

## Zur Kenntniss der Bromproteinochrome.

Von

Dr. D. Kurajeff (aus St. Petersburg).

Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge, Nr. 16.)

Der Redaction zugegangen am 7. December 1898.

### I.

Das von Tiedemann und Gmelin entdeckte Spaltungsprodukt der Eiweissstoffe, welches von Stadelmann<sup>1)</sup> wegen seiner Fähigkeit, farbige Verbindungen zu liefern, als Proteinochromogen bezeichnet worden ist, hat in jüngster Zeit dadurch an Interesse gewonnen, dass Nencki daraus durch Schmelzen mit Kali Pyrrol, Indol und Skatol gewinnen und hieraus, sowie aus der Zusammensetzung auf seine Beziehungen zum Hämatin einerseits, zu den schwefelreichen Melaninen andererseits schliessen konnte. Von einer genaueren Kenntniss seiner chemischen Natur sind wir aber immer noch weit entfernt: nicht einmal seine empirische Zusammensetzung oder die seiner charakteristischen Chlor- und Bromderivate ist genügend festgestellt. Stadelmann, dann Nencki, zuletzt Nencki's Schüler, Beitler, haben das Brom- resp. das Chlorprodukt analysirt: die erhaltenen Zahlen gehen aber weit auseinander. Als Grund dieser Verschiedenheit kann den Angaben dieser Autoren entnommen werden, dass bei dem eingeschlagenen Darstellungsverfahren nicht ein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge einander nahestehender Stoffe erhalten wird, welche sich wegen Schwerlöslichkeit und Unkrystallisirbarkeit von einander und

<sup>1)</sup> Stadelmann, Zeitschrift für Biologie, Bd. XXVI, S. 491.

von beigemengten fremden Stoffen offenbar nur schwierig trennen lassen. Die Beimischung solcher Verunreinigungen wird besonders dann leicht erfolgen, wenn die Abscheidung des Brom- oder Chlorproduktes aus einer an Albumosen reichen Mutterlauge erfolgt. Es war daher der Versuch am Platze, die Darstellung dieser Produkte aus Verdauungslösungen vorzunehmen, die von vornherein von Albumosen möglichst befreit worden waren.

Stadelmann entfernte die gelösten Eiweissstoffe durch Coagulation, liess Leucin und Tyrosin auskrystallisiren, fällte dann mit Brom und zog den Niederschlag mit 90%igem Alkohol aus. Nach dem Vertreiben des Alkohols blieb ein Rückstand, aus dem Stadelmann Präparate von verschiedener Färbung und Zusammensetzung erhielt: eines von dunkelvioletter Farbe, in Aether löslich (B), ein anderes von gleicher Farbe, aber in Aether unlöslich, in Alkohol löslich (C), endlich ein drittes von brauner Farbe, in Alkohol schwer löslich (D). Nencki<sup>1)</sup> entfernte ebenfalls das Eiweiss durch Kochen, fällte dann mit 5%iger Quecksilberchloridlösung aus, wobei Xanthinbasen entfernt wurden, liess aus dem Filtrat das Tyrosin auskrystallisiren und fällte dann erst aus dem Filtrat das Bromprodukt aus. Dabei wurden Albumosen oder peptonartige Körper mitgefällt, da dem Produkt nachträglich ein Körper, der Biuretreaction gab, entzogen werden konnte. Er fand, dass durch Bromzusatz zu der Verdauungsflüssigkeit zum Mindesten zwei verschiedene Körper gebildet werden, von denen der eine, mit rother Farbe lösliche, der in geringerer Menge entstand, sich durch hohen Bromgehalt (27%) und geringen Schwefelgehalt (0,5%) auszeichnete, während der andere, braungefärbte weniger Brom (20,5%), dagegen bedeutend mehr Schwefel (2,2%) enthielt.

Beitler,<sup>2)</sup> dessen Mittheilung erschien, als meine Versuche dem Abschlusse nahe waren, verfuhr auf zweierlei Art. Einmal unterwarf er pancreatische Verdauungsflüssigkeit der Dialyse durch Pergamentpapier und fällte das Dialysat mit

1) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXVII, S. 560.

2) Beitler, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXXI, S. 1604.

