

Der Abbau des Edestins aus Baumwollsamem durch Pankreassaft.

Von

Emil Abderhalden und **Béla Reinbold**, Kolozsvár.

(Der Redaktion zugegangen am 19. August 1905.)

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

Wir hatten bereits in einer früheren Mitteilung¹⁾ darauf hingewiesen, daß bei der Einwirkung des Pankreassaftes auf Eiweiß dessen einzelne Bausteine in sehr verschieden rascher Weise abgespalten werden. So erscheint z. B. Tyrosin außerordentlich rasch und vollständig in der Verdauungsflüssigkeit, während andere Aminosäuren, wie z. B. Leucin, Alanin usw., noch zum Teil in komplizierteren Komplexen fest gebunden sind und nur zum Teil als solche aus dem Eiweißmolekül abgeschieden werden. Man darf auf Grund dieser Untersuchungen aus dem Auftreten einzelner Aminosäuren in Verdauungsgemischen in keinem Fall ohne weiteres auf eine tiefgehende, oder gar eine vollständige Hydrolyse des Eiweißes schließen. Wir haben nun unsere Versuche weiter ausgedehnt und neben Tyrosin auch Glutaminsäure, Glycocoll, Pyrrolidincarbonensäure und Phenylalanin möglichst quantitativ und mehrere andere Aminosäuren qualitativ verfolgt.

Der Plan der ganzen Untersuchung war im wesentlichen derselbe, wie beim ersten Versuch. Zur Verwendung kam Edestin aus Baumwollsamem, das bei 100° getrocknet 9,3% an Gewicht verlor und einen Aschegehalt von 1,9% besaß. Dieses Präparat war nicht so rein, wie das von dem einen

¹⁾ Emil Abderhalden und Béla Reinbold, Die Monoaminosäuren des «Edestins» aus Sonnenblumensamen und dessen Verhalten gegen Pankreassaft. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 284 (1905).

von uns in Gemeinschaft mit O. Rostoski¹⁾ abgebaute Edestin. Es wurde deshalb nach erfolgter Hydrolyse mit 25%iger Schwefelsäure in 200 g des Präparates der Tyrosingehalt genau bestimmt, und in der Mutterlauge des Tyrosins nach starkem Einengen und Einleiten von gasförmiger Salzsäure die Glutaminsäure als Chlorhydrat abgeschieden. Schließlich wurde das Filtrat vom Glutaminsäurechlorhydrat zum dicken Sirup eingengt, dann mit Alkohol und Salzsäure wiederholt verestert, die Ester in Freiheit gesetzt, in Äther aufgenommen, der Äther abdestilliert, in wässriger Salzsäure aufgefangen, und schließlich die Ester, wie üblich, fraktioniert destilliert. Aus der vom Äther abgetrennten salzsauren Lösung und der ersten Esterfraktion (bis 65° des Wasserbades, 10 mm Druck) wurde das Glycocoll als Esterchlorhydrat in der bekannten Weise isoliert. In den übrigen Fraktionen wurden Alanin, Aminovaleriansäure, α -Pyrrolidincarbonensäure, Leucin, Asparaginsäure, Phenylalanin und Serin nachgewiesen. Uns kam es für unsere Untersuchungen nur auf eine möglichst exakte Bestimmung von Tyrosin, Glutaminsäure und Glycocoll an. Gefunden wurden auf trockenes, aschefreies Eiweiß berechnet **2,3%** Tyrosin, **14,5%** Glutaminsäure und **1,8%** Glycocoll.

Von diesem Edestin wurden in fünf gleich großen Flaschen je 200 g (= 177,6 g asche- und wasserfreies Eiweiß) abgewogen, in je 2 l destilliertem Wasser suspendiert, und nun alle Portionen mit je 20 ccm desselben Pankreassaftes versetzt. Diesen verdanken wir der großen Freundlichkeit von Herrn Professor Pawlow in St. Petersburg. Es sei uns gestattet, ihm auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank auszusprechen. Kurz vor dem Beginn des Versuches wurde der Pankreassaft durch Zusatz von 5% Darmsaft aktiviert. Zur Verhütung der Entwicklung von Bakterien überschichteten wir die Verdauungsflüssigkeiten mit Toluol. Das Verdauungsgemisch wurde in geschlossenen Gefäßen dauernd gerührt. Die einzelnen Portionen blieben nun verschieden lange Zeit im Brutraum

¹⁾ Emil Abderhalden und Otto Rostoski, Die Monoamino-säuren des «Edestins» aus Baumwollsamensamen und dessen Verhalten gegen Magensaft. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 265 (1905.)

stehen. Die Verarbeitung der einzelnen Portionen, welche mit den Buchstaben A—E bezeichnet werden sollen, erfolgte in jedem einzelnen Falle in genau derselben Weise. Die verwendeten Methoden und allgemein gemachten Beobachtungen werden deshalb hier im Zusammenhang mitgeteilt. Die Einzelheiten sind dagegen bei den einzelnen Versuchen angeführt.

