

Über den Anteil der Benzolderivate und des Benzolkohlenstoffs am Eiweißmolekül.

Von
E. und H. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin und dem Chemischen Institut in Münster i. W.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. April 1919.)¹⁾

In einem im Jahre 1882, also vor jetzt 37 Jahren erschienenen Buche des einen von uns (E. S.) „Die Lehre vom Harn“ konnte bereits die vielleicht auch schon damals von manchen Seiten geteilte, wenn auch nicht veröffentlichte Ansicht ausgesprochen werden, daß das Eiweißmolekül 3 Gruppen von aromatischen Verbindungen enthalte, nämlich solche der Phenolgruppe, der Phenylgruppe und der Indolgruppe²⁾. Dies ist noch heute gültig. Auch damals war es nicht zweifelhaft, daß das Tyrosin die Phenolgruppe einschließe, und als Vermutung konnte ausgesprochen werden, daß die Phenylgruppe die Form der Phenylamidopropionsäure habe, neu hinzugekommen ist die Bestätigung dieser Vermutung sowie die Auffindung der Skatolkarbonsäure³⁾, die später von Ellinger⁴⁾ als Indolessigsäure erkannt wurde.

Die quantitativen Verhältnisse waren damals noch nicht zu übersehen und es liegen unseres Wissens auch keine Erörter-

¹⁾ Durch verzögerte Postbestellung der zurückgesendeten Korrektur verspätet.

²⁾ Es ist daher auch nicht richtig, wenn Nencki einem Referat in Malys Jahresbericht f. 1889, Bd. 19 S. 512 zufolge in den Monatsheften für Chemie Bd. 10 S. 506—524 (1889) gesagt hat, daß man bisher (Schulze, Salkowski) nur 2 aromatische Gruppen im Eiweißmolekül angenommen habe.

³⁾ E. u. H. Salkowski, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. 13, S. 2217.

⁴⁾ Ellinger, Daselbst Bd. 37, S. 1801 (1904).

runge darüber in der Literatur vor. Bei Durchsicht alter Protokolle haben wir nun manche nach dieser Richtung verwertbare Angaben gefunden, die uns, unter Heranziehung einiger bereits veröffentlichter Versuche bezüglich der Phenylgruppe, mitteilenswert erschienen.

I. Indol.

Es sind 5 Versuche mit Blutfibrin angestellt worden:

Nr.	2	Kilo feucht mit	19 %	Trockensubstanz =	380 g	Dauer der Fäulnis	8 Tage
2.	2	"	18,3%	"	= 366	"	12 "
3.	2,25	"	21,1%	"	= 474	"	10 "
4.	1,94	"	23,6%	"	= 457,8	"	7 "
5.	2	"	25,8%	"	= 516	"	8 "
<u>10,19 Kilo feucht</u>					<u>2,1938 Kilo Trocken-</u>	<u>substanz.</u>	

Die Quantität des in Form von Fibrin der Fäulnis unterworfenen Eiweißes betrug also 2194 g trocken, wenn man von den kleinen Mengen von Salzen im Fibrin absieht. Die Quantität des nicht Zersetzten wurde durch Fällung der ohne vorherige Filtration eingedampften Fäulnismischung mit Alkohol (nachdem sie vorher destilliert war) bestimmt. Der nicht gelöste Rückstand betrug lufttrocken 405 g mit 18,5% Wasser, also 330 g trocken. Mithin sind 1864 g Trockeneiweiß durch Fäulnis zersetzt. Die Rechnung ist natürlich nur annähernd, da das bei der Fäulnis entstandene und der Zersetzung entgangene Pepton durch Alkohol nicht vollständig gefällt wird. Die einzelnen Fäulnismischungen wurden getrennt verarbeitet¹⁾, die Produkte in einem geeigneten Stadium vereinigt.

Was das Indol betrifft, so wurden die in Frage kommenden Ätherauszüge schließlich in einem Bechergläschen vereinigt, auf dem Wasserbad eingedampft, dann so lange im Exsikkator aufbewahrt, bis die Gewichtsabnahme nur noch sehr gering war.

