

## **Die Eiweisskörper der Schilddrüse.**

Von

Dr. med. et. phil. **Ad. Oswald.**

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 17.)  
(Der Redaction zugegangen am 8. Februar 1899.)

Während zahlreiche Autoren die Function der Schilddrüse auf klinischem, experimentellem und therapeutischem Wege zu ergründen suchten, ist die Anzahl der Forscher, welche die chemische Untersuchung der Drüse ins Auge gefasst haben, nur eine recht spärliche zu nennen. Und doch bietet zweifelsohne die chemische Bearbeitung der Schilddrüse den Schlüssel zur Klarlegung ihrer uns beinahe mit jeder Entdeckung verwickelter erscheinenden Function. Ist es uns doch erst dann möglich, über die Rolle, welche im thierischen Haushalte dieses für das Leben so wichtige Organ spielt, und über dessen so innige Beziehung zu dem allgemeinen Stoffumsatze Genaueres auszusagen, wenn wir die in ihm auftretenden specifisch wirksamen Produkte isolirt und in ihren Eigenschaften und ihrer Zusammensetzung kennen gelernt haben. Dann auch wird sich von selbst ergeben, inwieweit die in der Neuzeit auftauchenden Theorien über die Function der Schilddrüse ernste Kritik vertragen.

Durch die bedeutungsvolle Entdeckung Baumann's betreffend das Vorhandensein von Jod in der Thyreoidea und durch die Darstellung eines jodhaltigen organischen, im gleichen Sinne wie die ganze Drüse wirksamen Complexes aus derselben, des Jodothyrens, haben unsere Kenntnisse über die Function der Thyreoidea ihre chemisch-physiologische Grundlage erhalten.

Die glänzenden Arbeiten Baumann's, durch den jähen Tod des Forschers unterbrochen, und die in der gleichen Richtung von Roos fortgesetzten Untersuchungen sind, aber keineswegs erschöpfend. Eine im Vergleich zu der von Baumann angewandten minder eingreifende Methode zur Isolirung der in der Schilddrüse vorhandenen wirksamen Substanz musste zu noch unbekanntem Thatsachen führen.

In der Trennung der verschiedenen in einem Organe enthaltenen Eiweisskörper durch Aussalzen derselben aus dem betreffenden Organextract, namentlich mittelst Ammoniumsulfats, besitzen wir das denkbar am wenigsten eingreifende Mittel zu deren Isolirung, da die Eiweissstoffe dabei weder an ihren chemischen noch an ihren physikalischen Eigenschaften irgend welche Veränderung erleiden. In Anbetracht der von Baumann gemachten Angabe, dass in der Thyreoidea das Jodothyrim an Eiweisskörper gebunden vorkommt, habe ich mich bemüht, die Eiweisskörper der Schilddrüse mit Hülfe der Salzmethode zu isoliren und dieselben betreffs ihrer Zusammensetzung und physiologischen Bedeutung näher zu untersuchen.

Da die in der Litteratur vorhandenen Angaben sich in vielen Punkten ganz erheblich widersprechen und manche Autoren, bisweilen zu ihrem eigenen Nachtheile, von den bereits beschriebenen Thatsachen keine Notiz genommen haben, so sollen zunächst die bisher erschienenen, auf die chemische Natur der Schilddrüse bezüglichen Arbeiten kurz besprochen werden.

#### Bisherige Untersuchungen.

Bubnow<sup>1)</sup> war der erste, welcher die Schilddrüse einer chemischen Untersuchung unterwarf. Aus dem Extract, welches er mittelst 10 procentiger Kochsalzlösung aus Schilddrüsen vom Menschen und Rinde erhielt, die vorerst durch vier- bis sechsmal wiederholtes Ausziehen mit Wasser von ihrem Hämoglobingehalt befreit worden waren, gewann er durch Fällung mit Essigsäure einen Eiweisskörper, den er Thyreoprotin nannte.

---

1) Bubnow. Zeitschr. für physiol. Chem. Bd. VIII. S. 1. 1893.

Darauf wurde der Drüsenrückstand mit verdünnter wässriger Kalihydratlösung (1 Th. KOH : 1000 Th. Wasser) neuerdings ausgezogen und aus dem erhaltenen Extract durch Fällen mit Essigsäure ein zweites Thyreoprotin gewonnen. Durch abermaliges Ausziehen mit verdünntem Alkali und Fällen mit Essigsäure wurde schliesslich ein drittes Thyreoprotin erhalten.

Diese drei Produkte, welche Bubnow als drei verschiedene Körper betrachtete und als Thyreoprotin I, II und III bezeichnete, wichen jedoch in ihrer Elementarzusammensetzung nur unerheblich von einander ab. Es liegt auf der Hand, dass Thyreoprotin II und III einen und denselben Körper darstellen, da beide durch genau das gleiche Verfahren gewonnen wurden, somit das Thyreoprotin III nur den Rest von Thyreoprotin II darstellte, welcher bei der einmaligen unvollständigen Extraction nicht in die alkalische Lösung übergegangen war. Aber auch das Thyreoprotin I ist von II und III nicht erheblich verschieden.

In der That hat sich herausgestellt, dass die Annahme von drei Proteiden eine willkürliche war, und dass es in der Schilddrüse nur einen einzigen den Thyreoprotinen Bubnow's entsprechenden Körper gibt. Ich bin ferner in der Lage gewesen die Originalpräparate Bubnow's, welche in der Sammlung des hiesigen Institutes aufbewahrt sind, auf ihren Gehalt an Jod zu untersuchen, und habe in der That Jod darin nachweisen können.

Bubnow fand ausserdem in der Schilddrüse Xanthin, Hypoxanthin, Milchsäure und Kreatin.

Nach Bubnow hat Gourlay<sup>1)</sup> sich bemüht, die Natur der in der Schilddrüse vorhandenen Eiweisskörper festzustellen. Er gewann daraus ein Nucleoalbumin sowohl nach der Methode von Wooldridge als nach der von Halliburton. Dieses Thyreo-Nucleoalbumin, welches sehr reich an Phosphor war, hielt Gourlay für das wirksame Princip der Schilddrüse und identificirte es mit dem Colloid. Es sei gleich hier bemerkt, dass nach meiner Erfahrung die wirksame Substanz kein Nucleoalbumin ist, und dass das Ergebniss Gourlay's auf der Unzulänglichkeit der angewendeten Methode beruht.

1) Gourlay, Journ. of Physiol. vol. XVI, p. 23. 1894.

Darauf erschienen Baumann's<sup>1)</sup> bedeutungsvolle Mittheilungen über die Anwesenheit des Jods in der Schilddrüse und über die Gewinnung des Jodothyrens. Auf diese hinreichend bekannten Arbeiten an dieser Stelle näher einzugehen, ist überflüssig. Baumann hat bekanntlich das Jodothyrin durch mehrstündiges Kochen der Schilddrüse mit 10<sup>o</sup> iger Schwefelsäure und Extrahiren des gebildeten Rückstandes mit Alkohol von 90 Procent gewonnen. Hervorgehoben mag werden, dass Baumann die Aeusserung gemacht hat, das Jodothyrin komme in der Schilddrüse an Eiweisskörper gebunden vor. (Thyro-jodglobulin resp. -albumin)<sup>2)</sup>. Die Behauptung, dass das Jod sowohl an Globulin als an Albumin gebunden sei, wurde jedoch nur auf Grund einer mehr gelegentlichen Beobachtung aufgestellt, welcher Baumann nicht viel Werth beizulegen schien.

Baumann hat das wässrige salzhaltige Organextract mit dem 15fachen Volumen destillirten Wassers verdünnt und in die Lösung Kohlensäure eingeleitet. Dadurch entstand ein flockiger Niederschlag. Das von letzterem getrennte Filtrat gab nach Ansäuern mit Essigsäure beim Kochen eine reichliche Coagulation eines Eiweisskörpers, welchen Baumann für ein Albumin hielt. Globulin wie Albumin waren jodhaltig. Dass aber bei dieser Behandlung eine vollständige Fällung der Globuline nicht erreicht werden kann, ist eine bekannte Thatsache, weshalb über diesen Punkt noch exactere Versuche angestellt werden mussten.

Baumann hat ferner durch Verdauung der Schilddrüse mittelst Pepsinchlorwasserstoff einen in Säuren unlöslichen, in Alkalien leicht löslichen Rückstand erhalten, den er für identisch mit dem durch Säurespaltung gewonnenen Jodothyrin hält.

Kurz nach Baumann's erster Mittheilung erschienen mehrere Arbeiten von Notkin.<sup>3)</sup> Dieser Autor isolirte aus

<sup>1)</sup> Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXI, S. 319 (1895) — Baumann und Roos ibid. S. 481 (1896) — Baumann ibid. Bd. XXII, S. 1 (1896) — Münch. med. Wochenschr. Nr. 14. 1896.

<sup>2)</sup> Die Annahme, dass das Jodothyrin auch frei in der Schilddrüse vorkommt, ist mündlicher Mittheilung zu Folge noch von Baumann selbst als eine irrige erkannt worden.

<sup>3)</sup> Notkin, Wien. Med. Wochenschr., 1895, Nr. 19 und 20. — Apothekezeitung 1896, Nr. 13. — Virchow's Arch., Supplementheft zu Bd. 144 (1896) S. 224.

wässrigen, resp. 5<sup>o</sup> Kochsalz bzw. Ammonchlorid enthaltenden Extracten der Schilddrüse (vom Schaf, Kalb, Ochsen und Schwein) durch Sättigung mit Magnesiumsulfat oder Halbsättigung mit Ammonsulfat einen eiweissartigen Körper, den er Thyreoproteid nannte. Zur vollständigen Reinigung wurde das Thyreoproteid 5 bis 6 Mal in Wasser gelöst und jeweilen mit Ammonsulfat oder durch verdünnte HCl (1<sup>o</sup>/<sub>100</sub>) gefällt, wobei es schliesslich jodfrei erhalten wurde, eine Angabe, die, wie ich vorgreifender Weise bemerken will, durch meine Untersuchungen nicht bestätigt wurde. Das Thyreoproteid, welches weder auf Zusatz von destillirtem Wasser und nachheriges Einleiten von Kohlensäure, noch durch Eintragen von Kochsalz bis zur Sättigung aus seiner Lösung gefällt wurde, zeigte in einer 10<sup>o</sup>/<sub>10</sub>igen Salzlösung eine Gerinnungstemperatur von 58<sup>o</sup>. Durch Kochen mit 5<sup>o</sup>/<sub>10</sub>iger Schwefel- bzw. Salzsäure konnte daraus eine reducirende Substanz erhalten werden, welche sich in Form eines Osazons isoliren liess. Durch längeres Kochen des Thyreoproteids mit destillirtem Wasser bzw. mit verdünnten Säuren konnte, nach der von Landwehr zur Darstellung des thierischen Gummis angegebenen Methode das ursprüngliche nicht reducirende Kohlehydrat erhalten werden, woraus durch Kochen mit Säuren das bei 160<sup>o</sup> schmelzende Osazon gewonnen wurde. Ausser dem eben genannten Körper hat Notkin aus der Schilddrüse noch ein Nucleoalbumin dargestellt, welches er jodhaltig fand, eine Angabe, die sich bei meinen Untersuchungen gleichfalls als unrichtig erwies.<sup>1)</sup>

