



**Zur Kenntniss der Albumosen**

und

**Ueber Vitellosen.**

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung der Doctorwürde**

der

**hohen medizinischen Fakultät zu Heidelberg.**

Vorgelegt von

**Richard Neumeister, Dr. phil.**

Decan: **Geheimrat Professor Dr. J. Arnold.**

Referent: **Geheimrat Professor Dr. W. Kühne.**



**Heidelberg 1887.**

Buchdruckerei von Wurm & Pfeffer.

Separat-Abdruck

aus der

Zeitschrift für Biologie

Bd. XXIII.



## Zur Kenntniss der Albumosen.

Von

**Dr. R. Neumeister.**

Nachdem von Kühne und Chittenden<sup>1)</sup> die bei der peptischen Verdauung des Fibrins sich bildenden Albumosen differenzirt und näher untersucht wurden, liegt die Frage vor, ob diese verschiedenen Producte sämmtlich durch Spaltung des Fibrinmoleküls entstehen, und demnach bei weiterer hydrolytischer Einwirkung direct zu Peptonen werden, oder ob ein Theil derselben, da ja ihre gleich gefundene procentische Zusammensetzung einen verschiedenen Grad der Hydratation ausschliesst, vielleicht als während des digestiven Processes successiv aus einander entstehende Isomere aufzufassen seien.

Ist letzteres der Fall, so muss wenigstens eine der bekannten Modificationen, welche als Protalbumose, Deuteroalbumose und Heteroalbumose bezeichnet sind, sich in eine andere durch geeignete Einwirkung überführen lassen.

Von der Dysalbumose, als mit den soeben angeführten Körpern in dieser Hinsicht, wie schon Kühne und Chittenden bemerkten, wohl nicht gleichwerthig, ist hierbei zunächst abgesehen, da sie so leicht in Heteroalbumose wie letztere in Dysalbumose umgesetzt wird, dass wohl mehr ein physikalischer als chemischer Unterschied zwischen beiden festzustellen ist.

Um den Beweis einer stattgefundenen Umwandlung im ange deuteten Sinne zu führen, bedarf es zunächst einer Methode, die verschiedenen Albumosen von einander zu isoliren und weiter müsste es möglich sein, in ihren Gemischen die Gegenwart jeder der einzelnen Modificationen mit Sicherheit nachzuweisen, zwei Voraussetzungen, die ersichtlich in eine einzige zusammenfallen.

1) Zeitschr. f. Biol. Bd. 20 S. 11.



Bekanntlich ist die Prot- und Deuteroalbumose durch ihre Löslichkeit, die Heteroalbumose dagegen durch ihre Unlöslichkeit in salzfreiem Wasser ausgezeichnet. Während aber die Heteroalbumose fast vollständig, die Protalbumose wenigstens theilweise durch Sättigung ihrer neutralen Lösungen mit Kochsalz sich ausscheiden, bedarf es zur Fällung der Deuteroalbumose durch Chlor-natrium noch des gleichzeitigen Ansäuerns.

Dem entsprechend ist der Nachweis der Heteroalbumose in Gemischen, als auch ihre vollständige Trennung von den beiden in reinem Wasser löslichen Albumosen durch Dialyse leicht zu bewerkstelligen. Ebenso bietet auch die Protalbumose nach dieser Richtung keine Schwierigkeit.

Dagegen war bisher eine Methode, die Deuteroalbumose, wenn dieselbe neben Protalbumose vorkommt, unter allen Umständen rein abzuscheiden und welche es zugleich ermöglichte, die Gegenwart der ersteren mit Bestimmtheit festzustellen, nicht vorhanden.

Kühne und Chittenden haben bereits auf diese Schwierigkeit hingewiesen, indem sie angeben, dass ihnen die Reindarstellung der Deuteroalbumose nur gelungen sei durch „die eigenthümliche Vermengung der Protalbumose mit Hetero- und Dysalbumose, die sich in dem Witte'schen Präparate findet“. Indem dies „die Ursache sei des anfänglichen vollständigen Ungelöstbleibens der Protalbumose, wenn man das Pulver unmittelbar mit festem Chlor-natrium und gesättigter Salzlösung behandelt hat, so dass dann die Deuteroalbumose von vornherein frei von dem hartnäckigen Begleiter in Lösung geht“.

