

# HOPPE-SEYLER'S ZEITSCHRIFT

für

# PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

E. ABDERHALDEN-Berlin, G. v. BUNGE-Basel, O. COHNHEIM-Heidelberg, P. EHRLICH-Frankfurt a. M., H. EULER-Stockholm, EMIL FISCHER-Berlin, W. v. GULEWITSCH-Moskau, O. HAMMARSTEN-Upsala, S. G. HEDIN-Upsala, V. HENRIQUES-Kopenhagen, G. HOPPE-SEYLER-Kiel, M. JAFFÉ-Königsberg, Wm. KÜSTER-Stuttgart, FR. KUTSCHER-Marburg, E. LUDWIG-Wien, CARL TH. MÖRNER-Upsala, K. A. H. MÖRNER-Stockholm, W. OSTWALD-Großbothen, I. P. PAWLOW-St. Petersburg, C. A. PEKELHARING-Utrecht, E. SALKOWSKI-Berlin, E. SCHULZE-Zürich, M. SIEGFRIED-Leipzig, H. STEUDEL-Heidelberg, H. THIERFELDER-Berlin, R. v. ZEYNEK-Prag

herausgegeben von

**A. KOSSEL,**

Professor der Physiologie in Heidelberg

---

**Achtundfünfzigster Band:**

**Sechstes Heft.**

(Schluß des Bandes.)

(Ausgegeben am 20. Februar 1909.)

---

**STRASSBURG**

**VERLAG VON KARL J. TRÜBNER**

**1909.**

## ACHTUNDFÜNFZIGSTER BAND, SECHSTES HEFT.

### Inhalt.

	Seite
<b>Mayeda, M.</b> Über das Amyloidprotein . . . . .	469
— — Über die Proteinkomponente des Chondromucoids . . . . .	485
<b>Bialosuknia, W. W.</b> Über Pflanzenfermente . . . . .	487
<b>Winterstein, E.</b> Beiträge zur Kenntnis pflanzlicher Phosphatide. III. Mitteilung . . . . .	500
<b>Winterstein, E., und K. Smolenski.</b> Beiträge zur Kenntnis der aus Cerealien darstellbaren Phosphatide. IV. Mitteilung. Über Phosphatide . . . . .	506
<b>Smolenski, K.</b> Zur Kenntnis der aus Weizenkeimen darstell- baren Phosphatide. V. Mitteilung. Über Phosphatide . . . . .	522
<b>Winterstein, E., und L. Stegmann.</b> Über einen eigenartigen phosphorhaltigen Bestandteil der Blätter von Ricinus. VI. Mit- teilung. Über Phosphatide . . . . .	527
<b>Ascoli, M., und G. Izar.</b> Quantitative Rückbildung zugesetzter Harnsäure in Leberextrakten nach vorausgegangener Zer- störung . . . . .	529
<b>Preti, Luigi.</b> Über den Einfluß der Bleisalze auf die Autolyse . . . . .	539
<b>Malfatti, Hans.</b> Zur Beurteilung der Seliwanoffschen Lävulose- reaktion im Harn . . . . .	544

---

Für die nächsten Hefte sind Arbeiten eingegangen von:

A. Hamsik, E. Abderhalden und W. Völtz, E. Salkowski, E. Abderhalden und F. Thies, E. Abderhalden und M. Guggenheim, E. Abderhalden, C. Brahm und A. Schittenhelm, E. Abderhalden, E. Menner und Winkath, R. Ehrenfeld und W. Kulka, O. Schumm, O. Herzog und A. Meier, W. Küster, L. Borchardt, C. J. C. van Hoogenhuyze und H. Verploegh, H. Euler.

---

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie erscheint in Bänden zu 6 Heften, jedes zu ungefähr 5—6 Bogen. Die Hefte erscheinen in Zwischenräumen von 1—2 Monaten. Preis des Bandes 12 Mark.

Die in dieser Zeitschrift zu publizierenden Arbeiten werden, wenn es nicht aus technischen Gründen unmöglich ist, in der Reihenfolge, in welcher sie der Redaktion zugehen, aufgenommen. — Kurze Notizen oder Bemerkungen zu anderen Arbeiten werden in der Regel am Schluß des Heftes und außerhalb der Reihenfolge des Eingangsdatums mitgeteilt. — Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Arbeiten, sowie Referate über bereits publizierte Arbeiten werden nicht aufgenommen.

Das Honorar beträgt für den Druckbogen 25 Mark. Von jeder Arbeit werden dem Verfasser 75 Separat-Abdrücke gratis geliefert.

In bezug auf die Rechtschreibung der Fachausdrücke sind bis auf weiteres die Publikationen der Deutschen chemischen Gesellschaft maßgebend. In zweifelhaften Fällen wird der etymologische und internationale Standpunkt vor dem phonetischen bevorzugt.

---

Verlag von **KARL J. TRÜBNER** in **Straßburg**.

Vor kurzem erschien Heft 3 des I. Bandes der

# **Zeitschrift für biologische Technik und Methodik.**

Unter Mitwirkung von Fachgenossen

herausgegeben von

**Dr. MARTIN GILDEMEISTER**

Privatdozenten der Physiologie in **Straßburg i. E.**

---

Die „Zeitschrift für biologische Technik und Methodik“ erscheint in zwanglosen Heften, die zu Bänden von etwa 30 Druckbogen vereinigt werden.

Der Inhalt gliedert sich in:

- I. Kurze Originalartikel (in deutscher Sprache, nötigenfalls ins Deutsche übersetzt).
- II. Mitteilungen aus Laboratorien und Instituten über die dort übliche Arbeits- und Lehrpraxis.
- III. Referate: a) aus den biologischen Wissenschaften;  
b) aus den Nachbargebieten, besonders der Physik, Chemie und physikalischen Chemie.
- IV. Notizen aus der Industrie.

