

Zur Kenntnis der Koagulosen.

III. Mitteilung.

Von

D. Lawrow.

(Aus dem pharmakologischen Institute der Universität Jurjew.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. Juni 1908.)

A.

In meiner letzten Mitteilung über die Koagulosen¹⁾ kam ich zum Schlusse, daß man 1. zum mindesten 2 Haupttypen koaguloser Substanzen unterscheiden könne und zwar koagulose Substanzen vom Typus der Albumosen resp. bekannten Albumosen ähnlicher Produkte und koagulose Substanzen vom Typus der polypeptidartigen Verbindungen, und 2. daß man, entsprechend dem oben Gesagten, die Koagulosen in 2 Hauptgruppen, Koagulosen vom Typus der Albumosen und Koagulosen vom Typus der Polypeptide einteilen könne.

Als Ausgangsmaterial für meine damaligen Versuche diente das Pferdehämoglobin und das Kuhcasein.

Zur Darstellung der weiter unten beschriebenen Koagulate (Koagulosen) benutzte ich krystallisiertes Eialbumin, das nach dem Verfahren von Hopkins und Pincus²⁾ erhalten war. Die Krystalle wurden abgetrennt, sorgfältig zwischen Filtrierpapier abgepreßt, zweimal mit halbgesättigter und mit Essigsäure angesauerter Ammonsulfatlösung ausgewaschen, dann in heißem Wasser zur Gerinnung gebracht. Das auf diese Weise erhaltene Präparat wurde sorgfältig mit heißem Wasser ausgewaschen und (10. IX. 07) mit 15 l 0,5%iger Schwefelsäure + 1 l künstlichen Magensaftes (vorher verdaut und dialysiert,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 1—7.

²⁾ Journal of Physiol., Bd. XXV, S. 306.

gab er eine nur sehr schwache Biuretreaktion) der Verdauung überlassen. Nach 9 Tagen zeigte eine Filtratprobe vom Verdauungsgemisch sehr schwache Verdauungsfähigkeit (0,2 bis 0,5 mm nach Mett). Daher wurden zur Mischung noch 1 l künstlichen Magensaftes, der ebenfalls einer vorläufigen Verdauung und Dialyse unterworfen war und nach Mett ca. 8 mm in 24 Stunden verdaute, hinzugesetzt.

27. IX. 07. Das Verdauungsgemisch reagiert sehr schwach auf Kongopapier; es werden 50 ccm ($\delta = 1,84$) Schwefelsäure hinzugefügt.

4. X. 07. Noch 1 l künstlichen, vorher verdauten und dialysierten Magensaftes wird hinzugefügt. Verdauungsfähigkeit 6 mm nach Mett.

Die Verdauung ging bei 37—39° C., bei Gegenwart von Chloroform vor sich.

10. X. 07. Verdauung unterbrochen, wobei ein Teil des Albumins, ca. $\frac{1}{4}$, ungelöst blieb. Die ungelöste Masse wurde abgetrennt, nur das Filtrat, das mehr weniger stark mit Kongopapier reagierte, mit Phosphorwolframsäure behandelt. Letztere wurde in 10%iger Lösung so lange hinzugefügt, als ein flockiger Niederschlag auftrat. Es war das der Niederschlag I, der abgetrennt wurde.

Aus dem Filtrate von diesem Niederschlage wurde mit Baryumoxydhydrat die Schwefelsäure (nicht vollständig) entfernt und das Filtrat, das schwach sauer mit blauem Lackmuspapier reagierte, wurde bei ca. 40° C. auf 4,5 l eingeeengt, mit Schwefelsäure (bis 0,5%) angesäuert und von neuem mit Phosphorwolframsäure behandelt, wobei letzteres so lange hinzugefügt wurde, als bei mehr weniger langem Stehen ein flockiger Niederschlag ausfiel. Es war das der Niederschlag II.

Nachdem aus dem vom Niederschlag II gewonnenen Filtrate mit Ätzbaryt die Schwefelsäure (nicht vollständig) entfernt worden, wurde dasselbe, das schwach sauer mit Lackmus reagierte, bei ca. 40° C. auf 950 ccm eingeeengt, von neuem auf 0,5% mit genannter Säure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure solange versetzt, als beim Stehen ein flockiger Niederschlag ausfiel. Es war das der Niederschlag III.

Der Niederschlag verwandelte sich beim Stehen unter Wasser im Verlaufe von 48 Stunden in eine klebrige, körnige Masse.

Das Filtrat vom Niederschlage III gab bei weiterem vorsichtigem Zusatze von Phosphorwolframsäure einen feinen, flockigen und staubartigen Niederschlag — Niederschlag IV —, der nach einigen Stunden eine klebrige, teigige, kompakte Masse bildete.

Endlich wurde bei Hinzufügen von Phosphorwolframsäure zum Filtrate vom Niederschlage IV ein reicher, staubartiger Niederschlag V erhalten, der schnell sich ebenfalls in eine klebrige, teigartige Masse verwandelte.

Das Filtrat vom Niederschlage V wurde von Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure befreit, bei ca. 40° C. auf 300 ccm eingeengt, von neuem auf 0,5% mit Schwefelsäure angesäuert, mit Phosphorwolframsäure gefällt, die vorsichtig solange hinzugefügt wurde, als noch ein Niederschlag entstand — der Niederschlag VI. Er ist dem Niederschlage IV und V ähnlich.

Das Filtrat vom Niederschlag VI kam nicht zur Untersuchung.

Die oben angegebenen Niederschläge I—VI wurden sorgfältig mit 0,5%iger Schwefelsäure, die Phosphorwolframsäure enthielt, gewaschen, und zwar die ersten 2 auf dem Filter, die 4 letzten hingegen unter wiederholtem Verreiben mit der Waschflüssigkeit (0,5%ige Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure) im Mörser.