Und in der That mit einer anderen Sendung des Witte'schen Präparats, welches in seiner Zusammensetzung sehr wechselnd ist, wie ich noch weiter auszuführen habe, gelang mir diese Isolirung der Deuteroalbumose auf dem vorgeschriebenen Wege nicht wieder, indem dieselbe stets mit dem erst beim Ansäuern ausfallenden Theil der Protalbumose vermischt gewonnen wurde, was sich durch eine Fällung kund gab, wenn man die neutrale Auflösung des erhaltenen Niederschlags mit Steinsalz sättigte.

Das saure Filtrat von den Albumose-Fällungen, dessen meist vorhandene Trübung eine Filtration über Kohlepulver vollständig

entfernt, enthält, wie schon von Wenz<sup>1)</sup> mitgetheilt wurde, stets noch erhebliche Albumosenmengen, denn ebenso wenig wie die Protalbumose aus neutraler, lässt sich die Deuteroalbumose aus saurer Lösung durch Steinsalz-Sättigung vollständig ausscheiden. Auch bei sorgfältigster Vermeidung überschüssiger Säure erhält man immer starke Albumosen-Reactionen in der von dem Deuteroalbumose-Niederschlag geschiedenen Flüssigkeit.

Da mir ferner die durch denselben Autor gefundene Thatsache bekannt war, dass aus schwach alkalischen, neutralen oder schwach sauren Lösungen alle Albumosen durch Sättigung mit Ammoniumsulphat vollständig gefällt werden, wandte ich dieses Verfahren an, um den durch Steinsalz unfällbaren Antheil der Deuteroalbumose zu gewinnen.

Versetzt man eine gesättigte Chlornatriumlösung mit überschüssigem Ammoniumsulphat in Substanz, so findet eine theilweise Umsetzung zu Natriumsulphat statt, welches Salz in der Flüssigkeit suspendirt einen Albumoseniederschlag vortäuschen oder doch einem solchen sich leicht beimengen kann.

Ich entfernte daher aus dem neutralisirten Filtrate von der Deuteroalbumose die grösste Menge des Kochsalzes zunächst durch Eindampfen und Auskrystallisiren, dann vollständig durch Dialyse, sättigte die Lösung mit Ammoniumsulphat und sammelte den erhaltenen Niederschlag, um ihn nach dem Auflösen in Wasser und nochmaliger Dialyse bis zum Verschwinden der Sulphatreaction stark einzudampfen und mit Alkohol zu fällen.

Die so erhaltene Deuteroalbumose ist vollkommen rein von Protalbumose; ihre wässrige Auflösung bleibt durch Sättigung mit Chlornatrium durchaus klar, bei gleichzeitigem Ansäuern dagegen wird sie nur theilweise gefällt, indem annähernd die Hälfte in Lösung bleibt und nur durch Ammoniumsulphat in Substanz niederschlagen wird.

Kupfersulphat trübt selbst concentrirte Lösungen der reinen Deuteroalbumose nicht, während Beimengungen von Protalbumose

---

1) Siehe dessen Preisarbeit der med. Fac. der Univ. Heidelberg, Zeitschr. f. Biol. Bd. 22 S. 1 und W. Kühne, Verhandl. des naturhist. med. Vereins zu Heidelberg Bd. 3 S. 286.

noch in 5000 Theilen Flüssigkeit als voluminöser Niederschlag, in 10000 Theilen noch als eine deutliche Trübung sich zu erkennen geben.

Die Reaction gegen Kupferlösung muss als eine ganz besonders empfindliche für die Anwesenheit von Protalbumose gelten, da sie noch stark eintritt, wo die Sättigung der neutralen Lösung mit Chlornatrium keine Trübung mehr erzeugt, was bereits in einer Verdünnung von 1:2000 der Fall ist. Ein Präparat von Deuteroalbumose, welches Kühne und Chittenden darstellten und von dem mir eine Probe zur Verfügung stand, wurde durch Kupfersulphat getrübt, war also nicht vollständig frei von Protalbumose.

Sidney Martin<sup>1)</sup> erhielt bei der Analyse von Darby's Fleischsolution, sich an die widerlegte Heynsius'sche Angabe haltend, durch Sättigung mit Ammoniumsulphat ausser etwa vorhandenen Eiweisskörpern die gesammten Albumosen, aber keineswegs die Peptone wie er angibt, als Ausscheidung. In einem durch Kochen mit Ferriacetat nicht wieder gefällten Antheil des in Wasser aufgenommenen Niederschlags fand er keine Deuteroalbumose, was durch das Klarbleiben der Lösung beim Zusatz von Kupfersulphat sowie nach Sättigung derselben mit Steinsalz bei gleichzeitigem Ansäuern begründet wird.

