

Zur Kenntnis des Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweißkörper.

II. Mitteilung.¹⁾

Von

D. Lawrow.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Jurjew [Dorpat].)

(Der Redaktion zugegangen am 19. Dezember 1904.)

Die Bedeutung der Salzsäure für die peptische Verdauung der Eiweißsubstanzen erscheint zur Zeit noch nicht genügend aufgeklärt. Das Vermögen mehr oder weniger verdünnter Salzsäurelösungen, z. B. 0,1—1%iger Lösungen, durch Hitze koagulierte Eiweiße in einen Quellungszustand überzuführen und dieselben sogar teilweise zu lösen, sowie das Vermögen derartiger Salzsäurelösungen, einige in Wasser oder in Salzlösungen unlösliche Nativeiweiße, z. B. Fibrin, zu lösen, unterliegt keinem Zweifel. Eine derartige lösende Einwirkung der Salzsäure begünstigt natürlich die Spaltung der Eiweißkörper durch Pepsin oder, allgemein ausgedrückt, durch den natürlichen oder künstlichen Magensaft, sowie denjenigen proteolytischen Prozeß, welcher bei der Selbstverdauung des Magens bei Anwesenheit von Salzsäure beobachtet wird und welcher offenbar mit dem Verdauungsprozeß der ersten Kategorie identisch ist.

Es ist von mehreren Autoren darauf hingewiesen, daß einige Eiweißkörper sich unter Einwirkung von verdünnten Salzsäurelösungen spalten, und zwar bis zur Bildung von Kühnescher Albumosen. So soll nach Meißners Angaben²⁾ aus dem unkoagulierten Hühnereiweiß bei alleiniger Einwirkung

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 312—328.

²⁾ Zeitschrift für rationelle Medizin, Dritte Reihe, Bd. VIII, S. 280 bis 303, 1860.

von 0,2% Salzsäure ein wasserlöslicher, durch Hitze nicht gerinnender Körper entstehen.

Nach Angaben von Fr. Goldschmidt¹⁾ spalten sich das Eieralbumin und Serumalbumin unter Einwirkung von $\frac{1}{16}$ - und $\frac{1}{4}$ Normalsalzsäure, Serumalbumin auch unter Einwirkung von $\frac{1}{16}$ - und $\frac{1}{4}$ Normalschwefelsäure, bis zur Bildung der sekundären Albumosen A und B, und zwar in ca. 16–48 Stunden. Aus seinen Versuchen schließt der letztgenannte Autor: Die Wirkung des Pepsins + Salzsäure bei 40° unterscheidet sich von jener der reinen Salzsäure bei 40° nur durch die Raschheit des Verlaufs, nicht durch die Qualität der Endprodukte.

L. Langstein²⁾ bemerkt: 1%ige Schwefelsäure vermag, bei einer Temperatur von 37°, feingepulvertes, bei 100° getrocknetes kristallisiertes Eieralbumin auch in Monaten nicht zu lösen. Dieser Autor teilt weiter mit: Herr Neuberg erlaubt mir, mitzuteilen, daß durch einjährige Einwirkung von 1%iger Schwefelsäure auf Gelatine nach seiner Erfahrung auch nicht Spuren von Aminosäuren in Lösung gehen.

Da die in der Literatur vorhandenen experimentellen Befunde über die Wirkung verdünnter Salzsäurelösungen auf verschiedene Eiweißkörper ungenügend sind und da eine vollkommene Kenntnis der Einwirkungen genannter Säure eine nähere, detailliertere Klarlegung der proteolytischen Wirkungen des Pepsins ermöglichen kann, so habe ich einige vorläufige Versuche der Spaltung einiger Eiweißkörper vermittelt einer 0,5%igen Salzsäurelösung angestellt, d. h. einer Lösung derjenigen Konzentration, welche allgemein bei Versuchen künstlicher mehr oder weniger protrahierter peptischer Verdauung der Eiweißkörper angewandt wird. Ich begann meine Versuche und zwar mit Gelatine bereits im Jahre 1901.³⁾ Dieser Versuch mit Gelatine diente mir als Parallelversuch für denjenigen der Gelatineverdauung vermittelt natürlichen Magen-

¹⁾ Fr. Goldschmidt, Über die Einwirkung von Säuren auf Eiweißstoffe, Inaug.-Diss. 1898.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 208–209.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, H. 1 u. 2, S. 165.

saftes vom Hunde, wie er nach dem Verfahren von J. Pawlow gewonnen wird. Ich führe hier die Hauptresultate dieses Gelatineverdauungsversuches an.

Versuch I.

Peptische Verdauung der Gelatine.