---

**Preis des Bandes Mk. 15.—.**

---

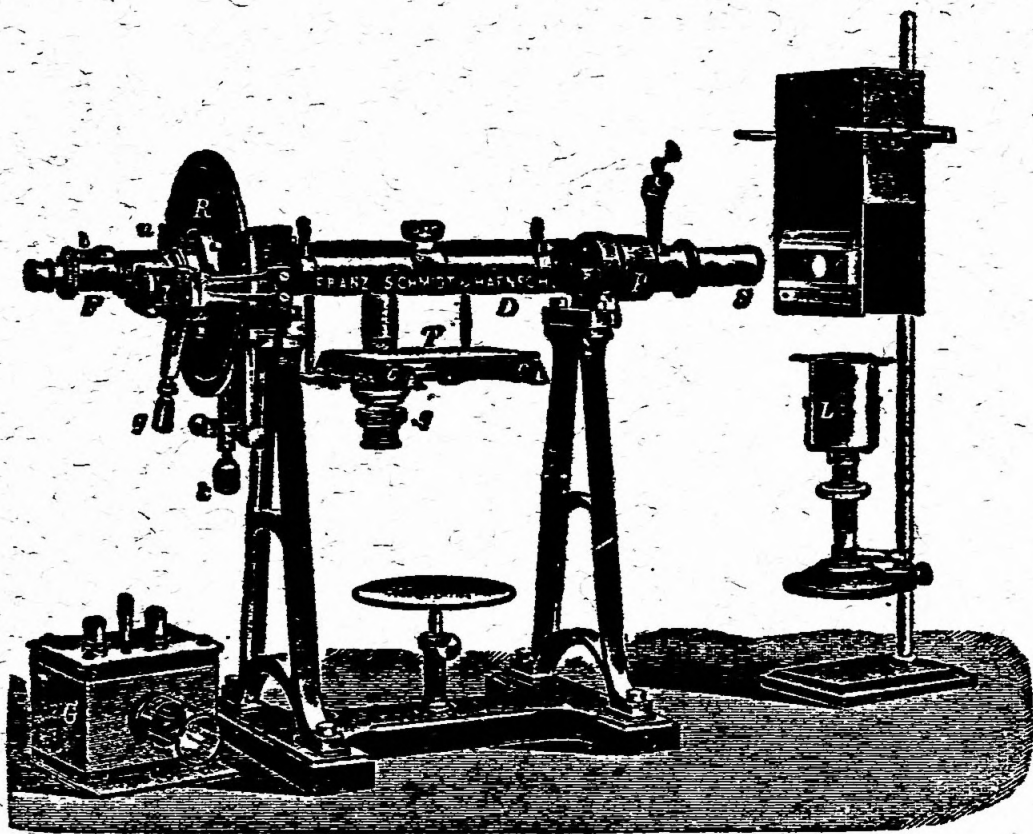
Aufgabe dieser neuen Zeitschrift soll es sein, die Fortschritte der Technik und Methodik der Biologie in Originalartikeln, Notizen aus der Industrie und Referaten darzustellen.

Heft 1 in den meisten Buchhandlungen zur Ansicht.

# Franz Schmidt & Haensch

Berlin S. 42, Prinzessinnenstraße 16.

Werkstätten für Präzisions-Mechanik und Optik.



Polarisationsapparat nach Landolt.

Polarisations-  
apparate,  
Spektralapparate,  
Photometer,  
Spektralphoto-  
meter,  
Kolorimeter,  
sowie andere wissen-  
schaftliche Instru-  
mente für Labora-  
toriumsgebrauch.

Preislisten kostenlos.

Verlag von **KARL J. TRÜBNER** in **STRASSBURG**.

Soeben erschienen:

## Minerva.

### JAHRBUCH DER GELEHRTEN WELT.

Begründet von

**Dr. K. TRÜBNER.**

Achtzehnter Jahrgang 1908—1909.

Mit dem Bildnis von Professor Dr. Theodor Kocher in Bern.

16°. LIV, 1360 Seiten. Preis in Halbpergament gebunden **M 15.—**

Dieses Jahrbuch stellt sich die Aufgabe, authentische Aufschlüsse zu geben über die Organisation und das wissenschaftliche Personal aller Universitäten der Welt, sowie aller technischen, tierärztlichen und landwirtschaftlichen Hochschulen, ferner über sonstige wissenschaftliche Institute: Bibliotheken, Archive, archäologische und naturwissenschaftliche Museen, Sternwarten, gelehrte Gesellschaften usw. Ein vollständiges Register über ca. 40 000 Namen ermöglicht es, die Adresse und das Amt jedes einzelnen Gelehrten festzustellen. Die intensiven internationalen Beziehungen auf wissenschaftlichem Gebiet haben das Jahrbuch hervorgerufen und ihm bereits eine weite Verbreitung gesichert.

## Über das Amyloidprotein.<sup>1)</sup>

Von

Dr. M. Mayeda.

---

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. Dezember 1908.)

