

Ueber das Antipepton.

(II. Mittheilung.)

Von

Fr. Kutscher.

(Aus dem physiologischen Institut in Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 9. September 1895.)

In meiner letzten Abhandlung¹⁾ habe ich gezeigt, dass die von Kühne und Chittenden angewandten Methoden zur Darstellung eines reinen Antipeptons nicht zur Gewinnung eines chemischen Individuums führen, sondern dass der von den genannten Forschern als Antipepton bezeichnete Körper ein Gemenge heterogener Substanzen ist. Das Gemenge wurde von mir mittelst der von Kossel²⁾ zur Isolirung der Hexonbasen ausgearbeiteten Methode theilweise aufgelöst. Als wesentliche Bestandtheile fanden sich dabei Histidin und Arginin.

Diese Resultate stehen im direkten Gegensatz mit Angaben Siegfried's.³⁾ Siegfried erklärt das Antipepton für ein chemisches Individuum, identificirt es mit der von ihm isolirten Fleischsäure und gibt ihm die Formel der Fleischsäure $C_{10}H_{15}N_3O_5$. Balke⁴⁾ hat die Angaben Siegfried's vollkommen bestätigt. Nun hat Balke mit einem Antipepton gearbeitet, das nach einem Verfahren dargestellt war, welches sich im Princip mit dem Kühne-Chittenden'schen völlig deckte. Die Abweichungen beziehen sich nur auf Nebensächlichkeiten. Das

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXV. S. 195.

2) Diese Zeitschrift. Bd. XXV. S. 165.

3) Archiv für Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. Jahrg., 1894. S. 401

4) Diese Zeitschrift. Bd. XXII. S. 248.

von Balke benutzte Antipepton musste daher, denn Balke vermeidet die Reinigung durch Phosphorwolframsäure, ungefähr dem Rohantipepton von Kühne und Chittenden entsprechen. Ich konnte daher vermuthen, im Antipepton Balke's ähnliche Verhältnisse anzutreffen, wie im Antipepton Kühne's. Wegen der grossen Tragweite der Arbeiten Siegfried's und Balke's habe ich mich jedoch in meiner ersten Abhandlung jeder Bemerkung über dieselben enthalten, da ja die Möglichkeit offen stand, dass die etwas modificirte Methode Balke's praktisch ein reines Antipepton liefere.

Inzwischen sind von mir Untersuchungen an einem genau nach Balke's Vorschrift gewonnenen Antipepton vorgenommen. Die Pankreasverdauung des Fibrins, welches mir das Antipepton für meine Versuche gab, leitete ich in der Weise, dass ich 1400 gr. feuchtes, gut ausgewaschenes Fibrin abpresste, in einer grossen Flasche mit 3 Litern 0,25%iger Sodalösung aufschwemmte, 500 ccm. Pankreasinfus¹⁾ zufügte, reichlich Thymol und Chloroform beigab und das Ganze wohl verschlossen am 12. III. 98 in einen auf 40° C. eingestellten Brutschrank brachte. Am 21. III. 98 fügte ich nochmals 500 gr. Pankreasinfus hinzu. Den 21. IV. 98 brach ich die Verdauung ab. Zur Gewinnung des Antipeptons aus diesem Verdauungsgemisch verfuhr ich wörtlich nach den Angaben Balke's. Die Ausbeute betrug etwas über 200 gr. Antipepton.

In Arbeit nahm ich 200 gr. Antipepton. Dieselben löste ich in 3 Liter Wasser, säuerte mit Schwefelsäure an und fällte in der Kälte mit Phosphorwolframsäure, solange ein Niederschlag entstand. Nachdem der körnige, sehr voluminöse Niederschlag abfiltrirt war, wusch ich ihn kurz mit 5%iger Schwefelsäure aus. Vom Umkrystallisiren nahm ich dieses Mal

1) Den Pankreassaft stellte ich mir in der Weise dar, dass ich 100 gr. nach Kühne gereinigtes Trockenpankreas (s. Zeitschr. f. Biologie Bd. XXII, S. 435) mit 500 ccm. 0,1%iger Salicylsäure 24 Stunden bei 40° C. digerirte, die saure Flüssigkeit vom Engelösten abfiltrirte und mit Natriumcarbonat neutralisirte. Ich nahm davon Abstand, die Drüse auch noch mit Sodalösung zu extrahiren, da sie nach einer Probe nur mehr sehr wenig wirksames Ferment enthalten konnte.

