

Untersuchungen über die chemische Beschaffenheit der elastischen Substanz der Aorta.

Von

Hugo Schwarz aus Budapest.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)
(Der Redaction zugegangen am 25. September 1893.)

Die bisherigen Untersuchungen über das Elastin beziehen sich ausschliesslich auf die aus dem Nackenbände des Rindes dargestellte Substanz, wie sie durch Behandlung desselben mit Säuren, Alkalien und kochendem Wasser isolirt wurde.

Bekanntlich stellt aber ausser dem Nackenbände und dem elastischen Bindegewebe das Gefässsystem das grösste Contingent der elastischen Gewebe im Organismus. Während nun das Nackenband in physiologischer Beziehung ein relativ indifferentes Organ darstellt, hat das elastische Gewebe der Gefässe eine wichtige Function zu erfüllen, die bei der Erhaltung des Gefässonus zum Ausdrucke kommt. Ueber die chemischen Eigenschaften des Gefässelastins ist in der Literatur nichts zu finden, wesshalb ich dasselbe auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, Herrn Prof. F. Hoppe-Seyler, einer chemischen Untersuchung unterzogen habe.

Darstellung des Gefässelastins.

Zur Darstellung der elastischen Substanz benützte ich ihre relative Widerstandsfähigkeit gegenüber Magensaft.

Zu dem Zwecke wurden von der nahe am Herzen abgeschnittenen Aorta des Rindes 15—30 cm. lange Stücke in möglichst zerkleinertem Zustande, bei Zimmertemperatur von

17—22° der Einwirkung von künstlichem Magensaft ausgesetzt, der durch Extraction der abpräparirten, feinerhackten Magenschleimhaut vom Schwein, mit 4‰ HCl nach der Vorschrift¹⁾ Hoppe-Seyler's dargestellt wurde. Damit die zunächst entstandenen Verdauungsproducte der übrigen Gewebsbestandtheile der weiteren Einwirkung des Magensaftes nicht hinderlich seien, wurde die Flüssigkeit nach 24stündigem Stehen abgegossen und durch frischen Magensaft ersetzt. Nach weiteren 24 Stunden wurde auch diese Flüssigkeit abgegossen und der unverdaute Rückstand mit Wasser, das durch Sodalösung schwach alkalisch gemacht worden war, so lange gewaschen, bis nicht nur die abfließende Flüssigkeit nicht mehr sauer reagierte, sondern auch ein auf die Substanz gepresster blauer Lackmuspapierstreifen nicht mehr geröthet wurde. Nachdem durch abermaliges Behandeln mit Wasser die Sodalösung entfernt war, setzte ich die Substanz während 6 Stunden siedendem Wasser aus, das dabei oft erneuert wurde, durch welchen Process die elastischen, zum Theil gefensterten Membranen sich in dem Masse lösten, als das sie zusammenhaltende Gewebe beim Sieden gelöst wurde. Die so gewonnene Substanz wurde bei 100° getrocknet und in kleine Körner von ungefähr Hirsenkorngrösse zerstossen und wieder der oben beschriebenen Procedur unterworfen.

Durch diese Behandlung lässt sich das Bindegewebe und die spärliche Muskulatur der Aorta leicht entfernen; hingegen ist, wie weiter unten gezeigt wird, neben der elastischen Substanz in der Aorta noch ein anderer Proteinkörper vorhanden, der ebenfalls vermöge seiner Widerstandsfähigkeit gegenüber von Magensaft bei der obigen Procedur noch übrig bleibt. Demnach nach dem Kochen mit Wasser erhielt ich stets eine schwach opalescirende Flüssigkeit, welche die Biuret- und die Millon'sche Reaction (letztere nur schwach) gab und in welcher ein Tropfen verdünnter Essigsäure und auch ein Tropfen von ganz verdünnten Mineralsäuren in der Kälte sowohl, wie auch beim Erwärmen einen flockigen, von der

¹⁾ F. Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. und pathol. chemischen Analyse, 6. Aufl., S. 293.

gesamten organischen Substanz herrührenden Niederschlag erzeugte, der sich auf Zusatz eines Neutralsalzes nicht löste, sondern nur in concentrirter Essigsäure und in concentrirten Mineralsäuren, löslich war und der die Millon'sche (nur ganz schwach), die Adamkiewicz'sche und die Xanthoprotein-Reaction gab. Sprach schon die Widerstandsfähigkeit gegenüber von Magensaft, sowie der Umstand der Fällbarkeit aus wässriger Lösung durch Essigsäure gegen die Annahme, es handle sich hierbei um Leim, so wurde dennoch die Eigenschaft des letzteren, beim Erkalten zu gelatiniren, wenn er nicht zu lange gekocht hat, geprüft. Zu diesem Zwecke wurden 30 gr. der körnigen Substanz $\frac{1}{2}$ Stunde lang mit siedendem Wasser gekocht, die darüber stehende schwach opalescirende Flüssigkeit abgegossen und auf dem Wasserbade auf ein ganz kleines Volumen eingengt: die Lösung gelatinirte jedoch beim Erkalten nicht. Unter den beschriebenen Proteinkörpern ist nicht ein einziger bekannt, welcher einer so energischen Behandlung mit Magensaft widerstände, in heissem Wasser nur schwer löslich wäre und im übrigen die genannten Eigenschaften böte. A priori konnte nicht entschieden werden, ob diese in Wasser allerdings schwer lösliche Substanz vielleicht die elastische Substanz der Aorta oder nur ein mit dem Gefässelastin gemengter Körper wäre. Da jedoch nach abermaligem Kochen von 20 gr. fein gepulverter Substanz mit Wasser schliesslich eine vollkommen klare, gar keine organische Substanz mehr enthaltende Flüssigkeit resultirte, so war die Frage klar: die elastische Substanz war noch durch einen fremden Körper verunreinigt.