---

Die chemischen Untersuchungen der amyloiden Organe haben im Laufe der Zeit zu verschiedenen einander widersprechenden Resultaten geführt. Während man ursprünglich das Vorhandensein einer bestimmten, im normalen Zustande fehlenden Substanz, des «Amyloids», annahm, haben spätere Untersuchungen gezeigt, daß mindestens zwei Erscheinungen beim Auftreten der amyloiden Degeneration zusammen kommen: Erstens findet man in den amyloid-degenerierten Organen eine erhebliche Menge Chondroitsäure, die in denselben Organen normalerweise fehlt oder nur in geringerer Menge vorhanden ist. Zweitens ist aber noch eine Eiweißsubstanz «Amyloidprotein» vorhanden, welche mit der Chondroitsäure nicht oder wenigstens nicht notwendig in chemischer Verbindung steht, wie man dies früher nach Krawkow<sup>2)</sup> annahm. Denn die «Sagokörper» der Amyloidmilz enthalten, wie O. Hanssen<sup>3)</sup> kürzlich fand, keine Chondroitsäure, obwohl sie alle typischen Eigenschaften des Amyloids besitzen. Aber auch dieses «Amyloidprotein» ist nach Hanssens Ansicht vielleicht noch aus zwei Stoffen zusammengesetzt, deren einer die Methylviolettreaktion, deren zweiter die Jodreaktion des Amyloids geben soll.

---

<sup>1)</sup> Vorläufig mitgeteilt auf dem Meeting der British association for the advancement of science in Dublin den 7. September 1908.

<sup>2)</sup> Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie, Bd. XL, S. 195, 1897.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. XIII, S. 185, 1908.

Über die Natur des Amyloidproteins liegen bestimmte Angaben von Neuberg<sup>1)</sup> vor. Nach den Untersuchungen dieses Forschers soll dies Protein der von A. Kossel im Jahre 1883 entdeckten Gruppe der Histone<sup>2)</sup> nahestehen. Nach den ursprünglichen Angaben von Kossel beruhte der Unterschied der Histone von den übrigen Eiweißkörpern wesentlich auf den Reaktionen, besonders auf dem äußerst charakteristischen Verhalten zum Ammoniak. Durch die späteren Untersuchungen von A. Kossel und F. Kutscher<sup>3)</sup> wurde aber festgestellt, daß diesen äußeren Merkmalen auch eine sehr bemerkenswerte Eigentümlichkeit im inneren Bau dieser Substanzen entsprach, nämlich der hohe Gehalt an Hexonbasen.<sup>4)</sup>

Nachdem durch die von A. Kossel zum Teil in Gemeinschaft mit F. Kutscher ausgearbeiteten Methoden eine sichere Bestimmung dieser Basen ermöglicht war, wandte Neuberg<sup>5)</sup> diese Methoden auf die Untersuchung des «ganz nach Modrzejewski und Krawkow» isolierten Amyloids an. Hierbei ergab sich ein ziemlich hoher Gehalt an Arginin und Lysin, welcher an die Histone erinnern soll, während das Histidin vermißt wurde.

Außerdem bestimmte Neuberg den basischen Anteil des Proteinmoleküls auf Grund der sog. «Hausmann'schen Methode», eines Verfahrens, welches — wie Kutscher mit Recht hervorgehoben hat<sup>6)</sup> — bei komplizierten Eiweißstoffen nicht zu zuverlässigen Zahlen führen kann.

Ferner stellte Neuberg die Menge des Glykokolls, Tyrosins und der Glutaminsäure fest und erhielt hierbei folgende

1) Verhandlungen d. Deutsch. patholog. Gesellsch. 26—28. Mai 1904.

2) Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 511, 1883.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165, 1900.

4) «Es ist sehr bemerkenswert, daß wir bisher keinen Eiweißkörper kennen, welcher die charakteristischen Reaktionen der Histone gibt, ohne den hohen Basengehalt zu besitzen. Andererseits kennen wir auch bisher keinen komplizierten Eiweißkörper, welcher gleichzeitig ebenso viel Arginin und Lysin liefert wie die Histone». (A. Kossel u. H. Pringle, Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 307.)

5) l. c.

6) Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 215, 1900.

Resultate, die den Analysen des Thymushistons gegenüber gestellt sind:<sup>1)</sup>

	Leberamyloid (Neuberg)	Thymushiston (Kossel, Kutscher, Abderhalden u. Rona)
Glykokoll . . . . .	0,8	0,5
Leucin . . . . .	22,2	11,8
Glutaminsäure . . . . .	3,8	3,7
Tyrosin . . . . .	4,0	5,2
Prolin . . . . .	3,1	1,5
Arginin . . . . .	13,9	14,5
Lysin . . . . .	11,6	7,7
Histidin . . . . .	0	1,2

Ein besserer Vergleich der für die Hexonbasen gefundenen Zahlen ergibt sich, wenn man dieselben in Prozenten des Gesamtstickstoffs des betreffenden Proteins ausrechnet. Dann erhält man folgende Zahlen:

Prozente des Gesamtstickstoffs.

	Arginin	Histidin	Lysin
Leberamyloid (Neuberg) <sup>2)</sup> . . . . .	31,7	0	15,8
Histon aus Thymus <sup>3)</sup> . . . . .	25,2	1,8	8,0
» » Gadustestikeln <sup>3)</sup> . . . . .	26,8	3,3	8,5
» » Centrophorustestikeln <sup>4)</sup> . . . . .	25,4	4,5	7,1

Man ersieht aus diesen Zahlen, daß nach den Analysen Neubergs die im Amyloidprotein für Arginin und Lysin ge-

<sup>1)</sup> Nach Kossel u. Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 19; Kutscher, ebenda, Bd. XXXVIII, S. 132; Abderhalden und Rona, ebenda, Bd. XLI, S. 282.

<sup>2)</sup> l. c., bei der Berechnung wurde der von Neuberg angegebene Stickstoffgehalt von 14,1% zugrunde gelegt.

<sup>3)</sup> A. Kossel u. F. Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165.

<sup>4)</sup> A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 307.

fundenen Zahlen die für Histone gefundenen weit übertreffen müßten, daß sich hingegen das Amyloidprotein durch den Mangel an Histidin von den Histonen unterscheiden müßte. Auf diese Weise erscheint das Amyloidprotein noch eigenartiger. Es müßte ein besonderer, bisher ohne Analogon dastehender Proteinstoff sein. Ich bin daher der Aufforderung des Herrn Professor A. Kossel zu einer erneuten Feststellung dieser Verhältnisse gerne gefolgt.

