

# Untersuchung der Proteïnsubstanzen in den leichtbrechenden Medien des Auges I.

Von

Carl Th. Mörner in Upsala.

---

(Der Redaction zugegangen am 10. April 1893).

---

Da unsere Kenntniss über die Proteïnsubstanzen in den lichtbrechenden Medien des Auges sehr unvollständig ist, habe ich sie zum Gegenstande näherer Untersuchung gemacht, und beabsichtige hier über die erhaltenen Resultate zu berichten.

Die lichtbrechenden Medien umfassen, wie bekannt, mehrere anatomisch deutlich getrennte Schichten, welche ununterbrochen auf einander gelagert, ein vollendetes Linsensystem bilden, nämlich von aussen nach innen gerechnet: eine feste, membranöse Bildung, die Hornhaut (*cornea*), eine wasserklare Flüssigkeit, das Kammerwasser (*humor aqueus*), die relativ feste, biconvex geformte, in eine papierdünne, homogene Membran, die Linsenkapsel (*capsula lentis*), eingeschlossene Linse (*lens crystallina*), und der seiner Consistenz nach geléeartige, halbflüssige Glaskörper (*corpus vitreum*).

Auch ist es ganz natürlich, dass eine chemische Untersuchung der lichtbrechenden Medien, wenn sie zu einem Resultat führen soll, in wenigstens ebenso viele Unterabtheilungen zerfallen muss. In Uebereinstimmung damit wird in dieser Abhandlung jedem einzelnen der genannten anatomisch begrenzten Schichten ein besonderes Kapitel gewidmet.

Ehe wir zu diesen besonderen Abtheilungen übergehen, möge es mir gestattet sein, zur Vermeidung unnöthiger Wiederholungen, an einem Orte die nothwendigsten Erklärungen über die Art des Untersuchungsmaterials und die Beschaffenheit der angewandten Arbeitsmethoden zusammenzustellen.

### Untersuchungsmaterial.

Eine unentbehrliche Voraussetzung für eine zufriedenstellende Lösung der Frage über die chemischen Verhältnisse der lichtbrechenden Medien besteht in der Möglichkeit, genau und sicher die verschiedenen Schichten so von einander trennen zu können, dass jede für sich allein, frei von fremder Beimengung, zur Untersuchung gelangen kann. Wenn die Erfüllung dieser Bedingung auch in gewissen Fällen mit bedeutender Mühe und Zeitaufwand (z. B. beim Präpariren der Linsenkapsel) verknüpft ist, *so lässt sie sich doch unter allen Umständen erreichen*, vorausgesetzt, dass beim Präpariren ein genaues und methodisches Verfahren eingehalten wird.

Alles bei dieser Arbeit angewandte Untersuchungsmaterial<sup>1)</sup>, welches ausschliesslich von Rindvieh, und, wenn nicht ausdrücklich anders angegeben, immer von ausgewachsenen Thieren genommen wurde, holte ich beständig, Tag für Tag, persönlich vom Markte ab, wodurch ich Gewissheit über den Ursprung und den frischen Zustand des Materials gewann. An Ort und Stelle nahm ich die erste grobe Präparation vor. Unmittelbar nach meiner Ankunft im Laboratorium setzte ich die Loslösung der verschiedenen Theile fort, und ergriff Massregeln zu deren provisorischer Conservirung.

### Arbeitsmethoden.

1. Bestimmung der Coagulationstemperatur für Eiweisskörper.

Um bei denselben Eiweisskörpern einen constanten Werth für die Coagulationstemperatur, und bei verschiedenen Eiweisskörpern mit einander vergleichbare Werthe zu erhalten, ist

<sup>1)</sup> Aus mehr als 2000 Stück Augen bestehend.

es nothwendig, bei verschiedenen Gelegenheiten unter womöglich gleichen Umständen zu arbeiten.

Unter solchen Verhältnissen erscheint es mir nicht ungeeignet, das von mir bei *allen* hierher gehörigen Bestimmungen consequent eingeschlagene Verfahren näher zu präcisiren.

Für eine langsam und beständig steigende Erwärmung sorgte ich dadurch, dass die Probenröhre, sowie der Thermometer, an einer Korkplatte befestigt, in einem mit Wasser gefüllten grossen Glasgefäss (von 2—3 L. Inhalt) schwammen; letzteres ruhte auf einem kleinen Sandbad und wurde durch eine mässige Gasflamme erwärmt. Die Temperatur stieg von

50°—60° C. in 25 Min.

60°—70° C. » 35 »

70°—80° C. » 55 »

Also von 50°—60° C. in ungefähr 2 Stunden, oder im Durchschnitt 10° in 40 Min., 1° in 4 Min.

Was die Reaction der beobachteten Eiweisslösungen anbetrifft, so war sie niemals sauer, in der Regel neutral, und nur in den Fällen, wo es sich um natürliche Eiweisslösungen handelte, wie im Wasserextract der Krystallinse, schwach alkalisch, weil die natürliche Alkaleszenz nicht neutralisirt worden war.

Wenn nicht ausdrücklich etwas Anderes angegeben wird, so wurde jede Coagulationsprobe à 10 Cbcm. Eiweisslösung mit 3,3 Cbcm. gesättigter Kochsalzlösung versetzt, so dass die Mischung  $\frac{1}{4}$  davon enthielt.

Der Thermometer wurde abgelesen, sobald das Eintreten von Fällung, wenn auch noch so feinflockig, deutlich bemerkt werden konnte.

2. Die Untersuchung der Circumpolarisation wurde an einigen Eiweisskörpern mit Hilfe von Wild's Polaristrobometer vorgenommen. Die spezifische Rotation wurde aus dem Mittelwerth von 20 Ablesungen in zwei entgegengesetzten Quadranten (10 in jedem) berechnet, wobei eine 2 Dcm. weite Röhre angewendet und vorher weder Säure, Alkali, noch Neutralsalz der Eiweisslösung zugesetzt

wurde. Die Zimmertemperatur betrug während der Beobachtungen  $+10-15^{\circ}$  C.

3. Gewichtsanalytische Bestimmungen. Bei dem Trocknen der zur Analyse bestimmten Präparate, sowie der Filter und Fällungen etc. wurde eine Temperatur von  $+105^{\circ}-110^{\circ}$  C. angewandt.

Die Bestimmung des Eiweissgehalts wurde in salzreichen Lösungen auf allbekannte Weise durch Coagulation in Wärme, in approximativ salzfreier Lösung, durch directe Eintrocknung, Wägung und Correction für den Aschegehalt ausgeführt. Stickstoff, Kohlenstoff und Wasserstoff wurden nach den bei Proteinuntersuchungen nun allgemein gebräuchlichen Methoden bestimmt, nämlich nach Kjeldahl's Methode in ihrer ursprünglichen Gestalt, sowie durch Elementaranalyse mit Verbrennung der Substanz in Platinschiffchen unter einem Sauerstoff-Gasstrom; Schwefel nach der von Hammarsten<sup>1)</sup> modificirten Liebig'schen Methode.

Das Filtrat vom Baryumsulphat wurde in einigen Fällen zur Phosphorbestimmung benutzt, indem der Ueberschuss an Baryt durch Ausfällung mit Schwefelsäure vollständig entfernt wurde, die Flüssigkeit, mit 100 Cbcm. Salpetersäure angesäuert, abgedampft, und die Phosphorsäure, nachdem der Rest in verdünnter Salpetersäure aufgelöst war, mit Molybdenflüssigkeit ausgefällt wurde. Der nach Verlauf eines Tages erhaltene Niederschlag wurde auf gewöhnliche Weise in Ammoniummagnesiumphosphat resp. Magnesiumpyrophosphat umgesetzt und gewogen.

#### Die Krystalllinse.

In grösserer Ausdehnung als eines der anderen lichtbrechenden Medien ist die Linse Gegenstand chemischer Untersuchungen gewesen, da über die Hälfte sämtlicher Arbeiten über die lichtbrechenden Medien des Auges auf ihr Theil kommen. Nichtsdestoweniger müssen wir zugeben, dass wenige

<sup>1)</sup> «Ueber den Gehalt des Caseins an Schwefel und über die Bestimmung des Schwefels in Proteinstubstanzen». Zeitschrift f. physiologische Chemie, Bd. 9, S. 273 (1885).

Gebiete, denen annähernd so zahlreiche Untersuchungen gewidmet worden, in so unaufgeklärtem Zustand geblieben sind, wie es mit der Chemie der Linse der Fall ist. Der Grund ist in mehreren Umständen zu suchen.

In erster Linie bietet unleugbar die Linse selbst Verhältnisse dar, die die Untersuchung der Linse und die Beurtheilung der erhaltenen Resultate in bedeutendem Maasse erschweren. Dazu kommt, dass die überwiegende Anzahl der Untersuchungen aus einer Zeit herstammt, da die Kenntniss der Eiweisskörper sehr unentwickelt war, und dass die wenigen Arbeiten (von Laptschinsky<sup>1)</sup>, Béchamp<sup>2)</sup> und Cahn<sup>3)</sup>, die in den letzten beiden Decennien zu Tage gefördert sind, nicht auch nur mässigen Ansprüchen auf Gründlichkeit genügen. Kein Zweifel also, dass eine erneute Untersuchung wünschenswerth erscheinen kann.

Was das Historische über dieses Kapitel anbetrifft, so will ich vorläufig nur das Wichtigste vorausschicken, um später, wenn die Gelegenheit sich bietet, auf die Details einzugehen.

Nach Berzelius<sup>4)</sup> (1830) sollte die Linse einen von den früher bekannten Eiweisskörpern verschiedenen Eiweissstoff, «*Krystallin*» oder «*Globulin*», enthalten, eine Auffassung, die später unverändert von Mulder<sup>5)</sup> (1840), Rüling<sup>6)</sup> (1846) und Lehmann<sup>7)</sup> (1853) getheilt wurde.

<sup>1)</sup> Ein Beitrag zur Chemie des Linsengewebes. Archiv f. die gesammte Physiologie (Pflüger's), Bd. 13, S. 631 (1876).

<sup>2)</sup> Recherches sur les matières albuminoïdes du cristallin, au point de vue de la non-identité de celles qui sont solubles, avec l'albumine du blanc d'oeuf et du serum. Comptes rendus. Bd. 90, S. 1255 (1880).

<sup>3)</sup> Zur physiologischen und pathologischen Chemie des Auges. Zeitschrift f. physiologische Chemie. Bd. 5, S. 213. (1881).

<sup>4)</sup> Lärobok i Kemien (1830), Del 6, S. 512.

<sup>5)</sup> Proteïn der Krystalllinse. Journal f. praktische Chemie, Bd. 19, S. 189 (1840).

<sup>6)</sup> Bestimmung des Schwefels in den schwefel- und stickstoffhaltigen Bestandtheilen des Pflanzen- und Thierorganismus. Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 58, S. 301 (1846).

<sup>7)</sup> Lehrbuch der physiologischen Chemie, Bd. 1, S. 360 (1853).

Für die Einheit des Eiweisses in der Linsenmasse sprachen sich ferner Lieberkühn<sup>1)</sup> (1852) und Vintschgau<sup>2)</sup> (1857) aus, aber wichen von Berzelius in der Ansicht über die Natur des Eiweisses ab, indem der erstere das Eiweiss der Linse für «*Alkalialbuminat*» hielt, der letztere hingegen erklärte, einen wesentlichen Unterschied zwischen dem Linseneiweiss und gewöhnlichem *Serumalbumin* nicht finden zu können.

Die erste Angabe, dass *mehr als ein* Eiweissstoff in der Linse nachgewiesen werden könnte, rührt schon von Simon<sup>3)</sup> (1842) her, und hat später in allen seit Anfang 1860 ausgeführten Untersuchungen Bekräftigung gefunden.

Wenn in diesem Punkte Einigkeit erlangt scheint, so kann man dieses in Bezug auf die Art der Eiweisskörper der Linse noch lange nicht sagen; auf die verschiedenen Auffassungen, die sich darüber geltend gemacht, kommen wir später zurück.

Im Allgemeinen ist man beim Studium der Eiweisskörper der Linse auf folgende Weise zu Wege gegangen. Die durch Reiben mit Sand zerdrückte Linsenmasse wurde mit Wasser oder einer Salzlösung vermischt; nach dem Filtriren verwandte man alle Sorgfalt auf die Untersuchung des erhaltenen Filtrats und glaubte durch die Prüfung desselben die Zusammensetzung der ganzen Linse klarlegen zu können. Aber wie ist man mit dem nicht löslichen Theil der Linse verfahren? Eigenthümlich genug hat man in einem solchen Grade den Umstand, dass kaum mehr als die Hälfte der Linsenmasse sich in Wasser oder Salzlösung (siehe unten) auflöst, bei Seite gesetzt, dass er in den meisten der Arbeiten nicht mit einem Worte erwähnt, geschweige denn einer Prüfung gewürdigt wird; die in dem Filtrat befindlichen Substanzen haben die Aufmerksamkeit ausschliesslich in Anspruch genommen. Die einzigen Verfasser,

<sup>1)</sup> Ueber Albumin und Casein. Annalen der Physik und Chemie (Poggendorff's), Bd. 86, S. 298 (1852).

<sup>2)</sup> Osservazioni chimiche sulle reazioni per le quali la cristallina si dovrebbe distinguere dall'albumina. Sitzungsberichte der kaiserlichen Akademie der Wissenschaften (Wien), Bd. 24, S. 493 (1857).