Ungefähr 400 g käuflicher Gelatine wurden mit 4 l 0,5%iger Salzsäurelösung, 900 ccm Magensaft des Hundes und einem Überschuß von Chloroform vermischt. Das Gemisch blieb ca. 24 Stunden im Thermostaten bei einer Temperatur von ca. 37°, worauf die vollkommen flüssige, bei der Abkühlung nicht gelatinierende Lösung durch Papier filtriert wurde. Das schwach strohgelb gefärbte Filtrat drehte die Polarisationsebene auf $-7,95^{\circ}$ ($l = 1$ dm). 5 l dieses Filtrats wurden zur weiteren Verdauung aufgestellt; dieselbe währte 61 Tage, wobei dem Filtrat allmählich frische Portionen natürlichen Magensaftes zugefügt wurden, nach Maßgabe einer starken Abschwächung des Verdauungsvermögens des Gemisches oder eines vollkommenen Schwundes desselben. Das Verdauungsgemisch enthielt einen Überschuß von Chloroform. Von Zeit zu Zeit wurde das Gemisch im polarisierten Licht untersucht. Im allgemeinen waren 11,5 l Saft mit einem Gehalt von ca. 23 g organischer Substanzen zugefügt worden.

Die verdaute Lösung erscheint hell von strohgelber Farbe, vollkommen durchsichtig, und gibt eine scharfe Reaktion mit Phloroglucivanillin. Die filtrierte Lösung = 16,4 l (auf dem Filter blieb ein vollkommen unbedeutender amorpher Niederschlag nach) enthielt 49,593 g Stickstoff (Bestimmung nach Kjeldahl).

In diesem Filtrat wurde auch die Menge des Monoamidstickstoffs an drei einzelnen Proben bestimmt, und zwar folgendermaßen. 100 ccm des Filtrats wurden in einen kalibrierten Kolben von 500 ccm eingebracht, darauf demselben 250 – 300 ccm Wasser und 2 g 95%iger H_2SO_4 in 20—30 ccm Wasser gelöst, zugefügt, worauf das Gemisch mit einer verdünnten Lösung von Phosphorwolframsäure (pro Analysis) ge-

fällt wurde, und zwar erfolgte das vorsichtige Hinzufügen der Säure nur so lange, bis in der Lösung beim Stehen derselben eine Trübung resp. ein Niederschlag sich bildete, alsdann wurde der Kolben bis 500 ccm mit Wasser gefüllt. Der Inhalt des Kolbens wurde darauf sorgfältig durchgeschüttelt und bei Zimmertemperatur ca. 24 Stunden im Kolben stehen gelassen, worauf er abermals durchgeschüttelt und filtriert wurde. Im Filtrat wurde der Stickstoff desgleichen nach Kjeldahl bestimmt. An einer Reihe kleiner Einzelproben wurden vorläufig die ungefähren Volumenmengen der anzuwendenden Phosphorwolframsäure, die zu einer vollkommenen Fällung der zu untersuchenden Proben erforderlich sind, festgestellt. Ungeachtet derartiger vorläufiger Bestimmungen mußte die quantitative Fällung dennoch im Verlauf von 12—24 Stunden geführt werden. Die von dem Niederschlag mit Phosphorwolframsäure erhaltenen Filtrate gaben nicht die geringste Trübung, weder beim weitem Hinzufügen der Phosphorwolframsäure allein, noch bei einem Zusatz dieser Säure mit H_2SO_4 ; zugleich enthielten sie nun ganz unbedeutende, augenscheinlich unvermeidliche Mengen des genannten Reagens.

Drei derartige Einzelbestimmungen ergaben, daß die verdautete Gelatinelösung 17,43 g Monoamidstickstoff enthielt.

1. Bestimmung — 17,14 g Monoamidstickstoff
2. — 17,76 »
3. — 17,38 »

Bei der protrahierten peptischen Verdauung der Gelatine entstanden somit stickstoffhaltige Zerfallsprodukte, die durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden; die in ihnen enthaltene Stickstoffmenge beträgt 35,2% der gesamten Stickstoffmenge.

Die Entstehung derartiger Verdauungsprodukte der Eiweißsubstanzen, und zwar von Leucinimid, bei der Einwirkung von natürlichem Magensaft, und zwar des Hundes, auf dieselben, war zuerst von S. Salaskin¹⁾ festgestellt worden. Viel später veröffentlichte genannter Forscher zusammen mit K. Kowa-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 592—597.

lewsky seine weiteren Untersuchungen der Verdauungsprodukte (vermittelt natürlichen Magensaftes vom Hunde) des Pferdehämoglobins.¹⁾ Die Arbeiten dieser Forscher waren (zum Teil) in dem chemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Medizin in St. Petersburg ausgeführt worden; in demselben Laboratorium habe ich vom Oktober 1901 bis Januar 1902 meinen hier angeführten Versuch der Gelatineverdauung ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Vorstand des genannten Laboratoriums Frau Dr. N. O. Sieber hier meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen: dank der Liebenswürdigkeit derselben verfügte ich über eine große Menge natürlichen Magensaftes vom Hunde für meine Versuche.