Am meisten stimmen die Eigenschaften dieses Körpers mit denen einer von Siegfried¹⁾ jüngst beschriebenen aus der Darmumcosa vom Hunde isolirten, von ihm als Reticulin bezeichneten Substanz überein. Bei der grossen morphologischen Aehnlichkeit des elastischen Gewebes mit dem reticulirten Gewebe ist auf Grund dieser chemischen Eigenschaften jedenfalls die Wahrscheinlichkeit der Annahme, im elastischen

¹⁾ Siegfried, Ueber die chemischen Eigenschaften des reticulirten Gewebes, Habilitationsschrift 1892.

Gewebe der Aorta seien elastische Fasern mit Fasern des reticulirten Gewebes verflochten, sehr gross, wenn auch morphologisch die beiden von einander nicht unterscheidbar sind.

Zum Zwecke der Reinigung also der elastischen Substanz von dem reticulirten Bestandtheile wurde sie, allerdings unter Aufwand grosser Mühe fein pulverisirt, mit viel und oft erneuertem Wasser so lange im Sieden erhalten, bis die Flüssigkeit ganz klar abfloss und keine Spur organischer Substanz mehr enthielt. Alsdann wurde das nunmehr von anderen Proteinstoffen befreite Gefässelastin 24 Stunden lang mit 5% Salzsäure in der Kälte behandelt, mit Wasser vollständig ausgewaschen, mit Alkohol entwässert und mit Aether entfettet; die Extraction geschah so lange, bis nach Verdunsten des Extractionsmittels kein Rückstand mehr hinterblieb, ein Verfahren, das in Folge des fein pulverisirten Zustandes der Substanz bereits nach der dritten Extraction — jede Extraction dauerte 24 Stunden — zum Ziele führte. Die so dargestellte Substanz bietet getrocknet ein bräunlich-gelbes Aussehen, ist vollkommen unlöslich in Wasser, selbst nach tagelangem Kochen, unlöslich in Alkohol und Aether, in verdünnten Säuren und in verdünnten Alkalien.

Sie löst sich leicht in conc. Salzsäure mit violetter Farbe, ist schwer löslich in conc. Schwefelsäure, hingegen sehr leicht löslich in rauchender Salpetersäure. In conc. Essigsäure löst sie sich nicht einmal beim Sieden: sie gibt die Millon'sche sowie die Xanthoprotein-Reaction. Die über H_2SO_4 zum constanten Gewicht getrocknete Substanz gab bei der Analyse folgende Werthe:

- I. 0,2054 Substanz gaben 0,4074 CO_2 und 0,1323 H_2O .
- II. 0,1844 Substanz gaben 0,3598 CO_2 und 0,1116 H_2O .
- III. 0,2047 Substanz gaben 0,4011 CO_2 und 0,1300 H_2O .
- IV. 0,4346 Substanz gaben 0,07296 Stickstoff¹⁾.
- V. 0,4296 Substanz gaben 0,07098 Stickstoff.
- VI. 0,5144 Substanz gaben 0,08597 Stickstoff.
- VII. 2,7490 Substanz gaben 0,0826 $BaSO_4$, entspr. 0,01135 Schwefel.
- VIII. 3,1068 Substanz gaben 0,0768 $BaSO_4$, entspr. 0,0105 Schwefel.

¹⁾ Methode nach Kjeldahl.

- IX. 2,067 Substanz gaben 0,0586 BaSO₄ entspr. 0,00806 Schwefel.
 X. 0,9518 Substanz hinterliessen 0,0074 Asche.
 XI. 0,6314 Substanz hinterliessen 0,0043 Asche.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	Mittel.
E. . . % ¹⁾	54,46	53,59	53,81	—	—	—	—	—	—	—	—	53,95
H. . .	7,25	6,77	7,08	—	—	—	—	—	—	—	—	7,03
N. . .	—	—	—	16,78	16,52	16,71	—	—	—	—	—	16,67
S. . .	—	—	—	—	—	—	0,41	0,33	0,39	—	—	0,38
Asche	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,77	0,68	0,72

Der Schwefel wurde nach der Methode von Hammarsten²⁾ bestimmt.

Um zu sehen, ob der Schwefel sich durch Kochen mit KOH abspalten lässt, wurden 10 gr. gepulverten Gefässelastins mit 1 Liter 1proc. KOH 4 Stunden lang unter dem Rückflusskühler gekocht, darauf mit Wasser ausgewaschen. In der getrockneten Substanz, die durch das Kaliumhydroxyd nicht angegriffen, höchstens spurenweise eine gequollene Beschaffenheit angenommen hatte, konnte nach Schmelzen mit Kali und Salpeter gar kein Schwefel nachgewiesen werden. Nach obiger Behandlung blieben trotzdem alle Eigenschaften des nicht entschwefelten Elastins erhalten.

Dieser Versuch weist auf ein eigenthümliches Verhalten des Schwefels im Elastin hin, gegenüber von anderen Proteinstoffen, die durch Kochen mit Kalilauge nur einen Theil des Schwefels abgeben, während ein anderer Theil dabei sich nicht abspalten lässt: eine Thatsache, die bekanntlich zur Annahme von wenigstens 2 Atomen Schwefel in den letzteren zwingt, von welchen das eine und zwar das durch Kalilauge nicht abspaltbare Atom als das «fest gebundene», das andere, durch Kalilauge abspaltbare, als das «locker gebundene» bezeichnet wird. Es erscheint daher der Schluss gerechtfertigt, dass im Molecüle des Aortenelastins möglicherweise nur ein

¹⁾ Es wurde auf aschefreie Substanz berechnet.