Das Verdauungsgemisch, das, um eine rasche Einwirkung des Fermentes zu ermöglichen, im Brutraum vor dem Zusatz des Pankreassaftes vorgewärmt wurde, zeigte bereits im Laufe des ersten Tages eine Auflösung des Eiweißes. Die Flüssigkeit färbte sich dabei allmählich braun. In den Portionen, welche längere Zeit im Brutraum verweilten, erschienen am 7.—8. Tage an den Gefäßwänden feine weiße Nadelchen (Tyrosin). Im Laufe der zweiten Woche verschwand diese kristallinische Abscheidung wieder.

Die Verdauung wurde nach verschieden langen Zeiten durch Aufkochen unterbrochen,¹⁾ dann die noch warme Lösung vom unverdauten Rest und den koagulierbaren Substanzen abfiltriert, und nun das Filtrat nach reichlichem Zusatz von Toluol in Pergamentschläuchen bei 36° C. der Dialyse unterworfen. Sie wurde in luftdicht verschlossenen Gefäßen unter stetem Rühren und täglichem Wechseln des Dialysierwassers so lange fortgesetzt, bis eine dem Dialysat entnommene und eingedampfte Probe nur noch Spuren eines Rückstandes hinterließ. Dieser Zeitpunkt war nach 9—10 Tagen erreicht. Nach Unterbrechung der Dialyse wurde der nicht dialysierte Teil mit Toluol versetzt und aufgehoben, das Dialysat auf 10 l eingedampft und von dieser genau abgemessenen Flüssigkeitsmenge 2 l zur Fällung mit Phosphorwolframsäure verwendet. Wir hatten uns vorher überzeugt, daß in der vorliegenden Verdünnung Monoaminosäuren auch in Gemischen nicht durch die verwendete Phosphorwolframsäure gefällt wurden. Eine derartige Prüfung ist für jedes einzelne Phosphorwolframsäurepräparat durchaus notwendig und für quantitative Arbeiten ganz unerläßlich.

¹⁾ Wir hatten uns vorher überzeugt, daß einmaliges Aufkochen genügt, um die Wirkung des Pankreassaftes vollständig aufzuheben.

Aus dem Filtrat der reichlichen Phosphorwolframsäurefällung wurde die überschüssige Phosphorwolframsäure mit Baryt gefällt und aus dem Filtrat des Niederschlages der überschüssige Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt. Sämtliche Niederschläge wurden stets auf der hydraulischen Presse unter einem Drucke von 300 Atmosphären ausgepreßt.

Nun wurde die Lösung auf dem Wasserbade stark eingeeengt, das hierbei ausfallende Tyrosin auf gewogenen Filtern gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, getrocknet, dann mit Eisessig gewaschen, wieder getrocknet und gewogen. Die Mutterlauge, welche keine Millonsche Reaktion mehr zeigte, wurde auf dem Wasserbade noch stärker eingeeengt und mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Nach längerem Stehen auf Eis schied sich das Glutaminsäurechlorhydrat ab. Es enthielt meistens noch anorganische Beimengungen, und wurde deshalb noch einmal in Wasser gelöst und durch Sättigen der Lösung mit Salzsäure abgeschieden, dann über Kalk im Vacuum getrocknet und gewogen.

Die Mutterlauge des Glutaminsäurechlorhydrats wurde nun bis zur Trockene eingedampft, in absolutem Alkohol aufgenommen, durch Einleiten von trockener, gasförmiger Salzsäure verestert, wieder eingeeengt und mit Tierkohle entfärbt. Da in der Lösung auch bei längerem Stehen in Eis und Einimpfen eines Kriställchens von Glycocollesterchlorhydrat keine Kristallisation erfolgte, so wurde die Lösung nochmals völlig eingedampft und mit absolutem Alkohol und Salzsäure wiederum verestert. Nun schied sich gewöhnlich ein geringer, zum größeren Teil anorganischer Niederschlag aus, aus welchem jedoch kein Glycocollesterchlorhydrat gewonnen werden konnte. Es war auch nach starkem Einengen, Abkühlen und Impfen der salzsauren, alkoholischen Lösung mit einem Kriställchen von Glycocollesterchlorhydrat keine Abscheidung von Glycocollesterchlorhydrat zu erzielen.