Für solche Untersuchungen ergaben sich im wesentlichen drei Gesichtspunkte.

I. Ich habe versucht, die von Neuberg<sup>1)</sup> gewonnenen Ergebnisse nachzuprüfen, indem ich das Amyloidprotein nach den bisher üblichen Methoden darstellte und von neuem den Gehalt an Arginin, Histidin und Lysin bestimmte, um festzustellen, ob derselbe in der Tat so hohe Werte liefert.

II. Der zweite Gesichtspunkt ergab sich aus der Beobachtung, daß die Amyloidorgane unter bestimmten Verhältnissen durch Pepsinsalzsäure gelöst werden. Histon müßte bei diesem Prozeß in das an seinen Reaktionen kenntliche Histozepton<sup>1)</sup> übergehen. Man müßte also in den durch Pepsinverdauung gelösten Organen die Reaktion des Histozeptons finden.

III. Wenn in den amyloid-degenerierten Organen basenreichere, d. h. histonähnliche Eiweißkörper an die Stelle basenärmerer treten, so dürfte man unter bestimmten Bedingungen (cf. unten) eine Zunahme des Hexonbasenstickstoffs im Verhältnis zum Gesamtstickstoff der Eiweißkörper des Organes erwarten.

#### **I. Darstellung und chemische Zusammensetzung des Amyloidproteins.**

Krawkow<sup>2)</sup> hat für die Darstellung des Amyloids die alte Methode von Kühne und Rudneff<sup>3)</sup> in etwas modifizierter Form angewandt. Die fein zerkleinerten Amyloidorgane wurden mit schwacher Ammoniaklösung extrahiert und dann der Einwirkung von Pepsinsalzsäure unterworfen. Die hierbei unver-

---

<sup>1)</sup> A. Kossel und H. Pringle, Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 301.

<sup>2)</sup> l. c.

<sup>3)</sup> Virchows Archiv, Bd. XXXIII, S. 66, 1865.



daut zurückbleibende Substanz wurde mit starker Ammoniaklösung aufgenommen, die Lösung zur Entfernung der Nucleinstoffe mit Barytwasser gefällt, filtriert und das Amyloid aus dem Filtrat mit starker Salzsäure ausgefällt.

Da das Amyloid in schwacher Ammoniaklösung ziemlich löslich ist und durch Pepsinsalzsäure in reichlicherem Maße, als meistens angenommen wird, in Lösung übergeführt wird, so sind die Verluste bei Anwendung dieser Darstellungsmethode recht beträchtliche. Außerdem erleidet auch das Amyloidprotein unter der Einwirkung der Pepsinsalzsäure eine gewisse Veränderung (Krawkow, Hanssen).

Behufs Vermeidung dieser Übelstände habe ich die Darstellungsmethode geändert.

Zunächst habe ich mich über die Löslichkeit der durch Methylviolett färbbaren Substanz in Ammoniak und Barytwasser durch einige Vorversuche orientiert, indem ich die mit dem Gefriermikrotom hergestellten Schnitte<sup>1)</sup> frischer Amyloidorgane mit Ammoniak und Barytwasser in verschiedener Konzentration verschieden lange in Berührung ließ, sie dann mit Wasser gut auswusch und mit Methylviolett färbte.

Färbung mit Methylviolett nach Einwirkung von Ammoniak.

Konzentration der Ammoniaklösung		Dauer der Einwirkung			
In Normallösung	In Prozenten	5 Minuten	30 Minuten	2 Stunden	12 Stunden
—	7	sehr schwach gefärbt	keine Färbung	keine Färbung	keine Färbung
n/10	1,7	gut gefärbt	schwach gefärbt	undeutlich	» »
n/30	0,51	» »	gut gefärbt	schwach gefärbt	schwach gefärbt
n/100	0,17	» »	» »	gut gefärbt	gut gefärbt

<sup>1)</sup> Die Schnittpräparate wurden von meinem Kollegen Dr. Itami im hiesigen pathol. Institut hergestellt. Ich statue demselben für seine Freundlichkeit meinen besten Dank ab.

## Färbung mit Methylviolett nach Einwirkung von Barytwasser.

Konzentration des Barytwassers		Dauer der Einwirkung			
In Normal- lösung Ba(OH) <sub>2</sub> ungefähr	In Pro- zenten Ba(OH) <sub>2</sub>	5 Minuten	30 Minuten	2 Stunden	12 Stunden
n/25	3,2	Amyloid aufgelöst	—	—	—
n/50	1,6	Amyloid aufgelöst	—	—	—
n/250	0,32	Amyloid aufgelöst	—	—	—
n/500	0,16	sehr un- deutlich	keine Färbung	—	—
n/1000	0,08	schwach gefärbt	sehr undeut- lich gefärbt	sehr undeut- lich gefärbt	keine Färbung
n/2500	0,03	gut gefärbt	schwach gefärbt	sehr schwach gefärbt	undeutlich gefärbt
n/5000	0,016	gut gefärbt	gut gefärbt	gut gefärbt	schwach gefärbt

Zur Darstellung benutzte ich frische Amyloidmilz, -Niere und -Leber. Milz und Niere wurden von gröberen bindegewebigen Teilen und besonders den größeren Gefäßen nach Möglichkeit befreit, durch eine Fleischhackmaschine zerkleinert, in großem Überschuß 0,1 bis 0,2% iger wässriger Ammoniakflüssigkeit zerteilt, gut umgerührt oder in kleinen Portionen geschüttelt. Die Extraktion wurde dann solange wiederholt, als das Waschwasser nach vorheriger Entfernung der Nucleinstoffe noch Niederschlag mit Salzsäure gab.<sup>1)</sup> Das verdünnte Ammoniak löst unter diesen Umständen nur wenig Amyloidprotein und dient zur Entfernung nuclein- und eiweißartiger Beimengungen.

