

## Ueber den physiologischen Abbau von Jodalbumin.

Von

Max Mosse und Carl Neuberg.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Patholog. Instituts der Universität Berlin.)  
(Der Redaction zugegangen am 16. Februar 1903.)

Das bekannte pharmakodynamische Princip, dass die Ueberführung anorganischer Elemente aus dem ionisirbaren Zustand in organische Verkettung eine erhebliche Steigerung der physiologischen Wirksamkeit mit sich bringt, hat besonders bei dem therapeutisch so wichtigen Jod zur Darstellung einer Reihe werthvoller Verbindungen geführt. Die erwähnte Erscheinung, die gewöhnlich durch bessere Resorption gedeutet wird, verdient vielleicht bei den Jodeiweisskörpern eine grössere Beachtung: denn Vertreter dieser Körperklasse kommen in der Natur vor, so das Jodospongine und das Jodthyreoglobulin, der allbekannte Träger der physiologischen Schilddrüsenwirkung.

Bezüglich der letztgenannten natürlichen Jodeiweissverbindung kam A. Oswald<sup>1)</sup> zu dem gleichen Schluss wie F. Hofmeister<sup>2)</sup> für das künstliche Product, dass im thierischen Stoffwechsel das Jod aus seiner organischen Verbindung gelöst und schliesslich im Harn als Jodalkali ausgeschieden werde. Ein ähnliches Resultat erhielt Oswald bei künstlicher Trypsinverdauung, sowie bei vollständiger hydrolytischer Spaltung desselben mit siedenden starken Mineralsäuren, während die primären Spaltproducte, die Albumosen, noch organisch gebundenes Jod enthielten. Ganz ähnlich scheint

<sup>1)</sup> A. Oswald, Diese Zeitschr., Bd. XXVII, S. 11, 1899.

<sup>2)</sup> F. Hofmeister, Diese Zeitschr., Bd. XXIV, S. 158, 1898.

nach neuen Angaben<sup>1)</sup> desselben Autors auch die Trypsinspaltung und rein chemische Hydrolyse des künstlich jodirten Ovalbumins zu verlaufen, wobei er jedoch in keinem Falle ein definites Product zu isoliren vermochte.

Da sich nun der therapeutische Effect der Jodeiweisspräparate erst bei längerem Gebrauch einzustellen pflegt, und andererseits der normale Abbau der jodhaltigen Schilddrüsensubstanz einen continuirlichen Process darstellt, glaubten wir, den physiologischen Verhältnissen näher zu kommen, wenn wir den Stoffwechsel längere Zeit mit Jodeiweiss gefütterter Thiere untersuchten. Im Vergleich mit den Ergebnissen der genannten Autoren, die bei einmaliger Darreichung der Jodeiweissstoffe gewonnen waren, änderte sich nunmehr das Bild erheblich: wir waren erstaunt, zu sehen, mit welcher relativ roher Methodik sich dann jodirte Producte des normalen Stoffwechsels nachweisen lassen und wie eigenthümlich sich die Vertheilung des organisch gebundenen Jods im Körper der Versuchsthiere herausstellt.

Zu unseren Untersuchungen, die theils an Hunden, theils an Kaninchen ausgeführt wurden, diente ein technisches Product, das lösliche Jodeigonnatrium: das uns von der chemischen Fabrik Helfenberg in Sachsen freundlichst zur Verfügung gestellte Präparat bestand nach Angaben der Firma aus dem Natriumsalz von jodirtem Ovalbumin und enthielt nur Spuren von freiem Jodkali. Beim Kochen mit Mineralsäuren spaltete dasselbe bald einen kleinen Theil des Jods ab, während der grössere fest gebunden blieb. Mit diesem Material haben wir die folgenden Versuche angestellt, zu deren analytischem Theil wir bemerken, dass die Prüfung auf Jod in der üblichen Weise, die quantitative Bestimmung des organisch gebundenen Antheils durch Soda-Salpeterschmelze erfolgt ist.

#### I.

Kaninchen von 2450 g erhielt zwischen gehacktem Kohl und Rüben an 9 aufeinander folgenden Tagen je 15 g

<sup>1)</sup> A. Oswald, Beitr. zur chem. Physiol. und Patholog., Bd. III, S. 391, 1903.

Jodeigonatrium. Das Thier wurde nach drei weiteren Tagen normaler Ernährung durch Verbluten getödtet.

