

Ueber Antipepton.

Von

M. Siegfried.

Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.
Der Redaction zugegangen am 27. April 1899.

I. Mittheilung.

Als Antipepton haben Kühne und seine Schüler ein Produkt der Einwirkung des Trypsins auf Eiweiss bezeichnet, welches die Biuretreaction liefert und nicht durch Ammoniumsulfat aussalzbar ist. Als Spaltungsprodukt des Carniferrins habe ich eine Säure, die Fleischsäure¹⁾ erhalten, deren Verhalten fast vollständig mit dem von Kühne für das Antipepton angegebenen übereinstimmt, sodass ich beide für identisch oder für sehr wenig verschiedene Körper angesprochen habe. Hierbei wurden die von Kühne dargestellten Antipeptone in Uebereinstimmung mit Kühne als nicht vollständig reine Individuen angesehen, so u. A. der geringe Schwefelgehalt der Antipeptone als von Verunreinigungen herrührend betrachtet. Dass man gezwungen ist, das Antipepton für schwefelfrei zu halten, geht, um dies nochmals gegenüber gegentheiligen Anschauungen in der Litteratur hervorzuheben, schon aus dem Umstande hervor, dass das chemische und physiologische Verhalten des Antipeptons mit einem Molekulargewichte von über 6000, das sich aus dem von Kühne gefundenen Schwefelgehalte von 0,5% berechnet, nicht im Einklange steht. Wie ich weiter unten zeigen werde, lassen sich aus den Gemischen der Verdauungs-

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth., 1894, S. 401 und diese Zeitschrift, Bd. XXI, S. 376.

produkte Antipeptonpräparate darstellen, welche vollständig schwefelfrei sind.

Das Wesentliche meiner Ansichten über das Antipepton liegt darin, dass bei der pankreatischen Verdauung nur einfache Körper entstehen, nur solche, die in Bezug auf Grösse des Molekulargewichtes mit den bei der Spaltung der Eiweisskörper durch Salzsäure entstehenden Amidosäuren und Basen auf eine Stufe zu setzen sind. Das Antipepton widersteht hiernach deshalb der weiteren Zersetzung durch das Trypsin, weil es kein Eiweiss ist, auf das eiweissverdauende Enzyme einwirken könnten, und nicht etwa, weil es ein im Allgemeinen widerstandsfähiger Körper wäre. Dass die Biuretreaction nicht ein Grund ist für die eiweissähnliche Natur eines Körpers, hat inzwischen H. Schiff¹⁾ gezeigt. Die im Voit'schen Laboratorium von Ellinger²⁾ angestellten Versuche haben bewiesen, dass das Antipepton sich physiologisch nicht wie Albumosen, sondern wie Amidosäuren verhält.

P. Balke³⁾ hat nach Kühne's Vorschrift Antipepton aus Fibrin dargestellt, nach Kühne's Vorschrift mit Alkohol gereinigt und aus solchen Präparaten Salze dargestellt, deren Metallwerthe denen der Salze der Fleischsäure entsprechen. Vor Kurzem sind von Fr. Kutscher⁴⁾ zwei Mittheilungen über das Antipepton erschienen, welche darthun sollen, dass nach Kühne's und Balke's Vorschrift dargestellte Antipeptonpräparate Gemische heterogener Körper sind, dass sie Amidosäuren und Basen enthalten. Kutscher gibt in der zweiten Mittheilung an, wörtlich nach den Angaben Balke's zur Gewinnung des Antipeptons aus dem Verdauungsgemische verfahren zu sein, und identificirt sein Antipeptonpräparat mit dem Balke's, indem er das von ihm verwendete Antipepton Balke's Antipepton nennt. Bei dem von Balke benutzten Verfahren, das von dem Kühne's fast nicht verschieden ist, wird die vom Ammonsulfat durch Baryt befreite Lösung der

1) Ber. d. deutschen chem. Ges., Bd. XIX, S. 298.

2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXXIII, S. 190.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 248.

4) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 195 und Bd. XXVI, S. 110.