Dem entgegen erhellt nunmehr, wie das Ausbleiben eines Niederschlags nach dem Zusatz von Kupfersulphat die Abwesenheit von Deuteroalbumose in einer Lösung nicht beweisen kann. Was aber das Klarbleiben der angesäuerten Lösung nach Sättigung mit Steinsalz anbelangt, so schliesst dieser Umstand die Anwesenheit von Deuteroalbumose nicht gänzlich aus, da die hierdurch bewirkte Fällung derselben bekanntlich immer unvollständig ist und bereits in einer Verdünnung von 1:400 überhaupt gänzlich ausbleibt.

Es ist ersichtlich, dass das oben angegebene Verfahren zweckmässig zur Isolirung eines Theils der vorhandenen Deuteroalbumose dienen kann und zwar für alle Fälle, namentlich auch für Verdauungslösungen, welche neben den Albumosen Peptone enthalten, indem letztere durch Ammoniumsulphat nicht gefällt und so durch

1) Proceedings of the Physiological Society 1886 Nr. 1, und The Journal of Physiology vol. VII no. 2 p. VI.

Auswaschen mit einer gesättigten Lösung dieses Salzes von dem Deuteroalbumoseniederschlag getrennt werden.

Um eine theilweise Wiederauflösung der gefällten Protalbumose durch einen Ueberschuss von Säure zu vermeiden, empfiehlt es sich in folgender Weise vorzugehen:

Nachdem die schwach angesäuerte Lösung des Albumosegemisches durch Sättigung mit Ammoniumsulphat von den Peptonen getrennt ist, wird das Salz ausdialysirt und die neutrale Lösung mit Steinsalz gesättigt. Der hierdurch entstehende Niederschlag wird entfernt und entsprechend weiter behandelt.

Die Flüssigkeit ist nunmehr mit soviel salzgesättigter Essigsäure zu versetzen, dass eine durch ein trocknes Filter entnommene Probe nach dem Neutralisiren beim Zusatz von wenig Kupfersulphat vollkommen klar bleibt.

Dies findet bereits statt, wenn durch weiteres Ansäuern in der Hauptmenge die schon bestehende Albumoseausscheidung noch vermehrt wird.

Die noch in Lösung befindliche Deuteroalbumose wird schliesslich vom Niederschlag getrennt, neutralisirt und durch Dialyse von den Salzen befreit.

Entsprechend ist das Verfahren, wenn es sich darum handelt, in einer Lösung Deuteroalbumose nachzuweisen.

Reine Protalbumose durch Steinsalz partiell gefällt, wird durch salzgesättigte Essigsäure vollständig ausgeschieden, wenn man sorgfältig jeden Ueberschuss der letzteren vermeidet. Die vom Niederschlage getrennte und dialysirte Flüssigkeit kann daher durch Sättigung mit Ammoniumsulphat keine Trübung erfahren. Ist dagegen neben der Protalbumose Deuteroalbumose vorhanden, so wird, wie oben angegeben, letztere durch Steinsalz und Essigsäure nur theilweise gefällt, und man erhält daher den noch in Lösung befindlichen Antheil, wenn man entsprechend verfährt, durch Ammoniumsulphat als Ausscheidung.

Unter Anwendung der beschriebenen Methode untersuchte ich zunächst das Verhalten der Protalbumose nach dem Kochen mit 5 proc. Schwefelsäure, ein Verfahren, welches nach angestellten Versuchen für die Entscheidung der vorliegenden Frage geeignet schien.

Man kocht zweckmässig stark verdünnte Lösungen, etwa 5g auf 100<sup>cm</sup> Flüssigkeit, drei Viertelstunden, worauf eine Probe nach Sättigung mit Ammoniumsulphat im Filtrat die Peptonreactionen gibt. Die nach dem Neutralisiren mit Natronlauge erfolgende Dialyse bewirkte keine Trübung, auch blieb die Flüssigkeit durch Sättigung mit Steinsalz vollständig klar, woraus hervorging, dass einerseits Heteroalbumose nicht entstanden, andererseits Protalbumose verschwunden war. Dagegen gab sich die Anwesenheit von Deuteroalbumose zu erkennen durch starke Niederschläge beim Ansäuern sowohl der salzgesättigten Lösung, als auch durch die Sättigung mit Ammoniumsulphat.

Als ich das Sieden bereits nach einer halben Stunde und früher unterbrach, waren die Verhältnisse nur insofern andere, als dann noch mehr oder weniger Protalbumose, die Deuteroalbumose dagegen in geringerer Menge vorhanden war.

