetretene Wasser zu verlieren, so erhält man eine schwach alkalisch reagirende Asche, deren wässriger Auszug Calciumoxyd enthält. Das bei der Coagulation austretende Wasser enthält auch Calcium und zeigt wenn nicht zu verdünnt, eine ganz schwach alkalische Reaction.

Man sieht aus der gegebenen Auseinandersetzung, dass die Salmiaklösung einen wirklichen Myosinkörper enthält. Das ist soweit sicher, wie wir das native Myosin selbst kennen. Ich muss noch hinzufügen, dass diese Umwandlung des Syntonins in Myosin in 20 Minuten (versteht sich in kleiner Quantität) ausgeführt werden kann und sehr schön für Vorlesungsdemonstration benutzt werden kann.

Ich habe oben erwähnt, dass das in Kalkwasser unlöslich gewordene Syntonin nach dem Erwärmen auf 35—45° mit 0,1% Natronlauge zurück in gewöhnliches Syntonin übergeführt wird. Wenigstens kehren ihm wieder zurück nicht nur die Löslichkeit in verdünnter Salzsäure und Kalkwasser, sondern auch die normale Intensität der Millon'schen, Biuret- und Pettenkofer'schen Reaction. Jetzt muss ich noch angeben, dass dieses so hergestellte Syntonin sich wie das normale Syntonin in Myosin verwandeln lässt.

Da das unlöslich gewordene Myosin zu normalem Myosin sich (ausser Calciumverlust) nach der Tabelle III gerade so verhält, wie unlösliches Syntonin zu normalem Syntonin, so lag es auf der Hand zu erwarten, dass Erwärmen mit 0,1 bis 0,2% Natronlauge bei 40—45° C. im Stande sein würde, auch hier diejenigen Gruppenzustände im Molecül aufzuheben, welche das Unlöslichwerden des Myosins bestimmen. Dies gelingt auch in der That. Da Calcium fehlt, so zeigt das Neutralisationsprodukt der alkalischen Lösung alle Eigenschaften des normalen Syntonins. Dieses letzte Product kann sodann ganz wie Syntonin in Myosin umgewandelt werden.

Anmerkung. Das Unlöslichwerden des Myosins und Syntonins mit dem Latent-, Unsichtbarwerden einiger Atomgruppen und das Wiedererscheinen der Löslichkeit und dieser Atomgruppen lassen sich durch die Annahme einer durch Dehydratationsvorgang verursachte gegen-

seitige Bindung der betreffenden Atomgruppen und einer bei dem Einwirken der warmen Lauge bewerkstelligte Hydratation, welche eine Auflösung der gegenseitigen Atomgruppenbindungen verursacht, erklären.

Myosin und Syntonin sind nicht die einzigen Eiweisskörper, welche Salzsäure oder überhaupt Säuren bei gewöhnlicher Temperatur binden können. Diese Eigenschaft zeigen alle sogenannten «Acidalbumine» d. h. Producte der Einwirkung heisser verdünnter Salzsäure auf verschiedene Eiweisskörper. Alle diese Producte zeigen die Fähigkeit sich, wenn sie frisch gefällt sind, in Kalkwasser klar aufzulösen. Da die Bindung der Salzsäure durch sie auf dieselbe Art geschieht wie bei Myosin (die quantitativen Beweise dafür werden von mir bei einer anderen Gelegenheit mitgetheilt werden) und da diese Körper eine schwache Inositreaction geben, so habe ich erwartet, dass sie sich durch dieselbe Manipulation wie oben beschrieben in myosinähnliche Körper verwandeln lassen würden. Das ist auch wirklich der Fall. Das Product dieser myosinbildenden Behandlung zeigt alle normalen Myosineigenschaften. Es gibt aber auch manche Unterschiede von nativem Myosin, was von vorneherein zu erwarten war. Die Unterschiede bestehen in der schwereren Löslichkeit der myosinoiden Substanzen in Kochsalzlösungen, in der Unlöslichkeit des durch Kochsalzstücke erzeugten Coagulum in wenig Wasser und in frühzeitiger Ausscheidung beim Erwärmen ihrer Salmiaklösungen (schon bei 33—35° Trübung, bei 40° eine flockige Ausfällung).

Die hier niedergelegten Beobachtungen, welche die Natur des Myosins etwas mehr als es bis jetzt gelang, aufgeklärt haben, müssen auch bessere Gründe zum Erforschen einer bis jetzt noch ziemlich unklaren Erscheinung, der Todtenstarre, bei welcher Myosin zweifellos sehr betheilig ist, liefern. Ich habe diese Frage experimentell noch nicht berührt, doch erlaube ich mir auf Grund oben mitgetheilter Thatsachen einige Bemerkungen darüber zu machen. Es ist kaum möglich, dass Myosin bei der Todtenstarre in seine unlösliche Modification übergehe, denn es wäre unmöglich zu begreifen, wie diese Modification bei der freiwilligen Auflösung der Todtenstarre wieder nicht nur das Calcium, sondern auch alle seine normalen Gruppenzustände wieder gewinnt. Viel leichter wäre, nur das verlorene Calcium zu gewinnen, wenn man voraussetzte, dass bei der Todtenstarre Myosin in Syntonin übergeht und dadurch in dem salzhaltigen Muskelsrum unlöslich wird. Ist diese Vorstellung richtig, so müssten die

gut todtenstarr gewordenen Muskeln dem Salmiak gar kein oder nur sehr wenig Myosin abgeben, was nicht schwer experimentell zu erforschen wäre. Ist aber eine solche Vermuthung unrichtig, so muss man annehmen, dass Myosin noch anderer Verwandlungen, welche wir noch nicht kennen, fähig ist.

Genf, im Januar 1881.

---