1) Nach Notkin's Vorstellung soll nun das Thyreoproteid ein Produkt des allgemeinen Stoffwechsels sein, das für den Körper ein Gift darstellt, aber durch ein in der Schilddrüse vorkommendes Enzym unschädlich gemacht wird. Notkin kam zu dieser Ansicht dadurch, dass er thyreoidectomirten Thieren das Thyreoproteid einverleibte (intravenös, in die Bauchhöhle oder subcutan), wonach die Thiere unter dem Bilde der Tetanie zu Grunde gingen. Dass aber in Wirklichkeit der Mangel der Schilddrüse an und für sich und nicht die Einverleibung jenes Thyreoproteids die Ursache der Tetanie gewesen ist, ferner dass das Thyreoproteid kein für den Organismus schädliches Stoffwechselproduct

Vor Notkin hat Morkotun<sup>1)</sup> ein Nucleoalbumin aus der Schilddrüse von Ochsen gewonnen, für dessen Reinheit die von Morkotun angewandte Darstellungsweise (Fällung mit verdünnter Salzsäure aus dem durch Kochen von den gerinnbaren Eiweissstoffen befreiten Organextracte) jedoch keine Garantie bietet.<sup>2)</sup>

Hutchison<sup>3)</sup> bereitete Extracte aus Hammelschilddrüsen mit 5% iger Magnesiumsulfatlösung resp. verdünnten Alkalien (1 Theil NaOH: 1000 Theile Wasser), woraus er durch Zusatz weniger Tropfen Essigsäure einen flockigen Niederschlag gewann, der, wie der Autor bemerkt, mit dem Thyreoprotein Bubnow's und dem Thyreo-Nucleoalbumin Gourlay's (folglich auch mit Notkin's Thyreoprotein) identisch ist. Diesen Körper, welcher in verdünnten Salzlösungen, besser aber in Alkalien

darstellt, geht aus der weiter unten anzuführenden Thatsache hervor, dass sich nach der von Notkin zur Herstellung des Thyreoproteids angewandten Methode (Aussalzen des Organextractes durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat) aus der Schilddrüse ein Körper isoliren lässt, der als integrierenden Bestandtheil Jod in constanter Menge enthält und bei Spaltung Jodothyryn liefert.

1) Morkotun, Wratsch 1895, Nr. 37 (russisch).

2) 1896 haben Drechsel und Kocher jun. (Centralbl. f. Physiol. Bd. IX, S. 705) aus durch Kochen unter Zusatz von Essigsäure enteissigten wässerigen Schilddrüsenextracten durch Fällen mit Phosphorwolframsäure ein Produkt erhalten, welches, von der Phosphorwolframsäure getrennt, sich in Krystallen ausschied. Ob dieser Körper ein spezifisches Produkt der Schilddrüse darstellt, ist der Mittheilung nicht zu entnehmen. Hervorgehoben mag werden, dass Roos (Münch. med. Wochenschr. Nr. 47, 1896) und Hutchison (Brit. med. Journ., 21. März 1896) die eiweissfreien Filtrate der Drüse beim Kropf resp. bei thyreoidectomirten Thieren unwirksam fanden.

Ebenso unwirksam erwies sich bei näherer Prüfung Roos (Münch. med. Wochenschr. Nr. 47, 1896 und Magnus-Levy, Deutsche med. Wochenschr. 1896, Nr. 31 und Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 33) ein Präparat, das S. Fränkel hergestellt und Thyreoantitoxin genannt hat (Wien. Med. Blätter Nr. 48, 1895; — ibid. 1896 Nr. 13, 14 u. 15). Dasselbe entstammte wässerigen Schilddrüsenextracten, welche mit neutralem essigsauren Blei enteissigt waren.

3) Hutchison, Journ. of Physiol. XX, S. 474, 1896 und Brit. med. Journ., Jan. 1897.

löslich ist, durch Sättigung mit Magnesium- oder Ammoniumsulfat aus seiner Lösung ausgefällt wird und in einer 5<sup>o</sup> eigen Magnesiumsulfatlösung bei 57<sup>o</sup> coagulirt, betrachtet Hutchison als identisch mit dem Schilddrüsencolloid der Anatomen. Im Gegensatz zu Notkin konnte er jedoch keinen reducirenden Körper daraus abspalten. Hutchison's Colloid enthält 0,045<sup>o</sup> Phosphor, daneben Jod in nicht bestimmter, jedoch sehr geringer Menge. Durch Pepsinverdauung wird es in einen eiweissartigen und einen eiweissfreien Bestandtheil zerlegt; beide Theile sind jodhaltig. Der eiweissfreie Körper, welcher in Wasser, verdünnten Salzlösungen, sowie in verdünnten Säuren unlöslich, in Alkalien dagegen leicht löslich ist, enthält 0,8<sup>o</sup> Phosphor und 0,7<sup>o</sup> Jod, ausserdem noch Schwefel. Hutchison betrachtet das Colloid als eine Verbindung eines eiweissartigen mit einem eiweissfreien Körper, den er dem Jodothyrin Baumann's zur Seite stellt. Ausser der Colloidsubstanz gewann er aus der Schilddrüse noch ein Nucleoalbumin. Das Colloid erwies sich bei thyreoidectomirten Thieren und bei Myxoedem als wirksam, ebenso jede seiner beiden Componenten, die eiweissfreie aber bedeutend mehr als die eiweissartige. Das Colloid ist nach dem Autor die einzig wirksame Substanz der Schilddrüse.

Die Darstellungsweise der «Colloidsubstanz» nach Hutchison leistet jedoch keine Gewähr für die Einheitlichkeit des gewonnenen Produktes, da durch das Ausziehen der Schilddrüse mit verdünnten Alkalien sämtliche Eiweissstoffe der Drüse in Lösung gehen und die einmal gelösten Eiweisskörper auf Zusatz von Säuren sämtlich wieder gefällt werden. Wir werden in der That sehen, dass Hutchison's Colloid ein Gemenge zweier in ihren Eigenschaften, Zusammensetzung und Wirksamkeit vollkommen verschiedener Eiweisskörper ist.

In einer früheren Abhandlung<sup>1)</sup> habe ich, gestützt auf zahlreiche Untersuchungen an menschlichen Schilddrüsen, festgestellt, dass der Jodgehalt der Schilddrüse dem Colloidreichtum parallel geht, dass somit das Jod in der Colloidsubstanz

<sup>1)</sup> Oswald, Zeitschr. f. physiol. Chem., XXIII, S. 365. 1897.

enthalten ist, zu welchem Schluss auch Hutchison, wie soeben bemerkt, auf anderem Wege gekommen ist.

Als meine Untersuchung bereits im Gange war, erschienen weitere einschlägige Arbeiten, auf die kurz eingegangen werden muss.

Tambach<sup>1)</sup> fand bei Verarbeitung einer sehr grossen Menge von Schweinsschilddrüsen, dass die jodhaltigen Eiweissverbindungen nahezu völlig mit Wasser aus der Drüse ausziehbar sind, und stellte den Satz auf, dass die Menge dieser ausziehbaren Eiweissverbindungen je nach der Jahreszeit und der Herkunft beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist, während die absolute Jodmenge (auf die Gesamtdrüse bezogen) in der Schilddrüse (vom Schwein) fast stets die gleiche ist.<sup>2)</sup>

Nach Tambach ist ferner das Gesamtjod der Drüse derart vertheilt, dass ca. 96% des Jods als Jod-Eiweissverbindungen, 2% dagegen in einer durch Eiweissfällungsmittel nicht fällbaren, wasserlöslichen, aber festgebundenen Form und 2% in einer sich wie Jodide verhaltenden Form vorkommt. Gegen dieses Ergebniss kann jedoch der Einwand erhoben werden, dass durch die Art und Weise, wie Tambach die Jodeiweissstoffe fällte (Versetzen mit Essigsäure und Kochen) ein Theil derselben als Acidalbumin, enthaltend die von Tambach gefundenen wasserlöslichen, aber festgebundenen 2% Jod, in Lösung geblieben, das übrige Jod (2%), welches in Jodidform vorhanden sein soll, aber erst durch die in vitro vorgenommenen Manipulationen<sup>3)</sup> abgespalten sein konnte.

Tambach fand ferner, dass weder bei künstlicher Magensaft- noch bei Pankreasverdauung Jodothyrim abgespalten wird. Endlich kam er zu dem Schluss, dass das Jod in den Jod-

1) Tambach, Zeitschr. f. Biol., N. F., Bd. XXVIII., S. 549.

2) Diese Angabe steht mit früheren Beobachtungen von mir in direktem Widerspruch. Ich habe nachweisen können (loc. cit. p. 308), dass der absolute Jodgehalt der Schweinsschilddrüsen zwischen 0,6 und 8,8 mgr. schwankt. Tambach gibt zu seiner Behauptung keine analytischen Belege.

3) Siehe Fussnote 3), Seite 25.

eiweisskörpern der Schilddrüse nicht nur in einer, sondern in verschiedener Form gebunden sein müsse, da nur ein Antheil desselben bei entsprechender Behandlung in Jodothyryn, ein anderer in jodärmere, peptonähnliche Körper übergeführt werde, aus welchen Jodothyryn nicht abzuspalten sei.

Blum<sup>1)</sup> vermochte in der Schilddrüse kein freies Jodothyryn aufzufinden. Als Träger des Jods spricht er ausschliesslich einen Eiweisskörper an, der mit den »Albuminen« die Fähigkeit gemein hat, beim Erhitzen zu coaguliren und mit Formaldehyd uncoagulirbare Verbindungen zu bilden. Das Jodothyryn geht aus dieser Substanz nach Blum stets durch tiefgreifende Zersetzung hervor und stellt ein Spaltungsprodukt von schwankender Zusammensetzung dar. Diesem Befund entsprechend bezeichnet Blum das Jodothyryn als ein »willkürliches Spaltungsprodukt« der Jodsubstanz der Thyreoidea.

Was letzteren Punkt anlangt, so hat, wie oben bemerkt, bereits Baumann<sup>2)</sup> darauf hingewiesen, dass das Jod in der Schilddrüse an Eiweissstoffe gebunden vorkommt (Baumann's Thyrojodalbumin resp. -globulin). Wenn aber Blum speciell auf die Zugehörigkeit des Jodeiweisses der Thyreoidea zu den Jodeiweisskörpern, welche künstlich hergestellt worden sind, hindeutet, so muss bemerkt werden, dass zur Zeit kein Befund vorliegt, welcher über die Art der Bindung des Jods im Schilddrüsen-eiweiss Aufklärung gäbe, somit die Zusammenstellung desselben mit den künstlichen Jodeiweisskörpern weiterer Beweise bedarf.