Aber nicht nur aus Protalbumose erhielt ich durch Kochen mit Schwefelsäure Deuteroalbumose, sondern auch aus Heteroalbumose, wobei ich sowohl das aus dem Witte'schen Präparat direct isolirte Material, als auch das durch Neutralisation von salzsaurer Dysalbumoselösung gewonnene und die Dysalbumose selbst verwandte.

Bemerkenswerth war hierbei, dass sich während des Kochens bald ein ziemlich reichlicher Niederschlag bildete, welcher allmählich wenigstens wieder zum Theil in Lösung ging und sich als Antialbumid ergab.

In den von dieser Ausscheidung befreiten und mit Natronlauge abgesättigten Lösungen erhält man bisweilen im Dialysor noch einen geringen Niederschlag von unveränderter Heteroalbumose und zwar auch aus ursprünglicher Dysalbumose.

Steinsalzsättigung ändert die klare Lösung nicht, dagegen scheidet sich beim Ansäuern ein starker Niederschlag von Deuteroalbumose aus.

Als ich schliesslich auch die Einwirkung der Verdauungsfermente auf die Prot- und Heteroalbumose sowie die Dysalbumose untersuchte, erhielt ich ganz die nämlichen Resultate wie beim Sieden mit Schwefelsäure.

Besonders auffallend zeigte sich die Umwandlung in Deuteroalbumose bei der Behandlung der Heteroalbumose mit Trypsin in

0,2proc. Sodalösung. Hier lässt sich durch zweckmässige Unterbrechung der Verdauung nach einigen Stunden ein Punkt finden, wo bei schon vorgeschrittener Peptonbildung die genau mit Salzsäure neutralisirte Lösung durch Steinsalzsättigung fast klar bleibt, dagegen die beim Ansäuern und weiter nach Ammoniumsulphatsättigung sich bildenden Niederschläge die Gegenwart von Deuteroalbumose beweisen.

Dass man bei der Einwirkung von Trypsin auf Heteroalbumose stets auch eine Abscheidung von Antialbumid erhält, ist bereits von Kühne und Chittenden mitgetheilt worden.

Dagegen gelingt es mit dem Trypsin nicht die Protalbumose, abgesehen von ganz geringen Mengen, in Deuteroalbumose überzuführen. Die Protalbumose liefert hierbei ferner zwar stets ein wenig Pepton, wird aber bei weitem zum grössten Theil anscheinend direct in Amidosäuren gespalten. Zu ihrer Umwandlung in Deuteroalbumose aber ist die peptische Verdauung geeignet.

Es erübrigte nunmehr in Erwägung zu ziehen, ob vielleicht dennoch ein Theil der Deuteroalbumose sich direct aus dem Fibrinmolekül neben der Prot- und Heteroalbumose abspaltet.

In diesem Falle musste sich bei der peptischen Verdauung wie bei der Einwirkung von Säure auch im ersten Stadium neben den beiden anderen Modificationen stets auch Deuteroalbumose nachweisen lassen.

Um diese Frage zu entscheiden, kochte ich Fibrin drei Viertelstunden mit 1proc. Schwefelsäure. Aus dem Filtrat wurde durch Absättigung der Säure mit Natronwasser das Acidalbumin entfernt. Wiewohl nunmehr aus der Flüssigkeit durch Steinsalz eine nicht unbedeutende Menge von Protalbumose und auch Heteroalbumose abgeschieden wurde, gelang es nicht einmal in Spuren Deuteroalbumose nachzuweisen, welche vielmehr erst bei längerem Sieden auftritt, um dann schliesslich zu überwiegen.

Ebenso gestalten sich die Verhältnisse, wenn man die Producte der peptischen Verdauung untersucht, sobald eine gewisse Menge des Fibrins in Lösung gegangen ist; auch hier findet man zunächst nur Prot- und Heteroalbumose.

Aus den angeführten Versuchen geht demnach hervor, dass die durch Pepsin oder Säureeinwirkung auf Fibrin zunächst entstehende Prot- und Heteroalbumose durch alle hydrolytischen Agentien, seien

es nun die Verdauungsfermente oder siedende Schwefelsäure, in Deuteroalbumose übergeführt werden und dass sich zwei Stadien der Albumosebildung unterscheiden lassen.