Zwecks weiterer Untersuchung der Verdauungsprodukte der Gelatine wurden 14 l der filtrierten verdauten Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt. Der von dieser Menge erhaltene Niederschlag war zweimal sorgfältig ausgewaschen worden und durch Baryumoxydhydrat bei Zimmertemperatur zerlegt.

Das Auswaschen des Niederschlags wurde mit Wasser ausgeführt, welches durch Schwefelsäure angesäuert worden war und welchem so lange Phosphorwolframsäure zugesetzt wurde, bis das erhaltene Filtrat auf dieses Reagens nicht weiter reagierte. Das Auswaschen erfolgte dermaßen, daß der Niederschlag zusammen mit dem Filter sorgfältig in einem Mörser mit 3 l angesäuerten Wassers verrieben wurde, worauf dem Gemisch die erforderliche Menge von Phosphorwolframsäure zugesetzt, alsdann die Masse vermischt und mittelst der Saugepumpe filtriert wurde. Das 1. Filtrat von dem Niederschlag mit Phosphorwolframsäure wurde mit den Auswaschungsfiltraten vereinigt und die erhaltene Lösung von der Phosphorwolframsäure (unbedeutende Mengen) und der Salzsäure befreit.

Auf diese Weise wurden aus 14 l 148,2 g Produkte basischen Charakters und 69,3 g Produkte, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden, erhalten. Die Menge der letzten Verdauungsprodukte beträgt 31,8% der allgemeinen Menge der in der Lösung vorhandenen organischen Substanzen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 567.

Die Lösung der Verdauungsprodukte basischen Charakters, auf 2 l eingengt, reagierte stark alkalisch und gab die typische Biuretreaktion.

Die Lösung der Verdauungsprodukte, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden, erscheint, bei einer Temperatur von 50—55° auf 1000 ccm eingengt, schwach strohgelb gefärbt, reagiert recht scharf sauer auf blaues Lackmuspapier und gibt eine sehr schwache Biuretreaktion. Bei weiterer Einengung dieser Lösung und zwar auf 300—350 ccm, entstand in ihr während des Stehens bei Zimmertemperatur ein reichlicher kristallinischer Niederschlag. Bei einer mikroskopischen Untersuchung waren hauptsächlich Leucinkugeln sichtbar. Eine vorläufige Untersuchung dieser Produkte nach E. Fischer¹⁾ auf einzelnen Proben, welche ca. 10 g trockene organische Substanzen enthielten, ergab, daß dieselben bei einer wiederholten Bearbeitung mit gasförmiger Salzsäure in Anwesenheit von Äthylalkohol Substanzen gibt, die in Äther löslich sind und, unter vermindertem Druck (20—30 mm) bei einer Temperatur von 45—160° destilliert, ein Destillat von schwach strohgelber Farbe geben, welches leicht in Wasser löslich ist und, auf einem kochenden Wasserbade mit Wasser eingedampft, vollkommen auskristallisiert.

Die Gelatinelösung wurde während der Verdauung mehrfach im polarisierten Licht untersucht. Anfänglich (5 l) drehte sie, wie bereits oben erwähnt, die Polarisationssebene um $-7^{\circ} 57'$ ($l = 1$ dm); zum Schluß der Verdauung (16,5 l) um $1^{\circ} 43'$ ($l = 1$ dm). Wenn die Drehung durch den hinzugefügten Magensaft (der nach mehreren Einzelversuchen eine Drehung von $0^{\circ} 4' - 0^{\circ} 7'$ bei $l = 1$ dm bewirkte) nicht berücksichtigt wird, so kann natürlich nur annäherungsweise angenommen werden, daß der während der Verdauung erfolgte Drehungsverlust ca. 30% der anfänglichen Drehung beträgt.

Dieser Versuch einer protahierten Verdauung von Gelatine vermittelt des natürlichen Magensaftes vom Hunde zeigt damit, daß l. bei einer derartigen Verdauung die Spaltung der Gela-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 150—176.

tine recht intensiv vor sich geht und 2. bei einer derartigen Verdauung sich auskristallisierende, stickstoffhaltige Produkte, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden — Monoamidosäuren —, entstehen.

Hinsichtlich der Entstehung der Monoamidosäuren unterscheidet sich somit wenigstens in den Hauptzügen die Selbstverdauung des Magens, die bei Anwesenheit von Salzsäure erfolgt,¹⁾ nicht von der Verdauung der Gelatine vermittelt des natürlichen Magensaftes, wie sich auch augenscheinlich nach den Versuchen von S. Salaskin und K. Kowalewsky²⁾ bezüglich der Verdauung des Pferdehämoglobins keine Unterschiede darbieten.

