

Zur Kenntniss des Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweisskörper.

Von

D. Lawrow.

I. Mittheilung.

(Aus der chemischen Abtheilung des Instituts für experimentelle Medicin zu St. Petersburg
(Der Redaction zugegangen am 9. Juli 1901.)

Die vorliegende Arbeit ist die Fortsetzung meiner im Jahre 1897 russisch publicirten Abhandlung, welche die Erforschung des Chemismus der peptischen und der tryptischen Verdauung der Eiweisskörper zum Gegenstande hatte.¹⁾

Aus den damals von mir angestellten Versuchen über die peptische Verdauung der Eiweisskörper ergaben sich folgende Resultate:

1. Das Amphopepton Kühne's ist ein Gemisch von Spaltungsprodukten, das je nach der Intensität und nach der Länge der Verdauung bezüglich der Zahl der Bestandtheile und ihrer chemischen Eigenschaften veränderlich ist.

2. Bei einer sehr intensiven und sehr langdauernden künstlichen peptischen Verdauung der Eiweisskörper entstehen krystallinische Produkte, und unter anderen auch das Leucin.

N. Lubavin war der erste, welcher im Jahre 1871 die Entstehung von Tyrosin und Leucin in nicht unbedeutlicher Menge bei der peptischen Verdauung des Caseins constatirte.²⁾

1) D. Lawrow, Zur Frage nach dem Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweisskörper, Inaug.-Diss. 1897 (russisch); Zur Kenntniss des Chemismus der peptischen u. s. w., Diese Zeitschr., Bd. XXVI, S. 513—523.

2) N. Lubavin, Medicin.-chem. Untersuch. v. F. Hoppe-Seyler, Bd. IV, S. 463—485. 1871.

3. Das Amphopepton Kühne's gibt mit dem Labferment die Danilewski'sche Reaction nicht.

4. Sowohl das Pepton von A. Danilewski, als auch das Amphopepton Kühne's, bis zum constanten Gewichte bei 100 bis 120° getrocknet, erleiden eine derartige Veränderung, dass ihre Löslichkeit im Wasser stark herabgesetzt wird.

Meine Versuche über die intensive und sehr langdauernde peptische Verdauung der Eiweisskörper habe ich mit den frischen, mit Wasser sorgfältig gewaschenen, vom Fettgewebe befreiten und in kleine Stücke zerschnittenen Schweinemägen ausgeführt, und zwar wurden die Mägen mit Wasser, Salzsäure, Chloroform und Thymol in den mit Kork geschlossenen Flaschen etwa 2 Monate bei Bruttemperatur gehalten.

Die feuchten Mägen wogen etwa 12 kg. Der Gehalt an Salzsäure in der ursprünglich zu verdauenden Lösung, deren Volumen 20 l. betrug, war = 0,5%.

Nachdem die Fleischflöckchen so gut wie vollkommen gelöst worden waren, und zwar nach etwa 6 Tagen, wurde die Lösung durch Fliesspapier filtrirt und das ganz klare, strohgelbe Filtrat der weiteren Selbstverdauung unterworfen.

Von Zeit zu Zeit, und zwar nach je 1—2 Tagen, wurde die selbstverdauende Flüssigkeit auf den Gehalt an Acidalbumin, an Kühne's Amphopepton, an freier Salzsäure und die verdauende Wirkung in üblicher Weise geprüft.

Die Verdauung ging so energisch vor sich, dass eine nach 4 Wochen herausgenommene und neutralisirte Probe, mit Ammoniumsulfat gesättigt, nur einen ganz unbedeutenden Niederschlag gab.

Die Lösung bewahrte bis zum Ende das Verdauungsvermögen im höchsten Grade; so zum Beispiel verdaute eine kleine nach 2 Monaten entnommene Probe der Flüssigkeit bei Bruttemperatur das gleiche Volumen des in 0,5%iger Salzsäure gequollenen Fibrins innerhalb 8—10 Minuten. Dieses nachhaltige Verdauungsvermögen wurde dadurch erzielt, dass ich der Lösung je nach dem Ergebniss der Vorprüfungen mit Fibrin abwechselnd bald destillirtes Wasser, bald Salzsäure zusetzte. Wie viel von der Säure zuzusetzen war, dafür hatte ich einen

Anhaltspunkt in einer ein für allemal hergestellten Congorothlösung, die ich in abgemessenen Mengen zu einem und demselben Volumen der entnommenen Probe zusetzte und darauf achtete, dass die Farbennuance stets dieselbe bleibe. Im Ganzen wurden der ursprünglichen Lösung 25 l. 0,5%iger Salzsäure und 150 cem. 25%iger Salzsäure hinzugefügt.