Abstand, um den Einwand zu vermeiden, dass hierbei eine Zersetzung des Antipeptons stattgefunden habe. Zwecks Zersetzung der Phosphorwolframfällung schwemmte ich dieselbe in Wasser auf, machte die anhaftende freie Schwefelsäure durch etwas Baryt unschädlich, erwärmte sie auf 50° C. und fügte so lange concentrirte, ebenfalls auf 50° C. erhitzte Barytlösung hinzu, bis sich durch Natriumcarbonat ein geringer Ueberschuss von Baryt nachweisen liess. Darauf filtrirte ich, schlug im Filtrat den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure nieder und concentrirte die Flüssigkeitsmenge auf 1,5 Liter. Jetzt versetzte ich die stark alkalisch reagirende Flüssigkeit mit 10%igem Silbernitrat, solange ein Niederschlag entstand (Fällung I). Die voluminöse amorphe Silberverbindung filtrirte ich ab. Das Filtrat versetzte ich weiter mit 10%igem Silbernitrat, bis eine Probe in gesättigte Barytlösung gebracht, nicht mehr eine rein weisse, sondern leicht braun gefärbte Fällung gab. Sobald ich diesen Punkt erreicht hatte, brachte ich in die silberhaltige Flüssigkeit festen Baryt in geringem Ueberschuss. Nachdem sich die Flüssigkeit mit Baryt gesättigt hatte, trat eine neue sehr reichliche Fällung ein (Fällung II). Ich filtrirte sie ab, vereinigte Fällung I und II und verarbeitete dieselben auf Histidin und Arginin, das Filtrat davon auf Lysin. Zu diesem Zweck schwemmte ich die aus Fällung I und II bestehende Masse in Wasser auf, löste sie in möglichst wenig Salpetersäure auf, schaffte die geringen Mengen beigemischten Baryts genau mit Schwefelsäure heraus und filtrirte. Das Filtrat versetzte ich vorsichtig mit Ammoniak, so lange ein Niederschlag entstand. Die voluminöse Fällung filtrirte ich ab. Das eingeeengte Filtrat lieferte auf vorsichtigen Zusatz ammoniakalischer Silberlösung noch reichliche Mengen des gleichen Niederschlages. Die durch Ammoniak resp. ammoniakalische Silberlösung erhaltenen Niederschläge mussten das Histidin in Form seiner amorphen Silberverbindung¹⁾ enthalten.

Um das Histidin rein darzustellen, verfuhr ich derart, dass ich die in oben geschilderter Weise enthaltene Silber-

¹⁾ S. Hedin. Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 194.

verbindung mit Salzsäure zersetzte, vom Chlorsilber abfiltrirte, concentrirte und den erhaltenen reichlichen Syrup zur Krystallisation aufstellte. Da sich auch nach wochenlangem Stehen keine Krystalle abscheiden wollten, versetzte ich den mit Wasser aufgenommenen Syrup mit Bleiessig. Es entstand eine reichliche, zum Theil aus basischen Chlorbleiverbindungen bestehende Fällung. Das Filtrat davon befreite ich durch Schwefelwasserstoff vom überschüssigen Blei, fügte etwas Salzsäure zu, dampfte zum Syrup ein und stellte von Neuem zur Krystallisation auf. Bereits nach einigen Tagen begannen sich jetzt reichlich Krystalle abzuscheiden. Als sich dieselben nicht mehr vermehrten, saugte ich sie von der Mutterlauge ab. Die Mutterlauge, die übrigens noch schwache Biuretreaction gab, lieferte trotz aller Bemühungen nur eine geringe weitere Krystallisation. Die gewonnenen Krystalle enthielten etwas Farbstoff eingeschlossen. Um sie zu reinigen, krystallisirte ich sie nach vorheriger Entfärbung durch Thierkohle aus Wasser um. Zur Analyse löste ich sie in etwas concentrirter warmer Salzsäure und fällte sie mit Alkohol-Aether. Die schliessliche Ausbeute ergab 2,1 gr. Histidindichlorid.

0,181 gr. Substanz gaben 0,2277 Chlorsilber = 31,10% Chlor.

0,1775 gr. Substanz gaben bei der volumetrischen Bestimmung 29,1 cem. Stickstoff, abgeschlossen über 25%iger Kalilauge. Barometerstand 748,0 mm. Temperatur 20° C.