Amidosäuren, Basen und des Antipeptons nach Entfernung des Barytes durch Schwefelsäure eingedampft. Der dünne Syrup wird nach dem Erkalten mit absolutem Alkohol versetzt, bis eine stets entstehende Trübung beim Umrühren nicht mehr verschwindet. Das Filtrat wird unter gutem Umrühren in absoluten Alkohol fliessen gelassen. Zur weiteren Reinigung werden die so erhaltenen Präparate mit Alkohol ausgekocht, wieder in Wasser gelöst und mit absolutem Alkohol gefällt. Weiter unten werde ich über Versuche berichten, die ich vor dem Erscheinen der Mittheilungen Kutscher's angestellt habe, um zu prüfen, ob mit dieser Alkoholmethode constante Präparate erhalten werden können. Hier möchte ich betonen, dass man die angegebenen Vorschriften wohl wörtlich befolgen, aber doch wesentlich verschieden reine Präparate erhalten kann, da, wenn durch das Auskochen mit Alkohol, Lösen und Füllen, eine Entfernung der Amidosäuren und Basen erzielt wird, der Grad der Reinigung von der Dauer des Kochens, Menge des verwendeten Alkohols etc. abhängig sein muss. Dass die Präparate Kutscher's so stark verunreinigt waren, dass er aus ihnen so grosse Mengen Amidosäuren und Basen erhalten hat, lässt nicht verwundern, wenn man die Ausbeute, die Kutscher an Antipepton erhielt, berücksichtigt. 1400 gr. feuchtes, abgepresstes Fibrin lieferten etwas über 200 gr. Antipepton. 1400 gr. feuchtes, abgepresstes Fibrin enthalten etwa 300—350 gr. Trockensubstanz. Nach Entfernung der Albumosen durch dreimaliges Aussalzen mit Ammonsulfat, nach Entfernung des durch Alkohol ausgeschiedenen Niederschlages, der Substanzmengen, welche in dem zum Auskochen, Füllen und Umfällen verwendeten Alkohol bleiben, bei den unvermeidlichen Verlusten beim Arbeiten mit dem grossen Barytniederschlage erhält Kutscher etwa zwei Drittel des angewandten Fibrins an Antipepton. Selbst wenn in den aus 200 gr. Trockenpankreas dargestellten salicylsauren Extracten noch 100 gr. Eiweisssubstanz enthalten wären, wäre die Ausbeute von 200 gr. Antipepton, das nur eins von den vielen bei der Zertrümmerung des Eiweissmoleküls durch die tryptische Verdauung entstehenden Produkten ist, Beweis genug, dass

dieses Antipepton sehr stark mit Amidosäuren und Basen verunreinigt war.

I. Versuche zur Darstellung eines Antipeptons von constanter Zusammensetzung durch Reinigung des Rohantipeptons mit Alkohol.

Bei diesen Versuchen habe ich die Vorschriften Kühne's in mehreren Punkten verlassen. Es sollte versucht werden, Produkte von constanter Zusammensetzung möglichst aschefrei und schwefelarm zu erhalten. Zur Ferubhaltung der Aschebestandtheile wurde an Stelle des Natriumcarbonates Barythydrat verwendet. Da durch das zum Aussalzen der Albumosen verwendete Ammonsulfat bei dessen Entfernung durch Barythydrat eine stark ammoniakalische Lösung erhalten wird, resultirt zunächst das Ammoniumsulfat des Antipeptons, dessen Zersetzung unter Bildung der freien Säure auf dem Wasserbade nur unvollkommen geschieht. Deshalb habe ich auch versucht, in einem nur wenig Albumosen enthaltenden Verdauungsgemische die Albumosen durch abwechselndes Ausfällen bezw. Auskochen mit Alkohol ohne Verwendung von Ammonsulfat zu beseitigen.