<sup>3)</sup> Handbuch der angewandten medicinischen Chemie. Theil 2, S. 520 (1842).

welche der Linse auch einen unlöslichen Theil zuschreiben, sind Berzelius und Béchamp (siehe unten).

Unter solchen Umständen musste es meine Verwunderung erwecken, schon bei den ersten Versuchen, die Linsenmasse mit Wasser oder Salzlösungen zu extrahiren, einen offenbar grossen Theil darin vollkommen unlöslich zu finden. Doch war es erst nach quantitativen Versuchen, dass ich zur Einsicht kam, welch ein bedeutender Theil der Linsenmasse von einer in den genannten Lösungsmitteln unlöslichen Substanz gebildet wird.

Um das Verhältniss zwischen den löslichen und unlöslichen Bestandtheilen der Linse näher zu erforschen, wurde eine Reihe von Versuchen mit abwechselnder Anordnung angestellt.

Versuch 1. Ca. 30 Gr. Linsen wurden mit dest. Wasser (ungefähr 10 Cbcm. pro Gr. Linsenmasse) in einer Glasflasche geschüttelt, wodurch die Linsenfäsern, eine Schicht nach der anderen, in der Flüssigkeit aufgeschlämmt wurden, und die Linsen, indem sie ihre runde Form behielten, allmählig an Grösse abnahmen. Als sie nach wiederholtem Schütteln in 1 $\frac{1}{2}$  Tagen auf die Grösse kleiner Erbsen heruntergegangen waren, wurden sie mit dem Pistill einer Reibeschale zerquetscht; worauf das Schütteln wieder fortgesetzt wurde, bis die ganze Linsenmasse nach einem weiteren halben Tag gleichmässig in der Flüssigkeit aufgeschlämmt war. Die Flüssigkeit war nun vollkommene nundurchsichtig in Folge der vielen aufgeschlämmten, weissen Partikeln, welche, beim Umrühren der Flüssigkeit, in auffallendem Licht betrachtet, einen schwach perlmutterartigen Schimmer, ähnlich dem von Cholesterin in einer Ovarialflüssigkeit, zeigte; unter dem Mikroskop ergab sich, dass sie aus lauter Linsenfäsern, die ihre Conturen beibehalten hatten, bestand.

Aus 10 Cbcm. der Flüssigkeit wurde die Menge der Eiweisssubstanzen<sup>1)</sup> durch Eintrocknen in einer Platinschale

<sup>1)</sup> Genau genommen erhielt man hierdurch die Menge fester Substanzen, die indessen bei einer approximativen Bestimmung, wie die vorliegende, ohne weiteres als Bestimmung für die Menge der Eiweisssubstanzen angenommen werden kann, da die übrigen organischen Substanzen kaum 1% der Linsenmasse ausmachen (Laptschinsky).

und Correction für den Aschegehalt auf 0,350 Gr. (d. h. *lösliche* + *unlösliche* Eiweisssubstanz) bestimmt.

Ein anderer Theil der Flüssigkeit wurde filtrirt, wobei Vorsichtsmassregeln getroffen wurden, um das Verdunsten zu verhüten; von dem klaren Filtrate wurden ebenso 10 Cbcm. abgemessen und die Menge der Eiweisssubstanzen auf 0,190 Gr. bestimmt (d. h. *lösliches* Eiweiss).

Durch Subtraction wurde erhalten:

0,160 Gr., welche den unlöslichen Theil der Eiweisssubstanzen darstellte, die in diesem Falle also 45,7 % der Total-Eiweissmenge ausmachen.

Versuch 2 wurde auf ganz dieselbe Weise angeordnet wie der vorhergehende Versuch, nur mit der Aenderung, dass hier  $\frac{1}{4}$  gesättigter Kochsalzlösung angewendet wurde, und dass die Eiweissbestimmungen durch die Coagulationsmethode ausgeführt wurden. Nach 2 Tagen wurde filtrirt:

10 Cbcm. der ursprüngl. Flüssigkeit = 0,354 Gr. (*total. Eiweiss*).

10        »        filtrirten        »        = 0,197 » (*löslich. Eiweiss*).

---

0,157 Gr. (*unlöslich. Eiweiss*).

Der unlösliche Theil machte also 44,3 % der Total-Eiweissmenge aus.

Versuch 3. Ca. 30 Gr. Linsen wurden in einer Reibschale mit einer reichlichen Menge ausgewaschenen Quarzsandes während  $\frac{1}{2}$  Stunde zerrieben, destillirtes Wasser (10 Cbcm. pro Gr. Linsenmasse) wurde allmähig während des Umrührens hinzugegossen, bis die ganze Linsenmasse gleichförmig aufgeschlämmt war. Nun wurde die Mischung in drei Portionen getheilt (a, b, c):

a) wurde *gleich* filtrirt:

10 Cbcm. der ursprüngl. Flüssigkeit = 0,352 Gr. (*total. Eiweiss*<sup>1)</sup>,

10        »        filtrirten        »        = 0,170 » (*löslich. Eiweiss*),

---

0,182 Gr. (*unlöslich. Eiweiss*).

Unlöslicher Theil: 48,3 % der Total-Eiweissmenge.

<sup>1)</sup> Hier und im folgenden Versuche wird der bei Vers. 1 und 2 gefundene Mittelwerth (0,352 Gr.) angeführt, welcher natürlich vollkommen anwendbar ist, da das Verhältniss zwischen Linsenmasse und Lösungsmittel bei allen Versuchen dasselbe war (1:10). In diesem und dem

b) wurde zu wiederholten Malen in einer Glasflasche geschüttelt und *nach 2 Stunden* filtrirt:

10 Cbcm. der ursprüngl. Flüssigkeit	=	0,352 Gr. (total. Eiweiss),
10 » » filtrirten	=	0,175 » (löslich. Eiweiss),
		<hr/>
		0,177 Gr. (unlöslich. Eiweiss).

Unlöslicher Theil: 50,3 %.

c) wurde zu wiederholten Malen in einer Glasflasche geschüttelt und *nach 2 Tagen* filtrirt:

10 Cbcm. der ursprüngl. Flüssigkeit	=	0,352 Gr. (total-Eiweiss),
10 » » filtrirten	=	0,186 » (löslich. Eiweiss),
		<hr/>
		0,166 Gr. (unlöslich. Eiweiss).

Unlöslicher Theil: 47,1 %.

Versuch 4. Dieselbe Anordnung wie im vorhergehenden Versuche, nur dass  $\frac{1}{4}$  gesättigter Kochsalzlösung anstatt des Wassers angewendet wurde (Eiweissbestimmung mittelst Coagulation). Die Flüssigkeit wurde in 2 Portionen getheilt:

a) wurde *gleich* filtrirt:

10 Cbcm. der ursprüngl. Flüssigkeit	=	0,352 Gr. (total-Eiweiss),
10 » » filtrirten	=	0,180 » (löslich. Eiweiss),
		<hr/>
		0,172 Gr. (unlöslich. Eiweiss).

Unlöslicher Theil: 48,9 %.

b) wurde nach wiederholtem Umschütteln *2 Tage später* filtrirt:

10 Cbcm. der ursprüngl. Flüssigkeit	=	0,352 Gr. (total-Eiweiss),
10 » » filtrirten	=	0,173 » (löslich. Eiweiss),
		<hr/>
		0,179 Gr. (unlöslich. Eiweiss).

Unlöslicher Theil: 51,1 %.

Es liegt in der Natur der Sache, dass Bestimmungen dieser Art nur eine approximative Genauigkeit haben können; aber nichtsdestoweniger geht aus ihnen unzweideutig hervor:

1. dass beinahe die Hälfte der Linsenmasse (im Durchschnitt 48 %) in Wasser und Kochsalzlösung unlöslich ist, und

folgenden Versuche war es nämlich nicht möglich, die Total-Eiweissmenge zu bestimmen, da aufgeschlämmte, feine Sandtheile das Resultat getrübt hätten.

2. dass die Menge der unlöslichen Substanz, im Ganzen betrachtet, die gleiche Grösse erreicht, ob nun dest. Wasser oder  $\frac{1}{4}$  gesättigter Kochsalzlösung als Lösungsmittel<sup>1)</sup> dient, und unabhängig davon ist, ob die Linsenfäsern durch einfaches Aufschlänmen verhältnissmässig erhalten oder ob sie durch anhaltendes Reiben mit Quarzsand so weit möglich zerrissen worden sind; sowie im letzteren Falle unabhängig davon, ob das Lösungsmittel während zweien Stunden oder während zweier ganzen Tage auf sie eingewirkt hat.

Nachdem so das Vorhandensein einer unlöslichen und in reichlicher Menge in der Linse vorkommenden Substanz bewiesen worden war, lag es nahe bei der Hand zu untersuchen, in wie weit ihre Vertheilung in den verschiedenen Schichten der Linse eine gleichförmige oder ungleichförmige ist. Zu diesem Zwecke wurden folgende Versuche ausgeführt:

Versuch 1. Eine Partie Linsen wurde mit dest. Wasser (10 Cbcm. pro Linse) durchgeschüttelt, so dass ein Theil der Linsenmasse aufgeschlänmt wurde (Fraction A). Die auf diese Weise ihrem Umfange nach bedeutend reducirten Linsen wurden aufs neue mit destill. Wasser (10 Cbcm. pro Linse) geschüttelt, womit fortgefahren wurde, bis der grösste Theil davon aufgeschlänmt war (Fraction B). Zum Schluss wurden die übrigbleibenden innersten Linsenkerne, nachdem sie mit einem Mörserpistill zerdrückt worden waren, in destill. Wasser (5 Cbcm. pro Linse) aufgeschlänmt (Fraction C).

Jede der also erhaltenen drei Flüssigkeitsfractionen wurde in 2 Theile getheilt (Portion a und Portion b).

a) wurde ohne Zusatz gleich filtrirt,

b) wurde mit Kochsalz bis ungefähr 10% versetzt und nach einem Tage filtrirt.

Auf gewöhnliche Weise wurde nun in jeder der 3 Fractionen die Eiweissmenge bestimmt, indem von Portion a und Portion b je 10 Cbcm. sowohl vor wie nach dem Filtriren

---

<sup>1)</sup> Dieser Umstand wird durch das Resultat der auf der nächsten Seite angeführten Versuchsserie bestätigt.

genommen wurde, wobei die Differenz die Menge der unlöslichen Substanz anzeigt.

#### Fraction A.

a) Vor dem Filtriren 0,447 Gr.  
nach » » 0,374 »

---

0,073 Gr.

Unlöslicher Theil = 16,4 % der ganzen Eiweissmenge.

b) Vor dem Filtriren 0,367 Gr.  
nach » » 0,307 »

---

0,060 Gr.

Unlöslicher Theil = 16,4 % der ganzen Eiweissmenge.

#### Fraction B.

a) Vor dem Filtriren 0,218 Gr.  
nach » » 0,101 »

---

0,117 Gr.

Unlöslicher Theil = 53,2 % der ganzen Eiweissmenge.

b) Vor dem Filtriren 0,187 Gr.  
nach » » 0,086 »

---

0,101 Gr.

Unlöslicher Theil = 54,0 % der ganzen Eiweissmenge.

#### Fraction C.

a) Vor dem Filtriren 0,190 Gr.  
nach » » 0,048 »

---

0,142 Gr.

Unlöslicher Theil = 74,7 % der ganzen Eiweissmenge.

b) Vor dem Filtriren 0,174 Gr.  
nach » » 0,046 »

---

0,128 Gr.

Unlöslicher Theil = 73,6 % der ganzen Eiweissmenge.

Da die Anordnung im vorhergehenden Versuche die Möglichkeit nicht vollkommen ausschliesst, dass während dem Schütteln der Linse mit Wasser lösliches Eiweiss aus den inneren Schichten im voraus aufgelöst wird, und dies in wesentlichem Grad oder ganz und gar die Ursache von der gefundenen Ungleichmässigkeit in der Vertheilung löslicher und unlöslicher Eiweisssubstanzen in den äusseren und inneren Lagen der Linse sein kann, so wurde ein ähnlicher Versuch

angestellt, bei dem die oben genannte Möglichkeit ausgeschlossen wurde.

Versuch 2. 20 Linsen (48 Gr.) wurden mit Hilfe eines Hornmessers in drei Partien zerlegt: a) die äussersten Schichten (19 Gr.), b) die mittleren Schichten (12 Gr.), c) die innersten Schichten, d. h. die eigentlichen Kerne (17 Gr.). Jede Partie für sich wurde nun in 200 Cbcm. destill. Wasser aufgeschlämmt und nach 24 Stunden filtrirt. In 10 Cbcm. Flüssigkeit wurde vor und nach dem Filtriren die Menge des Eiweiss bestimmt.

Fraction A.

Vor dem Filtriren 0,246 Gr.

nach » » 0,194 »

---

0,052 Gr.

Unlöslicher Theil = 21,1% des Totaleiweiss.

Fraction B.

Vor dem Filtriren 0,142 Gr.

nach » » 0,074 »

---

0,068 Gr.

Unlöslicher Theil = 47,8% des Totaleiweiss.

Fraction C.

Vor dem Filtriren 0,372 Gr.

nach » » 0,132 »

---

0,240 Gr.

Unlöslicher Theil = 64,5% des Totaleiweiss.