²⁾ Zeitschrift f. physiol. Chem., Bd. VII, S. 257, und ebenda, Bd. IX, S. 288.

einziges Atom enthalten ist; bei dieser Annahme müsste dann das Moleculargewicht dieses Körpers mindestens gleich 8686 sein, was im Vergleiche mit den von anderen Autoren für Proteinstoffe angegebenen Werthen nicht zu hoch erscheint, wie folgende Tabelle zeigt:

	Mol.-Gew.
Lieberkuhn's Alkalialbuminat ¹⁾	1612
Albumin (Harnack) ²⁾	4679,4
(Loew) ³⁾	4836
Conglutin (Kalkverbindung) (Grübler) ⁴⁾	5081
Elastin aus der Aorta	8686
Reticulin (Siegfried) ⁵⁾	10000

Aus dieser Tabelle entnehmen wir ferner die Thatsache, dass die angegebenen Moleculargrößen der Proteinstoffe — freilich sind sie nicht als exact bewiesen zu betrachten — mit der Verdaulichkeit derselben in directem Verhältnisse stehen: Je schwerer die Proteinkörper durch die Verdauungsfermente gelöst werden, um so grösser ihr Moleculargewicht. Die Annahme Siegfried's, das Moleculargewicht⁶⁾ für das Elastin aus dem Nackenbande sei ca. 70,000, bei der er sich auf die übereinstimmenden Angaben von Horbaczewsky⁷⁾ und Erlenmeyer und Schäffer⁸⁾ stützt, die 0,25% Tyrosin aus der elastischen Substanz des Nackenbandes erhielten, scheint mir nicht begründet zu sein, da wir gar keinen festen Anhaltspunkt dafür haben, dass die bei der Spaltung mit Säuren oder Alkalien aus den Proteinstoffen entstehenden Atomcomplexe als im Proteinmolecul präformirte zu betrachten sind. —

¹⁾ Nach Loew entspricht dies dem Pepton. Siehe Loew, Pflüg. Arch. 31, S. 399.

²⁾ Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. V, S. 206.

³⁾ S. Loew, l. c.

⁴⁾ Journ. f. pr. Ch. (2) 23, S. 135.

⁵⁾ L. c. S. 23.

⁶⁾ Ebenda.

⁷⁾ Wiener Akad. Sitzungsberichte, II. Abthlg., S. 657, 1885.

⁸⁾ Journ. f. pr. Chemie 80, S. 367, 1860.

Seit Liebig's Streit mit Mulder¹⁾ nimmt man an, es sei unmöglich, die Proteinstoffe zu entschwefeln, ohne einen gänzlichen Zerfall des Molecüls herbeizuführen. Da aber das Gefäßelastin durch Kochen mit Kalilauge vollkommen entschwefelt wurde, ohne hierbei seine oben angegebenen Eigenschaften zu verlieren, so liegt gar kein Grund vor, einen Zerfall des Molecüls durch diesen Process bei ihm anzunehmen. Das Gefäßelastin enthält vielmehr den Schwefel in einer Form, in welcher er aus dem Molecüle durch Kalilauge vollkommen abspaltbar ist, in derjenigen Form nämlich, in welcher er als «locker gebunden» bezeichnet wird. Es gewinnt also wiederum die Annahme der 2 möglichen Bindungen des Schwefels im Proteinmolecüle hierdurch eine erneute Stütze.

Spaltung des Aortenelastins mit gespannten Wasserdämpfen.

6 gr. der gepulverten Substanz wurden im zugeschmolzenen Rohre aus Kaliglas mit 60 cm.³ Wasser auf 100° erhitzt; da sich nach 18stündigem Erhitzen nur wenig gelöst hatte, steigerte ich die Temperatur auf 130—140° C. Nach 15 Stunden war alles gelöst. Dieser Versuch wurde dreimal wiederholt. Stets resultirte eine fluorescirende bräunlichgelbe Lösung von wenn auch ganz schwacher Alkalescenzen. Letztere rührte ohne Zweifel davon her, dass durch die überhitzten Wasserdämpfe Alkali aus dem Glase abgespalten wurde. Eine Probe der zusammengewaschenen und mit Thierkohle entfärbten Flüssigkeiten trübte sich beim Erhitzen im Reagensgläschen nicht. Hingegen entstand auf Zusatz eines Tropfens ganz verdünnter Essigsäure beim Erwärmen eine deutliche Trübung mit Niederschlag, der nach dem Erkalten vollkommen schwand. Um diesen Körper von den anderen Spaltungsproducten zu trennen, neutralisirte ich die Lösung der hydrolytischen Spaltungsproducte durch Zufügen weniger Tropfen 0,5% Essigsäure. Der beim Erwärmen entstandene reichliche Niederschlag wurde heiss abfiltrirt und in Wasser gelöst. Die Lösung zeigte alle Reactionen, welche

¹⁾ Vergl. die Abhandlung Loew's: Ueber Eiweis und Oxydation desselben. Journ. f. pr. Ch. (2) 31, S. 133.

Horbaczewsky für sein Hemi-elastin¹⁾ (aus dem Nackenbande) und Chittenden und Hart für ihre Protelastose²⁾ (ebenfalls aus dem Nackenbande) als charakteristisch bezeichnen: Trübung beim Erwärmen, Aufklären nach dem Erkalten, Fällung durch Essigsäure und Ferrocyankali, durch 30 % Essigsäure und Kochsalz und andere Fällungsmittel des Hemi-elastins Horbaczewsky's. Das Filtrat vom Niederschlage hingegen gab die Reactionen, welche von den genannten Autoren³⁾ für das Elastinpepton beziehungsweise Deuteroelastose angegeben werden. Hieraus folgt:

1. Bei der hydrolytischen Spaltung des Aortenelastins mit gespannten Wasserdämpfen entstehen dieselben Producte, wie bei der Spaltung des Nackenbandelastins mit Verdauungsfermenten oder auch durch Kochen mit Wasser, das eine Spur Salzsäure enthält⁴⁾.

2. Es tritt nicht nur ein einheitliches Product auf, wie es einerseits von M. S. Schulze⁵⁾ — reiner Leim der elastischen Fasern —, andererseits von Horbaczewsky⁶⁾ — nur Elastinpepton — behauptet wird, sondern es entstehen ganz dieselben Producte, wie bei jeder anderen hydrolytischen oder fermentativen Spaltung (also durch Trypsin, Pepsin, mit HCl angesäuertem Wasser) des Nackenbandelastins; mit dem Vorbehalte allerdings, dass, wenn die verschiedenen Spaltungsproducte, von einander nur graduell unterschieden in einander übergehen können, das Hemi-elastin (Protelastose) bei weiterem Erhitzen in Elastinpepton (Deuteroelastose) übergehen könne. Ob hierbei auch wahre Peptone im Kühne'schen Sinne entstehen, habe ich wegen Mangel an Material nicht untersucht. Die Thatsache, dass Horbaczewsky bei der Spaltung des Nackenbandelastins mit gespannten Wasserdämpfen nur sein Elastinpepton fand, hat zur Ursache, dass er vermuthlich die

¹⁾ Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. VI, S. 337.