Dass aus dem Jodeiweiss der Schilddrüse, namentlich dem Thyrojodalbumin, durch Sieden mit Schwefelsäure das Jodothyryn besonders reichlich erhalten wird, hat übrigens schon Baumann (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 488) ausdrücklich bemerkt.

Eine Entscheidung der Frage, ob das Jodothyryn im Jodeiweiss einem completen Eiweissmolekül angelagert ist, oder

<sup>1)</sup> Blum, Münch. med. Wochenschr. 1898. Nr. 8, 9 u. 11. — Verhandlg. d. Congr. f. inn. Med. XVI. Congress 1898. — Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVI, S. 160.

<sup>2)</sup> Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 488 u. 489.

einem auch sonst regelmässig im Eiweiss vorkommenden, hier aber jodhaltigen Complexe entspricht, ist durch die Untersuchungen Blum's nicht gegeben.

Auf die theoretischen Vorstellungen über die Wirkungsweise der Schilddrüse, welche Blum entwickelt hat, soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

F. Blumenthal<sup>1)</sup> hat aus der Schilddrüse, nach der Methode von Hammarsten, ein Nucleoprotein dargestellt, welches Pentosen enthalten soll. Auf die Besprechung dieses Nucleoproteids wird weiter unten (S. 37) eingegangen werden.

Reinbach<sup>2)</sup> ist es gelungen, aus Kröpfen ein bei 193° schmelzendes Osazon zu gewinnen, welchem der Name Strumosazon beigelegt wurde. Das gleiche Osazon konnte auch aus dem Niederschlag erhalten werden, welcher in dem wässrigen Extract des Kropfes auf Zusatz von Essigsäure entsteht, und welchen Reinbach als Kropfcolloid bezeichnet. In der That stellt dieser Niederschlag das Colloid der Anatomen dar. Chemisch entspricht es dem Colloid Hutchison's. Die bei Besprechung der Hutchison'schen Arbeit bezüglich der Einheitlichkeit jenes Körpers gemachten Bemerkungen gelten in Folge dessen auch für Reinbach's Kropfcolloid.

Endlich hat noch Hutchison<sup>3)</sup> das soeben erwähnte Colloid aus Hammelsschilddrüsen aus verschiedenen Gegenden Englands dargestellt und darin einen wechselnden Jodgehalt gefunden, der zwischen 0,12 und 0,46% Jod, im Durchschnitt 0,309% betrug. Da aber jenes Colloid ein Gemenge zweier Eiweisskörper darstellt, so liegt der Einwand nahe, dass diese Schwankungen im Jodgehalte nur auf wechselnden Beimengungen des jodfreien Eiweisskörpers beruhen. Damit sei jedoch nicht behauptet, dass der eigentliche Jodeiweisskörper, den wir später kennen lernen werden, nicht, je nach der Herkunft, verschiedene Mengen Jod enthalten könnte.

1) Blumenthal, Zeitschr. f. klin. Medic., Bd. 34, S. 173.

2) Reinbach, Centralbl. f. Chirurgie, 1898, Nr. 21.

3) Hutchison, Journ. of Physiol., Bd. XXIII, S. 179 (1898).

## Eigene Untersuchungen.

### I. Ueber die Bindungsweise des Jods in der Schilddrüse.

Da Baumann<sup>1)</sup> und Drechsel<sup>2)</sup> schon festgestellt haben, dass durch Extraction mittelst physiologischer Kochsalzlösung die Jodverbindungen aus der Schilddrüse zu gewinnen sind, war mein erstes Bestreben, zu ermitteln, ob alle in der Schilddrüse vorhandenen jodhaltigen Verbindungen in die wässrige Lösung übergehen. Zu diesem Zwecke wurden 99,5 gr. menschliche Schilddrüsen fein zerhackt und 5 gr. des gut gemischten Breies zur Bestimmung des Jodgehalts benützt. Derselbe betrug 1,16 mgr. Jod, woraus sich der Gehalt für die gesammte übrige Menge des Breies auf 21,92 mgr. berechnet. Der mit Quarzsand gut verriebene Drüsenbrei wurde nun zu wiederholten Malen unter Zusatz von Thymol mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und dann einige Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Die Extracte wurden eingedampft und im Rückstand die Jodmenge bestimmt. Dabei ergab sich folgendes Resultat:

Das 1. Extract	enthielt	9,85 mgr. Jod.
2.	3,31	»
3.	1,6	»
4.	0,7	»
5.	0,7	»
6.	0,4	»
7.	0,3	»

etc. etc.

Nach dem 10. Extract waren bereits von den in dem Brei vorhandenen 21,92 mgr. Jod, 17,26 mgr. aus den wässrigen Lösungen gewonnen. Bedenkt man aber, dass auf diese einfache Weise, trotz wiederholten Zerreibens mit Quarzsand, bei weitem nicht alle Gewebszellen zertrümmert werden, somit auch ihren Inhalt nicht an die wässrige Lösung abgeben, so ist die Annahme berechtigt, dass bei vollkommener Zertrümme-

<sup>1)</sup> Baumann u. Roos, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 487.

<sup>2)</sup> Drechsel, Centralbl. f. Physiol., Bd. IX, S. 704.

rung der Zellen alle jodhaltigen Verbindungen durch verdünnte Salzlösungen extrahirt worden wären.<sup>1)</sup> Diese Vermuthung ist übrigens durch die obenerwähnte, im Laufe meiner Untersuchungen erschienene Arbeit Tambach's<sup>2)</sup> bekräftigt worden, welcher 97,8% der Jodeiweissverbindungen mit Wasser resp. physiologischer Kochsalzlösung extrahiren konnte. Eine vollständigere Erschöpfung ist aber, im Hinblick auf die Schwierigkeiten, die sich dem Extrahiren von Organbrei entgegenstellen, überhaupt nicht zu erwarten.

Es galt sodann festzustellen, ob im Drüsenextract sämtliches Jod in organischer Bindung vorkommt. Zu diesem Zweck wurden die Eiweisskörper aus demselben durch Fällung mit Phosphorwolframsäure entfernt, das Filtrat stark alkalisch gemacht und eingedampft. In dem Rückstand war kein Jod nachzuweisen. Das Jod tritt also, entgegen der Meinung Tambach's, nur in organisch gebundener Form auf. Jod in Jodidform ist nicht nachzuweisen.<sup>3)</sup>

Sodann stellte ich mir die Frage, ob in dem wässerigen Drüsenextract bloss ein oder mehrere Eiweisskörper vorhanden sind und, wenn letzteres der Fall, ob alle oder nur einer derselben das Jod enthält. Zur Beantwortung dieser Frage wurde versucht, durch Aussalzen mittelst Ammoniumsulfats die Eiweisskörper getrennt zu gewinnen. 56 gr. Hammelschilddrüsen wurden fein zerhackt, mit Glasstaub im Mörser zerrieben, sodann mit 700 ccm. 0,75%iger NaCl-Lösung versetzt und unter Zusatz einiger Tropfen einer alkoholischen Thymollösung

---

1) Der Versuch, eine vollständigere Extraction durch Auspressen des Drüsenbreies, bei einem bis auf 550 Atmosphären gesteigerten Druck, zu erzielen, scheiterte daran, dass die zahlreichen Bindegewebsfasern, welche die Drüsenmasse durchsetzten, die feinen Oeffnungen des Pressbehälters verstopften.

2) Tambach, l. c.

3) Es ist wohl möglich, dass die 2% Jod, welche Tambach im eingeeengten Extracte direkt nach Ansäuern der Lösung und Versetzen mit salpetriger Säure mit Schwefelkohlenstoff ausschütteln konnte, durch die Behandlungsweise (längeres Kochen in alkalischer Lösung behufs Einengung des Extractes) aus ihrer organischen Bindung abgespalten worden sind.

24 Stunden im Eisschranke belassen. Das vom Drüsenbrei getrennte Extract wurde wiederholt auf das gleiche Filter gegossen, bis das Filtrat klar ablief. In dem letzteren wurden alsdann, nach dem zuletzt von E. P. Pick<sup>1)</sup> beschriebenen Verfahren, die Fällungsgrenzen der in Lösung vorhandenen Eiweisskörper bestimmt. Es stellte sich heraus, dass bei einer Salzconcentration, die einer Lösung entspricht, welche 2,6 Volumen gesättigte Ammonsulfatlösung auf 10 Volumen enthält (also 2,6 cem. Ammonsulfatlösung auf 2 cem. Extract und 5,4 cem. Wasser), ein Eiweisskörper auszufallen beginnt, dessen Fällung vollständig ist, wenn 4,4 Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung auf ein Gesamtvolumen von 10 kommen (also 4,4 cem. Ammonsulfatlösung auf 2 cem. Extract und 3,6 cem. Wasser). Da bis zu einem Zusatz von 6 Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung kein weiterer Eiweisskörper ausfällt, so kann der Einfachheit halber der erste Eiweisskörper durch Versetzen des wässerigen Extracts mit dem gleichen Volumen concentrirter Ammonsulfatlösung gefällt werden. Wird nun die Salzconcentration weiter erhöht, so fällt ein zweiter Eiweisskörper aus, von dem die untere Fällungsgrenze bei einem Gehalt der Lösung von 6,4, die obere bei einem solchen von 8,2 Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung liegt. Nach der Ausscheidung beider Eiweisskörper zeigt die Extractionsflüssigkeit beim Kochen und nachherigem Zusatz von Essigsäure keine Trübung mehr, gibt auch keine Biuretreaction, ist also eiweissfrei. Der Einfachheit halber kann also der zweite Eiweisskörper durch Eintragen von Ammonsulfat in Substanz bis zur Sättigung aus seiner Lösung gefällt werden.

Beide Eiweisskörper wurden auf Jod geprüft. Dabei erwies sich der erste als jodhaltig, ausserdem phosphorfrei, der zweite als jodfrei, hingegen phosphorhaltig. Durch diesen Befund war erwiesen, dass die Trennung beider Körper durch Aussalzen mittelst Ammonsulfat eine vollständige ist.

Der erstausgefällte Eiweisskörper, der seiner Menge nach den zweiten weitaus überragt, nahm wegen seines Jodgehaltes

---

<sup>1)</sup> E. P. Pick, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, S. 246.

unser Interesse besonders in Anspruch, da zu vermuthen war, dass er der Träger der typischen Eigenschaften der jodhaltigen Substanz der Schilddrüse ist.

## II. Darstellung des jodhaltigen Eiweisskörpers.

Die im Folgenden niedergelegten Untersuchungen sind sämmtlich an Schweinsschilddrüsen angestellt worden.

