

Die «Kohlehydratgruppe» des Serumglobulins, des Serumalbumins und des Eieralbumins.

Von

Emil Abderhalden, Peter Bergell und Theodor Dörpinghaus.

(Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 21. April 1904.)

Seitdem in einigen den genuinen Eiweißkörpern nahestehenden Körpern, den Mucinen und Mucoiden, eine Verbindung — Glukosamin — nachgewiesen worden ist, welche eine Mittelstellung zwischen den Kohlehydraten und den Aminosäuren einnimmt, lag der Versuch nahe, auch die eigentlichen Eiweißkörper auf das Vorhandensein einer Kohlehydratgruppe zu untersuchen, und falls sich eine solche nachweisen ließ, deren Bindungsart im Eiweißmolekül festzustellen. Es sind denn auch in den letzten Jahren eingehende Untersuchungen in dieser Richtung vorgenommen worden, deren Resultate zu weittragenden Schlüssen speziell über die Zuckerbildung aus Eiweiß Veranlassung gaben. So gibt Langstein an,¹⁾ im Serumalbumin neben Glukosamin eine noch nicht aufgeklärte Kohlehydratsäure, im Serumglobulin Glukose, ferner Fruktose und eine Aminohexose, die mit Glukosamin nicht identisch war, gefunden zu haben. Langstein bestätigte ferner den Befund von Glukosamin im Eieralbumin, weist aber darauf hin, daß die von ihm isolierte Verbindung, nach der Kristallform zu schließen, nicht das gewöhnliche Glukosamin wäre.

¹⁾ Langstein, Die Kohlehydrate des kristallisierten Serumalbumins. Beiträge zur chem. Physiologie und Pathol., Jg. 1, S. 259.

— Die Kohlehydrate des Serumglobulins (I. Mitteilung). Sitzungsberichte der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien. Mathem.-naturw. Klasse; Bd. CXII, Abt. IIb, Mai 1903.

— Die Kohlehydratgruppe des kristallisierten Ovalbumins. Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 49, 1900/01.

Da ein Teil der in der Literatur niedergelegten Schlüsse durch die mitgeteilten experimentellen Befunde nicht genügend gestützt wird, und es andererseits von hohem Werte war, in einwandfreier Weise festzustellen, inwiefern und in welcher Weise Kohlehydrate am Aufbau des Eiweißmoleküls beteiligt waren, haben wir mit Berücksichtigung der Reinheit des Ausgangsmaterials die erwähnten drei Eiweißkörper auf ihren Kohlehydratgehalt resp. auf deren Beimengung untersucht.

1. Serumglobulin.

Zehn Portionen von je 50 g Serumglobulin¹⁾ wurden mit je 1 l 5%iger Bromwasserstoffsäure 3¹/₂ Stunden in lebhaftem Sieden unter Rückfluß erhalten. Nachdem nach dem Erkalten jede Portion für sich mit einer konzentrierten Lösung von Phosphorwolframsäure bis zu einem geringen Überschuß versetzt worden war, wurde die Lösung unter 40° im Vacuum eingedampft und von Zeit zu Zeit die Säure mit Bleikarbonat abgestumpft. Der Rest des Broms wurde durch frisch gefälltes Silberoxyd und Silberkarbonat entfernt. Die während dieser Operation bei den verschiedenen Konzentrationen ausgeführten Titrationen zeigten bereits, daß weniger als 1% der angewandten Globulinmenge an reduzierenden Substanzen vorhanden war. Nachdem bis zu einem Gehalt von ca. 1% Zucker (Reduktionswert) eingeengt worden war, wurde mit Bleizucker gefällt, und aus dem Filtrat der Zucker mit dem durch vorsichtigen Zusatz von Ammoniak entstehenden Bleiniederschlag abgeschieden. Die Kontrolle der Fällungsfractionen ergab, daß nur geringe Verluste entstanden waren. Nach erfolgter Ausfällung des Bleies mit Schwefelwasserstoff und Verjagung des letzteren hinterblieb eine farblose, wasserklare Lösung.

Dieselbe zeigte eine deutliche positive Gärungsprobe, drehte schwach rechts (entsprechend 0,26 g Glukose; Wert jedenfalls etwas zu niedrig infolge eventueller Anwesenheit von Aminosäuren). Die gesamte Lösung wurde zur Darstellung des Osazons verwendet. Das Osazon kristallisierte vollständig

¹⁾ Das Präparat verdanken wir der Liberalität der Direktoren der Farbwerke zu Höchst.

in den bekannten zu Garben vereinigten Nadeln. Von denselben erschien ein Teil in heißem Wasser leichter löslich.

An in heißem Wasser schwerlöslichen Osazon wurden 0,45 g erhalten. Schmelzpunkt 199—201° (korr. 204°). Die Analyse ergab:

0,1938 g Substanz gaben	0,4322 g CO ₂	und	0,1087 g N ₂ O.
Berechnet		Gefunden	
C 60,33%	H 6,14%	C 60,82%	H 6,18%

Nach dem Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol wurden folgende Zahlen erhalten:

0,1559 g Substanz gaben	0,3474 g CO ₂	und	0,0873 g H ₂ O
	= 60,77% C	und	6,22% H.

Mit reinem Glukosazon vermengt, schmolz die Substanz wiederum genau bei 203—204° (korr.).

Die Menge des in heißem Wasser zunächst löslichen Osazons betrug 0,40 g. (Die Gesamtmenge des völlig auskristallisierten Osazons aus 500 g Serumglobulin betrug daher 0,85 g). Der Schmelzpunkt war 186—188° (189,5—191,5 korr.). Nach einmaligem Umkristallisieren aus sehr verdünntem Alkohol stieg der Schmelzpunkt auf 199° (korr. 203°). Die Substanzmenge betrug noch 0,3 g.