Chlorwasser. Bei dem zweiten Verfahren wurde die enteweisste Flüssigkeit nach dem Erkalten direkt mit Chlorwasser gefällt. Beittler wählte diese Versuchsanordnung, als die Versuche, durch Fällungsmittel die Albumosen und Peptone zu entfernen, an der Zersetzlichkeit der Muttersubstanz gescheitert waren. Die erhaltenen Produkte erwiesen sich etwa einem Chlor-derivate des Körpers  $C_{96}H_{119}N_{21}O_{31}S$  entsprechend zusammengesetzt. Durch Behandlung mit Tannin und Bleiacetat wurden daraus schwefelarme, aber nicht constant zusammengesetzte Produkte erhalten, welche Beittler als Zersetzungsprodukte der zuerst erhaltenen Substanz auffasst.

Meiner auf Veranlassung von Herrn Professor Hofmeister begonnenen Untersuchung lag der Gedanke zu Grunde, die Verunreinigung des Bromkörpers mit Eiweiss und Albumosen dadurch einzuschränken, dass die mit Brom zu fällende Flüssigkeit vorher mit Ammonsulfat völlig ausgesalzen wurde. Es ist unnöthig, zu bemerken, dass dieses Vorgehen keine Zersetzung des Chromogens zur Folge hat. Immerhin bleiben auch nach dem Aussalzen der Albumosen Peptone in der Verdauungsflüssigkeit gelöst. Es zeigte sich aber, dass eine nachweisbare Verunreinigung der gewonnenen Produkte durch dieselben nicht erfolgt.

Die Versuche blieben wegen meines Weggangs von Strassburg unabgeschlossen; da aber die Resultate in mehrfacher Hinsicht die bisherigen Erfahrungen ergänzen und künftigen Untersuchern ihre Aufgabe erleichtern dürften, so sei es mir gestattet, sie trotz ihres fragmentarischen Charakters in Kürze mitzutheilen.

## II. Darstellungsverfahren.

Ich habe nur zwei Darstellungsversuche bis zur Analyse der erhaltenen Produkte durchgeführt; da sie in vielen Einzelheiten von einander abweichen, so seien sie hier näher mitgetheilt.

Versuch I. 3910 gr. feinerhackte und möglichst von Fett befreite Pancreasdrüsen (20 Stück) wurden mit 8 Litern destillirten Wassers gemischt und bei Zimmertemperatur unter häufigem Umrühren stehen gelassen. Zur Verhütung von Fäulniss waren 50 ccm. Chloro-

form zugesetzt. Nach dreitägigem Stehen wurde die Flüssigkeit colirt, zum Sieden erhitzt, das coagulierte Eiweiss abfiltrirt und das Filtrat bei 55–60° auf die Hälfte seines Volumens eingedampft. Beim Abkühlen und Stehen schied sich aus der Flüssigkeit eine ziemlich grosse Menge von Tyrosin und Leucin aus, welche abfiltrirt wurde, darauf wurde die Flüssigkeit mit Ammonsulfat gesättigt und nach 24 Stunden abermals filtrirt, um die ausgeschiedenen Albumosen zu entfernen. Das salzgesättigte Filtrat gab beim Ansäuern mit Schwefel- oder Essigsäure keine Trübung, war somit frei von durch Salz und Säure fällbaren Albumosen. Es wurde aufs Neue bei 60–70° eingedampft, dann 24 Stunden der Ruhe überlassen und von dem neuerdings ausgeschiedenen Leucin und Tyrosin abfiltrirt. Die so auf ein kleines Volumen gebrachte klare Flüssigkeit liess durch die Biuretreaction die Anwesenheit von Peptonen erkennen. Die Flüssigkeit wurde allmählich mit dem 2½fachen Volumen fast gesättigten Bromwassers versetzt, wobei sich ein schön rothvioletter Niederschlag bildete, der nach 24stündigem Stehen abfiltrirt wurde. Ein weiterer vorsichtiger Zusatz von Bromwasser zum Filtrat gab keine rothe Fällung, wohl aber entstand beim Versetzen mit einer grösseren Quantität Bromwasser allmählich ein dunkelbrauner Niederschlag. Der abfiltrirte violette Niederschlag wurde mit destillirtem Wasser bis zum vollständigen Verschwinden der Biuretreaction und der Schwefelsäure ausgewaschen, darauf mit 80%igem Alkohol ausgezogen, wobei ein bedeutender Theil der rothvioletten Substanz in Lösung ging. Der alkoholische Auszug, bei 40° verdunstet, liess einen Körper zurück, der unter dem Mikroskop gleichmässig aus kleinen Körnchen bestand. Der in 80%igem Weingeist unlösliche Rückstand wurde in ganz schwachem Ammoniak gelöst und darauf durch Essigsäure gefällt, wobei ein dunkelbrauner Niederschlag erhalten wurde, der bei der Behandlung mit 95%igem Alkohol an diesen anscheinend nur den violetten Stoff abgab. Die aus dem 80%igem Alkohol erhaltene violette Substanz wurde nach Verdunsten des Alkohols zunächst auf dem Filter mit 20%igem Weingeist ausgewaschen, wobei zuerst ein dunkelbraunes, schliesslich aber ein schwachviolettes Filtrat erhalten wurde, dann mit 95%igem Alkohol aufgenommen, wobei sich der grösste Theil derselben mit rother, ins Violette spielender Farbe löste. Dieser erste alkoholische Auszug wurde bei einer Temperatur von 40–50° C. verdunstet, der Rückstand bei 106° C. getrocknet und sorgfältig mit Petroläther extrahirt, in welchem er sich als völlig unlöslich erwies. Der so gereinigte Körper löst sich vollkommen in 95%igem Alkohol mit schön rother, ins Violette spielender Farbe auf. Er wurde bei 106° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet und in dieser Form zur Analyse verwandt (= rother Körper 1). Die Ausbeute betrug 0,8 gr.