Versuch I. 11 kgr. gut ausgewaschenes, ausgepresstes, feuchtes Fibrin in 2 grossen, je 16 Liter fassenden Kolben mit Barytlösung (6 cem. kalt gesättigter Barytlösung auf 100 cem. Wasser) gedeckt. Dazu wurde eine Lösung gegeben, die durch Digeriren von 30 gr. Pankreatinum absolutum E. Merck mit Wasser, Versetzen mit Barytlösung und Filtriren (das Filter wog lufttrocken 10 gr.) dargestellt war. Zur Verhütung von Fäulniss wurde Chloroform und Thymol hinzugefügt. Nach 14 tägiger Digestion bei nur wenig unter 40° schwankender Temperatur wurde filtrirt, das Filtrat nach Ansäuern mit Schwefelsäure aufgeköcht, filtrirt und das Filtrat eingedampft. Nach mehrtägigem Stehen hatte sich eine starke Krystallisation gebildet, von welcher abgesaugt wurde. Aus dem krystallinischen Filter wurde durch Auspressen noch eine weitere Menge des Filtrates gewonnen. Das vereinigte Filtrat wurde mit der doppelten Menge Wasser verdünnt und mit Ammonsulfat bei

ammoniakalischer, neutraler und saurer Reaction gesättigt. Das Filtrat wurde mit Baryt und Kohlensäure behandelt. Die von Ammonsulfat und Baryt freie Flüssigkeit wurde eingeengt und mit Alkohol versetzt. Nach 16 Stunden liessen sich 2 Schichten trennen, ausserdem waren Krystalle (2. Krystallisation) abgeschieden. Um eine möglichst intensive Reinigung durch Alkohol zu erzielen, wurde nicht mit Alkohol ausgekocht, sondern stets die Lösung des Rohantipeptons in siedenden 96°-igen Alkohol tropfen gelassen. So wurde die wässerige Schicht in die 4—5fache Menge siedenden Alkohols tropfen gelassen; der von dem schmierigen Bodensatz (gereinigtes Antipepton I) abgossene Alkohol schied beim Abkühlen Krystalle aus und hinterliess beim Eindunsten einen krystallinischen Rückstand. Das gereinigte Antipepton I wurde mit Wasser von 40° übergossen, von Krystallen abfiltrirt und die Lösung wieder tropfenweise in kochenden Alkohol gegeben. Das so erhaltene gereinigte Antipepton II wurde in Wasser gelöst, die Lösung in viel absoluten Alkohol eingerührt, abgesaugt, mit Alkohol und Aether gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet.

3.0284 gr. 48 Stunden bei 105° getrocknete Substanz gaben nach dem Verschmelzen mit Aetznatron und Salpeter, Eindampfen der Lösung der Schmelze mit Salzsäure etc. 0.0312 gr. $\text{BaSO}_4 = 0.14\% \text{ S}$.

Aus einem Theil wurde durch Kochen mit Zinkcarbonat das Zinksalz dargestellt.

0.2860 gr. bei 100° getrocknetes Zinksalz gaben 0.0282 gr. $\text{ZnO} = 7.91\% \text{ Zn}$.

Der noch übrige Theil des über Schwefelsäure getrockneten gereinigten Antipeptons II (175 gr.) wurde in 30 ccm. Wasser gelöst. Diese Lösung wurde in 500 ccm. siedenden, 96°-igen Alkohols eingetropt und dabei nach je 16 ccm. Lösung 90 ccm. absoluten Alkohols dazugegeben. Der Alkohol hinterliess beim Eindunsten einen schmierigen, keine Krystalle einschliessenden Rückstand. Auch das so gereinigte Antipepton enthielt noch Schwefel. Es gab mit sehr empfindlichem Millon'schen Reagens keine Roth-, sondern nur eine Braunfärbung.

