

Zur Kenntniss der peptischen Spaltungsprodukte des Fibrins.

I. Theil.

Von

Dr. Ernst P. Pick.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 23.)

(Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft,
Kunst und Litteratur in Böhmen.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Juli 1899.)

Wie ich vor etwa zwei Jahren mitgetheilt habe, lassen sich aus Witte-Pepton durch Fällung mit Ammonsulfat vier verschiedene Albumosenfractionen isoliren.¹⁾ Aus dem mit Salz nicht mehr fällbaren Antheil gelang dann durch Fällung als Perjodid und Trennung mittelst Alkohols noch die Darstellung von zwei «Peptonen». Diese sechs Fractionen, die sich durch ihr reactionelles Verhalten als verschiedene Bruchstücke des Fibrinmoleküls erwiesen, konnten in weiteren Arbeiten von Umber²⁾ und Alexander³⁾ auch bei der Pepsinverdauung

1) Das von Hofmeister herrührende Verfahren der fractionirten Salzfällung (vergl. Kauder, Archiv für experim. Patholog. u. Pharmak., Bd. 20, S. 415, 1886) ist auf Albumosengemenge zuerst von J. Pohl in Hofmeister's Laboratorium angewandt und gelegentlich kurz beschrieben worden (J. Pohl, Bemerkungen über künstlich dargestellte Eiweissnucleine (Hemialbumosennucleine). Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XIII, S. 294, 1889). Pohl unterschied drei Fractionen, von denen die erste (A) nach meinen Erfahrungen die Gesamtmenge der Proto- und Heteroalbumose und meine Deuteroalbumose A enthalten haben dürfte, während seine B- und C-Fraction meiner Deuteroalbumose B und C entsprechen.

2) F. Umber, Die Spaltung des krystallinischen Eier- und Serumalbumins, sowie des Serunglobulins durch Pepsinverdauung. Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XXV, S. 258.

3) F. Alexander, Zur Kenntniss des Caseins und seiner peptischen Spaltungsprodukte. Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XXV, S. 411.

anderer Eiweisskörper, insbesondere auch solcher, welche durch die Möglichkeit ihrer Krystallisation ein einwandfreies Ausgangsmaterial boten, in gleicher Weise nachgewiesen werden. Neuerdings konnte Zunz¹⁾ durch Fractionirung mit Zinksulfat aus den peptischen Verdauungsprodukten verschiedener Eiweisskörper ebenfalls die gleichen Fractionen gewinnen. Auch bei der Einwirkung verdünnter Säuren auf Serum- und Eieralbumin (Goldschmidt)²⁾ und bei der Oxydation von Hühnereiweiss mit Kaliumpermanganat (Bernert)³⁾ konnte das Auftreten der gleichen Albumosenfractionen sichergestellt werden. Auf Grund dieser Thatsachen schien es für den weiteren Einblick in den Bau der Eiweisskörper zunächst wünschenswerth, neben der genaueren chemischen Charakteristik dieser Fractionen ihren näheren genetischen Zusammenhang festzustellen. Bei der Bearbeitung dieser Aufgabe, bei der ich mich der werthvollen Rathschläge Prof. Hofmeister's zu erfreuen hatte, erwies es sich wegen der stets anwachsenden Zahl der zu berücksichtigenden Körper als zweckmässig, eine Fraction nach der anderen vorzunehmen. Dabei kamen vor Allem naturgemäss die nach den bisherigen Erfahrungen dem intacten Molekül am nächsten stehenden Produkte — die «primären» Albumosen⁴⁾ — zunächst an die Reihe.

Die Arbeiten der Kühne'schen Schule,⁵⁾ vor allem die

1) E. Zunz, Die fractionirte Abscheidung der peptischen Verdauungsprodukte mittelst Zinksulfat. Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XXVII, S. 219.

2) F. Goldschmidt, Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Inaugural-Dissertation, Strassburg i. Els., 1898.

3) R. Bernert, Ueber Oxydation von Eiweiss mit Kaliumpermanganat. Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XXVI, S. 272.

4) Wie Zunz (vergl. diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 132) und ich (s. unten) auf verschiedenem Wege gefunden haben, sind die «primären» Albumosen jedenfalls nicht die einzigen primären Produkte der peptischen Eiweisspaltung. Ich will daher die Bezeichnung «primär» dort, wo sie conventionell das Gemenge von Proto- und Heteroalbumose bedeuten soll, stets durch Anführungszeichen kenntlich machen.

5) Siehe die Litteraturangabe in der früheren Publication. Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. XXIV, S. 246.

Untersuchungen von Neumeister, stellen die «primären» Albumosen (neben dem bei der peptischen Verdauung kaum in Betracht kommenden Antialbumid) als Muttersubstanzen aller weiteren peptischen Verdauungsprodukte hin. Entsprechend dieser allgemein getheilten Vorstellung war daher zu erwarten, dass die peptische Spaltung gerade dieser sogenannten «primären» Albumosen werthvolle Aufschlüsse in der gewünschten Richtung bieten würde, zumal die Vermuthung nahe lag, dass die Proto- und Heteroalbumose, trotz sonstiger Aehnlichkeit, nicht bloss in ihrem physikalischen Verhalten, wie es bei der Dialyse hervortritt, sondern auch in ihrer chemischen Constitution Unterschiede aufweisen dürften, welche sich folgerichtig auch in den Beziehungen zu den übrigen Fractionen ausprägen müssten.

Ich habe mich daher in der vorliegenden Mittheilung ausschliesslich auf die «primären» Albumosen beschränkt, wobei in erster Linie die systematische Ausarbeitung einer geeigneten Trennungsmethode in Betracht kam, in zweiter Linie die möglichst gute Charakterisirung der isolirten Körper.

I. Trennung der Hetero- und Protoalbumose.

Kühne und Chittenden¹⁾ gründen die Trennung der beiden «primären» Albumosen auf die Eigenschaft der Heteroalbumose in salzfreiem Wasser unlöslich zu sein, so dass dieselbe aus einem mittelst Salz niedergeschlagenen Gemenge der beiden Körper durch Dialyse ausfällt. Sie verfahren in der Weise, dass das aus einer neutralisirten Verdauungslösung nach Sättigung mit Kochsalz abgeschiedene Albumosengemenge nach wiederholtem Fällen und Lösen der Dialyse unterworfen wird. Dabei scheidet sich die Heteroalbumose zum Theil in Klumpen, zum Theil gummiartig ab. Die weitere Reinigung kann nach Kühne's und Chittenden's Angaben entweder direkt durch Lösen in salzhaltigem Wasser, oder erst nach abermaligem Ausfällen mit Steinsalz durch Dialyse erfolgen; das letztere

¹⁾ Kühne und Chittenden, Ueber Albumosen. Zeitschrift für Biologie, N. F. Bd. 2, S. 16 u. ff., S. 32 u. ff., 1884.

Vorgehen ist jedoch wegen grosser Verluste nicht zu empfehlen. Die bei der Dialyse in Lösung gebliebene Protoalbumose wird nach Abfiltriren der Heteroalbumose neuerdings ausgesalzen und der Dialyse unterworfen.

Diese Methode, die bisher allein die Möglichkeit bot, die beiden Albumosen zu trennen, erwies sich in der Folge nicht als ganz zuverlässig; denn bereits die Fällung mit Kochsalz in neutraler Lösung ist, wie früher gezeigt wurde,¹⁾ im Stande, neben den beiden «primären» andere Albumosen mitzureissen, andererseits aber vermag sie nicht eine völlige Abscheidung der Protoalbumose herbeizuführen, so dass nach dieser Richtung hin keine Isolirung möglich ist. Aber auch die Trennung der beiden Produkte von einander lässt zu wünschen übrig. Bereits Neumeister²⁾ musste bei seinen Verdauungsversuchen die Erfahrung machen, dass die Löslichkeit der Heteroalbumose in kaltem, salzfreiem Wasser grösser ist, als man vorher angenommen hatte, und dass «concentrirtere Lösungen von Protoalbumose auch bei vollständiger Abwesenheit von Salz noch deutliche Mengen von Heteroalbumose aufzunehmen vermögen, wenn man dieselben stark erwärmt». «Die Flüssigkeit scheidet die einmal gelöste Heteroalbumose nicht wieder ab». Der Unmöglichkeit einer vollständigen Trennung schreibt er den Umstand zu, dass in der Protoalbumose stets Spuren der «Antigruppe» nachzuweisen sind. Machte sich also schon in Folge der Gefahr der Verunreinigung der Protoalbumose durch die Heteroalbumose der Wunsch nach einer besseren Trennungsmethode geltend, so drängte sich auch noch das Bedenken auf, die Heteroalbumose möchte vermöge ihrer Eigenschaft, sich in Form von festen Klumpen und schmierigen Belägen bei der Dialyse abzuscheiden, Theile der löslichen Protoalbumose eingeschlossen zurückhalten. Endlich zeigte es sich, dass, wenn man statt Kochsalz Ammonsulfatlösungen zur Abscheidung der «primären» Albumosen benützte, wegen der viel geringeren

1) E. P. Pick, a. a. O., S. 272.

2) Neumeister, Bemerkungen zur Chemie der Albumosen und Peptone. Zeitschrift für Biologie, N. F. Bd. 5, S. 292, 1887.

Diffusionsgeschwindigkeit dieses Salzes die entsprechend längere Dauer der Dialyse empfindliche Verluste an Heteroalbumose durch Uebergang in unlösliche Dysalbumose veranlasste; dazu gesellte sich noch der Umstand, dass für die Weiterbearbeitung geringerer Quantitäten auch die Art der Abscheidung der Heteroalbumose an den Flächen des Pergamentschlauches in Form eines zarten, allenthalben ausgebreiteten Belages wegen Verlusten beim Sammeln desselben wenig zweckdienlich war.

Von neueren Arbeiten verdienen jene Schrötter's¹⁾ besondere Aufmerksamkeit; derselbe hat in mehreren Untersuchungen die nähere Charakterisirung von Albumosen mittelst der Erzeugung von Chlorhydraten, Acetyl- und Benzoylderivaten versucht, ohne aber im Uebrigen von dieser so durchgeführten Trennung, trotz der durch die Anwendung dieser Methoden unleugbar erzielten Fortschritte, befriedigt worden zu sein. Hier soll lediglich auf ein von ihm aus dem Witte-Pepton isolirtes Produkt hingewiesen werden, das nach der Ansicht des Autors der Kühne'schen Protoalbumose am nächsten stehen soll, und dessen Löslichkeit in Alkohol besonders hervorgehoben zu werden verdient. Schrötter erwärmte das mit starkem Methylalkohol extrahirte Witte-Pepton mit Zink und Schwefelsäure und erhielt bei weiterer Verarbeitung eine gelbliche, hygroskopische Masse, aus deren in der Wärme hergestellten methylalkoholischen Auszügen eine Albumose erhalten wurde,

1) H. Schrötter, Beiträge z. Kenntniss der Albumosen. Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Classe der Kaiserl. Akad. der Wissensch. Jahrg. 1893, C II, Abth. II b, S. 633.

Derselbe, Beiträge z. Kenntniss d. Albumosen, II. Mittheilung. Sitzungsber. d. math.-naturw. Classe d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Jahrg. 1895, C IV B, Abtheilung II b, S. 448.

Derselbe, Beiträge z. Kenntniss d. Albumosen, III. Mittheilung. Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Classe d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Jahrg. 1896, C V B, Abtheil. II b, S. 138.

Derselbe, Beiträge z. Kenntniss d. Albumosen, IV. Mittheilung. Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Classe der Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Jahrg. 1898, C VII, Abth. II b, Mai, S. 245.

Derselbe, Ueber Albumosen des Pepton Witte. Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. XXVI, S. 338.

welche behufs weiterer Reinigung nach dem Vorgang von Paal in Chlorhydrate übergeführt und aus diesen isolirt wurde. Später aus Witte-Pepton direkt dargestellte Chlorhydrate lieferten zwei Albumosen, von denen eine, die ebenfalls methylalkohollöslich und schwefelarm ist, in ihren analytischen Zahlen der zuerst beschriebenen nahe steht.

Auch Paal¹⁾ hatte aus käuflichem Albuminpepton nach wiederholter Extraction mit absolutem Methylalkohol in der Wärme und Kälte ein in kaltem absoluten Methylalkohol lösliches Produkt erhalten, das «in naher Beziehung zur alkohol-löslichen Albumose Schrötter's stehen dürfte». Die wässrige Lösung dieser Substanz liess sich bereits durch Kochsalz reichlich fällen, auf Zusatz von Essigsäure erfolgte Vermehrung des Niederschlags, und durch Ammonsulfat trat eine beinahe völlige Abscheidung ein, Reactionen, welche direkt auf die Anwesenheit von «primären» Albumosen im Sinne Neumeister's hinweisen, aber die Einheitlichkeit des Produkts keineswegs sicherstellen.

Während die nachfolgend mitgetheilten Untersuchungen bereits im Gange waren, erschien eine Abhandlung Folin's,²⁾ in welcher dieser mit Metallsalzen eine Zerlegung der Kühne'schen Protoalbumose herbeizuführen suchte. Auch er ging von Witte-Pepton aus. Die Trennung von der Heteroalbumose glaubte er nach Kühne's Vorgang durch Dialyse zu erzielen. Ein aus der dialysirten Lösung mit concentrirtem Kupferacetat ausgefälltes Produkt liess sich durch Bleiacetat in zwei Körper trennen, von denen der eine, durch Bleiacetat und Salpetersäure nicht fällbare, vom Verfasser als reine Protoalbumose angesprochen wird; da dieser jedoch nur in kleinen Mengen zu erhalten war, konnte der Autor über ihn keine näheren Angaben machen.

Da von den angeführten Methoden vorläufig nur die

1) C. Paal, Ueber die Peptonsalze des Eieralbumins. Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 27, S. 1845.

2) Otto Folin, Ueber die Spaltungsprodukte der Eiweisskörper, I. Mittheilung. Ueber einige Bestandtheile von Witte's Pepton. Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. XXV, S. 152.

Methode der Dialyse für eine Trennung der Proto- und Heteroalbumose in Betracht kam, und auch diese die angedeuteten Mängel aufwies, war es meine erste Aufgabe, ein Verfahren ausfindig zu machen, das dem ins Auge gefassten Zweck besser entspräche.

Eigene Isolirungsversuche.

a) Versuche zur Trennung der Proto- und Heteroalbumose durch Fractionirung mit Ammonsulfat.

Die Ueberlegung, dass die sich bei den übrigen Albumosen so deutlich ausprägenden Unterschiede gegenüber der Ammonsulfatfällung auch bei den «primären» Albumosen auftreten würden, wenn man geeignete Concentrationen der Albumosenlösung verwendete, lenkte zu dem Versuche hin, das Witte-Pepton, dessen Verhalten bereits früher in 5⁰/₁₀iger Lösung festgestellt worden war, der fractionirten Salzfällung in niedrigeren Concentrationen zu unterwerfen, in der Erwartung, dass die in stärkeren Concentrationen einander nahe gerückten Fällungsgrenzen in verdünnterer Lösung eine bessere Scheidung zulassen würden. Dementsprechend wurden, in derselben Weise wie früher, in neutralen Lösungen von 0,2⁰/₁₀, 0,5⁰/₁₀, 1⁰/₁₀, 1,5⁰/₁₀ und 2⁰/₁₀ die Fällungsgrenzen des Witte-Peptons für die «primären» Albumosen bestimmt; es ergaben sich jedoch, abgesehen von geringfügigen Schwankungen, die gleichen Werthe, wie früher für 5⁰/₁₀ige Lösung. Anhaltspunkte für eine gesonderte Ausfällung der einen oder der anderen Albumose ergaben sich nicht.

Darauf wurde der Versuch gemacht, die bereits nach Kühne und Chittenden durch Salzfällung und Dialyse isolirten Produkte der Fractionirung zu unterwerfen in der Hoffnung, dass die so bereits einigermaßen getrennten Produkte in ihren Fällungsgrenzen einen Unterschied darbieten könnten. Doch auch diese Erwartung ging nicht in Erfüllung. Die Fällung der Protoalbumose begann bei einem Ammonsulfatgehalt von 2,4 ccm in 10 ccm der Gesamtlösung und war bei 4,2 ccm. in 10 ccm zu Ende, entsprach also wieder den schon bekannten Fällungsgrenzen für die «primären» Albumosen.

Die bei der Dialyse ausfallende Heteroalbumose versuchte ich ferner in der Weise von eventuell noch anhaftender Protoalbumose zu reinigen, dass ich sie in Wasser suspendirt längere Zeit auf dem Wasserbade erhitzte (um eine Art Coagulation, wie sie Kühne annimmt, zu bewirken und sie so von der gelösten Protoalbumose zu trennen), und dann die Fällung mit Ammonsulfat vornahm. Dabei ging jedoch ein erheblicher Theil der Substanz in Lösung, sei es, dass die Verunreinigung mit Protoalbumose bedeutend war, oder, was wahrscheinlicher, dass die Coagulation unvollständig blieb. Der zurückgebliebene Rest erwies sich als in Wasser unlöslich, löste sich aber leicht in schwach ammoniakalischem Wasser. Die mit dieser Lösung angestellte Versuchsreihe ergab als untere Fällungsgrenze einen Ammonsulfatgehalt von 1,6 ccm : 10 ccm, während die obere mit der für die Protoalbumose gefundenen zusammenfiel. Der frühzeitige Beginn der Fällung erscheint etwas auffallend, doch hängt er möglicher Weise mit der in diesem Falle nicht bekannten Concentration der Lösung zusammen; es mag jedoch bemerkt werden, dass bei einem anderen Versuche Dysalbumose fractionirt zu fällen, dieselbe untere Fällungsgrenze festgestellt werden konnte; was die obere Ausfällungsgrenze anlangt, auf die es bei dem Versuche hauptsächlich ankam, so bot auch sie keinen Anhaltspunkt zur Trennung der beiden Produkte.

β) *Versuche zur Trennung der Proto- und Heteroalbumose mit Alkohol.*

Bereits in dem letztangeführten Versuche wurde die Coagulation in wässriger Lösung versuchsweise zur Reinigung der Heteroalbumose verwandt; der mit verschiedenen Abänderungen wiederholte Versuch ergab jedoch immer dasselbe unbefriedigende Resultat. Von der in Wasser aufgequollenen Masse löste sich ein grosser Theil (Protoalbumose mit bedeutenden Mengen von Heteroalbumose), der coagulirte Theil dagegen ging immer, wie auch Kühne und Chittenden angeben, zum grossen Theil, oft der Hauptmasse nach in Dysalbumose über. Nun wurde untersucht, ob bei anhaltendem Kochen mit Alkohol die Ausfällung der Heteroalbumose soweit quantitativ erfolgt, dass sie für die Trennung von der Protoalbumose benützt werden könnte. Im Folgenden

sind die darauf bezüglichen Versuche angeführt, wobei der Kürze halber aus der grösseren Zahl nur jene herausgegriffen sind, welche für den Gang der Untersuchungen in der Folge entscheidend waren.