¹⁾ Bezüglich der Methoden zur Isolierung des Indols sowie der anderen Fäulnisprodukte verweisen wir auf unsere früheren Arbeiten, namentlich in Bd. 8, S. 417 u. Bd. 9, S. 8 u. 491 dieser Zeitschrift.

Über die Gewichtsabnahme gibt die folgende kleine Tabelle Auskunft. Das Gläschen wog leer 47,411 g.

		Gewichtsabnahme	
		im ganzen	täglich
1. Wägung nach	4 Tagen	70,205 g	
2. " "	5 " "	70,1705 "	0,0345 g
3. " "	11 " "	69,985 "	0,1855 "
4. " "	18 " "	69,850 "	0,135 "
5. " "	28 " "	69,762 "	0,088 "

Bei der Flüchtigkeit des Indols wird man natürlich immer mit einer gewissen Gewichtsabnahme zu rechnen haben, Gewichtskonstanz nicht erwarten können. Legt man die letzte Wägung zu Grunde, so sind im ganzen 22,351 g Indol erhalten worden. Nach unseren früheren Versuchen¹⁾ enthielt sorgfältig im Exsikkator getrocknetes Indol 98,33–99,13–98,14–98,25% reines Indol, durch Fällung mit Pikrinsäure bestimmt, eine Umrechnung auf reines Indol erschien uns danach überflüssig. Allerdings ist dem Fäulnis-Indol noch eine kleine Quantität Skatol beigemischt, diese Beimischung ist aber so unbedeutend, daß sie vernachlässigt werden kann. Außer freiem Indol wurden noch 1,8 g Indolessigsäure²⁾ gefunden, entsprechend 1,203 g Indol; im ganzen betrug die Quantität des Indols also 23,554 g = 1,26%.

II. Phenol.

Auch das „Phenol“ wurde als solches gewogen, nachdem es so lange im Exsikkator gestanden hatte, bis der Gewichtsverlust annähernd konstant geworden war. Das Gläschen wog leer 43,8674 g.

		Gewichtsabnahme	
		im ganzen	pro Tag
Gewicht nach	8 Tagen	63,257 g	
" "	19 " "	62,980 "	0,277 g
" "	26 " "	62,860 "	0,120 "
" "	36 " "	62,732 "	0,128 "

Daraus ergeben sich 18,865 g Phenol.

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 8, S. 446.

²⁾ Diese stammt eigentlich nur aus 4 Versuchen, da Versuch Nr. 4 keine Indolessigsäure, sondern Indolpropionsäure lieferte, deren Menge leider nicht bestimmt ist. Die angegebene Zahl stellt also einen Minimalwert dar.

Nun kommt in Betracht, daß das „Fäulnisphenol“ zum Teil Kresol ist. Nimmt man an, daß es zu gleichen Teilen aus Phenol und Kresol besteht, so ergibt die Umrechnung 17,557 g Phenol.

Weit größer erwies sich die Quantität der Oxysäuren. Es wurden 69,6 g rohe, durch Skatolrot stark rot gefärbte Oxysäuren erhalten. Dieselben enthielten wohl noch etwas Indolessigsäure, waren aber sicher frei von flüchtigen Säuren. Da sie nicht vollständig getrocknet werden konnten, wurde die Quantität durch Titrieren mit Halbnormallauge festgestellt. 2 g in Wasser gelöst, erforderten 21,5 ccm, also die ganze Quantität 374,0 n-Lauge. Rechnet man die Säure als ein Gemisch gleicher Teile Oxyphenylelessigsäure (Mol.-Gew. 152) und Oxyphenylpropionsäure (Mol.-Gew. 166), so entspricht diese Alkaliquantität 59,47 g Säure und darin 35,165 g Phenol. Dabei ist allerdings auf die in dem Säuregemisch vorhandene kleine Quantität Bernsteinsäure nicht Rücksicht genommen.

Danach haben 1864 g Fibrin geliefert:

Phenol als solches	17,557 g
„ in Form von Oxysäure	35,165 „
	zusammen 52,722 g = 2,85%.

Diese Quantität ist wesentlich höher als die aus der Ausbeute von Tyrosin bei der Trypsinverdauung abgeleitete. Das kann nicht wundernehmen, da man das Tyrosin, wenn es auch sehr schwer löslich ist, bei der gleichzeitigen Gegenwart von Leucin und Pepton, die seine Löslichkeit erhöhen, nicht vollständig gewinnen kann. Reach¹⁾ erhielt aus Fibrin 3,82% Tyrosin, entsprechend 1,98% Phenol, aus Casein allerdings mehr, nämlich 4,5%, entsprechend 2,34% Phenol.