Das Amyloidprotein befindet sich hauptsächlich im Rück-

<sup>1)</sup> Zum Zweck dieser Prüfung wurde ein Teil der Waschwasser mit Barytwasser behufs Ausfällung der Nucleinstoffe versetzt, filtriert und das Filtrat mit Salzsäure angesäuert. In den ersten Portionen des Waschwassers entsteht hierbei ein Niederschlag, in den späteren nicht mehr.

stand, dessen ganze Masse sich nunmehr durch Methylviolett rot färbt. Dieser Rückstand wird nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser mit 0,5—1,0%igem Barytwasser 10—15 Minuten im Schüttelapparat geschüttelt und abgenutscht. Durch einmalige Behandlung mit Baryt wird das Amyloidprotein völlig gelöst. Der Rückstand wird mit Wasser ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser vereinigt, mit Salzsäure gefällt, der Niederschlag mit Wasser gewaschen und mit Alkohol und Äther getrocknet. Ob der so erhaltene Körper ein chemisches Individuum ist, lasse ich dahingestellt sein.

Bei der Amyloidleber erwies es sich als zweckmäßig, das Organ zunächst einige Tage in starkem Alkohol zu härten, um die Löslichkeit des Amyloidproteins im Ammoniak herabzusetzen und sodann die Ammoniakextraktion länger einwirken zu lassen (bei der Milz und Niere ist diese Vorbehandlung nicht erforderlich). Hierauf wird das Organ sorgfältig ausgepreßt und nach dem Kosselschen Verfahren<sup>1)</sup> mit der Maschine geschnitten und wie oben mit Barythydrat extrahiert. Bei gleicher Behandlung normaler Organe erhielt ich keine dem Amyloidprotein entsprechende Substanz.

Das Amyloidprotein erwies sich als frei von Chondroitinsäure, denn es spaltete beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure keine Schwefelsäure ab. Nach der Auflösung in Barytwasser war die Methylviolettreaktion verloren gegangen. Das Protein war in Barytwasser und in starkem wässrigem Ammoniak löslich und durch Säure aus dieser Lösung fällbar. Diese Fällung war eine vollständige, denn die von diesem Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit gab keine Eiweißreaktionen und nur unbedeutende Trübung mit Phosphorwolframsäure. Der Stickstoffgehalt betrug — nach Kjeldahl bestimmt:

beim Leberamyloidprotein im Mittel 14,9%

» Milzamyloidprotein » » 15,0%

Derselbe ist also höher, als den Angaben von Krawkow und Neuberg entspricht. Krawkow fand 14,0% und 13,8%. Neuberg 14,1%. Letzterer daneben 1,7—1,8% Sulfatschwefel.

---

<sup>1)</sup> cf. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 1.

Die niederen Stickstoffwerte bei Neuberg sind also offenbar durch Beimengung von Chondroitsäure zu erklären.

Die Spaltung des von mir dargestellten Amyloidproteins und die quantitative Bestimmung der basischen Zersetzung wurde nach dem Verfahren von A. Kossel und F. Kutscher ausgeführt unter Anwendung der im hiesigen Institute gebräuchlichen Modifikationen, wie sie in der Mitteilung von Weiss<sup>1)</sup> beschrieben sind. Es ergaben sich folgende Zahlen.

Tabelle I.

	Milzamyloidprotein		Leberamyloidprotein	
	Stickstoff der Spaltungsprodukte in Prozenten des Gesamtstickstoffs	Gewicht der Spaltungsprodukte in Gewichtsprozent des gespaltenen Proteins	Stickstoff der Spaltungsprodukte in Prozenten des Gesamtstickstoffs	Gewicht der Spaltungsprodukte in Gewichtsprozent des gespaltenen Proteins
Ammoniak . . .	2,5	0,4	2,6	0,4
Histidin <sup>2)</sup> . . .	4,1	2,3	4,1	2,3
Arginin . . . .	16,2	7,7	16,7	7,9
Lysin . . . . .	3,6	2,8	3,4	2,6

Meine Resultate sind demnach durchaus andere als die Neubergs.

Es ergibt sich hieraus:

1. Das Histidin fehlt unter den Spaltungsprodukten des Amyloidproteins durchaus nicht.

2. Die Menge des Arginins und Lysins ist bedeutend geringer als beim Histon und viel geringer, als der Angabe Neubergs entspricht (cf. S. 471).

3. Das nach meinem Verfahren dargestellte Amyloidprotein aus Milz und Leber gab die gleichen Zahlen für die basischen Spaltungsprodukte.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 107 (1907).

<sup>2)</sup> Das Histidin wurde als Pikrolonat in krystallisiertem Zustand erhalten (siehe Steudel, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 219 [1903], und Bd. XLIV, S. 157 [1905]).

Es liegt hiernach kein Grund vor, das von mir dargestellte Amyloidprotein in Beziehung zum Histon zu bringen.

## II. Qualitative Prüfung des «Amyloids» auf Histopecton.

Die eben besprochenen Analysen schließen nicht aus, daß neben der von mir dargestellten Substanz in den amyloid degenerierten Organen ein Stoff vorhanden sei, welcher der Histongruppe zugehört. Man könnte sogar den Einwand machen, daß mein Amyloidprotein aus einem histonartigen Körper bestehe, an welchen ein basenärmerer Eiweißkörper angelagert sei. Um diesen Einwänden zu begegnen, habe ich den Nachweis zu führen, daß das charakteristische Spaltungsprodukt des Histons, nämlich das Histopecton, weder aus meinem Präparat noch überhaupt aus den amyloid degenerierten Geweben hervorgeht.