Die ausgewaschenen Niederschläge wurden mit Baryumoxydhydrat bei Zimmertemperatur zerlegt.

Es wurden so 6 Fraktionen von Verdauungsprodukten erhalten. Von ihnen war die erste, dem Gehalte an organischen Bestandteilen nach, die bedeutendste.

Fraktion I.

Die Lösung der Verdauungsprodukte dieser Fraktion wurde, schwach mit Schwefelsäure angesäuert, bei 40° C. auf 280 ccm eingeengt und mit gleichem Volumen 93%igen Äthylalkohols gemischt. Beim Stehen der Mischung bei Zimmertemperatur

im Verlaufe von 24 Stunden entstand ein geringer flockiger Niederschlag — die Unterfraktion A —, die abgetrennt wurde; sie kam nicht zur Untersuchung.

Zum Filtrate von dem Niederschlage A wurde Alkohol bis auf 75% hinzugefügt; das Gemisch wurde bei Zimmertemperatur 4 Tage unter häufigem Umschütteln gehalten. Hierbei bildete sich in relativ bedeutender Menge ein klebriger Niederschlag — die Unterfraktion B.

Zu der vom Niederschlage B abgegossenen Lösung wurde Äther bis zu 60% hinzugefügt; beim Stehen dieser neuen Mischung bei Zimmertemperatur im Laufe von 3 Tagen bildete sich unter häufigem Umschütteln in relativ geringer Menge ein klebriger Niederschlag — die Unterfraktion C.

Der von diesem Niederschlage erhaltene ätheralkoholische Extrakt wurde bei 40—45° C. vom Äther und Spiritus befreit — die Unterfraktion D.

Eine jede dieser Unterfraktionen wurde zweimal gereinigt, und zwar jedesmal nach vorheriger Eindampfung der Lösung bei 40° C. zur Sirupkonsistenz, durch die entsprechende Fällung mit Spiritus resp. mit Spiritus und Äther.

Unterfraktion B.

100 ccm der Lösung der Verdauungsprodukte der gegebenen Unterfraktion, von der Konsistenz eines dicklichen, vollkommen durchsichtigen Sirups, wurden nach Ansäuerung mit Schwefelsäure (schwachbraune Färbung mit Kongopapier) sorgfältig mit 2 ccm 5%iger Grüblerscher Pepsinlösung versetzt und in den Thermostaten bei 37—39° C. gestellt. Sowohl diese Digestion, wie ähnliche weiter unten anzuführende, wurden bei Gegenwart von Chloroform im Überschusse ausgeführt.

Nach einigen Stunden wurde die Mischung unbeweglich, gallertartig, blieb jedoch vollständig klar. Die Probe wurde im Thermostaten 48 Stunden gehalten, wobei sie eine leichte Opalescenz annahm; in Schichten von 4—5 cm Dicke war sie jedoch ziemlich durchsichtig.

Die auf diese Weise erhaltene gallertartige Masse wurde

sorgfältig im Mörser mit dem 4—5fachen Volumen kalten destillierten Wassers zerrieben; beim Stehen dieser Mischung fiel ein sehr voluminöser Niederschlag aus.

Nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abfiltriert und sorgfältig mit 400—500 ccm destillierten Wassers verrieben. Nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur, bei Gegenwart von Chloroform, wurde der Niederschlag wieder abfiltriert und noch dreimal mit kaltem, destilliertem Wasser in oben beschriebener Weise behandelt. Hierbei nahm der Niederschlag, indem er gallertartig wie vorher blieb, $1\frac{1}{2}$ —2mal an Umfang ab. Die Waschfiltrate gaben Biurettreaktion. Der Niederschlag löste sich offenbar in Wasser. Folgende Proben bestätigten diese Annahme.

Eine kleine Portion des Niederschlages, der viermal ausgewaschen und sorgfältig zwischen Filtrierpapier ausgepreßt war, wurde mit kaltem, destilliertem Wasser zur stark trüben Emulsion vermischt. Ein Teil des Gemisches wurde sofort einer erneuten Filtration unterzogen; das Filtrat war vollkommen farblos, klar und gab keine Spur von Biurettreaktion. Ein anderer Teil der Probe wurde nach 4 Stunden der erneuten Filtration unterzogen; das Filtrat gab eine schwache Reaktion. Schließlich wurde der Rest der Probe nach 16 Stunden filtriert (die Probe war mit Äther im Überschusse versehen und stand bei Zimmertemperatur im verschlossenen Glase); das Filtrat dieser Probe war vollständig klar, leicht gelblich gefärbt und gab eine ziemlich intensive Biurettreaktion.

Die gegebene Koagulose löste sich leicht in 0,25- bis 0,5%iger Salzsäure.

Zur Elementaranalyse wurde sie anfangs im Vakuumexsikkator über Calciumchlorid bei Zimmertemperatur getrocknet, dann im Trockenschranke bei 45—50° C., schließlich zum konstanten Gewicht bei 105° C.

Die elementare Zusammensetzung war folgende:

C	—	52,03%
H	—	7,38%
N	—	14,21%

Asche in Spuren.

0,3581 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 44,75 ccm Stickstoff bei $t. = 16,4^{\circ} \text{C.}$ und $B. = 743,5 \text{ mm.}$

0,3305 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit Kupferoxyd bei vorgelegter kupferner Reduktionsspirale 0,2175 g H_2O und 0,6294 g CO_2 .