Versuch II.

Spaltung der Gelatine vermittelt 0,5%iger Salzsäure.

Als Parallele zum obenangeführten Versuch der peptischen Verdauung der Gelatine stellte ich zwei Versuche einer Spaltung der Gelatine vermittelt 0,5%iger Salzsäure an. Zu einem Versuch — Versuch II A — wurde dieselbe Gelatine, wie zu der peptischen Verdauung benutzt: zu dem andern — Versuch II B — gebrauchte ich Gelatine derselben Sorte, jedoch aus einem andern Paket.

Zu dem Versuch II A wurde eine ca. 5%ige Gelatinelösung genommen, welche nach einem 24stündigen Aufenthalt im Thermostaten bei 37—38° eine Drehung von $-5^{\circ} 8'$ bei $l = 1$ dm bewirkte: zum Versuch II B war eine ca. 3,7%ige Gelatinelösung genommen worden, welche nach 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37—38° eine Drehung von $-4,2^{\circ}$ bei $l = 1$ dm hervorrief. Die Lösungen enthielten 0,5% HCl und einen Überschuß von Chloroform. Die Lösung im Versuch II A drehte am Ende des Versuchs nach einem Aufenthalt von 63 Tagen im Thermostaten (vom 7. 9. 1901

¹⁾ D. Lawrow, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 312, 1901; Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 513—523.

²⁾ l. c. 1903.

bis zum 9. 11. 1901) die Polarisationssebene um $-4,45^{\circ}$ ($l = 1$ dm); sie offenbarte somit einen Drehungsverlust von $23,3\%$ der ursprünglichen Drehung.

Die Lösung des Versuchs II B, welche 59 Tage (vom 19. 11. 1901—17. 1. 1902) gestanden hatte, wies zum Ende des Versuchs eine Drehung von $-3,25^{\circ}$ auf; ihr Drehungsverlust betrug somit ca. $22,6\%$ der ursprünglichen Drehung.

Die Gelatine erleidet somit unter den gegebenen Bedingungen, wie es diese zwei Versuche dartun, eine Spaltung, welche sich in der allmählichen Abnahme des Drehungsvermögens ihrer Lösungen offenbart. Diese Spaltung erfolgt recht intensiv, wenn die beträchtliche Größenabnahme des optischen Drehungsvermögens ihrer Lösungen im Vergleich mit derselben Abnahme ihrer, vermittelt des natürlichen Magensaftes im Versuch I verdauten, Lösungen berücksichtigt wird.

Wie im Beginn der Versuche II A und II B, so wurden auch während derselben die Lösungen der Versuche nach Mett auf ihre Verdauungsfähigkeit, ebenso wie es weiter unten beim Versuch III angeführt ist, geprüft, wobei sich ergab, daß die Lösungen bei der Prüfung mit koaguliertem Hühnereiweiß kein peptisch-proteolytisches Vermögen aufwiesen. Eine der Lösungen und zwar des Versuchs II A war fernerhin auf den quantitativen Gehalt von Stickstoffprodukten, die von Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden, untersucht worden. Damals hatte ich zu dem Zweck nur eine Bestimmung vorgenommen und zwar eine Fällung der Lösung durch Phosphorwolframsäure in Anwesenheit von $0,5\%$ iger Salzsäure bei einer 5fachen Verdünnung der Lösung, wobei die Phosphorwolframsäure vorsichtig so lange zugefügt wurde, bis ein Niederschlag oder eine Trübung entstand. Es erwies sich hierbei, daß die betreffenden Spaltungsprodukte der Gelatine, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden, Stickstoff enthalten und zwar betrug die Menge desselben $15,5\%$ der gesamten in der untersuchten Lösung vorhandenen Stickstoffmenge.

Es muß berücksichtigt werden, daß in der Lösung des Versuchs II A die Menge des Monoamidstickstoffs auch nach einem bloß 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten bestimmt

wurde, wobei die Menge desselben gleich 1,8—2,4% der allgemeinen Stickstoffmenge gefunden wurde.

Auf Grund der angeführten Befunde ist somit der Schluß zu ziehen, daß 0,5%ige Salzsäure Gelatine bei einer mehr oder weniger langandauernden Einwirkung auf dieselbe bei einer Temperatur von 37—38° (in Anwesenheit eines Überschusses von Chloroform) spaltet unter Bildung von stickstoffhaltigen Produkten, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese Produkte Monoamidosäuren sind.

Diese Versuche erweisen somit, wie groß die Bedeutung der 0,5%igen Salzsäure bei einer mehr oder weniger langandauernden peptischen Verdauung der Gelatine ist.

Versuch III.

Zersetzung des Hämoglobins durch 0,5%ige Salzsäure.