Über das Verhalten des Amyloids zu Pepsinsalzsäure existieren die verschiedensten Angaben. Nach Kühne und Rudneff<sup>1)</sup> und Krawkow<sup>2)</sup> wird es von diesem Reagens nicht angegriffen, ebenso beobachtete auch Hanssen,<sup>3)</sup> daß die «Sagokörnchen» unter dem Einfluß der Pepsinverdauung wohl ihre Eigenschaften verändern, daß sie aber nicht in Lösung gehen. Nach Kostjurin und Ludwig<sup>4)</sup> und Tschermak<sup>5)</sup> wird das Amyloid gelöst. Nach Neuberg<sup>6)</sup> wird es langsam gelöst.

Auch bei meinen Versuchen erwies sich das amyloid degenerierte Gewebe sowohl in frischem Zustand, wie nach Alkoholbehandlung als in Pepsinsalzsäure löslich. Ich unterwarf die mit dem Kosselschen Verfahren zerkleinerten Organe während eines Zeitraums von etwa 8 Tagen bei 38° der Wirkung eines frisch bereiteten Infuses der gewaschenen und

---

<sup>1)</sup> Virchows Archiv, Bd. XXXIII, S. 66, 1865.

<sup>2)</sup> l. c.

<sup>3)</sup> l. c.

<sup>4)</sup> Wien. mediz. Jahrbücher, S. 181—183, 1886.

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 343, 1895.

<sup>6)</sup> l. c.

zerkleinerten Schweinemagen-Schleimhaut. Schon nach 5 Tagen war fast das ganze Gewebe in Lösung gegangen und ich erhielt eine Flüssigkeit, welche keine ungelösten Teilchen, sondern nur eine gewisse Trübung zeigte.

Man könnte gegenüber den bestimmten Angaben über die Unlöslichkeit des «Amyloids» in Pepsinsalzsäure auf den Gedanken kommen, daß diese Auflösung nicht durch die Pepsinsalzsäure, sondern durch ein anderes auf Amyloid stärker wirkendes Ferment hervorgerufen sei — etwa durch ein der Lieno- $\beta$ -Protease Hedins<sup>1)</sup> ähnliches Gewebsferment aus den amyloid degenerierten Organen. Ich konnte jedoch diesen Einwand durch folgenden Versuch ausschließen:

Von der fein zerschnittenen, von Blutgefäßen usw. möglichst befreiten Leber, welche eine hochgradige amyloide Degeneration zeigte, und mit Methylviolett-Jodschwefelsäure kräftig Reaktion auf Amyloid gab, wurden 140 g entnommen, mit 300 ccm  $n/10$ -Natronlauge angerührt und blieben behufs völliger Zerstörung der Enzyme 24 Stunden mit der Natronlauge stehen, hierauf wurde die Flüssigkeit genau neutralisiert und sodann der Salzsäuregehalt auf ca. 2<sup>o</sup> HCl gebracht. Die den Organbrei enthaltende Flüssigkeit wurde mit Pepsinsalzsäure 8 Tage bei 38° verdaut, wobei die Lösung schneller vor sich ging, als ohne die vorherige Einwirkung der Natronlauge. Bei diesen Versuchen waren die aus der Leber stammenden Enzyme ausgeschlossen, denn die Lieno- $\beta$ -Protease, welche in saurer Lösung allein in Betracht kommen könnte, wird bereits durch halbstündige Einwirkung von 1%iger Natronlauge völlig oder fast völlig zerstört, wie ich durch einen besonderen Versuch feststellte. Ebenso überzeugte ich mich, daß Histopepton durch die Einwirkung der Natronlauge unter diesen Umständen nicht zerstört wird.

Ich verfuhr hierbei in der Weise, daß ich 100 g fein zerteiltes frisches Milzgewebe (Rind) mit 200 ccm 1%iger Natronlauge  $\frac{1}{2}$  Stunde digerierte, dann neutralisierte und nach Zusatz von 200 ccm Wasser bis auf einen Prozentgehalt von 0,2 mit Essigsäure ansäuerte und mit feingeschnittenem Fibrin versetzte. In einem aliquoten Teil dieser Flüssig-

---

<sup>1)</sup> cf. Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 341, 1901.

keit wurden vor und nach 40 stündiger Digestion unter Toluolzusatz im Brütöfen nach Hedins Verfahren der durch Gerbsäure nicht fällbare Stickstoff bestimmt. Derselbe Versuch wurde sodann mit frischem, d. h. nicht mit Natron behandeltem Milzgewebe angestellt. Es ergab sich folgendes:

	Gesamtstickstoff	Filtrat vor Digestion	Filtrat nach Digestion	Stickstoff verdauter Substanz	Verhältnis zwischen Gesamtstickstoff und Stickstoff verdauter Substanz 100 :
Ohne Alkalibehandlung	931,0	84,0	492,6	408,6	43,9
Nach Alkalibehandlung	846,6	33,0	53,0	20,0	2,4

Also hatte nach der Behandlung des Milzgewebes mit Natronhydrat keine wesentliche Enzymwirkung mehr stattgefunden, d. h. die Lipo- $\beta$ -Protease war durch die Natronlauge zerstört worden.

Die Verdauung des Amyloids mußte also durch die Pepsinsalzsäure selbst bewirkt worden sein.