Der zweite und der dritte Auszug mit 95%igem Alkohol aus der violetten Substanz zeigten eine blauviolette Färbung, die sich scharf von der rothen Farbe des ersten Auszugs unterschied. Sie wurden vereinigt und

ebenso verarbeitet wie der erste Auszug. Sie ergaben eine Substanz in geringer Menge, die in der Folge zu verschiedenen Proben, sowie zur Bestimmung des Broms verwandt wurde (= der blauviolette Körper Nr. 1).

Das Filtrat nach der Fällung der violetten Substanz mit Bromwasser wurde vorsichtig direkt mit Brom behandelt, wobei sich ein Anfangs gelbbrauner, allmählich beim Stehen schwarzbraun werdender Niederschlag bildete. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, darauf in sehr verdünntem Ammoniak gelöst, die dunkelbraune Lösung mit Essigsäure gefällt, der entstandene Niederschlag so lange mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat nicht mehr sauer reagirte, keine Reaction auf Ammonsulfat, auf freies Brom und auch keine Biuretreaction mehr darbot. Beim Waschen mit Wasser ging ein ziemlicher Antheil des dunkelbraunen Körpers in Lösung, desgleichen bei der einmaligen Behandlung mit 95%igem Alkohol, in dem sich ebenfalls recht viel von der Substanz löste. Schliesslich wurde der Körper bei 106° getrocknet und darauf sorgfältig mit Aether extrahirt, in welchem er vollständig unlöslich ist. Das glänzend schwarze Präparat wurde bei 106° bis zum constanten Gewicht getrocknet und in dieser Gestalt zur Analyse verwandt. Es resultirten ca. 1,8 gr. (= der schwarze Körper).

Versuch II. In diesem Versuch gelangten 4200 gr. feinerhacktes, von Fett befreites Pancreas (30 Stück) zur Verwendung. Die breiartige Masse wurde mit 3 Litern destillirten Wassers und 50 cem. Chloroform gemischt und 3 × 24 Stunden bei Zimmertemperatur unter häufigem Umrühren der Digestion überlassen.<sup>1)</sup> Die weitere Verarbeitung war zunächst analog der im ersten Versuch beschriebenen. Der bei vorsichtigem Bromzusatz erhaltene Niederschlag, die violette Substanz, wurde zunächst mit Wasser ausgewaschen, darauf dreimal mit sehr verdünntem Ammoniak behandelt. Die ammoniakalischen Auszüge wurden mit Essigsäure gefällt, die Niederschläge von dem braunen Filtrat getrennt, dann zusammen in sehr verdünntem Ammoniak gelöst und wiederum mit Essigsäure ausgefällt und neuerdings mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat neutral reagirte und keine Reactionen auf Ammonsulfat, Pepton u. s. w. gab. Darauf wurde mit Amylalkohol extrahirt. Ein bedeutender Theil der Substanz ging mit rother, einen leichten Stich ins Violette zeigender Farbe in Lösung. Dieser erste Auszug wurde bei 40° verdunstet, der Rückstand bei 106° getrocknet, vollständig mit Aether ausgewaschen, bei 106° auf constantes Gewicht gebracht und analysirt (= der rothe Körper Nr. 2). Nach dem Trocknen bei 106° löste sich der Körper in Alkohol mit derselben Färbung wie früher. Die weiteren Extractionen des Rückstandes mit Amylalkohol geben mehr violette (blauviolette) Lösungen bei verhältnissmässig geringer Ausbeute. Die vierte und fünfte