Ein kolossaler Unterschied tritt also zwischen den äusseren und inneren Theilen der Linse in Bezug auf die Vertheilung der unlöslichen Substanz hervor, indem der Gehalt an unlöslicher Substanz beständig von aussen nach innen zunimmt. Darum ist es auch sehr wahrscheinlich, dass der Unterschied noch extremer hervorgetreten wäre, wenn man von einander noch weiter entfernte Schichten der Linse, z. B. das äusserste und das innerste Zehntel, untersucht hätte.

Als Resultate von dem niedrigen Gehalt an unlöslicher Substanz der äusseren Schichten einerseits und dem hohen Gehalt der inneren Schichten andererseits haben wir somit den aus der früher genannten Versuchsserie hervorgegangenen Werth von 48% für die ganze Linse aufzufassen.

In Anbetracht dessen, dass die unlösliche Substanz alle übrigen Proteïnsubstanzen der Linse an Menge übertrifft und dass sie das eigentliche Gerüst der Linsenfasern bildet, verdient sie wohl eine nähere Untersuchung<sup>1)</sup>.

Eine chemische Untersuchung der Proteïnsubstanzen der Linse vertheilt sich darum theils auf die in Wasser und Salzlösung unlöslichen Substanzen, theils auf die darin löslichen Eiweisskörper.

### I. Die unlösliche Proteïnsubstanz der Linse.

(Albumoid.)

Um die unlösliche Substanz von den löslichen Eiweisskörpern vollständig zu befreien, wurde eine sorgfältige Extraction mit Kochsalzlösung vorgenommen. Durch fleissiges Umschütteln der in einer Glasflasche enthaltenen Linsen mit  $\frac{1}{4}$  gesättigter Kochsalzlösung wurden die Linsenfasern, Schicht für Schicht, in der Flüssigkeit aufgeschlammt. Durch Filtriren wurde das lösliche Eiweiss zum grössten Theile entfernt, worauf die auf dem Filter gesammelte Linsenmasse in einer reichlichen Menge Kochsalzlösung aufgeschlammt wurde. Nach Verlauf eines Tages, als die Hauptmasse der Linsenfasern sich auf den Boden des Gefässes gesenkt hatte, wurde die überstehende Flüssigkeit abdecantirt und der Bodensatz wieder in Salzlösung von gleicher Stärke aufgeschlammt, welches täglich wiederholt wurde, bis die Flüssigkeit beim Aufkochen keine Trübung mehr zeigte, und beim Prüfen mit der Heller'schen Probe keine Spur von vorhandenem Eiweiss zeigte.

Das Kochsalz wurde durch wiederholtes Aufschlammen in destill. Wasser und Decantiren entfernt; ebenso wenig wie

<sup>1)</sup> Es ist natürlich nicht in jedem Falle möglich, den Grund zu erkennen, warum die unlösliche Substanz, ungeachtet ihres reichlichen Vorkommens, der Aufmerksamkeit der Forscher im Allgemeinen entgangen ist. Indessen halte ich es für wahrscheinlich, dass in der beinahe überall vorgeschriebenen Weise, die Linse durch Reiben mit Sand zu zerreiben, eine Erklärung zu finden ist; man hielt die Trübung des Wassers ausschliesslich für eine Folge des beim Reiben theilweise zu feinem Mehl verwandelten Sandes, und schenkte daher dem Rest nach dem Filtriren keine Aufmerksamkeit.

die zuletzt angewandte Salzlösung verrieth dabei die Flüssigkeit den geringsten Eiweissgehalt.

Nachdem die Substanz zum Schluss auf einem Filter gesammelt war, bildete sie eine weisse, schwach perlmuttartig schimmernde, äusserst feinfaserige und ganz zusammenhängende Masse; unter dem Mikroskop zeigte sich, dass sie ausschliesslich aus Linsenfäsern oder Bruchstücken davon bestand, die ihre Conturen gut erhalten hatten.

Die Substanz verhielt sich, zu Millon's Reagens, Adamciewic's Reagens, zu Salpetersäure, concentrirter Salzsäure in Allem wie ein Eiweisskörper, und gab beim Kochen mit alkalischer Bleilösung deutlich Reaction auf lose gebundenen Schwefel.

Beim Kochen mit verdünnter Salzsäure wurde kein reducirendes Product gebildet.

In Alkohol, Wasser und Salzlösungen verschiedener Art war die Substanz vollkommen unlöslich, in verdünntem Ammon und Essigsäure sehr schwer löslich.

Dagegen wurde sie mit Leichtigkeit und ohne Rest in verdünnten Mineralsäuren und fixen Alkalien gelöst.

Ihre saure Lösung wurde von einem weiteren Ueberschuss von Mineralsäure, ebenso wie von Ferrocyankalium- oder Kochsalzlösung gefällt.

Sowohl aus der mit Säure wie mit Alkali bereiteten Lösung konnte die Substanz *vollständig* durch Neutralisirung der Flüssigkeit ausgefällt werden.

Unter Digestion bei 40° C. der mit Pepsin versetzten Lösung in 0,2proc. Salzsäure entstand keine Fällung (Nuclein).

Bemerkenswerth ist die bedeutend verschiedene Widerstandskraft der Substanz, einerseits gegen verdünntes Ammon oder Essigsäure, andererseits gegen verdünnte Kalilauge oder Salzsäure, wozu eine der vielen ausgeführten Versuchsserien als Beispiel dienen möge.

Die Linsenfäsern wurden in Flüssigkeiten ungleicher Concentration aufgeschlämmt:

1. a) 0,05 procentige Kalilauge — vollständig gelöst in 10 Minuten.
- b) 0,05 procentiges Ammon — keine bemerkbare Einwirkung während 5 Tagen.

2. a) 0,1 procentige Kalilauge — vollständig gelöst in 3 Minuten.  
 b) 0,1 procentiges Ammon — nach 6 Stunden: beinahe unverändert.  
 » » nach 2 Tagen: viel ungelöst.  
 » » » 5 » ein Theil noch ungelöst.
3. a) 0,5 procentige Kalilauge — augenblickliche Lösung.  
 b) 0,5 procentiges Ammon — nach 6 Stunden: ein bedeutender Theil ungelöst.  
 » » nach 1 Tage: ein kleiner Theil noch ungelöst.  
 » » nach 2 Tagen: vollständig gelöst.
4. a) 0,1 procentige Salzsäure — in 5 Minuten das meiste gelöst.  
 » » nach einer Stunde vollständig gelöst.  
 b) 0,1 procentige Essigsäure — nach 3 Stunden unverändert.
5. a) 0,2 procentige Salzsäure — vollständig gelöst in 5 Minuten.  
 b) 0,2 procentige Essigsäure — nach 5 Tagen unverändert.
6. a)  
 b) 0,5 procentige Essigsäure — in 5 Tagen keine bemerkbare Veränderung.
7. a)  
 b) 2 procentige Essigsäure — nach 1 Tage: der grösste Theil ungelöst.  
 » » nach 2 Tagen: ein bedeutender Theil ungelöst.  
 » » nach 5 Tagen ein kleiner Theil noch ungelöst.

Eine Partie Linsenfasernsubstanz, die getrocknet und ohne vorhergehende Alkohol- oder Aetherbehandlung analysirt wurde, ergab folgende Werthe:

0,1155 Gr. angew. Substanz	—	16,61 %	Stickstoff.
1,5245 »	»	0,77 »	Schwefel.
1,5245 »	»	0,05 »	Phosphor.
1,123 »	»	0,05 »	» <sup>1)</sup>

Indem die angeführten Reactionen und analytischen Werthe deutlich die Proteinnatur der in Frage stehenden Substanz an den Tag legen, geht zugleich aus ihren Löslichkeitsverhältnissen hervor, dass sie nicht zu einer Gruppe der typischen, nativen Eiweisskörper (Albumin-, Globulin- oder Nucleoalbumingruppen) geführt werden kann. Nichtsdesto-

<sup>1)</sup> Diese Phosphorbestimmung wurde in der Asche nach Verbrennung der Substanz ausgeführt. Aschegehalt 0,48 %.

weniger muss sie aus Gründen, zu denen wir gleich übergehen werden, als ein wirklicher Eiweisskörper angesehen werden, und zwar, ebenso wie z. B. Fibrin, als ein unlöslicher.

Wie wir schon aus den Versuchen 1 und 2 auf S. 74 u. 75 gesehen, lösen sich die Linsenfäsern leicht und klar in verdünnter Kalilauge von 0,05—0,1 %. Durch diese einfache Procedur wird die ursprüngliche Substanz in einen löslichen, albuminatähnlichen Eiweisskörper verwandelt, und diese Umwandlung geschieht so vollständig, dass keine Spur eines anderen Products, weder von eiweissartiger noch anderer Beschaffenheit, dabei gebildet wird.

Wenn nämlich die alkalische Flüssigkeit neutralisirt oder mit verdünnter Essigsäure sehr schwach sauer gemacht wird, entsteht eine reichliche, grobflockige Fällung, nach deren Entfernung durch Filtriren kein Eiweiss in dem klaren Filtrate zu finden ist, weder beim Aufkochen, noch beim Prüfen mit der Heller'schen Probe oder mit Gerbsäure. In dem geringen Rest des durch Verdunsten getrockneten Filtrats war ebenso wenig eine andere organische Substanz zu finden, besonders nicht Lecitin oder Cholesterin, nur Salze.

Die beim Neutralisiren ausgefällte Eiweisssubstanz ist, ebenso wie die ursprüngliche Linsenfäsernsubstanz selbst, in Wasser und Neutralsalz-Lösungen vollständig unlöslich, löst sich dagegen mit grösster Leichtigkeit nicht nur in verdünnten Mineralsäuren und fixen Alkalien, sondern auch in verdünntem Ammon und Essigsäure.

Eine mit sehr wenig Alkali bereitete, nur äusserst schwach alkalisch reagirende Lösung wird durch folgendes Verhalten gekennzeichnet: |

Kohlensäure — fällt *vollständig*; die Fällung ist unlöslich bei fortgesetzter Einleitung von Kohlensäure, eben sowie in Neutralsalzen.

Essigsäure — fällt *vollständig* beim Zusatz von ein bis zwei  $\frac{1}{100}$  %; die Fällung löst sich wieder, wenn der Essigsäuregehalt auf 0,1 % erhöht wird. Die essigsäure Lösung wird durch überschüssige Mineralsäure und durch Ferrocyankalium gefällt.

Salzsäure — bei minimalem Zusatz wird die Substanz *vollständig* ausgefällt; die Fällung löst sich klar schon bei 0,02 % Salzsäuregehalt, um bei einem weiteren Ueberschuss an Säure wiederzukommen.

Gesättigte Kochsalzlösung (gleiches Volumen) -- keine Fällung.  
 Gesättigte Lösung von Ammoniumsulphat oder Magnesiumsulphat (gleiche Volumen) — *vollständige* Fällung.

Sättigung mit festen Neutralsalzen (Ammoniumsulphat, Magnesiumsulphat, Natriumsulphat und Chlornatrium) — *vollständige* Fällung.

Alle Fällungen haben ein ganz grobflockiges Aussehen.

Die Coagulationstemperatur ist ungewöhnlich niedrig. Sie war in 4 verschiedenen Versuchen bei einem Kochsalzgehalt von 5–10% resp. + 43°, 45<sup>01</sup>), 45° C.<sup>2</sup>) und 47° C.; nach fortgesetzter Erwärmung auf ungefähr + 50° C. und nachdem der Niederschlag durch Filtriren entfernt war, erwies sich die Flüssigkeit frei von Eiweiss. Durch Erwärmen auf ungefähr 50° C. konnte die Substanz also *vollständig* coagulirt werden.

Bei polarimetrischer Bestimmung an verschiedenen Präparaten wurde als Werth für  $\alpha_D$  erhalten:

— 50,9° (2,33proc. Lösung).

— 52,2° (2,51proc. Lösung).

Nachdem die Substanz mit Essigsäure ausgefällt, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen war, bildete sie ein blendend weisses, lockeres Pulver, von dem mehrere Präparate analysirt wurden<sup>3</sup>).

Präp. No. I.	0,143 Gr. angew. Substanz	— 16,74 %	Stickstoff.
	1,046 » » »	— 0,77 »	Schwefel.
	( » » » »	— 0,04 »	Phosphor).
Präp. No. II.	0,1645 } Gr. angew. Substanz	— 16,64 %	Stickstoff.
	0,211 }		
	1,0865 » » »	— 0,82 »	Schwefel.
	( » » » »	— 0,06 »	Phosphor).
Präp. No. III.	0,158 Gr. angew. Substanz	— 16,60 %	Stickstoff.
	» » » »	— 0,80 »	Schwefel.
	(1,008 » » »	— 0,04 »	Phosphor).
	0,362 » » »	— 53,12 »	Kohlenstoff.
	» » » »	— 6,80 »	Wasserstoff.
Präp. No. IV.	0,169 } » » »	— 16,54 »	Stickstoff.
	0,225 }		
	1,258 » » »	— 0,76 »	Schwefel.

<sup>1</sup>) 0,48 procentige Lösung.

<sup>2</sup>) 1,16 procentige Lösung.

<sup>3</sup>) Aschegehalt ungefähr 0,30 %.

Präp. No. V. 0,136 Gr. angew. Substanz — 16,57 » Stickstoff.  
 0,8725 » » » — 0,81 » Schwefel.

Mittelwerth: 16,62 % Stickstoff.  
 0,79 » Schwefel.  
 53,12 » Kohlenstoff.  
 6,80 » Wasserstoff.