²⁾ Zeitschrift f. Biologie, Bd. 25, S. 368.

³⁾ L. c.

⁴⁾ Chittenden und Hart, Zeitschrift f. Biologie, Bd. 25, S. 373.

⁵⁾ Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 71, cit. nach Horbaczewsky.

⁶⁾ L. c., S. 344.

Reaction der Flüssigkeit nicht beachtete und die charakteristische Reaction für Hemi-elastin — durch Erwärmen der Lösung auszufallen, um sich beim Erkalten wieder zu lösen — nach übereinstimmenden Angaben Horbaczewsky's und Chittenden und Hart's nur bei neutraler oder saurer Reaction gelingt.

Zersetzung des Gefässelastins mit Salzsäure ¹⁾.

100 gr. Substanz wurden mit 50 Theilen Zinnchlorür, dem einige aus Stanniolstreifen zusammengerollte Kügelchen beigemischt waren, und 400 Gewichtstheilen 20% Salzsäure 80 Stunden lang am Rückflusskühler erhitzt. Das oben hinausragende Rohr war mittelst eines Stückchens Caoutchouc und Glasrohrs mit einem nur wenig Bleiacetatlösung enthaltenden Kölbchen verbunden, in dem schon im Verlaufe der ersten Stunde eine Bräunung auftrat und sich später ein schwarzer Niederschlag von Bleisulfid absetzte, zum Beweise, dass sich Schwefelwasserstoff entwickelt hatte. Nach dem Erkalten verdünnte ich die Flüssigkeit auf das zehnfache Volumen mit Wasser und fällte das Zinn durch Schwefelwasserstoff aus. Das wasserhelle Filtrat wurde, nachdem es auf ca. 1,5 Liter eingeeengt worden war, noch heiss mit einer heiss gesättigten Lösung von 600 gr. krystallisirter Phosphorwolframsäure ²⁾ gefällt. Es entstand sofort ein schwerer körniger Niederschlag, der sich bald zu Boden senkte. Die Hauptmenge der phosphorwolframsauren Verbindungen schied sich aber erst beim Erkalten in Form einer krystallinischen, die Gefässwandungen bedeckenden Kruste ab. Nach dem Stehen über Nacht wurde der Niederschlag abgesaugt und mit einer 10% ausserdem noch 5% Schwefelsäure enthaltenden Phosphorwolframsäurelösung chlorfrei gewaschen.

¹⁾ Es wurde die von Hlasiwetz und Habermann (Annal. d. Chem. u. Pharm.), Bd. 169, S. 150, 1873. auch Journ. f. pr. Chem. (2), Bd. VII, S. 297) eingeschlagene, von Drechsel und Siegfried (Ber. d. ch. Ges., Bd. XXIV, S. 418, 1891) modificirte Methode befolgt.

²⁾ Präparat von Merck.

Der Phosphorwolframsäureniederschlag.

Es galt zu untersuchen, ob in dem, durch Phosphorwolframsäure erzeugten Niederschlage die von Drechsel unter den Spaltungsproducten des Caseïns entdeckten, von E. Fischer aus Leim, von Siegfried aus Conglutin, Glutenfibrin, Hemi-protein, Oxyprotsulfonsäure, Eieralbumin und auch aus Reticulin dargestellten, von Hedin bei der Pankreasverdauung von Fibrin gefundenen Basen, Lysin und Lysatinin vorhanden seien¹⁾. Zu diesem Behufe wurde der Niederschlag mit Wasser aufgeköcht, wobei nur ein Theil in Lösung ging und mit einem geringen Ueberschusse von Barythydrat versetzt; hierbei trat der Geruch nach Ammoniak auf, das durch die Phosphorwolframsäure gefällt und jetzt durch Barythydrat aus der Verbindung befreit war. Nun wurde das Filtrat mit Kohlensäure gesättigt, der Ueberschuss derselben durch Kochen ausgetrieben. Auf Zusatz einer conc. Lösung Silbernitrats entstand im Filtrat ein amorpher Niederschlag, der nach 12 Stunden abfiltrirt die Eigenschaften der amorphen Silberverbindung Siegfried's aufwies²⁾. Ich untersuchte denselben nicht weiter, sondern engte das Filtrat zum dünnen Syrup ein, wobei von nicht geringen Mengen reducirten Silbers öfters abfiltrirt werden musste und behandelte diese Lösung durch allmäligen Zusatz von Alkohol. Während Siegfried³⁾ bei seinen Untersuchungen einiger Proteinstoffe die Ausscheidung einer, die Drechsel'sche Base des Lysin $C_6H_{14}N_2O_2$ enthaltenden, schmierigen, theils undeutlich krystallinischen Masse beobachtete, kam ich hierbei zu einem anderen Resultat. Allmäliger Zusatz von Alkohol

¹⁾ E. Drechsel. Zur Kenntniss der Spaltungsproducte des Caseïns. (Vorl. Mittheil.) Journ. f. pr. Chemie (2), Bd. 39, S. 424, sowie auch Ber. d. Königl. Sächs. Gesellsch. der Wissensch., 23. April 1889. Derselbe, Ueber Bildung von Harnstoff aus Eiweiss, Ber. d. D. chem. Ges., Bd. 23, S. 3096. Derselbe. Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abtheil.) 1891, S. 248. Der Abbau der Eiweissstoffe. Hier befindet sich ein Auszug aus den Abhandlungen E. Fischer's und Hedin's. Siegfried, Ber. d. Deutschen chem. Ges., Bd. 24, S. 418. Derselbe, Ueber die chem. Eigenschaft des reticulirten Gewebes. Habilitationsschrift 1892.

²⁾ L. c.