Die zu untersuchende Koagulose wurde der Zerlegung mit 20%iger Schwefelsäure unterworfen und zwar wurden 1,6 g Substanz anfangs bei Gegenwart von Zinn mit 150 ccm 20%iger Schwefelsäure im Glaskolben, der durch einen mit langer Kapillarröhre versehenen Korken verschlossen war, ca. 6 Stunden auf kochendem Wasserbade erhitzt, worauf die Probe 30 Stunden auf dem Sandbade mit Rückflußkühler gekocht wurde, dessen oberes Ende mit langer Kapillarröhre versehen war. Die Lösung der Spaltungsprodukte wurde von Schwefelsäure und Zinn befreit und auf 150 ccm eingedampft: der Stickstoffgehalt derselben entsprach 0,218 g. Folgende vorläufige Proben zeigten, daß diese Lösung durch Phosphorwolframsäure leicht fällbare Spaltungsprodukte der Koagulose enthielt.

1. 5 ccm Lösung + 4 ccm 1%iger Schwefelsäure + Phosphorwolframsäure (solange als ein Niederschlag auftrat) + 1%iger Schwefelsäure bis zum Volumen von 10 ccm (= 10 ccm der Probe, die 0,0728% Stickstoff enthielt) gaben einen reichlichen, dichten, flockigen Niederschlag, der nach 24 Stunden 4,9 ccm einnahm.

2. 10 ccm der Probe, enthaltend 0,029% Stickstoff und 0,5% Schwefelsäure, gaben mit Phosphorwolframsäure 3,1 ccm eines dichten flockigen Niederschlages (in 24 Stunden).

3. 10 ccm der Probe, enthaltend 0,015% Stickstoff und 0,5% Schwefelsäure, gaben mit Phosphorwolframsäure 1,6 ccm (nach 24 Stunden) eines dichten flockigen Niederschlages.

90 ccm der Lösung der Spaltungsprodukte der in Rede stehenden Koagulose (= 0,1311 g N) wurden, nach Ansäuerung mit Schwefelsäure zu 0,5%, mit Phosphorwolframsäure gefällt: nach 24 Stunden wurde der Niederschlag abfiltriert und einige Male mit Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure enthaltendem destillierten Wasser ausgewaschen. Die Auswaschung des Niederschlages ging leicht vor sich. Der ausgewaschene Niederschlag wurde mit Baryumoxydhydrat zerlegt; die so erhaltene

Lösung enthält 0,036 g N = 28,13% des Gesamtstickstoffs der Koagulose.

Unterfraktion C.

Die Lösung der Verdauungsprodukte dieser Unterfraktion wurde, nach Ansäuerung mit Schwefelsäure zu sehr schwacher Reaktion mit Kongopapier (Braunfärbung), und nach Eindampfung zur dicken Sirupkonsistenz, sorgfältig mit 2 ccm einer 5%igen wässerigen Pepsinlösung (Grübler) versetzt und in den Thermostaten bei 37—39° C. gestellt.

Schon nach 5—10 Minuten begann die Mischung sich stark zu trüben; nach einigen Stunden stellte sie eine wenig bewegliche breiartige Masse dar. Nach 48 Stunden wurde der Inhalt der Probe sorgfältig mit dem 3—4fachen Volumen kalten destillierten Wassers verrieben; beim Stehen der Mischung schied sich schnell ein flockiger Niederschlag aus, der leicht abfiltriert werden konnte. Der Niederschlag wurde abgetrennt und 4 mal mit einer großen Menge Wasser gewaschen, wobei es sich erwies, daß er in Wasser nicht unlöslich war und zwar beim Digerieren mit Wasser bei Zimmertemperatur.

In 0,25—0,5%iger Salzsäure löste sich diese Koagulose ebenso leicht wie die vorhergehende.

Die Elementaranalyse der zum konstanten Gewicht bei 105° getrockneten Koagulose ergab folgendes:

C	—	53,30%
H	—	7,44%
N	—	14,43%
Asche in Spuren.		

0,3672 g Substanz gaben bei der Verbrennung mit Kupferoxyd 0,244 g H₂O und 0,7175 g CO₂.

0,3395 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 43,0 ccm N bei t. = 16,5° C. und B. = 744,2 mm.

Unterfraktion D.

Diese Unterfraktion wurde zur Darstellung der Koaproducte ganz ebenso behandelt wie die vorhergehende. Die erhaltene Koagulose stellte einen flockigen Niederschlag dar, löste sich sehr schwach (bei mehr weniger langem Digerieren) in destil-

liertem Wasser bei Zimmertemperatur und löste sich schwach in 0,5—1,0%iger Salzsäure.

Die Elementarzusammensetzung nach Trocknen zum konstanten Gewicht bei 105° C. war folgende:

C — 56,62%

H — 7,88%

N — 13,63%

Asche in Spuren.

0,2515 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,177 g H₂O und 0,5221 g CO₂.

0,253 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 30,2 ccm N bei t. = 16,1° C. und B. = 748,2 mm.

Diese Koagulose wurde mit 20%iger Schwefelsäure bei Gegenwart von Zinn zerlegt. Das Kochen dauerte ca. 32 Stunden. Das Resultat war eine Lösung, die 0,4205 g Stickstoff enthielt.

Die erhaltene Lösung reagierte mehr weniger stark mit Phosphorwolframsäure; so gab beispielsweise eine Probe von 10 ccm, die 0,034% Stickstoff enthielt, mit Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von 0,5% Schwefelsäure eine starke Trübung, die beim Stehen in einen ziemlich schweren flockigen Niederschlag überging, der nach 24stündigem Stehen 0,8—1,0 ccm einnahm. Bei der Fällung dieser Lösung (zur Fällung wurden 100 ccm der Lösung mit einem Gehalte von 0,1682% Stickstoff genommen) mit Phosphorwolframsäure bei Gegenwart 0,5%iger Schwefelsäure zeigte es sich, daß die Quantität der durch Phosphorwolframsäure mehr oder weniger leicht fällbaren Spaltungsprodukte der in Rede stehenden Koagulose 14,51%, dem Stickstoffgehalte nach, betrug.