III. Phenyl.

Für die Bestimmung der Quantität des Phenyls stehen uns keine neuen Versuche zur Verfügung. Am besten zu werten sind hierfür wohl Fütterungsversuche, die der eine

¹⁾ Reach, Virchows Archiv Bd. 158, S. 288 (1898).

von uns (E. S.) angestellt und bereits veröffentlicht hat¹⁾. Das Prinzip derselben war folgendes. Die Säuren wurden verfüttert; wenn man nicht zuviel eingab, war darauf zu rechnen, daß sie vollständig in die entsprechende Glykokollverbindung übergehen und als solche im Harn ausgeschieden werden würden. Es wurde folgendermaßen verfahren: Das durch Abdestillieren des Ätherauszuges der flüchtigen Fäulnissäuren erhaltene Gemisch aliphatischer Säuren und Benzoësäure-Homologen wurde der fraktionierten Destillation unterworfen, diese bei 200° unterbrochen, der im Fraktionierkölbchen gebliebene Rückstand mit Natronlauge schwach alkalisiert, die Lösung zur Entfernung etwa noch anhängender flüchtiger, nicht saurer Produkte auf dem Wasserbad zur Trockne gedampft, dann wieder in Wasser gelöst, die Lösung mit Salzsäure genau neutralisiert, mit Natriumkarbonat schwach alkalisiert und ein angemessener Teil Kaninchen mit der Schlundsonde in den Magen gebracht. Der Harn wurde quantitativ gesammelt, die N-haltigen Säuren desselben in Äther übergeführt und der N-Gehalt des Ätherauszuges bestimmt, der größtenteils in Form von Hippursäure, zum kleinen Teil als Phenacetursäure vorhanden ist, entsprechend dem im Organismus zu Benzoësäure oxydierten Hydrozimmtsäuregehalt bzw. Phenyllessigsäuregehalt der Fäulnissäuren. Aus dem N-Gehalt wurde die Hydrozimmtsäure berechnet²⁾. Nach der Tabelle auf Seite 505 l. c. berechnet sich im Mittel die Hydrozimmtsäure zu 1,27% des Fibrins. Es ist wohl kein Zweifel, daß die Hydrozimmtsäure mindestens zum ganz überwiegenden Teil aus dem im Eiweiß präformierten Phenylalanin stammt. Dafür spricht einerseits die Analogie mit der Entstehung der Oxyphenylpropionsäure aus dem Tyrosin, andererseits der von Baumann³⁾ direkt gelieferte Nachweis der Entstehung von Hydrozimmtsäure aus Phenylalanin, wenn dieser der Fäulnis unterworfen wurde. Allerdings haben wir⁴⁾ einmal aus Tyrosin durch Fäulnis Hydrozimmtsäure erhalten,

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 9, S. 500.

²⁾ Wegen der Einzelheiten verweisen wir auf die angeführte Stelle.

³⁾ E. Baumann, Diese Zeitschr. Bd. 7, S. 282.

⁴⁾ Diese Zeitschr. Bd. 9, S. 507.

aber einerseits war die erhaltene Menge nicht erheblich, nämlich 1,2 g aus 20 g Tyrosin, andererseits gelang der Versuch nicht wieder, es müssen also in dem einen Versuch besondere Bedingungen zur Reduktion vorhanden gewesen sein. Es ist auch noch darauf hinzuweisen, daß der Leim, dem ja die Tyrosingruppe fehlt, bei der Fäulnis Hydrozimmtsäure liefert, wenn auch nur wenig.