Die ursprüngliche Lösung enthielt auf 20 l. 70 cem. Chloroform und 12 g Thymol. Nach jeder Verdünnung der Lösung wurde ihr Chloroform hinzugefügt: im Ganzen noch 105 g Chloroform, so dass die Flüssigkeit die ganze Zeit mit Chloroform gesättigt war.¹⁾

Nach 2 Monaten wurde die selbstverdauende Lösung von einem schmierigen, schlammartigen, verhältnissmässig unbedeutenden Niederschlage durch Fliesspapier abfiltrirt, mit Actzatron bis zum Verschwinden der Reaction mit dem Günzburger Reagens neutralisirt, wobei ein unbedeutender Niederschlag entstand, wovon abfiltrirt wurde und auf dem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft. Nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur verwandelte sich die Lösung in einen krystallinischen Brei.

Der abgesaugte, mit Fliesspapier sorgfältig abgepresste, getrocknete Niederschlag wog 1,5 kg. Das Filtrat gab beim weiteren Eindampfen noch eine krystallinische Masse in erheblicher Menge.

Der vorläufige Versuch hatte, wie schon erwähnt, gezeigt, dass hier die Verdauung recht energisch verlief.

Der erhaltene krystallinische Niederschlag wurde von Neuem in Wasser aufgelöst, das zum Trennen und Abpressen des Niederschlages benutzte Fliesspapier mit heissem Wasser extrahirt und die erhaltenen Extractionsflüssigkeiten mit der Mutterlauge vereinigt. Die Verarbeitung einer Hälfte der Lösung geschah wie folgt. Die Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft und 24 Stunden stehen gelassen. Der ausgeschiedene krystallinische Niederschlag wurde abgesaugt, mit kaltem Wasser

¹⁾ Vergl. die oben citirte Inaug.-Diss., S. 97—98.

nachgewaschen und zwischen Fliesspapier stark abgepresst. Der Niederschlag wog 644 g. Das zum Trennen und Abpressen dieses Niederschlages benutzte Fliesspapier wurde mit heissem Wasser extrahirt und sowohl das Extract als auch das Waschfiltrat mit der Mutterlauge vereinigt. Aus der Mutterlauge wurden successive noch drei Krystallisationen erhalten, von welchen jede mit kaltem Wasser nachgewaschen und zwischen Fliesspapier abgepresst wurde. Die erste von diesen drei Krystallisationen wog 121 g, die zweite 117 g, die dritte 60 g.

Das zum Trennen und Abpressen jeder von diesen Krystallisationen benutzte Fliesspapier wurde sorgfältig mit heissem Wasser extrahirt und das Extract der entsprechenden Mutterlauge hinzugefügt.

Die Mutterlauge der letzten Krystallisation, bis zur sirupösen Consistenz eingedickt, verwandelte sich beim Stehen ebenfalls in eine Krystallmasse, welche aber beim Filtriren grösstentheils in Lösung ging, und der Rest zerfloss beim Pressen zwischen Fliesspapier.

Die vier krystallinischen Niederschläge wurden vereinigt, im Wasser aufgelöst und der Gehalt der Lösung an organischen und anorganischen Substanzen ermittelt. Es zeigte sich, dass die Quantität der organischen Substanzen der Lösung 405,6 g, der anorganischen 21,6 g betrug.

In der Mutterlauge der Krystalle fand ich den Gehalt an organischen Stoffen = 589,5 g, und den der anorganischen Salze = 99 g. Rechnen wir noch dazu die krystallinisch abgetrennten Substanzen, so war die Gesamtmenge der organischen Verdauungsprodukte = 995,1 g, wovon etwa 40% krystallisirten.

Untersuchung der krystallinischen Produkte.