Ca. 200 g zweimal umkristallisiertes Pferdehämoglobin wurden mit 0,5%iger Salzsäure bei 35—38° in Anwesenheit von Chloroform teilweise 98 Tage — Lösung A —, teilweise 161 Tage — Lösung B — gehalten.

Beide Lösungen wurden auf ihren Pepsingehalt nach dem Verfahren von Mett geprüft, wobei es sich herausstellte, daß kleine Eiweißzylinder im Verlaufe von 7—9 Tagen unverändert blieben; im Verlauf von 14—19 Tagen wurden sie mehr oder weniger durchsichtig, lösten sich jedoch nicht auf.

Lösung A.

Nach Verlauf von 98 Tagen wurde das Gemisch durch ein Papierfilter filtriert; der auf dem Filter zurückgebliebene recht klebrige Niederschlag wurde in warmem Wasser ausgewaschen. Die Filtrate wurden zusammengegossen und die erhaltene Lösung bei 50—55° etwas eingeeengt, so daß er auf je 100 ccm 0,171 g Stickstoff enthielt. In dieser Lösung wurde die Menge des Monoamidostickstoffs durch Fällung der Lösung mit Phosphorwolframsäure in Anwesenheit von 0,5%iger Salzsäure bestimmt. Eine Bestimmung wurde bei einer Verdünnung

der Lösung auf $\frac{5}{4}$ des Volumens ausgeführt — die Menge des Monoamidstickstoffs wurde gleich 18,8% des gesamten Stickstoffs gefunden. Eine zweite Bestimmung machte ich bei einer $2\frac{1}{2}$ -fachen Verdünnung der Lösung — die Menge des Monoamidstickstoffs betrug 22,9% der allgemeinen Stickstoffmenge.

Das Pferdehäemoglobin wird somit bei einer mehr oder weniger andauernden Einwirkung von 0,5%iger Salzsäure unter Bildung von stickstoffhaltigen Produkten, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden, gespalten.

Die zu untersuchende Lösung wurde durch Phosphorwolframsäure in Anwesenheit von 0,5%iger Salzsäure gefällt; ich erhielt eine Lösung von basischen Zersetzungsprodukten — Lösung M — und eine Lösung von Spaltungsprodukten des Häemoglobins, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden — Lösung N.

Mit den Lösungen M und N wurde der folgende vorläufige Versuch angestellt: Die Lösung N wurde bis zu einem Stickstoffgehalt von 0,18% konzentriert (0,18 g auf 100 ccm Lösung); zu 10 ccm einer derartigen angesäuerten Lösung fügte ich solange Phosphorwolframsäure hinzu, bis ein Niederschlag resp. eine Trübung entstand, worauf ich dem Gemisch bis zu 50 ccm Wasser hinzufügte. Das 0,5% Salzsäure enthaltende Gemenge wurde vorsichtig und sorgfältig vermischt und in einem dünnen graduierten Zylinder bei Zimmertemperatur im Verlauf von 24 Stunden gehalten; der Niederschlag nahm ca. 0,25—0,5 ccm ein. Bei der gleichen Prüfung der Lösung M, welche in 10 ccm die gleiche Stickstoffmenge (= 0,018 g) enthielt, wurde ca. 11,5—12 ccm Niederschlag erhalten.

Die Lösung N gab in der angegebenen Konzentration (0,18% Stickstoff) eine sehr schwache Biuretreaktion; dieselbe Reaktion war bei Lösung M (0,18% Stickstoff) eine recht beträchtliche.

Die 2— $2\frac{1}{2}$ -fach eingeeengte Lösung N gab mit Schwefelsäure bis 0,5% angesäuert auf Phosphorwolframsäure nur in dem Falle eine Reaktion, wenn letztere im Überschuß zugefügt wurde, wobei eine schwache Trübung entstand, welche beim Stehen in einen feinen, sich sehr langsam zu Boden setzenden

Niederschlag übergang. Bei der Spaltung dieses Niederschlags mit Ätzbaryt wurde eine Lösung erhalten, welche in bezug auf die Biuretreaktion und die Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure die Eigenschaften der ursprünglichen Lösung aufwies.

Die Lösung N kristallisierte, bis zur Sirupkonsistenz eingedickt, beim Aufenthalt bei Zimmertemperatur im Verlauf von 7 Tagen nicht aus. Darauf wurde dieselbe mit Wasser verdünnt, auf $50-55^{\circ}$ erwärmt und derselben frisch gefälltes Kupferoxydhydrat solange zugefügt, bis es sich löste. Von dem unbedeutenden Überschuß von $\text{Cu}(\text{OH})_2$ abfiltriert, erschien die Lösung intensiv dunkelblau gefärbt: dieselbe wurde bei $40-50^{\circ}$ eingeeengt, filtriert (auf dem Filter blieb ein unbedeutender amorpher Niederschlag) und darauf im Vacuumexsikkator bis zur Konsistenz eines flüssigen Sirups konzentriert. Während des Stehens bei Zimmertemperatur im Verlaufe von 10 Tagen gab diese Lösung keinen kristallinen Niederschlag. Alsdann wurde sie vom Kupfer befreit und nach E. Fischer¹⁾ behandelt.