Für $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HCl$.

Berechnet:	Gefunden:
Cl = 31,19%	Cl = 31,10%
N = 18,42 »	N = 18,57 »

Die bei der Reindarstellung des Histidins durch Bleiessig erhaltene Fällung zersetzte ich durch Schwefelwasserstoff und erhielt aus derselben einen stark gefärbten Syrup, den ich jedoch nicht in analysirbare Form bringen konnte.

Das Filtrat von der Histidinsilberverbindung musste das Arginin enthalten. Um dasselbe zu isoliren, concentrirte ich es, wobei starke Reduction des Silbers stattfand, und stellte es zur Krystallisation auf. Schon nach 48 Stunden war die ganze Masse zum Krystallbrei erstarrt. Ich saugte jetzt die Krystalle von der Mutterlauge ab, wusch mit viel Alkohol

nach, um das beigemengte Ammonnitrat loszuwerden, löste die Krystalle in siedendem Wasser, filtrirte vom reducirten Silber ab, engte ein und liess nochmals krystallisiren. Da sich jedoch auch jetzt noch starke Reduction des Silbers bemerkbar machte, ich aber vermeiden wollte, dass ich ein Gemenge von saurem und basischem Argininsilbernitrat in die Hände bekam, so suchte ich die zum zweiten Male abgeschiedenen, alkalisch reagirenden Krystalle in das saure Silbersalz überzuführen, indem ich sie in Wasser löste und Salpetersäure bis zur schwach sauren Reaction zufügte. Bei der freiwilligen langsamen Verdunstung schied sich jetzt eine am Boden des Krystallisationsgefässes haftende Krystallmasse ab, die sich in ihrem Aussehen deutlich von den weissen auskrystallisirten Nadeln des sauren Argininsilbernitrates unterschied. Sie erwies sich bei näherer Untersuchung als das neutrale, ziemlich schwer lösliche Nitrat einer mir bisher nicht bekannten Base. Die Ausbeute betrug ca. 2 gr. Ueber diese neue Base werde ich demnächst berichten. Das ausgeschiedene Argininsilbernitrat wurde von mir für die Analyse noch zweimal in etwas verdünnter Salpetersäure gelöst und mit Alkohol-Aether gefällt. Es wurden gewonnen 24,26 gr. analysenreiner Substanz.

0,2316 gr. Substanz gaben 0,062 gr. Silber = 26,77%.

0,2045 gr. Substanz lieferten bei der volumetrischen Bestimmung 36,8 ccm. Stickstoff, abgesperrt über 25% iger Kalilauge. Barometerstand 752 mm. Temperatur 20° C.

Für $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 + AgNO_3$	
Berechnet:	Gefunden:
Ag = 26,54%	Ag = 26,77%
N = 20,64%	N = 20,50%

Aus dem Filtrat von Fällung I und II suchte ich nach dem Hedin'schen¹⁾ Verfahren das Lysin als schwerlösliches basisches Silbersalz zu isoliren. Zu diesem Zwecke fällte ich aus demselben den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure aus, filtrirte, concentrirte und stellte zur Krystallisation auf. Es krystallisirte jedoch nur Baryumnitrat heraus. Auch alle meine weiteren Versuche, das Lysin in Form seiner Silber-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXI. S. 297.

verbindungen zur Krystallisation zu bringen, sind bisher vergeblich gewesen. Ich versuche daher zur Zeit, die im Filtrat enthaltenen Körper auf anderem Wege zu trennen.