Die Lösung der krystallinischen Produkte wurde mit Thierkohle gekocht und filtrirt. Die verwendete Thierkohle wurde mit kochendem Wasser mehrere Male extrahirt, die vereinigten, hellgelb gefärbten Filtrate wurden auf dem Wasserbade bei 60—70° bis zur Krystallisation eingedampft und etwa 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der auf

der Wasserstrahlpumpe abgesaugte krystallinische Niederschlag (A) wurde mit kaltem Wasser mehrere Male ausgewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst, zuerst bei 50—60°, dann bei 95 bis 100°, endlich bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrocknet. Die Krystalle waren aschefrei, ihr Gewicht betrug 153 g, also ca. 15,4% von dem Gewichte der verwendeten organischen Substanzen. Die verdünnte, und zwar ca. 2,5%ige wässerige Lösung der Substanz gab gar keinen Niederschlag, sowohl mit Phosphorwolframsäure, als auch mit $\text{AgNO}_3 + \text{HNO}_3$; auch gab ihre wässerige Lösung mit dem Millon'schen Reagens keine rothe Färbung. Offenbar hatte ich hier Leucin und dessen kohlenstoffärmere Homologe vor mir, deren Trennung von einander durch fractionirte Krystallisation mit grossen Substanzverlusten verbunden war.

Dies gilt, nach den Angaben von Fr. Hofmeister¹⁾ und E. Schulze,²⁾ nicht nur für die Amidosäuren selbst, sondern auch für die schwerlöslichen Kupfersalze dieser Säuren.

Die Mutterlauge des Niederschlages (A), mit Waschwasser des Niederschlages vereinigt, wurde bis auf 8 Liter mit Wasser verdünnt, mit Schwefelsäure bis auf 2,5% angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der nach 24 Stunden abgesaugte Niederschlag wurde mit kaltem Wasser ausgewaschen und mit Barytwasser in üblicher Weise zerlegt. Das Filtrat von phosphorwolframsaurem Baryum wurde mit dem Waschwasser vereinigt, mit CO_2 gesättigt, eingedampft und vom Barytcarbonat filtrirt. Das Filtrat davon enthielt 35,49 g organischer Substanzen. Dieses Filtrat, welches etwa 5,5% organischer Substanzen enthielt, reagierte stark alkalisch.

Die ursprüngliche Lösung der rohen krystallinischen Produkte enthielt also 370,1 g der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren organischen Substanzen und 35,49 g der fällbaren.

Die Mutterlauge des Phosphorwolframsäureniederschlages, Mutterlauge (M), wie auch das Waschwasser, wurden durch Barytwasser von der in Lösung vorhandenen Phosphorwolfram-

1) Fr. Hofmeister, Liebig's Ann. Bd. 189, S. 6—13.

2) E. Schulze, diese Zeitschr., Bd. IX, S. 63—126.

säure und durch Schwefelsäure von gelöstem Baryt befreit, sodann auf dem Wasserbade bis zur Krystallisation eingedampft. Nach 24 Stunden entstand darin ein krystallinischer Niederschlag (B), welcher abfiltrirt und mit kaltem Wasser ausgewaschen wurde. Das Waschwasser, mit dem Filtrat vereinigt, gab nach dem Eindampfen und Stehenlassen eine neue Krystallisation, welche wie vorher behandelt wurde. Auf diese Weise habe ich aus der Mutterlauge (M) noch drei fast farblose, aschefreie Krystallisationen erhalten, Krystallisation C, (D) und (E).

Die Quantität der in diesen vier Krystallisationen ausgeschiedenen, bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrockneten Substanzen betrug ca. 75 g.

Die Mutterlauge des Niederschlages (E), Mutterlauge (N), bis zur syrupartigen Consistenz verdunstet, verwandelte sich in eine schmierige, zum Theil krystallinische Masse.

Die weitere Behandlung der Mutterlauge (N) wird weiter unten besprochen.

Die Niederschläge (A), (B), (C), (D) und (E).

I. Die Niederschläge wurden zusammen im Wasser gelöst und zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirt. Das Umkrystallisiren geschah mit grossem Substanzverluste. Die ausgeschiedenen Krystalle vom Aussehen des Leucins wurden bis zum constanten Gewichte bei 105—110° getrocknet und ergaben bei der Verbrennung folgende Zahlen:

0,2842 g Substanz gaben 0,2488 g H₂O und 0,5482 g CO₂
 0,2933 „ „ „ 0,2518 „ H₂O „ 0,5647 „ CO₂
 0,2384 „ „ „ 21 ccm. Stickstoff bei B = 764,6 mm.
 und T = 21°, über 30° Kalilauge.