Eine ca. 10%ige, an 500 ccm. betragende Lösung wiederholt mit Ammonsulfat gereinigter «primärer» Albumosen wurde bei neutraler Reaction mit dem doppelten Volumen 95%igen Alkohols in einem etwas mehr als 2 Liter fassenden Kolben unter Rückfluss auf dem Wasserbade 13 Stunden lang gekocht. Es entstand ein reichlicher, flockiger Niederschlag; die überstehende schön gelb gefärbte, klare Lösung trübte sich beim Abkühlen ein wenig und liess nach längerem Stehen einen Niederschlag ausfallen; es wurde daher nach völliger Klärung der Lösung von dem abgeschiedenen Niederschlag abfiltrirt, der Niederschlag gut abgepresst, das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Niederschlag und Rückstand des Alkoholfiltrats wurden in ihrem Verhalten verglichen. Dabei stellten sich mehrfache Unterschiede heraus. Der Rückstand löste sich selbst in kaltem Wasser, während die Lösung des Niederschlags erst in der Wärme erfolgte. Die mit beiden Lösungen in der gewöhnlichen Weise mit Ammonsulfat angestellten Versuchsreihen ergaben zwar identische Fällungsgrenzen — die Fällung begann bei 2,2—2,4 ccm. : 10 ccm. Gesamtlösung und war bei 3,4—3,6 ccm. : 10 vollendet —, aber die Fällbarkeit durch Alkohol war eine deutlich verschiedene. Der Nachweis, dass diese Verschiedenheit nicht auf die relative Löslichkeit eines und desselben Körpers in 60%igem Alkohol zu beziehen war, wurde folgendermassen erbracht. Die wässerigen Lösungen von Niederschlag und Rückstand wurden in der gleichen Weise, wie sonst mit Ammonsulfat, mit 95%igem Alkohol auf ihre Fällungsgrenzen untersucht, so dass die gleiche Substanzmenge (2 ccm.) bei gleichbleibendem Volumen der Gesamtlösung (10 ccm.) mit Alkohol in steigender Concentration zusammengebracht wurde. Die Versuchsanordnung war auch sonst mit der beim Ammonsulfat üblichen identisch.

(Siehe Tabelle Ia u. Ib.)

Aus diesen Tabellen geht hervor, dass bei der getroffenen Versuchsanordnung der in den Alkoholniederschlag übergehenden Körper bereits bei einem ganz geringen Alkoholzusatz zu fallen beginnt und diese Fällung, soviel man aus der Stärke des Niederschlags entnehmen kann, bei einem Gehalt von ungefähr 37% Alkohol vollständig ist; der in alkoholische Lösung übergegangene Körper zeigt wohl auch bei einem geringen Alkoholzusatz schwache, manchmal stärkere Opalescenz, die aber

Tabelle Ia.

1. Niederschlag in kochendem Wasser gelöst; Reaction neutral.

Lösung	Wasser	95% Alkohol	Fällung
2 ccm.	7,7 ccm.	0,3 ccm.	Opalescenz
2 »	7,5 »	0,5 »	feinflockiger Niederschlag
2 »	7,3 »	0,7 »	Opalescenz
2 »	7 »	1 »	»
2 »	6 »	2 »	»
2 »	5 »	3 »	starke Opalescenz
2 »	4 »	4 »	} allmählich zunehmender feinflockiger Niederschlag; nach einigem Stehen massenhafte Ausscheidung von Flocken.
2 »	3 »	5 »	
2 »	2 »	6 »	
2 »	1 »	7 »	
2 »	—	8 »	

Tabelle Ib.

2. Lösung des Trockenrückstandes; Reaction schwach sauer.

Lösung	Wasser	95% Alkohol	Fällung
2 ccm.	7,5 ccm.	0,5 ccm.	nach einigem Stehen schwach opal
2 »	7,3 »	0,7 »	Opalescenz
2 »	7,1 »	0,9 »	»
2 »	7,0 »	1 »	»
2 »	6 »	2 »	»
2 »	5 »	3 »	schwache Opalescenz
2 »	4 »	4 »	klar
2 »	3 »	5 »	»
2 »	2 »	6 »	»
2 »	1 »	7 »	Spur Opalescenz
2 »	—	8; 8,5; 9 ccm.	gleichmässige starke Fällung

eigenthümlicher Weise bei einem bestimmten Alkoholgehalt vollkommen verschwindet, andererseits in den klaren, alkoholischen Lösungen schon durch geringen Wasserzusatz zu erzeugen ist. Diese vorübergehend auftretende Opalescenz, welche bei der

Beurtheilung der Versuchsreihen zunächst grosse Schwierigkeiten bot, liess sich später auf einfache Weise deuten. Sie entsprach keineswegs einer Beimengung des in Alkohol unlöslichen Körpers, was ja schon aus der Klärung der Proben bei einem stärkeren Alkoholzusatz hervorgeht, sondern steht in innigem Zusammenhange mit den Löslichkeitsverhältnissen des alkohollöslichen Körpers. Was nun die Ausfällung dieses Körpers anbelangt, so zeigt die Tabelle, dass erst ein sehr hoher Alkoholgehalt zu seiner Fällung hinreicht, dass er vor Allem noch in Lösung bleibt, wenn bereits der im Niederschlage befindliche Körper völlig ausgefällt ist. Prägnanter noch gestalteten sich die Fällungsverhältnisse in folgenden Versuchen:

Tabelle II.

1. Lösung des Niederschlags; verdünnte, neutrale Lösung.

Lösung	95 % Alkohol	Fällung	Filtrat auf Zusatz von 0,2 ccm. 95 %igen Alkohols
2 ccm.	0,1 ccm.	Opalescenz	} starke Opalescenz; nach kurzem Stehen Fällung
2 >	0,2 >	} starke Opalescenz	
2 >	0,4 >	} Opalescenz	} schwächere Fällung als vorher
2 >	0,6 >	} Fällung	
2 >	0,8 >	>	} klar; nach längerem Stehen
2 >	1,0 >	>	
2 >	2,0 >	} massenhafter, flockiger Niederschlag	klar
2 >	3,0 >		>
2 >	4,0 >		>
2 >	5,0 >		>
2 >	6,0 >		>
2 >	7,0 >		>
2 >	8,0 >		>

Es geht aus dieser Tabelle hervor, dass die Fällung bei einem geringfügigen Alkoholzusatz beginnt und sehr rasch ihr Maximum erreicht; schon bei Zusatz eines halben Volumens 95 %igen Alkohols ist die Ausfällung eine vollständige. Dem gegenüber stellt sich die Fällung des gelösten Trockenrückstandes folgendermassen:

Tabelle III.

2. Lösung des Trockenrückstandes. (Reaction schwach sauer.)

Lösung	95% Alkohol	Fällung der				
		un- verdünnten,	2 fach verdünnten,	4 fach verdünnten,	8 fach verdünnten,	20 fach verdünnten Lösung
2 ccm.	0,2 ccm.	sehr schwache Opalescenz	Opalescenz	Opalescenz	Opalescenz	schwache Opalescenz
2 »	0,4 »	stärkere Opalescenz	starke Opalescenz	»	stärkere Opalescenz	Opalescenz
2 »	0,6 »	»	schwache Opalescenz	»	schwache Opalescenz	stärkere Opalescenz
2 »	0,8 »	»	»	»	»	schwache Opalescenz
2 »	1,0 »	schwache Opalescenz	»	sehr schwache Opalescenz	»	sehr schwache Opalescenz
2 »	2,0 »	klar	klar	klar	klar	klar
2 »	3,0 »	»	»	»	»	»
2 »	4,0 »	»	{ klar; nach mehr- stünd. Stehen Opal.	sehr schwache Opalescenz	»	Opalescenz
2 »	5,0 »	schwache Opalescenz	{ sehr schw. Opal. nach läng. Stehen Fällung	Opalescenz	Opalescenz	stärkere Opalescenz
2 »	6,0 »	Trübung	{ starke Opalescenz, später Fällung	starke Opalescenz	starke Opalescenz	{ starke Opalescenz
2 »	7,0 »	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	
2 »	8,0 »	—	»	»	»	

Auch hier zeigen sich wieder die vorübergehend auftretenden Opalescenzen, die der Lösung des Körpers in stark wässrigem Alkohol eigenthümlich sind; die eigentliche Ausfällung beginnt erst bei einem Alkoholzusatz von 5 ccm. 95%igen Alkohols auf 2 ccm. der Lösung; gleichzeitig ist zu ersehen, dass die Concentration der Albumosenlösung keinen wesentlichen Einfluss auf das so fest gestellte Fällungsverhältniss ausübt.

Der Einfluss der Reaction auf die Alkoholfällung wurde in eigenen Versuchsreihen geprüft.

Je 30 ccm. der genau neutralisirten Lösung des Niederschlags und des Trockenrückstandes wurden mit je 2 ccm. $\frac{1}{10}$ N-Kalilauge, bezw. $\frac{1}{10}$ N-Schwefelsäure versetzt und in der gleichen Weise wie in den letzt angeführten Tabellen mit steigenden Mengen Alkohol zusammen gebracht. Dabei ergab sich, dass die Aenderung der Reaction gegenüber den früher gefundenen Verhältnissen von geringem oder gar keinem Einfluss ist; nur die Intensität der Fällungen des in Alkohol unlöslichen Körpers schien bei alkalischer Reaction geringer zu sein,

was auf die Anwesenheit der relativ grossen Mengen freien Alkalis gegenüber der in den einzelnen Proben vorhandenen geringen Substanzmenge zu beziehen ist und der grösseren Löslichkeit der, wie sich später zeigen wird, mit der Heteroalbumose identischen Substanz in alkalihaltigem Alkohol entspricht. Um sicher einen Ueberschuss von freiem Alkali zu vermeiden, wurde noch folgender Versuch angestellt:

Eine Partie des in gewöhnlicher Weise isolirten Gemenges der beiden Albumosen wird nach 13stündigem Kochen mit 60^o/oigem Alkohol in der früher angegebenen Art verarbeitet, sowohl in die Lösung des Niederschlags, als auch des Trockenrückstandes fein gepulverte kohlensaure Magnesia eingetragen, die Lösung aufgeköcht und filtrirt; die stark alkalisch reagirenden Flüssigkeiten verhielten sich gegen allmählich steigenden Alkoholzusatz folgendermassen:

Tabelle IV.

1. Lösung des Niederschlages			2. Lösung des Trockenrückstandes.		
Lösung	95 ^o / _o Alkohol	Fällung	Lösung	95 ^o / _o Alkohol	Fällung
2 ccm.	0,1 ccm.	klar	2 ccm.	0,2 ccm.	klar
2 »	0,2 »	Opalescenz	2 »	0,4 »	schwache Opalescenz
2 »	0,4 »	flockiger Niederschlag	2 »	0,6 »	» »
2 »	0,6 »	stärkerer Niederschlag	2 »	0,8 »	Spur Opalescenz
2 »	0,8 »	massenhafter, überall gleich- mässiger	2 »	1,0 »	klar
2 »	1,0 »		2 »	2,0 »	»
2 »	2,0 »		2 »	3,0 »	»
2 »	3,0 »	flockiger Nieder-	2 »	4,0 »	schwache Opalescenz
2 »	4,8 »	schlag.	2 »	5,8 »	starke milchige Trübung

Ueberblickt man die gesammten Versuchsergebnisse, so gelangt man zu dem Schlusse, dass sich durch mehrstündiges Kochen (die Anfangs 12—13stündige Dauer des Kochens wurde im Laufe der Versuche ohne Nachtheil auf 3—4 Stunden herabgesetzt) mit dem gleichen Volumen 95^o/oigen Alkohols aus einer Lösung «primärer» Albumosen mindestens 2 Körper bequem

trennen lassen, von denen der eine ohne Rücksicht auf die Reaction und Concentration der Flüssigkeit sich durch einen Alkoholgehalt von etwa 30% fällen lässt, während der andere in mehr als 65%igem Alkohol gelöst bleibt. Dabei verhalten sich die beiden Körper gegen gesättigte Ammonsulfatlösung gleich, indem sich jeder für sich bei einem Salzgehalt von 3,4—3,6 ccm. : 10 ccm. ausfällen lässt, wobei bemerkenswerth ist, dass ein Gemenge beider auf die angegebene Weise getrennten Körper wieder die ursprünglichen Fällungsgrenzen der «primären» Albumosen zeigt.

Gleiche Mengen der beiden Albumosen wurden vereinigt und bei neutraler Reaction in gewohnter Weise mit Ammonsulfat fractionirt. Die Fällung des so hergestellten Albumosengemenges begann bei 2,6 ccm. Ammonsulfatzusatzes : 10 ccm. der Gesamtlösung und war erst bei 4,2 ccm. : 10 beendigt. Es wäre möglich, dass dieser Unterschied in den Fällungsgrenzen des Gemenges und der isolirten Albumosen seinen Grund in einer gegenseitigen salzartigen Bindung der beiden Produkte hätte, wofür auch mancherlei andere Beobachtungen, so die Löslichkeit geringer Mengen Heteroalbumose in concentrirten Protoalbumoselösungen¹⁾ und weiter die bedeutenden von Cohnheim²⁾ gefundenen Unterschiede im Säurebindungsvermögen der beiden «primären» Albumosen zu sprechen scheinen.

Es blieb noch übrig, die beiden Körper mit Kühne's «primären» Albumosen zu identificiren, was auf Grund des physikalischen Verhaltens leicht gelang. Der Niederschlag, der nach dem Abpressen und Eintrocknen jenes leimartige Aussehen zeigte, wie es Kühne für die Heteroalbumose als charakteristisch beschreibt, war in kaltem Wasser nur schlecht, besser in warmem Wasser löslich, die heissbereitete Lösung trübte sich rasch nach dem Abkühlen und liess einen reichlichen Niederschlag ausfallen; zuweilen geschah es, dass selbst in warmem Wasser die Lösung nur unvollständig gelang infolge der Umwandlung eines Theiles der Substanz in Dysalbumose. Ausschlaggebend aber war die Dialyse, wobei bereits nach kurzer Zeit der Körper beinahe vollständig in klumpigen

1) Neumeister, Zur Kenntniss der Albumosen a. a. O. S. 392.

2) O. Cohnheim, Ueber das Salzsäurebindungsvermögen der Albumosen und Peptone. Zeitschr. f. Biologie. Bd. 15, S. 489, 1896.

Massen ausfiel; es konnte sonach keinem Zweifel unterliegen, dass die durch Alkohol so leicht fällbare Substanz mit der von Kühne und Chittenden dargestellten Heteroalbumose identisch war. Der nach dem Eindampfen der alkoholischen Lösung erhaltene Trockenrückstand löste sich ziemlich glatt in kaltem Wasser, wenn auch die erhaltenen Lösungen nicht klar waren. Beim Dialysiren war selbst nach Tagen keine Abscheidung bemerkbar. Es konnte daher der in Alkohol lösliche Körper nur als Protoalbumose angesprochen werden.

Es war nun geboten zu untersuchen, ob das die Darstellung etwas complicirende Kochen mit Alkohol, das sich, wie erwähnt, ohne Nachtheil von 13 auf 3—4 Stunden hatte einschränken lassen, überhaupt nöthig war. Ich war anfänglich von der Vorstellung ausgegangen, die beim Kochen mit Wasser eintretende sogenannte Coagulation der Heteroalbumose beim Kochen mit Alkohol ausgiebiger gestalten zu können. In der Folge zeigte es sich aber, dass das mit Alkohol in der Hitze gefällte Produkt sich genau ebenso verhielt, wie die entsprechende durch Salzfällung gewonnene Albumose, also von einer coagulirenden Wirkung des Alkohols nicht gesprochen werden konnte. Es war daher zu erwarten, dass auch die Alkoholfällung in der Kälte eine Trennung des Albumosengemenges ermöglichen würde. Die darauf bezüglichen Versuche mögen in Folgendem kurz angeführt werden:

Aus Witte-Pepton mit gleichem Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung isolirte «primäre» Albumosen wurden durch achtmaliges Lösen und Fällen mit Ammonsulfat gereinigt, die 5^o/oige neutrale, wässrige Lösung des beinahe salzfreien Produkts versetzte ich in den einzelnen Proben mit steigendem Alkoholzusatz. Es ergab sich das gleiche Resultat, wie in dem analogen Versuch nach Kochen mit 95^o/oigem Alkohol. Die völlige Ausfällung des als Heteroalbumose angesprochenen Körpers gelang schon bei einem geringen Alkoholzusatz: 1 ccm. 95^o/oigen Alkohols auf 2 ccm. Lösung. Behufs Untersuchung des in die alkoholische Lösung gegangenen Körpers wurden 100 ccm. der oben verwendeten Lösung mit dem gleichen Volumen 95^o/oigen Alkohols gefällt und, um die Heteroalbumose möglichst vollständig abzuscheiden, durch mehrere Tage stehen gelassen, hierauf filtrirt; mit dem alkoholischen Filtrate wurde folgende Versuchsreihe ausgeführt.

Tabelle V.

Alkoholische Lösung	95 0/0 Alkohol	Fällung	Filtrat nach 24stündigem Stehen der Fällung mit 0,4 ccm. 95 0/0igen Alkohols versetzt.
4 ccm. $\left\{ \begin{array}{l} 2 \text{ ccm. ursprüngl.} \\ \text{wässrige Lösung} \\ 2 \text{ ccm. Alkohol} \end{array} \right.$	0,1 ccm. (+ 2 ccm.)	klar	<p>Alle Proben zeigen Trübungen und Niederschläge, welche der Reihe nach schwächer werden; eine obere Grenze lässt sich selbst bei Zusatz von 7 ccm. (5 + 2) Alkohol auf 2 ccm. der Lösung nicht erreichen.</p>
4 » »	0,2 » »	»	
4 » »	0,4 » »	»	
4 » »	0,6 » »	»	
4 » »	0,8 » »	»	
4 » »	1,0 » »	schwach opalescent	
4 » »	1,2 » »	stark »	
4 » »	1,4 » »	Trübung	
4 » »	1,6 » »	»	
4 » »	1,8 » »	»	
4 » »	2,0 » »	»	
4 » »	2,4 » »	stärkere Trübung	
4 » »	2,8 » »	»	
.	.	.	
.	.	.	
.	.	.	
.	.	.	
4 » »	5,0 » »	»	

Man ersieht aus der Tabelle, dass Heteroalbumose nicht in das Filtrat übergegangen war; denn die erste Trübung trat bei einem Alkoholzusatz (2 : 2,6) ein, bei dem die Heteroalbumose schon restlos ausgefällt ist. Zugleich sieht man, wie schwer der in den Alkohol gegangene Körper zu fällen ist, da bei dem relativ hohen Alkoholgehalt von 2 ccm. Lösung : 7 ccm. 95 0/0igen Alkohols noch immer nicht eine vollständige Ausfällung erreicht werden konnte.

Dass bei dem eingeschlagenen Verfahren das Kochen thatsächlich keine bessere Abscheidung erzielt und keine nennenswerthen Reste von Heteroalbumose ins Filtrat übergehen, die Trennung daher wirklich eine vollkommene ist, konnte dadurch gezeigt werden, dass eine durch Alkoholfällung hergestellte Protoalbumosenlösung bei nachträglichem anhalten-

den Kochen nur eine minimale, etwa als Heteroalbumose zu deutende Abscheidung erkennen liess, wie sie auch bei der Alkoholbehandlung in der Wärme regelmässig bei der ersten Reinigung aufzutreten pflegt.