In Bezug auf die Zusammensetzung herrscht also nahe Uebereinstimmung zwischen der unlöslichen Substanz der Linsenfasern und dem daraus entstandenen löslichen Eiweisskörper, welches auch zu erwarten ist, da die erstere vollständig in den letzteren übergeht, ohne Bildung eines anderen Products. Aus diesem Grunde und aus Bequemlichkeitsrücksichten möchte ich der unlöslichen Proteinsubstanz in den Linsenfasern den Namen: Albumoïd geben können. Was ihre löslichen Modificationen betrifft, so kommt sie durch ihre Fällbarkeitsverhältnisse den sogen. Albuminaten am nächsten.

Ein geringer Phosphorgehalt wurde beständig bemerkt, und dürfte von Calciumphosphat herrühren, das immer in der Asche nachgewiesen werden kann. Da es nicht gelang, durch stundenlanges, mehrmals wiederholtes Kochen mit Alkohol den Phosphorgehalt merklich niederzudrücken, kann derselbe nämlich nicht als aus Lecithin<sup>1)</sup> herrührend angesehen werden, ebenso wenig aus Nucleïn oder Nucleoalbumin, da die Nucleïnfällung bei der Digestion der gelösten Substanz in Salzsäure und Pepsin ausblieb. Im Uebrigen wurde die gleiche Menge Phosphor beim Einäschern des Albumoïds wie nach dessen Schmelzen mit Kaliumhydrat und Salpeter erhalten.

Ein Unterschied in Betreff der qualitativen Verhältnisse oder Zusammensetzung des löslichen Eiweisskörpers wurde in den Fällen, da 0,1proc. Kalilauge unter wesentlich verschiedener Zeitdauer eingewirkt hatte, nicht verspürt, ob nun die alkalische Lösung schon nach den wenigen Minuten, die zur Lösung des Albumoïds vergingen, neutralisirt wurde, oder erst einen Tag später.

<sup>1)</sup> Eine Spur von Lecithin fand sich in der zur Extraction zuerst angewandten Alkoholportion, möglicherweise in den zweiten, aber nicht in den folgenden.

Erwähnenswerth erscheint mir, dass Albumöid in der Linse mit Leichtigkeit auf eine mehr unmittelbare Weise, als die eben angeführte, nachgewiesen werden kann. Versetzt man einen mit destill. Wasser bereiteten, filtrirten Linsenextract mit verdünnter Essigsäure, oder leitet Kohlensäure ein, so entsteht eine Fällung, welche schnell und vollständig durch Kochsalz gelöst wird; wird der Wasserextract mit Kochsalz gesättigt, so entsteht keine Fällung. Wird dieselbe Probe an einem mit 0,1proc. Kalilauge hergestellten, filtrirten Linsenextract vorgenommen, so erweist sich die Fällung durch Essigsäure zu einem bedeutenden Theile, bei Zusatz von Kochsalz, nicht löslich, und eine Sättigung mit Kochsalz erzeugt in der nahezu neutralisirten Flüssigkeit eine reichliche Fällung — zwei Eigenschaften, die wir oben bei alkalischer Lösung von isolirtem Albumöid kennen gelernt haben.

Natürlich liegt die Annahme nahe, der beobachtete Unterschied könnte seinen Grund in der verändernden Einwirkung des Alkali auf eine im Wasserextract vorkommende, lösliche Eiweisssubstanz haben, weswegen es nöthig war, einen Controllversuch anzustellen. Ein solcher mag in seinen Hauptzügen angeführt werden:

Ser. A. 4 Linsen wurden mit 200 Cbcm. Flüssigkeit gerieben und gleich filtrirt.

#### Prüfung des Filtrats nach 2 Stunden.

Lösungsmittel.	Verhältniss der Essigsäure-Fällung zu Kochsalz.	Verhalten des Filtrats bei Sättigung mit Kochsalz <sup>1)</sup> .
1. Dest. Wasser . . . .	Klar löslich	Verblieb klar.
2. 0,1procent. Ammon .	» »	» »
1. 0,1procent. Kalilauge	Sehr reichliche, unlösliche Fällung	Reichliche Fällung, die sich allmählig zu groben Flocken vereinigte.

Ser. B. Von einem filtrirten Linsenwasserextract (Eiweissgehalt 1,96%) wurden Portionen à 40 Cbcm. abgemessen, denen die berechnete Menge Alkali, in 10 Cbcm. Wasser gelöst, zugesetzt wurde.

<sup>1)</sup> Nach approximativer Neutralisirung.

## Prüfung nach 2 Stunden.

Lösungsmittel.	Verhältniss der Essigsäure-Fällung zu Kochsalz.	Verhalten des Filtrats bei Sättigung mit Kochsalz <sup>1)</sup> .
1. Dest. Wasser . . .	Klar löslich	Verblieb klar.
2. 0,1 procent. Ammon .	» »	» »
3. 0,1 procent. Kalilauge	» »	» »

Nach diesen und anderen ähnlichen Versuchen kann die soeben aufgestellte Möglichkeit mit Bestimmtheit zurückgewiesen werden, indem es sich zugleich deutlich zeigt, dass der mit 0,1 proc. Kalilauge bereitete Linsenextract in reichlicher Menge eine Substanz enthält, die im einfachen Wasserextract nicht vorkommt, und die Eigenschaften aufweist, welche wir oben dem durch ein umständlicheres Verfahren isolirten Albumoid zuerkannt haben.

Von den beiden Forschern Berzelius<sup>2)</sup> und Béchamp<sup>3)</sup>, welche schon früher einen unlöslichen Bestandtheil in der Linse entdeckt haben, hat nur der Letztere die Eigenschaften der unlöslichen Substanz mit einigen wenigen Worten berührt, wovon wir hier das Wichtigste in Uebersetzung wiedergeben.

«Wenn man die gut ausgewaschenen Linsenfasern in sehr verdünnter Salzsäure löst, so gibt die Lösung mit Ammoniak eine weisse Fällung, die, in Essigsäure aufgelöst, eine spezifische Rotation von:  $\alpha_{(D)} = -80,2^\circ$  besitzt. Ich schlage vor, dieses Product «Krystallfibrin» zu nennen.»

Was die Fällbarkeit der Albumoidlösung in Salzsäure betrifft, so habe ich, wie schon erwähnt, Gelegenheit gehabt, sie zu constatiren. Dagegen herrscht zwischen dem von Béchamp gefundenen Rotationswerth und dem von mir observirten ein bedeutender Unterschied, der sich indessen mit grosser Wahrscheinlichkeit durch das verschiedene Verfahren beim Lösen der Substanz erklären lässt, indem nämlich die

<sup>1)</sup> Nach approximativer Neutralisirung.

<sup>2)</sup> Loc. cit.

<sup>3)</sup> Loc. cit.

von Béchamp angewandten Lösungsmittel von mehr angreifender Beschaffenheit gewesen sein mögen.

## II. Die löslichen Eiweisssubstanzen der Linse.

Ausser wirklichen Eiweisskörpern finden sich keine weiteren Proteïnsubstanzen in einem mit Wasser oder  $\frac{1}{4}$  gesättigter Kochsalzlösung hergestellten, filtrirten Linsenextract, weswegen die Ausdrücke «lösliche Proteïnsubstanzen» und «lösliche Eiweisskörper» der Linse sich gleichkommen. Näher auf die Versuche einzugehen, die durch ihr negatives Resultat zu diesem Schlusssatz berechtigen, scheint mir nicht von Interesse zu sein, und ziehe ich es daher vor, unmittelbar zu der Frage überzugehen, die mehr als die meisten hierher gehörigen behandelt worden ist, nämlich zu der Frage über die Natur des löslichen Linseneiweisses.

Zu Anfang mögen einige allgemein orientirende mit Linsenwasserextract angestellte Versuche mitgetheilt werden:

1. Bei Digestion, nach Zusetzung von Salzsäure zu 0,2% und Pepsin, entstand keine Nucleinfällung.

Es ist somit ausgeschlossen, dass Nucleoalbumin darin enthalten ist.

2. Vollständige Sättigung mit Magnesiumsulfat bei  $+30^{\circ}\text{C}$ . bewirkte eine kolossale, in Wasser wieder leicht lösliche Fällung. Das Filtrat gibt beim Aufkochen einen spärlichen Niederschlag, der nach verschiedenen Versuchen nur  $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{36}$  der ganzen Menge löslichen Eiweiss entspricht.

Folglich gehört das lösliche Eiweiss beinahe ausschliesslich zur Gruppe der Globulinsubstanzen.

Ein wenig albuminartiges Eiweiss kann möglicher Weise in der Linse vorkommen, aber wenn das der Fall ist, so kann das Albumin höchstens 2—4% der Totalmenge des löslichen Eiweissstoffes ausmachen (siehe unten).

3. Bei vollständiger Sättigung mit Kochsalz verblieb die Flüssigkeit klar.

Hierin stimmt das Globulineiweiss der Linse mit Vitellin überein und unterscheidet sich von den übrigen bekannten Globulinsubstanzen.

4. Unter keinen Umständen kann ein mit destill. Wasser oder einer Salzlösung bereiteter Linsenextract, direct oder nach Neutralisirung mit ein wenig Essigsäure, durch Verdünnung mit destill. Wasser gefällt werden.

Ebenso wenig entsteht eine Fällung durch Verdünnen der Lösung, welche man erhält, wenn man die durch Sättigung mit Magnesiumsulfat ausgefällte Globulinmasse, nachdem sie ausgepresst ist, in destill. Wasser löst.

In diesem Punkte weicht das Globulineiweiss in der Linse von den Globulinsubstanzen im Allgemeinen, Vitellin mit eingerechnet, ab.

5. Wenn Kohlensäure eingeleitet oder verdünnte Essigsäure vorsichtig zugesetzt wird, entsteht eine Fällung, welche schnell und klar durch Neutralsalze gelöst wird. Wenn die Fällung durch Filtriren entfernt wird, gibt das Filtrat beim Aufkochen fortgehend einen sehr reichlichen Niederschlag und wird durch Sättigung mit Magnesiumsulfat gefällt.

Hieraus geht hervor, dass ein Theil des Globulineiweiss mit Kohlensäure oder Essigsäure direct ausgefällt werden kann, während dagegen ein anderer Theil unausgefällt zurückbleibt.

Nachdem wir uns durch die oben genannten Versuche einen Begriff über einige der wichtigsten Verhältnisse der löslichen Eiweisskörper verschafft haben, wollen wir auf die Beantwortung der Frage eingehen, in wie weit die Linse wirklich albuminartiges Eiweiss enthält, worüber frühere Forscher die allerverschiedensten Angaben gemacht haben.

Wenn es auch ohne Zweifel feststeht, dass diese Frage, genau genommen, bejahend beantwortet werden muss, so stimmt in Wirklichkeit diese Antwort viel mehr mit der von Cahn<sup>1)</sup> ausgesprochenen Ansicht über das absolute Fehlen von Albumin in der Linse überein, als mit anderen in der Litteratur vorkommenden Angaben, dass nämlich das Albumin einen Hauptbestandtheil der Linse bilden solle; so nach Lapschinsky<sup>2)</sup> ungefähr  $\frac{1}{4}$  des Linseneiweisses, nach

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

<sup>2)</sup> Loc. cit.

Simon<sup>1)</sup>  $\frac{3}{4}$  davon. Noch weiter ging in dieser Richtung Vintschgau<sup>2)</sup>, welcher behaupten zu können glaubte, alles Eiweiss in der Linse wäre Serumalbumin.

Die Menge des Albumin ist nämlich äusserst unbedeutend, und die nun angeführten Angaben über dessen reichliches Vorhandensein stützen sich, so viel wir nun wissen, auf offene Missgriffe in der Art und Weise der Untersuchung.

Der bei Sättigung mit Magnesiumsulfat nicht fällbare Theil des Linseneiweisses wurde in 3 verschiedenen Fällen auf 3,28, 2,38 resp. 4,00 % der Totalmenge des löslichen Eiweisses bestimmt, und es ist klar, dass diese Ziffern als Maximwerth für die Albuminmenge in diesem besonderen Falle angesehen werden müssen.

Zudem machte es eine nähere Untersuchung ganz annehmbar, dass der durch Sättigung mit Magnesiumsulfat nicht ausfällbare Eiweissstoff zum grössten Theil nicht aus Albumin, sondern aus einem unausgefällten Rest Globulineiweiss besteht. Für diese Auffassung sprechen folgende bei einer grossen Anzahl Versuche stets constatirte Beobachtungen.

Versetzt man das mit Magnesiumsulfat gesättigte Filtrat, welches, nachdem es einen Tag gestanden hat, von dem auskrystallisirten Salze decantirt worden ist, mit Essigsäure zu 0,5—1,0 %, so wird das übrig bleibende Eiweiss ausgefällt. Beim Versuche, die durch Filtriren gesammelte und zwischen Papier ausgepresste Eiweissfällung in destill. Wasser zu lösen, erwies diese sich jedoch als zum grössten Theile unlöslich darin, selbst nachdem man durch vorsichtiges Zusetzen äusserst verdünnter Kalilauge die Reaction genau neutral gemacht hatte; welches beweist, dass die Fällung hauptsächlich nicht aus Albumin bestanden haben kann.

Wird nun die ungelöste weisse Fällung, welche bei qualitativer Prüfung in allem mit einem Albuminat übereinstimmt, abfiltrirt, so erweist sich, dass die Flüssigkeit in geringer

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

<sup>2)</sup> Loc. cit.

Menge eine Substanz enthält, welche unzweifelhaft die Eigenschaften einer Albuminsubstanz besitzt.