Die durch Äther extrahierten Esterifikationsprodukte wurden einer fraktionierten Destillation bei vermindertem Druck unterworfen, wobei nur ein geringer Teil derselben ins Destillat übergang. Es ist möglich, daß der Mißerfolg der Destillation von dem Umstand abhängt, daß ich nicht über einen genügend niedrigen Druck verfügte (die Destillation erfolgte bei einem Druck von $60-70$ mm). Das Destillat ($45-160^{\circ}$) war strohgelb gefärbt; während des Stehens im Verlauf von 7-10 Tagen in feuchter Luft kristallisierte dasselbe unter Ausscheidung nadelförmiger Kristalle aus.

Der vorläufige Versuch also, aus den Zerfallsprodukten des Hämoglobins resp. Globins irgend eine Amidosäure zu isolieren, hat somit zu keinem positiven Resultat geführt.

Lösung M. ist schwach strohgelb gefärbt, reagiert auf rotes Lackmuspapier stark alkalisch. Die Lösung enthält ca. 50 g organischer Substanzen; sie wurde auf 1,5 l eingeeengt und mit $\text{AgNO}_3 + \text{Ba}(\text{OH})_2$ nach dem Verfahren von A. Kossel

¹⁾ l. c.

und F. Kutscher¹⁾ gefällt, wobei eine Histidin- und eine Argininfraktion erhalten wurde. Das Filtrat von Silberarginin wurde vom Silber und Baryum befreit und durch Phosphorwolframsäure gefällt; der erhaltene Niederschlag wurde ausgewaschen und in gewöhnlicher Weise zerlegt: die resultierende Lösung war eingedickt und nach A. Kossel²⁾ durch eine alkoholische Pikrinsäurelösung gefällt worden — Lysinfraktion. Jede dieser Fraktionen wurde genau auf die entsprechenden Hexonbasen untersucht; trotz mehrfacher Versuche gelang es jedoch nicht, die Basen in der einen oder anderen Verbindung zu gewinnen: so erhielt ich z. B. bei der Benzoylierung der genannten Fraktionen nur ein amorphes Benzoylprodukt, welches sich in heißem Äther und Petroleumäther nicht löste und in kochendem Wasser nur wenig löslich war. Nur aus der Lysinfraktion konnte ich einen kristallinen, organischen Niederschlag erhalten. Zu dem Zweck wurde das obenerwähnte Pikrat dieser Fraktion, welches trotz einer Reinigung vermittelst zweifacher Fällung desselben aus heißen wässrigen Lösungen nicht auskristallisierte, durch Salzsäure zerlegt, die erhaltene Lösung nach Entfernung der Pikrinsäure im Vacuumexsikkator eingedickt, vorsichtig mit starker Salzsäure vermischt, weiter konzentriert und mit einer sehr geringen Menge von absolutem Alkohol vermischt. (Ein weiteres, selbst vorsichtiges Hinzufügen von Alkohol rief einen nicht kristallinen Niederschlag hervor.) Der Niederschlag war zunächst mikrokristallinisch und ging nachher in einen makrokristallinen über — unter Bildung von vierseitigen, mehr oder weniger flachen, 2—3 mm langen Nadeln mit abgestumpften Enden. Leider war die Menge des Niederschlags so gering, daß es mir nicht gelang, denselben, wenn auch nur zwecks Bestimmung seines Schmelzpunktes, in genügend reinem Zustande darzustellen. Es muß bemerkt werden, daß die Lösungen der Niederschläge der angegebenen drei Fraktionen eine typische Biuretreaktion mittleren Grades ergaben; diese Reaktion behielten sie auch bei, ungeachtet dessen, daß die Niederschläge ver-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165—214.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 165—189.

schiedenen Reinigungsprozeduren unterworfen wurden; so war die Histidin- und Argininfraktion mehrfach in Gestalt ihrer Silberverbindungen gefällt worden.