Da für mich hier die Arbeit in gewisser Weise zum Stillstand gekommen war, wandte ich mich dem durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Theil des Antipeptons zu. Diesen befreite ich durch Baryt von Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure. Den überschüssigen Baryt fällte ich genau mit Schwefelsäure aus. Die erhaltene Flüssigkeit reagierte stark sauer. Die Ursache konnten nur frei gewordene organische Säuren sein. Um dieselben zu isoliren, concentrirte ich die Flüssigkeit in der Hoffnung, dass sie eventuell auskrystallisiren würden. Es schieden sich jedoch nur Leucin und Tyrosin in einer Menge von 6.35 gr. aus. Ich verdünnte daher die von Leucin und Tyrosin abgesaugte Flüssigkeit auf 1,5 Liter und fügte 10%ige Silbernitratlösung zu. Es entstand sofort eine schwache flockige Fällung. Dieselbe filtrirte ich ab, wusch mit Wasser aus, schwemmte sie in Wasser auf und zersetzte sie mit Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelsilber befreite Flüssigkeit schied, nachdem sie stark concentrirt war, einen in feinen Nadeln krystallisirenden, stark sauren Körper aus. Leider erhielt ich nicht genügende Mengen zur Analyse. Da ich aber über das «Antipepton» weiter arbeite, hoffe ich allmählich genug davon in die Hände zu bekommen, um die Substanz später identificiren zu können. Das Filtrat von der Silberfällung versetzte ich abwechselnd mit 10%iger Silbernitratlösung und Barytwasser, solange ein Niederschlag entstand. Ein Ueberschuss von Barytwasser ist sorgfältig zu vermeiden, da derselbe den Niederschlag entweder wieder löst oder vollkommen zersetzt. Der zunächst sehr voluminöse Niederschlag wurde bald körnig, wobei sein Volumen stark abnahm. Ich filtrirte ihn ab, wusch ihn mit Wasser aus, schwemmte ihn in Wasser auf und zersetzte ihn durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelsilber befreite Flüssigkeit erstarrte nach starker Concentration zu einer weichen Krystallmassé. Das Gewicht derselben betrug circa 8 gr. Aus ihr liessen sich 2,33 gr. einer in weissen Blättchen krystallisirenden Substanz isoliren, welche

bei der Analyse nachstehende, der Asparaginsäure nahe kommende Werthe lieferte.

0,2469 gr. nach Kjeldahl behandelt sättigen ab 18,2 ccm. $\frac{1}{10}$ Normal-Oxalsäure entsprechend 0,02548 gr. N = 10,32% N.

0,2164 gr. Substanz liefern bei der Verbrennung 0,3004 gr. CO_2 = 37,87% C und 0,1145 gr. H_2O = 5,92% H.

Für $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$

Berechnet :	Gefunden :
N = 10,52%	N = 10,32%
C = 36,09 %	C = 37,87 %
H = 5,26 %	H = 5,92 %

Um endgültig festzustellen, dass die isolirte Säure hauptsächlich aus Asparaginsäure bestand, stellte ich das Kupfersalz dar, indem ich die in Wasser gelöste Säure mit kohlen-saurem Kupfer kochte. Die vom überschüssigen Kupfer siedend heiss abfiltrirte Flüssigkeit liess beim Erkalten sofort ein in Nadeln krystallisirendes schwer lösliches Kupfersalz ausfallen. Die Analyse ergab Folgendes:

0,2006 gr. lufttrockener Substanz verloren bei 115° C. 0,0596 gr. = 29,71% H_2O und lieferten 0,0581 gr. CuO = 23,13% Cu.

0,2386 gr. lufttrockener Substanz gaben bei der volumetrischen Bestimmung 11,2 ccm. Stickstoff abgesperret mit 25%iger Kalilauge Barometerstand 751 mm. Temperatur 22° C.

Für $\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_4\text{Cu} + 4\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$.

Berechnet :	Gefunden:
Krystallwasser = 29,59%	Krystallwasser = 29,71%
Cu = 23,02 %	Cu = 23,13 %
N = 5,08 %	N = 5,30 %

Auch aus den Mutterlaugen der Asparaginsäure erhielt ich noch etwas asparaginsaures Kupfer. Die Filtrate vom aspara-ginsauren Kupfer lieferten nach ihrer Concentration einen stark kupferhaltigen Syrup, der nicht krystallisirte. Weiter ist von mir bisher die Auflösung von Balke's Antipepton nicht verfolgt worden.

Ich will die gewonnenen Resultate der Uebersichtlichkeit wegen zusammenstellen. Einschieben muss ich hier einen kleinen Vorversuch, der mir gestattet, die im Vorstehenden gefundenen Zahlen besser auszunutzen. Ich fällte 3,143 gr. von Balke's Antipepton mit Phosphorwolframsäure, zerlegte die

Phosphorwolframfällung und gewann aus derselben wieder 0,971 gr. = 30,9% der ursprünglichen Substanz.