Die dialysirte Lösung derselben wird durch Essigsäure, Kohlensäure, Magnesiumsulfat in voller Sättigung oder Ammoniumsulfat in  $\frac{1}{2}$  Sättigung nicht gefällt; dagegen wird sie durch mehr Ammoniumsulfat gefällt und beim Aufkochen coagulirt.

Die Menge dieser Substanz entsprach in den nun angeführten drei Versuchen 0,62, 0,90 resp. 0,82% der Totalmenge des löslichen Eiweissstoffes.

Da für ein weiteres Studium dieses albuminartigen Eiweisskörpers ein reichlicheres Untersuchungsmaterial, als das mir zu Gebote stehende, erforderlich ist, habe ich mich damit begnügen müssen, nur auf sein Vorhandensein hinzuweisen. Einer künftigen Untersuchung bleibt es unter anderem vorbehalten, zu erforschen, ob dieses Albumin, wie ja anzunehmen ist, wirklich mit Serumalbumin identisch ist.

Als Bekräftigung der Annahme, dass der in Wasser unlösliche, albuminartige Theil der Essigsäurefällung ein durch die Säure veränderter Rest von Globulineiweiss ist, der wahrscheinlich infolge des lösenden Einflusses etwaiger Extractivstoffe unausgefällt im Filtrat zurückbleibt, kann ich das Resultat einer Controllprobe anführen.

Eine mit Magnesiumsulfat ausgefällte Portion Globulineiweiss wurde in Wasser gelöst; die Lösung wurde in 2 Theile getheilt, mit 0,5 resp. 1,0% Essigsäure versetzt und nach 2 Stunden mit Magnesiumsulfat ausgefällt. Beide Fällungen waren, nachdem sie ausgepresst worden waren, in destill. Wasser zum Theil unlöslich, selbst bei Zusatz von Alkali bis zu beinahe neutraler Reaction. Der unlösliche Theil zeigte die Fällungsreactionen von Albuminat.

Kürzlich durch besondere Umstände veranlasst, erscheint der an und für sich schon unbedeutende Albumingehalt, den die Magnesiumsulfat-Methode andeutet, doch noch grösser, als er in Wirklichkeit ist, da er factisch nicht mehr als ungefähr 1% der Totalmenge löslichen Linseneiweisses ausmachen dürfte.

Der albuminartige Eiweisskörper gehört nicht einer besonderen Region der Linse zu, sondern ist sowohl in den äussersten wie den innersten Schichten zu finden, und, im Verhältniss zu dem übrigen löslichen Eiweiss, überall in nahezu gleicher Menge.

Natürlich richtet sich das meiste Interesse bei einer Untersuchung der löslichen Eiweisskörper der Linse auf das so reichlich repräsentirte *Globulineiweiss*. Doch bietet auch dieses Kapitel dem Untersuchenden nicht unbedeutende Schwierigkeiten dar.

Beim Untersuchen des Linsenglobulineiweisses gibt es einen Weg, der besonders praktisch scheint, und der beim Untersuchen von Globulinen bei anderen Gelegenheiten eingeschlagen wird und gute Dienste leistet, nämlich mit einer Salzlösung von angemessener Stärke zu extrahiren. Dass man bei der Wahl dieser Methode von Anfang an so zu sagen auf einen Abweg geräth, der einen vom Hauptziel abführt, habe ich leider durch die resultatlosen Versuche fast eines halben Jahres erfahren müssen. Wahrscheinlich hat dieser Umstand einen hemmenden Einfluss auch auf frühere Untersuchungen ausgeübt und kann zum Theil Schuld daran sein, dass sich die Frage über die Beschaffenheit des löslichen Linseneiweissstoffes noch in so unaufgeklärtem Zustande befindet.

Alle Versuche, mit Neutralsalzen die verschiedenen Globulinsubstanzen der Linse von einander zu trennen, scheitern nämlich daran, dass die letzteren in ihrem Verhalten zu Neutralsalzen keinerlei Unterschied zeigen, und wenn man dadurch, dass man bei der Extraction der Linse eine Salzlösung benutzt, in die Lösung der Globulinsubstanzen eine bedeutende Menge Salz eingeführt hat, so hat man sich hiermit der Möglichkeit beraubt, mit anderen Mitteln die Globulinsubstanzen trennen zu können, da das Salz ein wesentliches Hinderniss hiergegen bildet.

Weit günstiger stellt sich die Sache, wenn man mit einem einfachen Wasserextract der Linse arbeitet<sup>1)</sup>, aber selbst

<sup>1)</sup> Im Allgemeinen wurde dazu ungefähr 10 Cbcm. destill. Wasser pro Gr. Linsenmasse genommen.

wenn man der Charybdis der Salzlösungen glücklich entgangen ist, lauert noch Scylla in vielfacher Gestalt.

Es dürfte, besonders für künftige Untersuchungen auf diesem Gebiete, von Interesse sein, ehe wir uns zum Besprechen der einzelnen Globulinsubstanzen wenden, eine kleine Skizze über den Verlauf meiner Untersuchungen zu erhalten, da sie die Schwierigkeiten, denen der Forscher zunächst ausgesetzt ist, an den Tag legen.

Dabei wird es nöthig sein, aus dem folgenden Kapitel hier und da ein Detail voranzunehmen.

Wenn ein Linsenwasserextract mit ganz wenig Essigsäure versetzt wird, so entsteht eine recht reichliche, äusserst feinflockige Fällung, die beim Filtriren mit Leichtigkeit von dem klaren Filtrate getrennt wird<sup>1)</sup>.

Die Fällung zeigt die Reactionen eines typischen Globulins.

Das Filtrat lässt sich weder direct noch nach der Dialyse durch weiteren Zusatz von Essigsäure fällen, aber gibt beim Aufkochen einen sehr reichlichen Eiweissniederschlag.

Mein erster Gedanke war natürlich der, dass das nicht ausgefällte Eiweiss eine Albuminart wäre, wie auch Kühne<sup>2)</sup> und Lapschinsky<sup>3)</sup> angenommen haben (I).

Doch bald zeigte auch das unausgefällte Eiweiss seine Globulinnatur, da es für Magnesium- oder Ammoniumsulfat ( $\frac{1}{2}$  Sättigung) fällbar war.

Die Sache schien sich also folgendermassen zu gestalten: hier gibt es zwei verschiedene Globulinarten, die eine durch

<sup>1)</sup> Bei diesem Punkte blieben Kühne und Lapschinsky stehen. Nachdem Kühne durch Fällen des Linsenextractes mit Kohlensäure und verdünnter Essigsäure das «Globulin» und «Kalialbuminat» fortgeschafft hatte, gab das Filtrat beim Erwärmen eine Fällung, die nach seiner Ansicht aus «gewöhnlichem Serumalbumin» bestand.

In der Fällung erkannte Lapschinsky ein Globulin, aber sagt in Bezug auf das im Filtrate zurückbleibende, durch Kohlensäure oder Essigsäure nicht fällbare Eiweiss: «Dieser Eiweissstoff scheint mit dem Serumalbumin übereinzustimmen; die Menge des löslichen Eiweissstoffes ungefähr 11  $\frac{0}{10}$ » (der frischen Linse).

<sup>2)</sup> Lehrbuch der physiologischen Chemie (1868), S. 404.

<sup>3)</sup> Loc. cit.

Essigsäure fällbar (Nr. 1), die andere durch Essigsäure nicht fällbar (Nr. 2) (II).

Beim Bemühen, das nicht fällbare Globulin näher kennen zu lernen, machte ich die Entdeckung, dass auch dieses, wie-wohl auf Umwegen, sich durch Essigsäure fällen lässt. Wenn nämlich das Filtrat von einer ursprünglichen Essigsäurefällung (nach Neutralisirung) mit Magnesiumsulfat gesättigt, das so ausgefällte «Globulin Nr. 2» in Wasser gelöst, und die Lösung nach der Dialyse mit Essigsäure geprüft wurde, entstand wiederum eine Fällung, die ebenso wie die erste in Neutral-salz leicht und klar löslich war. Nachdem die Fällung ab-filtrirt war, wurde die Flüssigkeit mit Ammoniumsulfat gesättigt, die entstandene Globulinfällung in ein wenig Wasser gelöst, und die Lösung dialysirt und mit Essigsäure geprüft.

Nochmals entstand eine kleine Fällung von typischem Globulin. Durch Wiederholung dieser Procedur (im Ganzen 5—6 Mal) konnte schliesslich die ganze Eiweissmenge, Portion nach Portion, vollständig mit Essigsäure ausgefällt werden, wobei die Fällungen von Anfang bis zu Ende dieselbe Leicht-löslichkeit in Kochsalzlösung besaßen.

Diese Entdeckung musste die Annahme von zwei ver-schiedenartigen Globulinsubstanzen bedenklich erschüttern und machte es ganz wahrscheinlich, dass die ganze Globulinmenge aus einer einzigen, für Essigsäure fällbaren Globulinsubstanz besteht, wenn auch ein unbekannter Factor auf ihre Fällbar-keit hindernd einwirkt (III).

Die Sache schien mir also, was die qualitativen Ver-hältnisse betraf, ziemlich entschieden, es galt jetzt nur noch, die Zusammensetzung dieses Globulinstoffes zu studiren.

Beim Untersuchen von verschiedenartig hergestellten Globulinpräparaten, bei welchen ich zufolge meiner Annahme, dass das Linsenglobulin von einer und derselben Art sei, über-einstimmende Zusammensetzungen erwartete, erlebte ich eine Ueberraschung.

Ein Präparat, das aus der ursprünglichen Fällung durch Essigsäure bestand, wies einen Schwefelgehalt von knapp 0,6%

auf; ein Präparat, das hergestellt war, indem man das Filtrat von einer Essigsäurefällung zur Trockne concentrirte, erwies ungefähr doppelt so viel Schwefel, 1,16%; während ein auf dieselbe Weise aus dem ganzen Wasserextract bereitetes Präparat 1,01% enthielt.

Da ich durch Controlluntersuchung die Gewissheit gewann, dass die bedeutenden Unterschiede im Schwefelgehalt nicht auf der ungleichförmigen Verunreinigung der Präparate durch Sulfate<sup>1)</sup> beruhen, blieb mir nichts anderes übrig, als den Gedanken an die Unität des Linsenglobulineiweissstoffes wieder fahren zu lassen.

Das Vorhandensein einer schwefelarmen und einer schwefelreichen Globulinsubstanz war damit unzweifelhaft an den Tag gelegt (IV).

Aber in welchem Zusammenhang steht der eben entdeckte Unterschied in der Zusammensetzung mit der früher gemachten Wahrnehmung der ungleichen Fällbarkeit<sup>2)</sup> durch Essigsäure oder Kohlensäure? Die Antwort hierauf stellt sich verhältnissmässig einfach: die aus dem Wasserextract direct mit Essigsäure (oder Kohlensäure) ausgefällte Substanz wird ausschliesslich von einem schwefelarmen Globulin ( $\alpha$ -Krystallin) gebildet; das Filtrat enthält ein anderes, schwefelreiches Globulin ( $\beta$ -Krystallin) und einen kleineren Rest des schwefelarmen.

Wir gehen zunächst zur Besprechung des  $\alpha$ -Krystallins der Linse über.

### $\alpha$ -Krystallin.

Die Isolirung dieser Globulinsubstanz ist nicht mit Schwierigkeiten verknüpft<sup>3)</sup>. Ein filtrirter Wasserextract, bei dem entweder die *ganze* Linse oder nur ihre *äussere Hälfte*

<sup>1)</sup> Von präformirten Sulfaten wurde keine Spur im Linsenwasserextract entdeckt. Im Uebrigen zeigten die verschiedenen Präparate einen kolossalen Unterschied in ihrem Verhalten zu alkalischer Bleilösung.

<sup>2)</sup> Im natürlichen Wasserextract.

<sup>3)</sup> Doch muss man die auf Seite 95 angeführte Möglichkeit nicht übersehen, dass das Präparat bei einem Versuche  $\alpha$ -Krystallin aus einem nur mit *inneren* Linsentheilen hergestellten Wasserextract zu bereiten, leicht mit  $\beta$ -Krystallin verunreinigt werden kann.

angewendet worden ist, wird allmählig mit verdünnter Essigsäure (0,02—0,04 % der Mischung) versetzt, bis eine reichliche, stets äusserst feinflockige Fällung eintritt<sup>1)</sup>, die mit Leichtigkeit abfiltrirt wird. Nach 2—3 Mal wiederholter Lösung in 0,01 proc. Ammon und Ausfällung mit Essigsäure (nun war meistens 0,005—0,01 % davon genügend) konnte die schliesslich erhaltene Fällung entweder für Elementaranalyse mit Alkohol und Aether behandelt, oder in äusserst verdünntem Ammon gelöst und somit in eine neutral reagirende, schwach opalescirende Flüssigkeit verwandelt werden.

Eine solche  $\alpha$ -Krystallinlösung (die in dem Versuche, welchen wir nun anführen werden, 1,35 % enthielt) wird durch folgendes Verhalten zu verschiedenen Reagenzen gekennzeichnet:

**Magnesiumsulphat:**

- a) Gleiches Volumen gesättigte Lösung — keine Fällung.
- b) Sättigung bei Zimmerwärme — nur eine Spur von Fällung.  
Sättigung bei +30° C. — *vollständige* Fällung.

**Natriumsulphat:**

- a) Sättigung bei Zimmerwärme — nur eine Spur von Fällung.
- b) Sättigung bei +30° C. — *vollständige* Fällung.