Blut: Die Menge desselben betrug noch nach dem Defibriniren ca. 50 cem. Das Filtrat vom Fibrin wurde durch Zusatz von Essigsäure zur siedenden Flüssigkeit enteiweiss. Weder dieser Eiweissniederschlag noch das Fibrin enthielten nach wiederholtem Auswaschen organisch gebundenes Jod.

Das klare, eiweissfreie Filtrat wurde auf 10 cem eingedampft; die resultirende Flüssigkeit gab mit Natriumnitrit, Schwefelsäure und Stärkelösung kräftige Jodreaction. Auch nach Zusatz von Salzsäure allein entzieht Chloroform der Flüssigkeit Jod, ein Befund, der vielleicht durch die Anwesenheit von Hypojodid oder Jodat zu erklären ist.

Der Rest der Flüssigkeit wurde dann mit etwas verdünnter Schwefelsäure und einigen Cubikcentimetern schwelliger Säure zur Zerstörung der höheren Oxydationsstufen des Jods gekocht, dann mit starker Silbernitratlösung ausgefällt, mit Schwefelwasserstoff entsilbert und mit Soda und Salpeter geschmolzen. Nunmehr war deutlich organisch gebundenes Jod nachweisbar.

Leber: Das gesammte Organ des Thieres wurde fein gehackt und mit der fünffachen Menge Wasser 6 Stunden bei 38° digerirt und dann aufgeköcht. Das klare Filtrat gab direct nach Zusatz von Kaliumnitrit und Schwefelsäure deutliche Jodreaction, dagegen nicht mit Salzsäure allein.

Das bis zum Verschwinden der Jodreaction ausgewaschene Coagulum gab bei der Alkalischmelze (3 g + 30 g Salpetermischung) deutlich positiven Ausfall der Jodproben.

Harn: Der während der ganzen Versuchszeit entleerte Harn zeigte von Beginn der Jodeiweissverabreichung eine bräunliche Farbe, die nicht von freiem Jod, sondern von wahrscheinlich unverändert übergegangenem Jodeiweiss herrührt: den Uebertritt des letzteren in den Urin hat übrigens schon F. Hofmeister<sup>1)</sup> beobachtet. Neben Jodeiweiss waren reichliche Mengen von Jodiden wie anderes, organisch gebundenes Jod zugegen.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XXIV, S. 172, 1898.

## H.

Kaninchen von 3300 g erhielt zuerst 10 g. und an den 10 darauf folgenden Tagen je 15 g. im Ganzen 160 g Jodeigonnatrium. 6 Tage nach der letzten Fütterung wurde es getödtet.

Blut: Die 45 cem betragende Menge wurde durch Schlagen defibrinirt, dann zuerst mit Essigsäure enteiweissst. Da aber so keine völlige Enteiweissung erzielt werden konnte, wurde die Flüssigkeit eingedampft, von einem geringen Niederschlag abfiltrirt und dann mit Eisenchlorid und Natriumacetat behandelt. Die nunmehr resultirende eiweissfreie Flüssigkeit ergab wiederum sowohl mit salpetriger Säure wie Salzsäure allein Jodreaction, desgleichen fiel die Prüfung auf organisch gebundenes Jod in der sub I. angegebenen Weise stark positiv aus.

Dagegen erwiesen sich Fibrin wie auscoagulirtes Eiweiss als jodfrei.

Leber: Das 90 g schwere Organ wurde derselben Behandlung, wie das des Thieres I unterworfen: der wässrige Auszug war jodfrei, das Coagulum des Lebereiweisses dagegen jodhaltig.

Muskeln: Dieselben wurden abpräparirt und wogen in rohem Zustande ca. 455 g. Nach achtstündiger Digestion mit 12 l Chloroformwasser wurde vom Rückstand (A) filtrirt, die Lösung (B) enteiweisst und von dem dabei gebildeten Niederschlag (C) abfiltrirt. In der resultirenden Flüssigkeit war kein anorganisches Jod nachweisbar, auch nicht nach Concentration von 500 cem auf 20 cem. Dagegen konnte im gleichen Quantum nach dem Veraschen mit Soda und Salpeter deutlich die Gegenwart einer geringen Menge organisch gebundenen Jods nachgewiesen werden. Auch der Rückstand (A) der Muskeln enthielt eine geringe Menge Jod in organischer Bindung, während dieses im Eiweissecoagulum (C) nicht nachweisbar war.