Es muß bemerkt werden, daß 1. die Lösungen der oben beschriebenen Unterfraktionen die gewöhnlichen Fällungsreaktionen der Albumosen gaben, nämlich mit NaCl, NaCl + Essigsäure, Ammonsulfat usw.; 2. die obengenannten Koaproducte lösten sich sehr leicht sogar in sehr schwachen wässerigen Lösungen der Ätzalkalien, wobei ihre Lösungen eine mehr oder weniger (je nach der Konzentration der zu untersuchenden Lösung) intensive Biuretreaktion von rosaroter Farbe gaben, die bei Überschuß von Kupfersulfat in mehr weniger intensives Blau überging; 3. obengenannte Koaproducte zeigten sich relativ

sehr resistent in bezug auf die Wirkung der 20%igen Schwefelsäure, es ging nämlich die Auflösung derselben beim Kochen mit der genannten Säure von angegebener Konzentration sehr langsam vor sich, so daß die in Rede stehende Behandlung in 2 Phasen vorgenommen werden mußte: die Substanz wurde 16—20 Stunden gekocht, die erhaltene Lösung der Spaltungsprodukte wurde abgetrennt und der ungelöste Rest wiederum mit einer neuen Portion 20%iger Schwefelsäure 16—20 Stunden gekocht.

Fraktion II.

Die Koagulose dieser Fraktion war wenig löslich in destilliertem Wasser, mehr weniger leicht löslich in 0,5%iger Salzsäure; sie hatte das Aussehen eines flockigen leicht abfiltrierbaren und leicht auswaschbaren Niederschlages.

Diese Koagulose wurde nicht untersucht.

Fraktion III.

Die Lösung dieser Fraktion gab je nach der Konzentration eine mehr weniger intensive Biuretreaktion von rosaroter Farbe, die beim Überschusse von Kupfersulfat in Blau übergang. Der erst bei 40—50° C., dann bei 100—105° C. getrocknete Trockenrückstand enthielt 13,16% N und 0,81% Asche.

0,2862 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 32,5 ccm Stickstoff bei $t. = 16,2^{\circ} \text{C.}$ und $B. = 750,5 \text{ mm.}$

Aus dieser Fraktion wurden die Koagulosen mit Grübler'schem Pepsin bei Gegenwart unbedeutender Mengen freier Salzsäure gewonnen (die Lösung färbte Kongopapier bräunlich). Im frischen Zustande hatten die Koaprodukte ein feinflockiges Aussehen, ließen sich leicht abfiltrieren und auswaschen; sie lösten sich sehr wenig in destilliertem Wasser, wenig in 0,5—1,0%iger Salzsäure, bei Gegenwart freier Ätzalkalien jedoch gingen sie leicht in Lösung. Die Lösung der gegebenen Koagulose gab die Biuretreaktion mit rosaroter Farbe, die bei Überschuß von Kupfersulfat in blau übergang.

Bei 105° C. zum konstanten Gewicht getrocknet enthielt sie:

C	—	53,74%
H	—	7,84%
N	—	11,13%
Asche in Spuren.		

0,2845 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,1995 g H₂O und 0,559 g CO₂.

0,3265 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 31,1 ccm Stickstoff bei t. = 17,2° C. und B. = 768,3 mm.

Die Koagulose der Fraktion wurde mit 20%iger Schwefelsäure zerlegt, die Lösung ihrer Spaltungsprodukte enthielt augenscheinlich wenig Substanzen, die sich mehr weniger leicht durch Phosphorwolframsäure fällen ließen; so gab sie bei 0,028% Stickstoffgehalt mit Phosphorwolframsäure eine schwache Opalescenz resp. sehr schwache Trübung; nach 24 Stunden erhielt man in solchen Proben sehr unbedeutenden grobflockigen Niederschlag (ca. = 0,2 ccm).

Fraktion IV.

Für die Verdauungsprodukte dieser Fraktion erscheint vor allem der Umstand charakteristisch, daß ihre Lösungen eigenartige Niederschläge mit Phosphorwolframsäure bei Gegenwart 0,5—1,0%iger Schwefelsäure gaben, und zwar teigartige, klebrige, zähe, wenn nur die Fällung in nicht zu sehr verdünnten Lösungen vorgenommen wurde.

So wurden beispielsweise bei einem Gehalte von 0,121% Stickstoff in einer Lösung der in Rede stehenden Produkte mit Phosphorwolframsäure solche klebrige, schnell sich am Boden und teilweise auch an der Wandung des Gefäßes sich absetzende Niederschläge erhalten (wird Phosphorwolframsäure zu einer solchen Lösung, bei Gegenwart 0,5—1,0%iger Schwefelsäure, zugesetzt, so entsteht zuerst eine ausgesprochene Trübung, die besonders beim Umschütteln oder Mischen der Probe schnell in einen klebrigen, wenig voluminösen Niederschlag übergeht). In Lösungen jedoch, die 0,061% Stickstoff enthielten, konnten nur in geringen Mengen flockige Niederschläge, die sich langsam zu Boden senkten, erhalten werden. Allgemein gesagt, die Substanzen der gegebenen Fraktion werden von Phosphorwolframsäure (bei Gegenwart 0,5—1,0%iger Schwefelsäure) allem Anscheine nach schlecht gefällt; eine Lösung derselben, die 0,024% Stickstoff enthielt, gab mit Phosphorwolframsäure nur eine sehr schwache Opalescenz; nach 24 Stunden waren

in solchen Proben nur Spuren eines leichten flockigen Niederschlages vorhanden.

Es muß in Betracht gezogen werden, daß die in den Lösungen der gegebenen Fraktion durch Phosphorwolframsäure entstandenen Niederschläge in größerem oder geringerem Überschuß der genannten Säure sich lösten. Die Lösungen dieser Fraktion gaben Biuretreaktion mit rosaroter Farbe, die bei Überschuß von Kupfersulfat in blau überging. Lösungen, die 0,061% Stickstoff enthielten, gaben eine schwache Reaktion; bei einem Stickstoffgehalte von 0,02—0,03% erhielt man nur Spuren von Biuretreaktion.