Berechnet für:

C ₆ N ₁₃ NO ₂ :	C ₅ H ₁₁ NO ₂ :
C 54,96%	51,28%
H 9,92%	9,45%
N 10,69%	11,96%

Gefunden:

C 52,60%	52,55%	—
H 9,73%	9,61%	—
N —	—	10,33%

Die Ausbeute an dieser Substanz, Substanz (AE), betrug ca. 76 g.

Ein Theil der Mutterlauge der Substanz (AE) wurde bis zur Krystallisation eingedampft, das über Nacht auskrystallisirte abfiltrirt und noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt, bis zum constanten Gewichte bei 105—110° getrocknet und analysirt. Die Analyse gab folgende Resultate:

0,2696 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2274 g H₂O und 0,5302 g CO₂.

Gefunden:

C 54,49%

H 9,37%

Die Analysenzahlen weisen also auf das Leucin hin.

II. Das Leucin wurde noch constatirt durch die Kupferverbindung, die durch Vermischen einer wässrigen Lösung der Substanz (AE) mit einer ammoniakalischen Kupfercarbonatlösung erhalten wurde. Der entstandene, fein krystallinische Niederschlag wurde nach einigen Stunden abgesaugt, mit heissem Wasser mehrere Male nachgewaschen und zuerst bei 60—70°, dann bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrocknet. Die Analysen der Substanz gaben folgende Resultate:

0,3451 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,0952 g CuO.

0,254 „ „ „ 0,062 g CuO

0,2914 „ „ „ 0,1968 „ H₂O und 0,4736 g CO₂

0,3436 „ „ „ 0,2272 „ H₂O „ 0,5538 „ CO₂.

für (C₆H₁₂NO₂)₂Cu:

Berechnet:

C 44,52%

H 7,42%

Cu 19,61%

Gefunden:

44,33% 43,97%

7,33% 7,40%

19,72% 19,49%

III. Die Substanz (AE) wird zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirt, die erhaltene, mit kaltem Wasser nachgewaschene, zwischen Fliesspapier abgepresste und bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrocknete Substanz gab folgende Analysenzahlen:

0,3952 g Substanz gaben 0,3416 g H₂O und 0,7671 g CO₂

0,4083 „ „ 0,3526 „ H₂O „ 0,7890 „ CO₂.

schlag, welcher bloss aus fein ausgebildeten Kryställchen bestand, wurde abfiltrirt, mit heissem Wasser ausgewaschen und bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrocknet. Der Gehalt der Substanz an Kupfer war gleich 19,48%.

0,5238 g Substanz gaben beim Glühen 0,1278 g CuO.

Die Kupferverbindung zeigte also, dass ein Theil des Produktes wirklich aus Leucin bestand.

Mutterlauge (N). Die Mutterlauge (N) (S. 317) wurde mit Wasser stark verdünnt, auf dem Wasserbade bis auf etwa 70° erwärmt, mit Kupfercarbonat versetzt, noch etwa 2 Stunden unter Umrühren bei 60—70° gehalten und von dem der Hauptmasse nach aus Kupfercarbonat bestehenden Niederschlage abgetrennt. Der Niederschlag wurde mit kochendem Wasser bis zum Erschöpfen extrahirt und die Extractionsflüssigkeit dem Filtrate hinzugesetzt. Die vereinigte, intensiv blau gefärbte Lösung wurde bei gelinder Temperatur eingedampft. Der entstandene, fein krystallinische Niederschlag (F) wurde abgesaugt, mit heissem Wasser ausgewaschen und bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrocknet. Die Analyse gab folgendes Resultat:

0,2269 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,0558 g CuO.

Für $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$:

Berechnet:	Gefunden:
Cu 19,61%	19,63%

Die Mutterlauge des Niederschlages (F), Mutterlauge (P), gab nach mehreren Tagen noch einen krystallinischen Niederschlag (G); die abgesaugte, mit Wasser ausgewaschene, bei 105—110° bis zum constanten Gewichte getrocknete Substanz enthielt 19,34% Kupfer.

0,2246 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,0544 g CuO.

Die Quantität der Niederschläge (F) und (G) betrug ca. 12 g.