Die abweichenden Befunde verschiedener Untersucher über das Verhalten des «Amyloids» zu Pepsinsalzsäure lassen sich wohl teilweise durch die Annahme erklären, daß bei der Amyloidose Produkte von verschiedener Widerstandsfähigkeit gegen Pepsin gebildet werden. Wenn es ein gegen Pepsinsalzsäure absolut widerstandsfähiges Amyloidprotein gibt — und dies scheint nach den Untersuchungen von Hanssen an den Sagokörnern der Milz wirklich der Fall zu sein —, so kann dies Produkt doch in Fällen weitgehender Amyloidose ganz fehlen oder auf geringe Spuren beschränkt sein. In den von mir untersuchten Fällen habe ich es überhaupt nicht wahrgenommen, trotzdem ich Organe untersuchte, deren Gewicht unter dem Einfluß der Erkrankung ganz beträchtlich vermehrt war und welche die intensivste Amyloiderkrankung zeigten.

Nun bemühte ich mich, in der durch Pepsinverdauung gewonnenen Lösung dieses Amyloidproteins etwa vorhandenes Histopecton zu finden.

Wie mir besondere Versuche ergaben, verschwindet die Reaktion des Histopectons mit Natriumpikrat auch bei längerer Einwirkung der Pepsinsalzsäure nicht. Eine Lösung von 1 pro Mille Histopectonsulfat blieb

drei Wochen mit kräftig wirkender Pepsinsalzsäure im Brütöfen stehen. Der durch Natriumpikrat in der neutralisierten Flüssigkeit erzeugte Niederschlag war ebenso kräftig, wie vor der Digestion.

Zunächst stelle ich fest, daß in der neutralisierten filtrierten Verdauungslösung kein Niederschlag mit Natriumpikrat zu erhalten war. Hieraus mußte schon auf die Abwesenheit größerer Mengen Histopepton geschlossen werden, bei Anwesenheit kleinerer Mengen könnte jedoch die Niederschlagbildung durch die in der Lösung befindlichen Salze verhindert sein.

Ich habe daher die Lösung in folgender Weise weiter verarbeitet.

Die auf 500 ccm eingedampfte Flüssigkeit wurde bei neutraler Reaktion vorsichtig mit einer warmen gesättigten Lösung von Kupferacetat versetzt, so lange noch eine Vermehrung des Niederschlags zu beobachten war. Das Gemisch blieb bis zum nächsten Tage stehen, wurde dann filtriert, und mit Wasser gut ausgewaschen. Der Niederschlag enthielt nur sehr geringe Mengen von Albumosen (Protalbumosen).<sup>1)</sup>

Das Filtrat gab auf Zusatz von  $\frac{1}{3}$  Volumen Alkohol weitere Mengen desselben Niederschlages.

Die alkoholhaltige von diesem letzteren Niederschlage abfiltrierte Flüssigkeit wurde unter Zusatz von Schwefelsäure mit Schwefelwasserstoff zerlegt, mit Barythydrat versetzt, bis die Reaktion nur noch ganz schwach sauer war, und auf ein kleineres Volumen eingeeengt. Auch diese Flüssigkeit gab keinen Niederschlag mit Natriumpikrat, aber deutliche Reaktionen auf Albumosen. Zur weiteren Trennung wurde nun die Lösung mit Schwefelsäure angesäuert, mit Zinksulfat gesättigt und nach 12stündigem Stehen filtriert. Durch besondere Versuche habe ich festgestellt, daß das Histopepton weder durch Kupferacetat bei dem beschriebenen Verfahren noch durch Sättigung mit Zinksulfat ausgesalzen wird (wohl aber durch Ammonsulfat), es müßte also im Filtrat des Zinksulfatniederschlages erwartet werden. Ich habe sowohl den aussalzbaren, wie den nicht aussalzbaren Teil der durch Kupferacetat nicht fällbaren Reaktionsprodukte nach Entfernung des Zinks mit Phosphor-

<sup>1)</sup> cf. Folin, Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 152, 1898.



wolframsäure gefällt, den Niederschlag zerlegt und die baryt-freie Flüssigkeit auf Histopecton untersucht. Beide Teile ergaben starke Biuretreaktion, jedoch in neutraler Lösung keinen Niederschlag mit Natriumpikrat, enthielten also kein Histopecton.<sup>1)</sup>

Ganz ebenso verarbeitete ich nun normale menschliche Leber und ferner ein Alkoholpräparat amyloid degenerierter menschlicher Milz. Während ich in der normalen Leber deutlich eine kräftige Reaktion auf Histopecton nachweisen konnte, fand ich in der amyloid degenerierten Leber und Milz nur eine minimale Trübung durch Natriumpikrat. Die normale Milz liefert aber nach Krasnosselski<sup>2)</sup> ziemlich reichlich Histopecton.

Ich komme also zu dem Resultat, daß bei der amyloiden Degeneration die normalerweise in den Organen vorhandenen histonartigen Stoffe ganz oder größtenteils verschwinden.

### III. Über den Gehalt des «Amyloids» an Hexonbasen.

Wenn nun auch nach diesen Untersuchungen ein typisches Histon in den amyloid degenerierten Organen nicht vorhanden ist, so könnte doch die Annahme bestehen bleiben, daß im Amyloid ein histonähnlicher Stoff vorliegt, der sich durch den Mangel der Histopectongruppe von Histon unterscheidet. Die folgenden Untersuchungen sollten zur Prüfung dieser Annahme dienen.

Die Einlagerung einer histonähnlichen Substanz bei der Amyloidose müßte dazu führen, daß der relative Gehalt der bei der Spaltung entstehenden Hexonbasen gegenüber dem normalen vermehrt ist. Zwei Umstände könnten aber bei der Untersuchung des ganzen Organs die Vermehrung verdecken: erstens eine zu geringe Quantität des basenreichen Eiweißkörpers und zweitens die gleichzeitige Entstehung basenarmer oder basenfreier stickstoffhaltiger Stoffe (z. B. Chondroitinsäure). Die erstere Möglichkeit ist in den Organen mit weitgehender Amyloidose ausgeschlossen, der zweite konnte durch die Versuche mit frak-

---

<sup>1)</sup> Die quantitative Analyse dieser Fraktion ist weiter unten angeführt.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 322.

tionierter Fällung geprüft werden. Denn im Falle, daß ein Gemisch basenreicher und basenarmer Stoffe vorliegt, muß es möglich sein, eine Fraktion basenreicher Albumosen herauszufractionieren.