**Ammoniumsulfat:**

- a) 1 Volumen gesättigter Lösung — sehr reichliche, aber nicht absolut vollständige Fällung.
- b) 1½ Volumen gesättigter Lösung — *vollständige* Fällung.

**Chlornatrium:**

Sättigung, sowohl bei Zimmerwärme wie bei +30° C. — *keine* Fällung.

**Kohlensäure:**

- a) Nach Einleiten eines Kohlensäurestromes während einiger Minuten — *vollständige* Fällung.

<sup>1)</sup> Die gefällte Mischung klärte sich augenblicklich beim Zusatz von ein wenig Kochsalz. Wenn ein Theil davon bei Seite gestellt und später geprüft wurde, zeigte sich die Fällung noch nach 5 Tagen beim Zusatz von Kochsalz vollständig löslich, obgleich die Lösung, je längere Zeit verstrichen war, eben langsamer vor sich ging.

Nachdem die Fällung 5 Tage gestanden, abfiltrirt und in sehr verdünntem Ammon gelöst war, wurde sie aufs Neue mit Essigsäure gefällt, und war dann wieder in Kochsalz augenblicklich klar löslich; ein Theil der Flüssigkeit wurde mit Kochsalz gesättigt, ohne dass Fällung entstand.

- b) Auch wenn der Kohlensäurestrom während  $\frac{1}{2}$  Stunde fortging, blieb das Filtrat absolut frei von Eiweissstoff — die Fällung also durch einen Ueberschuss an Kohlensäure nicht löslich.
- c) Nach einem Zusatz von Chlornatrium bis 0,5 % — keine Fällung durch Kohlensäurestrom; nach Verdünnung bis 0,25 % Kochsalzgehalt — fortwährend keine Fällung.

Nach vorhergehendem Zusatz von Chlornatrium bis 0,125 % — unvollständige Fällung; wenn diese Fällung abfiltrirt wurde, gab das Filtrat (obschon stark globulinhaltig), selbst bei starker Verdünnung und Zuführung von Kohlensäure keine weitere Fällung, — also entsteht in salzhaltiger Flüssigkeit unter keinen Umständen vollständige Fällung durch Kohlensäure.

- d) Die Fällung durch Kohlensäure — klar löslich beim Zusatz einer geringen Menge Neutralsalz (selbst nach 24 Stunden).

Wird auch vollständig gelöst, wenn ein Luftstrom durch die gefällte Flüssigkeit geführt wird; ist dagegen die Fällung abfiltrirt, d. h. das Globulin von seinem (in Bicarbonat verwandelten) Alkali getrennt, so kann es, in ein wenig Wasser aufgeschlammt, durch einen Luftstrom nicht aufgelöst werden.

#### Essigsäure:

- a) Bei einem Gehalt von ungefähr 0,01 % — vollständige Fällung. Bei einem Gehalt von ungefähr 0,03 % — die Fällung wiederum klar gelöst.
- b) Bei einem Zusatz von Chlornatrium bis 0,5 % — war viel mehr Essigsäure erforderlich, um eine Fällung hervorzubringen, und diese war sehr unvollständig.
- c) Die Fällung — klar löslich durch Neutralsalz.

#### Salzsäure:

- a) Bei einem Gehalt von 0,0075 % — vollständige Fällung. Bei einem Gehalt von 0,015 % — die Fällung wiederum klar gelöst.
- b) Die Fällung — klar löslich durch Neutralsalz.

#### Alkalische Bleilösung:

Erwärmung damit — kaum bemerkbare, gelbliche Färbung.

#### Verdünnung mit Wasser:

- a) der Lösung direct — keine Trübung oder Fällung.
- b) nach Ausfällung des Globulins mit Essigsäure und Auflösen desselben mit einem Minimum Kochsalz — gleichfalls keine Trübung oder Fällung.

Die Coagulationstemperatur war für diese 1,35 proc.  $\alpha$ -Krystallinlösung  $+ 73^{\circ}$  C., nach Verdünnung der letzteren mit dem gleichen Volumen Wasser  $73,5^{\circ}$  C.<sup>1)</sup> Beim Prüfen

<sup>1)</sup> Bei einem Zusatz von Chlornatrium bis  $\frac{1}{4}$  Sättigung; direct aufgekocht coagulierte die Lösung nicht, sondern wurde nur opalescent.

der  $\alpha$ -Krystallinlösungen verschiedener Versuche wurden folgende Temperaturgrade erlangt:

	71°	für eine 0,84 procent. Lösung ( $\frac{1}{4}$ gesättigt. NaCl).		
	71,5°	» » 1,40 procent. »	»	»
	74°	» » 1,65 procent. »	»	»
	71°	» » 0,77 procent. »	»	»
	72°	» » 1,30 procent. »	»	»
	72°	Concentration der Lösung nicht bestimmt ( $\frac{1}{4}$ gesättigt. NaCl).		
	70,5°	» » » » »	»	»
	74°	» » » » »	»	»
	73°	» » » » »	»	»
Die- selbe Lösung.	{	72°	» » » » »	»
		71,5°	» » » » »	»
		71,5°	» » » » »	$\frac{1}{3}$ gesättigt. »
				$\frac{1}{2}$ gesättigt. »

Die mittlere Temperatur für die Coagulation des  $\alpha$ -Krystallin war also ungefähr + 72° C.

Für polarimetrische Untersuchung eigneten sich  $\alpha$ -Globulinlösungen nicht gut, da die allzeit vorhandene, wenn auch an sich ganz schwache Opalescenz eine genaue Ablesung wesentlich erschwerte, weswegen nur eine Bestimmung ausgeführt wurde. Dabei wurde erhalten:

$$\alpha_{(D)} = 46,9^\circ \text{ (Lösung 3,29 proc.)}$$

Mit Alkohol (warm und kalt) sowie mit Aether behandelt und im Exsiccator getrocknet, bildete das  $\alpha$ -Krystallin ein blendend weisses, lockeres Pulver. Seine elementare Zusammensetzung geht aus folgenden Analysen hervor<sup>1)</sup>:

Präp. No. I.	0,171	Gr. angew. Substanz	— 16,62 %	Stickstoff.
	1,274	Gr. » »	— 0,59 %	Schwefel.
	0,329	Gr. » »	— 52,88 %	Kohlenstoff.
	»	Gr. » »	— 7,09 %	Wasserstoff.
Präp. No. II.	0,1385	Gr. » »	— 16,57 %	Stickstoff.
	1,373	Gr. » »	— 0,57 %	Schwefel.
Präp. No. III.	0,161	Gr. )	— 16,78 %	Stickstoff.
	0,195	Gr. )		
	1,172	Gr. »	— 0,52 %	Schwefel.
	( »	Gr. »	— 0,09 %	Phosphor.)

<sup>1)</sup> Aschegehalt der Präparaten 0,3—0,5 %. Was den Phosphorgehalt anbetrifft, so gilt auch hier das auf Seite 78 Angeführte.

Präp. No. IV.	0,206	Gr.	angew. Substanz	—	16,71 %	Stickstoff.
	1,156	Gr.	»	»	—	0,60 % Schwefel.
	( »	Gr.	»	»	—	0,07 % Phosphor).
Präp. No. V.	0,170	Gr.	»	»	—	16,70 % Stickstoff.
	1,2095	Gr.	»	»	—	0,53 % Schwefel.
	( »	Gr.	»	»	—	0,11 % Phosphor).
	0,381	Gr.	»	»	—	52,79 % Kohlenstoff.
	»	Gr.	»	»	—	6,79 % Wasserstoff.

Mittelwerth: 16,68 % Stickstoff.

0,56 % Schwefel.

52,83 % Kohlenstoff.

6,94 % Wasserstoff.

Mit dem eben angeführten Factor vor Augen braucht man nicht länger zu zweifeln, dass die in Frage stehende Globulinsubstanz, das  $\alpha$ -Krystallin der Linse, nicht mit dem allgemein bekannten Paraglobulin identisch sein kann, sondern im Gegentheil wenig mit diesem übereinstimmt, ausser in den gemeinsamen Reactionen aller Globulinsubstanzen. Es genügt, an die Nichtfällbarkeit durch Kochsalz, bei Verdünnung oder bei Dialyse, an den hohen Stickstoffgehalt (Paraglobulin = 15,85 %) und ungewöhnlich geringen Schwefelgehalt (Paraglobulin = 1,11 %) und daraus folgenden Mangel an bleischwärenden Schwefel des  $\alpha$ -Krystallin zu erinnern.

Dennoch ist die aus einem Wasserextract der Linse durch Essigsäure oder Kohlensäure fällbare Globulinsubstanz ganz allgemein für Paraglobulin ausgegeben worden.

Aus einer Arbeit von Alex. Schmidt<sup>1)</sup> rührt folgende Aussage her:

«Aus einer Linsenlösung wird durch Kohlensäure oder verdünnte Essigsäure wie aus dem Blutserum nur ein Theil der organischen Substanz gefällt; dieser Niederschlag, von der Flüssigkeit getrennt, verhält sich in allen Stücken wie das Serumglobulin . . . .»

Nach Gorup-Besanez<sup>2)</sup> «verhält sich der Globulin-Niederschlag dem Paraglobulin, der fibrinoplastischen Substanz.

<sup>1)</sup> Weiteres über den Faserstoff und die Ursachen seiner Gerinnung. Archiv f. Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin (1862), S. 428.

<sup>2)</sup> Lehrbuch der physiologischen Chemie (1878), S. 656.

vollkommen gleich»; nach Kühne<sup>1)</sup> sollte eine Lösung «Krystallin» alle Reactionen von Paraglobulin geben, doch nicht wie dieses fibrinoplastisch wirken.

Solche Angaben können nun, meiner Meinung nach, nicht länger aufrecht erhalten werden.

Mehr Werth muss auf die in der Litteratur vorkommenden Angaben über das Vorhandensein von Vitellin in der Linse gelegt werden. Doch hat bis jetzt Niemand die aus dem Wasserextract durch Kohlen- oder Essigsäure direct fällbare Globulinsubstanz mit Vitellin identificiren wollen, sondern man hat, so weit ich aus den sparsamen Mittheilungen hierüber sehen kann, Vitellin *neben* der auf die genannte Weise gefällten Globulinsubstanz (Krystallin) nachweisen zu können geglaubt.

So nennt z. B. Gorup-Besanez<sup>2)</sup> als Bestandtheile der Linse: Serumalbumin, Globulin und «einen vitellinähnlichen Eiweisskörper».

Nachdem Laptschinsky<sup>3)</sup> anscheinend seinen Bericht über das Globulin, das durch Fällen des Wasserextractes mit Kohlensäure hergestellt wird, abgeschlossen hat, fügt er hinzu: «Es verdient noch hervorgehoben zu werden, dass wir aus der Linse eine mit dem Vitellin in ihren Reactionen übereinstimmende Globulinsubstanz darstellen können . . . . .» Die Herstellungsweise selbst führt er nicht an.

Ebenso wenig spricht Hoppe-Seyler<sup>4)</sup> sich bei Darstellung des Vitellin aus der Linse über dessen Zusammenhang mit dem aus dem Wasserextract durch Kohlen- oder Essigsäure direct fällbaren Globulin aus, sondern gibt er für dessen Herstellung ein besonderes Verfahren an: «Aus Krystallinsen zieht man das Vitellin nach ihrem Zerschneiden und Zerreiben mit Steinsalzstückchen in der Porzellanschale mit Wasser aus . . . . Die filtrirte Lösung wird mit viel Wasser

1) Loc. cit.

2) Loc. cit.

3) Loc. cit.

4) Handbuch der physiologischen und pathologischen chemischen Analyse (1883), S. 273.

und einem Strom  $\text{CO}_2$  oder vorsichtigem Zusatz von Essigsäure gefällt, gewaschen und getrocknet».

Diesen Angaben kann ich doch nicht beistimmen, insoweit man nämlich die für Kohlensäure direct aus dem Wasserextract fällbare Substanz für die eine Globulinart, das gefundene vitellinähnliche Globulin für eine andere hält.

Die einzige Substanz der Linse, die wirklich in vielem dem Vitellin gleicht, und welche, nach Hoppe-Seyler's Vorschrift für Herstellung des Vitellin, einzig dabei ausgefällt wird (siehe S. 90, unter Kohlensäure, c.), ist gerade das für Kohlensäure direct aus dem Wasserextract fällbare  $\alpha$ -Krystallin, und wenn man *in diesem* eine Vitellinsubstanz sehen will, habe ich nichts besonderes dagegen einzuwenden. Unfällbarkeit für Chlornatrium, übereinstimmende Coagulationstemperatur (Vitellin +  $75^\circ \text{C.}$ ) und auffallend niedriger Schwefelgehalt (nach Weyl<sup>1</sup>) enthält das Vitellin der Paranus =  $0,55\%$ ) führen sie gewiss nahe zusammen.

In einer Hinsicht unterscheidet sich das  $\alpha$ -Krystallin doch vom Vitellin: seine Lösung lässt sich unter keinen Umständen durch Verdünnen mit Wasser fällen, während Vitellin bei derselben Behandlung mit ungewöhnlicher Leichtigkeit, leichter sogar als Myosin (Hoppe-Seyler<sup>2</sup>), gefällt wird.

Desswegen sollte das  $\alpha$ -Krystallin, obgleich im Uebrigen nahe mit Vitellin verwandt, als eine der Linse eigenthümliche Globulinsubstanz angesehen werden.