Auch der die Heteroalbumose enthaltende Alkoholniederschlag zeigte in beiden Fällen das gleiche Verhalten. Es besteht danach kein Zweifel, dass die Trennung der beiden «primären» Albumosen, wie sie durch Kochen mit dem gleichen Volumen 95%igen Alkohols zu erreichen ist, auch durch einfache Alkoholfällung in der Kälte erzielt wird. Damit ist gleichzeitig eine Handhabe gegeben, mit Sicherheit in Gemengen beider Albumosen die Hetero- resp. Protoalbumose zu erkennen und sich zu überzeugen, inwiefern andere Trennungsmethoden ihrem Zweck entsprechen.

γ) *Prüfung anderer Trennungsmethoden mit Hilfe des Alkoholverfahrens.*

Wie aus dem Mitgetheilten hervorgeht, kann Kühne's Trennungsverfahren (Dialyse) eine annähernd reine Heteroalbumose liefern, wenn es auch erst durch wiederholtes Lösen derselben in Salzlösung und neuerliche Dialyse gelingen dürfte, anhaftende Protoalbumose ganz zu beseitigen. Das Alkoholverfahren bietet in dieser Richtung den Vortheil, dass Protoalbumose in mässig verdünntem Alkohol leichter löslich ist als in Wasser (vgl. S. 241 u. ff.) allein und daher bei Alkoholfällung der Heteroalbumose weniger leicht von dieser mitgerissen werden dürfte. Hingegen lässt sich leicht zeigen, dass die bei der Dialyse gelöst zurückgebliebene Protoalbumose stets noch erhebliche Reste von Heteroalbumose gelöst enthielt. Trotz anhaltenden und wiederholten Dialysirens gibt die von der ausgeschiedenen Heteroalbumose abfiltrirte Protoalbumosenlösung auch bei mässiger Concentration auf Zusatz von nur $\frac{1}{4}$ Volumen 95%igen Alkohols starke Trübung, auf einen nur geringen Mehrzusatz einen starken Niederschlag.

Es gelingt somit ebensowenig die Protoalbumose durch Dialyse völlig von Heteroalbumose zu befreien, wie auf gleichem Wege eine Serumalbuminlösung von Serumglobulin. Hingegen

führt ein anderes von Kühne und seinen Schülern angewandtes Verfahren zur Darstellung von reiner Protoalbumose, wengleich unter grossen Verlusten. Nach Kühne, Chittenden und Neumeister lässt sich die Heteroalbumose durch Sättigung mit Kochsalz bei neutraler Reaction vollkommen aussalzen, während die Protoalbumose erst durch Säurezusatz ganz abgetrennt werden kann. Da durch die Ausfällung mit dem gleichen Volumen Ammonsulfat einerseits eine scharfe Trennung gegenüber den sogenannten Deuteroalbumosen möglich ist, andererseits aber sich die Heteroalbumose mit einem Theile der Protoalbumose durch Kochsalz ausfällen lässt, so müsste der bei Kochsalzsättigung zurückbleibende Rest der primären Albumosen eine reine Protoalbumose ergeben. Ein mit Ammonsulfat dargestelltes und durch Ausfällung mit Kochsalz in der angegebenen Weise gereinigtes Präparat, mit Alkohol in steigendem Verhältniss versetzt, ergab folgende Reihe:

Tabelle VI.

Lösung	95 % Alkohol	Fällung
2 ccm.	0,2 ccm.	klar
2 »	0,4 »	Spur Opalescenz
2 »	0,6 »	»
2 »	0,8 »	klar
2 »	1,0 »	»
2 »	2,0 »	klar, nach längerem Stehen Spur Opalescenz
2 »	3,0 »	Opalescenz
2 »	4,0 »	} Flockiger Niederschlag.
2 »	5,0 »	
2 »	6,0—8,0 »	

Diese Zahlen stimmen mit denen einer reinen Protoalbumose überein; nur erscheinen die Fällungsgrenzen unwesentlich tiefer gerückt, vermuthlich in Folge des Salzgehaltes der Lösung. Es erweist sich also die in der angeführten Weise gewonnene Protoalbumose als ein reines Produkt, insofern eine Verunreinigung mit Heteroalbumose nicht vorzuliegen scheint. Allerdings empfiehlt sich die Darstellung auf diesem Wege kaum, da ja

durch die Ausfällung mit Kochsalz die Hauptmasse zugleich mit der Heteroalbumose entfernt wird.

II. Darstellung der getrennten Produkte.

Auf Grund der angeführten Isolirungsversuche wurden die ersten Darstellungen aus Witte-Pepton so vorgenommen, dass eine wässrige Lösung durch wiederholte Ammonsulfatfällung gereinigter «primären» Albumosen mit dem gleichen Volumen 95^o/_oigen Alkohols gefällt und auf dem Wasserbade durch 3—4 Stunden im Kochen erhalten wurde. In den späteren Darstellungen wurde das Erhitzen unterlassen und die Fällung bloss in der Kälte vorgenommen. Der entstandene Niederschlag lieferte die Heteroalbumose, während das alkoholische Filtrat die Protoalbumose enthielt. Der Niederschlag, gut abgepresst, wurde in kochendem Wasser gelöst, wobei jedoch immer ein Theil unlöslich blieb, filtrirt und die sich beim Erkalten rasch trübende Lösung wiederum mit dem gleichen Volumen 95^o/_oigen Alkohols gefällt; darauf setzte sich in kurzer Zeit ein massiger, schön weisser, flockiger Niederschlag ab. Derselbe wurde nach mehrstündigem Stehen abfiltrirt, abgepresst, wiederum heiss gelöst und das ganze Verfahren so oft wiederholt, bis das alkoholische Filtrat des so erhaltenen Niederschlags entweder keine oder nur äusserst schwache Biuretreaction gab und nach dem Eindampfen keinen nennenswerthen Rückstand hinterliess, so dass Reste von Protoalbumose als Verunreinigung ausgeschlossen werden konnten. Der so, gewöhnlich nach viermaligem Lösen und Fällen mit Alkohol, erhaltene Niederschlag wurde nach nochmaligem Lösen mit grossem Ueberschuss von 95^o/_oigem Alkohol gefällt, auf ein Seidenfilter gebracht, zunächst mit 60^o/_oigem, dann mit 95^o/_oigem Alkohol und endlich mit Aether gewaschen und getrocknet. Das gewonnene Produkt erwies sich als frei von Ammonsulfat.

Die die Protoalbumose enthaltende alkoholische Lösung wurde auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft und die wässrige Lösung des Rückstandes wiederum mit dem gleichen Volumen 95^o/_oigen Alkohols gefällt; die in den ersten Stunden nach der Fällung klare Lösung trübte sich bei längerem Stehen und setzte, insbesondere bei concentrirteren Lösungen, einen geringen, schleimigen Niederschlag ab, welcher zwar zum grössten Theil als ausgefallene Protoalbumose, zum Theil aber auch als Heteroalbumose angesprochen werden musste, da eine Probe des gelösten Bodensatzes, durch allmählichen Alkoholzusatz geprüft, nicht das Verhalten der reinen Protoalbumose ergab, sondern am ehesten einem Gemenge beider Albumosen entsprach. Es wurde demnach die klar filtrirte, alkoholische Lösung wiederum eingedampft und die wässrige Lösung des Rückstandes ebenso wie vorher behandelt und das Gleiche etwa 5—6 Mal wiederholt; man erhielt dann eine klare, alkoholische Lösung, welche im verschlossenen Gefäss auch nach tagelangem Stehen klar blieb und keinen Niederschlag mehr zeigte. Die auf solche Art

gewonnene Protoalbumose war noch salzhaltig, im Uebrigen aber ein reines, besonders auch von Heteroalbumose freies Produkt. Nichtsdestoweniger liess der etwas schleppende und zeitraubende Gang der Darstellung die Ermittlung eines bequemeren Verfahrens wünschenswerth erscheinen.

Nach verschiedenen Versuchen stellte sich die nachfolgende Darstellungsweise als die beste heraus. Alle in der Folge angestellten Untersuchungen beziehen sich auf Produkte, welche nach diesem Verfahren gewonnen sind.

Als Ausgangsmaterial diente Witte-Pepton, das sich für unsere Zwecke recht gut bewährt hatte. Eine möglichst concentrirte (ca. 40^o/_oige) Witte-Peptonlösung wurde in der Weise hergestellt, dass Pepton in kochendes Wasser unter Umrühren partienweise eingetragen wurde, bis die Lösung nichts mehr aufnahm und beinahe Syrupconsistenz besass. Die noch warme Flüssigkeit wurde mit dem doppelten Volumen 95^o/_oigen Alkohols versetzt und in der Kälte mindestens 5—6 Stunden, gewöhnlich über Nacht, stehen gelassen. Es setzte sich dann ein massenhafter, teigiger, am Boden festsitzender Niederschlag ab, von dem die darüber befindliche, schön gelb gefärbte alkoholische Lösung gut abgegossen werden konnte. Der Niederschlag enthielt an 70^o/_o des Ausgangsmaterials, so dass ungefähr 30^o/_o in den immerhin 75—80^o/_o starken Alkohol hineingingen. Die alkoholische Lösung wurde auf Protoalbumose, der Niederschlag auf Heteroalbumose verarbeitet.

1. Darstellung der Heteroalbumose.

Der gut abgepresste Niederschlag wird in 10^o/_oiger¹⁾ wässriger Lösung mit verdünnter Schwefelsäure neutralisirt und mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt; die Albumose scheidet sich in Form eines festen Kuchens an der Flüssigkeitsoberfläche ab. Der letztere abgehoben, sorgfältig auf dem Thonteller von der Flüssigkeit befreit, wurde gelöst und aus ca. 10^o/_oiger neutraler Lösung,

¹⁾ Eine concentrirtere Lösung zu verwenden, empfiehlt sich nicht, wenn eine Verunreinigung durch mitgerissene Theile anderer Albumosen sicher vermieden werden soll.

wie vorher, ausgesalzen, abgepresst, das Ganze nochmals wiederholt. Die so gewonnene Albumose versetzt man in 10%iger wässriger Lösung mit dem halben Volumen 95%igen Alkohols; dabei scheidet sich die Heteroalbumose, wenn auch nicht vollständig,¹⁾ so doch in solcher Reinheit ab, dass man Verunreinigung durch mitgerissene Substanzen nicht zu befürchten braucht. Der Niederschlag wird mit dem Filter gut abgepresst, in heissem Wasser gelöst, filtrirt und wiederum mit dem halben Volumen 95%igen Alkohols gefällt. Während das Filtrat des gesammelten Niederschlages nur noch Spuren ungefällter Körper enthält, ist ein nach der dritten Fällung mit Alkohol erhaltenes, farbloses Filtrat so gut wie frei von irgend welchen alkohollöslichen Resten. Der Niederschlag, immer wieder gut abgepresst, erweist sich als salzfrei, und wird nun nach nochmaligem Lösen und Fällen auf einem Seidenfilter mit 32%igem, dann mit 95%igem Alkohol und endlich mit Aether gewaschen. Man erhält so den Körper schneeweiss. Beim Trocknen bräunt er sich und bildet leimartige Tafeln, die aber zerrieben immer noch ein weisses Pulver liefern. Die Ausbeute des so dargestellten Körpers ist eine verhältnissmässig gute — sie kann für das Rohprodukt auf 5–8% des Ausgangsmaterials geschätzt werden —, wenn auch die Verluste beim Reinigen diesen Procentsatz noch erheblich herabsetzen.

Zu dem gleichen Ziel, wie nach diesem Verfahren, kann man natürlich auch gelangen, wenn man den Niederschlag nach der ersten Alkoholfällung zuerst mit 32%igem Alkohol wiederholt umfällt und dann erst die Trennung von den übrigen Albumosen durch Halbsättigung mit Ammonsulfat vornimmt; man erhält in diesem Falle bei dem nachfolgenden Aussalzen die Albumose nicht in Klumpen, sondern in schneeweissen Flocken. Das erste Verfahren ist von beiden

1) Geringe Reste der Heteroalbumose gehen ins Filtrat über, das neben dieser noch verhältnissmässig reichliche Mengen von Resten anderer Albumosen enthält, die bei der Aussalzung trotz wiederholter Fällung dem Ammonsulfatniederschlag anhaften bleiben.

das einfachere, indem es mit der gleichzeitigen Isolirung des Präparates die Reinigung desselben von dem anhaftenden Ammonsulfat ermöglicht; dagegen besitzt es den Nachtheil, bei der Reinigung Verluste dadurch zu schaffen, dass ein Theil der Albumose in die unlösliche Dysalbumose übergeht, und die Ausbeute dementsprechend zu verschlechtern.

2. Darstellung der Protoalbumose.

Aus der wie oben gewonnenen alkoholischen Lösung wird der Alkohol im Vacuum abdestillirt, der Rückstand getrocknet, gut pulverisirt, in Wasser gelöst und die etwa 10⁰/_oige, stark alkalisch reagirende Lösung nach vorheriger Neutralisation mit verdünnter Schwefelsäure in derselben Weise wie bei der Heteroalbumose wiederholt durch Halbsättigung mit Ammonsulfat gefällt. Die Protoalbumose scheidet sich in Form von Flocken ab, die zu gelb gefärbten festen Kuchen zusammenfließen, deren Lösungen starken Bouillongeruch besitzen und weder in saurer noch in neutraler Lösung mit dem doppelten Volumen 95⁰/_oigen Alkohols zu fällen sind. Dagegen konnte aus diesen Lösungen manchmal durch vorsichtigen Zusatz verdünnter Essigsäure eine Trübung oder die Abscheidung eines Niederschlages erzielt werden.

Dieser Niederschlag war nur theilweise im Ueberschuss von Essigsäure löslich, trocknete auf dem Filter zu einem gelbbraunen Pulver, am Boden des Becherglases zu einem Firniss ein, der, in heissem Wasser gelöst, weder mit Essigsäure noch mit Salpetersäure wieder zu fällen war; Halbsättigung mit Ammonsulfat schied ihn in Flocken aus, ebenso fällte verdünnte Kupfersulfatlösung und Essigsäure-Ferrocyankalium; die Millon'sche, die Xanthoproteinreaction, sowie jene nach Molisch waren positiv, beim Kochen mit Lauge und Bleiacetat schied sich Schwefelblei ab. Die erste Annahme, dass es sich um einen dem Fibrin beigemengten, nucleinartigen Körper handle, konnte, nachdem das Fehlen von Phosphor nachgewiesen worden war, nicht aufrecht erhalten werden. Da dieses Produkt in anderen Lösungen, welche aus verschiedenen Witte-Peptonpräparaten gewonnen waren, trotz des sorgfältigen Einhaltens aller Vorbedingungen nicht gefunden werden konnte, sein Vorkommen im Witte-Pepton also kein constantes zu sein scheint, dehnte ich die Untersuchung auf dieses Produkt nicht weiter aus. Es ist möglich, dass dieser Körper in näherer Beziehung zu den durch Essigsäure

fällbaren Albumosen steht, die Kühne¹⁾ zuerst unter den Produkten der Pankreasverdauung, später bei der Untersuchung von Koch's gereinigtem Tuberculin (Acroalbumose) auffand, und zu denen möglicher Weise auch ein analoger, von Folin²⁾ aus dem Witte-Pepton neuerdings isolirter Körper gehört.

Konnte der eben erwähnte Körper, auf den immer mit tropfenweise zugesetzter Essigsäure gefahndet wurde, in der Lösung gefunden werden, so wurde so lange Essigsäure zugesetzt, bis eine Probe der von dem entstandenen Niederschlage abfiltrirten Lösung auf vorsichtigen Säurezusatz keine Trübung mehr gab. Die so erhaltene klare Lösung enthielt noch Ammonsulfatreste, zu deren Entfernung die Flüssigkeit mit einer gesättigten Lösung reinen, essigsauren Baryums unter Vermeidung eines Ueberschusses versetzt wurde. Nach mehrstündigem Stehen setzte sich der Niederschlag gut ab, und man erhielt eine leicht und klar filtrirbare Lösung, in welcher durch Zusatz von wässriger Ammoniumcarbonatlösung der in Lösung gebliebene Baryt ausgefällt wurde. Die durchs Filter geschickte Lösung wurde aufgeköcht, von dem sich eventuell nachträglich noch ausscheidenden Baryumcarbonat abfiltrirt und auf dem Wasserbade zur Syrupdicke eingedampft. Diesen Rückstand in kaltem Wasser klar zu lösen, bereitet, zumal für concentrirtere Lösungen, Schwierigkeiten, während die in der Wärme hergestellten Lösungen sich rasch beim Erkalten trüben und je nach der Concentration bei längerem Stehen einen geringeren oder stärkeren schleimigen Bodensatz liefern. Dem gegenüber vermag ein Zusatz von Alkohol zu diesen trüben, wässrigen Lösungen eine augenblickliche Klärung herbeizuführen. Es empfiehlt sich daher, zur Herstellung concentrirter Lösungen diesen syrupösen Rückstand mit wässrigem (ca. 60^o/o igem) Alkohol aufzunehmen. Aus einer solchen möglichst concentrirten Lösung (aus welcher durch starke Verdünnung mit

1) Kühne, Erfahrungen über Albumosen und Peptone. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 11, S. 40, 1892.

Derselbe, Erfahrungen über Albumosen und Peptone. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 12, S. 230 u. ff., 1894.

2) Folin a. a. O., S. 154 u. 155.

Wasser ein grosser Theil des gelösten Produktes in klumpigen Massen ausgeschieden werden kann) wird durch Hinzufügen eines grossen Ueberschusses von 95%igem Alkohol der Körper ausgefällt, abfiltrirt, abgepresst, nochmals aus der concentrirten, wässerig-alkoholischen Lösung mit Alkohol gefällt und der Niederschlag auf dem Filter mit Alkohol und Aether gewaschen. Die Ausscheidung erfolgt in schönen, weissen Flocken.

Doch ist die so erzielte Fällung niemals eine vollständige, da ein grosser Theil des Produktes selbst bei Ueberschuss von Alkohol gelöst bleibt und sich nur aus concentrirter Lösung durch Aetheralkohol einigermassen vollständig zur Abscheidung bringen lässt. Um aus dem Filtrate die nicht unbeträchtlichen Reste zu gewinnen, muss dieses eingedampft und die concentrirte Lösung durch Aetheralkohol gefällt werden. Man erhält auf diese Weise noch einen reichlichen, flockigen Niederschlag, welcher später eine compacte Masse bildet, von welcher der darüber stehende Aetheralkohol bequem abgegossen werden kann; der Niederschlag wird wiederum gründlich mit Alkohol und dann mit Aether gewaschen. Ein Mitreissen von essigsäurem Ammon aus der alkoholischen Lösung ist bei der Fällung durch Aetheralkohol, wie wir uns überzeugen konnten, nicht zu befürchten.

Beide so erhaltenen Fractionen von Protoalbumose bilden eine schneeweisse Masse, welche, längere Zeit an der Luft stehen gelassen, etwas feucht wird und zu einem Firniss eintrocknet, während sie im Vacuum über Schwefelsäure einen kreidigen, schön weissen Körper liefert, der zu einem feinen, weissen Pulver zerrieben werden kann. Sie wurden vereint untersucht.

Die Ausbeute an reiner Protoalbumose war eine geringe; sie stand weit unter der aus Witte-Pepton erhältlichen Menge Heteroalbumose und schien bei verschiedenen von Witte bezogenen Präparaten zu wechseln. Zur Beschaffung genügenden Materials für die folgenden Untersuchungen musste das käufliche Material kilogrammweise verarbeitet werden.

III. Eigenschaften und Zusammensetzung der Hetero- und Protoalbumose.

a) Löslichkeitsverhältnisse.