Die veresterten Rückstände aus allen Portionen wurden nun vereinigt, in absolutem Alkohol aufgenommen, mit Tierkohle entfärbt und nach völligem Eindampfen im Vacuum abermals verestert. Nun wurde die Lösung unter vermindertem

Druck und einer 40° nicht übersteigenden Temperatur des Wasserbades möglichst stark eingeeengt, der Rückstand in absolutem Äthylalkohol gelöst, und die Flüssigkeitsmenge genau bestimmt. In einem aliquoten Teile bestimmten wir nun den Salzsäuregehalt, und setzten dann in der gesamten Flüssigkeit die Ester mit der genau berechneten Menge Natriumäthylat in Freiheit. Das gebildete Kochsalz wurde mit Äther gefällt, und dann in der üblichen Weise die Ester der fraktionierten Destillation unterworfen. Die einzelnen Fraktionen wurden in der üblichen Weise verseift und verarbeitet. Unser Hauptaugenmerk war ganz speziell auf Glycocoll, α -Pyrrolidincarbonsäure und Phenylalanin gerichtet. Ersteres suchten wir vergeblich aus der ersten Fraktion als Esterchlorhydrat abzuscheiden. Zur Gewinnung des Prolins dampften wir alle Fraktionen bis 105° (des Ölbadcs und 11 mm resp. 0,2 mm Druck) bis zur Trockene ein und kochten die Rückstände mit Alkohol aus. Beim Verdampfen des Alkohols verblieb ein geringer Rückstand. Er zersetzte sich im Kapillarrohr erhitzt gegen 285° . Es wurde somit keine Spur Prolin gefunden.

Rein dargestellt werden konnten hingegen Leucin und Alanin, welche somit bei der Hydrolyse durch Pankreasferment in ganz beträchtlichen Mengen zur Abspaltung kommen, wobei allerdings hervorgehoben werden muß, daß die Möglichkeit, daß wenigstens ein Teil des gefundenen Leucins und Alanins in höherer, z. B. peptidartiger, durch Phosphorwolframsäure jedoch nicht fällbarer Form im Verdauungsgemisch vorhanden war, nicht auszuschließen ist, weil die angewandte Methode eine sekundäre Hydrolyse in geringem Umfange nicht ausschließt.

Das gefundene Leucin zersetzte sich gegen 297° (korr.).

0,1474 g Substanz gaben 0,2954 g CO_2 und 0,1310 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:

Gefunden:

54,9% C und 9,92% H.

54,68% C und 9,89% H.

Das isolierte Alanin hatte einen Zersetzungspunkt von 295° (korr.).

0,1884 g Substanz gaben 0,2792 g CO_2 und 0,1347 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$:

Gefunden:

40,4% C und 7,9% H.

40,41% C und 7,9% H.

Aminovaleriansäure konnte mit Sicherheit nicht aufgefunden werden. Sie dürfte jedoch nach allen Anzeichen vorhanden gewesen sein.

Die von 105—200° und 0,2 mm Druck übergegangenen Ester behandelten wir in gewohnter Weise, indem in erster Linie der Phenylalaninester abgetrennt wurde. Es ist uns jedoch nicht gelungen, Phenylalanin zu isolieren. Wir erhielten allerdings einen Rückstand, als wir den mit Wasser sorgfältig gewaschenen Äther verdampften. Das mit Salzsäure verseifte und durch Eindampfen mit Ammoniak umgesetzte Produkt hatte jedoch nach Weglösung des gebildeten Chlorammons mit kaltem Wasser nicht das Aussehen des Phenylalanins und gab in 25° oiger Schwefelsäure gelöst und mit einem Körnchen Kaliumbichromat gekocht keine Spur von Phenylacetaldehyd. Aus dieser Fraktion wurde noch Asparaginsäure isoliert, jedoch in ziemlich geringer Menge. Serin konnte nicht rein gewonnen werden.

Der ganze eben beschriebene Versuch wurde nochmals wiederholt und zwar mit je einem Liter des Dialysats aller Portionen. Das Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung prüften wir in derselben Weise wie oben auf Monoaminosäuren. Auch hier wurden Alanin, Leucin und Asparaginsäure nachgewiesen, auch Aminovaleriansäure und Serin dürften vorhanden gewesen sein. Prolin konnte auch nicht in Spuren aufgefunden werden, ebensowenig Glycocoll, dagegen gelang es, Phenylalanin in Spuren durch den Nachweis von Phenylacetaldehyd zu charakterisieren. Phenylalanin selbst konnte nicht isoliert werden, auch der Versuch, die Phenylisocyanatverbindung resp. deren Anhydrid zu gewinnen, schlug fehl. Beim Versuch, Glycocoll als Esterchlorhydrat zur Abscheidung zu bringen, fielen nadel- und blättchenförmige Kristalle vom Schmelzpunkt 220—223° C. (unkorr.) aus. Ihre Menge reichte leider zu einer genaueren Untersuchung nicht aus.