Eine grosse Schwierigkeit bot die Gewinnung klarer Organ-extracte. Nach vielem Probiren wurde folgende Darstellungsweise angewandt, welche sich als sehr zweckmässig erwies.

Die frische, von Fett und anhängendem Bindegewebe befreite Schilddrüsenmasse wird fein zerhackt, mit Quarzsand bezw. Glaspulver im Mörser zerstossen, der so gewonnene Brei mehrere Male mit physiologischer Kochsalzlösung angerührt und jeweils unter Zusatz einiger Tropfen einer alkoholischen Thymollösung 12 Stunden im Eisschranke belassen. Das durch ein Tuch colirte röthliche trübe Extract wird mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, wodurch ein Niederschlag entsteht, welcher sich nach kurzer Zeit in groben Flocken zu Boden setzt, während die Lösung über ihm sich vollkommen klärt. Dieser Niederschlag (A) wird auf einem Filter gesammelt und noch auf demselben mit einer halbgesättigten Ammonsulfatlösung ausgewaschen, bis die Anfangs röthlichgraue Farbe in eine rein graue umgeschlagen ist. Alsdann wird er in Wasser gelöst, die trübe Lösung mit einigen Tropfen einer alkoholischen Thymollösung versetzt, auf zahlreiche Faltenfilter vertheilt und das Anfangs trübe Filtrat so oft auf die Filter zurückgegossen, bis es klar abfließt. Um das Filtriren grösserer Mengen, welches einige Tage erfordert, zu beschleunigen, ist es rathsam, die Filter täglich zu erneuern, da deren Poren durch die in der Flüssigkeit suspendirten Gewebstrümmer verstopft werden. Das Filtrat stellt eine absolut klare, wie Blutserum aussehende Lösung dar.<sup>1)</sup> Dieselbe wird wiederum mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, wobei sich ein schneeweisser Niederschlag ausscheidet, welcher, sobald er sich in groben Flocken zusammengeballt hat, auf einem Seidenfilter gesammelt wird. Der so gewonnene reichliche, Ammonsulfat enthaltende

<sup>1)</sup> Es ist unumgänglich nothwendig, dass die Filtrate klar erhalten werden, da sonst ungelöste Zellbestandtheile mit Resten des zweiten phosphorhaltigen Eiweisskörpers in der Lösung suspendirt bleiben. Ich habe die Erfahrung gemacht, dass es am leichtesten gelingt, klare Filtrate zu erhalten, wenn man nach obiger Angabe das Filtriren erst dann vornimmt, wenn die Eiweisskörper schon einmal die Fällung mit Ammonsulfat durchgemacht haben.

Körper, welcher jodhaltig ist, wird in Wasser gelöst, die Lösung so lange der Dialyse unterworfen, bis das Dialysat auf Zusatz von Chlorbaryum keine Trübung mehr zeigt, alsdann mit 96<sup>o</sup>/igem Alkohol versetzt und der gebildete Niederschlag auf einem Seidenfilter gesammelt.

Wurde der durch Halbsättigung mit Ammonsulfat erhaltene Niederschlag (A) in Wasser gelöst und die Lösung mit schwacher Essigsäure versetzt, so entstand ein Niederschlag, der ebenfalls jodhaltig war. Die Eigenschaft des Jodkörpers, mit Essigsäure zu fallen, wurde zur Herstellung desselben in grösserer Menge verwendet, wobei folgendes Verfahren benutzt wurde.

Zu dem klar filtrirten Drüsenextract wird so lange verdünnte Essigsäure zugesetzt, bis der ausgeschiedene Niederschlag flockig wird, dann einige Zeit stehen gelassen. Der auf einem Seidenfilter gesammelte Niederschlag wird hierauf behufs Reinigung in einem grossen Volumen stark verdünnten Alkalis (1 Th. NaOH auf 1000 Th. Wasser) gelöst und abermals durch Zusatz verdünnter Essigsäure gefällt. Nach wiederholtem Auswaschen mit angesäuertem Wasser und Decantiren wird der Körper auf einem Seidenfilter gesammelt und getrocknet.

### **III. Eigenschaften und Zusammensetzung des Jodeiweisskörpers.**

Die beiden nach den soeben beschriebenen zwei Methoden gewonnenen Produkte stimmen in ihren Eigenschaften vollkommen überein.

Der Jodeiweisskörper ist in salzfreiem Wasser sehr schwer löslich, löst sich aber auf Zusatz von Neutralsalzen, noch leichter aber in verdünnten Alkalien. Durch Zusatz sehr wenig verdünnter Essigsäure resp. Salzsäure wird die salzfreie, trübe Lösung geklärt; bei weiterem Zusatz der Säure bildet sich ein Niederschlag, der im Ueberschuss der Säure sich wieder löst. Durch Sättigung mit Kochsalz wird die neutrale wässerige Lösung trübe, ohne dass sich jedoch ein Niederschlag bildet. Durch bis zur Sättigung eingetragenes Magnesiumsulfat wird der Körper aus seiner Lösung gefällt, ebenso, wie schon bemerkt, durch Halbsättigung mit Ammonsulfat. Durch Verdünnung der salzhaltigen Lösung mit destillirtem Wasser auf das Zehnfache tritt nur schwache Trübung ein, die sich bei nachherigem Durchleiten von Kohlensäure nur wenig verstärkt.

Das Verhalten gegenüber den genannten Salzlösungen zeigt.

dass wir es mit einem Eiweisskörper zu thun haben, der die äusseren Eigenschaften der Globuline besitzt: derselbe sei der Kürze halber als Thyreoglobulin<sup>1)</sup> bezeichnet.

Ein von den übrigen Globulinen abweichendes Verhalten zeigt das Thyreoglobulin insofern, als es aus seinen mässig salzhaltigen Lösungen durch Zusatz verdünnter Säuren ausgefällt wird, ein Verhalten, welches es mit dem Myosin, das auch die übrigen Eigenschaften eines Globulins besitzt, gemeinsam hat, während Eier- oder Serumglobulin unter gleichen Verhältnissen in Neutralsalzlösung gelöst bleibt.

Man begegnet ab und zu in der Litteratur für das Colloid der Schilddrüse, welches zum grössten Theil aus Thyreoglobulin besteht, der Bezeichnung Pseudomucin. Ein Pseudomucin ist jedoch das Thyreoglobulin nicht, da die Pseudomucine durch Säuren nicht gefällt werden Hammarsten.

Das Thyreoglobulin wird durch Schwefel- bzw. Salpetersäure gefällt: im Ueberschuss der Säuren ist es unlöslich. Ferner wird es gefällt durch Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure, Jodquecksilberkalium, Trichloressigsäure und Kupfersulfat.

Die üblichen Farbenreactionen der Eiweisskörper fallen alle positiv aus: so die Probe mit Millon's Reagens, die Probe nach Adamkiewicz, nach Molisch, die Biuret- und die Xanthoproteinreaction.

Die salzfreie Lösung des Thyreoglobulins trübt sich beim Sieden: es tritt aber keine echte Coagulation ein. Enthält die Lösung 10% Magnesiumsulfat, so gerinnt das Thyreoglobulin bei 65°.

Das Thyreoglobulin enthält bleischwärenden Schwefel.

1) Diese Benennung sei derjenigen Hutchison's, welcher den durch Essigsäure gefällten Körper Colloid nennt, vorgezogen, da letztere Bezeichnung keinen chemischen Begriff involvirt, der Begriff «Colloid» in der pathologischen Anatomie sich überhaupt auf sowohl chemisch wie functionell verschiedene Substanzen erstreckt (Colloid der Ovarien, colloide Entartung der Nieren, Colloid der Schilddrüsen u. s. w.) und der im pathologischen Sinne als Colloid bezeichnete Körper, wie wir später sehen werden, gleichwie das Hutchison'sche Colloid, ein Gemenge zweier Eiweisskörper darstellt.

Der starke Ausfall der Reaction nach Molisch lässt auf das Vorhandensein von viel Kohlehydrat schliessen. Ein bemerkenswerthes Verhalten bietet die Bindungsweise der Kohlehydratgruppe mit dem Eiweissmolekül insofern, als nach zwei-stündigem Kochen des Thyreoglobulins mit 5%iger Salzsäure sämtliches Kohlehydrat abgespalten wird. Der Rückstand gibt keine Rothfärbung mehr mit  $\alpha$ -Naphthol und Schwefelsäure, während die Lösung dadurch intensiv roth gefärbt wird und deutlich ammoniakalische Silberoxyd- und Fehling'sche Lösung reducirt. Es wurde der Versuch gemacht, das leicht abspaltbare Kohlehydrat in Form seines Osazons zu charakterisiren. Zu diesem Zweck wurde folgender Weg eingeschlagen: 5 gr. Thyreoglobulin wurden zwei Stunden mit ca. 100 ccm. 5%iger Salzsäure unter Rückflusskühlung auf dem Sandbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt, der gebildete Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat mit Bleiacetat versetzt, der Niederschlag wiederum abfiltrirt, das saure, überschüssiges Bleiacetat enthaltende Filtrat mit Ammoniak alkalisch gemacht, die dadurch entstandene Fällung abfiltrirt, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, schliesslich vom Filter mit Wasser in ein Becherglas gespült. Nach Entbleiung mittelst Schwefelwasserstoffs gab das Filtrat intensive Rothfärbung mit Molisch's Reagens und reducirte stark Fehling'sche Lösung sowie ammoniakalisches Silberoxyd, mit Phloroglucin und Salzsäure gab es eine Braunfärbung. Es lag somit keine Pentose vor. Die bis auf wenige Cubikcentimeter eingeeengte Lösung wurde mit Phénylhydrazin und einigen Tropfen Essigsäure versetzt, eine Stunde im kochenden Wasserbade belassen, alsdann im Wasserbade langsam auf Zimmertemperatur abgekühlt. Es kam zur Ausscheidung eines schön krystallisirten Osazons. Die Menge war jedoch zu gering, um zur Feststellung des Schmelzpunktes hinzureichen. Die Eigenschaften dieses Osazons, sowie das sonstige Verhalten der Kohlehydratgruppe im Thyreoglobulin soll übrigens noch in einer späteren Mittheilung zur Sprache kommen.

Die Thatsache, dass durch Kochen des Thyreoglobulins mit verdünnter Säure eine reducirende Lösung erhalten wird.

stimmt mit der Angabe von Notkin<sup>1)</sup> überein, welcher aus seinem Thyreoprotein (aus Hammels-, Kalbs-, Ochsen- und Schweinschilddrüsen) eine reducirende Lösung und daraus weiter ein Osazon darstellen konnte, das bei 160° schmilzt. Sie muss ausdrücklich gegen den negativen Befund Hutchison's<sup>2)</sup> hervorgehoben werden, welcher aus seinem Colloid (aus Hammelschilddrüsen) einen reducirenden Körper nicht abzuspalten vermochte. Auch Reinbach<sup>3)</sup> ist es nicht gelungen, eine reducirende Substanz aus dem Colloid der Kalbschilddrüsen zu gewinnen.