Die Heteroalbumose quillt stark in kaltem, salzfreiem Wasser, ist aber darin nicht völlig unlöslich, in der Hitze

löst sie sich und scheidet sich beim Erkalten zum grossen Theil wieder ab; die Protoalbumose ist in kaltem Wasser löslich, obwohl auch hier sich concentrirtere Lösungen rasch trüben und bei längerem Stehen einen schleimigen Bodensatz liefern, der sich jedoch immer wieder gut in wässrige Lösung bringen lässt. Alkohol vermag bis zu einer Verdünnung von 25 %—32 % selbst stark verdünnte Heteroalbumose in schönen Flocken niederzuschlagen, während im Gegensatze dazu die Protoalbumose selbst in 80 %igem Aethylalkohol zum grössten Theil gelöst bleibt und selbst mit Aetheralkohol aus concentrirter Lösung nicht vollkommen abgeschieden wird. Ihre Löslichkeit in wässrigem Alkohol ist viel grösser als in Wasser allein; aus diesem Verhalten erklärt sich die eigenthümliche Erscheinung, dass bei allmählichem Alkoholzusatz zu einer wässrigen Lösung der Protoalbumose regelmässig Trübungen entstehen, welche sich jedoch sofort völlig klären, wenn der Alkoholgehalt zunimmt, ebenso ist man im Stande, trübe, wässrige Lösungen durch Zusatz von etwas Alkohol vollkommen klar zu machen. In starkem Methylalkohol kann das trockene Präparat nicht in Lösung gebracht werden. Man ist berechtigt, diese Albumose als relativ alkohollöslich zu bezeichnen, insbesondere im Hinblick auf die Heteroalbumose, da das ungleiche Verhalten beider sonst anscheinend so ähnlichen Körper gegen Alkohol zu ihrer Charakterisirung besonders geeignet ist. Es mag hier darauf hingewiesen werden, dass Schrötter¹⁾ der erste war, der eine alkohollösliche Albumose unterschied, auf deren Analogien mit der isolirten Protoalbumose später noch eingegangen werden soll.

b) Verhalten gegen Reagentien.

Gegen Reagentien verhalten sich die beiden Produkte, in 4 %iger neutraler Lösung untersucht, folgendermassen:

1. Heteroalbumose.

Die in der Wärme hergestellte Lösung trübt sich in der Kälte; doch hindert die Trübung nicht die Einwirkung der Reagentien vollkommen zu erkennen.

¹⁾ H. Schrötter a. a. O.

14%ige Essigsäure klärt bei Zusatz eines Tropfens die trübe Lösung und fällt auch nicht bei Mehrzusatz; das gleiche Verhalten zeigt sie nach 5facher Verdünnung. 20%ige Salpetersäure bewirkt bei tropfenweisem Zusatz einen flockigen Niederschlag, der sich im Ueberschuss der Säure nicht löst, wohl aber bei gelindem Erwärmen, worauf er beim Erkalten wieder erscheint; aus sehr verdünnten Lösungen lässt sich jedoch mit der gleichen Säure die Heteroalbumose nicht ausfällen; die Lösungen bleiben entweder völlig klar oder zeigen nur eine schwache Opalescenz, die bei geringstem Mehrzusatz des Reagens schwindet.

Gesättigte Kochsalzlösung erzeugt, im gleichen Volumen zu der mit Essigsäure versetzten Lösung zugefügt, eine dichte Trübung, die sich in der Hitze löst, beim Erkalten wieder erscheint. Aussalzen der neutralen Lösung mit gepulvertem Kochsalz bewirkt dichte Trübung und auf Zusatz eines Tropfens Essigsäure flockige Fällung.

Baryumcarbonat wird von der heissen, wässerigen Lösung in merklicher Menge gelöst. Das so entstehende Barytsalz zeigt ähnliche Lösungsverhältnisse wie die freie Albumose.

Verdünnte Kupfersulfat- und Kupferacetatlösung geben Fällung oder Trübung, die sich in der Wärme löst und in der Kälte wieder abscheidet; Bleiacetat gibt eine dichte Trübung, die sich im Ueberschusse löst.

Metaphosphorsäure, in 1%iger und 10%iger Lösung verwandt, erzeugt einen massigen, flockigen Niederschlag, der sich im Ueberschuss löst; beim Erhitzen erfolgt nur theilweise Lösung. Ferrocyankalium gibt in der mit Essigsäure angesäuerten Lösung Trübung, Trichloressigsäure, Pikrinsäure, Gerbsäure, Jodquecksilberkalium und Salzsäure erzeugen Niederschläge, die sich in der Hitze lösen, in der Kälte wieder ausfallen. Almén'sches Reagens bewirkt Trübung, welche sich im Ueberschuss des Reagens nicht löst; Jodjodkalium, Phosphorwolframsäure und Sublimat bringen reichliche Fällungen hervor.

Millon's Reagens erzeugt einen weissen Niederschlag; beim Kochen tritt bloss eine Rothfärbung der abgeschiedenen Flocken ein, während die Lösung entweder völlig farblos bleibt,

oder sich nur schwach gelbrosa färbt. Bei der Xanthoproteinreaction tritt schöne strohgelbe Färbung ein, die bei Zusatz von Natronlauge in ein gesättigtes Gelb umschlägt. Die Reaction von Adamkiewicz, ebenso die von Molisch bleibt vollkommen negativ; bei letzterer Reaction tritt manchmal eine sehr schwache Rosafärbung auf.

Kochen der Lösung mit Bleiacetat in alkalischer Lösung ergibt Braunfärbung der Flüssigkeit. Verdünntes Kupfersulfat und Nickelsulfat mit Natronlauge geben schön violette, resp. gelb gefärbte Lösungen.

Bei Acetylierung nach Liebermann¹⁾ bildete sich ein wenig beständiges Produkt, das anfänglich in Chloroform löslich und daraus mit Aether fällbar war, bald jedoch seine Löslichkeit in Chloroform einbüßte.

2. Protoalbumose.

Essigsäure weder in 14% iger, noch in fünffach verdünnter Lösung angewendet, bewirkt irgend eine merkliche Reaction. 20% ige Salpetersäure gibt auf tropfenweisen Zusatz eine vorübergehend auftretende Trübung; dieselbe löst sich bei geringstem Ueberschuss des Reagens, ebenso in der Wärme, in welchem Fall sie in der Kälte wiederkehrt; stärker verdünnte Salpetersäure bringt keine Trübung hervor; öfter ist erst nach Sättigung mit Kochsalz Trübung durch Zusatz von Salpetersäure zu erzielen.

Zusatz eines gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung und Ansäuern mit Essigsäure erzeugen eine Opalescenz, die sich beim Erwärmen aufhellt, in der Kälte wieder erscheint. Eintragen von gepulvertem Kochsalz bis zur Sättigung der neutralen Lösung trübt dieselbe; nach Zusatz von Essigsäure erfolgt Fällung.

Baryumcarbonat wird von der kochenden wässerigen Lösung in geringer Menge gelöst.

Verdünnte Kupfersulfat- und Kupferacetatlösung erzeugen Trübungen, die in der Wärme schwinden, beim Abkühlen wieder

¹⁾ Liebermann und Hörmann, Berichte d. deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 11, S. 1619.

erscheinen; Bleiacetat, in verdünnter und concentrirter neutraler Lösung angewandt, gibt nur eine schwache Opalescenz.

Metaphosphorsäure in 1^o/_oiger und 10^o/_oiger Lösung erzeugt Trübungen, die im Ueberschuss des Reagens, ebenso in der Wärme gelöst werden, beim Erkalten wieder erscheinen. Ferrocyankalium trübt die mit Essigsäure versetzte Lösung; Trichloressigsäure, Pikrinsäure, Gerbsäure, Jodquecksilberkalium mit Salzsäure, Jodjodkalium erzeugen in der Hitze lösliche, beim Erkalten ausfallende Niederschläge; ebenso bringen Sublimat, Quecksilberacetat, Phosphorwolframsäure Fällungen hervor. Almén'sches Reagens erzeugt eine schwache Trübung, die sich im Ueberschusse nicht völlig löst.

Millon'sches Reagens bewirkt einen weissen Niederschlag, beim Kochen tiefrothe Färbung der Lösung und der ausgeschiedenen Flocken. Xanthoproteinreaction ergibt Gelbfärbung, auf Zusatz von Natronlauge Umschlag in Rothgelb. Adamkiewicz's Probe gibt an der Berührungszone des Reagens mit der Lösung einen schwach rosaviolett gefärbten Ring; die Reaction nach Molisch fällt negativ aus.

Die Probe auf leicht abspaltbaren Schwefel durch Kochen der Lösung mit Bleiacetat und Natronlauge ergibt Braunfärbung; Kupfer- und Nickelbiuretprobe geben violette, resp. weingelbe Färbung.

Bei der Acetylirung wurde ein relativ haltbares, in Chloroform lösliches, daraus leicht durch Ligroin und Benzol, schlechter durch Aether fällbares Produkt erhalten.

Aus den hier angeführten Reactionen ergibt sich, dass beide Produkte im Ganzen der Proto- und Heteroalbumose der früheren Untersucher entsprechen; sie weichen besonders insofern ab, als die erzielte schärfere Trennung für die Protoalbumose manche sonst beobachtete Reactionen in Wegfall bringt, die auf Beimengung von Heteroalbumose beruhen. So stellt sich vor Allem das Verhalten zu Salpetersäure anders dar, indem Protoalbumose aus salzfreien Lösungen von Salpetersäure, im Gegensatze zu den älteren Angaben, entweder gar nicht, oder äusserst unvollständig gefällt wird. Dieser Befund steht in Uebereinstimmung mit der

Angabe Folin's¹⁾ über dessen reine Protoalbumose und mit jener von E. Zunz²⁾ über das gleiche Produkt, das mittelst Zinksulfat gefällt und nach der beschriebenen Alkoholmethode gereinigt ward. Bei letzterer Darstellungsart prägen sich manche reactionelle Unterschiede (so gegen Kupfersalze und Almén'sches Reagens) noch deutlicher aus, als bei der Ammonsulfatfällung, und es möge daher auf deren Besprechung bei Zunz hingewiesen werden. Bemerkenswerth erscheint endlich, dass meine Protoalbumose mit neutralem Bleiacetat nur eine äusserst schwache Opalescenz gab, welche wahrscheinlich von einer minimalen Verunreinigung herstammte. Dieses Verhalten würde den Versuch einer Reindarstellung der Protoalbumose, wie sie Folin anstrebte, rechtfertigen. Die übrigen üblichen Fällungsreagentien der Eiweisskörper bringen allenthalben Niederschläge hervor und bieten kein besonders bemerkenswerthes Verhalten dar.

Interessantere Ergebnisse lieferten die Farbenreactionen. Einzelne von ihnen blieben auffallender Weise negativ, ein Umstand, der bei der sonst ungemein grossen Empfindlichkeit der betreffenden Reagentien gegen gewisse Gruppen werthvolle Andeutungen über das innere Gefüge der beiden Körper bot, welche in der That durch weitere Untersuchungen Bestätigung fanden. So zeigt zunächst die Millon'sche Reaction der Protoalbumose eine Besonderheit in ihrem äusserst intensiven Auftreten; im Gegensatze dazu ist die Millon'sche Reaction bei der reinen Heteroalbumose dürftig zu nennen, ein Verhalten, das für das reichliche Vorhandensein der Tyrosin gebenden Gruppe bei der Protoalbumose und deren geringe Bethheiligung am Aufbau der Heteroalbumose sprach. Im höchsten Grade bemerkenswerth ist ferner der negative Ausfall der Reactionen nach Molisch und Adamkiewicz; beide gehen auch insofern parallel, als mit dem Fehlen der Molisch'schen Reaction das Ausbleiben oder ein nur spärliches Auftreten der Probe nach Adamkiewicz verbunden ist. Mit diesen beiden Fur-

1) a. a. O. S. 155.

2) E. Zunz, a. a. O. S. 244.

furoolreactionen,¹⁾ insbesondere mit der Reaction nach Molisch sind erfahrungsgemäss noch verschwindende Spuren von Kohlenhydrat zu erkennen, es ist sogar wegen der enormen Empfindlichkeit der Probe bei schwächerem Ausfall ein Urtheil bezüglich des Vorhandenseins einer Kohlenhydratgruppe nur mit Vorsicht zu fällen. Um so auffallender war bei den beiden Albumosen das Fehlen der beiden Reactionen, das nach dem eben Angeführten den Mangel einer Kohlenhydratgruppe in beiden Verdauungsprodukten mit allergrösster Wahrscheinlichkeit, wenn nicht mit Sicherheit, voraussagen liess. Dabei war der negative Ausfall dieser Proben nicht etwa durch eine Dunkelfärbung der Probe in Folge des Schwefelsäurezusatzes bedingt, welche die typische rothviolette Färbung hätte verdecken können, sondern die Proben blieben nach Mischung mit der concentrirten Schwefelsäure entweder farblos oder nahmen nur einen blassgelben, seltener röthlichen Ton an. Da anderweitige Untersuchungen mit Sicherheit ergeben haben, dass das Fibrin kohlenhydrathaltig ist und mir auch die Isolirung von relativ reichlichen Kohlenhydratmengen aus anderen Verdauungsprodukten des Fibrins (s. weiter unten) gelungen ist, so ergibt sich bereits aus diesen Thatsachen, dass zwischen den beiden sogenannten «primären» Albumosen einerseits und der Muttersubstanz, sowie einzelnen weiteren Verdauungsprodukten andererseits eine wichtige Verschiedenheit der Structur gegeben ist. Bezüglich der angestellten Schwefelproben ist zu bemerken, dass beide Reactionen relativ schwach ausfielen.

c) Zusammensetzung.

Zur Analyse wurden je zwei Präparate verwendet, dieselben wurden zunächst bei 75°, dann durch 24—48 Stunden bei 105—110° getrocknet und der Analyse unterworfen; die Zahlen sind auf Proben, die bis zur Gewichtsconstanz getrocknet sind, berechnet. C und H wurden durch Verbrennen zum Theil mit Kupferoxyd bei vorgelegter Kupferspirale, zum Theil mit Kupferoxyd, Bleichromat und vorgelegter Kupferspirale bestimmt; die Stickstoff-Bestimmungen wurden nach Kjeldahl jene des Schwefels nach v. Asbóth-Düring mittelst Schmelzens mit Soda und Natriumsuperoxyd ausgeführt. Die Analysen ergaben folgendes:

1) Vergl. Hofmeister, Zeitschr. für physiolog. Chemie Bd. XXIV, S. 167.

Ebenso für Protoalbumose aschefrei berechnet.

Tabelle VIII.

%	I	II	III	IV	V	VI	IX	X	XI	XII	Mittel
C	55,64	55,35	55,20	56,36	—	—	—	—	—	—	55,64
H	6,65	6,86	6,45	7,25	—	—	—	—	—	—	6,80
N	—	—	—	—	17,35	17,58	17,80	17,91	—	—	17,66
S	—	—	—	—	—	—	—	—	1,30	1,12	1,21
O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	18,69
											100,00

Schon bei oberflächlicher Betrachtung dieser Analysenwerthe fällt auf, dass sie bei der Hetero-, noch mehr bei der Protoalbumose von der gewöhnlichen Zusammensetzung der nativen Eiweisskörper stark abweichen. Namentlich erscheinen die C- und N-Werthe auffallend hoch, die O-Werthe auffallend niedrig. Das könnte zu dem Verdacht Anlass geben, dass der Wassergehalt der Präparate durch allzu langes und intensives Trocknen künstlich eine Herabminderung erfahren hat. Ein solcher Verdacht wäre namentlich im Hinblick auf die seit Hofmeister¹⁾ wiederholt festgestellte Thatsache berechtigt, dass trockenes Erhitzen von Albumosen (Pepton der älteren Autoren) eine Veränderung derselben unter Wasseraustritt veranlasst. Eine solche Gefahr besteht in der That auch für die beiden untersuchten Substanzen. Durch anhaltendes Trocknen bei 115—120° werden sie allmählich gebräunt und verlieren noch eine erhebliche Menge Wasser. Ich selbst habe durch Vernachlässigung dieses Umstandes werthvolles Analysenmaterial verloren. Umsomehr war ich bedacht, diesem Uebelstand durch Abkürzung der Zeit des Trocknens und Vermeidung zu hoher Temperaturen zu steuern. Eine Veränderung der Eigenschaften der beiden Albumosen war ich trotzdem nicht in der Lage auszuschliessen — das Unlöslichwerden der Präparate. Eine solche «Coagulation» wäre eben nur durch einen Verzicht auf das Trocknen bei 110° zu vermeiden gewesen, wozu ich mich aber nicht entschliessen konnte, weil in solchem Fall meine Zahlen

1) Prager medicinische Wochenschrift, 1878.

gar nicht mit den in der Litteratur gegebenen Analysen von Albumosen und nativen Eiweisskörpern hätten verglichen werden können.

Für die Heteroalbumose des Fibrins liegen Analysenwerthe von Kühne und Chittenden vor, die ich nachstehend den meinen zur Seite stelle:

o/o	Kühne u. Chittenden ¹⁾ im Mittel	Mittel aus meinen Zahlen
C	50,74	55,12
H	6,72	6,61
N	17,14	17,98
S	1,16	1,22
O	24,24	19,07

Wie man sieht, zeigt der Schwefel keine wesentliche Differenz. Um so grösser ist der Unterschied im C- und O-Gehalt. Bei der sonstigen Aehnlichkeit im Verhalten der von Kühne und von mir dargestellten Präparate muss diese Thatsache befremden. Die Erklärung dafür bietet sich darin, dass abgesehen davon, dass die Scheidung der Heteroalbumose von der Protoalbumose mittelst Dialyse unvollständig ist, auch die Trennung von den übrigen Verdauungsprodukten durch Kochsalz, wie sie von Kühne und seinen Schülern geübt worden ist, ihren Zweck nur unvollkommen erreicht. In dieser Beziehung dürfte vor allem Anderen eine Verunreinigung mit kohlenhydrathaltigen Körpern die procentische Zusammensetzung beeinflussen haben. Es gelingt wenigstens recht schwer, zumal aus der Heteroalbumose, diese Beimengung zu entfernen, die bei ungereinigten Präparaten eine so schöne Kohlenhydrat-

1) Kühne u. Chittenden, Ueber Albumosen. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 2, S. 37, 1884.

reaction hervortreten lässt, dass die Heteroalbumose darnach als kohlenhydratreich angesehen werden müsste. Ich selbst bin erst nach Combination der Salzfällung mit der Alkoholmethode auf die völlige Abwesenheit von furfurolgebenden Gruppen in der Hetero- und Protoalbumose aufmerksam geworden¹⁾, welche in dieser Beziehung dem Globin²⁾ und dem Casein³⁾ nahestehen.

Was die Protoalbumose anlangt, so ergeben auch ihre Zahlen hohe C- und N-Werthe. Die ersteren übertreffen noch die entsprechenden der Heteroalbumose und gehören wohl zu den höchsten, welche Eiweisskörper überhaupt aufzuweisen haben. Sie weichen von den sonst für Verdauungsprodukte des Fibrins gefundenen so sehr ab, dass ein Vergleich überhaupt nicht möglich ist. Von den Verdauungsprodukten anderer Eiweisskörper lassen eigentlich nur die «primären» Verdauungsprodukte des Caseins einen Vergleich zu, da wegen des Zurücktretens der Heteroalbumose und kohlenhydrathaltiger Albumosen, wie es von Alexander, zum Theil in Uebereinstimmung mit Anderen, gefunden wurde, eine Verunreinigung der Protoalbumose in dieser Richtung weniger gut möglich, daher von vornherein auch bei der Anwendung minder scharfer Trennungsmethoden ein relativ reineres Produkt leichter zu gewinnen ist.