Ich habe für die folgenden Analysen die Fraktionen benutzt, welche ich nach dem oben beschriebenen Verfahren (cf. S. 480) gewonnen habe.

Ich untersuchte in dieser Weise Alkoholpräparate von normaler Leber, Amyloidleber und Amyloidmilz. Alle 3 Organe stammten von menschlichen Leichen.

Nachdem die durch Kupferacetat unter Zusatz von  $\frac{1}{2}$  Volumen Alkohol fällbaren Stoffe (hauptsächlich eiweißfreie Bestandteile z. B. Chondroitinsäure) entfernt waren, wurde das Kupfer aus dem Filtrat durch Schwefelwasserstoff entfernt und die Lösung zur Gewinnung der beiden oben beschriebenen Fraktionen benutzt, deren eine in saurer Lösung durch Sättigung mit Zinksulfat fällbar war, während die zweite nicht gefällt wurde.

Die Analysen wurden wie oben nach dem Verfahren von A. Kossel und F. Kutscher mit den später beschriebenen Modifikationen (cf. Weiss l. c.) ausgeführt. Das Arginin und Histidin wurden zum Teil aus dem Stickstoffgehalt ihrer Lösung nach Kjeldahl, zum Teil durch Wägung des reinen krystallisierten Pikrolonats nach Steudel bestimmt.

Die Ergebnisse in Prozenten des Gesamtstickstoffs ergeben sich aus beifolgender Tabelle:

---

<sup>1</sup> Die Untersuchungen von Holmes G. Jackson und Richard M. Pearce (The Journ. of Experm. medicine, Rockefeller Institute, Bd. IX, Nr. 5) an amyloider Pferdelebern können für meine Schlußfolgerungen nicht in Betracht kommen, da diese Autoren von anderen Gesichtspunkten ausgegangen sind. Jackson und Pearce haben die Methode von A. Kossel in unvollständiger Weise angewandt, da sie sich auf eine Stickstoffbestimmung im Silberniederschlag beschränkt und anscheinend auf eine Darstellung reiner Verbindungen der Basen ganz verzichtet haben. Es läßt sich hiernach nicht beurteilen, ob in dem <Arginin-Histidinniederschlag> überhaupt Arginin vorhanden war, resp. wie groß die Menge von Arginin, Histidin und Lysin war. Übrigens ist beim Lesen dieser Abhandlung zu berücksichtigen, daß die Autoren unter <hexonbases> auch die Purinderivate verstehen, im Gegensatz zu der von A. Kossel gegebenen Bezeichnung.

Tabelle II.  
Prozente des Gesamtstickstoffs.

	Normale Leber (Mensch)		Amyloidleber (Mensch)		Amyloidmilz (Mensch)	
	Aus- salz- barer Teil	Nicht aussalz- barer Teil	Aus- salz- barer Teil	Nicht aussalz- barer Teil	Aus- salz- barer Teil	Nicht aussalz- barer Teil
Histidin (Kjeldahlbest.)	3,38	4,13	4,65	3,23	6,57	4,63
Histidin als Pikrolonat ge- wogen . . . . .	2,70	4,14	4,15	3,20	6,57	4,42
Arginin( Kjeldahlbest.)	11,56	16,39	11,44	17,52	13,45	14,32
Arginin als Pikrolonat ge- wogen . . . . .	9,26	16,09	10,23	17,40	14,18	14,27
Lysin (Kjeldahlbest. im Phosphorwolframsäure- niederschlag) . . . . .	2,45	ver- loren	3,56	6,20	5,04	7,96
Lysin (als Pikrat gewogen)	1,73	ver- loren	2,1	3,78	2,98	6,59
«Huminsubstanz» . . . . .	13,14	24,97	14,89	14,46	11,24	14,66

Die folgende Tabelle gibt dieselben Resultate für die Amyloidmilz in Gewichtsprozenten der Trockensubstanz der untersuchten Organe ausgedrückt.

Tabelle III.  
Amyloidmilz (Mensch). Gewichtsprozente des trockenen Organs.

	Aussalzbarer Teil	Nicht aussalzbarer Teil
Histidin . . . . .	3,22	2,29
Arginin . . . . .	5,55	5,98
Lysin . . . . .	2,06	4,61

Hieraus ergibt sich, daß der Hexonbasengehalt der die «Amyloid»-Substanz der Leber bildenden Proteinstoffe der gleiche ist wie im normalen Organ. Die Übereinstimmung ist eine sehr auffallende. Auch die Proteinstoffe der Amyloidmilz weichen

nicht erheblich von diesen Zahlen ab. Jedenfalls ist kein Grund vorhanden, einen histonartigen oder basenreichen Charakter des Amyloidproteins anzunehmen. Der Histidingehalt ist ungefähr der gleiche wie im normalen Organ, beim aussalzbaren Teil der Amyloidmilzprodukte eher etwas erhöht.

Am Schlusse der vorliegenden Arbeit spreche ich Herrn Prof. A. Kossel für die Anregung zu diesen Untersuchungen sowie die entgegenkommendste Unterstützung den wärmsten Dank aus. Für freundliche Überlassung des Materials sage ich Herrn Geheimrat Arnold Exc. und Herrn Prof. Ernst in Heidelberg, sowie Herrn Prof. Chiari in Straßburg meinen verbindlichsten Dank.

---