Da aus einem vorhergehenden Versuche (S. 89 und 90) erhellt, dass das  $\alpha$ -Krystallin sich absolut vollständig durch Kohlensäure oder verdünnte Essigsäure ausfällen lässt, könnte es einfach erscheinen, das andere, durch diese Reagenze nicht direct fällbare, schwefelreiche  $\beta$ -Krystallin, frei von  $\alpha$ -Krystallin, zu erhalten, indem man z. B. das letztere durch Essigsäure aus dem Wasserextract entfernt. Eine solche absolute Fällbarkeit besitzt indessen nur das reine, von Extractivstoffen und Salzen freie  $\alpha$ -Krystallin, nicht aber in gleichem Masse

<sup>1</sup>) Zur Kenntniss thierischer und pflanzlicher Eiweisskörper. Zeitschrift f. physiologische Chemie, Bd. 1, S. 72 (1878).

<sup>2</sup>) Loc. cit.

ein aus der *ganzen* Linse oder nur aus deren *äusserer* Hälfte bereiteter, natürlicher Linsenextract.

Beim Versuche, das  $\alpha$ -Krystallin auszufällen, bleibt immer ein im ersteren Falle<sup>1)</sup> kleinerer, im letzteren Falle<sup>2)</sup> grösserer Theil davon unausgefällt und verunreinigt das  $\beta$ -Krystallin, wahrscheinlich in Folge des modificirenden Einflusses der, besonders in den äusseren Schichten der Linse reichlich vorkommenden Extractivstoffe und Salze.

Aber andererseits ist auch die allgemeine Regel, dass nicht einmal der kleinste Theil des schwefelreichen  $\beta$ -Krystallins mit Essig- oder Kohlensäure direct aus dem Linsenextract ausgefällt werden kann, einer gewissen Einschränkung unterworfen. Wird nämlich nur das *innere*  $\frac{1}{3}$  oder  $\frac{1}{4}$  der Linsenmasse, nachdem die entsprechenden äusseren Theile entfernt sind, extrahirt, so gibt der Extract mit Essigsäure eine Fällung<sup>3)</sup>, die nicht allein die ganze in der Flüssigkeit befindliche Menge  $\alpha$ -Krystallin, sondern auch einen Theil des schwefelreichen  $\alpha$ -Krystallin enthält, indem die Fällung, selbst wenn sie durch wiederholtes Lösen und Fällen gereinigt ist, eine ziemlich reichliche Menge bleischwärenden Schwefel aufweisen kann.

Hierin liegt ein deutlicher Fingerzeig, wie man am besten verfährt, um die beiden Globulinsubstanzen zu isoliren. Um  $\alpha$ -Krystallin zu erhalten, arbeite man mit einem Extract, der die *äussere* Hälfte der Linsenmasse, entweder allein oder mit der inneren vereinigt (d. h. die ganze Linsenmasse), enthält; beabsichtigt man dagegen,  $\beta$ -Krystallin herzustellen, so benutze man einen Extract, bei dessen Bereitung die äusseren Theile (mindestens  $\frac{2}{3}$  der Linsenmasse) entfernt und *nur die inneren* beibehalten worden sind. Erst nachdem ich durch zahlreiche misslungene Versuche gelernt hatte, wie nothwendig es ist hierauf Rücksicht zu nehmen, nahmen die anfangs scheinbar trostlosen Versuche eine günstigere Wendung.

<sup>1)</sup> Der Schwefelgehalt des Eiweisses im Filtrat (Gemenge der Eiweisskörper) machte in 2 untersuchten Fällen 1,16 % resp. 1,20 %.

<sup>2)</sup> Der entsprechende Schwefelgehalt war in einem Falle = 1,09 %.

<sup>3)</sup> In diesen Theilen der Linse überaus weniger als in den äusseren Theilen (siehe unten).

Für diese Wahl des Materials spricht noch ein anderer Grund, nämlich die sehr ungleichförmige Vertheilung und Reichlichkeit der beiden Substanzen in den verschiedenen Schichten der Linse: das  $\alpha$ -Krystallin nimmt, von aussen nach innen gerechnet, rasch ab, während das  $\beta$ -Krystallin eine entsprechende Zunahme erfährt, so dass dieses Globulin im Centrum der Linse (z. B. im innersten  $\frac{1}{5}$ ) so gut wie allein vorkommt. Ein Beweis hierfür mag angeführt werden.

Eine grössere Partie Linsen wurden mit destill. Wasser zu 3 verschiedenen Malen durchgeschüttelt.

Während sie einige Minuten lang (mit 10 Cbcm. Wasser pro Linse) geschüttelt wurden, schlammten ungefähr die äusseren  $\frac{2}{5}$  der Linsenmasse auf (Fract. A).

Nach 4 Stunden langem Schütteln mit erneutem Wasser (10 Cbcm. pro Linse) waren ungefähr die nächsten  $\frac{2}{5}$  aufgeschlammt (Fract. B).

Schliesslich wurden die übrig bleibenden Linsenkerne, die ungefähr  $\frac{1}{5}$  der Linsenmasse ausmachten, durch 6stünd. Umschütteln mit 5 Cbcm. Wasser pro Linse zum Aufschlammen gebracht (Fract. C).

Nach dem Filtriren wurden die 3 Fractionen, jede für sich, untersucht.

Bei vorsichtigem Zusatz von Essigsäure zeigten sich folgende Unterschiede:

Fract. A — sehr reichliche Fällung, die von der Flüssigkeit getrennt, keinen bleischwärenden Schwefel enthielt.

Fract. B — eine vielfach geringere Fällung als in der vorhergehenden Fraction; die Fällung gab, selbst nachdem sie gereinigt war, eine recht starke Reaction auf lose gebundenen Schwefel.

Fract. C — die Fällung vielmals geringer als in Fraction B; nach der Reinigung gab sie eine starke Schwärzung beim Probiren mit Bleiacetat und Kalilauge.

Nicht weniger ausgeprägt zeigte sich der Unterschied zwischen den verschiedenen Fractionen bei quantitativer Schwefelbestimmung aus der Mischung ihrer Eiweisskörper<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Durch Concentriren zur Trockne, Pulverisiren und Trocknen der respectiven Filtrate erhalten.

Fract. A.	1,917 Gr.	angew. Substanz	— 0,89% Schwefel.
	(1,723 Gr.)	»	— 2,61% Asche).
Fract. B.	1,347 Gr.	»	— 1,06% Schwefel.
	(0,982 Gr.)	»	— 1,73% Asche).
Fract. C.	1,447 Gr.	»	— 1,27% Schwefel.
	(1,182 Gr.)	»	— 1,36% Asche).

Zum Vergleiche füge ich hier das Resultat eines auf dieselbe Weise analysirten Wasserextracts der *ganzen* Linse hinzu ( $\alpha$ -Globulin +  $\beta$ -Globulin + Albumin):

1,684 Gr. — 1,01% Schwefel.

### $\beta$ -Krystallin.

Ein weiteres Motiviren der Nothwendigkeit, sich an die inneren Theile der Linse zu halten, wenn man ein möglichst reines  $\beta$ -Krystallin herstellen will, wird wohl überflüssig sein. Das Verfahren gestaltet sich also folgendermassen:

Nachdem man durch Umschütteln mit Wasser die äusseren  $\frac{3}{4}$ — $\frac{4}{5}$  der Linsenmasse entfernt hat, behandelt man das übrig bleibende,  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$ , auf dieselbe Weise mit Wasser (z. B. 10 Cbcm. pro Linse), worauf es filtrirt wird. Das Filtrat wird sehr vorsichtig mit verdünnter Essigsäure versetzt, und die spärliche Fällung, die ausser dem Rest des  $\alpha$ -Krystallins auch einen Theil des  $\beta$ -Krystallins enthalten kann, wird abfiltrirt.

Zum Zweck qualitativer Untersuchung wird das  $\beta$ -Krystallin aus dem neutralisirten Filtrat mittelst Magnesiumsulfat ausgefällt, ausgepresst und durch Dialyse von Salz befreit.

Für die elementare Untersuchung kann das Filtrat dagegen direct oder nach Concentrirung durch Alkohol gefällt werden, indem der unbedeutende Theil albuminartigen Eiweissstoffes, der darin enthalten ist, nicht in bemerkbarem Masse auf das Resultat der Analyse einwirken kann.

Eine auf ebengenannte Weise hergestellte, dialysirte Lösung der  $\beta$ -Krystallin wird *vollständig* durch Sättigung mit Natrium- oder Magnesiumsulphat (bei + 30° C.) gefällt, ebenso durch  $1\frac{1}{2}$  Volumen gesätt. Ammoniumsulphatlösung, dagegen *nicht* durch Chlornatrium; beim Verdünnen mit Wasser — keine

Fällung. In diesen Beziehungen herrscht vollständige Uebereinstimmung mit  $\alpha$ -Krystallin.

Essigsäure oder Kohlensäure ruft eine in Neutralsalz leicht lösliche Fällung hervor, aber die Ausfällung der Substanz ist lange nicht vollständig; die Hauptmasse des Globulins bleibt unausgefällt. Wenn man den auf S. 87 beschriebenen Umweg einschlägt, so kann man jedes Mal eine neue Portion ausgefällt bekommen, und nach 5—6maliger Wiederholung der Procedur kann das  $\beta$ -Krystallin vollständig ausgefällt sein.

Die Ursache hierzu lässt sich nicht leicht mit Bestimmtheit beurtheilen. Eine Veränderung des  $\beta$ -Krystallin während der langdauernden Procedur ist ja am ehesten denkbar, aber dass sie nicht wesentlich ist, zeigt sich daraus, dass die successiv erhaltenen Globulinfällungen, von der ersten bis zur letzten, bei Zusatz von Kochsalz leicht löslich sind.

Beim Kochen mit Bleiacetat und Kalilauge entsteht reichliche schwarze Färbung und, wenn die Erwärmung fortgesetzt wird, Ausfällung von Schwefelblei.

Die Coagulationstemperatur des  $\beta$ -Krystallin beträgt ungefähr  $+ 63^{\circ}$  C., wie zahlreiche Versuche zeigen<sup>1)</sup>:

62°	für eine	1,80 procentige	Lösung.
61,5°	»	»	3,12 procentige
63°	»	»	0,51 procentige
64°	»	»	0,70 procentige
64°	»	»	1,80 procentige
63°	»	»	0,15 procentige

Ausser diesen für Lösungen von bekanntem  $\%$ -Gehalt geltenden Gradzahlen wurden eine Anzahl Temperaturwerthe beim Prüfen von Lösungen, deren Globulingehalt nicht bestimmt war, erhalten, wobei

3 St.	bei	62°	coagulirten
7	»	»	62°
1	»	»	63,5°
1	»	»	64°

<sup>1)</sup> Wenn die Lösungen ohne vorhergehenden Zusatz von Neutralsalz zum Kochen gebracht wurden, blieb die Coagulation aus.

In Uebereinstimmung hiermit entsteht in jedem, ungefähr bis zu diesem Temperaturgrade erwärmten, natürlichen Linsenwasserextract eine reichliche Coagulation. Ziemlich constant ist jedoch bei solchen Versuchen 1—2° höhere Wärme erforderlich, als bei der Coagulation des isolirten  $\beta$ -Krystallins, was wohl dem modificirenden Einflusse anderer im Wasserextract enthaltener Substanzen, besonders des freien Alkalis<sup>1)</sup>, zugeschrieben werden muss. Von 20 derartigen Coagulationsbestimmungen gaben nämlich:

2 St.	—	63°
7 »	—	64°
4 »	—	64,5°
5 »	—	65°
2 »	—	65,5°.

Die spezifische Rotation des  $\beta$ -Krystallin wurde in zwei Fällen bestimmt, und zwar auf:

$$\alpha_{(D)} = 43,3^\circ \text{ (3,12proc. Lösung),}$$

$$\alpha_{(D)} = 43,1^\circ \text{ (1,80proc. » ).}$$

Einige  $\beta$ -Krystallinpräparate wurden mit folgendem Resultate analysirt:

Präp. No. I	0,228	} Gr. angew. Substanz — 17,09 % Stickstoff.
	0,1515	
	1,231 Gr. » » — 1,25 % Schwefel.	
	(1,182 Gr. » » — 1,36 % Asche <sup>2)</sup> ).	
Präp. No. II.	0,129	} Gr. » » — 16,98 % Stickstoff.
	0,172	
	1,184 Gr. » » — 1,29 % Schwefel.	
	( » Gr. » » — 0,05 % Phosphor <sup>3)</sup> ).	
Präp. No. III.	0,235	} Gr. » » — 17,09 % Stickstoff.
	1,447	
	Gr. » » — 1,27 % Schwefel.	
	( » Gr. » » — 0,06 % Phosphor).	
Präp. No. IV.	0,181	Gr. » » — 17,01 % Stickstoff.

Mittelwerth: 17,04 % Stickstoff.

1,27 % Schwefel.

<sup>1)</sup> Jeder natürliche Linsenextract hat deutlich alkalische Reaction.

<sup>2)</sup> Dieses Präparat wurde durch directes Eintrocknen (wodurch sich der hohe Aschegehalt erklärt) der Lösung erhalten. Die übrigen Präparate ergaben weniger als 0,5 % Asche.

<sup>3)</sup> In Bezug auf die geringe Phosphormenge siehe Seite 78.