Versuch II. 9.3 kgr. ausgepresstes feuchtes Fibrin wurden mit Barytlösung und E. Merck'schem Pankreatin wie in Versuch I 4 Wochen verdaut. Dann wurde filtrirt, das Fil-

trat mit Schwefelsäure schwach angesäuert, aufgeköcht, filtrirt. In dieser Lösung erzeugte Barytwasser noch eine Fällung von Baryumphosphat, weshalb mit Barytwasser ausgefällt und im Filtrate vom Barytniederschlag das Baryum durch Schwefelsäure genau entfernt wurde. Die zum dünnen Syrup eingedampfte Lösung schied krystallinische Produkte aus, von denen abfiltrirt wurde. Die Lösung enthielt nur sehr wenig Albumosen. Zur weiteren Reinigung wurden von der Lösung je 400 ccm. in 1 Liter siedenden Alkohols getropft, unter allmählichem Zusatz eines weiteren Liters Alkohols. Nach zweistündigem Sieden der Mischung wurde der Alkohol abgegossen und die ausgeschiedene Masse (gereinigtes Antipepton I) zu 1 Liter Flüssigkeit in Wasser gelöst und, wie oben beschrieben, in 3 Liter kochenden Alkohols unter Zusatz von weiteren 3 Liter Alkohol gegeben. Das so erhaltene gereinigte Antipepton II wurde noch dreimal, wie angegeben, in Wasser gelöst und in siedenden Alkohol eingetragen. Die Mischung wurde in jedem Falle noch 7 Stunden im Sieden gehalten. Das so gewonnene gereinigte Antipepton V enthielt keine Albumosen und verhielt sich folgendermassen: Es gab sehr intensive Biuretreaction, keine Millon'sche Reaction, nur eine hellbraune Färbung mit sehr empfindlichem Reagens. Sublimat erzeugte keinen Niederschlag, wohl aber Mercurinitrat. Es schmeckte nicht bitter, sondern säuerlich und färbte Lackmus intensiv roth.

Ein Theil wurde mit Zinkoxyd gekocht, das Filtrat mit Alkohol gefällt. Das so erhaltene Zinksalz gab folgende Werthe:

$$\begin{aligned} \text{I. } 0,2442 \text{ gr. bei } 100^\circ \text{ getrocknete Substanz gaben } 0,0313 \text{ gr. ZnO} \\ = 10,28\% \text{ Zn.} \end{aligned}$$

Der Rest des Salzes wurde in Wasser gelöst und wieder mit Alkohol gefällt.

$$\text{II. } 0,1683 \text{ gr. der umgefällten Substanz gaben } 0,0215 \text{ gr. ZnO} = 10,24\%$$

Das mit Alkohol flockig gefällte und über Schwefelsäure getrocknete Antipepton enthielt nur wenig Asche,

$$1,2935 \text{ gr. Substanz gaben } 0,0042 \text{ gr. Asche} = 0,33\%$$

Dieselbe bestand ganz oder vorwiegend aus Kalk. Die Lösung des Antipeptons wurde mit einigen Tropfen Oxalsäure

versetzt, nach längerem Stehen von einem geringen Bodensatz klar abgossen und mit Alkohol gefällt.

2.3277 gr. der bei 100° getrockneten Substanz hinterliessen 0.0024 gr. Asche = 0.103%.

Auch jetzt gab die Asche deutliche Kalkreaction. Trotz des geringen Aschegehaltes besass das Präparat noch einen ziemlichen Schwefelgehalt.

2.3749 gr. Substanz gaben 0.1035 gr. BaSO_4 = 0.61% S.

Ein Theil des nochmals mit Alkohol umgefällten Antipeptons wurde in Wasser gelöst und mit Zinkoxyd gekocht.

0.5733 gr. Substanz gaben 0.0684 gr. ZnO = 9.87% Zn.

Durch eine oft wiederholte Alkoholreinigung konnte also ein Antipepton von sehr geringem Aschegehalt und in Versuch I von sehr geringem Schwefelgehalt gewonnen werden. Die so dargestellten Präparate lieferten Zinksalze, deren Zinkgehalt dem für fleischsaures Zink berechneten nahe kommt. Bei der Darstellung dieser Salze macht sich der Uebelstand geltend, dass auch bei Ausschliessung von Ammonsulfat das Antipepton zum Theil als Ammonsalz vorliegt, so dass zwar die wässerige Lösung Zinkcarbonat unter Aufbrausen auflöst, aber bei längerem Kochen unter Ammoniakentwicklung mehr auflöst. Dass dieses Antipepton zum Theil aus einem Ammoniaksalze bestand, ergibt sich daraus, dass verdünntes Barytwasser in der Kälte sofort Ammoniak entwickelt. Balke hatte mit denselben Schwierigkeiten zu kämpfen, er musste das Antipepton längere Zeit auf 90° erwärmen, um das Ammoniak zu entfernen. Ich habe die Versuche, durch Alkoholreinigung zu reinen Produkten zu gelangen, aufgegeben, da das (unreine) Antipepton sich bei sehr andauerndem Kochen mit Wasser unter fortwährender Ammoniakabspaltung zersetzt und es mir vorläufig unkontrollirbar erscheint, ob diese Zersetzung durch das (hypothetische) reine Antipepton oder durch Verunreinigungen hervorgerufen wird. Eine solche Zersetzung kann auch bei der langdauernden Alkoholreinigung stattfinden.