Der Trockenrückstand dieser Fraktion, der keine Asche enthielt, ergab nach Trocknen zum konstanten Gewicht bei 95—100° C. einen Stickstoffgehalt von 12,68%. Bei weiterem Trocknen bei 105—108° C. begann er jedoch stark sich zu bräunen und aufzublähen, offenbar zersetzte er sich durch das Trocknen bei genannter Temperatur.

Nach solchem 48stündigen Trocknen gaben seine Lösungen schon eine schwache Biuretreaktion, eine viel schwächere, als die der Konzentration entsprechenden Lösungen.

Die Substanzen dieser Fraktion zerfallen leicht auch beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure; z. B. wurde eine Probe der Lösung dieser Fraktion, die eine intensive Biuretreaktion gab, mit 5%iger Schwefelsäure im Kolben mit Rückflußkühler ca. 4½ Stunden gekocht; danach gab sie eine kaum wahrnehmbare Biuretreaktion.

Ein Teil der Lösung der in Rede stehenden Fraktion, mit einem Stickstoffgehalte von 0,252 g, wurde mit 20%iger Schwefelsäure bei Gegenwart von Zinn in einem Kolben mit Rückflußkühler im Laufe von 24 Stunden gekocht. Aus der erhaltenen Lösung der Spaltungsprodukte wurden die Schwefelsäure und das Zinn entfernt; bei den Probefällungen mit Phosphorwolframsäure in 0,5—1,0%iger Schwefelsäure zeigte es sich, daß die Lösung wenig Substanzen enthielt, die durch das genannte Reagens sich fällen ließen. Proben dieser Lösung, die 0,12% Stickstoff enthielten und die zu je 10 ccm genommen waren, gaben mit Phosphorwolframsäure, die vorsichtig so lange hinzu-

gefügt wurde, als nach mehr weniger langem Stehen eine Trübung sich zeigte, einen flockigen Niederschlag, der nach 24 Stunden 0,1—0,2 ccm einnahm (NB. 10 ccm der Lösung der Spaltungsprodukte der Koagulosen der Unterfraktion B, die 0,121% Stickstoff enthielten, gaben mit Phosphorwolframsäure einen mehr weniger dichten, flockigen Niederschlag, der, dem Volumen nach, 6,9 ccm nach 24 Stunden entsprach).

In dieser Lösung wurde der Stickstoffgehalt der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Spaltungsprodukte bestimmt. Zu diesem Zwecke wurde zu der 0,125% Stickstoff und 0,5% Schwefelsäure enthaltenden Lösung vorsichtig Phosphorwolframsäure solange hinzugefügt, als nach mehr weniger langem Stehen ein Niederschlag resp. Trübung auftrat, worauf die Probe bei Zimmertemperatur ca. 24 Stunden stand. Darauf wurde sie noch einmal auf Vollständigkeit der Fällung untersucht, der Niederschlag abfiltriert und dreimal mit 0,1% Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure enthaltendem Wasser gewaschen. Zu jeder Auswaschung wurden ca. 60 ccm Waschflüssigkeit genommen; die Waschfiltrate reagierten mit Phosphorwolframsäure nicht. Der ausgewaschene Niederschlag wurde mit Baryumoxydhydrat bei Zimmertemperatur zerlegt; in der von dieser Spaltung erhaltenen Lösung wurden 0,0034 g Stickstoff = 2,7% des Gesamtstickstoffs der Probe nachgewiesen.

Die mit Schwefelsäure zur schwachen Braunfärbung mit Kongopapier angesäuerte und zur Sirupkonsistenz eingeeengte Lösung der in Rede stehenden Fraktion reagierte deutlich mit Grübler'scher Pepsinlösung, indem sie einen reichlichen Koagulosen-Niederschlag gab. Auf Koaproducte wurde die gegebene Fraktion nicht untersucht.

Fraktion V.

Die Substanzen dieser Fraktion waren vollständig den der vorhergehenden ähnlich, sowohl hinsichtlich ihrer relativ leichten Zersetzbarkeit beim Trocknen bei 105—108° C., wie auch beim Kochen mit 5%iger Schwefelsäure und auch in bezug auf das Verhalten zur fällenden Wirkung der Phosphorwolframsäure. Der Trockenrückstand dieser Fraktion enthielt nach Trocknen bei 95—100° C. 12,39% Stickstoff und Spuren von Asche.

0,244 g Substanz gaben beim Verbrennen nach Dumas 26,5 ccm Stickstoff bei $t. = 15.1^{\circ} \text{ C.}$ und $B. = 741,0 \text{ mm.}$

Die aus der Lösung der Fraktion V erhaltene Koagulose löste sich sehr schwer in kaltem destillierten Wasser, schlecht in 0,5—1,0%iger Schwefelsäure. Ihre Lösungen (sie lösten sich sehr leicht bei Gegenwart von Ätzalkalien) gaben die Biuretreaktion mit rosaroter Farbe.

Bei 105° C. zum konstanten Gewicht getrocknet, enthielt sie:

C	—	54,21%
H	—	7,86%
N	—	11,21%

Asche in Spuren.

0,2332 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,1637 g H_2O und 0,4631 g CO_2 .