Harn: Der während der Versuchszeit entleerte Harn bot dasselbe Bild, wie beim Versuchsthier I dar. Wir haben in diesem Falle darauf geachtet, zu welcher Zeit das organisch

gebundene Jod (abgesehen vom unverändert übergehenden Jodeiweiss) auftritt und verschwindet. Wir fanden es zuerst am 4. Fütterungstage: im Harn der beiden letzten Versuchstage, d. h. am 5. und 6. Tage nach der letzten Jodeiweissdarreichung, war noch reichlich anorganisches Jod vorhanden, während solches in organischer Bindung nur in Spuren zu constatiren war. Unverändertes Jodeiweiss war bereits am 3. Tage nach der letzten Verabfolgung aus dem Harn verschwunden.

Die Betrachtung der Protokolle zeigt ohne Weiteres, dass sich bei längerer Zufuhr von Jodeiweiss die Chemie des Stoffwechsels etwas anders gestaltet, als sie Hofmeister und Kurajeff bei einmaliger Verabreichung kleinerer Gaben fanden. Neu ist vor Allem, dass lösliche organische Jodverbindungen, die keine eiweissähnlichen Körper mehr sind, sowohl im Harn wie Blut (gelegentlich auch in den Organauszügen?) auftreten, und dass in der Leber, wie in den Muskeln unlösliche organische Jodverbindungen sich finden. Die Natur der letzteren haben wir vorläufig nicht ermittelt, doch halten wir es für wahrscheinlich, dass es sich hier um Jodeiweisskörper handelt, da sich ihnen eine jodhaltige, eiweissfreie Substanz auf keine Weise<sup>1)</sup> entziehen liess; dagegen gelang es, die (oder einen der) jodhaltigen organischen Körper des Harns und Bluts aufzuklären. Ersteren konnten wir aus dem Harn der beiden Versuchsthiere (Kaninchen I und II) gewinnen; letztere findet sich im Blute derselben, aber in solch geringer Menge, dass seine Darstellung unverhältnissmässige Opfer an Jodalbamin, sowie an Thieren erfordert hätte. Wir wählten deshalb ein blutreicheres Thier und blieben nach misslungenen Versuchen an einem Mutterschaf,<sup>2)</sup> an dem der Uebertritt der organischen Jodverbindung auf die Embryonen besonders untersucht werden sollte, beim Hunde stehen.

An den grossen Organen dieses Thieres haben wir sodann noch die Vertheilung von anorganisch und organisch gebundenem Jod untersucht und berichten zunächst darüber.

1) z. B. nicht durch längeres Auskochen mit Wasser oder indifferente organische Solventien bei alkalischer oder saurer Reaction.

2) Dasselbe ging an einer Geschwulst vorzeitig zu Grunde.

## III.

Ein grosser Hühnerhund von 18 kg erhielt an 25 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 g Jodalbumin und wurde nach weiteren 2 Tagen durch Verbluten getödtet.

Das Blut, dessen Menge 950 ccm betrug, verhielt sich bezüglich des Jodgehaltes qualitativ genau wie das des Kaninchens.

Die Organe zeigten dagegen ein etwas anderes Verhalten. Sie erwiesen sich bis auf die Leber sämmtlich sowohl frei von anorganisch, wie organisch gebundenem Jod, das auch in den wässerigen Auszügen derselben, erhalten durch mehrstündige Digestion der Organe mit der 4–5fachen Menge Chloroformwasser bei 38°, nicht nachzuweisen war. Geprüft wurden in dieser Richtung: Muskel, Milz, Centralnervensystem, Nieren und Leber; allein der Digestionsrückstand der letzteren enthielt organisch gebundenes Jod, doch augenscheinlich in geringerer Menge als die Kaninchenleber.

Besonders fällt das Fehlen des Jods in Muskeleiweiss auf, das nach den Untersuchungen von Blum und Vaubel<sup>1)</sup> extra corpus in besonders hohem Maasse jodirbar ist. Allein derartige Unterschiede im Stoffwechsel von Hund und Kaninchen bieten nichts Absonderliches: sie sind namentlich in ihrem Verhalten zu den Kohlehydraten häufig beobachtet.

Der Harn des Hundes erhielt vom 2. Versuchstage an neben Jodalkali Jodeiweiss und andere organische Jodverbindungen. In den letzten Tagen färbte sich der Harn bald nach der Entleerung immer dunkler und war schliesslich von etwas freiem Jod tiefbraun gefärbt.

## IV.

**Darstellung der jodhaltigen organischen Substanz aus dem Kaninchenharn.**

Ein Vergleich der Protokolle von Versuch I und II zeigt, dass sich beide Versuchsthiere annähernd gleich verhalten. Der Unterschied, der durch die Anwesenheit von anorganischem

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. 56, S. 393 u. Bd. 57, S. 365.