Lege ich diese Zahl meinem Hauptversuch zu Grunde, so ergibt sich, dass der durch Phosphorwolframsäure fällbare, dem gereinigten Antipepton Kühne's entsprechende Theil ca. 60 gr. der angewandten Gesamtmasse (200 gr.) entsprechen muss. Von diesen 60 gr. sind bisher wiedergefunden:

als Histidin 1,4 gr. = 2,3%,

als Arginin 10,4 gr. = 17,3%,

in Gestalt einer unbekannt Base ca. 2 gr. = 3%.

Rechne ich dazu die in den Histidin- und Argininmutterlauge enthaltene Substanz zu ca. 5 gr., eine Zahl, die eher zu tief als zu hoch gegriffen ist, so ergibt sich, dass vom gereinigten Antipepton im vorliegenden Falle lediglich durch Silberfällungen 30—31% sich haben abtrennen lassen und 21—22% als analysenreine krystallinische Substanzen gewonnen wurden.

Der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Theil, der, um mich der gängigen Ausdrucksweise zu bedienen, ein »unreines Antipepton« darstellen musste, lieferte 6,35 gr. = 4,5% Leucin + Tyrosin und ca. 8 gr. = 5,7% eines Säuregemisches, aus dem sich Asparaginsäure isoliren liess.

Die obige Zusammenstellung bestätigt die Angaben Balke's durchaus nicht. Es zeigt sich im Gegentheil die überraschende Thatsache, dass sich sein Antipepton durch Phosphorwolframsäure in zwei Haupttheile zerlegen lässt, einen durch Phosphorwolframsäure fällbaren basenreichen und einen durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren, der die den Basen correspondirenden Säuren zu enthalten scheint. Durch geeignete Methoden lassen sich dann beide Haupttheile weiter auflösen. Diese Thatsachen stimmen schlecht für ein chemisch reines Antipepton der Formel $C_{10}H_{15}N_3O_5$, vertragen sich dagegen gut mit den Einwänden, welche sich schon Kühne und Chittenden¹⁾ bezüglich der Einheitlichkeit des Antipeptons selbst machten. Der Hauptgrund, welcher die genannten Forscher abhielt, sich

1) Z. f. Biologie. Jahrg. 1886, Bd. XXII, S. 452.

bestimmt für die chemische Individualität des Antipeptons auszusprechen, war das starke Schwanken in den erhaltenen Analysenwerthen der verschiedenen Präparate. Die Ursache hierfür erklärt sich jetzt ohne Commentar. Auch eine andere sehr auffällige Erscheinung in den Analysen Kühne's, nämlich die, dass die gleichen Präparate nach ihrer Umfällung mit Phosphorwolframsäure ein merkliches Absinken des Kohlenstoffs bei gleichzeitigem Wachsen des Stickstoffs zeigten, lässt sich jetzt ohne Schwierigkeit deuten, wenn wir das Anwachsen der kohlenstoffarmen, aber stickstoffreichen Hexonbasen in der Phosphorwolframportion in Betracht ziehen. Ich lasse hier die interessirenden Analysen Kühne's¹⁾ folgen.

	Fibrinpepton		Drüsenpepton	
	Vor der Fällung durch Phosphorwolframsäure	Nach der Fällung	Vor der Fällung durch Phosphorwolframsäure	Nach der Fällung
C	47.68	46.59	44.45	42.96
H	7.03	6.69	7.17	7.26
N	16.58	18.28	17.06	17.80

Setzen wir weiter die gefundene Histidinmenge in Beziehung zu den verdauten 526 gr. Eiweiss (ich rechne die 1400 gr. feuchtes Fibrin als 350 gr. trockenes und nehme gemäss den Versuchen Kühne's [s. Z. f. Biologie, Bd. XXII, S. 435] an, dass von den 200 gr. Trockenpankreas, die bei Bereitung der Verdauungsflüssigkeit zur Verwendung kamen, 176 gr. verdaut wurden), so haben dieselben 0,266% Histidin geliefert. Diese Zahl, verglichen mit der von Hedin²⁾ bei der Zersetzung von Eiweiss durch Säuren erhaltenen, ergibt eine gute Uebereinstimmung der Histidinwerthe (0,266% gegen 0,263%). Der von mir gefundene hohe Histidinwerth scheint demnach auf eine weitgehende Zertrümmerung des Eiweissmoleküls und des in demselben enthaltenen Protaminkerns

1) L. c., S. 452.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 191.