Von den alkohollöslichen Produkten, welche Schrötter aus Witte-Pepton gewann und durch Benzoyliren und Acetyliren reinigte, entspricht eines, das durch Aether aus absolut-alkoholischer Lösung gefällt, leider noch sehr aschenreiche Acetylprodukt II in seiner Zusammensetzung annähernd der Protoalbumose.

1) In meiner ersten einschlägigen Mittheilung, a. a. O. S. 272, ist noch die Molisch'sche Zuckerprobe der Protoalbumose als «schwach positiv» angegeben, während sie in den nach dem neuen Verfahren dargestellten und genügend gereinigten Präparaten ganz fehlt.

2) Fr. N. Schulz, Der Eiweisskörper des Hämoglobins. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XXIV, S. 449.

3) Alexander a. a. O. S. 424 u. 427; ferner R. H. Chittenden, Caseoses, Caseindyspeptone and Caseinpeptone. Studies from the laboratory of physiolog. chem. Yale Univers. 3, 66—105 nach Maly, Bd. 20, S. 17. Thierfelder, Zur Kenntniss der Caseinpeptone. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. X, S. 577.

Von mir dargestellte Protoalbumose aus Fibrin	Schrötter's Albumose II ¹⁾ aus dem Acetylprodukt berechnet	Propepton I von Thierfelder ²⁾		Protoocaseose von Chittenden ³⁾	Protoalbumose von Kühne und Chittenden ⁴⁾ aus Fibrin
C 55,64	55,2	55,62	54,63	54,59	50,77
H 6,80	6,6	7,45	7,45	7,11	6,78
N 17,66	17,1	—	—	15,89	17,15
S 1,21	1,5	—	—	—	1,08
O 18,69	19,6	—	—	—	24,22

Erwähnung verdient, dass die relative Löslichkeit der Protoalbumose in Alkohol unter den Eiweissstoffen nicht allein steht, da manche Pflanzeneiweissstoffe, so das in Wasser und Salzlösungen unlösliche, aber in 75—95^o/₁₀igem Alkohol lösliche Zein (Maisfibrin)⁵⁾ und die Eiweissstoffe des Klebers⁶⁾ ein ähnliches Verhalten zeigen. Bei dem hohen C- und N-Gehalt dieser Pflanzeneiweisskörper könnte sogar an nähere Beziehungen derselben zur Protoalbumose gedacht werden, doch reichen die derzeit vorliegenden Thatsachen zu weiteren Schlussfolgerungen nicht aus.

d) Bindungsweise des Schwefels.

Da die qualitative Reaction auf leicht abspaltbaren Schwefel, wenn auch nicht intensiv, so doch bei beiden Albu-

1) Schrötter, Monatshefte, Bd. 17, S. 199.

2) a. a. O. Thierfelder fällt sein Propepton I mit Alkohol aus concentrirter Lösung. Dass die «primäre» Albumose des Caseins in ihren Löslichkeitsverhältnissen in der That der Protoalbumose entspricht, ist von Alexander (a. a. O. S. 424) mit Hülfe des Alkoholverfahrens dargethan worden.

3) a. a. O.

4) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 2, S. 37, 1884.

5) Chittenden u. Osborne, A study of the proteids of the corn or maize kernel. Amer. chem. journ. 13, Nr. 78; 14, p. 65 cit. nach Maly, Bd. 22, S. 11 u. Centralbl. f. Physiol., Bd. 1892, S. 305.

6) Ritthausen cit. nach Husemann u. Hilger, Die Pflanzenstoffe, 1884, S. 1115; ferner Morishima, Ueber den Eiweissstoff des Weizenklebers. Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm., Bd. 41, S. 345.

mosen zweifellos positiv ausfiel, ging ich daran, diesen Antheil des Schwefels quantitativ festzustellen. Es wurde dabei nach den von Fr. N. Schulz¹⁾ gegebenen Vorschriften verfahren. Statt Natronlauge wurde 30%ige Kalilauge verwendet. Davon wurden 50 ccm. nebst einigen Krystallen von reinem Bismuthum nitricum und etwas fein geraspelttem Zink zu der in ein Erlenmeyer-Kölbchen abgewogenen Substanz hinzugefügt und auf dem Sandbade mit Steigrohr ca. 11 Stunden im Kochen erhalten; die Lösung wurde dann mit Essigsäure angesäuert, filtrirt und nach gründlichem Auswaschen und Trocknen der Schwefelgehalt des Rückstands nach v. Asbóth-Düring bestimmt.

Heteroalbumose.

I.

$$0,2948 \text{ g Substanz} : 0,0212 \text{ g BaSO}_4 = 0,002916 \text{ g S.}$$

II.

$$0,2981 \text{ g Substanz} : 0,0246 \text{ g BaSO}_4 = 0,003384 \text{ g S.}$$

Protoalbumose.

$$0,2725 \text{ g Substanz} : 0,0244 \text{ g BaSO}_4 = 0,003356 \text{ g S.}$$

Der Vergleich mit den Procentzahlen des Gesamtschwefels gestaltet sich daher folgendermassen:

Tabelle IX.

	Heteroalbumose		Protoalbumose	
Gesamtschwefel	1,17 %	1,27 %	1,30 % -	1,12 %
Abspaltbarer Schwefel	0,99 %	1,14 %	1,24 %	

Wie man aus dieser Zusammenstellung ersieht, lässt sich aus beiden Albumosen der gesammte Schwefel — die geringen Differenzen fallen in die Fehlergrenzen des aus mehreren Operationen sich zusammensetzenden Verfahrens — als Schwefelmetall abspalten, er gehört also dem sogenannten leicht abspaltbaren Schwefel an. Dieser Befund ist vor Allem dadurch von

1) Fr. N. Schulz, Die Bindungsweise des Schwefels im Eiweiss. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, S. 16.

Interesse, weil er es als wahrscheinlich oder doch als möglich erscheinen lässt, dass nicht alle Bestandtheile des Fibrinmoleküls in den beiden Spaltungsprodukten vertreten sind; denn wenn auch die älteren Untersuchungen¹⁾ über die Bindung des Schwefels im Fibrin mit nicht ganz zureichenden Methoden ausgeführt sind und Versuche mit dem von Schulz benützten Verfahren fehlen, so geht doch aus später mitzutheilenden, von mir ausgeführten Untersuchungen anderer Spaltungsprodukte des Fibrins hervor, dass diese festgebundenen Schwefel im Sinne von Schulz besitzen. Vorausgesetzt, dass diese feste Bindung nicht erst unter dem Einflusse des peptischen Ferments aus einer lockeren entstanden ist, wofür vorläufig keine Wahrscheinlichkeit vorliegt, somit auch keine der beiden «primären» Albumosen bei weiterer hydrolytischer Spaltung ein Produkt mit festgebundenem Schwefel liefert, so ergibt sich, dass, falls ein solches Produkt bei der Spaltung auftritt, dieses aus einem anderen Theil des Eiweissmoleküls seinen Ursprung nehmen muss.

Durch das Fehlen des festgebundenen Schwefels wird, wenn auch nicht in dem Maasse, wie durch den Mangel einer Kohlenhydratgruppe, vorerst die Vorstellung unhaltbar, dass die Proto- und Heteroalbumose die Muttersubstanzen aller sonst auftretenden Spaltungsprodukte, somit die einzigen «primären» Verdauungsprodukte sind.

e) Bindungsweise des Stickstoffs.

Die hier folgenden Bestimmungen hatten zunächst den Zweck, zu untersuchen, ob die Proto- und Heteroalbumose in der Bindungsweise des Stickstoffs, ähnlich wie etwa beim Schwefel, eine Uebereinstimmung zeigen würden, sollten aber überdies ermöglichen, einen Ueberblick über die quantitative Vertheilung der einzelnen durch verschiedene Stickstoffbindung charakterisirten Atomgruppen in den beiden Albumosen zu gewinnen. Die Bestimmungen wurden angeregt durch die Resultate, welche

1) Vgl. Krüger, Pflüger's Archiv, Bd. 43, S. 250 u. ff., 1888.

W. Hausmann¹⁾ im hiesigen Institut bei der Untersuchung verschiedener Eiweisskörper erhalten hat, und nach der von ihm beschriebenen Methode ausgeführt.

Behufs Zersetzung wurde mit reiner, concentrirter Salzsäure durch 5—7 Stunden gekocht; die Lösungen der Heteroalbumose waren nach vollendeter Zersetzung klar, rothbraun gefärbt; ein Melanoidinniederschlag war erst nach Magnesiadestillation beim Einengen der angesäuerten Lösung sichtbar, während die Protoalbumosenlösungen bereits bei der Salzsäurezersetzung einen solchen lieferten.

Im Laufe der Bestimmungen hat es sich als zweckmässig erwiesen, die Oxydation der nach Kjeldahl zu untersuchenden Flüssigkeiten derart vorzunehmen, wie es der ursprünglichen, von Kjeldahl²⁾ bei seiner N-Bestimmung angegebenen Vorschrift entspricht. Zu der mit Kjeldahl-Säure ca. 15—20 Minuten (bis zur Dunkelfärbung) gekochten Lösung wurde nach einigem Abkühlen fein gepulvertes Kaliumpermanganat zugesetzt und dann das Erhitzen fortgesetzt; schon nach kurzem Kochen beginnt sich die Lösung aufzuhellen, und die Oxydation ist in der Regel nach 5—6 Stunden beendet. Die in anderer Weise durchgeführten Zersetzungen erwiesen sich häufig selbst nach längerem Kochen als unzureichend.

Die mit beiden Körpern vorgenommenen Bestimmungen ergaben folgende Werthe:

Tabelle X.

A. Bestimmung des Amidstickstoffs.³⁾

Substanzmenge	Menge des gefundenen NH ₃ in g	Menge des gefundenen Amid-N in g	Amidstickstoff	
			%	Mittel
Heteroalb. A	0,9383 g	0,01239	1,09	} 1,16
	1,1839 »	0,01649	1,15	
Heteroalb. B	0,8048 »	0,01221	1,25	} 1,26
Protoalb. B	0,7196 »	0,01101	1,26	

1) W. Hausmann, Ueber die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekül. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. XXVII, S. 95. Herrn Hausmann bin ich für seine vielfache, liebenswürdige Unterstützung bei Ausführung der Bestimmungen zu besonderem Danke verpflichtet.

2) J. Kjeldahl, Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. XXII, S. 366.

3) Amidstickstoff im Sinne von Hausmann = leicht abspaltbarer Stickstoff = Ammoniak-Stickstoff anderer Autoren.

Tabelle XI.

B. Bestimmung des Diaminostickstoffs.¹⁾

Substanzmenge	Volumen der Gesamtlösung in ccm.	Zur Bestimmung verwendete Menge in ccm.	Menge des direkt gefundenen NH ₃ in g	Diaminostickstoffmenge			
				direkt gefunden	auf die Gesamtmenge berechnet	in %	im Mittel
Heteroalb. B 0,8048 g	200	60	0,02053	0,0169	0,05635	7,00	7,00 4,49
Protoalb. B 0,7196 >	200	60	0,01281	0,01055	0,03516	4,88	
0,7196 >	200	60	0,01077	0,008871	0,02956	4,11	

Tabelle XII.

C. Bestimmung des Monaminostickstoffs.

Substanzmenge	Volumen der Gesamtlösung in ccm.	Zur Bestimmung verwendete Menge	Menge des direkt gefundenen NH ₃ in g	Monaminostickstoffmenge			
				direkt gefunden	auf die Gesamtmenge berechnet	in %	im Mittel
Heteroalb. A	0,9383 g	500	0,02457	0,02024	0,1012	10,77	10,32 12,32
	0,9383 >	500	0,02093	0,01724	0,09578	10,19	
Heteroalb. B	0,8048 >	500	0,02518	0,02073	0,08638	10,73	
	0,8048 >	500	0,02246	0,01850	0,07707	9,58	
Protoalb. B	0,7196 >	500	0,02680	0,02207	0,09197	12,78	
	0,7196 >	500	0,02489	0,02049	0,08539	11,87	

Tabelle XIII.

D. Zusammenstellung der Mittelwerthe.

	Amid-N %	Diamino-N %	Monamino-N %	Summe	Mittel des N-Gehaltes der Substanz
Heteroalbumose.	1,16	7,00	10,32	18,48	17,98
Protoalbumose..	1,26	4,49	12,32	18,07	17,66

1) Der Diaminostickstoff (auch basischer N) entspricht dem N-Gehalt an Arginin, Lysin und Histidin und etwaigen sonstigen durch Phosphorwolframsäure fällbaren Spaltungsprodukten ausser Ammoniak.

Die gleichen Werthe berechnet in Procent des N-Gehaltes des untersuchten Körpers:

	Amid-N %	Diamino-N %	Monamino-N %	Summe	Mittel des N-Gehaltes der Substanz
Heteroalbumose.	6,45	38,93	57,40	102,78	100,00
Protoalbumose..	7,14	25,42	68,17	100,73	100,00

Vorstehende Zusammenstellung lässt den tiefgreifenden Unterschied, der in dem Bau der Proto- und Heteroalbumose bestehen muss, deutlich hervortreten. Zwar besteht in Betreff des Amidstickstoffs Uebereinstimmung, wie sich denn in diesem Punkte auch aus Hausmann's¹⁾ Zahlen kein grosser Unterschied zwischen krystallisirtem Eieralbumin, krystallisirtem Serumalbumin und dem Serumglobulin ergibt. Während aber die Protoalbumose annähernd ähnliche Zahlen wie diese Eiweisskörper, namentlich eine auffällige Uebereinstimmung mit dem Serumglobulin aufweist, zeigt die Heteroalbumose einen für einen thierischen Eiweisskörper ausserordentlich hohen Gehalt an basischem Stickstoff, der selbst jenen des Leims überragt, und demgemäss einen geringeren Gehalt an Monaminostickstoff. Dass übrigens die Heteroalbumose eine Sonderstellung im Eiweissmolekül besitzt, geht auch aus dem Befunde Oswald's²⁾ hervor, der bei der Pepsinverdauung des Thyreoglobulins im Gegensatze zu den übrigen dabei erhaltenen Albumosen die Heteroalbumose jodfrei fand. Inwieweit dieser Befund zu einem Schluss auf die Constitution beider Albumosen berechtigt, kann erst nach Zerlegung derselben in ihre Spaltungsprodukte, wozu eben der erste Anfang gemacht ist (s. unten), mit Nutzen erörtert werden.

IV. Spaltungsversuche.

Die mitgetheilten Beobachtungen lehren, dass zwischen Proto- und Heteroalbumose trotz des gleichen Verhaltens gegen

1) W. Hausmann a. a. O. S. 105, Tab. V.

2) A. Oswald, Die Eiweisskörper der Schilddrüse. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXVII, S. 42 und 43.

Salzfällung und trotz ähnlicher Zusammensetzung deutliche, zum Theil auf einen abweichenden chemischen Bau hinweisende Verschiedenheiten bestehen. Eine nähere Aufklärung über diesen wichtigen Punkt war nur von Abbauversuchen zu erwarten. Leider ist die Gewinnung der reinen Albumosen noch immer so zeitraubend und kostspielig, dass ich für diese Versuche jedesmal nur wenige Gramm Substanz verwenden konnte. Eine weitere Schwierigkeit stand mir darin entgegen, dass für die Charakterisirung einzelner Zersetzungsprodukte der Eiweisskörper, so z. B. der Glutaminsäure und Asparaginsäure, nur recht unvollkommene Methoden zu Gebote stehen, so dass nur ein positives Resultat einen Schluss gestattet, während der negative Befund noch lange nicht das Vorhandensein solcher wenig charakterisirten Spaltungsprodukte ausschliesst. Man ist daher, ehe bessere, namentlich auch quantitative Methoden ausgemittelt werden, angewiesen, sich auf den Nachweis jener Produkte zu beschränken, welche durch Massenhaftigkeit ihres Auftretens oder Prägnanz der Reactionen die Auffindung erleichtern.

a) Spaltung durch Säure.

1. Heteroalbumose.

4 g des Präparates B wurden durch 5¹/₂ Stunden mit 25 ccm. reiner concentrirter Salzsäure in einem Kölbchen mit Steigrohr auf dem Sandbade im Sieden erhalten, von dem abgetrennten Melanin abfiltrirt, die Lösung derart verdünnt, dass die Salzsäure ca. 5 procentig war, und mit Phosphorwolframsäure gefällt; der entstandene reichliche Niederschlag, die Diaminosäuren enthaltend, auf deren Isolirung angesichts der geringen Aussicht einer genügenden Ausbeute verzichtet werden musste, wurde nach dem Absitzenlassen von der Lösung abfiltrirt und nur das Filtrat weiter verarbeitet. In dasselbe wurde Barythydrat bis zur bleibend alkalischen Reaction eingetragen, der Niederschlag abfiltrirt, der überschüssige Baryt im Filtrat mit Schwefelsäure bei einem geringen Ueberschuss der Säure ausgefällt und die Salzsäure aus der filtrirten Lösung durch an-

dauerndes Durchleiten von heissem Wasserdampf zum grössten Theil entfernt. Die etwas eingeeengte Flüssigkeit wurde dann mit Baryumcarbonat gekocht, wobei einerseits die restliche Schwefelsäure in Baryumsulfat, andererseits etwa vorhandene Glutamin- und Asparaginsäure in die alkoholunlöslichen Barytsalze verwandelt wurden, die vom Baryumsulfat und dem überschüssigen Baryumcarbonat abfiltrirte Lösung auf einige Cubikcentimeter eingedampft und mit 50—60^o/igem Alkohol in Schälchen gut verrieben, der schmierige Niederschlag auf dem Filter zuerst mit verdünntem, dann mit 95^o/igem Alkohol gewaschen und abgepresst. Aus dem alkoholischen Filtrat wurde der Alkohol auf dem Wasserbade verjagt und die Lösung bis beinahe zur Syrupdicke concentrirt. Der nach einiger Zeit durchwegs von Leucinkugeln durchsetzte Syrup wird wiederholt mit $\frac{2}{3}$ verdünntem 95^o/igem Alkohol extrahirt, wobei allmählich der ganze Syrup in den Alkohol übergeht bis auf einen unbedeutenden Rückstand, von dem eine Probe Millon'sche Reaction zeigt. Dieser Rest, aus ammoniakalischem Alkohol umkrystallisirt, hat ein kreidiges Aussehen und zeigt unter dem Mikroskope vereinzelte Nadeln, aber keine typischen Tyrosinformen. Die alkoholischen Auszüge, eingedampft und einzeln neuerdings mit verdünntem und ammoniakalischem Alkohol behandelt, liefern ausschliesslich Leucin in glashellen Sphäriten und gaben keine oder undeutliche Millon'sche Reaction. Proben davon in der Eprouvette erhitzt sublimiren und zersetzen sich unter typischem Geruch nach verbrennendem Leucin.