II. Versuche zur Reindarstellung des Antipeptons durch Fallen von Eisenverbindungen in ammoniumsulfatgesättigten Lösungen.

Eine mit Kochsalz oder mit Ammonsulfat gesättigte Lösung von Rohantipepton oder von anhaltend mit Alkohol gereinigtem Antipepton gibt auf Zusatz von Ferrisalzlösungen, welche mit Kochsalz bezw. mit Ammonsulfat gesättigt sind, fast sofort einen voluminösen Niederschlag, der unter Umständen die ganze Lösung erstarren lässt.

Versuch I. Von dem oben (S. 340) beschriebenen, gereinigten Antipepton V wurde die wässrige Lösung mit Ammonsulfat unter Zusatz von einigen Tropfen Schwefelsäure heiss gesättigt, andern Tages abgesaugt und das Filtrat mit einer mit Ammonsulfat gesättigten Lösung von Eisenammoniakalaun versetzt. Der Niederschlag wurde nach mehreren Stunden abgesaugt, bis zum Verschwinden der Ferrireaction mit gesättigter Ammonsulfatlösung ausgewaschen, in Wasser suspendirt, mit Ammoniak vorübergehend gelöst und mit Barythydrat bis zur Ausfällung der Schwefelsäure versetzt. Aus dem Filtrate wurden die geringen Mengen überschüssigen Barytes durch Kohlensäure entfernt, das Filtrat vom Baryumcarbonat eingedampft. Der Rückstand war bei Weitem nicht so hygroskopisch, als die nur mit Alkohol gereinigten Antipeptonpräparate. Die wässrige Lösung des Rückstandes

- 1) reagirte sehr stark sauer;
- 2) gab sehr intensive Biuretreaction;
- 3) Millon's Reagens erzeugte eine weisse Fällung, die beim Kochen nicht roth, sondern nur hellbraun wurde;
- 4) Bleiessig gab in verdünnten Lösungen keinen, in concentrirten einen weissen, im Ueberschusse des Fällungsmittels löslichen Niederschlag;
- 5) Essigsäure und Ferrocyankalium riefen auch keine Trübung hervor;
- 6) Wenige Tropfen Pikrinsäure gaben keine Reaction; Zusatz von mehr Säure erzeugte eine Trübung, die beim Erwärmen verschwand, um beim Abkühlen wieder aufzutreten;

- 7) Gerbsäure und Essigsäure fällten einen Niederschlag.
- 8) Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure fällten nur in concentrirten Lösungen einen flockigen Niederschlag.
- 9) Sublimat gab eine schwache Trübung, allmählich Ausscheidung von Flocken:
- 10) Beim Kochen mit alkalischer Bleilösung entstand eine Braunfärbung.

Ein Theil wurde mit einem kleinen Ueberschusse mit Barythydrat auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Kohlensäure gesättigt, gekocht, filtrirt und eingedampft. Das Barytsalz löste sich klar in Wasser, reagierte stark alkalisch, die Lösung wurde nicht durch Kohlensäure getrübt.

0.3176 gr. bei 100° getrockneter Substanz gaben 0.1192 gr. BaSO_4
= 22.06% Ba.

Aus dem Barytsalze wurde durch Zinksulfat das Zinksalz dargestellt.

0.1736 gr. Substanz gaben 0.0280 gr. ZnO = 12.9% Zn.