Es war bisher ein weiterer Abkömmling des Fibrins, nämlich das Antialbumid ausser Betracht gelassen worden, welches neben den beiden Albumosen des ersten Stadiums immer durch den hydrolytischen Process entsteht, aber auch indicirt aus der Heteroalbumose sich beim Kochen mit Schwefelsäure, wie vorher gezeigt wurde, sowie bei der tryptischen Einwirkung aus derselben sich abspaltet.

Um diesen Körper rein darzustellen, kochte ich eine grössere Portion Fibrin mit etwa der zehnfachen Menge 1 proc. Schwefelsäure zwei Stunden. Während die beim Erkalten zur Gallerte gestehende Flüssigkeit nicht filtrirbar ist, lässt sich nach dem Neutralisiren der grösste Theil des Flüssigen vom Niederschlage trennen.

Nachdem sich der letztere sodann in 1 proc. Soda durch Erwärmen bis fast zum Sieden einmal gelöst hatte, schied er sich nicht aus, wenn man nach dem Filtriren das Natriumcarbonat mit Salzsäure wieder soweit abstumpfte, dass die Flüssigkeit noch deutlich alkalisch war.

Zur Fällung wurde nunmehr die bekannte Reaction verwendet <sup>1)</sup>, in Folge deren eine auf 40° erwärmte Lösung des Antialbumids in verdünnter Soda dasselbe als Gerinnsel abscheidet, wenn man zur Flüssigkeit Trypsin gibt. Das auf dem Filter gesammelte Antialbumid wurde hierauf mit heisser Schwefelsäure von 1% so lange ausgewaschen, bis im Filtrat weder Acidalbumin noch Albumosen sich durch Sättigung desselben mit Ammoniumsulfat nachweisen liessen.

In gleicher Weise wie früher wurde auch diese Substanz mit 5 proc. Schwefelsäure gekocht, doch ist hier, um weiter gehende Veränderung bereits gebildeter Albumosen zu verhindern, das Sieden zu unterbrechen, nachdem ein Theil des Körpers augenscheinlich in Lösung gegangen ist. Nach dem Abfiltriren der Flüssigkeit wird das Ungelöste von neuem mit Säure behandelt.

1) Kühne, Verhandl. des naturhist. med. Vereins zu Heidelberg N. F. Bd. 1 S. 237 und Kühne und Chittenden, Zeitschr. f. Biol. Bd. 19 S. 167.

Die Albumosen und Pepton enthaltenden Filtrate schliesslich vereinigt, werden mit Ammon neutralisirt, wobei die Flüssigkeit klar bleibt, eingedampft und mit Ammoniumsulphat vollends gesättigt.

Hierdurch wird lediglich eine Deuteroalbumose ausgeschieden, welche in ihrem Verhalten gegen die bekannten Reagentien in keiner Weise von der aus Prot- und Heteroalbumose hervorgehenden abweicht, namentlich auch durch Kupfersulphatlösung nicht getrübt wird. Doch enthält sie, wie vorauszusehen, nur den Anticomplex, ist also eine Antideuteroalbumose, denn durch Trypsin erleidet sie auch bei wochenlanger Einwirkung desselben keine Zersetzung und wird lediglich in Antipepton übergeführt.

Bei weiterem Kochen des Antialbumids mit Schwefelsäure lassen sich schliesslich aus der Flüssigkeit keine Albumosen mehr abscheiden und scheint der unlösliche Rückstand desselben nicht mehr verändert zu werden. Dieser dunkel gefärbte Rest ist auch in Soda und selbst in verdünnter Natronlauge bei längerem Kochen ganz unlöslich, gibt daher auch nicht mehr die Biuret- und übrigen Reactionen löslicher Eiweisskörper. Dagegen quillt er, ein helles Aussehen gewinnend, in heisser Natronlauge auf, um durch Zusatz von Säuren im Ueberschuss wieder zu schrumpfen. Seine Eiweissnatur gibt er zu erkennen durch sein Verhalten gegen Salpetersäure, welche beim Kochen Gelbfärbung erzeugt, die durch nachfolgende Uebersättigung mit Ammon noch intensiver wird. Ferner bewirkt er mit concentrirter Schwefelsäure überschichtet bei Zusatz von etwas Rohrzucker eine purpurrothe, mit Molybdänsäure haltiger Schwefelsäure übergossen eine intensiv blaue Färbung.

Auch Trypsin, sowie energisch einwirkende peptische Verdauung vermögen bekanntlich das Antialbumid in Antipepton überzuführen, indessen wurde unter diesen Umständen ein unveränderlicher Rückstand nicht beobachtet, welcher daher durch eine spezifische Wirkung der Schwefelsäure sich zu bilden scheint.