durch das Trypsin zu sprechen. Diese Annahme findet in der schwachen Biureaction des Antipeptons ihre Bestätigung. Die auffällige Abnahme der Biureaction wurde von Kühne¹⁾ zuerst am Drüsenpepton constatirt, bei einem Antipepton, das durch Selbstverdauung der Pankreasdrüse entsteht. Bei diesem Verdauungsvorgang wirkt eine grosse Trypsinmenge auf verhältnissmässig wenig Eiweiss ein. Naturgemäss muss hier die Einwirkung des Trypsins auf das Eiweissmolekül besonders energisch erfolgen, und das documentirt sich durch das Verschwinden der Biureaction. Auch die Stoffwechselversuche Ellinger's,²⁾ in denen sich derselbe vergeblich bemühte, durch Verfütterung von Drüsenpepton seine Versuchsthiere ins Stickstoffgleichgewicht zu bringen, sprechen dafür, dass das Drüsenpepton aus einem Gemenge verschiedener Körper besteht, die schon weit ab vom nativen Eiweiss stehen müssen, weshalb sie nicht mehr zum Ersatz des verbrauchten Körpereiwisses verwerthet werden können. Wir sehen, wie leicht und ungezwungen sich alle bekannt gegebenen, auffälligen Eigenschaften des Antipeptons durch die von mir gewonnenen Resultate erklären lassen.

Ich wende mich nunmehr der Fleischsäure Siegfried's zu. Das Ausgangsmaterial, welches Siegfried die Muttersubstanz der Fleischsäure, die Phosphorfleischsäure, geliefert hat, war Kemmerich's Fleischextract. Aus demselben fällte er³⁾ anfänglich durch Baryt, später durch Ammoniak und Calciumchlorid die Phosphate heraus, versetzte die davon befreite Flüssigkeit mit Eisenchlorid, kochte auf und stumpfte die saure Reaction bis zur schwach sauren mit Ammoniak ab. Das ausfallende Salz war das Carniferrin, das Eisensalz der Phosphorfleischsäure. Das Princip der Siegfried'schen Methode ist nicht neu. Es lässt sich bis auf die Arbeiten Schmidt-Mülheim's und Hofmeister's über den Verbleib der Peptone im Thierkörper verfolgen. Beiden diente ein dem Siegfried'schen

1) Zeitschr. f. Biologie, Jahrg. 1892. Bd. XXIX. S. 324.

2) Zeitschr. f. Biologie, Jahrg. 1896. Bd. XXXIII. S. 191.

3) Archiv für Anat. u. Physiol., Physiol. Abth., Jahrg. 1894, S. 401 u. diese Zeitschrift. Bd. XXI. S. 360.

ähnliches Verfahren dazu, um aus den peptonhaltigen Flüssigkeiten Eiweiss und Albumosen herauszuschaffen. Hofmeister¹⁾ verfuhr dabei in der Weise, dass er die auf Pepton zu untersuchenden Flüssigkeiten mit Natriumacetat und Eisenchlorid versetzte, die stark saure Reaction bis zur schwach sauren abstumpfte, aufkochte und so Eiweiss wie Albumosen als unlösliche Eisenverbindungen ausfällte. Folin²⁾ erhebt dem auch Einwand gegen die Siegfried'schen Arbeiten, indem er dem Verfahren Siegfried's jede Specificität abspricht. Nach seinen Versuchen lieferten bei Anwendung des Siegfried'schen Verfahrens die Albumosen Eisenverbindungen, welche dieselben Löslichkeitsverhältnisse gegen Alkalien wie das Carniferrin zeigten.

Mit einer Methode also, die in hohem Grade das Vermögen besitzen muss, Albumosen zu fällen, arbeitet Siegfried im albumosereichen Fleischextract³⁾ und fällt mit derselben das einheitliche Carniferrin. Schon die von Folin vorgebrachten Einwände müssen uns die chemische Individualität des Carniferrins recht zweifelhaft erscheinen lassen, doch lässt sich noch ein weiterer Grund gegen dieselbe beibringen, das ist das Auftreten der Bernsteinsäure unter den Zersetzungsprodukten des Carniferrins. Wir kennen nämlich schon lange aus den Arbeiten Weidel's⁴⁾ die Bernsteinsäure als einen Bestandtheil des Fleischextractes. Kemmerich⁵⁾ citirt in seinen Arbeiten über die Bestandtheile des Fleischextracts die Angaben Weidel's und widerlegt sie nicht. Allerdings konnte Herr Blumenthal⁶⁾ in 50 gr. Liebig's- und 150 gr. Cibil's-Fleischextract keine Bernsteinsäure nachweisen. Doch glaube ich, dass diese beiden an kleinen Mengen Fleischextract gemachten negativen Befunde Blumenthal's kaum die Angaben eines so hervorragenden Chemikers wie Weidel beeinträchtigen. In Kenntniss der

1) Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 264, 271 und Bd. V, S. 140.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 163.