Die Mutterlauge des Niederschlages (G), Mutterlauge (R), gab sowohl beim mehrtägigen Stehen, als auch beim weiteren Eindampfen keinen krystallinischen Niederschlag.

Die mit Bleiessig nach dem Verfahren von E. Schulze¹⁾

¹⁾ E. Schulze, l. c.

versetzte Mutterlauge (R) gab einen unbedeutenden Niederschlag, weshalb sie auf folgende Weise verarbeitet wurde.

Die bei 60° concentrirte Lösung wurde mit dem gleichen Volumen 95%igen Alkohols sorgfältig gemischt und über Nacht stehen gelassen; es entstand ein unbedeutender, grünblau gefärbter, schlammartiger Niederschlag. Die vom Niederschlage filtrirte Lösung (der Niederschlag wurde nicht untersucht) wurde mit einer 45% Alkohol enthaltenden Bleiessigs-lösung allmählich, unter Vermeidung eines Ueberschusses versetzt, und zwar so lange, als noch ein flockiger, beim Stehen krystallisirender Niederschlag (H) entstand. Nach 24stündigem Stehen wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit 45%igem Alkohol nachgewaschen und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Die von Schwefelblei abfiltrirte Lösung wurde eingedampft, filtrirt und mit frisch gefälltem Silberoxyd so lange versetzt, als eine Probe der Lösung mit $\text{AgNO}_3 + \text{HNO}_3$ noch einen Niederschlag gab. Die vom erhaltenen Chlorsilber abfiltrirte Lösung enthielt 12.7 g organischer Substanzen. Die Lösung wurde mit Kupfercarbonat versetzt, auf dem Wasserbade bei 60—70° mehrere Stunden gehalten, von überschüssigem Kupfercarbonat abfiltrirt und bei gelinder Temperatur eingeeengt. Der nach etwa 24 Stunden entstandene krystallinische Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen und bei 120—125° bis zum constanten Gewichte getrocknet. Die Ausbeute an dem Salze betrug circa 1 g. Die Analyse gab folgende Resultate:

0.193 g Substanz gaben beim Glühen 0,078 g CuO.

0.197 g Substanz gaben 0.0813 g CuO

Für $\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_2 \cdot \text{Cu}$.

Berechnet:

Cu 32.61%

Gefunden:

32.27% 32.96%

im Mittel: 32,61%.

Die Substanz war, wie die Analyse zeigt, asparaginsaures Kupfer.

Die Mutterlauge des Niederschlages (H). Mutterlauge (S), wurde von Alkohol befreit und nach dem Verfahren von E. Schulze¹⁾ so lange mit AgNO_3 versetzt, als ein Niederschlag (J) noch entstand. Der Niederschlag (J) wurde ab-

¹⁾ E. Schulze, l. c.

gesaugt, mit kaltem Wasser nachgewaschen, durch Schwefelwasserstoff entsilbert und in Wasser gelöst. Die Ausbeute an der Substanz betrug 5,67 g. Die wässrige Lösung wurde mit Kupfercarbonat behandelt, das erhaltene klare Filtrat gab beim Eindampfen und Stehen eine ganz unbedeutende verfilzte Krystallisation.

Die Mutterlauge des Niederschlages (J) wurde weiter nicht untersucht.

Es war nicht mein Zweck, alle die hier erhaltenen krystallinischen Produkte zu isoliren. Dies würde erst dann einen besonderen Werth haben, wenn nicht ein Gemenge verschiedener Proteinsubstanzen, sondern ein einziger wohl charakterisirter Eiweissstoff der protrahirten peptischen Verdauung unterworfen worden wäre.

Es ist bemerkenswerth, dass unter den krystallinischen Spaltungsprodukten kein Tyrosin vorhanden war. Ob das Tyrosin bei dieser Selbstverdauung der Mägen entstand oder nicht, darüber können meine Untersuchungen keine genaue Auskunft geben, da der oben (S. 314) erwähnte schlammartige Niederschlag, welcher von der verdauten Lösung abgetrennt worden war, nicht untersucht wurde. Die von mir isolirten krystallinischen Produkte gaben keine Millon'sche Reaction, unter ihnen konnte also kein Tyrosin enthalten sein.

Die Mutterlauge der krystallinischen Produkte.