Nach den vorliegenden Beobachtungen scheinen Glycocoll, α -Prolin und Phenylalanin nicht in einer Form aus dem Eiweißmolekül abgeschieden zu werden, die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar ist. Eine Möglichkeit ist allerdings noch vorhanden, nämlich die, daß die genannten Aminosäuren in

Form komplizierterer Produkte dennoch vorhanden waren und bei der Destillation der Ester im Destillationsrückstand verblieben. Wir beabsichtigen, diese Untersuchungen speziell nach dieser Richtung hin auszudehnen, und hoffen durch Anwendung ähnlicher Methoden, wie sie kürzlich von E. Fischer und E. Abderhalden¹⁾ für die Trennung von Gemischen von Aminosäuren, Di- und Tri- und höheren Peptiden beschrieben worden sind, zum Ziel zu gelangen. Die Versuche sind bereits im Gange. In diesem Falle schien die Auffindung höherer Komplexe und speziell deren einwandfreie Identifizierung gänzlich aussichtslos, weil die Menge des Esterrückstandes eine viel zu geringe war.

Besondere Portionen der Dialysate, des unverdauten Restes und des Phosphorwolframsäureniederschlages dienten zur Ausführung bestimmter qualitativer Reaktionen. Zunächst wurde durch Eindampfen von 100 ccm des Dialysates der Trockenrückstand bestimmt. Zur Bestimmung der dialysierbaren, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Produkte wurden je 50 ccm des Dialysates mit Phosphorwolframsäure sorgfältig gefällt, im Filtrat der Fällung der geringe Überschuß an Phosphorwolframsäure mit Baryt entfernt und nach dem Absaugen und Abpressen das Filtrat von überschüssigem Baryt quantitativ mit Schwefelsäure befreit. Das Filtrat und die Waschwässer vom Baryumsulfatniederschlag wurden nun auf das ursprüngliche Volumen eingeeengt und nach Entnahme von 5 ccm zu qualitativen Reaktionen, der Rest zur Trockene verdampft, gewogen und dann verascht. Das Gewicht der Asche wurde vom Trockenrückstand abgezogen.

Der Rückstand des nicht dialysierbaren Teiles wurde in einem aliquoten Teil desselben ebenfalls durch Eindampfen, Trocknen und Wägen bestimmt. Zur Prüfung der qualitativen Eigenschaften des nicht dialysierbaren Teiles wurden ebenfalls aliquote Teile aus den verschiedenen Portionen immer auf dasselbe Volumen gebracht.

Die einzelnen Verdauungsportionen verhielten sich folgendermaßen:

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI. S. 52. 1905.

A.

Verdaut vom 12. V. 10 Uhr vormittags bis 13. V. 10 Uhr vormittags (1 Tag).

Nicht verdauter, beziehungsweise durch Hitze koagulierbarer Teil: ca. 40 g.

Dialysiert vom 13. V. bis 22. V.

Das Dialysat war strohgelb, stark sauer und gab eine positive Millonsche Reaktion; die Reaktionen auf Tryptophan (sowohl mit Bromwasser, wie auch mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure) fielen ebenfalls positiv aus. Auch Biuretreaktion war vorhanden.

Trockenrückstand des Dialysats 142,5 g.

Durch Phosphorwolframsäure wurden aus 2 l des Dialysats 92,0 g Phosphorwolframate gefällt, welche mit Natronlauge und Bleiacetat gekocht deutliche Schwefelbleireaktion gaben.

Nach der Phosphorwolframsäurebehandlung war die Flüssigkeit farblos, die Biuretreaktion nahm einen stark bläulichen Farbenton an, die Bromwasserreaktion wurde abgeschwächt: sonst zeigte die Lösung dieselben Eigenschaften wie vor der Fällung.

Trockenrückstand des Dialysats nach der Phosphorwolframsäurebehandlung

41,7 g

Davon Tyrosin 3,2 g (78,4% der Theorie)

Glutaminsäure 1,1 g (4,3% der Theorie)

Andere dialysierbare, durch Phosphorwolframsäure nicht fäll-

bare Substanzen 37,4 g

Vom Dialysat durch Phosphorwolframsäure fällbar 100,8 g.