³⁾ L. c.

bewirkte nämlich, selbst nachdem ich den Syrup noch mehr eingeeengt hatte, ausser einer schwachen Trübung und Ausscheidung spärlicher öliger Tropfen zunächst nichts. Erst auf Zusatz von wenig Aether entstand milchige Trübung, welche sich nach einiger Zeit klärte; zugleich traten auf den Wandungen des Gefässes ins Lumen hineinragende lange weisse Nadeln auf, die sich auf Zusatz von mehr Aether vollständig ausschieden. Nach Auswaschen mit absolutem Alkohol, in dem sie vollständig unlöslich waren, und Trocken über H_2SO_4 erhielt ich bei der Silberbestimmung 27,96 % Ag. Berechnet sind für $C_6H_{13}N_3O_2 \cdot HNO_3 \cdot AgNO_3$ 27,55 % Ag.

Offenbar war hier die Substanz, welche, wie nachfolgende Analysen zeigen, lediglich aus der Silberverbindung des Drechsel'schen Lysatinins bestanden, mit ein wenig Silbernitrat verunreinigt. Nach einmaligem Umkrystallisiren war das Präparat vollkommen rein. Dasselbe ergab folgende Werthe:

- I. 0,2221 Substanz gaben 0,1477 CO_2 entspr. 0,0402 C und 0,063 H_2O entspr. 0,007 H.
- II. 0,2417 Substanz gaben 0,1646 CO_2 entspr. 0,0448 C und 0,0846 H_2O entspr. 0,0094 H.
- III. 0,2239 Substanz gaben 33,9 ccm. Stickstoff bei 23,1° T. und 750,6 Barm.
- IV. 0,1673 Substanz gaben 0,0607 AgCl entspr. 0,0457 Ag.
- V. 0,1207 Substanz gaben 0,0443 AgCl entspr. 0,0334 Ag.

Berechnet für $C_6H_{13}N_3O_2 \cdot HNO_3 \cdot AgNO_3$.	Gefunden				
	I.	II.	III.	IV.	V.
C 18,36 %	18,09	18,53	—	—	—
H 3,57 %	3,15	3,89	—	—	—
N 17,85 %	—	—	18,02	—	—
Ag 27,55 %	—	—	—	27,31	27,67

Aus den Mutterlaugen konnte nach Verdunsten des Alkohols und Aethers Kalium und Natriumplatinchlorid in geringer Menge dargestellt werden. Indess fielen alle Versuche, organische Substanz in Form eines Platinsalzes daraus zu isoliren, negativ aus. Trotzdem möchte ich die Behauptung, dass das Lysin Drechsel's, welches bisher stets in Gemeinschaft

mit Lysatinin gefunden wurde, hierbei nicht entsteht, nicht aufstellen, denn es kann ja dasselbe schliesslich hier in so geringer Menge aufgetreten sein, dass es mit Hilfe der angegebenen Methode nicht isolirt werden konnte. Das Lysatinin hingegen, die interessante Base Drechsel's, welche, wie er gezeigt hatte, beim Kochen mit Aetzbarytlösung Harnstoff liefert, erhielt ich als Silbersalz in sehr schönen Krystallnadeln, die unter dem Einfluss des Tageslichtes Silberglanz angenommen haben.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag.

Zur Entfernung von Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure wurde das Filtrat mit Barythdrat in geringem Ueberschusse versetzt; das Baryum genau mit Schwefelsäure wieder ausgefällt und das Filtrat, das so die ganze Menge der Salzsäure enthielt, zum Syrup eingedampft. Trotz wochenlangem Stehen im Eisschrank und verschiedenartigen, mühsamen Versuchen, den Syrup zur Krystallisation zu bringen, erhielt ich nicht einmal theilweise Abscheidung von Krystallen. Wäre auch nur eine Spur Glutaminsäure unter den Spaltungsproducten enthalten, so würde sich dieselbe durch die in eiskalter conc. Salzsäure unlöslichen Krystalle der salzsauren Verbindung derselben ausgeschieden haben.

Nun wurde die Salzsäure theils auf dem Wasserbade, theils durch Kochen des vorher mit Wasser verdünnten Syrups mit frisch gefälltem Bleioxydhydrat entfernt. Nachdem ich das von dem Bleiniederschlag abfiltrirte, durch Schwefelwasserstoff entbleite Filtrat bis zu einem gewissen Grade eingedampft hatte, schied sich beim Erkalten Tyrosin in sehr schön ausgebildeten, seidenglänzenden, zu Büscheln vereinigten Krystallen aus, die durch die üblichen Reactionen und Krystallform als solche identificirt wurden. Das Filtrat vom Tyrosin gab mit Millon's Reagens gekocht eine so geringe Färbung, dass ich annehmen musste, dass das Tyrosin vollständig auskrystallisirt war.

Je weniger verschiedenartige Substanzen in einer Lösung enthalten sind, um so besser gelingt bekanntlich die Aus-

krystallisation derselben. In der That gelang es mir, im vorliegenden Falle bei genauem Treffen des Concentrationsgrades der Mutterlauge das Tyrosin vollständig und in selten schönen Krystallen zu isoliren; aus der Mutterlauge nämlich, aus der ich einen Theil der Spaltungsproducte vorher durch Fällung mit Phosphorwolframsäure entfernt hatte.

Beim weiteren Eindampfen erhielt ich leucinartige Ausscheidungen in Form der bekannten Schollen und Häute. Nach wiederholtem Eindampfen, Erkaltenlassen und Abheben der krystallinischen Schollen und Häute wurden dieselben mit viel absolutem Alkohol (99,5 %) sehr oft ausgekocht, die nach dem Erkalten ausgeschiedenen Substanzen wieder mit kochendem absol. Alkohol behandelt, bis ich nach dem Erkalten des Extractionsmittels sehr schöne schimmernde Schuppen erhielt. Dieselben gaben die üblichen Leucinproben und zwar die von Scherer als auch die Sublimationsprobe.

Da aber nach der Beschreibung der Autoren die Amidovaleriansäure hinsichtlich ihrer chemischen Eigenschaften sowohl, als auch in Bezug auf ihre Krystallform dem Leucin sehr ähnlich ist, in Alkohol jedoch schwerer löslich ist als Leucin und daher aus einer alkoholischen Lösung, die beide Substanzen neben einander enthält, zuerst auskrystallisiren würde, so genügte der qualitative Nachweis des Leucins nicht; nur die Analyse konnte hier entscheiden.