Die beiden durch Ammonsulfat resp. durch Essigsäure gewonnenen Produkte wurden zuerst bei 75°, dann bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und der Elementaranalyse unterworfen.

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl ausgeführt. Der Schwefel wurde nach der v. Asbóth-Düring'schen Methode,<sup>4)</sup> mittelst Schmelzens mit Natriumsuperoxyd und Soda, das Jod theilweise nach Carius, theilweise nach der von mir früher beschriebenen, etwas modificirten Methode bestimmt. Die Methode ist folgende: Die zu untersuchende Substanz wird im Nickeltiegel in möglichst wenig Wasser gelöst, dem ein grosser Ueberschuss von Natriumhydroxyd (*Natr. hydroxydatum e natrio metallico*) zugesetzt ist. Zu der Lösung wird 1—2 gr. jodfreier Salpeter zugesetzt. Der so entstandene Brei wird über kleiner Flamme bis zur Trockne eingedampft, alsdann das Schmelzen möglichst rasch ausgeführt. Die abgekühlte Schmelze wird in Wasser aufgenommen, die alkalische Lösung mit Silbernitrat versetzt, hierauf mit Salpetersäure angesäuert. Das abfiltrirte Jodsilber wird in der üblichen Weise zur Wägung gebracht. Diese sehr brauchbare Methode hat gegenüber der Carius'schen den Vortheil, viel weniger Zeit zu erfordern, während andererseits, vorausgesetzt, dass das Schmelzen sehr rasch ausgeführt worden ist, keine Verluste an Jodsilber zu befürchten sind. Die nach beiden Methoden erhaltenen Werthe stimmten vollkommen überein.

Ich lasse nun die analytischen Daten folgen. Präparat I war durch Fällen mit Essigsäure, Präparat II durch dreimaliges Fällen mit gleichen Theilen gesättigter Ammonsulfatlösung gewonnen.

1) Notkin, Virchow's Arch. Suppl. zu Bd. 144.

2) Hutchison, Journ. of physiol. XX.

3) Reinbach, Centralbl. f. Chirurg., 1898, Nr. 21.

4) Düring, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII, S. 281.

Präparat I.

Substanz	CO <sub>2</sub>	C	% C	H <sub>2</sub> O	H	% H
0,1415	0,2708	0,0738	<b>52,19</b>	0,0895	0,00993	<b>7,02</b>
0,1400	0,2661	0,0725	<b>51,83</b>	0,0864	0,00959	<b>6,85</b>
		im Mittel:	<b>52,01</b>		im Mittel:	<b>6,93</b>

Substanz	NH <sub>3</sub>	N	% N
0,2926	0,0595	0,0484	<b>16,56</b>
0,2077	0,0420	0,0346	<b>16,67</b>
		im Mittel:	<b>16,61</b>

Substanz	JAg	J	% J
0,5613	0,0158	0,0085	<b>1,511)</b>
0,9684	0,0279	0,01505	<b>1,55</b>
0,9449	0,0293	0,0158	<b>1,67</b>
		im Mittel:	<b>1,57</b>

Substanz	BaSO <sub>4</sub>	S	% S
0,5269	0,0757	0,0104	<b>1,97</b>
0,5222	0,0737	0,0101	<b>1,93</b>
		im Mittel:	<b>1,95</b>

Substanz	Asche	% Asche
0,2917	0,0012	<b>0,41</b>
0,3437	0,0015	<b>0,43</b>
		im Mittel: <b>0,42</b>

1) Nach Carius; die übrigen Jodbestimmungen sind nach der oben beschriebenen Methode ausgeführt.

Präparat II.

Substanz	CO <sub>2</sub>	C	% C	H <sub>2</sub> O	H	% H
0.1171	0.2224	0.0606	<b>51.79</b>	0.0700	0.0077	<b>6.64</b>
0.1436	0.2745	0.0748	<b>52.13</b>	0.0870	0.0096	<b>6.73</b>
			im Mittel: <b>51.96</b>			
				im Mittel: <b>6.68</b>		

Substanz	NH <sub>3</sub>	N	% N
0.2000	0.0399	0.0329	<b>16.45</b>
0.2093	0.0422	0.0348	<b>16.64</b>
			im Mittel: <b>16.54</b>

Substanz	JAg	J	% J
0.7920	0.0256	0.0138	<b>1.74</b>
0.7382	0.0242	0.01305	<b>1.76</b>
			im Mittel: <b>1.75</b>

Substanz	BaSO <sub>4</sub>	S	% S
0.6369	0.0796	0.0109	<b>1.71</b>
0.6680	0.0891	0.0122	<b>1.83</b>
			im Mittel: <b>1.77</b>

Substanz	Asche	% Asche
0.2328	0.0011	<b>0.47</b>

Aus dem Mittel der Procentwerthe ergeben sich auf die aschefreie Substanz berechnet folgende Zahlen:

	Präparat I	Präparat II
C	52.22	52.20
H	6.96	6.70

	Präparat I	Präparat II
N	16,67	16,51
J	1,57	1,75 <sup>1)</sup>
S	1,95	1,77

Wie sich aus den analytischen Werthen ersehen lässt, stellen beide Produkte einen und denselben Körper dar, woraus wir berechtigt sind, zu schliessen, dass in der Schilddrüse nur ein jodhaltiger Eiweisskörper vorhanden ist.

Denselben kommt folgende aus obigen beiden Durchschnittswerthen erhaltene, auf aschefreie Substanz berechnete procentische Zusammensetzung zu (des Vergleichs wegen setze ich die von Bubnow<sup>2)</sup> für sein Thyreoprotein II und III gefundenen Mittelwerthe als am meisten auseinandergehend daneben):

	Thyreoglobulin (vom Schwein)	Thyreoprotein II (vom Rind) Bubnow	Thyreoprotein III (vom Rind) Bubnow
C	52,21	50,20	49,27
H	6,83	6,34	6,29
N	16,59	16,10	16,68
J	1,66	—	—
S	1,86	1,34	1,40
(O)	(20,85)	(26,02)	(26,36)

Beim Vergleich des Thyreoglobulins mit den übrigen bekannten natürlich vorkommenden oder künstlich jodirten Jod-eiweisskörpern stellen sich interessante Verhältnisse heraus, welche Erwähnung verdienen. Zu den ersten gehören das

1) Die Angabe Notkin's (Virchow's Arch. Suppl. Bd. 144), dass das Jod kein integrierender Bestandtheil des durch Halbsättigung mit Ammonsulfat aus dem wässerigen Schilddrüsenextract gewonnenen Eiweisskörpers ist, sondern bloss auf einer Verunreinigung beruht und somit der Jodgehalt jenes Eiweisskörpers bis auf verschwindend kleine Mengen herabsinkt, wenn derselbe wiederholt gelöst und gefällt worden ist, habe ich, wie erwähnt, nicht bestätigen können. Die in Präparat II gefundenen Jodwerthe rühren von Präparaten her, welche 5 mal gefällt worden sind, während Notkin angibt, nach fünfmaliger Fällung bloss unwägbare Mengen Jodsilber gefunden zu haben.

2) Bubnow, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. VIII, S. 1.

Spongín (Harnack)<sup>1)</sup> und das Gorgonin (Drechsel);<sup>2)</sup> zu den letzteren das Eierjodalbumin (Hofmeister)<sup>3)</sup> und das Serumjodalbumin (Kurajeff).<sup>4)</sup> Der besseren Uebersicht halber seien die analytischen Zahlen dieser Jodeiweisskörper nachfolgend zusammengestellt:

	Thyreoglobulin	Spongín (Harnack)	Gorgonin (Drechsel)	Eierjodalbumin (Hofmeister)	Serumjodalbumin (Kurajeff)
C	52,21	48,51	41,54	47,92	47,57
H	6,83	6,30	5,77	6,60	6,11
N	16,59	14,79	14,49	14,27	14,56
J	1,66	1,5	7,99	8,95	12,05
S	1,86	0,73		1,26	1,13
O	(20,85)	(28,0)		(21,00)	(18,58)

Eine auffallende Uebereinstimmung in ihrem Jodgehalt zeigen die beiden natürlich vorkommenden Jodeiweisskörper, das Spongín und das Thyreoglobulin, wovon das eine 1,5, das andere 1,6% Jod enthält, während wiederum das künstlich jodirte Eieralbumin in seinem Jodgehalt dem Gorgonin nahe steht (7,79 resp. 8,95%). Inwieweit diese Zahlen zu einem Vergleich berechtigen, lässt sich zur Zeit nicht beurtheilen. Das Molekulargewicht des Thyreoglobulins lässt sich auf Grund des Jodgehaltes auf etwa 8000 veranschlagen. Weitere Schlüsse werden erst möglich sein, wenn wir über die Spaltungsprodukte des Thyreoglobulins, vor Allem aber über die Stellung des Jods im Molekül orientirt sein werden.

#### IV. Das Nucleoproteid der Schilddrüse.

Wie Eingangs erwähnt, lässt sich nach Entfernung des Thyreoglobulins aus dem Extract der Schilddrüse durch Eintragen von Ammonsulfat in Substanz bis beinahe zur Sättigung ein zweiter Eiweisskörper isoliren, welcher phosphorhaltig ist,

1) Harnack, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, S. 412.

2) Drechsel, Zeitschr. f. Biologie, Neue Folge, Bd. 15, S. 90.

3) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, S. 159.

4) Kurajeff, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVI, S. 462 (Präparat A<sub>3</sub>).

eine Thatsache, die bereits Notkin<sup>1)</sup> erwähnt hat. Dieses Nucleoproteid ist aber entgegen der Meinung Notkin's jodfrei. Was seine Eigenschaften anbelangt, so sei erwähnt, dass es in salzfreiem Wasser unlöslich ist, auf Zusatz von Neutralsalzen aber in Lösung geht, ebenso ist es löslich in Alkali. Durch verdünnte Säuren wird es gleich dem Thyreoglobulin gefällt.<sup>2)</sup> In einer Lösung, welche 10% Magnesiumsulfat enthält, gerinnt es bei 73°. Mit  $\alpha$ -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure gibt es Rothfärbung, wogegen es mit Phloroglucin und Salzsäure sich braun, nicht violettroth färbt; somit enthält es eine Kohlehydratgruppe, die anscheinend nicht aus Pentosen besteht. Ausserdem enthält es Xanthinbasen. Was die Menge des Nucleoproteids in der Schilddrüse betrifft, so ist sie viel geringer, als die des Thyreoglobulins.