Der nicht dialysierte Teil der Flüssigkeit war kaum etwas gelblich gefärbt, reagierte gegen Lakmus stark sauer und gab eine schöne rötliche Biuretreaktion. Die Reaktionen mit Bromwasser, Glyoxylsäure und Millons Reagens fielen negativ aus. Eine eingeeengte Probe gab beim Kochen mit Natronlauge und Bleiacetat starke Schwefelbleireaktion.

Trockenrückstand des nicht dialysierbaren Teiles 8,6 g.

Summe der Rückstände vom Dialysat und nicht dialysierbaren Teil (den vor der Dialyse abgeschiedenen Niederschlag nicht mitgerechnet) 151,9 g.

B.

Verdaut vom 12. V. bis 13. V. (2 Tage).

Nicht verdauter, beziehungsweise durch Hitze koagulierbarer Rest: ca. 16 g.

Dialysiert vom 14. V. bis 23. V.

Das Dialysat war dunkler als bei A, reagierte schwach sauer und gab ebenfalls positive Millon-, Biuret-, Bromwasser-, Glyoxylsäure- und Schwefelblei-Reaktion.

Trockenrückstand des Dialysats 161,5 g.

Durch Phosphorwolframsäure sind aus 2 l Dialysat 106,0 g Phosphorwolframate ausgefallen, welche nach der Aufspaltung mit Natronlauge mit Millons Reagens eine ganz schwache Rötung, mit Bleiacetat eine deutliche Schwefelbleifällung gaben.

Nach der Phosphorwolframsäurebehandlung zeigte die Flüssigkeit dieselben qualitativen Eigenschaften wie bei A.

Trockenrückstand des Dialysats nach der Phosphorwolframsäurebehandlung 46,1 g

Davon Tyrosin 4,0 g (97,9% der Theorie)

Glutaminsäure 1,9 g (7,4% der Theorie)

Andere dialysierbare, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Substanzen 40,2 g

Vom Dialysat durch Phosphorwolframsäure fällbar 115,4 g.

Der nicht dialysierbare Teil war schwach sauer, gab eine sehr schwache, bläuliche Glyoxylsäurereaktion, sonst zeigte er dieselben qualitativen Eigenschaften wie A.

Trockenrückstand des nicht dialysierbaren Teiles: 16,2 g.

Gesamtrückstand vom dialysierten und nicht dialysierten Teil: 177,7 g.

C.

Verdaut vom 12. V. bis 16. V. (4 Tage).

Nicht verdauter, beziehungsweise durch Hitze koagulierbarer Rest: ca. 18 g.

Das Dialysat war dunkler als bei B, zeigte eine schwächere Bromwasserreaktion, es hatte sonst dieselben qualitativen Eigenschaften wie B.

Trockenrückstand 172,1 g.
 Phosphorwolframsäure bewirkte aus 2 l des Dialysats eine Fällung von 131,5 g, welche nach der Aufspaltung mit Natronlauge eine ganz schwache Millonsche und eine deutliche Schwefelbleireaktion zeigte.

Nach der Phosphorwolframsäurebehandlung gab die schwach gelblich gefärbte, saure Flüssigkeit mit Bromwasser eine etwas stärkere Farbenreaktion als die entsprechenden Portionen von A und B. Die Millonsche, Biuret- und Glyoxylsäurereaktion fielen in derselben Intensität aus wie bei B.

Trockenrückstand des Dialysats nach der Phosphorwolframsäurebehandlung 69,8 g
 Davon Tyrosin 4,0 g (97,9% der Theorie)
 Glutaminsäure 2,8 g (10,9% der Theorie)

Andere dialysierbare, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Substanzen 63,0 g

Vom Dialysat durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar: 102,3 g.

Der nicht dialysierbare Teil war hellgelb, schwach sauer, gab eine schöne Biuretreaktion in der gleichen Intensität wie bei A und B. Die Schwefelbleiprobe fiel dagegen bedeutend schwächer aus, Millonsche-, Bromwasser- und Glyoxylsäurereaktionen gaben ein völlig negatives Resultat.

Trockenrückstand des nicht dialysierbaren Teiles: 9,5 g.
 Gesamtrückstand vom dialysierten und nicht dialysierbaren Teil: 181,6 g.

D.

Verdaut vom 15. V. bis 23. V. (8 Tage).

Nicht verdauter, beziehungsweise durch Hitze koagulierbarer Rest: ca. 12 g.

Aus der Flüssigkeit hatte sich bei Körpertemperatur in glänzenden weißen Nadeln Tyrosin ausgeschieden. Dieses löste sich beim Aufkochen des Verdauungsgemisches vollkommen auf und fiel dann im Filtrat wieder aus. Vor der Dialyse wurde

es auf einem Filter gesammelt, gereinigt, getrocknet und gewogen. Seine Menge betrug 1,7 g.