Jod im wässerigen Leberauszug des Thieres I vorhanden ist, kann nicht viel ins Gewicht fallen. Möglicher Weise ist hier die Jodgegenwart durch Autodigestion bedingt; denn einerseits tritt diese nach den Untersuchungen von E. Salkowski<sup>1)</sup> und M. Jacoby<sup>2)</sup> gerade in diesem Organ besonders schnell und tiefgreifend ein, und andererseits wissen wir durch die Arbeiten von Drechsel, Hofmeister, Oswald u. A., dass bei den verschiedensten eiweisspaltenden Processen organisch gebundenes Jod in den Ionenzustand übergeführt wird. Wir haben deshalb nicht Anstand genommen, die gesammelten Harnen von den Versuchsthieren I und II für die folgende Untersuchung zu vereinen; die Gesamtmenge betrug 3140 ccm.

Zur Orientirung über die Natur der Substanz haben wir eine systematische Fractionirung des Harns mit Barytwasser und Bleisalzen vorgenommen, nachdem vorhandenes Jodalbumin zuvor durch Kochen bei schwach essigsaurer Reaction zum Theil ausgefällt und mit Eisenchlorid und Natriumacetat möglichst vollständig ausgefällt war. Dabei ergab sich Folgendes:

1. Fällung, erzeugt in 250 ccm des enteiweissten Harns durch Barytwasser bis zur Ausfällung. Der Barytniederschlag war jodhaltig. Durch Zerlegung mit verdünnter Schwefelsäure erwies sich das rückständige Baryumsulfat als jodfrei und das in Lösung gegangene Jod war gänzlich in anorganischer Form zugegen; da Baryumjodid leichtlöslich ist, so fand sich im Niederschlag möglicher Weise schwerlösliches jodsaures Baryum.

2. Fällung. Der durch normales Bleiacetat erzeugte Niederschlag enthielt anorganisches Jod neben einer Spur organisch gebundenem.

3. Fällung mit Bleisubacetat verhält sich genau wie der Bleizuckerniederschlag und.

4. Fällung mit Bleiessig + Ammoniak gleicht bezüglich der Vertheilung des Jods den beiden vorigen.

5. In den resultirenden Mutterlaugen befanden sich noch immer Jodide und neben diesen nun die Hauptmengen der

1) E. Salkowski, Zeitschr. f. klin. Medicin, 1891, Suppl.

2) M. Jacoby, Diese Zeitschr., Bd. XXX, S. 174, 1900.

organischen Jodverbindungen. Letztere erwiesen sich durch Silbernitrat nicht fällbar, dagegen liessen sie sich durch eine Reihe organischer Solventien aus der angesäuerten, nicht aber aus der alkalischen Lösung ausschütteln. In Aether, sowie ein Gemisch gleicher Theile Alkohol und Aether geht sie ziemlich leicht über; sehr leicht wird sie von Essigäther, aber kaum von Chloroform und Ligroin aufgenommen. Aus diesen Daten gewannen wir die Ueberzeugung, dass die neue Substanz sauren Charakter besitzen müsse, dass sie nicht oder höchst unvollständig aus verdünnten Lösungen durch Blei-, Baryt- und Silbersalze fällbar ist, die im Wesentlichen anorganische Jodverbindungen niederschlagen. Wir haben deshalb von jeglicher Fractionirung abgesehen und die Hauptmenge des Harns direkt mit Essigester ausgeschüttelt.

Die restirenden ca. 2900 cem Harn wurden nach Entfernung des Eiweisses und Zerstörung des freien Jods durch schwellige Säure mit Schwefelsäure von 25% bis zur stark sauren Reaction versetzt, dann mit Glaubersalz gesättigt und 8 mal mit je ca. 400 cem Essigäther ausgeschüttelt.

Der Essigäther wurde grösstentheils abdestillirt, der Rest durch freiwillige Verdunstung in einer flachen Schale entfernt. In dem braunen syrupösen Rückstand erschienen bereits nach einigen Stunden kleine Kryställchen, doch nahm deren Menge auch bei etwa einmonatlichem Stehen nicht erheblich zu. Deshalb wurde der gesammte Rückstand in heissem Wasser aufgenommen, mit Baryt bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt und von einem geringen dabei entstehenden Niederschlag abfiltrirt. Das klare Filtrat wurde sodann in der Siedehitze durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreit und eingedampft. Der Rückstand erstarrte nach einiger Zeit zu einem Brei bräunlich gefärbter Krystalle; als deren Menge nicht mehr zunahm, wurden sie durch Streichen auf Thon von der zähen Mutterlauge befreit. Die Menge des getrockneten Rohproducts betrug 2,80 g. Dasselbe konnte ohne wesentlichen Verlust aus viel heissem Wasser unter Zusatz von Knochenkohle unkristallisirt werden und wurde nach nochmaliger Wiederholung der Procedur in blendend weissen, kurzen

Nädelchen erhalten, die keinen scharfen Schmelzpunkt besaßen.