Für das Barytsalz der Fleischsäure berechnet sich Ba = 21.44% o, für das Zinksalz 11.26% o Zn. Wie ich weiter unten zeigen werde, bietet diese Methode der Eisenfällung in Verbindung mit der Alkoholmethode keine Sicherheit für die Reinheit des Produktes, immerhin ist es bemerkenswerth, dass sie ein Produkt von der ausgesprochenen Natur einer Säure liefert, welche Zink und Barytsalz von Metallwerthen, die denen der betreffenden Salze der Fleischsäure nahe kommen, geben. Da hier ein der langdauernden Alkoholbehandlung unterworfenen Präparat verwendet war, ist eine hierbei eingetretene Ammoniak-
abspaltung, wie oben ausgeführt, nicht ausgeschlossen.

Die Resultate, welche nach der Eisenmethode mit dem sorgfältig mit Alkohol gereinigten Antipeptonpräparate erhalten waren, ermuthigten, die Methode auf ihre Anwendung bei Rohantipepton zu prüfen. Zunächst fragte es sich, ob hierbei die Amidosäuren mit gefällt werden. Mit Asparaginsäure und Glutaminsäure lassen sich durch Eisenammoniakalaun in wässriger Lösung ebenfalls Niederschläge erzielen, dieselben lösen sich jedoch beim Zusatz von krystallisirtem Ammonsulfat auf. Die Lösung der Zersetzungsprodukte von 1 gr. Albumose durch

Salzsäure gab nach Sättigen mit Ammonsulfat bei schwach saurer Reaction auf Zusatz von ammoniumsulfatgesättigter Ferriammoniakalaunlösung keine Trübung. Erst andern Tages hatte sich eine Spur eines Niederschlages abgesetzt. Hingegen lieferte die Lösung der Zersetzungsprodukte von 100 gr. Casein durch Salzsäure unter denselben Umständen schon nach einiger Zeit eine Trübung, bei längerem Stehen einen Niederschlag. Derselbe war im Verhältniss zur Menge der einzelnen bekannten Spaltungsprodukte der Proteinkörper gering, aber bedeutend genug, um als eventuelle Verunreinigung des Antipeptonniederschlages in Betracht zu kommen. Nach der Entfernung des Eisens resultirt die Lösung einer oder mehrerer stickstoffhaltiger Substanzen, welche keine Biuretreaction geben. Ein ähnliches Produkt wurde aus Rohantipepton gewonnen. Der in ammoniumsulfatgesättigter Lösung gefällte Eisenniederschlag wurde anhaltend mit Wasser ausgekocht. Der Rückstand gab nach Zersetzung mit Ammoniak etc. einen Syrup, dessen Lösung keine Biuretreaction lieferte. Da diese Substanzen auch zum Theil in Wasser lösliche Eisenniederschläge bilden, ist eine Trennung durch Auskochen der Niederschläge nicht zu erzielen. Ich habe in dieser Richtung eine Anzahl Versuche ausgeführt. Die aus verschiedenen Rohantipeptonen dargestellten Eisenniederschläge wurden mit Wasser ausgekocht, die wässerigen Lösungen mit Ammoniak und Barythydrat behandelt, die Lösung der Säuren in verschiedenster Weise, bei saurer, neutraler, schwach ammoniakalischer Reaction, in wässriger und verdünnt alkoholischer Lösung mit Silbernitrat fractionirt gefällt. In den Silbersalzen wurde Ag, N, C und H bestimmt. Die Analysen der zahlreichen Silberfractionen und der aus den Silberanalysen dargestellten Säuren gaben theilweise sehr abweichende Werthe und zeigten deutlich, dass neben einer weniger Kohlenstoff als Eiweiss enthaltenden Substanz eine kohlenstoffreichere in die Eisenniederschläge geht. Nach meiner, vorläufig noch nicht fest begründeten Ansicht, enthalten die Eisenniederschläge, welche in ammoniumsulfatgesättigter Lösung gefällt werden, nicht die bekannten Basen und Amidosäuren, welche bei der pankreatischen Verdauung und Spaltung der Eiweisskörper durch Salzsäure entstehen. Wohl aber werden durch diese Reaction mehrere Körper, die