Das Filtrat wurde vom 24. V. bis 2. VI. dialysiert.

Das Dialysat war dunkler als bei C, gab etwas schwächere Bromwasser-, dagegen etwas stärkere Glyoxylsäurereaktion als B, sonst stimmten die qualitativen Eigenschaften mit letzterem überein.

Trockenrückstand 174,9 g.

Durch Phosphorwolframsäure wurden aus 2 l des Dialysats 129,5 g Phosphorwolframate gefällt, welche nach dem Aufspalten mit Natronlauge mit Millons Reagens eine Spur von rötlicher Färbung und deutliche Schwefelbleireaktion gaben.

Nach der Phosphorwolframsäurebehandlung zeigte die Flüssigkeit dieselben qualitativen Eigenschaften wie C.

Trockenrückstand des Dialysats nach der Phosphorwolframsäurebehandlung 69,0 g

Davon Tyrosin (die vor der Dialyse ausgeschiedene Menge mitgerechnet) 4,3 g (105,2% der Theorie)

Glutaminsäure 8,0 g (31,1% der Theorie)

Andere dialysierbare, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Substanzen 56,7 g

Vom Dialysat durch Phosphorwolframsäure fällbar 104,9 g.

Der nicht dialysierbare Teil war etwas stärker gefärbt als bei C, reagierte schwach sauer, gab eine Spur Glyoxylsäurereaktion. Bromwasser- und Millonsche Reaktion fielen negativ aus. Die Biuretreaktion zeigte dieselbe Intensität und denselben Farbenton wie bei den früheren Portionen. Dagegen war die Schwefelbleireaktion, den früheren Proben gegenüber, beinahe völlig negativ.

Trockenrückstand des nicht dialysierbaren Teils: 9,3 g.

Gesamtrückstand vom dialysierten und nicht dialysierten Teil: 184,2 g.

E.

Verdaut vom 24. V. bis 9. VI. (16 Tage).

Am 6. Tage der Verdauung schied sich in ähnlicher Weise wie bei D Tyrosin aus: die Kristalle gingen am 10.—12. Verdauungstag wieder völlig in Lösung und ließen sich auch nicht mehr abscheiden.

Nicht verdauter, beziehungsweise durch Hitze koagulierbarer Rest ca. 3 g.

Dialysiert vom 12. VI. bis 21. VI.

Das Dialysat war dunkler als bei D, reagierte schwach sauer, gab eine sehr schwache Bromwasser- und Glyoxylsäurereaktion, dagegen eine positive Millonsche und Biuretreaktion in gleicher Intensität wie bei den früheren Portionen. Die Schwefelbleireaktion fiel ebenfalls positiv aus.

Trockenrückstand 170,1 g

Durch Phosphorwolframsäure wurden aus 2 l des Dialysats 125 g Phosphorwolframate gefällt. Diese zeigten nach der Aufspaltung eine positive Schwefelbleireaktion und eine merklich stärkere Millonsche Reaktion als bei den früheren Portionen. Nach der Phosphorwolframsäurebehandlung war die Flüssigkeit farblos, reagierte sauer und gab positive Millonsche, Biuret-, Bromwasser- und Glyoxylsäurereaktionen.

Trockenrückstand des Dialysats nach der Phosphorwolframsäurebehandlung 17,6 g

Aus dieser Flüssigkeit ist bei dem Einengen, trotz der vorhandenen stark positiven Millonschen Reaktion kein Tyrosin ausgefallen. Um die Ursache dieser Erscheinung zu prüfen, haben wir eine andere Portion des Dialysats stark eingeeengt und mit Alkohol wiederholt gefällt. Die durch Alkohol ausgefallenen Substanzen gaben gar keine oder nur ganz geringe Millonsche Reaktion. Zum Schluß wurde ein in absolutem Alkohol und in Wasser löslicher, sirupartiger, nicht kristallisierender Rückstand gewonnen, welcher sauer reagierte und gegen Millons Reagens wie Tyrosin sich verhielt. Aus diesem Rückstand konnte weder durch eine probeweise vorgenommene Schwefelsäurehydrolyse, noch durch Phosphorwolfram-