Durch genaue Zerlegung des Barytsalzes mit Schwefelsäure und Filtration vom  $BaSO_4$  resultirt eine Lösung der freien Säure, die sich beim Eindampfen als Syrup an den Gefäßwänden abscheidet. Beim Erhitzen auf dem Platinblech verbrennt die Säure unter Verbreitung eines harzähnlichen Geruches und stösst dabei violette Joddämpfe aus; beim Schmelzen mit Kalium entsteht Jodkali und gleichzeitig gibt sich ein Stickstoffgehalt durch Bildung von Kaliumcyanid zu erkennen. Die Säure löst sich leicht in Alkalien und in Ammoniak und wird daraus durch Mineralsäure wieder amorph gefällt; von den gewöhnlichen organischen Solventien wird sie mit Ausnahme von Ligroin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und aromatischen Kohlenwasserstoffen leicht aufgenommen.

Die Analyse des Baryumsalzes ergab folgende Daten:

0.1515 g Subst. ergaben: 0.1612 g  $CO_2$  u. 0.0273 g  $H_2O$  (verbraunt unter Zusatz von  $K_2Cr_2O_7$ ).

0.1883 g Subst. ergaben: 6.6 ccm N bei  $19^\circ$  u. 754 mm.

0.2003 g Subst. ergaben: 7.0 ccm N bei  $19^\circ$  u. 760 mm.

0.1624 g Subst. ergaben: 0.1022 g AgJ (nach Carius) u. 0.0513 g  $BaSO_4$ .

Für diese Zahlen berechnet sich als einfachster Ausdruck die Formel  $(C_9H_7O_3NJ)_2Ba$ . Die hierfür von der Theorie geforderten Werthe stimmen mit den gefundenen befriedigend überein:

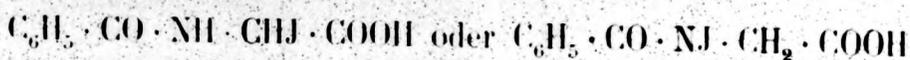
Gefunden:	Berechnet für $C_{18}H_{14}O_6N_2J_2Ba$ :
C = 29.01%	C = 28.99%
H = 1.93%	H = 1.88%
N = 4.02%; 3.98%	N = 3.76%
J = 34.08%	J = 34.09%
Ba = 18.51%	Ba = 18.39%

Formel wie Eigenschaften der neuen Säure weisen nun auf eine Jodhippursäure hin, deren Barytsalz gleichfalls die Formel  $(C_9H_7O_3NJ)_2Ba$  hat und deren Zusammensetzung im freien Zustande der Formel  $C_9H_5O_3NJ$  entspricht.

Die Litteratur verzeichnet zwei Säuren dieser Formel. Die eine ist von Maier<sup>1)</sup> durch Erhitzen von Hippursäure mit

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Chemie, 1865, S. 415.

alkoholischer Jodlösung dargestellt; sie hat gänzlich andere Eigenschaften als unsere neue Säure, zersetzt sich z. B. schon bei 90° unter Jodabscheidung, ist selbst krystallinisch, bildet aber kein krystallisiertes Baryumsalz und kann deshalb mit ihr nicht identisch sein. Auch die isomere von P. Griess<sup>1)</sup> beschriebene Jodhippursäure ist von ihr charakteristisch unterschieden. Diese übrigens nicht näher bezeichnete Säure von Griess ist nun aus Diazohippursäure dargestellt; soweit aus den Angaben des Autors ersichtlich ist, war diese letztere in bekannter Weise über die Amidoverbindung aus dem Product der directen Nitrirung von Hippursäuren gewonnen, für das Schwanert und Conrad<sup>2)</sup> die Constitution der meta-Nitrosäure ermittelt haben, ist also als m-Jodhippursäure zu bezeichnen. Nach der ganzen Art der Darstellung und der Zersetzlichkeit kann die Maier'sche Säure<sup>3)</sup> nicht im Benzolkern, sondern höchstens in der aliphatischen Kette jodirt, also nach einer der Formeln



constituirt sein.