3) Diese Zeitschrift, Kemmerich's Arbeiten, Bd. XVIII, S. 414.

4) Annalen der Chemie u. Pharmacie, Bd. CLVIII, S. 366.

5) Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 413.

6) Virchow's Archiv, Bd. 137, S. 559.

Weidelschen Angaben kann uns das Erscheinen der Bernsteinsäure unter den Spaltungsprodukten der Phosphorfleischsäure nicht wundern, es liess sich im Gegentheil ihr Erscheinen dort erwarten. Denn Siegfried muss die Bernsteinsäure mit seiner Methode in Form ihres Eisensalzes fällen und durch seine weiteren Manipulationen, die auf die Darstellung der Fleischsäure hinzielen, wieder in Freiheit setzen. Ob die Bernsteinsäure der einzige Körper ausser den Albumosen ist, der durch die Siegfried'sche Methode gefällt wird, muss ich dahingestellt sein lassen. Es genügen jedoch, wie ich glaube, schon die vorstehenden Erwägungen, um zu zeigen, dass das Carniferrin ein Gemenge von Eisenverbindungen heterogener Körper sein muss. Die Eisenverbindungen zersetzt Siegfried durch Baryt, schafft den Baryt durch Schwefelsäure fort und erhält lediglich durch Alkoholfällung die einheitliche Fleischsäure oder das Antipepton. Auf die hohe Unwahrscheinlichkeit, durch ein so einfaches Verfahren aus einem Gemisch unbekannter Körper nur einen herauszuholen, brauche ich kaum hinzuweisen.

In geringer Abänderung benutzt Siegfried¹⁾ die Eisenfällung, um auch aus pankreatischen Verdauungsgemischen das Antipepton direkt zu isoliren. Er versetzt die Verdauungsgemische mit Kochsalz und Eisenchlorid und erhitzt, dabei fällt die Fleischsäure in Form ihres unlöslichen Eisensalzes aus. Dasselbe wird dann weiter durch Barythydrat zersetzt, das frei gewordene Antipepton von Baryt befreit und durch Alkohol gefällt. Die Methode wäre brauchbar, wenn sie specifisch wäre, das ist sie aber nicht. Denn man kann sich jederzeit mit Witte'schem Pepton oder reinen Albumosen, die man mit der nöthigen Menge Kochsalz und etwas Eisenchlorid versetzt und aufkocht, überzeugen, dass starke Fällungen von stickstoffhaltigen Eisenverbindungen auftreten. Man müsste demnach bei Anwendung der Methode Siegfried's zunächst vorher die Verdauungsgemische mit Ammonsulfat von den Albumosen befreien, weiterhin den Nachweis führen, dass sich in den

1) Archiv für Anat. u. Physiol., Physiol. Abt., Jahrg. 1894, S. 416.

albumosefrei gemachten Flüssigkeiten keine durch Eisenchlorid + Kochsalz fällbaren Körper ausser Antipepton befinden. Diese Bedingungen hat Siegfried nicht erfüllt, und daher ist eine Discussion über den Körper, den er als Antipepton alias Fleischsäure aus Verdauungsgemischen isolirt hat, nicht gut möglich.

Fasse ich die von mir erhaltenen Resultate kurz zusammen, so ergibt sich:

Das nach Balke dargestellte Antipepton ist ein Gemenge heterogener Körper, das sich durch Phosphorwolframsäure in zwei Theile, einen basen- und einen säurereichen, trennen lässt.

Aus dem basenreichen Theil haben sich bisher Histidin, Arginin und eine unbekannte Base, aus dem säurereichen Asparaginsäure isoliren lassen.

Die Methode Siegfried's zur direkten Isolirung des Antipeptons aus Verdauungsgemischen ist nicht anwendbar, da auch Albumosen durch dieselbe gefällt werden, und der Nachweis fehlt, dass die übrigen bei der Pankreasverdauung entstehenden Körper nicht auch schwer lösliche Eisenverbindungen liefern.