Es sind somit nicht unbedeutende Unterschiede, welche die beiden Globulinsubstanzen der Linse von einander trennen, wesswegen über ihre verschiedene Natur nicht der geringste Zweifel herrschen kann.

Abgesehen von der geringeren Fällbarkeit durch Essigsäure und Kohlensäure und einem etwas höheren Stickstoffgehalt (17,04 % gegen 16,68 %), zeichnet sich das  $\beta$ -Krystallin vor dem  $\alpha$ -Krystallin durch einen mehr als doppelt so grossen Schwefelgehalt (1,27 % gegen 0,57 %), wovon ein bedeutender Theil in «lose Bindung» eingeht, sowie durch eine bedeutend niedrigere Coagulationstemperatur (+ 63° gegen + 72° C.), aus.

Ebenso wenig, wie dies mit  $\alpha$ -Krystallin der Fall war, liegt hier, so weit ich sehen kann, die Möglichkeit vor, das eben beschriebene  $\beta$ -Krystallin mit einer anderen, früher bekannten Globulinsubstanz zu identificiren, und bin ich vielmehr geneigt, auch im  $\beta$ -Krystallin einen für die Linse specifischen Eiweisskörper zu sehen.

Ausser der beinahe nur spurweise vorkommenden Albuminsubstanz lassen sich also zwei wesentlich ungleichartige Globulinsubstanzen,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Krystallin, die zusammen den löslichen Eiweissstoff der Linse ausmachen, mit Bestimmtheit nachweisen. Der unlösliche Theil der Linse, das Albumoid, ist schon früher besprochen worden. Während der Arbeit hat sich keine Veranlassung zu der Annahme eines noch complicirteren Verhältnisses geboten.

In Bezug auf einige frühere Arbeiten von Simon<sup>1)</sup>, Lieberkühn<sup>2)</sup> und Béchamp<sup>3)</sup>, welche sich bei ihren Versuchen, die Eiweisskörper der Linse zu isoliren, mehr oder weniger verdünnten Alkohols bedienten, will ich erwähnen, dass keiner meiner Versuche über die Einwirkung dieses Mittels auf  $\alpha$ - und  $\beta$ -Krystallin die Hoffnung erregte, sie auf diesem Wege trennen zu können.

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

<sup>2)</sup> Loc. cit.

<sup>3)</sup> Loc. cit.

Freilich ist es wahr, dass wenn man z. B. die Linsenmasse mit Alkohol auskocht (Simon), oder wenn man eine mit Alkohol ausgefällte Portion Linseneiweiss mit Wasser extrahirt (Béchamp), ein Theil des Eiweissstoffes sich im Lösungsmittel findet, ein anderer Theil einen unlöslichen Rest bildet, aber deswegen zu glauben, dass sowohl der gelöste wie der ungelöste Theil einen von dem anderen verschiedenen Eiweisskörper ausmacht, hat sich nicht als berechtigt erwiesen.

Bei diesen Versuchen bildet nämlich die Hauptmasse beider Globulinsubstanzen den coagulirten Theil, während das Lösungsmittel einen kleineren Theil sowohl des  $\alpha$ - wie des  $\beta$ -Krystallins enthält.

Nachdem wir die verschiedenen Bestandtheile des Linseneiweisses kennen gelernt haben,<sup>1</sup> wollen wir nun sowohl die Mengeverhältnisse der verschiedenen Eiweisskörper in der Linse, als Ganzes betrachtet, in Erwägung ziehen, als auch noch einmal deren wesentlich ungleiche Vertheilung in den innern und äusseren Schichten der Linse hervorheben.

Die Analyse der wasserfreien Linsenmasse<sup>1)</sup> ergab folgende Werthe:

Präp. No. I.	0,201 Gr. angew. Substanz	—	16,68 % Stickstoff.
	1,052 Gr. » »	—	0,90 % Schwefel.
Präp. No. II.	0,154 Gr. » »	—	16,56 % Stickstoff.
	1,841 Gr. » »	—	0,88 % Schwefel.
Präp. No. III.	1,699 Gr. » »	—	0,92 % Schwefel.
Präp. No. IV.	1,553 Gr. » »	—	0,94 % Schwefel.

Mittelwerth: 16,62 % Stickstoff.  
0,91 % Schwefel.

Hieroben angeführte Bestimmungen (siehe S. 73) geben an, dass das Totaleiweiss der Linse zu ungefähr 48 % aus

<sup>1)</sup> Aschegehalt 1,10—1,74 %.

*unlöslicher* Substanz, dem Albumoid, besteht, übrigens aus *löslichem* Eiweiss gebildet wird.

Obgleich in diesem Falle von geringerer Bedeutung, weil der Unterschied im Schwefelgehalt der beiden Componenten nicht stark ausgeprägt ist, erbieht doch eine Controllrechnung mit Hilfe der bekannten Schwefelwerthe einiges Interesse. Aus die Equation:

$$48 \times 0,79 + 52 \times 1,01 = 100 \times x$$

geht hervor:

$$x \text{ (Schwefelgehalt des Totaleiweisses)} = 0,90 \%,$$

welches gut mit dem direct gefundenen: 0,91 % übereinstimmt.

Zur Bestimmung der Globulinsubstanzen des löslichen Eiweisses sind die Schwefelwerthe ein besonders geeigneter Ausgangspunkt, wobei die Equation:

$$0,56 \times x + 1,27 (100 - x) = 1,01 \times 100$$

X (die Menge des  $\alpha$ -Krystallin) zu 37 % angibt. Die übrigen 63 % werden vom  $\beta$ -Krystallin gebildet, ausser ungefähr 1 %, auf welches ich nach direct ausgeführten Bestimmungen die Menge der Albuminsubstanz schätzen kann (S. 84).

Das lösliche Eiweiss der Linse besteht also ungefähr aus:

- 37 % —  $\alpha$ -Krystallin,
- 62 % —  $\beta$ -Krystallin,
- 1 % — Albumin,

und folglich das Totaleiweiss der Linse aus ungefähr:

- 48 % unlöslichem Albumoid,
- 32 %  $\beta$ -Krystallin,
- 19,5 %  $\alpha$ -Krystallin,
- 0,5 % Albumin.

Wenn man diese Werthe, mit Rücksicht auf die wasserhaltige Linse in natürlichem Zustande, deren Eiweissgehalt nach Berzelius<sup>1)</sup> und Laptschinsky's<sup>2)</sup> Bestimmungen

1) Loc. cit.

2) Loc. cit.

ungefähr 35 % beträgt, umrechnet, so erhält man für die Menge der verschiedenen Eiweissstoffe in der frischen Linse:

17 % unlösliches Albumoïd,

11 %  $\beta$ -Krystallin,

6,8 %  $\alpha$ -Krystallin,

0,2 % Albumin.

In Zusammenhang hiermit dürfte es wohl nicht ohne Interesse sein, den von Laptschinsky herrührenden Angaben eine kurze Kritik zu widmen.

Laptschinsky gibt an, dass die Linse 24,6 % «Globulin» enthält, samt: «ungefähr 11 % eines löslichen Eiweissstoffes», über welchen er weiter sagt: «Dieser Eiweissstoff scheint mit dem Serumalbumin übereinzustimmen».

Wie Laptschinsky diese Werthe, die sich beim ersten Blick auf keine Weise mit den von mir gefundenen vereinigen lassen, erhalten hat, ja wie er bei dem von ihm angewendeten Verfahren dazu kommen musste, ist uns jetzt leicht verständlich. Laptschinsky rieb nämlich die Linsen mit Wasser, leitete (ohne vorhergehendes Filtriren!) Kohlensäure in die Mischung und bestimmte, nach dem Filtriren, die Menge «ausgefällten Globulins» und «Serumalbumins» (im Filtrate).

Das «ausgefällte Globulin» muss indessen, nach dem, was wir oben erfahren haben, aus dem unlöslichen Albumoïd +  $\alpha$ -Krystallin gebildet werden und sich nach meinen eben angeführten Werthen auf ungefähr 24 % (= 17 + 6,8) belaufen, welches nahe den von Laptschinsky gefundenen 24,6 % entspricht. Und ebenso deutlich ist es, dass die ganze Menge  $\beta$ -Krystallin in Laptschinsky's Werth für «Serumalbumin» enthalten ist, weswegen auch zwischen demselben und dem von mir gefundenen Werthe für  $\beta$ -Krystallin Uebereinstimmung herrscht (beide ungefähr 11 %).

Den deutlich hervortretenden Unterschied in der Consistenz, der zwischen den äusseren (der Rinde) und den inneren Schichten (dem Kern) der Linse herrscht, hat man seit Alters ganz einfach durch einen ungleichartigen Wassergehalt dieser Theile erklären wollen, indem die Eiweisslösung in den äusseren

Theilen mehr verdünnt als in den inneren sein sollte; dass jedoch die Beschaffenheit des Linseneiweisses selbst eine Rolle dabei spielen könnte, ist niemals auch nur angedeutet worden.

Für diese letztere Möglichkeit muss ich mich dagegen aus wichtigen Gründen aussprechen. Seit es hervorgegangen ist, dass die äusseren Schichten der Linse in verhältnissmässig unbedeutendem Theil, die inneren dagegen in überwiegendem Masse aus einer unlöslichen, histologisch bestimmt geförmten Substanz (dem Albumöid) bestehen, bin ich geneigt, in diesem Verhältnisse das wesentliche Moment für die Verschiedenheit der Consistenz zu sehen, ohne dass ich leugnen will, dass auch der verschiedene Wassergehalt etwas dazu beitragen kann.

In dieser Auffassung werde ich durch einen besonderen Umstand bestärkt.

Da die *äusseren* Linsentheile beim erwachsenen Thiere in Bezug auf ihre Consistenz sehr nahe mit der *ganzen* Linse vom jungen Kalbe übereinstimmen — sie sind beide viel weicher und leichter zusammenzudrücken als der innere Theil der ausgewachsenen Linse —, so untersuchte ich ganze Kalbslinsen auf dieselbe Weise wie oben angeführt, um das Verhältniss zwischen dem unlöslichen Albumöid und dem löslichen Eiweiss festzustellen. Daraus ging hervor, dass die Kalbslinse im Ganzen 17,6% unlöslicher Substanz enthielt, was ungefähr die gleiche Menge, oder 16,4% ist, die aus den äusseren Schichten der ausgewachsenen Linse in einem Versuche erhalten wurde, und dass also ein relativ niedriger Gehalt an unlöslichem Albumöid und eine weiche Consistenz Hand in Hand gehen.

Ganz summarisch können wir die Vertheilung der verschiedenen Eiweisskörper in der Linsenmasse folgendermassen ausdrücken:

Die Menge an unlöslichem Albumoid nimmt von aussen nach innen zu,

Die Menge von löslichem Eiweiss nimmt von aussen nach innen ab.

Nimmt man nur auf das Verhältniß zwischen den Bestandtheilen des löslichen Eiweisses Rücksicht, so weisen sie folgende Beziehungen auf:

$\alpha$ -Krystallin: nimmt von aussen nach innen ab,

$\beta$ -Krystallin: nimmt von aussen nach innen zu.

Albumin: zeigt keine bemerkenswerth ungleiche Vertheilung.

Vom genetischen Gesichtspunkte ist die Linse bekanntlich eine epiteliale Bildung, am ehesten mit der Epidermis zu vergleichen, und man sollte deshalb glauben, Keratin in der Linse zu finden. Indessen ist es schon seit lange erwiesen, dass diese Vermuthung keine Bestätigung findet — die Linse enthält nicht Keratin, und nach Knies<sup>1)</sup> Untersuchung der cataractösen Linse ist dies nicht einmal unter pathologischen Umständen der Fall.

Als dem Keratinisiren der Epidermiszellen entsprechend könnte man den Umstand ansehen, dass die Linsenfaser das von gewöhnlichem Eiweissstoff durch seine Unlöslichkeit resp. Schwerlöslichkeit verschiedene Albumoïd enthalten, welches in Folge dieser Eigenschaften dem Keratin einen Schritt näher kommt; und ganz auffallend ist die Analogie, die zwischen den *jungen* Epidermiszellen und Linsenfaser einerseits, und denselben Bildungen in einem *älteren* Stadium ihrer Entwicklung andererseits herrscht.

Wie die Epidermiszellen mit zunehmendem Alter sich in Keratin umwandeln, indem die jungen Zellen in stratum Malpighii noch kaum eine Spur davon aufweisen, und die ältere in den äussersten Lagen vollständig keratinisirt sind, ebenso nimmt auch der Gehalt der Linsenfaser an unlöslichem Albumoïd mit steigendem Alter zu, so dass die älteren Linsenfaser, die den Kern der Linse bilden, überaus mehr unlösliche Substanz enthalten als die jüngeren Linsenfaser, welche die äusseren Schichten der (ausgewachsenen) Linse oder sämtliche Linsenschichten des jungen Thieres (Kalbes) bilden.

---

<sup>1)</sup> Zur Chemie der Altersveränderungen der Linse. Untersuchungen aus dem physiologischen Institute der Universität Heidelberg, Bd. 1, S. 114 (1878.)

Möglicherweise ist die senile Cataracte, welche von einigen Ophthalmologen für eine «physiologische Veränderung» angesehen wird, die früher oder später eintreten muss, und der man nur durch einen vorzeitigen Tod entgehen kann, als äusserste Consequenz dieser fortschreitenden Albumoïdwandlung der Linsenfasern aufzufassen, indem die Linse nach Verlust der löslichen Eiweisskörper das Licht nicht mehr in hinreichendem Grade durchzulassen vermag.

---