Vielleicht ist diese Substanz als ein durch innere Anhydridbildung entstehendes Condensationsproduct aufzufassen, welches durch seine Unlöslichkeit zu den Keratinsubstanzen Beziehung gewinnt.

Es ist vorläufig nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob das Antialbumid als ein gleichwerthiges Spaltungsproduct des Fibrin-

moleküls neben der Prot- und Heteroalbumose zu betrachten sei, oder ob vielmehr seine mehr oder weniger reichliche Bildung von der Menge der entstehenden Heteroalbumose wechselseitig abhängt.

Für letztere Anschauung spricht der Umstand, dass beim Kochen des Fibrins mit Säuren nur bis zum ersten Stadium der Albumosebildung ausgedehnt, wo immer reichlich Antialbumid entsteht, die Heteroalbumose gegenüber der Protalbumose regelmässig zurücktritt. Zudem zeigt bekanntlich die Antigruppe der Heteroalbumose überhaupt eine Neigung sich von der Hemigruppe zu isoliren, was bei Ueberführung der letzteren in Deuteroalbumose, wenn sie nicht durch weitere Pepsinwirkung, sondern durch stärkere Agentien, wie kochende Schwefelsäure oder Trypsin, bewirkt wird, durch die Abspaltung des Antialbumids hervortritt.

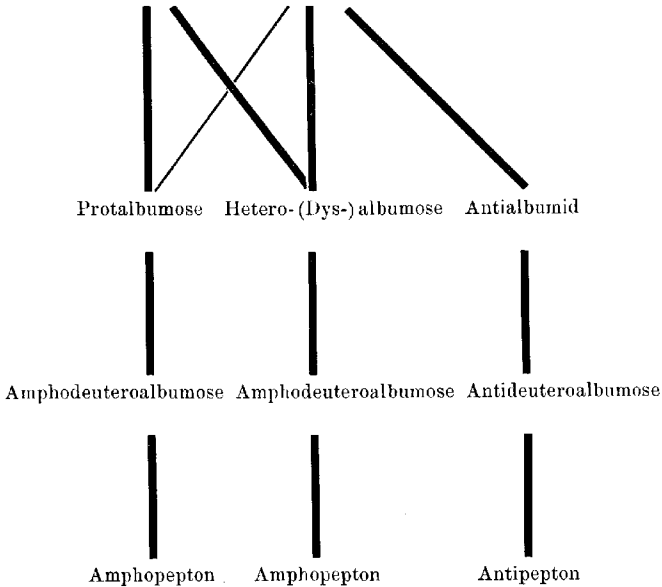
Die mehrfachen Vorstufen der Deuteroalbumose sind für die Theorie der peptischen Verdauung insofern von Interesse, als hier nach als Muttersubstanzen der Deuteroalbumose Producte von verschieden digestiver Bedeutung erkannt werden.

Sie geht einmal hervor aus der Heteroalbumose, welche nach Kühne und Chittenden neben dem Hemicomplex vorwiegend die Antigruppe umfasst und ebenso aus der Protalbumose, welche hauptsächlich den Hemicomplex enthält, während die Antigruppe in ihr weit zurücktritt. Die hieraus entstehende Deuteroalbumose wäre demnach, mit Bezug auf das Amphopepton, welches direct aus ihr hervorgeht, als Amphodeuteroalbumose zu bezeichnen. Aber auch das Antialbumid, welches lediglich die Antigruppe repräsentirt, liefert bei intensiver Einwirkung eine Deuteroalbumose, wie gezeigt wurde, so dass demnach die Deuteroalbumose der peptischen Verdauung, falls das Antialbumid auch der Hydrolyse anheimfällt, als ein Gemisch von vorwiegend Amphodeuteroalbumose mit Antideuteroalbumose erscheint.

Dieses Deuteroalbumosengemisch ist in peptischen Verdauungslösungen, sobald der digestive Process weiter vorgeschritten und schon theilweise Peptonbildung erfolgt ist, vorwiegend vorhanden, allerdings häufig neben Dysalbumose, wenn es durch nicht bekannte Einflüsse zur Bildung derselben kommt, denn dieses Umwandlungsproduct der Heteroalbumose erscheint gegen die Hydratation besonders resistent.

Es würde sich nunmehr für die Albumosenbildung bei der peptischen Verdauung des Fibrins folgendes Schema ergeben:

(Hemi-Anti-) Albumin.