sich in der elementarischen Zusammensetzung dem Eiweiss nähern, gefällt. So lässt sich aus dem phosphatfreigemachten, mit Ammonsulfat gesättigten Harn ein starker Niederschlag mit ammoniumsulfatgesättigter Eisenammoniakalaunlösung fällen, aus dem eine oder mehrere Substanzen von Säurecharakter, die durch Mercurinitrat fällbar sind und keine Biuretreaction geben, erhalten werden. Die Untersuchung dieser Substanzen ist im hiesigen Laboratorium begonnen. Möglicher Weise gehören sie zur Classe der Uroprotsäure Cloetta's und Oxyproteinsäure Gottlieb's¹⁾ und Bondzynski's.²⁾

Nachdem die Versuche durch fractionirte Silberfällungen zu Produkten von constanter Zusammensetzung nicht zum Ziele führten, wurde Mercurinitrat als Trennungsmittel angewendet. Aus den in ammoniumsulfatgesättigter Lösung erhaltenen Eisenniederschlägen wurde das Säuregemenge dargestellt und die Lösung dieses mit Mercurinitrat ausgefällt. Die Quecksilberniederschläge wurden mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Filtrate vom Schwefelquecksilber nach Verjagen des Schwefelwasserstoffes durch Luft mit Ammoniak neutralisirt, eingeeengt, wieder die stark saure Flüssigkeit mit Am-

Anmerkung. Zur Zeit, als die Mittheilungen Cloetta's und Bondzynski's und Gottlieb's über die Uroprotsäure und Oxyproteinsäure erschienen, war ich mit Herrn C. Störmer bemüht, aus dem im phosphatfrei gemachten Harn durch Eisenchlorid entstehenden Niederschlag, der schon von Salkowski (Pflüger's Archiv Bd. 2 S. 351 und Bd. 16 S. 306; Landwehr und Thudichum (Pflüger's Archiv Bd. 15 S. 455) untersucht worden ist, Substanzen von constanter Zusammensetzung zu isoliren. Das aus diesem Niederschlag erhaltene Substanzgemenge ist schwefelhaltig, der Eisenniederschlag enthält etwa 10% des Neutralschwefels des Harnes. Aus dem Substanzgemenge wurde durch fractionirte Fällung eine Reihe von Silbersalzen erhalten, die sich namentlich durch den Schwefelgehalt wesentlich unterscheiden. Die aus den Silbersalzen dargestellten Säuren ähnelten im Verhalten und Zusammensetzung sehr der Uroprotsäure und Oxyproteinsäure. Es findet sich unter ihnen eine sehr schwefelreiche Substanz, da ein Silbersalz mit 50% Silbergehalt 3.23% Schwefel enthielt. Die Versuche zur Trennung dieser Säuren sollen jetzt unter Anwendung der Fällung in ammoniumsulfatgesättigter Lösung wieder aufgenommen werden.

¹⁾ Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac., Bd. XXX, S. 29.

²⁾ Centralblatt f. med. Wissensch., Bd. XXXV, S. 576.

moniak neutralisirt und mit Silbernitrat gefällt. Auch hier wurde sowohl die Quecksilberfällung als auch die Silberfällung in mehreren Versuchen fractionirt durchgeführt. Die Analysen der Silbersalze, der aus diesen dargestellten Säuren und Zinksalze lieferten zwar in einigen Fällen Werthe, welche mit denen für Fleischsäure und ihre Salze berechneten nahe übereinstimmten. Dieselben besitzen aber vorläufig keine Beweiskraft, da bei Parallelversuchen mit anderen Rohantipepton-Präparaten andere Resultate erhalten wurden. Die erhaltenen Antipepton-Präparate waren aschefrei, gaben starke Biuret-reaction und enthielten vor der Behandlung mit Schwefelwasserstoff mit Ausnahme eines, das ganz schwefelfrei war, geringe Mengen Schwefel. Nach der Behandlung mit Schwefelwasserstoff war stets Schwefel nachweisbar. Beim Nachweis bzw. bei der Bestimmung des Schwefels wurde stets die Lösung der Schmelze mit Salzsäure wiederholt auf dem Wasserbade eingedampft. In dem einen Falle entstand dann in der Lösung der Schmelze durch Chlorbaryum auch beim langen Stehen kein Niederschlag. Hier fiel auch die Trockenprobe, welche trotz ihrer Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit nur wenig angewendet zu werden scheint, negativ aus.