Die Lösung, deren Gehalt an organischen Substanzen sich, wie oben angegeben, auf 589,5 g belief, wurde bis auf 12 Liter mit Wasser verdünnt, mit Schwefelsäure angesäuert, so dass die Flüssigkeit 2,5% H_2SO_4 enthielt, und mit Phosphorwolframsäure so lange versetzt, als ein Niederschlag noch entstand, 24 Stunden stehen gelassen und filtrirt. Der abgesaugte Niederschlag wurde zwischen Fliesspapier sorgfältig abgepresst, mit Wasser ausgewaschen und durch Barytwasser bei 60—70° zerlegt. Das Barytwolframat wurde abgetrennt, mehrere Male mit heissem Wasser ausgewaschen, durch die vereinigten Filtrate Kohlensäure hindurchgeleitet, auf dem Wasserbade

eingedampft und filtrirt. Der Gehalt der resultirten Lösung an organischen Substanzen betrug 207 g. Dazu kommt noch derjenige Antheil, der bei der Fällung der krystallinischen Rohprodukte mit Phosphorwolframsäure erhalten wurde. Seine Menge war 35,5 g. Die Menge der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen, bei der Selbstverdauung der Mägen hauptsächlich von den Nucleoproteiden, theilweise aber von den Extractivstoffen der Muskel herrührend, betrug also im Ganzen ca. 24% der Verdauungsprodukte.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlage wurde mit Waschwasser des Niederschlages vereinigt, durch Aetzbaryt von der Phosphorwolframsäure und durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit. Die erhaltene, bis zur syrupösen Consistenz gebrachte Lösung gab einen verhältnissmässig unbedeutenden krystallinischen Niederschlag, welcher der Hauptmasse nach aus anorganischen Salzen bestand. Die Lösung wurde weiter nicht untersucht.

Lösung der basischen Produkte. Die Lösung der durch Phosphorwolframsäure ausgeschiedenen Produkte reagierte stark alkalisch und gab die Biuretreaction, und zwar reagierte eine etwa 8% organischer Substanzen enthaltende Probe der hellgelb gefärbten Lösung etwas stärker, als eine 0,25%ige wässrige Lösung des Wittepeptons, und etwas schwächer, als eine 0,5%ige wässrige Lösung des genannten Peptons.

Diese Prüfungen ergaben, dass bei der Selbstverdauung der Mägen die Eiweisskörper bis auf geringe Spuren zersetzt wurden.

Die Lösung wurde von den Xanthinbasen durch Silbernitrat in Gegenwart von Salpetersäure befreit und zwar wurde sie mit verdünnter Salpetersäure bis zur schwachen, deutlichen sauren Reaction und mit Silbernitrat so lange versetzt, als ein Niederschlag (I) noch entstand.

Die nach 24 Stunden vom Niederschlage (I) abgetrennte, schwach sauer reagirende Lösung wurde nach dem Verfahren, welches zur Ausscheidung von Arginin und Histidin von A. Kossel¹⁾ ausgearbeitet wurde, mit Silbernitrat und Baryt-

¹⁾ A. Kossel, Diese Zeitschr., Bd. XXV, S. 165—189.

wasser gefällt. Der entstandene, flockige Niederschlag (II) wurde nach 24 Stunden abgesaugt, mit kaltem Wasser ausgewaschen und in verdünnter Salpetersäure aufgelöst. Die erhaltene, filtrirte Lösung wurde nach dem Verfahren von S. G. Hedin¹⁾ mit Ammoniak resp. mit ammoniakalischer Silbernitratlösung gefällt. Der neu entstandene Niederschlag (IIa) wurde nach 24 Stunden abgesaugt, mit kaltem Wasser nachgewaschen, in verdünnter Schwefelsäure suspendirt, durch Schwefelsäure entsilbert, durch Baryt von Schwefelsäure, durch Kohlensäure von Barytresten befreit und bis auf 0,5 Liter eingedampft. Der Gehalt der Lösung an organischen Substanzen war 2,7 g, an anorganischen 0,55 g.

Es ist bemerkenswerth, dass diese so verdünnte Lösung eine starke alkalische Reaction zeigte, was eine Histidinlösung nicht zeigt.

