

— ein Beweis, dass die Lösung nicht salzsaures Kreatinin enthielt, sondern Kreatinin selbst.

Aus allen diesen Beobachtungen folgt, dass das Kreatinin nicht im Stande ist, Säuren unter Aufhebung oder auch nur Beeinträchtigung ihrer sauren Reaction zu binden.

## II. Ueber die Farbenreactionen des Eiweiss.

Seitdem es feststeht, dass ein Theil des Eiweissmolecüs in die Reihe der aromatischen Substanzen gehört, haben die lange bekannten Farbenreactionen des Eiweiss ein erhöhtes Interesse gewonnen, da dieselben zum Theil ohne Zweifel mit der aromatischen Gruppe des Eiweiss im Zusammenhang stehen.

Alle bisher aus dem Eiweiss durch Fäulnisszersetzung dargestellten aromatischen Substanzen lassen sich ohne Zwang in 3 Gruppen theilen, die Phenolgruppe (I.), in welche das Tyrosin, die aromatischen Oxysäuren, das Phenol, Kresol gehören, die Phenylgruppe (II.), zu welcher man die Phenylelessigsäure und Phenylpropionsäure zu rechnen hat, und die Indolgruppe (III.), welche das Indol, Skatol und die Skatolcarbonsäure umfasst. Mag man nun annehmen, dass diese Gruppen schon im Eiweissmolecül präformirt sind, oder mag man es mit Maly<sup>1)</sup> für wahrscheinlich erachten, dass im Eiweiss nur eine aromatische Gruppe präformirt ist, und die erwähnten Gruppen nur mit grosser Leichtigkeit aus dem Eiweiss entstehen, in jedem Fall ist die Frage berechtigt, auf welche der drei Gruppen die einzelnen Farbenreactionen zu beziehen sind. Bereits vor mehreren Jahren habe ich hierüber eine Reihe von Versuchen angestellt, von einer Publication aber mit Rücksicht auf eine in den Sitzungsberichten der Jen. Gesellsch. für Med. und Naturw., 1885, S. 122, erschienene Abhandlung von Krukenberg «über das Zustandekommen der sogenannten Eiweissreactionen», welche gleichfalls hauptsächlich die Farbenreactionen behandelt, Abstand genommen. Bei näherer Erwägung erscheint mir aber jetzt doch die Mittheilung meiner Versuchsergebnisse nicht überflüssig.

<sup>1)</sup> Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch., Bd. 9, III. Abth., S. 151.

## 1. Die Millon'sche Reaction.

Die Reaction mit Millon's Reagens zeigt bekanntlich das Eiweiss und die Verdauungsproducte desselben, dagegen nur andeutungsweise der Leim und das Leimpepton.

Die Reaction kann in Eiweisslösungen ganz ausbleiben bei Gegenwart von viel Chlornatrium, wie ich früher schon angegeben habe<sup>1)</sup>. Der Grund dafür liegt offenbar in der Umsetzung der Nitrate und Nitrite des Quecksilbers in Chlorid resp. Chlorür.

Kühne<sup>2)</sup> hat bereits in seinem Lehrbuch die Vermuthung ausgesprochen, dass die Reaction des Eiweiss mit Millon'schem Reagens auf dem im Eiweiss präformirten Tyrosin beruhen möchte. Einen bestimmten Ausdruck hat dieser Ansicht O. Nasse<sup>3)</sup> gegeben, welcher gleichzeitig nachwies, dass nur diejenigen Benzolderivate, in denen ein H durch Hydroxyl vertreten ist, diese Reaction zeigen, dagegen nicht die Derivate, in denen mehr als 1 Atom H durch OH ersetzt wird.

Ueber die Deutung der Millon'schen Eiweissreaction besteht seitdem wohl allgemeine Uebereinstimmung.

In der That kann man sich leicht überzeugen, dass von den durch Fäulnisszersetzung erhaltenen Eiweissderivaten nur diejenigen, welche der ersten Gruppe angehören, mit Millon'schem Reagens eine Reaction geben, die der 2. und 3. Gruppe dagegen nicht.

Dies gilt aber nur, wenn man sich einer genau nach der ursprünglichen Vorschrift<sup>4)</sup> hergestellten Millon'schen

1) Virchow's Archiv, Bd. 81, S. 552.

2) Lehrb. d. physiol. Chemie, 1868, S. 110.

3) Sitzungsber. der naturf. Gesellsch. zu Halle v. 31. März 1879.

4) Siehe diese in Heintz' Lehrb. der Zoochemie, 1853, S. 605. «Eine bei sehr gelinder Wärme bereitete Lösung von 1 Gewichtstheil Quecksilber in 1 Gewichtstheil Salpetersäure, welche  $4\frac{1}{2}$  Aeq. Wasser auf 1 Aeq. wasserfreie Säure enthält (das ist ungefähr Salpetersäure von 1.4 spec. Gew.). Die Lösung wird vor dem Gebrauch mit 2 Vol. Wasser verdünnt.» Die Lösung kann übrigens ohne Schaden auch weniger verdünnt sein.