---

<sup>1)</sup> Dabei wurde eine viel grössere Menge Tyrosin erhalten als im ersten Versuche.

Extraction des Bromniederschlags mit leicht verdünntem Ammoniak ergab beim Ansäuern mit Essigsäure bereits rein violette Niederschläge und die Filtrate waren nur noch leicht gelblich, nicht mehr braun, wie bei den vorher beschriebenen drei ersten Auszügen. Diese Niederschläge wurden vereint mit Wasser vollständig ausgewaschen, mit 95%igem Alkohol extrahirt, der alkoholische Auszug bei 40° verdunstet und genau so behandelt wie beim ersten Versuch. Es wurde eine geringe Menge neuer Substanz gewonnen, deren alkoholische Lösung jener des blauvioletten Körpers Nr. 1 höchst ähnlich war, nur etwas weniger blau (= der blauviolette Körper Nr. 2).

### III. Eigenschaften der erhaltenen Bromprodukte.

In Wasser löst sich der rothe Körper sehr wenig, der schwarze Körper ist dagegen löslicher. In sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit und Kalilauge lösen sich beide Bromprodukte und werden durch Essigsäure dem Anscheine nach in unverändertem Zustande wieder abgeschieden.

In 95%igem Alkohol löst sich der rothe Körper leicht, der schwarze Körper bedeutend schwerer. In 20%igem Alkohol löst sich der schwarze Körper viel leichter als der rothe. Methylalkohol verhält sich beiden Körpern gegenüber vollkommen analog dem Aethylalkohol.

In Aether und Chloroform ist der rothe Körper nur sehr wenig, der schwarze gar nicht löslich. Petroläther löst keine der beiden Substanzen.

In Eisessig sind beide Verbindungen löslich und werden durch Wasser wieder abgeschieden. In verdünnter Essigsäure sowie in Salzsäure sind beide Substanzen auch beim Kochen vollständig unlöslich.

Von Amylalkohol wird der rothe Körper leicht gelöst und bleibt beim Verdunsten der Lösung bei 40° in unverändertem Zustande zurück; der schwarze Körper ist scheinbar in diesem Lösungsmittel ganz unlöslich.

Der schwarze Körper diffundirt nur sehr langsam durch Pergamentpapier und kann in Folge dessen sehr gut von Salzen und anderen leicht diffundirenden Stoffen (Peptonen) mittelst Dialyse getrennt werden.

Silbernitrat gibt in den alkalischen Lösungen beider Körper Niederschläge unter Entfärbung der Flüssigkeit. Beim

Ansäuern mit Essigsäure löst sich die Fällung theilweise wieder auf und es erscheint ein feinflockiger Niederschlag des scheinbar unveränderten Bromproduktes.

Weder der rothe noch der schwarze Körper gibt beim Kochen mit Bleiacetat in alkalischer Lösung Reaction auf leicht abspaltbaren Schwefel. Die Untersuchung auf gepaarte Schwefelsäure durch Kochen mit verdünnter Salzsäure und Chlorbaryum ergab in beiden Substanzen negative Resultate, doch wurde das Vorhandensein von Schwefel in beiden Fällen sichergestellt.

Beim Zusammenschmelzen mit Kali wird die Bildung von Indol und Skatol (übereinstimmend mit Nencki<sup>1)</sup>) und Abspaltung von Ammoniak beobachtet.

Beide Körper lösen sich in der Kälte in concentrirter Schwefelsäure mit dunkelbrauner Farbe; beim Hinzufügen von viel Wasser entsteht ein flockiger Niederschlag durch Abscheidung der scheinbar unveränderten Bromprodukte.