- I. 0,2307 Substanz über H_2SO_4 bis zum constanten Gewicht getrocknet, gaben 0,4678 CO_2 entspr. 0,1275 C. und 0,1998 H_2O entspr. 0,0222 H.
 II. 0,2614 Substanz gaben 0,0333 NH_3 entspr. 0,0274 N.

Ber. für Leucin:		Gefunden:
C	54,96 %.	55,26 %.
H	9,92 %.	9,63 %.
N	10,68 %.	10,48 %.

Die Krystalle bestanden somit aus reinem Leucin.

Von der darauf mit Wasser verdünnten Mutterlauge versetzte ich zur Prüfung auf Asparaginsäure eine Probe davon mit einer schwach ammoniakalischen Silberlösung. Eine amorphe Fällung — die Silberverbindung der gesamten Asparagin-

säuremenge ¹⁾) — trat hierbei nicht auf, nur schwache Trübung. Asparaginsäure war somit unter den Spaltungsproducten ausgeschlossen, eine Thatsache, welche sich mit dem Fehlen ihrer nächst homologen Glutaminsäure sehr wohl vereinbaren lässt. Bei den Spaltungen der Proteinstoffe sammelte sich das Glycocoll immer in der letzten Mutterlauge an. Um diese Amidosäure, falls sie hier entstanden war, zu isoliren, befreite ich die Mutterlauge von dem Reste der Salzsäure, der durch das Bleioxydhydrat nicht entfernt werden konnte, durch Behandeln mit Silberoxyd und dampfte sie ein.

Da ich aber auf diese Weise keine schönen Krystalle erzielte, so benützte ich zur Isolirung dieser Säure die Leichtlösbarkeit der salzsauren Verbindung derselben in Alkohol, wie sie von Horbaczewsky ²⁾) mit Erfolg angewendet wurde. Zu diesem Zwecke wurde der Syrup mit Salzsäure fast zur Trockne eingedampft und mit 96,5% Alkohol ausgekocht. Nach vollständiger Verdunstung des Alkohols und nach Lösung des trockenen Rückstandes in Wasser entchlorte ich durch Silberoxyd und dampfte auf ein kleines Volumen ein. Es schieden sich im Exsiccator nach einiger Zeit harte, süßschmeckende Krystalle aus, welche bei der Stickstoffbestimmung folgende Werthe ergaben:

- I. 0,2705 Substanz über H_2SO_4 getrocknet gaben 0,0601 NH_3 entspr. 0,04949 N.
- II. 0,2491 Substanz gaben 0,0563 NH_3 entspr. 0,04636 N.

	Gefunden:	
Ber. f. Glycocoll:	I.	II.
18,66 %.	18,30 %.	18,61 %.

Schliesslich sei bemerkt, dass ebenfalls durch Ueberführung des in Alkohol unlöslichen Theiles der leucinartigen Ausscheidungen in die salzsaure Verbindung und Auskochen mit Alkohol auch Glycocoll erhalten wurde.

¹⁾ Siegfried, Ber. d. d. ch. G., Bd. 24, S. 421.

²⁾ Ueber die durch Salzsäure aus den Albuminoiden entstehenden Spaltungsproducte. Wiener Akad. Sitzungsberichte, 1879, II. Abth., und Ueber das Elastin (aus dem Nackenbände), ebenda. 1885.

Nachdem ich durch diese Untersuchungen unter den Spaltungsproducten des Gefässelastins einmal Schwefelwasserstoff, Ammoniak, Leucin, Glycocoll, Tyrosin und Lysatinin nachgewiesen hatte, stellte ich mir die weitere Aufgabe, zu untersuchen, ob unter denselben ausser den hydroxylierten Atom-complexen, welche als Tyrosin abgeschieden wurden, auch nichthydroxylierte vorhanden seien. Zu diesem Zwecke spaltete ich 200 gr. der elastischen Substanz mit Salzsäure und Zinnchlorür. Nach dem Verdünnen mit Wasser, Befreiung von Zinn und Salzsäure, wurde der grösste Theil des Tyrosins abgeschieden; hierauf fast zur Trockne eingedampft und die ganze Masse durch mehrere Stunden fortgesetztes Kochen unter dem Rückflusskühler mit doppelt chromsaurem Kali und Schwefelsäure oxydirt. Schon nach kurzer Zeit entwickelte sich der Geruch nach Benzaldehyd und Cyanwasserstoff; ich leitete die entweichenden Producte unter Wasser, wodurch sie absorbirt wurden. In demselben konnten durch die üblichen Reactionen nicht unbeträchtliche Mengen Cyanwasserstoffs nachgewiesen werden. Ich liess die Flüssigkeit erkalten und extrahirte mit Chloroform. Nach Verdunsten desselben blieb eine grünliche aus Nadeln und Blättern bestehende Masse zurück. Dieselbe schmolz im Capillarröhrchen bei 117° . Nach dem Umkrystallisiren aus Petroläther, von dem es sehr leicht gelöst wurde, erhielt ich schneeweisse lange Nadeln, welche im Capillarröhrchen bei $120-121^{\circ}$ schmolzen. Die Substanz wurde analysirt:

0,2109 Substanz über H_2SO_4 getrocknet gaben 0,5305 CO_2 entspr.
 0,1447 C = 68,61%, und
 0,0861 H_2O entspr. 0,0095 H = 4,63%.

Die Zahlen stimmen für Benzoësäure, welche 68,85% Kohlenstoff und 4,91 Wasserstoff enthält.

Es wurde ein Silbersalz dargestellt, dasselbe ergab bei der Silberbestimmung:

0,1604 Substanz gaben 0,0998 AgCl entspr. 0,07493 Ag.