Die Schwefel-Trockenprobe beruht bekanntlich darauf, dass schwefelhaltige organische Körper beim Verkohlen Schwefelwasserstoff entwickeln. Im Glühröhrchen wird eine sehr geringe Menge Substanz verkohlt, bei Gegenwart von Schwefel wird ein schmaler, zugespitzter, mit Bleiacetat benetzter Streifen Filterpapier geschwärzt bzw. gebräunt. Diese Probe zeigt den Schwefel keineswegs nur in solchen Substanzen an, welche beim Kochen mit alkalischer Bleilösung Schwefelblei bilden, sondern z. B. bei minimalen Mengen Oxyprotosulfonsäure, welche keinen bleischwärenden Schwefel enthält. Um einen Begriff von der Empfindlichkeit der Probe zu erhalten, habe ich auf einer Wage, die auf 0,01 mgr. empfindlich ist, von Witte's Pepton, das 0,93% S. enthielt, in einem Glühröhrchen 0,0012 gr., in einem anderen 0,0004 gr. abgewogen. Beide Proben färbten beim Verkohlen den Papierstreifen intensiv schwarz. Ferner wurden 2 gr. völlig schwefelfreier Stärke mit 0,1 gr. desselben Witte-Peptons sorgfältigst verrieben und gut durchschüttelt.

Von dieser Mischung lieferten 0,0011 gr. noch eine sehr deutliche Reaction. Es konnten also 0,0000005 gr. S. durch die Trockenprobe erkannt werden. Eine Täuschung bei dieser Probe ist höchstens dann möglich, wenn grössere Mengen Substanz benutzt werden, weil dann unter Umständen braune Destillationsprodukte, wie beim Zucker, den Papierstreifen bräunen.

Aus dem oben Mitgetheilten geht hervor, dass bei der tryptischen Verdauung aus dem Eiweiss ein Antipepton entsteht, welches durch Ammonsulfat nicht aussalzbar ist, eine starke Biuretreaction, nicht die Millon'sche gibt und schwefelfrei ist. Dasselbe ist bei Weitem nicht so hygroskopisch, als die nur mit der Alkoholmethode gereinigten Antipepton-Präparate. Es ist wahrscheinlich, dass das Antipepton den ausgeprägten Charakter einer Säure von derselben oder sehr ähnlichen Zusammensetzung wie die Fleischsäure besitzt.

Die weiteren Versuche zur Isolirung dieser Säure haben vorläufig ergeben, dass der Mercurinitratniederschlag, der aus der Eisenfällung in ammoniumsulfatgesättigter Lösung aus nicht anhaltend mit Alkohol gereinigtem Rohprodukt gewonnen wird, von gesättigter bezw. halbgesättigter Ammonsulfatlösung zum Theil gelöst wird. Die Analysen der Silbersalze zeigen, dass der ungelöste Theil relativ kohlenstoffreicher und stickstoffärmer als das aus dem Eisenniederschlage resultirende Gemenge ist.

Die mitgetheilten Methoden werden im hiesigen Laboratorium nach verschiedenen Richtungen angewandt, zur Untersuchung thierischer Flüssigkeiten und Extracte, sowie zum Studium der Zusammensetzung des bei der Pepsinverdauung entstehenden Amphopeptons. Die von Herrn Mühle begonnene Untersuchung hat bisher ergeben, dass das Amphopepton ein Gemenge mehrerer Substanzen ist, was mit den von Ueber¹⁾ aus dem Hofmeister'schen Laboratorium mitgetheilten Beobachtungen im Einklange steht.

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. XV S. 258.