Der rothe Körper löst sich bei langsamem Erwärmen in gleichen Theilen concentrirter Schwefelsäure und Salpetersäure, wobei die Flüssigkeit sich gelbbraun färbt; beim Erkalten bildet sich ein gelblichbrauner Niederschlag; beim Schütteln mit Aether nimmt letzterer gelbe Färbung an, die durch Zusatz von Ammoniak noch intensiver wird.

Beim Verbrennen auf dem Platinblech entwickeln beide Körper einen eigenthümlichen Geruch (an Skatol und Indol erinnernd) und hinterlassen schwer verbrennliche Kohle.

Die Analysen der Bromprodukte ergaben folgende Resultate:

der rothe Körper			der schwarze Körper		
	Nr. 1	Nr. 2		im Mittel	
C	49,71	50,07	C	45,27	45,04
H	3,25	3,74	H	2,96	2,86
Br	24,89	27,46	Br	27,23	27,23
N	10,67	—	N	10,32	10,32
S	—	1,27	S	0,90	0,90
O	—	—	O	—	13,49
Asche	Spuren.				

der blauviolette Körper Nr. 1      der blauviolette Körper Nr. 2  
 Br 34,54%      Br 32,12%

<sup>1)</sup> l. c.

Die Bestimmung des Broms geschah nach Volhard,<sup>1)</sup> die Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl, die des Schwefels nach der von Düring<sup>2)</sup> empfohlenen Methode von Asboth. Die Verbrennung wurde mit Kupferoxyd, Bleichromat und vorgelegter Silberspirale ausgeführt: die Substanz war mit feingekörntem Kupferoxyd gemischt.

#### IV.

Die mitgetheilten analytischen Werthe lassen an sich, mehr noch bei Zusammenhalten mit den von Stadelmann, Nencki und Beitler gefundenen, einige Momente hervortreten, die für die Weiterführung einschlägiger Untersuchungen Beachtung verdienen.

Nachstehend stelle ich diese Daten zusammen.

Präparat	Stadelmann				Nencki		Kurajeff.				
	C	D	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	rother Körper	brauner Körper	rother Körper Nr. 1	schwarzer Körper Nr. 2	blauvioletter Körper Nr. 1	blauvioletter Körper Nr. 2	
Farbe der Lösung	dunkelviolett	brauner als C	sehr dunkelviolett		schön roth	braun	roth mit violettem Strich		braunschwarz	blauviolett	blauviolett mit rothem Ton
C	51,34	48,12	—	—	46,74	47,56	49,71	50,07	45,15	—	—
H	4,45	5,09	—	—	3,70	3,63	3,25	3,74	2,91	—	—
Br	23,16	19,77	35,17	31,84	27,25	20,56	24,89	27,46	27,23	34,54	32,12
N	10,06	11,92	—	—	8,51	7,94	10,67	—	10,32	—	—
S	2,95	3,10	2,62	2,85	0,51	2,23	—	1,27	0,90	—	—
O	8,03	12,00	—	—	14,89	18,08	—	—	13,49	—	—

Zur Vervollständigung dieser Zusammenstellung sei bemerkt, dass das Chlorproteinochrom Beitler's auf den entsprechenden Bromgehalt nach Beitler's Formel  $C_{90}H_{116}Cl_3N_{21}O_{31}S$  umgerechnet 49,4 % Kohlenstoff, 12,6 % Stickstoff und 10,3 % Brom verlangt.

Aus dem Vergleiche dieser Zahlen lässt sich entnehmen:

1. Bei Bromeinwirkung auf von Albumosen durch Aus-salzen befreite tryptische Verdauungslösung erhält man Bromverbindungen von nicht weniger als 24 % Brom. Ein dem Beitler'schen Chlorproteinochrom entsprechendes Brom-

1) Liebig's Annalen. 190. 40.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXII, S. 281.



produkt scheint sich nicht zu bilden, oder es ist die Mutter-substanz desselben, das betreffende Chromogen, durch Ammonsulfat aussalzbar.

2. Die aus albumosenfreier Flüssigkeit gefällten Bromprodukte weisen nicht den hohen Schwefelgehalt von 2—3% auf, den Stadelmann in allen seinen Produkten, Nencki für den braunen Körper gefunden hat.