säurebehandlung kristallinisches Tyrosin gewonnen werden. Da weitere Untersuchungen über diesen Gegenstand nicht möglich waren, konnten wir die Frage, ob es sich hier um eine Zersetzung des Tyrosins oder um eine Salzbildung mit Basen handelt, nicht entscheiden. Eine ganz ähnliche Beobachtung hatten wir schon früher, jedoch erst nach 34tägiger Verdauung gemacht. Da nach dieser Zeit das Pankreasterment bereits wenig wirksam ist, darf wohl kaum angenommen werden, daß die Umwandlung des Tyrosins auf eine Wirkung dieses Fermentes zurückzuführen ist. Wir vermuten viel eher, daß trotz der großen Sorgfalt und der beständigen Kontrolle der Verdauungsflüssigkeiten, wenn auch vielleicht nur für kurze Zeit, der Toluolgehalt nicht ausreichte, um die Verdauungsflüssigkeit steril zu halten. Eine Bildung von Oxyphenyläthylamin ist nach unseren Beobachtungen als ausgeschlossen zu betrachten. Schließlich muß noch auf die Möglichkeit irgendwelcher sekundärer Synthesen hingewiesen werden. Vielleicht ist in diesem Sinne der höhere Gehalt des Phosphorwolframsäureniederschlages an Substanzen, welche die Millonsche Reaktion gaben, zu deuten. Andererseits ist zu bedenken, daß es nicht gelungen ist, durch Säurehydrolyse Tyrosin zur Abscheidung zu bringen. Auf die Tyrosinbestimmung mußte aus den genannten Gründen bei dieser Portion verzichtet werden.

Trockenrückstand des Dialysats nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	77,6 g
Davon Glutaminsäure	15,5 g (60,2% der Theorie)
Andere dialysierbare, durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Substanzen, samt Tyrosin oder dessen Zersetzungsprodukt	62,1 g
Vom Dialysat durch Phosphorwolframsäure fällbar	92,5 g.

Der nicht dialysierbare Teil war hellbraun gefärbt, reagierte schwach sauer und gab eine Spur von Millonscher Reaktion. Die Biuretreaktion fiel ebenso intensiv aus, wie in den früheren

Portionen. Die Bromwasser-, Glyoxylsäure- und Schwefelbleiprüfungen hatten ein negatives Resultat.

Trockenrückstand des nicht dialysierbaren Teiles	13,5 g
Gesamtrückstand vom dialysierbaren und nicht dialysierbaren Teil	183,6 g

Der besseren Übersichtlichkeit halber fassen wir sowohl die beobachteten qualitativen Eigenschaften der Verdauungsgemische, wie auch die quantitativ ermittelten Zahlen in den folgenden zwei Tabellen zusammen.

Den vorliegenden Tabellen ist wenig beizufügen. Sie zeigen klar und deutlich, daß mit der Dauer der Verdauung unter gleichen Bedingungen die mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren, dialysierbaren Produkte zunehmen. Die fällbaren Substanzen zeigen kein so einfaches Verhalten. Sie steigen anfangs, um dann allmählich wieder abzufallen. Tyrosin wird außerordentlich rasch und sehr vollständig abgespalten. Schon am zweiten Tage ist fast alles Tyrosin als solches isoliert worden. Ganz anders verhält sich die Glutaminsäure. Ihre Menge steigt stetig fortwährend an während der ganzen Dauer der Verdauung. Am 16. Tage waren ungefähr $\frac{2}{3}$ der gesamten Glutaminsäure abgeschieden. Ebenso dürften sich die übrigen aufgefundenen Aminosäuren, wie Leucin, Alanin, Asparaginsäure, verhalten. Tryptophan scheint auch sehr rasch und vollständig abgespalten zu werden. Offenbar wird es jedoch allmählich in irgend einer Weise umgewandelt.

Wir sind uns wohl bewußt, daß unsere Versuche nicht ohne weiteres auf die Vorgänge bei der natürlichen Verdauung übertragen werden dürfen. Wir beabsichtigen deshalb auch ganz entsprechende Versuche an Hunden mit Magen- und Darmfisteln auszuführen, und vor allem wird es unser Ziel sein, die bereits in Angriff genommenen Versuche, die komplizierteren Produkte der Verdauung einer genaueren Untersuchung zu unterziehen, auch auf natürliche Verhältnisse auszudehnen, um so allmählich einen klareren Einblick in das eigentliche Wesen der Verdauung der Eiweißkörper zu erhalten.

I.