Der Rest, welcher als Tyrosin angesehen werden musste, verschwand gegenüber der Menge erhaltenen Leucins; da es jedoch wahrscheinlich schien, dass in den die Barytsalze enthaltenden Alkoholniederschlag Tyrosin übergegangen war, wurde auch dieser auf Tyrosin untersucht. Er wurde gelöst, die wässrige Lösung mit Quecksilberacetat gefällt, der voluminöse Niederschlag aufs Filter gebracht und gut nachgewaschen, das Filtrat, das allenfalls Tyrosin enthalten konnte, mit Schwefelwasserstoff von Quecksilber befreit, aus der filtrirten Lösung der Schwefelwasserstoff auf dem Wasserbade vertrieben und der geringe Rückstand nochmals in Wasser gelöst und vorsichtig ein-

geengt; auch hier fehlte Tyrosin, es krystallisirte nur etwas Leucin aus.

Der Quecksilberacetatniederschlag wurde auf Glutamin- und Asparaginsäure verarbeitet. Er wurde in Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das zum Syrup eingeeengte Filtrat unter Kühlung des Schälchens mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Selbst nach tagelangem Stehen des salzgesättigten Syrups in der Kälte gelang es jedoch nicht, eine Abscheidung von salzsaurer Glutaminsäure zu erzielen; auch ein Versuch, aus der Lösung nach Kochen mit Kupfercarbonat asparaginsaures Kupfer darzustellen, führte zu keinem Resultat; die Lösung färbte sich wohl hellblau, lieferte aber beim Einengen immer wieder einen amorphen Syrup.

Lässt das Misslingen der Abscheidung der Glutaminsäure und Asparaginsäure die Frage unbeantwortet, ob diese Aminosäuren thatsächlich fehlen, da ein Nachweis derselben auf Grund der bisher bekannten Methoden nur bei grösseren Mengen möglich ist, so liegen die Verhältnisse beim Tyrosin-nachweis viel günstiger, da wegen seiner Schwerlöslichkeit die Isolirung dieses Körpers unter den Spaltungsprodukten des Eiweisses am leichtesten gelingt. Es geht daher aus dem Angeführten hervor, dass unter den Zersetzungsprodukten der Heteroalbumose neben grossen Mengen Leucin Tyrosin nicht, oder nur in sehr geringer Menge entsteht.

Unter diesen Verhältnissen drängte sich die Frage auf, ob nicht die aromatische Gruppe in der Heteroalbumose in anderer Form als der des Tyrosins vorhanden sei, und dies gab die Veranlassung zu folgendem Versuch:

3 g desselben Präparates wie vorher wurden in verdünnter Kalilauge gelöst, mit Kaliumpermanganat in Substanz versetzt und behufs Beschleunigung der Oxydation auf dem Sandbade bei 35—40° gehalten; nach Absitzen des entstandenen Braunsteinniederschlags wurde zu der nunmehr entfärbten Lösung wiederum Permanganat zugesetzt und dies in der gleichen Weise durch einige Tage wiederholt, bis die Lösung nach Permanganatzusatz sich nicht mehr entfärbte, die Oxydation also beendigt war. Die roth gefärbte alkalische Lösung wurde

nun von dem massenhaften Niederschlage abfiltrirt, mit Salzsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt; nach Verdunsten desselben bei Zimmertemperatur hinterblieb ein relativ reichlicher, krystallinischer Rückstand, der typischen Benzoesäuregeruch aufwies. Der Körper wurde aus heissem Wasser und aus Aether umkrystallisirt und stellte gereinigt weisse, in Wasser unlösliche, leicht in Aether lösliche Schüppchen dar, die beim Erhitzen unter Entwicklung von charakteristischem Geruch schmolzen und sublimirten. Bei Erwärmen mit Methylalkohol und concentrirter Schwefelsäure trat Geruch nach Benzoesäuremethylester ein, ebenso mit Aethylalkohol und concentrirter Schwefelsäure nach Benzoesäureäthylester; beim Verdampfen mit concentrirter Salpetersäure entwickelte sich Nitrobenzolgeruch; die durch Neutralisiren mit Ammoniak hergestellte Ammoniumverbindung gab mit Eisenchlorid einen flockigen, rothgefärbten Niederschlag. Der bei der Oxydation der Heteroalbumose entstandene Körper war somit Benzoesäure, und da diese bei der Oxydation von Tyrosin nicht entstehen dürfte, so weist dieser Befund auf einen anderen nicht im Kern hydroxylierten aromatischen Complex hin, etwa die von Schulze und Barbieri¹⁾ aufgefundene Phenylamidopropionsäure.

Die Uebereinstimmung, welche in einigen Punkten zwischen der Heteroalbumose und dem Glutin gegeben ist, hoher Gehalt an Diaminostickstoff, Abwesenheit von Tyrosin und Indol (s. unten) liefernden Complexen, sowie der Kohlenhydratgruppe,²⁾ legten eine Untersuchung der mit Säure erhaltenen Spaltungsprodukte der Heteroalbumose auf Glycocoll nahe. Herr Privatdocent Dr. Spiro, welcher zum Nachweis von Glycocoll unter den Zersetzungsprodukten der Eiweissstoffe ein empfindliches, auf Benzoylirung und Condensation der ge-

1) E. Schulze, Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 72.

2) Glutin gibt zwar Molisch's Reaction, doch ist es bisher nicht gelungen, daraus osazonlieferndes Kohlenhydrat abzuspalten (Krawkow, Pflüger's Archiv, Bd. 65, S. 281).

bildeten Hippursäure mit Benzaldehyd sich gründendes Verfahren ausgearbeitet hat, vermochte in der That mit demselben unter den Spaltungsprodukten von mir dargestellter reiner Heteroalbumose reichlich Glycocoll nachzuweisen.¹⁾

2. Protoalbumose.

1 g des Präparats B wird in gleicher Weise wie die Heteroalbumose zersetzt; die erhaltene dunkelgefärbte Lösung wird mit Wasser entsprechend verdünnt und mit Phosphorwolframsäure gefällt; auch hier wird der Niederschlag nicht weiter verarbeitet. In das Filtrat wird Barythydrat bis zur bleibend alkalischen Reaction eingetragen, dabei die Phosphorwolframsäureabscheidung durch längeres Erwärmen auf dem Wasserbade beschleunigt und in der filtrirten Lösung der Baryt mit Schwefelsäure genau ausgefällt. Nach Abscheidung des Baryumsulfats wird durch wiederholtes Einengen der Lösung auf dem Wasserbade ein grosser Theil der Salzsäure verjagt und der Rest durch Schütteln mit Silberoxyd als Chlorsilber ausgefällt. Aus dem Filtrat wird das Silber mit Schwefelwasserstoff entfernt, dieser in der filtrirten Lösung durch Eindampfen verjagt und der erhaltene Syrup mit ca. 60%igem, schwach ammoniakalischem Alkohol in 2 ziemlich gleich starke Fractionen zerlegt. Der nicht in den Alkohol übergegangene Antheil stellt nach dem Eintrocknen eine weisse kreibige Masse dar, die nach zweimaligem Umkrystallisiren aus ammoniakalischem Alkohol ausschliesslich aus typischen Tyrosinkrystallen theils in Garbenform, theils in aggregirten dunklen Kugeln besteht; die Krystalle geben in ausgesprochenster Weise sowohl die Millon'sche, als auch die Piria'sche Reaction. Die verdünnt alkoholische Lösung zeigt nach dem freiwilligen Eindunsten unter dem Mikroskope beinahe ausschliesslich opake Kugelaggregate; beim Umkrystallisiren aus ammoniakalischem Alkohol scheiden sich zunächst krystallinische Häute an der Flüssigkeits-

1) Vergl. diese Zeitschr., Bd. XXVIII, S. 186.

oberfläche, bei weiterem Auskrystallisiren dunkle, aus Nadelchen bestehende Garben und Kugeln, dagegen keine charakteristischen Leucinformen aus. Dass die Ausscheidung aus Tyrosin bestand, wurde nach weiterer Reinigung durch die Millon'sche Probe erwiesen. Dass übrigens auch Leucin, wenn auch in geringer Menge, vorhanden war, wird dadurch wahrscheinlich, dass eine Probe des Krystallbreis in der Eprouvette erhitzt ein Sublimat und deutlichen Geruch nach verbrennendem Leucin entwickelte. Auf andere eventuell in der Mutterlauge befindliche Spaltungsprodukte konnte der geringen Menge wegen nicht untersucht werden. Während bei allen tyrosinliefernden Eiweisskörpern unter den Zersetzungsprodukten das Leucin die bei Weitem überwiegende Hauptmasse bildet, tritt hier das Tyrosin derart hervor, dass ihm unter den sonst noch vorhandenen Aminosäuren der Hauptantheil zufällt. Hält man dem gegenüber, dass bei der Heteroalbumose sich Tyrosin höchstens in Spuren auffinden lässt, so ist die Vermuthung berechtigt, dass die beiden Produkte nicht auseinander, sondern unabhängig von einander entstehen. Herr Dr. Spiro untersuchte auch die Protoalbumose auf Glycocoll, doch mit negativem Erfolg.

b) Einwirkung von schmelzendem Kali.

Eine Probe von Heteroalbumose, in schmelzendes, etwas wasserhaltiges Kalihydrat eingetragen, löst sich zuerst in der Schmelze, wird dann aber anscheinend durch das Kali wieder ausgefällt. Weder bei kürzerem, noch bei längerem Schmelzen kann Indol- oder Skatolgeruch wahrgenommen werden; löst man die Schmelze in Wasser, so tritt ein äusserst schwacher Indolgeruch auf; nach Uebersättigung mit Schwefelsäure entwickelt sich ein intensiver Geruch nach niederen Fettsäuren. Pyridingeruch wurde nicht beobachtet.

Die Protoalbumose löst sich leicht in der Schmelze und gibt sogleich den intensivsten Indol- und Skatolgeruch; nach Wasserzusatz und Ansäuern mit Schwefelsäure tritt auch hier derselbe Fettsäuregeruch auf, doch bedeutend schwächer als

bei der Heteroalbumose; Pyridin wurde auch hier nicht bemerkt.

Die Ergebnisse der Kalischmelze stimmen gut überein mit den früher gemachten Befunden; die Heteroalbumose entspricht in ihrem Verhalten jenen Proteinstoffen, welche, wie der Leim, in ihrem Molekül kein Tyrosin besitzen und weder bei der Kalischmelze noch bei der Fäulniss Indol oder Skatol liefern. Die Protoalbumose steht dagegen den echten Eiweisskörpern, welche die Abspaltung von Indolderivaten gestatten, näher.

c) Spaltung durch Verdauungsfermente.

An die Untersuchung der tiefgreifenden Einwirkung von Säure und Alkali schliesst sich zweckmässig die Betrachtung der fermentativen Spaltung an, welche zu der Muttersubstanz näher stehenden Abbauprodukten führt. Die bei der Verdauung der Proto- und Heteroalbumose gebildeten Produkte habe ich durch ihr Verhalten gegenüber der fractionirten Aussalzung mit Ammonsulfat charakterisirt.

a) Pepsinverdauung.

1. Heteroalbumose.

1 g Heteroalbumose B wurde in 100 ccm. 3⁰/₁₀₀iger Salzsäure gelöst, mit etwas Pepsin¹⁾ versetzt und im Brutschrank bei einer Temperatur von 35—40⁰ gehalten; die Lösung der Heteroalbumose erfolgte rasch, und das Verdauungsgemisch stellte eine klare, gelb gefärbte Lösung dar; die Verdauung begann am 7. III. Die in bestimmten Zeiträumen entnommenen Proben wurden neutralisirt, aufgeköcht und mit Ammonsulfat fractionirt; es ergab sich Folgendes:

¹⁾ Angewendet wurde Pepsinum purissimum (Grübler) und zwar das gleiche Präparat, das sich bereits mehrfach sehr gut bewährt hatte, und dessen Beschaffenheit von Umber kurz besprochen worden ist. Vergl. Umber a. a. O., S. 262.

Tabelle XIV.

Verdauungs- dauer	$\frac{1}{2}$ -Sättigung	$\frac{2}{3}$ -Sättigung	Sättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz ¹⁾ zur gesättigten Lösung	Albumosen- freies Filtrat
24 Stunden	Opalescenz; nach einigem Stehen flockige Aus- scheidung	starke Opalescenz	starke Opales- cenz und Aus- scheidung von dunklen, dichten Flocken, die sich bei längerem Stehen noch vermehrten	die Lösung bleibt voll- ständig klar	schön violett gefärbte Biuret- reaction; keine Reaction nach Molisch; auf Jodjod- kaliumzusatz starke Fällung

Genau das gleiche Bild zeigen die nach 2. 3 und 5 Tagen entnommenen Proben.

15 Tage	Opalescenz; beim Stehen über Nacht Flocken; auf Zusatz von 30% Alkohol nach einigem Stehen flockige Abscheidung	starke Opalescenz und flockige Ausscheidung	dichte Trübung	klar	Biuret- reaction positiv. Molisch's Reaction negativ; starke Fällung auf Jodjod- kaliumzusatz
---------	--	--	-------------------	------	---

Am 30. III., also nach 3 Wochen, wurde die Verdauung abgebrochen, die Verdauungslösung neutralisirt, auf dem Wasserbade bis auf einige Cubikcentimeter eingengt und mit 80%igem Alkohol gefällt; der reichliche, flockige Niederschlag von der alkoholischen Lösung abfiltrirt und Niederschlag, sowie Filtrat getrennt behandelt. Der Niederschlag wurde abgepresst, in Wasser gelöst, nochmals neutralisirt und in ca. 5%iger Lösung mit Ammonsulfat in folgende Fractionen zerlegt:

1) Verdünnte Essigsäure, Tropfen für Tropfen zugesetzt.

$\frac{1}{2}$ -Sättigung	$\frac{2}{3}$ -Sättigung	Sättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz zur gesättigten neu- tralen Lösung	Albumosen- freies Filtrat
dichte Trübung, nach längerem Stehen flockige Abscheidung	starke Trübung und Ausscheidung in Schlieren; nach kurzem Stehen starker flockiger Niederschlag	starke Trübung und Abscheidung in reichlichen Flocken	schwache, aber deutliche Opalescenz	rothe Biuret- reaction, keine Mo- lisch'sche Reaction; Lugol'sche Lösung, sowie Jod- quecksilber- kalium gaben Fällungen

Das Filtrat wurde bis zur Trockene eingedampft, wobei ein verhältnissmässig nur geringer Trockenrückstand zurückblieb; dieser wurde in Wasser gelöst, neutralisirt und wie der Niederschlag mit Ammonsulfat behandelt.

$\frac{1}{2}$ -Sättigung	$\frac{2}{3}$ -Sättigung	Sättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz zur gesättigten neu- tralen Lösung	Albumosen- freies Filtrat
Spur Opalescenz	flockiger Niederschlag	dichte Trübung und Ausscheidung in Schlieren und Flocken	keine Trübung	Biuret- reaction schön roth; keine Mo- lisch'sche Reaction; Fällung mit Jodjodkalium und Jod- quecksilber- kalium

Von den Ergebnissen dieser Verdauungsversuche scheint zunächst der langsame Abbau der Heteroalbumose durch Pepsin bemerkenswerth. Selbst dreiwöchentliche Verdauung in 1%iger Lösung war nicht im Stande, ein völliges Verschwinden derselben herbeizuführen, obwohl bereits nach den ersten 24 Stunden deutlich Zerfall in weitere Abbauprodukte erfolgt war. Diese beiden, scheinbar sich widersprechenden Thatsachen finden vermuthlich ihre Erklärung in der allmählichen Abschwächung der Fermentwirkung durch die zunehmende Menge der Verdauungsprodukte.

Als bei der Verdauung der Heteroalbumose entstehende Spaltungsprodukte ergaben sich: eine geringe Menge eines bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung der heteroalbumosenfreien Lösung sich abscheidenden Körpers, der mit Bleiacetat in alkalischer Lösung gekocht Schwefelblei abscheidet (A_h); ein zweiter, wie es scheint in grosser Menge vorhandener (B_h), fällt aus bei Sättigung des neutralen Filtrats von A_h ; von beiden Körpern wird ein erheblicher Theil in 80%igem Alkohol aufgenommen; endlich lässt sich nach Abscheidung von B_h durch vorsichtiges Ansäuern des Filtrates eine immer nur in Spuren nachweisbare Substanz C_h ausfällen. Die nach Abscheidung dieser Albumosen erhaltene Lösung enthält durch Jodquecksilberkalium und Jodjodkalium fällbare Körper von der Beschaffenheit des Peptons B; auch von diesen lässt sich, und zwar wahrscheinlich der allergrösste Theil in 80%igem Alkohol lösen. Pepton A, das, wie anderweitig gezeigt werden soll, ein Spaltungsprodukt einer kohlenhydratreichen Albumose B darstellt, war niemals vorhanden; dies ging aus dem negativen Ausfall der äusserst empfindlichen Reaction nach Molisch hervor.

Wie man sieht, entstehen bei der peptischen Verdauung der Heteroalbumose Verdauungsprodukte, die in ihrem Verhalten gegen Salz und Alkohol den Deuteroalbumosen A, B und C (Spuren) und dem Pepton B entsprechen. Eine Identität der so erhaltenen Produkte, namentlich der Albumosen, mit den aus Fibrin direkt entstandenen anzunehmen, wäre jedoch unstatthaft. Das Fehlen der Kohlenhydratgruppe in dem Molekül der Heteroalbumose schliesst bei ihr die Entstehung kohlen-

hydrathaltiger Verdauungsprodukte, z. B. der Albumose B, wie sie aus Witte-Pepton zu isoliren ist, einfach aus. Aber auch die Bildung indol- und skatolliefernder Derivate wird durch das entsprechende Verhalten der Heteroalbumose unwahrscheinlich.

Da von vornherein die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, unter den Verdauungsprodukten der Heteroalbumose auch Protoalbumose zu finden, wurde deren Nachweis in der oben angeführten Weise versucht. In dem mit 80⁰/₀igem Alkohol ausgezogenen Theil der Verdauungslösung der Heteroalbumose liess sich nach Verjagung des Alkohols durch $\frac{1}{2}$ -Sättigung mit Ammonsulfat nur eine schwache Opalescenz erzeugen, die in gar keinem Verhältniss, weder zu den Resten der unverdauten Heteroalbumose, noch auch zu der Menge der übrigen Spaltungsprodukte stand und wohl nur als Verunreinigung seitens einer anderen Fraction gedeutet werden kann; auch ergaben in früheren Verdauungsphasen entnommene Proben mit 30⁰/₀igem Alkohol Fällungen, die der Menge nach der Salzfällung bei $\frac{1}{2}$ -Sättigung vollkommen entsprachen und nur auf die Anwesenheit unveränderter Heteroalbumose zu beziehen waren. Es darf demnach als sicher angenommen werden, dass nennenswerthe Mengen der Protoalbumose aus Heteroalbumose nicht entstehen, ein Befund, der mit der oben angeführten Beobachtung Oswald's¹⁾ bezüglich der Albumosen des Thyreoglobulins in voller Uebereinstimmung steht.