Die Analyse ergab:

0,1772 g Substanz gaben	0,3952 g CO ₂	und	0,0985 g H ₂ O
	= 60,82% C	und	6,19% H.

Die Untersuchung zeigt, daß sich aus dem Serumglobulin eine sehr geringe Menge eines Kohlehydrates erhalten läßt, dessen Osazon Glukosazon ist. Die Hauptmenge dieses Kohlehydrates ist jedenfalls Glukose, ob Spuren von Glukosamin zugleich vorhanden sind, können unsere Untersuchungen nicht entscheiden. Die Menge der Glukose beträgt ca. 0,1% des verwendeten Serumglobulins. Anhaltspunkte für die Anwesenheit der weiteren von Herrn Langstein erwähnten Verbindungen der Kohlehydratgruppe konnten wir keine finden.

Nach der Pflügerschen Methode der Glykogenbestimmung konnten wir zudem einen dextrinartigen Körper gewinnen, bei dessen Hydrolyse durch Säure Glukose auftrat.

Nach diesen Befunden halten wir es nicht für erwiesen, daß ein Kohlehydrat als primäres Spaltprodukt des Serumglobulins vorliegt. Vielmehr sprechen unsere Resultate, und speziell auch die Beobachtung, daß der Kohlehydratgehalt des Serumglobulins je nach dem Präparat ein verschieden hoher ist, dafür, daß das Serumglobulin keine vorgebildete Kohlehydratgruppe enthält. Natürlich ist die Möglichkeit, daß das Serumglobulin ein Gemenge verschiedener Eiweißkörper darstellt, unter denen einer die Kohlehydratgruppe trägt und in geringer Menge vorhanden ist, zuzugeben. Ehe jedoch derartige Produkte isoliert sind, kann man von einem Vorhandensein der Kohlehydratgruppe im Eiweiß nicht in dem Sinne sprechen, wie z. B. von dem sicheren Nachweis der Oxyaminsäuren (Serin, Oxypyrrolidinkarbonsäure).

2. Serumalbumin.

Nach Grübler dargestelltes, kristallisiertes Serumalbumin ergab bei der ersten Kristallisation fast ausnahmslos positive Reaktion nach Molisch. Der Ausfall der Reaktion war ein sehr verschiedener. Durch wiederholtes Umkristallisieren ließen sich Präparate erhalten, welche bei vollständiger Erhaltung der Kristallform keine Spur einer Molisch-Reaktion ergaben. Es konnte auch bei der Hydrolyse keine reduzierende Substanz erhalten werden. Dieser Befund zeigt, wie wenig Garantie die Kristallisierbarkeit bei den Eiweißkörpern bezüglich deren Einheitlichkeit gibt. Jedenfalls spricht der Umstand, daß es gelingt, «kohlehydratfreies» Serumalbumin darzustellen, nicht für die Auffassung einer Kohlehydratgruppe im Molekül, sondern eher für eine Beimengung.

3. Eialbumin.

100 g Ovalbumin wurden nach erfolgter Quellung mit Kalilauge mit 2 l 3%iger Salzsäure am Rückflußkühler 5 Stunden im Sieden erhalten. Nach dem Abkühlen wurde abfiltriert, das Filtrat nach Baumann benzoyliert, das reichlich ausgeschiedene Benzoylprodukt abgesaugt, mit verdünntem Ammoniak und Wasser ausgewaschen und getrocknet. Das isolierte Produkt

stellte ein fast weißes Pulver dar. Es wurde in heißem Alkohol gelöst, nach 24stündigem Stehen abfiltriert, und das Filtrat mit viel Wasser verdünnt. Der erst halb feste, später körnige Niederschlag wurde abfiltriert, mit heißem Wasser gewaschen und im Rohr mit konzentrierter Salzsäure 24 Stunden auf 100° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser verdünnt, von der Benzoesäure abfiltriert, ausgeäthert und im Vacuum eingedampft. Der zurückbleibende Sirup kristallisierte zum größten Teil. Derselbe wurde mit absolutem Alkohol gewaschen und umkristallisiert.

Die erhaltenen Kristalle unterschieden sich nicht von denen des gewöhnlichen salzsauren Glukosamins. Die isolierte Menge war gering, ca. 0,25 g.

Die Analyse ergab von der im Vacuum über Schwefelsäure getrockneten Substanz:

0,1802 g Substanz gaben 0,2140 g CO_2 und 0,1032 g N_2O

Berechnet: 33,34% C und 6,49% H

Gefunden: 32,39% C und 6,36% H.

Der Rest wurde zur Darstellung eines Osazons verwendet, welches Kristallform, Löslichkeitsverhältnisse und Schmelzpunkt des Glukosazons zeigte.

Die Untersuchung zeigt, daß das aus Eieralbumin erhältliche Kohlehydrat höchst wahrscheinlich als das gewöhnliche Glukosamin und nicht als das von Herrn Langstein vermutete isomere Produkt anzusprechen ist. Die erhaltene Menge ist gering. Der Befund, daß verschiedene Präparate von Ovalbumin einen sehr verschiedenen Kohlehydratgehalt resp. Reduktionswert besitzen, macht es auch hier zweifelhaft, ob die Kohlehydratgruppe dem Eieralbumin als solchem zukommt, oder nicht vielmehr in irgend einer Form demselben beigemischt ist.