Wenn bereits Nencki für den rothen Körper die Vermuthung ausspricht, dass der Schwefel einer Beimengung angehört, so möchte ich das für alle meine Präparate annehmen.

Im Eiweissmolekül ist die Anwesenheit einer schwefelreichen Gruppe sicher nachgewiesen. Erst in jüngster Zeit haben Blum und Vaubel bei Spaltung von Eiweiss mit Alkali einen nach Senföl riechenden Körper mit ca. 4% Schwefel erhalten. Dass auch bei Pancreasverdauung schwefelreiche Produkte entstehen, wird sehr wahrscheinlich durch die Angaben von E. und R. Külz,<sup>1)</sup> welche bei Pancreasfäulniss einen schwefelhaltigen Körper von dem Verhalten des Cystins auffanden. Die Vermuthung, dass es sich bei dem Schwefelgehalt der Bromproteinochrome um eine Verunreinigung handelt, wird auch dadurch gestützt, dass die Untersuchung meines schwarzen Körpers einen geringeren Schwefelgehalt ergab, als jene des rothen Körpers, gerade umgekehrt als bei Nencki, der in dem rothen Körper nur 0,51%, dagegen in dem braunen 2,23% Schwefel fand.

3. Wie schon Stadelmann bemerkt, entstehen durch Bromfällung mehrere Verbindungen, die sich durch ihre Farbe unterscheiden. Stadelmann versucht es nicht, diese einzelnen Verbindungen zu charakterisiren, und gibt nur an, dass die erhaltenen Präparate, je röther sie sind, um so mehr Brom enthalten, je brauner, um so weniger. Nencki hat dann, wie erwähnt, einen braunen, bromarmen, aber schwefelreichen und einen rothen, schwefelarmen, aber bromreicheren Körper unterschieden.

Ich muss auf Grund meiner Erfahrungen die Existenz

---

1) Zeitschr. f. Biologie. 27, 415.

mindestens von drei solchen Bromkörpern, ganz abgesehen von weiteren Bromprodukten, welche etwa aus der nicht ausgesalzenen Verdauungslösung zu erhalten sind, annehmen, wobei zugleich die Beobachtungen Stadelmann's ihre Erklärung finden. Es sind dies:

a) Ein blauvioletter Körper mit sehr hohem Bromgehalt. Derselbe stellt die Hauptmenge des oben analysirten blauvioletten Körpers, sowie von Stadelmann's Präparaten B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> dar, von denen Stadelmann bemerkt, dass sie sehr dunkelviolett gefärbt waren. Ich habe die Lösungen dieses Körpers umso mehr blau gefunden, je reiner er war. Da weder meine noch Stadelmann's Präparate völlig rein gewesen sein dürften, so ist der Bromgehalt mit mindestens 35% anzunehmen.

Leider entsteht dieses Produkt unter den Proteinochromen in der geringsten Menge, so dass ich weitere Versuche zu seiner Charakterisirung nicht anstellen konnte.

b) Ein in Alkohol mit rother Farbe löslicher Körper, in Aether unlöslich, mit einem Gehalt von etwa 27% Brom, der wohl dem rothen Körper von Nencki (27,25% Brom) und dem Präparat C von Stadelmann (23,16% Brom) entspricht.

c) Ein in Alkohol mit brauner Farbe löslicher, in Aether unlöslicher Körper, welcher mit dem Präparat D von Stadelmann und dem braunen Körper von Nencki zusammenzustellen ist. Nencki und Stadelmann haben den Bromgehalt dieser Produkte niedriger gefunden, als den des rothen Körpers. Ich konnte dies für meine Präparate nicht finden. Das besser gereinigte Präparat des rothen Körpers (Nr. 2) zeigte den gleichen Bromgehalt, wie der durch Lösen in Ammoniak und Fällen mit Essigsäure erhaltene braune Körper. Auch der Stickstoffgehalt der beiden Präparate weicht nicht zu weit von einander ab, wohl aber in auffallender Weise der Kohlenstoffgehalt.

Ergibt sich das Verhältniss an Kohlenstoff-, Stickstoff- und Wasserstoffatomen im rothen Körper mit rund 11 : 2 : 9, so berechnet es sich für den braunen Körper auf etwa 10 : 2 : 8.