Bezeichnung der Portion u. Dauer der Verdauung		A (1 Tag)	B (2 Tage)	C (4 Tage)	D (8 Tage)	E (16 Tage)
Farbe	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	strohgelb	dunkler als A	dunkler als B	dunkler als C	hellbraun
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	farblos	farblos	schwach gelblich	wie bei C	farblos
	Nicht dialysierbarer Teil	kaum gefärbt	kaum gefärbt	blaßgelb	dunkler als C	hellbraun
Verhalten gegen Lakmuspapier	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	stark sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	sauer	sauer	sauer	sauer	sauer
	Nicht dialysierbarer Teil	stark sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer	schwach sauer
Biuretreaktion	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	stark positiv mit bläulich. Farbenton	wie bei A	wie bei A	wie bei A	wie bei A
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	stark bläulich	wie bei A	wie bei A	wie bei A	wie bei A
	Nicht dialysierbarer Teil	stärker als bei dem Dialysat, rötlich	wie bei A	wie bei A	wie bei A	wie bei A
Millonsche Reaktion	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
	Nicht dialysierbarer Teil	negativ	negativ	negativ	negativ	Spuren
Bromwasserreaktion	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	zieml. starke Farbenreaktion	schwächer als bei A	schwächer als bei B	schwächer als bei C	schwache, mißfarbene Reaktion
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	schwächer als vor der Behandlung	wie bei A	etwas stärker als bei B	wie bei C	wie bei C
	Nicht dialysierbarer Teil	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
Glyoxylsäurereaktion	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	bläuliche Farbenreaktion	stärker als bei A	rötliche Farbenreaktion	stärker als bei C	wie bei C
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	wie vor der Behandlung	wie bei A	wie bei A	—	wie bei C
	Nicht dialysierbarer Teil	negativ	sehr schwach, bläulich	negativ	sehr schwach	negativ
Schwefelbleireaktion	Dialysat vor der Phosphorwolframsäurebehandlung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
	Dialysat nach der Phosphorwolframsäurebehandlung	—	—	—	—	—
	Nicht dialysierbarer Teil	positiv	positiv	schwach positiv	negativ	negativ

II.

1.	Bezeichnung der Portion und Dauer der Verdauung	A 1 Tag	B 2 Tage	C 4 Tage	D 8 Tage	E 16 Tage	
2.	Menge des Eiweißkörpers nach Abzug des Wassers und der Asche	177,6 g	177,6 g	177,6 g	177,6 g	177,6 g	
3.	Nicht verdauter resp. durch Hitze koagulierbarer Rückstand	ca. 40,0 g	ca. 16,0 g	ca. 18,0 g	ca. 12,0 g	ca. 3,0 g	
4.	Trockenrückstand des nicht dialysierbaren Teiles	8,6 g	16,2 g	9,5 g	9,3 g	13,5 g	
5.	Trockenrückstand des Dialysats	142,5 g	161,5 g	172,1 g	174,9 g	170,1 g	
6.	Summe von 4 und 5	151,1 g	177,7 g	181,6 g	184,2 g	183,6 g	
7.	Aus dem Dialysat durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar	41,7 g	46,1 g	69,8 g	69,0 g	77,6 g	
8.	Aus dem Dialysat durch Phosphorwolframsäure fällbar (berechnet aus der Differenz 5 und 7)	100,8 g	115,4 g	102,3 g	104,9 g	92,5 g	
9.	Im nicht fällbaren Teile ge-	in g	3,2 g	4,0 g	4,0 g	4,3 g	
10.	fundenes Tyrosin						
		in % des theoretischen Wertes (4,1 g)	78,4 %	97,6 %	97,6 %	105,2 %	—
11.	Im nicht fällbaren Teile ge-	in g	1,1 g	1,9 g	2,8 g	8,0 g	
12.	fundene Glutaminsäure						
		in % des theoretischen Wertes (25,75 g)	4,3 %	7,4 %	10,9 %	31,1 %	60,2 %
13.	Aus dem Trockenrückstand (7) noch übrig geblieben	37,4 g	40,2 g	63,0 g	56,7 g	62,1 g	

Daß der fermentativen Aufspaltung der Eiweißkörper nicht allein die Rolle zukommt, die nicht diffundierbaren Proteine resorbierbar zu machen, ist für uns ganz klar. Der wesentliche Effekt der ganzen Verdauung ist offenbar der, die verschiedenartigsten Eiweißkörper assimilationsfähig zu machen. Wie der eine von uns¹⁾ bereits ausführlich dargelegt hat, kann man sich bei dem qualitativ so ähnlichen Aufbau der verschiedenen Eiweißkörper durch einen verschiedenartigen und mehr oder weniger weitgehenden stufenartigen Abbau sehr wohl eine Umwandlung des «fremden» in «eigenes» Eiweiß vorstellen. Daß der Abbau sehr weit gehen kann und dennoch die Gesamtheit der Abbauprodukte Verwertung findet, geht aus den von dem einen von uns in Gemeinschaft mit P. Rona²⁾ ausgeführten Versuchen hervor.

¹⁾ Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17, 1905.

²⁾ Emil Abderhalden und Peter Rona, Über die Verwertung der Abbauprodukte des Caseins im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 198, 1905.