Wenn ich in obiger Uebersicht der Protalbumose neben der Hemi- auch die Antigruppe zuertheile und dem entsprechend aus ihr Amphodeuteroalbumose entstehen lasse, so trage ich nur den bestehenden Verhältnissen Rechnung, wonach in der That durch die tryptische Verdauung auch bei langer Einwirkung dieselbe niemals vollständig in die Amidosäuren zerfällt und die Verdauungsflüssigkeit wegen restirenden Antipeptons immer die Biuretreaction gibt.

Indessen sind die Mengen dieses Antipeptons sicher sehr gering und ist, wie auch im Schema angedeutet, die Antigruppe überhaupt nur in minimaler Menge in der Protalbumose nachweisbar, da bei ihrer tryptischen Verdauung nie mehr als Spuren abgeschiedenen Antialbumids beobachtet werden, so dass schon deshalb die Vermuthung nahe liegt, es handele sich hier um eine noch nicht be- seitigte Verunreinigung der Protalbumose mit etwas Heteroalbumose.

Zu dem aber habe ich mich namentlich überzeugt, dass tatsächlich concentrirtere Lösungen von Protalbumose auch bei vollständiger Abwesenheit von Salz noch deutliche Mengen von Heteroalbumose aufzunehmen vermögen, wenn man dieselben stark erwärmt. Die Flüssigkeit wird hierdurch zunächst opalescirend, aber nach längerem Stehen im Wasserbade bei 40° wieder das frühere klare Ansehen gewinnend, scheidet sie hier die einmal gelöste Heteroalbumose nicht wieder ab.

Nachdem einmal eine Methode gefunden sein wird, die Protalbumose vollständig zu isoliren, ist es höchst wahrscheinlich, dass sie sich als eine reine Hemialbumose erweisen und demnach das Material zu einem reinen Hemipepton darstellen wird.

Bei dieser Voraussetzung würde sich aus den vorläufig complicirteren Verhältnissen der Albumosenbildung die einfache Thatsache ergeben, dass die beiden Atomcomplexe des Fibrins bei der Hydrolyse entweder combinirt bleiben als Amphoprotalbumose (der Heteroalbumose entsprechend) oder sich spalten und dann Hemiprotalbumose (der Protalbumose entsprechend) und das anhydritische Antialbumid bilden. Diese drei Producte liefern dann die entsprechenden Deuteroalbumosen und weiter die Peptone.

Als ich neuerdings eine Sendung des Witte'schen Präparats in Arbeit nahm, wurde meine Beobachtung, dass peptische Verdauungslösungen nach dem Verschwinden der Albumosen des ersten Stadiums vorwiegend Deuteroalbumose enthalten, durchaus bestätigt.

Um aus dem Pulver Heteroalbumose zu gewinnen, digerirte ich  $\frac{1}{2}$  kg desselben mit zwei Litern 3 proc. Kochsalzlösung bei 30° während 24 Stunden, wobei fast alles in Lösung ging. In den Dialysorschläuchen setzte die Flüssigkeit einen mässigen Niederschlag ab, der im Gegentatz zum Verhalten der Heteroalbumose von pulveriger Beschaffenheit war und sich gut abfiltriren liess. Er bestand fast ganz aus Dysalbumose. Denn als ich ihn in Wasser zerrieben und damit bis zum Verschwinden der Biuretreaction ausgewaschen hatte, löste sich davon so wenig in 5 proc. Chlornatriumlösung, dass die Sättigung der letzteren mit Steinsalz nur eine ganz geringe Trübung von Heteroalbumose erzeugte. Der bei der Dialyse in

Lösung gebliebene Antheil verhielt sich dagegen im Allgemeinen wie Deuteroalbumose; Steinsalz erzeugte in der neutralen Flüssigkeit keine Trübung, Protalbumose fehlte hierin gänzlich.

Es war demnach in dem vorliegenden Präparate im Vergleich zu dem früher untersuchten der Verdauungsprocess weiter vorgeschritten, welche Thatsache sich auch durch die sehr deutlichen Peptonreactionen im Filtrat einer mit Ammoniumsulphat gesättigten Probe ankündigte.

Die Abwesenheit von Protalbumose bewies auch das Verhalten eines wässrigen Auszuges des etwas salzhaltigen Präparates gegen Salpetersäure in der Kälte. Dieselbe erzeugte in geringer Menge zugesetzt keine Veränderung, während bekanntlich Protalbumose selbst in vollkommen salzfreien Lösungen hierdurch sogleich ausgeschieden wird.