Es blieben demnach für unsere neue Säure nur die Möglichkeiten von o- und p-Jodhippursäure, die Entscheidung zwischen beiden und zugleich einen strikten Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme erbrachten wir durch die Spaltung unserer Substanz mit starker Salzsäure, durch die sie in o-Jodbenzoesäure und Glycocoll zerfällt.

Zu diesem Versuche diente unser gesamter Rest an neuer Substanz, 1,6220 g Baryumsalz. Dasselbe wurde mit 8 g Salzsäure vom spec. Gew. 1,19 4 Stunden im zugeschmolzenen Röhrchen auf 110° erhitzt. Nach 24stündigem Stehen des Rohrinhaltes im Eisschrank wurde die gesammte Flüssigkeit (F) vom Rückstand (R) durch Filtration getrennt.

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 1, S. 190.

2) Ann. d. Chem., Bd. 112, S. 69; Journ. f. pract. Chem., [2] Bd. 15, S. 254

3) Jüngst hat H. Hildebrandt (Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. III, S. 369, 1902) gezeigt, dass die entsprechend gewonnene Bromhippursäure von Maier nicht existirt, sodass wohl auch die Jodverbindung überhaupt in Zweifel zu ziehen ist.

Letzterer (Rückstand R) bestand aus weissen Nadeln (0,705 g), deren Schmelzpunkt 154° sich nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser auf 156° erhöhte. Dieser stimmt mit dem der o-Jodbenzoesäure überein, den Kékulé zu 156—157° angibt, während die p-Säure 100° höher, bei 250—251° (Körner), und die m-Säure bei 186—187° (Hübner) schmilzt.

Dieses Resultat wurde ausserdem durch den qualitativen Nachweis von Jod, sowie eine Kohlenwasserstoffbestimmung controllirt.

0,1266 g Subst. ergaben: 0,1562 g CO<sub>2</sub> u. 0,0251 g H<sub>2</sub>O.

Berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>J·COOH:

C = 33,87%

H = 2,02%

Gefunden:

C = 33,65%

H = 2,19%

Die Flüssigkeit F wurde zunächst zur Entfernung des Baryums mit der (aus der angewandten Menge Salz) berechneten Quantität Silbersulfat versetzt, nach dem Aufkochen filtrirt und dann zur Vertreibung der überschüssigen Salzsäure auf dem Wasserbade unter mehrfachem Ersatz des verdampften Wassers eingengt, der Rückstand wurde in 20 ccm Wasser gelöst, zweimal mit je 15 ccm Aether ausgeschüttelt, mit Silberoxyd entchlort und vom gelösten Metall durch Einleiten von Schwefelwasserstoff befreit. Die Flüssigkeit wurde dann zur Vertreibung des Schwefelwasserstoffs ausgekocht und in der Siedehitze mit Kupferhydroxyd behandelt. Letzteres ging mit tiefblauer Farbe in Lösung und aus der filtrirten und auf etwa 2 ccm eingengten Flüssigkeit schieden sich auf Zusatz der gleichen Quantität Alkohol von 96% bald feine blaue Nadelchen ab, die nach 24 stündigem Stehen abgesaugt wurden. Bei der geringen Menge derselben (0,2008 g) verzichteten wir auf eine weitere Reinigung, doch gab die gleichzeitig<sup>1)</sup> ausgeführte Bestimmung des Krystallwassers, sowie von Kupfer und Stickstoff auf Glycocollkupfer stimmende Zahlen.

<sup>1)</sup> Dieselbe erfolgte durch Trocknung der Substanz direct im Platinschiff bei 120°; die Verbrennung wurde ohne Zusatz von Kupferoxyd in einem völlig neuen, auch mit neuen Cu-Spiralen versehenen Rohr vorgenommen. Der Rückstand im Platinschiff wurde an der Luft noch kurze Zeit geglüht und dann gewogen.

0.1514 Subst. wogen nach dem Trocknen bei 120° 0.1392 g; demnach Gewichtsverlust = 0.0122 g.

0.1392 g Subst. ergaben 15.0 ccm N (bei 16° und 750 mm) und 0.0485 g CuO.

Berechnet für  $(C_8H_9NH_2COO)_2Cu + H_2O$ :

$H_2O = 7.86\%$

N = 12.22%

Cu = 27.51%

Gefunden:

$H_2O = 8.06\%$

N = 12.54%

Cu = 27.60%

Trotz der geringen Substanzmenge ist die Charakterisierung der Spaltungsproducte vollständig gelungen; damit ist aber auch für unseren jodhaltigen Körper mit Sicherheit die Constitution der o-Jodhippursäure festgelegt, die mit vielen substituirten Hippursäuren die Eigenschaft theilt, nicht oder schwer zu krystallisiren.