Mit der Lösung M war noch folgende Probe vorgenommen worden. Ein Teil dieser Lösung, welcher 19,87 g organischer Substanzen enthielt, wurde nach dem Verfahren von W. Kühne mit Ammoniumsulfat gefällt. Der erhaltene Niederschlag wurde mit einer heißen, fast kochenden gesättigten Lösung des genannten Salzes ausgewaschen. Das erste Filtrat vermischte ich alsdann mit dem Auswaschungsfiltrat und befreite darauf das Gemisch vom schwefelsauren Ammonium teils durch Alkohol, teils durch Baryt. Die resultierende Lösung von basischen Spaltungsprodukten des Hämoglobins resp. Globins, welche durch das erwähnte Reagens nicht gefällt wurden und das Amphopepton von W. Kühne (von Monoaminosäuren frei) darstellte, enthielt 6,51 g organischer Substanzen = ca. 33,1% des Gesamtgehaltes an basischen Spaltungsprodukten des Hämoglobins resp. Globins, welche für die betreffende Fällung genommen worden waren. Das Vorhandensein derartiger basischer Spaltungsprodukte, welche durch schwefelsaures Ammonium nach W. Kühne nicht gefällt werden, spricht desgleichen zugunsten des Umstandes, daß die Spaltung des Hämoglobins resp. Globins unter dem Einfluß einer langandauernden Einwirkung von 0,5%iger Salzsäure eine recht intensive ist und daß die Salzsäure in der angegebenen Konzentration eine große Bedeutung bei der Entstehung des sog. Amphopeptons von W. Kühne bei einer langandauernden peptischen Verdauung des Hämoglobins resp. Globins zukommt.

Lösung B (s. S. 455) wurde 161 Tage lang bei einer Temperatur von 35–38° im Thermostaten gehalten, darauf filtriert, der klebrige, geringe Niederschlag mit heißem Wasser ausgewaschen, Filtrate und Waschwasser vereinigt und bei 50–55° etwas eingengt. In der erhaltenen Lösung bestimmte ich die Menge des Monoamidstickstoffs, wobei die Fällung mit Phosphorwolframsäure in Anwesenheit von 0,5%iger Salzsäure und bei verschiedener Verdünnung der Lösung und zwar auf das 5fache — 1. Bestimmung —, auf das 7½fache — 2. Be-

stimmung — und auf das 10fache — 3. Bestimmung — vorgenommen wurde.

Die Lösung, welche gefällt werden sollte, enthielt in je 100 ccm 0,171 g N_2^a . Monoamidstickstoff wurde, auf die Gesamtstickstoffmenge berechnet,

in der 1. Bestimmung	—	ca. 30 %
• • 2.	—	• 32,7 %
• • 3.	—	• 36,3 % gefunden.

Bei der ersten und zweiten Bestimmung waren 100 ccm der Lösung, bei der dritten 50 ccm genommen worden.

Auch dieser Versuch mit der Lösung B weist darauf hin, daß das Pferdehämoglobin resp. das Globin bei einer andauernden Einwirkung von 0,5%iger Salzsäure bei einer Temperatur von 35—38° und bei Ausschluß von Fäulnis (Anwesenheit eines Überschusses von Chloroform) eine Spaltung erleidet, unter Bildung von stickstoffhaltigen Zersetzungsprodukten, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden.

Der Versuch mit Pferdehämoglobin zeigt somit, daß 1. der Salzsäure eine beträchtliche Bedeutung bei einer mehr oder weniger andauernden peptischen Verdauung dieses Eiweißes zukommt und daß 2. sie an und für sich bei einer derartigen Verdauung dazu führt, daß aus dem Hämoglobin resp. Globin das sog. Amphopepton von W. Kühne (oder wenigstens einige seiner basischen Bestandteile) und daneben stickstoffhaltige Spaltungsprodukte, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden, (sehr wahrscheinlich Monoamidosäuren) gebildet werden.

Versuch IV.

Ca. 2 kg frischer Schweinemagen waren sorgfältig mit Wasser ausgewaschen, fein zerschnitten, mit 9 l 0,5%iger Salzsäure und 25 ccm Chloroform ca. 72 Stunden bei 35—38° C. gehalten worden, worauf das Gemisch durch ein Papierfilter filtriert wurde. Dem Filtrat entnahm ich zwei Portionen zu je 4 l — Lösung I und II.

Diese Lösungen enthielten in 100 ccm 0,61 g Stickstoff; die Menge des Monoamidostickstoffs betrug 11,1% der Gesamt-

stickstoffmenge. Die Fällung durch Phosphorwolframsäure bei der Bestimmung des Monoamidstickstoffs erfolgte bei einer Verdünnung der Lösung auf das 5fache und in Anwesenheit von 0,5%iger Salzsäure.

Lösung II wurde auf 60° erwärmt und blieb bei ungefähr derselben Temperatur eine Stunde lang stehen, worauf sie rasch abgekühlt wurde. Bei der Prüfung nach Mett erwies es sich, daß 10 ccm dieser Lösung einen kleinen Eiweißzylinder im Verlaufe von 7 Tagen nicht veränderten; nach 9—10 Tagen wurde der Zylinder allmählich durchsichtig und blieb dermaßen im Verlauf von 9—10 Tagen, worauf eine allmähliche, im Verlauf von Wochen vor sich gehende Lösung desselben erfolgte. Offenbar hat die Lösung II nach der erwähnten Behandlung ihr Verdauungsvermögen verloren.