0,234 g Substanz gaben 23,75 ccm N bei $t. = 17^{\circ} \text{ C.}$ und $B. = 727,5 \text{ mm.}$

Die Koagulose wurde mit 20%iger Schwefelsäure in oben beschriebener Weise zerlegt; die Lösung ihrer Spaltungsprodukte reagierte sehr schwach mit Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von 0,5—1,0%iger Schwefelsäure. So gaben 10 ccm einer Probe dieser Lösung mit einem Gehalte von 0,0392% Stickstoff und 0,5% Schwefelsäure, mit Phosphorwolframsäure 24 Stunden 0,1—0,2 ccm eines sehr leichten flockigen Niederschlages. (NB. 10 ccm einer Probe der Spaltungsprodukte der Koagulose der Unterfraktion B, enthaltend 0,029% Stickstoff und 0,5% Schwefelsäure, gaben mit Phosphorwolframsäure 3,1 ccm eines feinflockigen dichten Niederschlages; das Volumen wurde nach 24 Stunden abgelesen). Oder, 10 ccm einer Probe dieser Lösung, enthaltend 0,1563% Stickstoff, gaben bei der in Rede stehenden Fällung nur 0,3—0,4 ccm eines sehr leichten, lockeren, großflockigen Niederschlages usw. Allem Anscheine nach enthielt die Koagulose dieser Fraktion eine sehr unbedeutende Menge, resp. Spuren von Spaltungsprodukten, die mehr weniger leicht durch Phosphorwolframsäure gefällt wurden.

Fraktion VI.

Die Substanzen dieser Fraktion waren den der Fraktion V hinsichtlich ihrer relativ leichten Zerlegbarkeit, wie auch in bezug auf ihre Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure ähnlich.

Der Trockenrückstand dieser Fraktion bei 95—100° C. getrocknet, enthielt 12,24% Stickstoff.

0,2785 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 30,1 ccm N bei 16,2° C. und B. = 758,1 mm.

Die Koagulose dieser Fraktion löste sich sehr schlecht in kaltem destillierten Wasser, schlecht in 0,5—1,0%iger Salzsäure.

Bei 105° getrocknet enthielt sie:

C — 54,74%

H — 8,02%

N — 12,22%

Asche in Spuren.

0,2179 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,1563 g H₂O und 0,4375 g CO₂.

0,1533 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 16,3 ccm N bei t. = 15,7° C. und B. = 750,5 mm.

2 g dieser Koagulose wurden mit 20%iger Schwefelsäure zerlegt; ähnlich den vorhergehenden Koagulosen erwies sich auch diese relativ sehr resistent der Wirkung der genannten Säure gegenüber. Die Lösung der Spaltungsprodukte enthielt sehr wenig durch Phosphorwolframsäure + 0,5—1,0%ige Schwefelsäure mehr weniger fällbare Substanzen. Bei einem Stickstoffgehalte von 0,02% gab die Lösung mit Phosphorwolframsäure nur Spuren von Opalescenz; bei einem Gehalte von 0,04% erhielt man mit der genannten Säure unter vorsichtiger Hinzufügung derselben nur eine schwache Opalescenz, die nach 24 Stunden Spuren eines leichten dickflockigen Niederschlages gab. Bei 0,08%igem Stickstoffgehalte erhielt man mit Phosphorwolframsäure schon eine schwache Trübung; nach 24 Stunden fand sich in solchen Proben ein grobflockiger leichter Niederschlag, der 0,3—0,4 ccm einnahm usw.

100 ccm der Lösung der Spaltungsprodukte der in Rede stehenden Fraktion, enthaltend 0,117% Stickstoff, wurden mit Phosphorwolframsäure gefällt; der Niederschlag, ausgewaschen und von Phosphorwolframsäure befreit, enthielt 0,0021 g Stickstoff = 1,8% des Gesamtstickstoffs der Spaltungsprodukte der Koagulose.

Es ist zu bemerken, daß die Lösungen der Fraktionen III—VI noch folgende allgemeine Eigenschaften besaßen:

1. sie krystallisierten nicht; zur Konsistenz eines dicken Sirups eingengt, zeigten sie nicht eine Spur von Krystallisation im Verlaufe von 3—4 Wochen;

2. sie lösten relativ bedeutende Mengen von Kupferoxydhydrat; auch diese Kupferoxydlösungen krystallisieren sich nicht;

3. sie besaßen die Fähigkeit, relativ mehr weniger bedeutende Mengen von Mineralsäuren zu binden (Salz- und Schwefelsäure).

B.

Wie die oben angeführten Tatsachen zeigen, erhielt man bei der angegebenen mehr weniger lange fortgesetzten künstlichen peptischen Verdauung Produkte von mindestens 2 Haupttypen: erstens, Verdauungsprodukte vom Typus der Albumosen, — Substanzen, die in die Fraktion I hineingehören, und zweitens Verdauungsprodukte anscheinend vom Typus der Polypeptide —, Substanzen der Fraktionen IV—VI.

Die Koaproducte, erhalten aus Verdauungsprodukten der Unterfraktionen B, C und D, stellen zum mindesten 2 Gruppen von Koaproducten dar, einerseits Koagulosen der Unterfraktion B und andererseits Koagulosen der Unterfraktion D. Untereinander differieren diese zwei Koagulosen durch ihr Aussehen (in frischem Zustande), ihre Löslichkeit in destilliertem Wasser und 0,5%iger Salzsäure, ihre Elementarzusammensetzung (unzweifelhaft ist die Koagulose der Unterfraktion D reicher an Kohlenstoff als die Koagulose der Unterfraktion B und die anderen obengenannten Koagulosen) und endlich durch den quantitativen Gehalt an solchen Spaltungsprodukten, die mehr weniger leicht durch Phosphorwolframsäure fällbar sind.

Für die in den Bestand der Fraktionen IV—VI gehörenden Verdauungsprodukte erscheinen folgende Punkte charakteristisch:

1. relativ niedriger Stickstoffgehalt (12,24—12,68%);

2. relativ leichte Zerlegbarkeit;

3. die Fähigkeit, freie Mineralsäuren zu binden und Kupferoxydhydrat zu lösen;

4. das eigenartige Aussehen ihrer Niederschläge mit Phosphorwolframsäure in nicht zu verdünnten Lösungen, wobei sie (wenigstens hinsichtlich der Verdauungsprodukte der Fraktion I) verhältnismäßig schlecht durch das genannte Reaktiv gefällt werden;

5. ihre (resp. ihrer Gemische) leichte Löslichkeit in Wasser;

6. der unbedeutende Gehalt an solchen Spaltungsprodukten, die mehr weniger leicht durch Phosphorwolframsäure gefällt werden;

7. ihre (resp. ihrer Gemische) Unfähigkeit resp. sehr geringe Fähigkeit zu krystallisieren;

8. ihre Fähigkeit, unter Einfluß von Pepsin und Lab Koagulate zu liefern.