Behufs Analyse wurde eine grössere Menge des Nucleoproteids dargestellt. Da die durch einfaches Ausziehen mit physiologischer Kochsalzlösung erhaltenen Organextracte einen ziemlich starken Hämoglobingehalt besaßen, so wurde versucht, durch Aussalzen mittels Ammonsulfat das Hämoglobin vom Nucleoproteid zu trennen. Der Versuch scheiterte daran, dass beide Körper die gleichen Fällungsgrenzen besitzen (s. weiter oben). Es wurde deshalb versucht, die Drüsen, bevor sie zur Verarbeitung kamen, durch längeres Waschen mit Leitungswasser von Hämoglobin zu befreien, was bis zu einem gewissen Grade erreicht werden konnte, wenn die Drüsen vorher in grobe Stücke zerrissen wurden. Die Organextracte hatten allerdings immer noch einen rosafarbenen Ton. Der nach vollständiger Sättigung mit Ammonsulfat erhaltene hellrothe Niederschlag wurde in Wasser gelöst, die Lösung der Dialyse unterworfen und daraus der Eiweisskörper mit Alkohol von 95% gefällt.

1) Notkin, Virch. Arch., Suppl. Bd. 144.

2) Dieser Befund erklärt, warum durch Versetzen des Drüsenextractes ohne vorherige Trennung der Eiweisskörper Hutchison (loc. cit.) ein Produkt erhalten hat, das sowohl phosphor- als jodhaltig ist. Der gewonnene Niederschlag stellte ein Gemenge des Thyreoglobulins und des Nucleoproteids dar.

Einige Gramme des Eiweisskörpers wurden während sechs Tagen der Verdauung mit Pepsinsalzsäure überlassen, wobei sich ein flockiger Niederschlag bildete, der in Alkali löslich, in Säuren unlöslich war und beträchtliche Mengen Phosphor enthielt, somit ein Nuclein darstellte.

Der ursprüngliche Eiweisskörper, welcher zu den Nucleoproteiden gehört, wies als solcher einen Gehalt an Phosphor von 0,16% auf.

0,7713 gr. des Nucleoproteids gaben  $0,0165 \text{ Mg}_3\text{P}_2\text{O}_8 = 0,001276 \text{ P}$   
0,16%.

Behufs Vergleichung des mit Hilfe der Aussalzungs-  
methode dargestellten Nucleoproteids mit dem Produkte, welches nach dem von Hammarsten zur Gewinnung des Nucleoproteids aus dem Pankreas beschriebenen Verfahren erhalten wird, wurde das wässrige Schilddrüsenextract gekocht, die Fällung abfiltrirt und das klare Filtrat mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure versetzt, worauf sich ein Niederschlag bildete, in welchem das reine Nucleoproteid enthalten sein sollte. Wie sich bei der Analyse herausstellte, enthält aber dieser Körper neben einer beträchtlichen Menge Phosphor auch noch Jod, ist also nicht reines Nucleoproteid, sondern ein Gemenge des letzteren mit dem Thyreoglobulin. Diese Methode ist daher zur Reingewinnung des Nucleoproteids der Schilddrüse nicht geeignet.

#### **V. Wirkung der beiden Eiweisskörper der Schilddrüse auf den thierischen Organismus.**

Es war von Interesse, zu erfahren, ob die typische Wirksamkeit, welche der ganzen Schilddrüse zukommt, auch den daraus isolirten Eiweisskörpern innewohnt, und im Falle diese Vermuthung sich bewahrheiten sollte, ob etwa der jodhaltige allein als Träger der physiologischen Wirksamkeit anzusehen ist.

Als Kriterium für die Wirksamkeit der Eiweisskörper wurde nicht, wie vielfach in ähnlichen Fällen, das Verhalten thyreoidectomirter Thiere nach Einverleibung des Präparates gewählt, da diese Versuchsanordnung wegen der Unregelmässigkeit, mit der die Symptome der Tetanie auftreten, nur bei Anwendung

sehr langer Versuchsreihen einwandfreie Beweise für resp. gegen die Wirksamkeit eines Präparates zu liefern im Stande ist.

Begnügt man sich damit, an der Hand weniger Versuche die Wirksamkeit eines Präparates daraus zu entnehmen, dass etwa nach Einverleibung desselben ein Tetanieanfall zurückgeht, dann ist der Einwand berechtigt, dass einerseits die Anfälle auch ohne Medication vorübergehen, andererseits aber des öfteren die Medication gar keinen Einfluss ausübt. Nur eine sehr grosse Anzahl von Versuchen kann in dem einen oder dem andern Sinne Entscheidung bringen. Im übrigen sei bei dieser Gelegenheit noch auf eine Angabe aufmerksam gemacht, wonach thyreoidectomirte Thiere, welche mit der getrockneten Schilddrüsensubstanz in toto (Schilddrüsentabletten) gefüttert wurden, in relativ kurzer Zeit sämmtlich zu Grunde gingen (Pugliese).<sup>1)</sup> Sollten diese Versuche Bestätigung finden, so würde sich daraus ergeben, dass die Möglichkeit, aus der Schilddrüse ein die Drüsen auf die Dauer ersetzendes Produkt zu gewinnen, überhaupt nicht gegeben ist, dass somit die tetanischen Anfälle, bezw. die chronische Cachexie und der Tod stets früher oder später die Folge der Thyreoidectomie sein werden. Diese Thatsache würde auch eine Erklärung dafür abgeben, dass das Jodothyryn die Tetanie und den Tod auf die Dauer doch nicht zu verhindern im Stande ist (vergl. darüber u. A. Baumann und Goldmann, Münch. med. Wochenschr., 1896, Nr. 47). Damit kämen wir aber zur Annahme, dass die Wirksamkeit der Schilddrüse wenigstens zum Theil an die Integrität des Organs gebunden ist.

Als ein zuverlässiges Kriterium der Wirksamkeit der specifischen Bestandtheile der Schilddrüse ist hingegen dessen Einfluss auf den Stoffwechsel zu erachten, welcher sich darin kundgibt, dass prompt und regelmässig nach Darreichung eines im Sinne der Schilddrüse wirksamen Präparates eine bedeutende Vermehrung des Harnstickstoffes auftritt. Dieses Verfahrens hat sich Roos in ähnlichen Fällen bereits öfters mit Erfolg bedient. Auch ich habe es in Anwendung gebracht. Die Versuchsanordnung war übrigens genau die von Roos<sup>2)</sup> gewählte.

Ein 11 kg. schwerer Hund wurde annähernd in Stoffwechselgleichgewicht gebracht, indem er täglich 100 gr. Hundekuchen, 500 ccm. Milch und 300 ccm. Wasser erhielt. Die Nahrungsaufnahme fand stets des Morgens statt, nachdem der Hund nach vorheriger spontan erfolgter Harnentleerung und Defäcation abgewogen worden war. In der 24stündigen

---

1) Pugliese, Pflüger's Archiv, Bd. 72.

2) Roos, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, S. 11.

Harnmenge wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Nachdem die tägliche Stickstoffausscheidung einige Tage auf der gleichen Höhe geblieben war (dieselbe betrug im Durchschnitt 4.52 gr.), wurde dem Thier mit der Nahrung 1 gr. Thyreoglobulin verabreicht. Der am folgenden Tage untersuchte Harn enthielt bedeutend mehr Stickstoff (6.5 gr.). Die Vermehrung betrug 54%. Die Mehrausscheidung dauerte wie auch nach Verabreichung von ganzen Schilddrüsen oder von Jodothyryn einige Tage lang fort, sank aber allmählich auf die ursprüngliche Höhe.

Die einzelnen Zahlen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Hund A.

Ver- suchs- tage	Harn- menge	Speci- fisches Gewicht	N- Gehalt	Körper- gewicht	Einnahmen	Bemerkungen
1.	520	1016	4,9296	11 240	Täglich: 100 gr.	
2.	380	1017	4,2040	11 245	Hundekuchen.	
3.	405	1017	4,2297	11 240	500 ccm. Milch.	
4.	375	1018	4,0200	11 246	300 ccm. Wasser.	
5.	583	1014	4,6838	11 035		
6.	480	1017	4,7664	11 070		
7.	460	1016	4,8024	11 020		
8.	460	1017	4,7334	11 020		} Mit der Nahrung 1 gr. Thyreo- globulin.
9.	530	1015	4,3799	10 952		
10.	465	1019	6,5709	10 815		
11.	450	1019	6,2117	10 720		
12.	440	1019	5,3284	10 735		
13.	350	1023	5,1466	10 810		
14.	425	1020	5,2564	10 788		
15.	400	1023	5,4478	10 730		
16.	515	1020	5,9029	10 480		
17.	270	1032	5,9832	10 390		
18.	) 380	1024	5,6848	10 350		
19.				10 356		
20.	560	1018	5,2976	10 300		

Das Thyreoglobulin übt also auf die Stickstoffausscheidung des Organismus den gleichen Einfluss aus, wie die ganze Schilddrüse.

Ein ähnlicher Versuch wurde ausgeführt mit dem zweiten aus der Thyreoidea gewonnenen Eiweisskörper, dem jodfreien Nucleoproteid.

Ein 12 kg. schwerer Hund erhielt als tägliche Nahrung 150 gr. Hundekuchen, 500 ccm. Milch und 300 ccm. Wasser. Nachdem wiederum die tägliche Stickstoffausscheidung annähernd eine constante geworden war, erhielt das Versuchsthier 1,5 gr. des Nucleoproteids verabreicht. Weder am nächsten, noch an den darauffolgenden Tagen stieg jedoch die Stickstoffausscheidung, wie die nachstehende Tabelle veranschaulicht.

Hund B.

Ver- suchs- tage	Harn- menge	Speci- fisches Gewicht	N- Gehalt	Körper- gewicht	Einnahmen	Bemerkungen
1.	620	1014	5,4498	12 420	Täglich: 150 gr.	mit der Nahrung 1,5 gr. Nucleo- albumin der Schilddrüse.
2.	600	1017	5,6688	12 420	Hundekuchen.	
3.	580	1016	5,9508	12 400	500 ccm. Milch.	
4.	660	1013	5,7552	12 280	300 ccm. Wasser.	
5.	640	1015	5,6288	12 230		
6.	632	1015	6,1244	12 240		
7.	657	1014	5,9537	12 275		
8.	645	1014	5,8566	12 290		
9.	635	1013	5,7404	12 300		

Dem aus der Schilddrüse gewonnenen jodfreien Eiweisskörper, dem Nucleoproteid, kommt also die typische Wirkung der Schilddrüse auf die Stickstoffausscheidung in keinerlei Weise zu.

Wir ersehen aus diesen Thatsachen, dass einzig und allein das jodhaltige Thyreoglobulin der Träger der specifischen Wirksamkeit der Schilddrüse auf den Stoffwechsel ist.

**VI. Spaltungsprodukte des Thyreoglobulins und Beziehungen desselben zum Jodothyrim.**

**A. Spaltung durch Pepsinverdauung.**

In der Absicht, möglichst hochstehende Spaltungsproducte zu erhalten, wurde das Verhalten des Thyreoglobulins gegenüber der Pepsinverdauung geprüft.