2. Protoalbumose.

Das Verfahren war hier das gleiche wie bei der Heteroalbumose. 1 g der Protoalbumose B wird am 7. III. in 100 cem. 0,3⁰/₀iger Salzsäure vertheilt mit Pepsin versetzt und bei 35—40⁰ verdaut; das Präparat löst sich in der Salzsäure leicht auf, und die schön hellgelb gefärbte Lösung bleibt bis zum Schlusse des Versuches völlig klar und ohne Bodensatz. Die einzelnen Proben ebenso behandelt, wie bei der Heteroalbumose, zeigten folgendes Verhalten:

1) Siehe S. 257.

Tabelle XV.

Verdauungs- dauer	1/2-Sättigung	2/3-Sättigung	Ganzsättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz zur gesättigten neutral. Lösung	Albumosenfreies Filtrat
24 Stunden 2 Tage 3 » 5 »	Trübung und Abscheidung eines flocki- gen Nieder- schlages	starke Opalescenz ¹⁾	gleichmässige	klar	rothgefärbte Biuret- reaction; Molisch's Reaction ne- gativ; mit Lugol'schem Reagens er- folgt Fällung
		schwache » ¹⁾	Opalescenz	»	
		» » ¹⁾	und Ausschei- dung von	»	
		starke » ¹⁾	dichten, dunk- len, klebrigen Flocken	»	
15 »	Fällung; (eine Probe mit 45% Alkohol ver- setzt, bleibt selbst nach mehrtägigem Stehen klar)	starke Opalescenz; bei längerem Stehen ker- niger Nieder- schlag	dichte Trübung	»	der gleiche Befund
24 »	Opalescenz; später Ab- scheidung von Flocken	flockiger Nie- derschlag; das Filtrat gibt keine Mo- lisch'sche Reaction	Trübung; nach längerem Stehen flockige Ab- scheidung; dieselbe gibt keine Mo- lisch'sche Reaction	»	schöne Biuret- reaction; Jodquecksil- berkalium + HCl gibt Trübung, welche sich in der Wärme löst, ebenso im Ueber- schuss der Säure, Jodjod- kalium einen reichlichen Niederschlag, Molisch's Reaction bleibt negativ
58 »	schwache Opalescenz	starker, schön flockiger Niederschlag	der gleiche Befund wie oben	»	»

1) Nach längerem Stehen flockiger Niederschlag.

Bei Ueberblick dieser Tabelle ersieht man zunächst eine gewisse Aehnlichkeit mit dem peptischen Abbau der Heteroalbumose. Auch hier erfolgte keine völlige Verdauung des Präparates, ja es scheint, wie aus den beträchtlichen Niederschlägen bei Halbsättigung zu entnehmen ist, dass die Verdauung noch langsamer fortschritt, als bei der Heteroalbumose; sie war nach ungefähr achtwöchentlicher Verdauungsdauer noch nicht vollständig. Von den gebildeten Produkten erfolgte eine reichliche Ausscheidung eines Körpers bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung (A_p), eine dem gegenüber spärliche bei voller Sättigung der neutralen Lösung (B_p); der erstere, in verdünntem Alkohol löslich, gab selbst in concentrirterer Lösung beim Kochen mit Bleiacetat und Natronlauge nur eine schwache Braunfärbung, der letztere erwies sich nach dem Verhalten gegen die Molisch'sche Reaction kohlenhydratfrei. Durch Säurezusatz konnte in dem Filtrat von B_p niemals eine Reaction erzielt werden; es fehlte sonach der der Albumose C analoge Körper. Das nach Ausfällung der Lösung mit Ammonsulfat und Säure erhaltene Filtrat enthielt keinen Körper von der Beschaffenheit des Pepton A, dagegen andere Produkte peptonartigen Charakters, wie dies die intensive Biuretreaction anzeigte. Der Zusatz von Jodjodkalium brachte einen auffallend reichlichen Niederschlag hervor. Es ist natürlich, dass, wie bei der Heteroalbumose, auch hier die Verdauungsprodukte von dem Charakter der Muttersubstanz abhängig sind. Dies gilt zunächst von dem Mangel der Kohlenhydratgruppe. Dann aber muss der so reichlich in der Protoalbumose vorhandenen tyrosingebenden Gruppe bei der Beurtheilung der Eigenschaften der einzelnen Derivate eine wichtige Rolle zugesprochen werden; schon aus diesem Grunde ist trotz des ähnlichen Verhaltens bei der Salzfällung ein Unterschied wenigstens für bestimmte, sonst einander entsprechende Verdauungsprodukte beider Albumosen zu erwarten.

β) Trypsinverdauung.

1. Heteroalbumose.

I. Hier sei zunächst ein Verdauungsversuch angeführt mit einem älteren Präparat, dessen Darstellung sich von den

analysirten Produkten dadurch unterschied, dass seine Reinigung statt mit 30⁰/₀igem mit 47⁰/₀igem Alkohol erfolgt war. 1 g dieser Heteroalbumose wurde in 100 ccm. H₂O, das mit einigen Tropfen einer halbverdünnten Sodalösung alkalisch gemacht worden war, gelöst und mit 5 ccm. einer gut wirksamen Trypsinlösung versetzt, am 24. X. in den Brutschrank bei 35—40⁰ eingestellt, nachdem zu der Lösung noch Chloroform hinzugefügt worden war. Nach 1 1/2 tägiger Verdauung wurde die eine Hälfte der Lösung neutralisirt, aufgeköcht und mit Ammonsulfat geprüft.

Tabelle XVI.

1/2-Sättigung	2/3-Sättigung	Sättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz zur gesättigten neutralen Lösung 1)	Albumosenfreies Filtrat 2)
keine Opalescenz oder sonstige Abscheidung	Diffuse Trübung; nach tagelangem Stehen ein geringer aus Tropfen und Globuliten bestehender Bodensatz	geringe flockige Ausscheidung	klar	Biuretreaction { violett- roth Molisch's Reaction { ne- Adamkiewicz's > { gativ Jodquecksilber-) kalium { Nieder- Jodjodkalium } schlag Gerbsäure

Die Heteroalbumose war also nach 1 1/2 tägiger Verdauung vollkommen verschwunden. Neben dem Auftreten von Albumosen, welche der Salzfällbarkeit nach mit den bei der Pepsinverdauung gefundenen übereinstimmen, ist die Entstehung von nicht unerheblichen Mengen peptonartiger Körper bemerkenswerth; auch hier blieben die Kohlenhydratreactionen negativ; die bei Säurezusatz zu der ammoniumsulfatgesättigten Lösung ausfallende Albumose C war hier nicht nachweisbar.

Nach 4 wöchentlicher Verdauung wird die 2. Hälfte der Verdauungslösung neutralisirt und auf dem Wasserbade zum

1) Das Ansäuern erfolgte mit ammoniumsulfatgesättigter 1/10 N-Schwefelsäure.

2) Die Hauptmasse des Ammonsulfates wurde durch Fällung mit Alkohol in ammoniakalischer Lösung entfernt und nach Verjagung des Alkohols der Trockenrückstand in Wasser aufgenommen.

Syrup eingedampft; derselbe gibt eine deutliche Biuret-, eine schwache Millon'sche¹⁾ Reaction, mit Phosphorwolframsäure entsteht eine reichliche Fällung; Reduction alkalischer Kupferlösung erfolgt nicht, auch der Nachweis von Tryptophan mit verdünntem Bromwasser gelingt nicht. Aus dem Syrup kann der Hauptmasse nach Leucin neben etwas Tyrosin²⁾ isolirt werden, ausserdem leicht zerfliessliche, verbrennliche Krystalle in Form von tetragonalen Pyramiden und von Wetzsteinen, deren nähere Identificirung nicht möglich war.

II. 3 g der Heteroalbumose B wurden in 3^{0/00} iger Soda-lösung mit 5 ccm. einer mässig concentrirten Trypsinlösung unter Toluolzusatz der Verdauung im Brutschrank bei 35—40° unterworfen. Das Trypsinpräparat, das gleiche wie im vorherigen Versuch, entstammte einer mehr als 1 1/2 jährigen Pankreas-selbstverdauung, gab keine Biuret- und Millon'sche Reaction mehr, mit verdünntem Bromwasser nur eine äusserst schwache Opalescenz und erwies sich noch immer als sehr gut wirksam; der Versuch wurde am 1. II. angesetzt und am 27. III. abgebrochen. Da die Lösung eine intensive Biuretreaction zeigte, wurde ein Theil derselben in der gewöhnlichen Weise mit gesättigter Ammonsulfatlösung in einzelne Fractionen zerlegt:

1/2-Sättigung	2/3-Sättigung	Sättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz zur gesättigten, neutralen Lösung	Albumosenfreies Filtrat
klar	klar	dichte Trübung und Abscheidung von Flocken	deutliche Trübung	Biuretreaction { purpurfarben Molisch's Reaction { negativ Jodjodkalium: massenhafte Fällung.

Verdünntes Bromwasser:

theils erfolgt überhaupt keine Reaction, theils nur eine schwach violette Färbung der Probe und Absetzen eines spärlichen violetten Niederschlags. Das gleiche Resultat liefert der Zusatz von stärkerem Bromwasser.

1) Es tritt nur eine schwache Fleischrothfärbung der Flocken ein, die Lösung selbst bleibt farblos.

2) Die Verunreinigung mit tyrosingebenden Körpern war bei diesem mit 47^{0/0} igem Alkohol dargestellten Präparat grösser, als bei Produkten späterer Darstellung.

Die Hauptmasse der Lösung wird mit Salzsäure schwach angesäuert und mit Phosphorwolframsäure zur Entfernung von Albumosen sammt den eventuell gebildeten Diaminosäuren ausgefällt. Es setzt sich ein reichlicher Niederschlag ab; in der von diesem abfiltrirten Lösung wird die Phosphorwolframsäure mit Barythydrat entfernt, der überschüssige Baryt mit Schwefelsäure genau ausgefällt und die Salzsäure durch wiederholtes Eindampfen der Lösung, zuletzt mit Silberoxyd als Chlorsilber entfernt; das silberhaltige Filtrat wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt und dieser endlich aus der filtrirten Lösung auf dem Wasserbade verjagt. Die Hauptmasse des so erhaltenen Syrups wird von hellen Leucinkugeln dargestellt; daneben lässt sich nach wiederholtem Ausziehen mit schwachem Alkohol und Umkrystallisiren aus ammoniakalischer, alkoholischer Lösung eine sehr geringe Menge von Tyrosin in typischen Büscheln erhalten. Die Mutterlauge der Leucin- und Tyrosinkristalle war in Methylalkohol leicht löslich, doch einer weiteren Untersuchung nicht mehr zugänglich. Entsprechend dem Reichthum der Heteroalbumose an Diaminosäuren, zum Theil wohl auch wegen der hier noch vorhandenen, nicht völlig durch Trypsin aufgespaltenen Albumosen war der grösste Antheil der Spaltungsprodukte in den Phosphorwolframsäureniederschlag übergegangen, sodass für die genauere Untersuchung der an und für sich spärlich vorhandenen Aminosäuren das vorhandene Material nicht mehr ausreichte.

Von den Resultaten dieses 2. Verdauungsversüches erscheint am auffallendsten, dass trotz zweimonatlicher Trypsinverdauung, sowohl mit Ammonsulfatsättigung in neutraler Lösung, als auch in ammonsulfatgesättigter Lösung mit Säure Albumosen auszufällen waren. Sowohl Kühne und Chittenden,¹⁾ als auch Neumeister²⁾ fanden bei der Trypsinverdauung der Heteroalbumose regelmässig eine Abscheidung von sogenanntem «Antialbumid», einem Körper, der «am schwersten

1) Zeitschr. f. Biologie, N. F. Bd. 1, S. 197; ferner daselbst N. F., Bd. II, S. 47.

2) Zeitschr. f. Biologie, N. F., Bd. 5, S. 387.

und nur unter besonderen Bedingungen» (bei relativ stark alkalischer Reaction [in 3⁰/₁₀₀iger Sodalösung]) vom Trypsin angegriffen wird. Bei meinen Versuchen trat eine solche Antialbumidbildung nicht auf; es ist aber wohl möglich, dass die beiden gegen Trypsin so widerstandsfähigen Körper mit jenem Produkte in Beziehung stehen, welches Neumeister als Antideuteroalbumose bezeichnete, und das als Abkömmling des Antialbumids angesehen wurde; die intensive Biuretreaction nach Ausfällung der Albumosen scheint die alte Annahme Kühne's und seiner Schüler zu bestätigen, dass die Heteroalbumose neben durch Trypsin leicht abspaltbaren Gruppen solche besitzt, die der Trypsineinwirkung, wenngleich nicht absoluten, so doch relativ grossen Widerstand zu leisten vermögen und in diesem Sinne die Unterscheidung eines «Anticomplexes» rechtfertigen.¹⁾ — Unter den Reactionen der albumosenfreien Verdauungslösung ist beachtenswerth der Ausfall der Bromreaction. Während in dem ersten Verdauungsversuch durch Bromwasser überhaupt keine Färbung auftrat, war bei dem zweiten Violettfärbung, aber nur sehr schwach zu erhalten. Kühne und Chittenden²⁾ fanden bei der Trypsinverdauung der Heteroalbumose die violette Bromreaction sehr intensiv, vermissten sie dagegen bei Verdauung der aus der Heteroalbumose erhaltenen Körper der Antigruppe. — In Uebereinstimmung mit den früheren Befunden war auch bei den Trypsinverdauungsprodukten durchweg die Abwesenheit der Kohlenhydratgruppe zu constatiren.

2. Protoalbumose.

Am 14. I. wurde 1,8 g des Präparats B in 200 ccm. 3⁰/₁₀₀iger Sodalösung mit der schon früher angewandten Trypsinlösung unter gleichzeitigem Toluolzusatz versetzt und bei 35—40⁰ verdauen gelassen. Bereits nach 24 Stunden ist der grösste

1) Vgl. Chittenden, Mendel u. Henderson, A chemico-physiological study of certain derivates of the proteids. American Journ. of Physiology Vol. II. January 18, 1899, Nr. II.

2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 1, 1883, S. 195; ferner Bd. 2, 1884, S. 46 und 47.

Theil der Protoalbumose wegverdaut, denn eine Probe gibt nach vorheriger Neutralisation bei Halbsättigung mit Ammonsulfat nur noch eine schwache Opalescenz; nach 2 Mal 24 Stunden wird ein Theil der Verdauungslösung neutralisirt, aufgeköcht und wie früher mit Ammonsulfat gefällt.

Tabelle XVII.

$\frac{1}{2}$ -Sättigung	$\frac{2}{3}$ -Sättigung	Sättigung der neutralen Lösung	Säurezusatz zur ammoniumsulfat-gesättigten Lösung	Albumosenfreies Filtrat
klar	erst bei Erreichen der oberen Grenze des Salzzusatzes Opalescenz	Trübung und Ausscheidung in schmierigen Flocken	klar	schwache, aber deutliche Biuret-reaction; Jodquecksilberkalium und HCl gaben nur schwache Opalescenz, ¹⁾ Jodjodkalium einen Niederschlag; Molisch's Reaction negativ.

Man sieht, dass die Spaltung durch Trypsin in den ersten Stadien im allgemeinen ebenso erfolgt, wie bei der Pepsinverdauung;²⁾ wie dort lassen sich auch hier 2 Fractionen, eine bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung, die andere bei voller Sättigung der neutralen Lösung gewinnen, während durch Säurezusatz in beiden Fällen keine Abscheidung erfolgt; dass gleichzeitig Körper entstanden

1) Siehe W. Kühne, Erfahrungen über Albumosen und Peptone, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 11, S. 323.

2) Neumeister (Zeitschr. f. Biologie, Bd. 5, S. 387) erhielt bei der Trypsinverdauung der Kühne'schen «Protoalbumose» nur sehr geringe Mengen von Deuteroalbumose; dieser Umstand wird zum Theil dadurch erklärt, dass die Kühne'sche Protoalbumose entsprechend ihrer Darstellung selbst noch ein Gemenge von Protoalbumose und durch NaCl in neutraler und saurer Lösung fällbarer Deuteroalbumosen darstellt; diese letzteren mussten während der Zerlegung der «Protoalbumose» ebenfalls Spaltung in weitere Produkte erfahren haben und konnten daher überhaupt nicht oder nur in Resten nachgewiesen werden.

sind, denen nicht mehr der Charakter der Albumosen zukommt, geht aus den mit dem albumosenfreien Filtrat angestellten Reactionen deutlich hervor; auch hier sei auf den Mangel der Kohlenhydratgruppe entsprechend dem negativen Ausfall der Reaction von Molisch verwiesen.

Die Verdauung des zweiten Theiles wurde am 30. III. unterbrochen; die klare, gelb gefärbte Lösung gab keine Spur einer Biuretreaction mehr. Die Lösung wurde zu einem dünnflüssigen Syrup eingeengt und der Krystallisation überlassen; der nach dem Eindunsten entstandene dicke Krystallbrei wurde wiederholt mit ca. 50%oigem Alkohol extrahirt. Diese Auszüge enthielten neben Spuren von Leucin reichlich Tyrosin, der die Hauptmasse darstellende, alkoholunlösliche Theil beinahe ausschliesslich Tyrosin; ausserdem gab jedoch die Mutterlauge mit Bromwasser einen voluminösen, gelb gefärbten, flockigen Niederschlag, aber keine Violett- oder Rothfärbung der Lösung; auch auf Zusatz von Phosphorwolframsäure erhielt man eine Fällung.

Hieraus erhellt, dass die Protoalbumose durch länger dauernde Trypsineinwirkung vollständig, ohne einen Biuretreaction gebenden Körper zu liefern, in einfachere Produkte, wie Aminosäuren und Diaminosäuren zerlegt wird. Die Abwesenheit eines die Biuretreaction gebenden Körpers,¹⁾ eines Antipeptons im Sinne Kühne's, bei dieser Spaltung der Protoalbumose erscheint mit Bezug auf die Arbeiten von Kühne und Chittenden, sowie Neumeister von Interesse. Wiewohl bereits Kühne und Chittenden²⁾ die Protoalbumose nach den Ergebnissen der Trypsinverdauung (Bildung bedeutender Mengen

1) Es könnte der Einwand erhoben werden, dass die Heteroalbumose kürzer (um ca. 2 Wochen) verdaut worden war, als die Protoalbumose, und vielleicht bei gleich langer Einwirkung des Fermentes die intensive Biuretreaction dort ebenfalls verschwunden wäre. Dass jedoch einer etwa 2 Wochen länger währenden Verdauung allein nicht der entscheidende Einfluss auf das völlige Schwinden der Biuretreaction zukommen dürfte, geht aus den Untersuchungen von Kutscher (Endprodukte der Trypsinverdauung. Habilitationsschrift, Strassburg 1899, S. 9 u. 21) hervor, der selbst nach beinahe 5monatlicher Autodigestion des Pankreas noch immer eine schwache Biuretreaction erhielt.