Die Lösung wurde mit Thierkohle entfärbt, auf dem Wasserbade bis zur syrupösen Consistenz eingedampft, mit dem gleichen Volumen concentrirter Salzsäure versetzt, bei 40—45° bis zur Krystallisation eingedickt, abgekühlt und zuerst mit absolutem Alkohol, dann mit Aether gemischt. Es entstand ein ganz unbedeutender krystallinischer Niederschlag, welcher der Hauptmasse nach aus Baryumchlorid bestand. Dieser Niederschlag, wie auch seine Mutterlauge wurden nicht weiter untersucht.

Wenn diese Fraction, und zwar der Niederschlag (IIa), bloß aus dem Histidin bestände, so würde die erhaltene Quantität, und zwar 2,7 g, ganz unbedeutend sein im Verhältniss zu der Gesammtmenge der bei der Selbstverdauung entstandenen organischen Substanzen = 995,1 g.

Das Filtrat des Niederschlages (IIa) wurde mit Schwefelsäure bis auf 2,5% angesäuert, durch Schwefelwasserstoff entsilbert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der entstandene Niederschlag (IIb) wurde abgesaugt, mit kaltem Wasser nachgewaschen und mit Baryt zerlegt. Das erhaltene, von Baryt befreite Filtrat enthielt 7,74 g organischer und 0,22 g

¹⁾ S. G. Hedin, Diese Zeitschr., Bd. XXII, S. 191—196.

anorganischer Substanzen. Die Lösung wurde mit Salpetersäure ganz genau neutralisirt, mit Thierkohle entfärbt, mit Kupfercarbonat bei 60—70° etwa 5 Stunden gehalten, filtrirt und bei 40—45° bis zur syrupösen Consistenz eingedampft. Die concentrirte Lösung war nicht tiefblau, wie wässrige Lösungen von Argininkupfernitrat, sondern grünblau gefärbt.

Der Syrup gab beim mehrwöchentlichen Stehen keinen Niederschlag. Auch nach der Impfung mit Kryställchen von Argininkupfernitrat (aus dem Pferdeglobin) krystallisirte nach vielwöchentlichem Stehen der Syrup nicht.

Es ist also bemerkenswerth, dass sowohl das Histidin als auch das Arginin, das letztere eine verhältnissmässig leicht isolirbare Substanz, unter den basischen Produkten der energisch verlaufenen Selbstverdauung der Mägen vermisst wurden. Da lag die Vermuthung nahe, dass die eventuell entstandenen Hexonbasen bei einer so protrahirten Verdauung einer Hydrationszerlegung unterlagen, wie dies auch bei Fäulniss der genannten Basen der Fall ist.¹⁾

Ich habe daher in der vom Niederschlage (II) filtrirten Lösung nicht nur nach dem Lysin, sondern auch nach dem Putrescin und dem Cadaverin gesucht. Diese Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff entsilbert, mit Barytwasser versetzt, die Mischung mit Kohlensäure gesättigt, auf dem Wasserbade eingedampft und vom Barytcarbonat abfiltrirt. Das Filtrat enthielt 114,12 g organischer und 75,69 g anorganischer Substanzen. Die Reaction der Lösung war stark alkalisch.

Ein Theil dieser Lösung, welcher 75 g organischer Substanzen enthielt, wurde auf dem Wasserbade eingedampft und mit einer alkoholischen, gesättigten Lösung von Pikrinsäure so lange versetzt, als noch ein schwerer krystallinischer Niederschlag entstand. Der Niederschlag wurde abgesaugt, das Filtrat gab sowohl mit der alkoholischen Lösung der Pikrinsäure als auch mit Alkohol und Aether keinen krystallinischen Niederschlag mehr; aber nachdem Alkohol aus dem Filtrate beim

¹⁾ A. Ellinger, Diese Zeitschr., Bd. XXIX, S. 334—348.

Eindampfen auf dem Wasserbade entfernt worden war, gab die alkoholfreie Lösung mit einer warmen wässerigen, gesättigten Lösung der Pikrinsäure einen bedeutenden schweren krystallinischen Niederschlag. Die ersten zwei Pikrate wurden vereinigt und weiter, wie unten angegeben, behandelt.

Die von dem zweiten Filtrate filtrirte Lösung wurde auf dem Wasserbade eingeeengt: beim Stehen gab sie keinen Niederschlag. Sie wurde in wässriger Lösung mit Pikrinsäure von Neuem so lange versetzt, als noch ein schwerer krystallinischer Niederschlag entstand, welcher bei 24 stündigem Stehen etwas zunahm. Das Pikrat wurde abgetrennt, das Filtrat gab bei weiterem Zusatz von Pikrinsäure keinen Niederschlag mehr. Dieses Pikrat wurde gesondert untersucht und zwar deshalb, weil es sich in heissem Wasser augenscheinlich leichter als die zwei ersten löste.