## V.

### Darstellung der jodhaltigen organischen Substanz aus Hundeblood.

Auf Grund der Erfahrungen, die wir über die Löslichkeit der jodhaltigen Substanz aus Kaninchenharn in organischen Solventien gemacht hatten, konnten wir alsbald das gleiche Verhalten des Körpers aus Hundeblood feststellen. Die Isolirung erfolgte deshalb in der folgenden einfachen Weise.

Durch Kochen unter vorsichtigem Zusatz von etwas Essigsäure wurde das Blood zunächst enteiwesst und das klare Filtrat der Eiweisskörper dann auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup verdampft. Aus diesem wurde die neue Substanz nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure durch Aether extrahirt. Die durch 5 Ausschüttelungen vollständig ausgezogene Verbindung hinterblieb beim Verdampfen der Aetherextracte als eine von braunem Syrup durchtränkte Krystallmasse; letztere wurde nach 8tägigem Stehen durch Abpressen auf Thon isolirt und durch Krystallisation auf heissem Wasser unter Zusatz von Knochenkohle in Form kleiner, weisser Nadeln (0.80 g) erhalten.

Dieselben gaben beim Schmelzen mit metallischem Kalium wohl einen Jodgehalt, aber keinen Stickstoffgehalt zu erkennen und unterschieden sich von der o-Jodhippursäure von vornherein durch Krystallisirbarkeit und ihren Schmelzpunkt 156°.

Letzterer ist nun, wie oben erwähnt, der von *o*-Jodbenzoesäure: in der That bestätigte die Analyse die naheliegende Vermuthung vom Vorliegen dieser Säure.

0.1531 g Substanz ergaben 0.1901 g CO<sub>2</sub> und 0.0277 g H<sub>2</sub>O.

0.1288 „ „ „ 0.1175 g AgJ = 0.0631 g J.

Berechnet für C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>J:

C = 33.87%

H = 2.02%

J = 51.21%

Gefunden:

C = 34.02%

H = 1.99%

J = 51.32%

## VI.

### Versuche zur Darstellung der jodhaltigen Substanz aus dem Hundeharn.

Der Harn des mit Jodeiweiss gefütterten Hundes enthielt (siehe oben) auch nach Entfernung des übergegangenen Jodproteins organisch gebundenes Jod. Letzteres war gleichfalls in Form einer ausschüttelbaren Säure zugegen. Bei einer der Verarbeitung des Kaninchenharns genau entsprechenden Methode konnten wir die Substanz aus dem Essigätherextract zwar krystallinisch und durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser etc. auch rein weiss erhalten; sie zeigte aber einen völlig unscharfen Schmelzpunkt (129—150°) und besass auch einen weder auf Jodbenzoesäure, noch Jodhippursäure stimmenden Jodgehalt. Letzterer betrug nach einer Bestimmung 24,33%, war also kleiner als der von den genannten Substanzen (44,64% und 51,21% J). Daher kann kein einfaches Gemisch bei der Substanz vorgelegen haben, sondern, was vielleicht wahrscheinlicher ist, ein Gemisch von gewöhnlicher Hippursäure, resp. Benzoesäure, mit der entsprechenden jodirten Säure, für das wir bei den geringen Mengen keine Trennungsmethode gefunden haben.

## VII.

Wie erwähnt, ist für diese Versuche ein technisches Product gedient, wie solche ja in praxi ausschliesslich zur Anwendung kommen; selbstverständlich haben wir uns davon überzeugt, dass es weder Jodbenzoe- noch -Hippursäure enthält. Wichtig für die Frage nach der Bildung der gefundenen jodirten Säure war die Feststellung, ob sich bei der hydrolytischen

Spaltung des verwendeten Präparates Jodbenzoesäure, resp. Jodhippursäure bildet. Zu diesem Zwecke wurden 100 g der Substanz mit  $\frac{1}{2}$  Liter rauchender Salzsäure übergossen und nach erfolgter Lösung 8 Stunden lang bis zum Verschwinden der Biuretreaction am Rückflusskühler erhitzt. Durch Ausschüttelung des mit schwelliger Säure entfärbten Reactionsproductes mit Aether konnte keine der fraglichen Substanzen extrahirt werden. Demnach ist es sicher, dass beide Substanzen in vivo gebildet werden.