Lösung bedient, nicht aber, wenn man, wie es häufig geschieht, eine beliebige Lösung von Quecksilber in heisser Salpetersäure benutzt oder bei Anstellung der Reaction, wie vielfach empfohlen wird, noch besonders Kaliumnitrit hinzusetzt. Dadurch können Irrthümer nach 2 Richtungen hin entstehen.

1. Mit einer solchen nicht vorschriftsmässig hergestellten Lösung tritt die Reaction mit Phenol und den Oxysäuren sehr viel schlechter ein. Liegen irgend stärker verdünnte Lösungen dieser Säure vor, so verschwindet beim Erhitzen die ursprüngliche rothe Färbung und macht einer ganz uncharacteristischen Gelbfärbung Platz, ja bei sehr verdünnter Lösung kann jede Reaction (Rothfärbung) ausbleiben. Plugge<sup>1)</sup> empfiehlt zur Anstellung der Reaction mit Phenol geradezu eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul, die eine Spur salpetrige Säure enthält.

2. Eine fehlerhafte Lösung giebt, wie leicht erklärlich, auch mit Indol und Skatolcarbonsäure Reaction, während dies eine richtig hergestellte Lösung nicht thut. Indollösung färbt sich beim Erwärmen mit der fehlerhaften Lösung bald (mehr oder weniger) carmoisinroth, während sie sich mit richtigem Reagens gelb färbt und kaum eine Spur von Roth auftritt. Die Lösung völlig reiner Skatolcarbonsäure färbt sich schmutzig rothbraun.

Es ist also vor dem Gebrauch einer nicht nach Vorschrift hergestellten Lösung und auch vor dem Zusatz von rauchender Salpetersäure oder Kaliumnitrit zu warnen, ganz besonders dann, wenn man irgend welche aus Eiweisskörpern erhaltenen Lösungen mit Millon'schem Reagens prüft in der Absicht, aus dem Eintreten oder Nichteintreten der Reaction Schlüsse auf die Natur des in der Lösung enthaltenen Derivates zu machen.

Auch der Leim giebt eine zwar schwache, aber unzweifelhafte Reaction. Es mag dahingestellt bleiben, ob sie dem Leim als solchem zukommt oder auf Beimischung von

1) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. XI, S. 173.

Pepton zum Leim beruht, die sich kaum vermeiden lässt, jedenfalls ist auch in diesem Fall die Reaction auf die Phenol-Atomgruppe zurückzuführen. Dafür spricht, dass sich unter den Producten der trocknen Destillation reiner Gelatine nach Weidel und Ciamician<sup>1)</sup> Spuren von Phenol finden.

## 2. Die Xanthoprotein-Reaction

beruht ohne Zweifel auf Bildung von Nitroderivaten. Diese Anschauung ist wohl schon lange die allgemein herrschende. Welche Nitroproducte sich bilden, wird einigermaßen von den besonderen Bedingungen abhängen.

Vor einer Reihe von Jahren hat O. Löw<sup>2)</sup> ein Trinitroalbumin und ein Oxytrinitroalbumin beschrieben, deren Existenz als chemische Individuen wohl einigem Zweifel unterliegt. Vor Kurzem haben Neneki und Sieber<sup>3)</sup> durch Eintragen von trockenem Eiweiss in rauchende Salpetersäure direct aus Eiweiss p-Nitrobenzoësäure erhalten. Die Bildung dieser Säure setzt indessen eine sehr energische Einwirkung voraus, die bei der gewöhnlichen Xanthoprotein-Reaction, der Regel nach, nicht stattfinden wird, die Säure ist ausserdem farblos, demnach an der Xanthoprotein-Reaction nicht betheiligt.

Directe Versuche mit den einzelnen Eiweissderivaten haben mir folgende Resultate ergeben. Es wurden bei den Versuchen sehr geringe Quantitäten der betreffenden Substanzen mit reiner Salpetersäure von 1,2 spec. Gew. zum Sieden erhitzt.

1. Die Körper der Gruppe I ergaben unter diesen Umständen alle starke Reaction, namentlich die Oxysäuren und das Phenol, sie werden also leicht nitriert unter Bildung gelbgefärbter Derivate, etwas weniger leicht reagirt das Tyrosin, wie wohl schon bekannt.

1) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 14, S. 1009.

2) Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 5, S. 433.

3) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XVIII, S. 394.