Die zwei ersten Pikrate wurden aus heissem Wasser viermal umkrystallisirt, mit absolutem Alkohol und Aether nachgewaschen und im Vacuumexsiccator bis zum constanten Gewichte getrocknet. Die Analyse der Substanz gab folgende Resultate:

0,4204 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,1336 g H_2O und 0,5498 g CO_2 .

0,272 g Substanz gaben 48,4 ccm. Stickstoff bei B. 767 mm. und T. 22,5°.

Für $C_4H_{12}N_2 \cdot 2 C_6H_2(NO_2)_3OH$:

Berechnet:	Gefunden:
C 35,16%	35,68%
H 3,30%	3,55%
N 20,51%	20,30%

Die Ausbeute an dem viermal umkrystallisirten Pikrate betrug etwa 13 g: 114,32 g des Filtrates von dem Niederschlage (II) hätten also etwa 20 g gegeben.

Aus diesem Pikrate wurde das Dichlorid in der Weise dargestellt, dass das Pikrat mit überschüssiger verdünnter Salzsäure versetzt und so lange mit Aether geschüttelt wurde, bis alle Pikrinsäure durch den Aether entfernt war. Das aus der wässerigen Lösung erhaltene salzsaure Salz wurde mit absolutem Alkohol und Aether nachgewaschen und im Vacuum-

exsiccator bis zum constanten Gewichte getrocknet: es ergab bei der Chlorbestimmung 44,03% Cl.

0,225 g Substanz gaben 0,4007 g AgCl.

Für $C_4H_{12}N_2 \cdot 2 HCl$:

Berechnet:	Gefunden:
Cl 44,10%	44,03%

Eine wässrige Lösung des Dichlorids, mit Aetzkali versetzt und destillirt, gab ein scharf alkalisches, nach Sperma riechendes Destillat.

Allen diesen Eigenschaften zufolge erwies sich die als Pikrat isolirte Substanz mit Tetramethyldiamin identisch.¹⁾

Der dritte, oben erwähnte Pikratniederschlag wurde dreimal aus kochendem Wasser umkrystallisirt, mit absolutem Alkohol und Aether nachgewaschen und im Vacuumexsiccator bis zum constanten Gewichte getrocknet. Die Ausbeute betrug etwa 5 g. Aus dem Pikrate wurde das Chlorid in üblicher Weise dargestellt. Das mit absolutem Alkohol und Aether nachgewaschene, im Vacuumexsiccator bis zum constanten Gewichte getrocknete Chlorid enthielt 40,45% Cl.

0,2625 g Substanz gaben 0,4294 g AgCl.

Für $C_5H_{14}N_2 \cdot 2 HCl$:

Berechnet:	Gefunden:
Cl 40,57%	40,45%

Eine wässrige Lösung der Substanz, mit Aetzkali destillirt, gab ebenfalls ein stark alkalisch reagirendes, nach Sperma riechendes Destillat.

Die jetzt erhaltene Substanz war also das Pentamethyldiamin.²⁾

Bei der Untersuchung der basischen Verdauungsprodukte wurde also keine Hexonbase isolirt, sondern Putrescin und Cadaverin und zwar in nicht unbeträchtlicher Menge in analytisch reinem Zustande nachgewiesen. Es lag die Annahme nahe, dass die letztgenannten Substanzen als Hydratationsprodukte des Arginins und Lysins und zwar unter Einwirkung von Pepsin, aufzufassen sind.

¹⁾ Brieger, Untersuchung über die Ptomaine, 1885—1886.

²⁾ Brieger, l. c.

Um diese Voraussetzung zu bestätigen, beabsichtige ich, direkte Versuche über die Einwirkung des Pepsins auf die Hexonbasen anzustellen.

Die Selbstverdauung der Schweinemägen bei Ausschluss der Fäulniss ergab also, als das Hauptresultat, dass das Pepsin bei längerer Einwirkung ebenso weitgehend wie das Trypsin die Eiweisskörper spaltet.

St. Petersburg, den 1. Juli 1901.