Ich kann nicht umhin, hier zu bemerken, daß die Frage nach der chemischen Individualität der oben untersuchten Koagulate (wie auch anderer ähnlicher von verschiedenen Autoren beschriebenen) vollständig offen ist.

Es gelang also auch in dieser Untersuchung Koagulose zu erhalten von 2 Haupttypen und zwar vom Typus der Albumose und vom Typus der Polypeptide. Die Koagulose vom ersterwähnten Typus kann man der Kürze wegen Koalbumose nennen; die vom zweiten Typus Koapeptide.

C.

Das Ausgangsmaterial für die weiter unten zu beschreibenden Versuche bildete das krystallisierte Eieralbumin, das, wie oben beschrieben, nach dem Verfahren von Hopkins-Pincus dargestellt und in heißem Wasser zur Gerinnung gebracht wurde. Die Verdauung ging im Laufe von 24 Stunden vor sich und zwar folgenderweise: 650 g feuchten, kräftig ausgepreßten, geronnenen und ausgewaschenen Albumins wurden sorgfältig mit 10 l künstlichen vorher auf 40° C. erwärmten Magensafts gemischt. (NB. Der erwähnte Magensaft wurde durch 24stündige Selbstverdauung von 10 g Pepsini Grüberli in 500 ccm 0,3%iger Schwefelsäure, Dialysieren der verdauten

Lösung und Verdünnen derselben mit 0,5%iger Schwefelsäure zu 10 l gewonnen; die so erhaltene Lösung (10 l) verdaute schwach und zwar 1,5—2,0 mm nach Mett in 24 Stunden.) Unter häufigem Umrühren der Mischung, die Chloroform im Überschuß enthielt, wurde die Digestion 24 Stunden fortgesetzt, wonach das nicht aufgelöste Albumin abfiltriert, mit Wasser ausgewaschen und von neuem mit einer neuen Portion künstlichen Magensaftes von 10 l, der ebenso wie der vorhergehende bereitet war, der 24-stündigen Verdauung überlassen. (NB. Dieser Magensaft verdaute nach Mett ca. 2 mm in 24 Stunden.)

Nach der zweiten Verdauung restierte eine verhältnismäßig nicht geringe Menge ungelösten Albumins, ungefähr $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ der zum Versuche genommenen Menge. Die Filtrate wurden vereinigt und mit Baryumoxydhydrat, zur schwach-sauren Reaktion mit Lackmuspapier, neutralisiert, wobei auch ein eiweißartiger flockiger Niederschlag ausfiel. Das Filtrat vom Niederschlage (= ca. 25 l) wurde in Portionen zu 1,5 bis 2 l auf dem Wasserbade zu 85° C. erwärmt, bei welcher Temperatur die Proben 25—30 Minuten gehalten und dann schnell abgekühlt wurden. Die abgetöteten Proben wurden vereinigt und die erhaltene Lösung auf Verdauungsfähigkeit nach Mett, bei Gegenwart von 0,5%iger Salzsäure, untersucht; die Röhrchen wurden bei 37—39° C. 7 Tage lang gehalten, ohne daß Spuren von Auflösung der Eiweißzylinderchen nachzuweisen waren. Nach dieser Untersuchung wurde die Lösung der Verdauungsprodukte bei 40—45° C. unter Chloroformüberschuß zur dünnen Sirupkonsistenz eingedampft und der fraktionierten Fällung mit Spiritus und Äther bei Zimmertemperatur unterworfen. Das Ergebnis waren 5 Niederschläge (Niederschlag nach Zusetzen von Spiritus bis 45%, 60%, 75%, 90%, unter Hinzufügung von Äther bis 60%), und Ätheralkohol-extrakt. Jeder Niederschlag wurde einmal, durch Lösen in Wasser und entsprechende Fällung seiner eingedampften Lösung mit Spiritus resp. Spiritus + Äther, gereinigt. Die Ätheralkohol-auszüge wurden bei 40—45° C. von Äther und Spiritus, unter Hinzufügen von Wasser, befreit; die wässrige Lösung wurde

eingedampft und von neuem in entsprechender Weise mit Spiritus und Äther gefällt.

Die 4.—6. Fraktion waren von relativ geringer Menge.

Fraktion I.

Die vorläufigen Untersuchungen der Lösung dieser Fraktion mit einer Pepsinlösung (vorher verdaut, dialysiert und eingengt zum ursprünglichen Volumen) zeigten, daß schon bei relativ schwach saurer Reaktion (Lackmuspapier) in den Proben ein ziemlich energischer koagulosebildender Prozeß vor sich ging. In Anbetracht dessen wurde der Hauptteil der Fraktion, die relativ schwach sauer mit Lackmuspapier reagierte, zur Darstellung von Koagulosen ohne weitere Ansäuerung benutzt. Nach 12stündigem Stehen im Thermostaten bei 37—39° C., unter Zusatz von Chloroform im Überschusse, hatte der Inhalt der Probe das Aussehen einer vollkommen unbeweglichen gallertartigen, etwas trüben Masse. Nach 48 Stunden wurde die Masse sehr sorgfältig mit dem 5—6fachen Volumen kalten destillierten Wassers verrieben; beim Stehen dieser Mischung begann ein sehr reichlicher, gallertartiger Niederschlag auszufallen.