5 gr. trockenen, pulverisirten Thyreoglobulins wurden mit 100 ccm. verdünnter Salzsäure (2,5 Theile HCl auf 1000 Theile Wasser) versetzt und bei 35° 4 Wochen lang der Ver-

daunung überlassen. Die Anfangs trübe Lösung klärte sich bald unter Ausscheidung eines nicht unbeträchtlichen graubraunen flockigen Niederschlages, der sich zu Boden setzte und auch nach 4wöchentlicher Verdauung sich nicht mehr veränderte. Nach genannter Zeit wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit 0,25% HCl ausgewaschen, bis das Filtrat die Biuretreaction nicht mehr gab. Der in Wasser und Säuren (Essigsäure und Salzsäure) unlösliche, dagegen in Alkalien leicht lösliche Niederschlag zeigte negativen Ausfall der Biuretreaction, der Probe mit Millon's und mit Molisch's Reagens, hingegen positiven Ausfall der Xanthoproteinreaction. Ferner entwickelte er beim Schmelzen Skatol- und Indolgeruch, wurde durch Phosphorwolframsäure gefällt und enthielt 5,27% Jod.

0,1503 gr. Substanz gaben 0,0147 AgJ = 0,00893 J = 5,27% J.

Der Körper, welcher, wie das Fehlen der Biuretreaction zeigt, nicht mehr die Eigenschaften eines Eiweisskörpers besitzt, steht dadurch in naher Beziehung zum Jodothyrim, ist aber in Anbetracht seines Jodgehaltes (das aus dem Thyreoglobulin gewonnene Jodothyrim ist bedeutend reicher an Jod, s. S. 45) nicht identisch mit demselben.

Schon Hutchison<sup>1)</sup> ist es gelungen, aus dem durch Ausziehen der Schilddrüse mit verdünntem Alkali und nachherigem Fällen mit Essigsäure erhaltenen Produkt durch Verdauung mit Pepsinsalzsäure einen Körper zu gewinnen, der keine Biuretreaction mehr zeigte (proteidfreier Körper Hutchison's). Derselbe wurde aber phosphorhaltig (0,8%) und relativ jodarm (0,7%) befunden. Dieser Phosphorgehalt rührt vermuthlich daher, dass Hutchison bei seinem Verfahren zur Darstellung des Colloids durch Ausziehen mit verdünntem Alkali sowohl das Thyreoglobulin wie das Nucleoproteid mit in Lösung bekam, worauf dann beide durch Essigsäure gefällt wurden. Der Verdauungsrückstand des Colloids bestand alsdann aus einem Nuclein und dem jodhaltigen Körper. Dadurch lassen sich die Anwesenheit des Phosphors und der relativ niedrige Jodgehalt erklären. Die gleichen Betrachtungen gelten

1) Hutchison, Journ. of physiol. XX. Nr. 6. 1896.

auch bezüglich der Angaben Tambach's,<sup>1)</sup> welcher in dem Pepsinverdauungsrückstand der Eiweissstoffe der Schilddrüse bloss 0,21 % Jod fand.

In dem von dem unlöslichen Verdauungsrückstand getrennten Filtrat wurden nach einem von Herrn Dr. E. P. Pick im hiesigen Laboratorium ausgearbeiteten Verfahren die Albumosen und die Peptone getrennt. In Betreff der Einzelheiten des Verfahrens, sowie deren näherer Begründung, verweise ich auf die in Aussicht stehende Publication.

Die vorerst mit Alkali neutralisirte, dann ziemlich stark eingeeengte Verdauungslösung wurde mit der zehnfachen Menge 96 %igen Alkohols versetzt, wodurch die Protalbumose und die grösste Masse der Deuteroalbumosen und Pepton B in Lösung blieb, die Heteroalbumose und Pepton A dagegen in weissen Flocken, die sich bald zu einer klebrigen Masse zusammenballten, ausgeschieden wurden. Der Niederschlag enthielt nur Spuren von Jod.

Die alkoholische Lösung wurde zur Syrupconsistenz eingeeengt, alsdann in Wasser aufgenommen und die wässrige Lösung mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, wobei die Protalbumose ausfiel. Dieselbe wurde abfiltrirt, sie erwies sich als stark jodhaltig. Das Filtrat wurde mit dem halben Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Die ausgeschiedene Deuteroalbumose A erwies sich wiederum als jodhaltig. Ebenso die durch vollständige Sättigung mit Ammonsulfat gewonnene Deuteroalbumose B und die durch nachherigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure erhaltene Deuteroalbumose C. Das durch Einengen der Lösung erhaltene Pepton B enthielt dagegen nicht viel Jod. Quantitative Jodbestimmungen konnten der geringen Menge der Substanzen wegen nicht ausgeführt werden. Doch ist anzunehmen, dass die Spuren von Jod in der Heteroalbumose und dem Pepton A wohl nur auf Verunreinigung mit den alkohollöslichen Albumosen zu beziehen sind, dass dagegen die Protalbumose und die Deuteroalbumosen Jod in beträchtlicher, das

1) Tambach, loc. cit., S. 558 u. ff.

Pepton B wiederum nur in geringer Menge enthalten. Das Jod ist somit in den durch Pepsinsalzsäure erhaltenen Zeretzungsprodukten ungleichmässig vertheilt.

In welcher Beziehung die einzelnen Albumosen und Peptone genetisch zu einander stehen, ist gegenwärtig noch Gegenstand der Untersuchung seitens des Herrn Dr. E. P. Pick. Je nach dem Ergebniss dieser Versuche wird sich auch für obiges Resultat eine Deutung ergeben. Vorläufig spricht das Fehlen des Jods in der Heteroalbumose und sein Vorkommen in der Protalbumose und den Deuteroalbumosen dafür, dass diese aus einander oder aus demselben jodhaltigen Complex des ursprünglichen Eiweissmoleküls, aber nicht aus der Heteroalbumose hervorgehen.

#### B. Spaltung durch Trypsinverdauung.

7 gr. Thyreoglobulin wurden mit ca. 120 ccm. verdünnter Sodalösung (2 Th. Soda : 1000 Th. Wasser) und etwas Trypsin versetzt und bei 35° vier Wochen der Verdauung überlassen. Die klare Lösung gab nach jener Zeit nur noch eine unbedeutende Trübung auf Zusatz von Ammonsulfat. Essigsäure, bis zur schwach sauren Reaktion zugesetzt, erzeugte keinen Niederschlag, der Jodothyrimcomplex war somit durch die Trypsinverdauung zerstört worden. Die Lösung enthielt weder Jod als solches, noch in Jodidform.

Die neutralisirte Lösung wurde eingeeengt, wonach sich reichlich Tyrosinkrystalle in charakteristischer Form ausschieden. Dieselben wurden abfiltrirt, aus ammoniakalischem Alkohol umkrystallisirt und mittelst des Millon'schen Reagens und der Probe nach Piria identificirt. Nach weiterer Einengung schieden sich Leucinkugeln aus.

Aus der Thatsache, dass bei Trypsinverdauung Tyrosin in reichlicher Menge ohne vorhergehende Jodabspaltung gebildet wird, lässt sich schliessen, dass das Jod im Thyreoglobulin nicht — wie für das künstlich jodirte Jodalbamin schon verschiedentlich angenommen worden ist — an die Tyrosin-Gruppe gebunden ist. Allerdings bleibt der Einwand möglich, dass, da das Thyreoglobulin in weitaus geringerer Menge Jod

enthält als das Eierjodalbumin (etwa  $\frac{1}{6}$ — $\frac{1}{8}$ ), das Jod im ersteren nur an einen Theil der vorhandenen Tyrosingruppen gebunden, der grössere Theil der Tyrosincomplexe aber davon frei ist. Die Annahme mehrerer Tyrosingruppen im Eiweissmolekül erscheint allerdings durch keine Thatsache begründet.

Uebrigens zeigt das künstlich jodirte Eiweiss ein gleiches Verhalten. Einige Gramm künstlich jodirten Eieralbumins (ca. 9% Jod) wurden durch mehrstündiges Kochen mit concentrirter Salzsäure zersetzt. Aus der eingedampften Lösung schieden sich nach dem Abkühlen reichlich Tyrosinkrystalle aus. Auf Grund dieses Befundes scheint der Schluss berechtigt, dass das Jod auch im Jodalbumin nicht an die Tyrosin-Gruppe gebunden ist.

Von den übrigen Produkten des durch Trypsin gespaltenen Thyreoglobulins soll in einer späteren Mittheilung des Näheren die Rede sein.

### C. Spaltung mit verdünnten Säuren.

Das Thyreoglobulin wurde nun auf das Verhalten gegenüber verdünnten Säuren geprüft. Um ein mit dem Baumann'schen Jodothyryn vergleichbares Object zu erhalten, wurde zuerst 10%ige Schwefelsäure gewählt.

14 gr. Thyreoglobulin wurden 5 Stunden mit 80 ccm. 10%iger Schwefelsäure unter Rückflusskühlung auf dem Sandbade erhitzt. Dabei schied sich ein feinflockiger brauner Niederschlag aus, während die Lösung eine braune Farbe annahm. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt und mit Wasser so lange ausgewaschen, bis das Filtrat schwefelsäurefrei war, sodann der noch feuchte Rückstand so lange mit Alkohol von 96% ausgekocht, bis letzterer sich bei dieser Procedur nicht mehr braun färbte. Die alkoholische Lösung wurde auf dem Wasserbade bis zur Trockne eingeengt und der Rückstand bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Dieser Körper stellte ein braunes Pulver dar, welches in Wasser und Säuren unlöslich, in Alkalien leicht löslich war. Es gab keine Biuretreaction, keine Reaction mit Millon's und Molisch's Reagens, dagegen Xanthoproteinreaction, war fällbar durch

Phosphorwolframsäure und enthielt viel Jod, stimmte somit nach seiner Darstellungsweise und seinen Eigenschaften mit dem Baumann'schen Jodothyrim überein. Aus den 14 gr. Thyreoglobulin wurden 0,18 Jodothyrim gewonnen, was einer Ausbeute von 1,3% gleich kommt.

0,0842 gr. des so erhaltenen Jodothyrim gaben 0,0223 AgJ  
0,0113 J = 14,29% Jod.

Dieser hoher Jodgehalt ist bisher noch in keinem Jodothyrimpräparat gefunden worden.<sup>1)</sup> Um zu erfahren, ob er ein constanter sei, habe ich eine zweite Portion Thyreoglobulin anstatt mit Schwefelsäure, mit 10%iger Salzsäure zersetzt. Dabei erhielt ich ein hellgrau gefärbtes Produkt (während das durch Schwefelsäurespaltung gewonnene stets dunkelbraun ist), das den gleichen Jodgehalt aufwies.