Ber. für benzoësaure Silber:
 46,92%

Gefunden:
 46,71%

Die Menge der erhaltenen Benzoësäure war 3,9 gr. = 1,95%. Es ist somit bewiesen, dass unter den Spaltungsproducten ausser den hydroxylierten Atomcomplexen auch nichthydroxylierte vorhanden sind. Dass die, durch Oxydation der Spaltungsproducte erhaltene Benzoësäure auf die unter denselben befindlichen homologen Benzoësäuren bzw. auf Phenylamidofettsäuren zurückzuführen ist, kann wohl keinem Zweifel unterliegen.

Der Gedanke, aus Proteïnstoffen durch Oxydation Benzoësäure darzustellen, ist nicht neu¹⁾. Allein abgesehen von den bekannten Untersuchungen Salkowski's über Fleischfäulniss, bei denen er dreierlei aromatische Gruppen nachwies, ist es erst E. Schulze²⁾ bei Verarbeitung eines Pflanzeneiweissstoffes, des Conglutins, gelungen, neben Tyrosin, durch Oxydation der Spaltungsproducte mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure, sowohl Benzoësäure darzustellen, als auch die derselben zu Grunde liegende Phenylamidopropionsäure zu gewinnen. Ebenso erhielt er Benzoësäure aus Leim und Caseïn³⁾.

Schmelzen des Gefässelastins mit Kali.

Beim Schmelzen mit Aetzkali wurde zunächst auf einige dabei entstandenen aromatischen Producte untersucht. Zu diesem Zwecke wurden 30 gr. der mit Wasser befeuchteten Substanz mit KOH im Oelbade geschmolzen. Schon in der Kälte machte sich intensiver Geruch nach Ammoniak bemerkbar. Das bei 170° aufgefangene Destillat zeigte starke Indolreaction; es wurde weiterhin bis 200° erhitzt. Theilweise Trennung des Indol vom Skatol konnte durch Ueberdestilliren mit Wasser bewirkt werden; ausserdem wies ich im Destillate Benzol nach. Aus dem ursprünglichen Retortenrückstande

¹⁾ Guckelberger: *Annalen d. Ch. u. Ph.*, Bd. 64, S. 39. Schlieper: *ibenda*, Bd. 59, S. 1, cit. nach Schulze. Subbotin: *Chem. Centralblatt* 1865, S. 594. Loew: *Journ. f. pr. Ch.* 1885, Bd. 31, S. 144. Maly: *Monatshefte für Chemie*, Bd. VI, Bd. IX, Bd. X.

²⁾ *Zeitschr. f. ph. Ch.*, Bd. IX, S. 63.

³⁾ *l. c.*, S. 120 (Anhang).

wurde der Rest des Indol und Skatol durch Petroläther extrahirt; nach Befreiung von denselben und Ansäuern mit Schwefelsäure konnte ich Phenole überdestilliren.

Nencki und Schoubenko¹⁾ haben festgestellt, dass beim Schmelzen von Eiweiss und Leim mit Aetzkali neben Schwefelwasserstoff Methylmerkaptan entsteht. Um das Gefässelastin daraufhin zu untersuchen, unterwarf ich abermals 30 gr. Substanz der Kalischmelze 1 Stunde lang, wobei die Temperatur bei 250—280° erhalten wurde. Die Kalischmelze prüfte ich nach dem von Nencki und Schoubenko²⁾ angegebenen Verfahren. Ich konnte jedoch kein Methylmerkaptan, sondern nur Schwefelwasserstoff nachweisen. Es scheint somit, dass bei der Kalischmelze der nur locker gebundenen Schwefel enthaltenden Proteinkörper keine Merkaptane entstehen.

Die Litteratur über das Elastin aus dem Nackenbande reicht mehrere Jahrzehnte zurück³⁾. Hingegen weichen die einzelnen Angaben, besonders was die elementäre Zusammensetzung anbelangt, nicht unwesentlich von einander ab. Der Darstellungsweise nach zu urtheilen arbeiteten Horbaczewsky⁴⁾ einerseits, Chittenden und Hart andererseits⁵⁾ mit den reinsten Präparaten und deshalb sind die Arbeiten dieser Autoren über die elastische Substanz des Nackenbandes als die zuverlässigsten zu betrachten. Ueber Spaltung des Nacken-

¹⁾ Archives des scienc. biologiq. publiées par l'institut impérial de médic. expériment. à St-Petersbourg. Tom 1, p. 315.

²⁾ L. c.

³⁾ Tilanus, s. Mulder's Physiolog. Chemie, Bd. II, S. 592. W. Müller: Zeitschr. für ration. Medicin. 3. Serie, Heft 2, 10, S. 180. Zollikofer: Annal. d. Ch. u. Pharm. 82, S. 176, 1861. Erlenmeyer u. Schaeffer: Journ. f. p. Ch. 80, S. 367, 1860. siehe auch Zeitschr. für Chem. u. Pharm., II. Jahrg. S. 315. Wälschli: Ueber Fäulniss des Elastin und Mucin, Journ. f. pr. Ch. (2) 17, S. 71, 1878. Etzinger: Zeitschr. f. Biol., Bd. 10. Morochowetz: Verdauungsgesetze, Auszug im Jahresb. f. Thierchemie 1886, cit. nach Chittenden und Hart. Ewald und Kühne: Die Verdauung als histol. Methode, Verhandl. d. Naturhistor. Med. Vereines zu Heidelberg, N. F., Bd. 1.

⁴⁾ Ueber das Verhalten des Elastins bei der Pepsinverdauung, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. VI, S. 330.

⁵⁾ Ueber Elastin und Elastosen, Zeitschr. f. Biol., Bd. 25, S. 368.

bandelastins mit Salzsäure hat *Horbaczewsky*¹⁾ eine Arbeit geliefert, in welcher er unter denselben Leucin, Tyrosin, Glycocol (Amidovaleriansäure?), Ammoniak, einen mit den Schützenberger'schen Leuceinen²⁾ ähnlich zusammengesetzten Körper, jedoch weder Glutamin- noch Asparaginsäure gefunden hat. Bei der Fäulniss des Elastins aus dem Nackenbande konnte *Wälschli*³⁾ weder Indol noch Skatol und auch kein Phenol nachweisen.