Diese Zahlen deuten bei dem annähernden Gleichbleiben

des Brom- und Stickstoffgehalts darauf hin, dass der rothe Bromkörper sich vom schwarzen etwa derart unterscheidet, dass er je eine  $\text{CH}_3$ -Gruppe (= 15) mehr, dagegen je eine  $\text{OH}$ -Gruppe (= 17) weniger enthält, wobei der Procentgehalt an Brom und Stickstoff keine wesentliche Verschiedenheit zeigen kann.

In einem ganz ähnlichen Verhältniss zu einander stehen übrigens auch Stadelmann's dunkelviolettes Präparat C. und das braune Präparat D. Ersteres zeigt ein Verhältniss der Kohlenstoff- und Stickstoffatome von 11,8:2, letzteres von 9,4:2.

Der blauviolette und der rothe Bromkörper fallen, wie schon aus der Farbe des Niederschlags hervorgeht, bei Bromzusatz zuerst und zwar neben einander aus. Bei fractionirter Bromeinwirkung können sie dementsprechend von dem später ausfallenden schwarzen Körper getrennt erhalten werden. Möglicher Weise wird bei Bromzusatz das Chromogen des rothen Körpers zum Theil oxydirt und liefert dann das schwarze Produkt.

Eine weitere Verfolgung dieser Beziehungen verbietet sich im Hinblick auf die ungenügende Reinheit der zu erhaltenden Präparate. Ich will nur bemerken, dass die vorläufige Berechnung der Analysen zu Formeln führt, welche einigermaassen auf 2 Stickstoffatome enthaltende Indolderivate passen.

## V.

Im Anschluss an das Gesagte möchte ich kurz eine Beobachtung anführen, die auf die Entstehung des Proteinochromogens aus den bei der Pancreasverdauung entstehenden Albumosen einiges Licht wirft.

Mit Wasser gut ausgewaschenes Fibrin wurde mit einer Trypsinlösung, welche an sich weder Biuretreaction gab, noch sich mit Brom färbte, 2½ Stunden bei 40° digerirt, wobei es rasch in Lösung ging. Die Flüssigkeit wurde nach beendeter Verdauung aufgeköcht, vom Eiweisscoagulum abfiltrirt und auf das halbe Volumen eingedampft. Sie gab mit Brom eine sehr schöne Reaction. Darauf wurden nach der Methode von E. P. Pick<sup>1)</sup> durch Fällung mit Ammonsulfat 3 Fractionen entsprechend den primären und secundären Albumosen dargestellt und geremigt. Sie entsprachen in ihren Reactionen den von Pick dargestellten Albumosen

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, S. 246.

und wurden behufs weiterer Verdauung neuerdings der Einwirkung von Trypsinlösung überlassen. Dabei ergab es sich, dass der durch halbe Sättigung der ursprünglichen Flüssigkeit mit Ammonsulfat erhaltene Niederschlag schon nach zweitägiger Digestion eine starke Rothfärbung mit Brom gab; ebenso die secundäre Albumose A, erhalten durch  $\frac{2}{3}$  Sättigung mit Ammonsulfat nach dreitägiger Digestion. Die 3. Fraction (die secundäre Albumose B), erhalten durch Sättigung des Filtrates mit Ammonsulfat, gab hingegen in keinem Zeitpunkte der zwölf-tägigen Digestion die charakteristische Färbung mit Bromwasser.

Auf Grund dieser Beobachtungen liegt es nahe, anzunehmen, dass die chromogene Gruppe des Albuminmoleküls sich bereits im Stadium der Albumosenbildung und zwar vor Bildung der secundären Albumose B abspaltet. Kühne<sup>1)</sup> fand, dass der Bromkörper bei Trypsinverdauung nur aus Körpern der Hemigruppe erhalten wird, nicht aber aus Anti-albumose, welche ja auch unfähig ist, unter Einfluss des Trypsins Tyrosin abzuspalten. Ob die durch Trypsin erhaltene Deuteroalbumose B, die mir keine Bromreaction gab, eine Albumose der Antigruppe darstellt, ist noch weiter zu untersuchen. Jedenfalls verdient die interessante Frage, in welchem Stadium der tryptischen Veränderung des Albuminmoleküls die Abspaltung der chromogenen Gruppe erfolgt, ein eingehenderes Studium.

---

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XIX, S. 159 u. XX, S. 11, 1883 u. 1884.