Zusammenfassend ist also zu sagen, daß das Fibrin bei der Fäulnis 1,26 % Indol, 2,83 % Phenol und 1,27 % Hydrozimmtsäure geliefert hat. Es ist nun leider nicht angängig, diesen Befund den Zahlenwerten nach zu verallgemeinern, unsere früheren Versuche haben vielmehr gezeigt, daß diese Größen nicht konstant sind. So haben die Eiweißkörper des Fleisches 1,75 % Hydrozimmtsäure gegeben, während die Indolmenge erheblich geringer war als beim Fibrin¹⁾. Es könnte überhaupt gewagt erscheinen, derartige Angaben nach der quantitativen Richtung zu machen, da die Unterlagen hierzu an einiger Unsicherheit leiden, nicht so sehr hinsichtlich der Zahlen an sich, als hinsichtlich der gemachten Annahmen, nämlich daß das Fäulnisphenol zu gleichen Teilen aus Phenol und Kresol bestehe und ebenso die erhaltenen Oxysäuren aus gleichen Teilen Oxyphenylelessigsäure und Oxyphenylpropionsäure, indessen sind diese Annahmen doch nicht geeignet, wesentliche Fehler zu verursachen. Außerdem hat uns zu dem Versuch, derartige Berechnungen anzustellen, der Umstand ermutigt, daß die Verhältnisse bezüglich der Zusammensetzung der Eiweißkörper aus aliphatischen Aminosäuren durchaus nicht günstiger liegen und doch die Zahlen hierfür allgemein angegeben werden.

Rechnet man die für die Fäulnisprodukte erhaltenen Zahlen auf die im Eiweiß präformierten Benzolderivate um, so ergibt sich, daß 100 g Fibrin enthalten:

Indolaminopropionsäure (Tryptophan) . . .	2.21 g
Phenylaminopropionsäure (Phenylalanin) . .	1.40 „
Oxyphenylaminopropionsäure (Tyrosin) . .	5.45 „

¹⁾ E. u. H. Salkowski, Diese Zeitschr. Bd. 8, S. 433.

Im ganzen machen danach die Benzolderivate 8,06% des Fibrins aus.

So gering der Gehalt des Eiweißes an Benzolderivaten auch ist, so wichtig ist er bekanntlich für die Funktion des Eiweißes im Organismus. Vom Tyrosin hat man ja schon lange nach dem Verhalten des Leims bei der Verfütterung angenommen, daß es ein unersetzlicher Baustein des Eiweißes sei, in der Nahrung nicht fehlen dürfe, wenn es auch nach Abderhalden¹⁾ vielleicht ganz oder teilweise durch Phenylalanin ersetzbar ist, da dieses nach Embden und Baldes²⁾ im Organismus zu Tyrosin oxydiert werden kann. Vom Tryptophan haben verschiedene Autoren gefunden, daß es nicht fehlen dürfe, namentlich hat Abderhalden³⁾ gezeigt, daß ein an sich zur Ernährung nicht geeignetes Aminosäurengemisch durch Hinzufügung von Tryptophan vollwertig gemacht werden kann.

Es wäre sehr wünschenswert, wenn Versuche in derselben Richtung auch mit anderen Eiweißkörpern ausgeführt würden: sie würden vielleicht auch auf den biologischen Wert verschiedener Eiweißkörper ein Licht werfen. Die in Frage kommenden Methoden sind unserer Meinung nach so weit ausgebildet, daß es dazu nicht so großer Mengen an Material bedarf, wie wir sie angewendet haben.

Mit Rücksicht auf derartige Vergleiche schien es uns noch von Interesse, zu sehen, welchen Teil des Gesamtkohlenstoffs des Fibrins der Kohlenstoff des Benzols ausmacht.

1,26 g Indol enthalten	0,778 g C
2,83 „ Phenol enthalten	2,167 „ „
1,27 „ Hydrozimmtsäure enthalten	<u>0,610 „ „</u>

Im ganzen 3,555 Kohlenstoff.

Der Kohlenstoff des Fibrins beträgt nach den Analysen von Hammarsten⁴⁾ 52,68%, der Kohlenstoff des Benzols 3,555%, somit macht der Kohlenstoff des Benzols nur etwa $\frac{1}{15}$ des Gesamtkohlenstoffs aus.

¹⁾ Abderhalden, Diese Zeitschr. Bd. 96, S. 16 u. 18 (1915/16).

²⁾ Embden u. Baldes, Diese Zeitschr. Bd. 55, S. 301 (1913).

³⁾ Abderhalden l. c.

⁴⁾ Dessen Lehrbuch 8. Aufl., S. 247.