Wir sind heute noch nicht im Stande, die einzelnen Abarten der Proteinkörper chemisch ganz genau zu charakterisiren. Bei unserer Unkenntniss der Molecularstructur und Moleculargrösse der Proteinkörper müssen uns ihre gröberen chemischen und physikalischen Eigenschaften zu ihrer Charakterisirung dienen. Von diesem Standpunkte aus betrachtet müssen wir die elastische Substanz der Gefässe mit derjenigen des elastischen Bindegewebes für identisch erklären. Dafür sprechen folgende Thatsachen:

1. Ihre ziemliche Uebereinstimmung der procentualen Zusammensetzung.
2. Das Fehlen von Glutaminsäure und Asparaginsäure unter den Spaltungsproducten.
3. Dass bei der Spaltung mittelst gespannter Wasserdämpfe dieselben Producte entstehen wie bei der Verdauung und Spaltung des Nackenbandelastins mit Wasser, das eine Spur Salzsäure enthält.

Nachdem in Folge dieser Thatsachen die Identität der beiden Elastine anzunehmen ist und damit die Vermuthung *Hammarsten's*, es gäbe mehrere Elastine⁴⁾, wenigstens für die elastische Substanz der Gefässe durch das Experiment nicht bestätigt wird, so sei im Folgenden von Elastin im Allgemeinen die Rede.

¹⁾ Wiener Akad. Sitzungsberichte, 1885, II. Abth.

²⁾ Schützenberger: Annales de chimie et de physique (5) T. 16, S. 289.

³⁾ Journ. f. pr. Chemie (2), 17, S. 71, 1878.

⁴⁾ Physiologische Chemie, deutsche Ausgabe 1891, S. 30.

Bis zum heutigen Tage wird das Elastin in den meisten physiologisch-chemischen Lehrbüchern als ein schwefelfreier Körper beschrieben. Der Grund davon liegt in der Thatsache, dass bei der Reindarstellung der Substanz stets mit Kalilauge behandelt wurde, wodurch, wie oben gezeigt, die ganze Menge Schwefels abgespalten wird. Trotz der Angabe Chittenden und Hart's¹⁾, nach welcher dieselben in einem Präparate — sie substituiren dabei das Kochen mit 1% Kalilauge durch Behandlung mit Essigsäure und Salzsäure — 0,3 Schwefel gefunden haben, ein Befund, den sie übrigens nicht mit Gewissheit dem Elastin zugeschrieben haben, wurde der Schwefelgehalt des Elastins allgemein in Frage gestellt. Da über die Reinheit meines Präparates in Folge der Darstellungsweise und der erhaltenen analytischen Resultate kein Zweifel bestehen kann, so zeigen vorliegende Untersuchungen entschieden, dass das Elastin als ein schwefelhaltiger Körper zu betrachten ist.

Abgesehen von einer Angabe Nencki's, nach welcher er Eiweissstoffe mancher Pilzarten²⁾ frei von Schwefel gefunden hat, was ihn zur Aufstellung der Behauptung führte, dass für das lebendige Protoplasma der Schwefel kein nothwendiger Bestandtheil sei, so ist kein Proteinkörper bekannt, welcher frei von Schwefel wäre.

Es ist eigenthümlich, dass unter den Spaltungsproducten des Elastins die nichthydroxylierten aromatischen Atomcomplexe in weit grösserer Zahl vertreten sind, als die hydroxylierten. Wie oben gezeigt wurde, betrug die Menge des Tyrosins — und die Abspaltung geschah in vorliegendem Falle so gut, wie quantitativ — 0,34% der zersetzten Substanz. Andererseits wurden neben Tyrosin 1,95% Benzoësäure erhalten. Vergleicht man die Menge der den beiden aromatischen Atomcomplexen — nämlich den hydroxylierten und nichthydroxylierten — zu Grunde liegenden Benzolkerne, so gestaltet sich das Verhältniss wie 1:8,6. Nebenbei sei bemerkt, dass unter

¹⁾ L. c., S. 371 und 372.

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges., 1884, S. 2605.

den organischen Spaltungsproducten der Proteinkörper die nichthydroxylierten Atomcomplexe die einzigen sind, welche sich heute durch Oxydation und Extraction mit Chloroform quantitativ bestimmen lassen. Letzteres Extractionsmittel ist dem Aether vorzuziehen, da es die bei der Oxydation des Tyrosins entstehende Paraoxybenzoësäure nicht gleichzeitig extrahirt.

Resultate:

1. Das Elastin aus der Aorta ist mit demjenigen aus dem Nackenbande identisch.
2. Das Elastin ist ein schwefelhaltiger Körper.
3. Die ganze Menge des Schwefels ist durch Kochen mit 1% Kalilauge abspaltbar, ohne dass das Elastin hierbei seine Eigenschaften verliert.
4. Dieser Befund ist ein Beweis dafür, dass wenigstens der locker gebundene Schwefel ohne Zerfall des Proteinmolecöls abspaltbar ist.
5. Bei der Spaltung mit überhitzten Wasserdämpfen liefert Elastin Hemi-elastin und Elastinpepton (bezw. nach Kühne's Terminologie Prot. und Deutero-elastose).
6. Beim Kochen mit Salzsäure entstehen NH_3 , H_2S , Leucin, Glycocoll, Tyrosin, homologe Benzoësäuren, Lysatinin.
7. Die den beiden aromatischen Atomcomplexen zu Grunde liegenden Benzolkerne verhalten sich wie 1:8,6.
8. Beim Schmelzen mit Kali gibt es, unter anderen, folgende aromatische Atomkomplexe: Indol, Skatol, Benzol, Phenole.
9. Die Vermuthung Hammarsten's, es gäbe mehrere Elastine, wird, wenigstens für die elastische Substanz der Gefässe, welche ausser dem elastischen Binde-

gewebe das grösste Contingent des Elastins im Organismus stellt, durch das Experiment nicht bestätigt.

Zum Schlusse sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. F. Hoppe-Seyler, für die vielfachen Anregungen und Unterstützungen, die er mir während der Dauer dieser Arbeit zukommen liess, meinen wärmsten Dank auszusprechen.