2) Zeitschr. f. Biologie, N. F. Bd. 2, 1884, S. 46.

von Tyrosin, Leucin und des bromfällbaren Körpers) als einen Repräsentanten der Hemigruppe ansahen, gelang es weder ihnen noch Neumeister¹⁾ die Entfernung des durch Trypsin so schwer angreifbaren «Antipepton»-Complexes zu erzielen, so dass letzterer sich gezwungen sah, auch der Protoalbumose Antigruppen zuzuschreiben. Das Verhalten unserer Protoalbumose bestätigt jedoch die Vermuthung dieser Autoren, dass dieser «Antipepton»-Complex auf eine Verunreinigung mit Heteroalbumose zu beziehen ist.²⁾

Was den im Gegensatze zur Heteroalbumose hier so reichlich auftretenden, durch Brom fällbaren Körper anbelangt, so zeigte Kurajeff,³⁾ dass aus einer durch kurze Trypsinverdauung von Fibrin erhaltenen Lösung bei Halbsättigung eine Fraction erhalten wird, welche schon nach zweitägiger weiterer Trypsinverdauung mit Brom eine starke Rothfärbung gibt und offenbar das Proteinochrom in reichlichen Mengen enthält. Da die Heteroalbumose nur spärliche Bromfällung gibt, so kann bloss die Protoalbumosefraction jenes Bromproteinochromogen in nennenswerther Menge geliefert haben. Von den übrigen Fractionen gab nur die Nachbarfraction (bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung) den Bromniederschlag. Endlich scheint es bemerkenswerth, dass selbst nach $2\frac{1}{2}$ monatlicher Trypsinverdauung noch der Nachweis des durch Brom fällbaren Körpers gelang.

V. Zeitliches Auftreten der Proto- und Heteroalbumose bei der Fibrinverdauung.

Versucht man die Ergebnisse der mit Pepsin und Trypsin durchgeführten Spaltungsversuche zu sichten unter Berücksichtigung der Eingangs aufgeworfenen Frage über den genetischen Zusammenhang der einzelnen, bei der Spaltung des Fibrins auftretenden Albumosen und Peptone, so erweist es sich als nöthig, zuerst über die Abstammung der beiden hier

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 5, 1887, S. 391.

2) Siehe Kühne u. Chittenden, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 1, 1883, S. 208 und Neumeister, daselbst, Bd. 5, 1887, S. 392.

3) D. Kurajeff, Zur Kenntniss der Bromproteinochrome. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVI, S. 511 u. 512.

untersuchten Fractionen orientirt zu sein. Gerade das Fehlen gewisser für die meisten genuinen Eiweisskörper so charakteristischen Merkmale, so der Furfurolreactionen, bei beiden Albumosen könnte verleiten, dieselben als von der Muttersubstanz recht weit abstehende Spaltungsprodukte anzusehen, welche vielleicht selbst erst aus einer der übrigen Fractionen durch Abspaltung hervorgegangen sind. Für die Kühne'sche Proto- und Heteroalbumose hat Neumeister¹⁾ nachgewiesen, dass bei der peptischen Verdauung des Fibrins, sowie beim Kochen mit 1%iger Schwefelsäure zunächst nur Proto- und Heteroalbumose gebildet werden, während Deuteroalbumose erst später auftreten soll. Goldschmidt²⁾ konnte durch zahlreiche Versuche, die an Eiereiweiss und krystallisirtem Serumalbumin angestellt waren und die genaue zeitliche Einwirkung von Schwefelsäure und Salzsäure bei verschiedener Temperatur und Concentration zu beurtheilen gestatteten, feststellen, dass die «primären» Albumosen zwar frühzeitig auftreten, jedoch keineswegs zur Bildung aller Deuteroalbumosen nothwendig sind. Einen besseren Ueberblick dieser Verhältnisse gestatten die von E. Zunz³⁾ durchgeführten umfangreichen quantitativen Untersuchungen über die Verdauungsprodukte verschiedener Eiweisskörper, deren Resultate für die hier aufgeworfene Frage von einschneidendster Bedeutung sind und weiter unten noch erörtert werden sollen. Bezüglich der Verdauungsprodukte des Fibrins, das weder von Goldschmidt, noch von Zunz in den Bereich ihrer Untersuchungen gezogen worden war, versuchte ich in nachfolgender Weise durch Verfolgung des zeitlichen Verlaufes der Verdauung über den Zusammenhang der beiden Produkte mit dem Fibrin Aufschluss zu erlangen.

Gut gewaschenes Fibrin wurde zu etwa 20—25 g in drei Kölbchen mit etwa 250 ccm. 0,25%iger Salzsäure und Grübler'schem Pepsin in den Brutschrank bei 35—40° gebracht und die Verdauung beim ersten Kölbchen nach drei Stunden, beim zweiten nach 20 Minuten und beim dritten nach 5 Minuten unterbrochen, die einzelnen Lösungen neutralisirt, über freier Flamme in der Schale aufgeköcht und von dem abgeschiedenen

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 5, 1887, S. 387.

2) a. a. O.

3) E. Zunz. Diese Zeitschr., Bd. XXVIII, S. 123.

Neutralisationspräcipitat, resp. noch unverdauten und coagulablen Eiweiss abfiltrirt. Die neutralen, etwas eingeengten Lösungen wurden zur Trennung der Hetero- und Protoalbumose mit dem fünffachen Volumen 95%igen Alkohols gefällt, der schön weisse, flockige Niederschlag filtrirt, abgepresst und in Wasser gelöst; das alkoholische Filtrat wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Wasser aufgenommen; sowohl die Lösung des Niederschlags, wie des Trockenrückstandes wurde mit Ammonsulfat in einzelne Fractionen zerlegt.

Tabelle XVIII.
I. Dreistündige Verdauung.

	1/2-Sättigung (Proto- und Heteroalbumose)	2/3-Sättigung (Deuteroalbumose A)	Sättigung der neutralen Lösung (Deuteroalbumose B)	Säurezusatz zur neutral. ges. Lösung (Deuteroalbumose C)	Albumosenfreies Filtrat
Alkoholunlöslicher Theil	reichliche Abscheidung von Heteroalbumose	dichte, sich auch nach tagelangem Stehen nicht absetzende und schlecht abzufiltrirende Trübung	reichliche flockige Abscheidung	klar	intensive Biuretreaction; Molisch's Reaction positiv. Jodjodkalium u. Jodquecksilberkalium erzeugen Fällungen
alkohollöslicher Theil	grobe, gelbgefärbte Flocken in reichlicher Menge. Dieselben abfiltrirt, abgepresst und in H ₂ O gelöst, geben mit Millon's Reagens intensive Dunkelrothfärbung. Molisch's Reaction: negativ. Die trübe, wässrige Lösung klärt sich auf Alkoholzusatz (Protoalbumose)	Trübung; nach längerem Stehen Bodensatz	flockiger Niederschlag	dichte wolkige Trübung (?)	starke Biuretreaction. Molisch's Reaction sehr schwach. Jodjodkalium gibt massenhaften Niederschlag

Tabelle XIX.

II. Verdauungsdauer: 20 Minuten.

	$\frac{1}{2}$ -Sättigung (Proto- und Heteroalbumose)	$\frac{2}{3}$ -Sättigung (Deuteroalbumose A)	Sättigung der neutralen Lösung (Deuteroalbumose B)	Säurezusatz zur neutral. ges. Lösung (Deuteroalbumose C)	Albumosenfreies Filtrat
Alkoholunlöslicher Theil; derselbe lässt sich z. Th. nur schwer, selbst in heissem Wasser lösen. Die Lösungen trüben sich beim Erkalten; das ganze Verhalten entspricht den grossen im Niederschlage enthaltenen Mengen von Heteroalbumose	massenhafte Abscheidung (Heteroalbumose)	schwache Opalescenz; erst nach 24 Stunden spärliche flockige Abscheidung	starke Trübung und Abscheidung von dichten, schmierigen Flocken	klar	Biuretreaction negativ. Jodquecksilberkalium mit und ohne HCl keine Trübung, Jodjodkalium nach längerer Zeit Trübung
Alkohollöslicher Theil; die Lösung intensiv gelb gefärbt.	Trübung und flockige Abscheidung; die Flocken auf dem Filter gesammelt geben eine trübe, wässrige Lösung, die sich bei Alkoholzusatz schön klärt (Protoalbumose)	Trübung und flockiger Niederschlag beim Stehen	Abscheidung in reichlichen Flocken	klar oder nur geringe Opalescenz	schwache, aber deutliche Biuretreaction. Jodquecksilberkalium erzeugt starke Trübung und Flockenbildung, Jodjodkalium dichte Trübung

Tabelle XX.

III. Verdauungsdauer: 5 Minuten.¹⁾

	$\frac{1}{2}$ -Sättigung (Proto- und Heteroalbumose)	$\frac{2}{3}$ -Sättigung (Deuteroalbumose A)	Sättigung der neutralen Lösung (Deuteroalbumose B)	Albumosenfreies Filtrat
Alkoholunlöslicher Theil; man erhält auf Alkoholzusatz eine geringe Menge flockigen Niederschlags	Abscheidung von Flocken, reichlich im Verhältniss zur Gesamtmenge (Heteroalbumose)	auch nach 24stündigem Stehen nur sehr schwache Opalescenz	Unbedeutende Trübung der Lösung	Biuretreaction negativ. Gerbsäure und Jodquecksilberkalium erzeugen keine Reaction, Jodjodkalium spärliche Abscheidung
Alkohollöslicher Theil	Ausscheidung in schönen Flocken (Protoalbumose)	schwache Opalescenz, nach 24 Stunden Flocken	Abscheidung eines flockigen Niederschlags; eine Lösung desselben gibt Biuretreaction, fällt mit Jodjodkalium und zeigt eine schönviolette Färbung mit Molisch's Reagens	Biuretreaction negativ; Jodquecksilberkalium gibt Opalescenz.

Man sieht, dass in allen 3 Versuchen sowohl die Hetero- als auch die Protoalbumose erstens von allen übrigen Verdauungsprodukten am reichlichsten auftreten, zweitens, dass sie schon nach kürzester Digestionsdauer vorhanden sind, wo

¹⁾ Bereits nach dieser Zeit war ein verhältnissmässig grosser Theil des Fibrins in Lösung gegangen, ein anderer Theil gequollen, der Rest unverändert; der gelöste Theil wurde abgegossen und wie oben angeführt behandelt.

die übrigen Spaltungsprodukte entweder überhaupt nicht, oder bis auf die Albumose B, in unerheblicher Menge nachweisbar sind. Von den schwer fällbaren Produkten kommt nur die bei voller Sättigung ausfällbare Fraction (Deuteroalbumose B) in Betracht, deren Bildung schon frühzeitig in ausgiebigem Maasse stattfindet und, wie Goldschmidt schon fand, des öfteren vor dem Auftreten der «primären» Albumosen nachweisbar ist. Man wird durch diese Thatsachen zu dem Schluss gedrängt, dass auch Proto-, Hetero- und Deuteroalbumose B des Fibrins unabhängig von einander als primäre Produkte entstehen.

Was die übrigen Ergebnisse dieser Versuche anbelangt, so möchte ich nur in Kürze darauf hinweisen, dass durch den auffallend raschen Zerfall des Fibrins unter der Einwirkung von Pepsin und Säure verhältnissmässig bald die Bildung beinahe aller Albumosenfractionen, besonders aber auch der Peptone eintrat. Abgesehen von diesem raschen zeitlichen Ablauf der Verdauung zeigte die Reihenfolge des Auftretens der einzelnen Produkte eine volle Uebereinstimmung mit den Befunden von Zunz. Während die der Albumose B entsprechende Fraction schon bei Beginn der Verdauung gleichzeitig mit den «primären» Albumosen in erheblicher Stärke auftrat, war die bei $\frac{2}{3}$ -Sättigung ausgefällte Fraction (Albumose A) erst zwischen halb- und dreistündiger Verdauungsdauer in Flocken abzuscheiden; dabei ist hervorzuheben, dass der alkohollösliche Theil dieser Fraction stets der ansehnlichere war, der durch 80 $\%$ igen Alkohol gefällt dagegen recht spärlich ausfiel. Da Grund zur Annahme besteht, dass die alkohollösliche und die alkoholunlösliche Fraction zwei verschiedene Produkte darstellen, so verdient dies Verhalten besondere Beachtung. Die Albumose C trat hier relativ früh auf; doch fiel ihr Auftreten, ebenso wie bei Goldschmidt und Zunz, beinahe vollkommen mit der Entstehung der Peptone zusammen. Auch bei den letzteren schien sich die grössere Menge dieser Produkte in dem alkohollöslichen Theil zu finden, wie schon das frühere Auftreten der Biuretreaction dieses Theiles beweist. Endlich sei noch bemerkt, dass Jodjodkalium und Jodquecksilberkalium

in saurer Lösung im Stande waren, Trübungen zu erzeugen, wo der Mangel der Biuretreaction das Vorhandensein von Peptonen ausschloss.

VI. Stellung der Proto- und Heteroalbumose zum Fibrin und zu den übrigen Verdauungsprodukten desselben.

Wie Eingangs erwähnt, sah die Kühne'sche Schule das Auftreten der Proto- und Heteroalbumose als ein Durchgangsstadium an, das nothwendig der Bildung der übrigen peptischen Produkte vorangehen muss. Diese Auffassung stützte sich auf die oben erwähnten Versuche Neumeister's und fand in dem von ihm entworfenen Schema der Pepsinverdauung¹⁾ seinen Ausdruck. Diese bis in die neueste Zeit allgemein festgehaltene Vorstellung kann jetzt nicht mehr aufrecht erhalten werden. Dies ergibt sich zum Theil unmittelbar aus den gefundenen Thatsachen. Es scheint mir daher nützlich, die hierher gehörigen Befunde kurz nebeneinander zu stellen.

1. Sowohl die Hetero- als auch die Protoalbumose des Fibrins zeigen einen höheren C- und N-, einen niedrigeren O-Gehalt als das Fibrin selbst:

Fibrin nach Hammarsten	Heteroalbumose	Protoalbumose
C 52,68	55,12	55,64
H 6,83	6,61	6,80
N 16,91	17,98	17,66
S 1,10	1,22	1,21
O 22,48	19,07	18,69

Beide Albumosen sind im Gegensatz zur Muttersubstanz kohlenhydratfrei, beide enthalten nur leicht abspaltbaren Schwefel.

2. Die Hetero- und Protoalbumose weichen aber voneinander nicht bloss in Löslichkeitsverhältnissen und reactionellem Verhalten ab, sondern zeigen einen wesentlich verschiedenen Bau:

1) Vgl. Neumeister, Lehrbuch der physiologischen Chemie II. Aufl. S. 231; Jena 1897.

Heteroalbumose

enthält an 39% das Gesamtstickstoff in basischer Form;

enthält die aromatische Gruppe nur zum kleinsten Theil in einer Form, die bei der Spaltung zu Tyrosin- oder Indolbildung führt;

liefert sehr reichlich Leucin und erhebliche Mengen Glycocoll.

Protoalbumose

gibt bloss 25% basischen Stickstoff;

liefert sehr reichlich Tyrosin, resp. Indol und Skatol;

gibt nur wenig Leucin und kein Glycocoll.

3. Hetero- und Protoalbumose entstehen aus Fibrin nebeneinander, aber nicht auseinander.

4. Beide geben jedoch bei der weiteren peptischen oder tryptischen Spaltung Produkte von dem Verhalten der Deuteroalbumosen A und B und des Peptons B.

Knüpfen wir an den letztangeführten Befund an, so scheint darin die Richtigkeit der Neumeister'schen Auffassung eine Stütze zu finden. Dem steht jedoch die Thatsache entgegen, dass die Proto- und Heteroalbumose kohlenhydratfrei sind, während ich in meinen früheren Versuchen die Deuteroalbumosen des Fibrins kohlenhydrathaltig gefunden habe. Um irrigen Deutungen dieser Sachlage von vornherein vorzubeugen, halte ich es für zweckentsprechend, einer für die nächste Zeit in Aussicht genommenen weiteren Mittheilung über die peptischen Verdauungsprodukte vorzugreifen und aus dem mir vorliegenden Beobachtungsmaterial das hierher gehörige vorläufig mitzutheilen.

Bei planmässiger, nicht eingreifender Reinigung der Deuteroalbumosen des Witte-Peptons ist es mir gelungen, die als Deuteroalbumose A und C bezeichneten Körper völlig von den die Kohlenhydratreaction veranlassenden Beimengungen zu befreien. Hingegen ergab sich bei fortschreitender Reinigung immer deutlicher ein hoher Kohlenhydratgehalt der Deuteroalbumose B und des davon abstammenden Peptons A, der denn auch bei der Spaltung in reichlicher Bildung von reducirender und osazonbildender Substanz zum Ausdruck gelangte.

Hieraus folgt ohne Weiteres: 1. Die Proto- und Heteroalbumose können als kohlenhydratfreie Stoffe nicht die Mutter-

substanz der kohlenhydrathaltigen Albumose B resp. des Peptons A sein.

2. Es muss neben ihnen weitere primäre Produkte der Eiweisspaltung geben, zum mindesten eines, das die Kohlenhydratgruppe enthält — beim Fibrin somit die Deuteroalbumose B.

3. Wenn, wie oben erwähnt, sowohl die Proto- als auch Heteroalbumose bei weiterer Verdauung ein Produkt vom Charakter der Deuteroalbumose B liefern (B_p und B_h), so können diese mit der direkt aus Witte-Pepton erhältlichen kohlenhydratreichen Deuteroalbumose B nicht identisch sein. In der That geben die aus Proto- und Heteroalbumose erhaltenen B-Albumosen keine Spur von Kohlenhydratreaction. Diese Albumosen B_p und B_h sind somit sicher secundäre Produkte. Die Existenz von zwei oder mehr Albumosen B, einer kohlenhydratreichen und einer oder mehrerer kohlenhydratfreien, habe ich übrigens noch auf anderem Wege darthun können. Wurde nämlich die kohlenhydratreiche B-Albumose des Witte-Peptons anhaltender (6wöchentlicher) Pepsinverdauung überlassen, so ging der kohlenhydrathaltige Antheil in Pepton A über, und es blieb reichlich ein Körper zurück, der sich wie die ursprüngliche Substanz erst bei Sättigung der neutralen Lösung mit Ammonsulfat ausschied, auch schöne Biuretreaction, aber keine Kohlenhydratreaction mehr gab.

Diese Schlussfolgerungen stehen in trefflicher Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von E. Zunz. Ausgehend von der quantitativen Verfolgung des peptischen Spaltungsvorgangs gelangte er zu dem Schluss, dass mindestens drei Produkte — (Proto-, Heteroalbumose und Deuteroalbumose B) primär entstehen, und dass die secundäre Albumose B, welche bei ihrer Bildung zwei Maxima erkennen lässt, keine einheitliche Substanz sein dürfte. Es ist überflüssig hervorzuheben, dass diese Uebereinstimmung den uns gemeinsamen Schlussfolgerungen erhöhtes Gewicht verleiht. Ich möchte überdies darauf hinweisen, dass Zunz an anderem Material (krystallisirtem Serum- und Eieralbumin, Serumglobulin und Casein) und mit ganz anderen Methoden gearbeitet hat, als ich.

Ich habe im Vorstehenden von meinen Erfahrungen über die Deuteroalbumosen des Fibrins und seiner Peptone nur soweit Gebrauch gemacht, als zur Deutung der an Proto- und Heteroalbumose gemachten Beobachtungen nöthig war. Ich gedenke über diesen zweiten Theil meiner Untersuchungen demnächst ausführlich und zusammenhängend zu berichten. Dann wird sich auch für physiologische Schlussfolgerungen ausreichender Raum finden. Ich will darum auf diese Seite der Frage jetzt nicht eingehen und nur bemerken, dass für die experimentelle weitere Verfolgung derselben, speciell auch im Hinblick auf die Bedeutung der einzelnen reinen Verdauungsprodukte für den Stoffwechsel, im hiesigen Institut Sorge getragen ist.

Strassburg, Mai 1899.