10 gr. Thyreoglobulin wurden mit 10%iger Salzsäure 4 Stunden auf dem Sandbade unter Rückflusskühlung im Sieden erhalten. Aus dem gebildeten Niederschlag, welcher eine viel hellere Farbe besitzt als bei Anwendung von Schwefelsäure, wurde nach der üblichen Weise Jodothyrim gewonnen.

0,0693 gr. Jodothyrim gaben 0,0186 AgJ = 0,01003 J = 14,48% Jod.

Der im Gegensatz zu den früheren Untersuchungen viel höher gefundene Jodgehalt des Jodothyrim lässt sich dadurch erklären, dass bei der oben geschilderten Darstellungsweise das Ausgangsmaterial ein einheitlicher, von fremden Beimengungen freier Körper ist, während nach der üblichen Methode von der Schilddrüse als solcher ausgegangen wird. Bereits Baumann hat die Vermuthung ausgesprochen, dass das vollkommen reine Jodothyrim einen höheren Jodgehalt besitze als den von ihm zuerst gefundenen (9,3%). Die Vermuthung Baumann's hat sich sonach bestätigt. Auch seine Meinung, dass der Phosphorgehalt des Jodothyrim sich auf Beimengung fremder Bestandtheile zurückführen lässt, hat sich als richtig erwiesen, indem das vorliegende möglichst reine Jodothyrim (als solches glaube ich berechtigt zu sein, das aus dem Thyreoglobulin erhaltene Produkt anzusehen) keinen

1) Vergleiche: Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 323; Roos, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, S. 3 u. ff.

Phosphor enthält. Wahrscheinlich sind die von den Autoren gefundenen Schwankungen im Jodgehalt des Jodothyris darauf zu beziehen, dass die von den übrigen Bestandtheilen der Schilddrüse herrührenden Beimengungen jeweils in verschiedener Menge vorhanden waren.

Ich war in der Lage, dieses Jodothyris mit einem künstlich jodirtem Eiereiweiss durch ähnliche Behandlung mit 10<sup>0</sup>/oiger Schwefelsäure erhaltenen Produkt zu vergleichen. Wie aus dem Thyreoglobulin, so entsteht auch aus dem Jodeieralbumin durch die Säurebehandlung ein alkohollöslicher und ein alkoholunlöslicher Theil, welche beide jodhaltig sind. Eine weitere Aehnlichkeit zeigen die beiden aus Thyreoglobulin resp. aus Jodeieralbumin gewonnenen Produkte darin, dass der bei der Säurespaltung entstandene Niederschlag bei fortgesetztem Kochen mit Säure wiederum anfängt in Lösung zu gehen. Bei der Bestimmung des Jods hat sich herausgestellt, dass das Säurespaltungsprodukt aus Jodeieralbumin einen demjenigen des Jodothyris ziemlich nahe kommenden Jodgehalt besitzt (ca. 12<sup>0</sup>/o). Auf die Aehnlichkeit beider Körper in ihrem Verhalten und in ihrem Jodgehalt, welche ein theoretisches Interesse beansprucht, soll hier nur hingewiesen werden. In physiologischer Beziehung ist hinlänglich bekannt, dass dem aus Jodalbumin erhaltenen Produkt die physiologische Wirksamkeit des Jodothyris in keinerlei Weise zukommt.

Hervorgehoben sei noch, dass, wenn man die von dem beim Kochen sich bildenden Rückstand abfiltrirte Lösung (d. h. die 10<sup>0</sup>/oige Schwefelsäure, welche die löslichen Spaltungsprodukte des Thyreoglobulins enthält und starke Biuretreaction gibt) noch weiter kocht, sich kein weiterer Niederschlag mehr ausscheidet, trotzdem die Albumosen Jod enthalten. Ob man daraus schliessen darf, dass das Jod hier in anderer Bindung als im Jodothyris und in diesem wieder in anderer Bindung als im alkoholunlöslichen Theil des Niederschlags vorkommt, ist vorläufig nicht zu entscheiden.

#### D. Spaltung mit concentrirten Säuren.

Endlich wurde das Thyreoglobulin durch Kochen mit

concentrirter Salzsäure in seine Bestandtheile zerlegt. 5 gr. Thyreoglobulin wurden mit etwa der 10fachen Menge concentrirter Salzsäure unter Rückflusskühlung 5 Stunden auf dem Sandbade im Sieden erhalten. Nach dieser Zeit gab die Lösung die Biuretreaction nicht mehr. Durch Einengen auf dem Wasserbade wurde der grösste Theil der Salzsäure verjagt, sodann der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Phosphorwolframsäure versetzt, wobei ein starker Niederschlag entstand. Derselbe wurde abfiltrirt, mit schwefelsäurehaltigem Wasser so lange ausgewaschen, bis das Filtrat keine Chlorreaction mehr gab, alsdann in Wasser aufgenommen, gekocht, wobei sich ein Theil löste, und die Lösung heiss filtrirt. Beim Abkühlen schieden sich Krystalle aus, welche sich beim Veraschen als jodhaltig erwiesen. Die Menge des darin gefundenen Jods betrug jedoch nur höchstens einige Procente der in dem verarbeiteten Thyreoglobulin vorhandenen Jodmenge. Durch die Einwirkung der siedenden Salzsäure wurde der grösste Theil des Jods in Freiheit gesetzt, ähnlich wie bei der Zersetzung des Gorgonins durch kochende Salzsäure (Drechsel.<sup>1)</sup> Die Lösung des zersetzten Thyreoglobulins enthielt in der That viel Jod in Jodidform: freies Jod war darin nicht nachzuweisen.

Das vom Phosphorwolframsäureniederschlag getrennte Filtrat wurde bis zur bleibenden Alkalescenz mit Baryumhydroxyd versetzt, der gebildete Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat mit Schwefelsäure neutralisirt und das ausgeschiedene Baryumsulfat abfiltrirt.

Das klare Filtrat wurde mit Quecksilberacetatlösung im Ueberschuss versetzt. Es entstand ein weisser, flockiger Niederschlag, welcher abfiltrirt und darauf in Wasser aufgenommen wurde. Nachdem er durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zersetzt und der gebildete Niederschlag abfiltrirt worden war, wurde die Lösung bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit rauchender Salzsäure versetzt, dabei schieden sich Krystalle von salzsaurer Glutaminsäure aus.

---

<sup>1)</sup> Drechsel, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XV, Neue Folge, S. 90 (1895).

Die Quecksilberacetat enthaltende Lösung wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, der gebildete Niederschlag abfiltrirt, das Filtrat eingeengt, das überschüssige Baryum mit Schwefelsäure, die Salzsäure mit Silberoxyd entfernt und schliesslich die Lösung eingeengt. Dabei schied sich Tyrosin und Leucin aus, welche beide aus ammoniakalischem Alkohol unkrystallisirt wurden.

Wie bei der Trypsinverdauung konnte auch durch Zersetzung mit Salzsäure Tyrosin gewonnen werden, wonach, wie schon bemerkt, der Schluss berechtigt erscheint, dass das Jod nicht an die Tyrosingruppe gebunden ist. Die durch Spaltung mit Säuren sowohl, als mit Alkalien erhaltenen weiteren Produkte sind noch Gegenstand der Untersuchung.

Stellen wir uns zum Schluss noch die Frage, in welcher Beziehung die aus der Schilddrüse dargestellten Eiweisskörper zu dem von den Anatomen als Schilddrüsencolloid bezeichneten Körper stehen, so wird die Antwort folgende sein:

Der wirksame Körper der Schilddrüse, das Thyreoglobulin, enthält einzig und allein das Jod: der Gehalt der Schilddrüse an Jod steigt, wie früher schon festgestellt, <sup>1)</sup> mit deren Colloidreichthum, woraus sich ergibt, dass das Thyreoglobulin im Colloid enthalten ist. Nun musste noch ermittelt werden, ob ausserdem im Colloid noch der zweite aus der Schilddrüse gewonnene Eiweisskörper, das Nucleoproteid, vorhanden ist. Zu diesem Zweck wurde das Colloid aus in ca. 70%igem Alkohol gehärteten Schweinsschilddrüsen mechanisch isolirt und auf Phosphor untersucht. Die Probe fiel stark positiv aus. <sup>2)</sup> Das Colloid enthält also auch das Nucleoproteid. Wir sind somit berechtigt, zu erklären, dass der im anatomischen Sinne als Schilddrüsencolloid bezeichnete Körper ein Gemenge von Thyreoglobulin und Nucleoproteid darstellt.

1) Oswald, l. c.

2) Zum Ueberfluss wurde dieses Colloid noch auf Jod untersucht. Es erwies sich als jodhaltig.

Somit dürfte der Beweis, dass der von den Anatomen als Colloid bezeichnete Körper das wirksame Secret der Schilddrüse ist, bis zu Ende geführt sein. Da nun das Colloid erwiesenermassen (Langendorff,<sup>1)</sup> Biondi,<sup>2)</sup> und namentlich Hürthle<sup>3)</sup> durch die Lymphbahnen in den Kreislauf, also in den allgemeinen Stoffwechsel übergeht, so sind wir auch berechtigt anzunehmen, dass die Thyreoidea ein im Sinne der übrigen Drüsen thätiges Organ ist, nur mit dem Unterschied, dass sie ihr Secret, anstatt durch einen ad hoc vorhandenen Ausführungsgang, durch die Lymphbahnen abgibt.

Es liegt daher kein Grund vor zur Behauptung, dass der Einfluss, den die Schilddrüse auf den allgemeinen Stoffwechsel aussert, lediglich durch in der Drüse selbst sich abspielende Vorgänge (ihren intraglandulären Stoffwechsel) bedingt sei.

In einer demnächst folgenden Mittheilung soll über die Stellung des Jods in dem Thyreoglobulin sowohl, wie in dem künstlich jodirten Albumin, über die Zersetzungsprodukte der Jodeiweisskörper, des Thyreoglobulins und des Jodothyris ausführlicher die Rede sein. Dabei soll auch die Beziehung des aus der normalen Schilddrüse des Menschen gewonnenen Thyreoglobulins zu dem aus Kröpfen dargestellten Präparat erörtert werden.

Nachtrag bei der Correctur. Zur Ergänzung der oben mitgetheilten Versuche über die physiologische Wirksamkeit des Thyreoglobulins sei erwähnt, dass dasselbe auch in einem Falle von Myxoedem sich als wirksam erwiesen hat. Herr Privatdocent Dr. Magnus-Levy, welcher die einschlägigen Versuche angestellt hat, wird über dieselben seiner Zeit ausführlicher berichten.

---

1) Langendorff, Arch. f. Anat. u. Phys. 1889. Supplement. S. 219.

2) Biondi, Berl. Klin. Woch. 1888.

3) Hürthle, Pflüger's Arch. Bd. 56, S. 1.