Um nun, wenn möglich, etwas über den Ort der Entstehung zu erfahren, haben wir, ausgehend von der Annahme, dass hierfür vielleicht die bacterielle Zersetzung im Darm in Betracht zu ziehen sei, das Product der Fäulniss unterworfen. Da sich Jodalbumin allein gegen Fäulniss sehr resistent erwies, haben wir es mit einem Drittel seines Gewichtes an gehacktem Fleisch versetzt, worauf die Fäulniss ohne Schwierigkeit eintrat. Die Verarbeitung der Fäulnissmischung, die übrigens freies Jod wie Jodalkali enthielt, wurde nach der Methode von E. und H. Salkowski<sup>1)</sup> vorgenommen: sie ergab für die obige Annahme jedoch keinen Anhalt. Denn es konnten überhaupt nur die gewöhnlichen, nicht jodirten Bestandtheile isolirt werden, und organisch gebundenes Jod fand sich allein in der auch bei gewöhnlicher Fäulniss noch nicht aufgetheilten Fraction. Wenn wir demnach auch über die Bildungsstätte nichts auszusagen vermögen, so kann man sich die auffällige Thatsache, dass gerade orthojodirte Producte zur Ausscheidung gelangen, auf Grund einiger Erwägungen theoretischer Art erklären.

Bekanntlich gelingt es nicht immer, aus einem Monosubstitutionsproduct des Benzols direct durch Einführung von Halogen zu einem Disubstitutionsproduct mit Orthostellung der Substituenten zu gelangen. Dagegen weiss man, dass eine solche Combination geschaffen wird, wenn aus einem Polysubstitutionsproduct nachträglich Seitenketten durch Oxydation entfernt werden. In ähnlicher Weise vollzieht sich vermuth-

<sup>1)</sup> Siehe E. Salkowski, Practikum, 2. Aufl., S. 223.

lich der physiologische Abbau des Jodalbumins zur o-Jodbenzoesäure, die dann theils frei im Blute kreist, theils von Glycocoll abgefangen, als o-Jodhippursäure zur Ausscheidung gelangt. Welcher Complex die angenommene Oxydation erfährt, entzieht sich vorerst der sicheren Beurtheilung; übrigens ist in jüngster Zeit C. H. L. Schmidt<sup>1)</sup> durch andere Betrachtungen zu der Annahme gelangt, dass sich bei der Jodirung der Albumine zunächst ein in p-Stellung jodirtes Benzolderivat bildet.

Von physiologischem Interesse ist es ferner, dass nach den Untersuchungen von Herm. Hildebrandt<sup>2)</sup> gerade die Orthohalogenbenzoesäure die am wenigsten giftigen der drei Isomeren sind; damit mag in unserem Falle vielleicht die Bildung der Orthoproducte in Beziehung stehen.

Es erhebt sich nun die Frage, ob nicht noch andere als die beschriebenen jodirten Producte nach Genuss von Jodeiweisspräparaten auftreten; nach dieser Richtung hin liegt bereits ein Befund von Jantzen<sup>3)</sup> vor, der das Milchfett von mit Jodcasein gefütterten Kühen jodhaltig fand. Zu prüfen ist ferner, ob auch nach Einführung von Jodalkali oder anderen organischen Jodverbindungen, die nicht Jodeiweiss sind, organisch gebundenes Jod zur Ausscheidung gelangt. Zwar sind hierbei niemals Producte der von uns gefundenen Art isolirt, doch finden sich bei einigen Autoren allerdings bestrittene Angaben<sup>4)</sup> über ein spurenweises Vorkommen organischer Jodverbindungen. Des Weiteren wäre es von Interesse, Untersuchungen darüber anzustellen, ob vielleicht bei der Basedow'schen Krankheit, die ja nach der Theorie von Möbius auf einer Jodüberschwemmung des Organismus beruht, ähnliche Verhältnisse obwalten, d. h. ob auch hier normaler Weise jodfreie Stoffwechselproducte jodhaltig zur Ausscheidung gelangen.

Es sollen noch andere jodirte Eiweisskörper, insbesondere die natürlich vorkommenden, im hiesigen Laboratorium, nach dieser Richtung hin untersucht werden.

1) Diese Zeitschr., Bd. XXXVI, S. 388, 1902.

2) Verhandl. der Physiolog. Ges. Berlin, 1902, Nr. 10—11.

3) Centralbl. f. Physiolog., Bd. 15, S. 506, 1901.

4) Lesser, Arch. f. Dermatolog. 64, 91 (1903).