Beide Lösungen wurden im Thermostaten 104 Tage lang bei einer Temperatur von 35—38° gehalten, wobei das Verdauungsvermögen von Lösung I von 4,5—5 mm (nach Mett) auf 1,0—1,5 mm sank.

Die Lösung II wurde im Verlauf des Versuchs auf ihr Verdauungsvermögen nach Mett, sowie auf Fibrin (in heißem Wasser von 60—70° ausgewaschen) mit negativem Resultat geprüft.

Nach Verlauf von 104 Tagen wurden beide Lösungen filtriert (auf dem Filter blieb ein unbedeutender amorpher Niederschlag), in denselben wurde die Menge des Gesamtstickstoffs sowie die des Monoamidstickstoffs bestimmt.

Lösung I. Die Fällung mit Phosphorwolframsäure erfolgte nach Verdünnung der Lösung auf das 2- und 5fache in Anwesenheit von 0,5%iger Salzsäure.

Bei einer Verdünnung auf das 2fache waren ca. 36% Monoamidstickstoff, auf die Gesamtstickstoffmenge berechnet, gefunden worden.

Bei einer Verdünnung auf das 5fache ca. 39%.

Lösung II. Die Bestimmung des Stickstoffs war bei einer Verdünnung auf das 2fache vorgenommen worden; Monoaminostickstoff wurde in einer Menge von 23,3%, auf die Gesamtstickstoffmenge berechnet, gefunden.

Bei der Selbstverdauung der Lösung I fand somit in den letzten 104 Tagen eine Vermehrung des Monoamidostickstoffs um ca. 24,1% statt, in der Lösung II um 12,2%.

Auch bei einer andauernden Selbstverdauung des Magens in Anwesenheit von 0,5% iger Salzsäure kommt somit der letzteren eine große Bedeutung zu, indem die in diesem Organe enthaltenen Eiweißkörper tiefer gespalten wurden. Die Lösungen I und II wurden mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die Lösung der durch dieses Reagens nicht fällbaren Produkte gibt nach Entfernung der Salzsäure und der Phosphorwolframsäure beim Eindampfen bis zur Konsistenz eines flüssigen Sirups nach einiger Zeit einen kristallinen Brei. Unter dem Mikroskop waren in beiden Lösungen eine Menge Leucinkugeln und Tyrosinbündel sichtbar.

In betreff der Anwesenheit von Tyrosin unter den Monoamidosäuren, welche bei der gegebenen Selbstverdauung des Magens entstehen, ist zu bemerken, daß diese Amidosäuren offenbar bei einer sehr langandauernden und intensiven Selbstverdauung des Magens weiter umgewandelt werden: bei Versuchen mit einer ähnlichen sehr langandauernden und gleichzeitig sehr intensiven Selbstverdauung des Schweinemagens habe ich unter den Monoamidosäuren, welche bei dieser Verdauung gebildet wurden, kein Tyrosin feststellen¹⁾ können, obgleich die Anwesenheit dieser Substanz doch so leicht erkannt wird.

Auf Grund der hier angeführten Versuche muß somit angenommen werden:

1. daß der Salzsäure bei einer langandauernden peptischen Verdauung derjenigen Eiweißkörper, welche bei meinen Versuchen in Betracht kamen, sowie bei der Selbstverdauung des Magens eine große Bedeutung zukommt.

2. daß unter dem Einfluß von 0,5% iger Salzsäure die Spaltung der Eiweißkörper, welche zu meinen Versuchen benutzt wurden, bei einer Temperatur von 35–38° so intensiv vor sich geht, daß sich Amphopepton von W. Kühne (wenigstens einige seiner basischen Bestandteile) und stickstoffhaltige

¹⁾ l. c.

Spaltungsprodukte, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden – höchst wahrscheinlich Monoamidosäuren, bilden;

3. daß in bezug auf die Entstehung der stickstoffhaltigen durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Körper die Selbstverdauung des Magens, in Anwesenheit von 0,5%iger Salzsäure, sich augenscheinlich nicht von der Verdauung anderer Eiweißkörper durch natürlichen Hundemagensaft unterscheidet: hier wie dort entstehen dieselben Produkte.

Zur Zeit bin ich mit der genaueren chemischen Untersuchung der unter dem Einfluß von 0,5%iger Salzsäure aus Gelatine und Pferdehämoglobin entstehenden Zerfallsprodukte beschäftigt. Unter meiner Leitung erfolgt außerdem eine Untersuchung der Zerfallsprodukte, die bei einer ähnlichen Behandlung des Caseins der Kuhmilch, der durch Erwärmung zur Gerinnung gebrachten Serumalbumine und -globuline und Albumosen entstehen.