2. Die Lösungen der Phenyllessigsäure und Phenylpropionsäure in Salpetersäure färbten sich beim Erhitzen fast gar nicht, auch mit rauchender Salpetersäure nur wenig, sie werden also durch schwache Salpetersäure nicht nitriert, resp. die entstehenden Nitroderivate sind ungefärbt. Dasselbe gilt auch für die im Eiweiss mit Wahrscheinlichkeit als präformiert anzunehmende Phenylamidopropionsäure<sup>1)</sup> E. Schulze's.

3. Von den Körpern der Gruppe III geben starke Reaction das Skatol und die Skatolcarbonsäure; schwieriger wird das Indol angegriffen, wenn man nicht rauchende Salpetersäure hinzusetzt.

Für die Xanthoprotein-Reaction des Eiweiss wird also in erster Linie die Phenolgruppe, ausserdem auch die Indolgruppe in Betracht kommen, nicht oder nur in ganz untergeordnetem Grade die Phenylgruppe.

Die Xanthoprotein-Reaction kann unter Umständen recht gut zur Schätzung und annähernden quantitativen Bestimmung von Pepton (vielleicht auch von Eiweiss) dienen. Das gewöhnlich hierzu benutzte, von Schmidt-Mülheim herrührende Verfahren — Zusatz von Natronlauge und Kupfersulfat und Vergleichung der Farbenintensität mit einer ebenso behandelten Peptonlösung von bekanntem Gehalt — leidet bekanntlich an einer Reihe von Uebelständen: 1. geben Leim und Leimpepton dieselbe Violetfärbung; 2. ist es sehr schwer, den Zusatz von Kupfersulfat so zu bemessen, dass die höchste Farbenintensität und doch dabei dieselbe Nuance der Färbung erzielt wird, wie in der Vergleichslösung; 3. ist die Eigenfärbung der zu untersuchenden Flüssigkeit oft sehr störend. Von allen diesen Einwendungen ist das auf der Xanthoprotein-Reaction beruhende Verfahren frei. Leim und Leimpepton kommen nicht in Betracht, da sie nur minimale Xanthoprotein-Reaction geben; die Erzielung der grössten Farbenintensität unterliegt keinen Schwierigkeiten und die Eigenfärbung der Flüssigkeit stört nicht, abgesehen etwa von

<sup>1)</sup> Das Präparat verdanke ich der Güte von Herrn Prof. E. Schulze in Zürich.

ganz abnormen Fällen. Dass Körper, wie Phenol etc., nicht zugegen sein dürfen, ist selbstverständlich.

### 3. Die Reaction von Adamkiewicz.

Vor einer Reihe von Jahren hat Adamkiewicz<sup>1)</sup> eine schöne Farbenreaction beschrieben, welche Eiweisskörper in essigsaurer Lösung mit Schwefelsäure gebe. Versetzt man die Lösung irgend eines Eiweisskörpers in nicht zu wenig Eisessig mit concentrirter Schwefelsäure, so färbt sie sich schön purpurfarben mit grünem Reflex, jedoch ist dieser nach meinen Erfahrungen nicht constant. Spektroskopisch zeigt die Lösung nach Adamkiewicz bei passender Verdünnung einen Absorptionsstreifen zwischen b und F, wie das Urobilin. Constant scheint der Streifen nicht zu sein, doch habe ich genauere Versuche hierüber nicht angestellt. Nach Krukenberg<sup>2)</sup> sieht man zuerst ein Absorptionsband zwischen D und E neben einer schwachen Absorption zwischen E und F, allmählig schwindet der erstere Absorptionsstreifen, während der zweite deutlicher wird und allmählig allein zurückbleibt. — Die Reaction kommt, wie Adamkiewicz gleichfalls ermittelt hat, auch dem Pepton resp. den Hemialbumosen zu, dagegen nicht dem Leim und Leimpepton.

Die Reaction ist sehr scharf und sicher, sie kann indessen nach meinen Erfahrungen ausbleiben beim (albumosenhaltigen) Pepton, wenn die Lösung sehr concentrirt ist. Löst man z. B. eine kleine Messerspitze Fibrinpepton in  $\frac{1}{3}$  Reagensglas voll Eisessig, lässt erkalten und setzt dann concentrirte Schwefelsäure hinzu, so tritt keine Purpurfärbung ein, sondern nur intensiv citronengelbe Färbung mit starker grüner Fluorescenz. An dieser Abweichung ist nicht der Mangel an Wasser Schuld; denn setzt man zu der Eisessiglösung vorher etwas Wasser, so bleiben die Erscheinungen unver-

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges., Bd. VIII. S. 161. — Pflüger's Arch., Bd. IX, S. 157. — Arch. f. exper. Path., Bd. III, S. 423.

<sup>2)</sup> Chemische Unters. zur wiss. Medic., S. 100.