Der Niederschlag wurde abfiltriert und viermal mit einer relativ großen Menge kalten destillierten Wassers ausgewaschen: bei den Auswaschungen wurde er von den gehärteten Filtern abgenommen, sorgfältig im Porzellanmörser mit Wasser zerrieben, einige Stunden so mit Wasser stehen gelassen und darauf abfiltriert. Nach den Auswaschungen nahm das Volumen der Koagulosen um das 2—3fache ab, während die Waschfiltrate eine schwache Biuretreaktion gaben. Speziell angestellte Proben zeigten, daß die in Rede stehende Koagulose sich zum Teil in kaltem destillierten Wasser nur langsam löste, beim Digerieren im Verlaufe von mindestens 6—24 Stunden (vgl. die entsprechende Untersuchung der Koagulose der Unterfraktion B). In 0,25—0,5%iger Salzsäure löste sie sich sehr leicht und vollständig. Ihre Lösungen gaben die Biuretreaktion mit rosaroter Farbe mehr weniger intensiv, je nach der Konzentration der zu untersuchenden Lösung.

Bei 105° C. getrocknet nahm die Koagulose stark an Volumen ab.

Bei genannter Temperatur getrocknet enthielt sie 13,01% Stickstoff und Spuren von Asche.

0,3956 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 46,2 ccm N. bei $t. = 27,8^{\circ} \text{C.}$ und $B. = 756,5 \text{ mm.}$

Des weiteren, und zwar betreffs der Bildung einer Koagulose bei anderen Reaktionen, wurde die Lösung der gegebenen Fraktion nicht untersucht.

Fraktion II.

Die Lösung dieser Fraktion reagierte ebenfalls ziemlich intensiv auf die koagulosebildende Wirkung des Grüblerschen Pepsins bei relativ schwach saurer Reaktion (nach Lackmus); sie wurde ganz ebenso, wie es mit der Fraktion I geschah, zur Darstellung der Koaproducte benutzt. Die bei genannter Reaktion erhaltene Koagulose glich, dem Aussehen, der Löslichkeit in Wasser und 0,25—0,5%iger Salzsäure usw. nach, der vorhergehenden. Zum konstanten Gewicht bei 105°C. getrocknet enthielt sie 12,84% N und 0,38% Asche.

0,3101 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 34,5 ccm N bei $t. = 16^{\circ} \text{C.}$ und $B. = 756,2 \text{ mm.}$

Fraktion III.

Aus dieser Fraktion wurden Koagulosen auch bei relativ schwach saurer Reaktion (nach Lackmus) dargestellt. Sie hatte das Aussehen eines flockigen Niederschlages, der sich leicht abfiltrieren, leicht auswaschen und leicht in 0,25—0,5%iger Salzsäure lösen ließ.

Bei 105°C. getrocknet enthielt sie 13,32% Stickstoff und Spuren von Asche.

0,3251 g Substanz gaben bei der Verbrennung nach Dumas 38,0 ccm Stickstoff bei $t. = 18,1^{\circ} \text{C.}$ und $B. = 753,5 \text{ mm.}$

Die Fraktion IV diente nicht zur Darstellung von Koagulosen.

Fraktion V.

Zur Darstellung von Koaproducten wurde diese Fraktion ebenfalls bei schwach saurer Reaktion verarbeitet. Diese Producte stellten einen feinflockigen Niederschlag dar, welcher in kaltem destillierten Wasser nicht unlöslich und in 0,5%iger

Salzsäure löslich war, jedoch bedeutend weniger als die oben beschriebenen Koaproducte der Fraktion I—III.

Bei 105° C. getrocknet enthielt sie 14,04% Stickstoff und Spuren von Asche.

0,2185 g Substanz gaben beim Verbrennen nach Dumas 26,4 ccm Stickstoff bei t. = 17,8° C. und B. = 764,5 mm.

Fraktion VI.

Die eingeeengte Lösung dieser Fraktion reagierte bei schwach sauren Reaktionen (nach Lackmus) auf die koagulosebildende Wirkung des Grüblerschen Pepsins schwach; in Betracht dessen mußte zur Darstellung der Koaproducte die Lösung mit Salzsäure bis zum Auftreten einer Spur von Reaktion mit Kongopapier angesäuert werden.

Die erhaltenen Koaproducte hatten das Aussehen eines feinflockigen Niederschlages, der leicht abzufiltrieren und auszuwaschen war. Nach ihrer Löslichkeit in H₂O und 0,5% iger Salzsäure ähnelten sie den Koaproducten der Fraktion V.

Ihr Stickstoffgehalt betrug 12,89%.

0,234 g Substanz gaben 27,1 ccm N bei t. = 17,2° C. und B. = 745,4 mm.

Aus dem oben angeführten Versuche geht hervor, daß sogar bei relativ kurzdauernder künstlicher peptischer Verdauung von geronnenem Eieralbumin (wahrscheinlich auch anderer Eiweißsubstanzen) solche Verdauungsproducte entstehen, die Koagulosen mit verhältnismäßig niedrigen Stickstoffgehalte ergeben; hierbei war zur Darstellung ähnlicher Koagulosen aus Fraktionen I - V der Producte solcher Verdauung eine relativ schwach saure (nach Lackmus) Reaktion der Lösung erforderlich, die der koagulosebildenden Wirkung des Pepsins resp. Labs unterworfen wurde.

Offenbar werden ähnliche koagulogene Producte (die relativ wenig Stickstoff enthalten) leicht aus ihren Lösungen mit Albumosen resp. albumoseartigen Verdauungsproducte, die beim einfachen fraktionierten Ausfällen von Lösungen der Verdauungsproducte sich ausscheiden, mitgerissen.

Selbstverständlich ist die Frage nach der chemischen Individualität der Koagulosen, die bei der in Rede stehenden kurzdauernden Verdauung erhalten werden, vollkommen offen.