ändert, verdünnt man dagegen die essigsäure Peptonlösung vorher stark mit Eisessig, so verläuft die Reaction in der gewöhnlichen Weise. Diese Abweichung beeinträchtigt natürlich den practischen Werth der Probe nicht, da es leicht ist, die ungewöhnlichen Bedingungen, welche zu einem Misslingen der Reaction führen, zu vermeiden.

Die Versuche mit den Fäulnisderivaten des Eiweiss wurden so angestellt, dass der betreffende Körper direct in Eisessig gelöst und die Schwefelsäure langsam zufließen gelassen wurde. War der Eisessig zur Lösung der Substanz vorher erhitzt, so liess ich die Lösung vor dem Zusatz der Schwefelsäure erkalten. Die Schwefelsäure mischt sich so langsam mit der Eisessiglösung und die Reaction entwickelt sich in einer mehr oder weniger breiten Zone. Eine vollständige Durchmischung finde ich nicht rathsam; es kommt vor, dass die Reaction alsdann misslingt oder schlecht ausfällt, vielleicht in Folge zu starker Erhitzung.

Irgend merkliche Farbenercheinungen traten nicht ein bei: Phenyllessigsäure, Phenylpropionsäure, Amidophenylpropionsäure, Phenol, käuflichem Kresol, aus Eiweissfäulnis erhaltenem Phenol- resp. Kresol-Gemisch, p-Oxyphenyllessigsäure und Hydroparacumarsäure. Dagegen ergaben Färbungen die Körper der Gruppe III.

Die kalt bereitete essigsäure Lösung der Skatolcarbon säure färbt sich schon ohne Zusatz von Schwefelsäure beim Stehen ein wenig rosa. Die Färbung nimmt zu bis zur Purpurfarbe nach Zusatz von Schwefelsäure, auch grüner Reflex ist bemerkbar, die Farbenercheinungen erreichen aber keine besondere Intensität. Ausserordentlich verstärkt wird die Färbung und der grüne Reflex durch vorsichtigen Zusatz eines Minimum von Kaliumnitritlösung. Der Zusatz darf nur minimal sein, ist er zu gross, so äussert er die entgegengesetzte Wirkung: die Purpurfarbe verschwindet und macht einer rothen, schliesslich gelbrothen Färbung Platz, der grüne Reflex bleibt dabei meistens erhalten. Uebrigens verhält sich die Eiweissreaction ähnlich, auch bei dieser gelang es mir öfters, eine Verstärkung der Färbung durch ein Mini-

mum von  $\text{KNO}_2$  herbeizuführen, während ein weiterer Zusatz die Färbung nach Roth hin modificirt.

Die Farbenercheinungen, welche beim Zusatz von Schwefelsäure zur essigsäuren Lösung des Indols und Skatols, sowie bei nachträglichem Zusatz eines Minimum von  $\text{KNO}_2$  auftreten, sind nicht constant. Es gelingt zwar öfters, auch aus diesen Körpern eine purpurfarbene Lösung zu erhalten, öfters aber auch nicht. Die relativen Mengenverhältnisse der in Betracht kommenden Substanzen sind hier offenbar von grossem Einfluss.

Soviel kann man als sicher betrachten, dass für das Zustandekommen der Reaction von Adamkiewicz von den aromatischen Gruppen des Eiweiss nur die dritte in Betracht kommt, während es zweifelhaft bleibt, ob nur die Skatolcarbonsäure an derselben betheiligt ist, oder auch die beiden anderen Körper.

#### 4. Die Reaction mit starker Salzsäure.

An derjenigen Reaction der Eiweisskörper, deren Bedingungen neuerdings L. Liebermann<sup>1)</sup> näher präcisirt hat, der Blaufärbung resp. Violettfärbung mit starker Salzsäure, scheint die aromatische Gruppe des Eiweiss nicht betheiligt zu sein, wenigstens ist es mir nicht gelungen, irgend in Betracht kommende Farbenercheinungen beim Erhitzen der einzelnen Fäulnissderivate mit rauchender Salzsäure zu erhalten.

### III. Ueber den Einfluss der Phenyllessigsäure auf den Eiweisszerfall.

(Nach Versuchen von Dr. A. Kotoff.)

Vor mehreren Jahren hat Herr Dr. A. Kotoff aus Petersburg auf meine Veranlassung Versuche über den — gemäss einer früher berichteten Beobachtung<sup>2)</sup> anscheinend sehr erheblichen — Einfluss der Phenyllessigsäure an Kaninchen angestellt. Da eine Publication von Herrn Dr. Kotoff nicht erfolgt ist, so theile ich hier die Versuchsergebnisse mit, um

1) Centralbl. f. d. med. Wiss., 1887, No. 18.

2) Diese Zeitschr., Bd. VII, S. 175.