Nach der nun erfolgenden Fällung der Deuteroalbumose mittelst salzgesättigter Essigsäure, Auflösen des Niederschlags in Wasser und Dialyse bildete sich abermals im Schlauch ein Niederschlag von Dysalbumose.

Aus dem Filtrat der Steinsalz-Essigsäurefällung musste nunmehr nach dem eingangs angegebenen Verfahren sich durch Sättigung mit Ammoniumsulphat reine Deuteroalbumose ausscheiden lassen. Dies aber war keineswegs der Fall. Zwar wurde die klare Lösung durch Steinsalzsättigung nicht getrübt, auch Salpetersäure erzeugte in der salzfreien Flüssigkeit keine Reaction, dagegen wurde durch Zusatz von Kupfersulphat ein im Ueberschuss desselben unlöslicher Niederschlag hervorgerufen.

Es geht hieraus hervor, dass Dysalbumose, wiewohl isolirt in neutralen Salzlösungen unlöslich, bei Gegenwart von viel Deuteroalbumose dennoch in gewisser Menge selbst in einen salzfreien Wasserauszug übergeht und aus dieser Lösung bei Abwesenheit von Protalbumose durch Steinsalz nicht niedergeschlagen wird.

Es sind demnach in Präparaten wie das vorliegende diese Mengen von Dysalbumose nicht von der Deuteroalbumose ohne weiteres zu trennen und würde so letztere niemals rein zu erhalten sein, wenn nicht in dem Zusatz von Protalbumose zu dem ursprünglichen Albumosegemisch ein sehr einfaches Mittel gegeben wäre, diesen Uebelstand zu beseitigen.



Hierdurch wird in gewöhnlicher Weise die Dysalbumose durch Steinsalz aus der neutralen Lösung fällbar und man erhält schliesslich durch Sättigung mit Ammoniumsulphat vollständig reine, beim Zusatz von Kupfersulphat klar bleibende Deuteroalbumose.

Es wird seit den Untersuchungen von Henninger<sup>1)</sup> und von Hofmeister<sup>2)</sup> allgemein angegeben, dass aus den Peptonen durch einen der Hydrolyse entgegengesetzten Process, nämlich durch Wasserentziehung, wieder ein eiweissartiger Körper entsteht, wobei erstere ersichtlich das Stadium der Albumosen durchlaufen müssten.

Meine hierauf gegründete Voraussetzung, dass durch entsprechende Einwirkung aus der Deuteroalbumose sich wieder Prot- und Heteroalbumose bilden würden, wurde durchaus bestätigt und somit ein endgültiger Beweis für die Richtigkeit der vorstehenden Beobachtungen geliefert.

Zum Versuche erhitzte ich reine Deuteroalbumose in fein gepulvertem Zustande sehr langsam im Schwefelsäurebade. War das Pulver vorher bei 100° getrocknet, so ist ein Schmelzen bei keiner Temperatur zu beobachten, dagegen entweichen von 150° an deutlich alkalische Dämpfe und wird die Substanz allmählich gelblich. Eine Probe des Pulvers bei 180° entnommen ist in warmem Wasser vollkommen löslich, wird aber durch Kupfersulphatlösung sowohl wie durch Steinsalzsättigung bereits stark getrübt.

Nach längerer Einwirkung bei 200° wurde der Versuch unterbrochen, das nunmehr leicht zusammen geballte Pulver fein zerrieben und mit Rücksicht auf die etwa vorhandene Heteroalbumose mit 5 proc. Kochsalzlösung nicht höher als bei 40° 24 Stunden digerirt, wobei der grösste Theil zurückblieb.

Die durchaus neutral reagirende Lösung gab Fällung beim Zusatz von Kupfersulphat, im Ueberschuss desselben verschwindend, sowie nach Sättigung mit Steinsalz. Die letztere Ausscheidung in Wasser gelöst entstand nicht wieder durch Dialyse, dagegen sogleich in der durch Eindampfen etwas concentrirten Lösung nach dem

1) Comptes rendus t. LXXXVI no. 23 p. 1464.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 2 S. 206.

Zusatz von Salpetersäure auch bei Abwesenheit von Salz, um beim Erhitzen wieder zu verschwinden.

Es enthielt demnach dieser Auszug Protalbumose, während Heteroalbumose nicht vorhanden war.

Der durch Kochsalzlösung nicht aufgenommene Rückstand wurde mit 0,4 proc. Salzsäure auf dem Wasserbade mehrere Stunden digerirt, wobei Dysalbumose gelöst wurde, leicht zu erkennen durch ihr Verhalten gegen Salpetersäure und daran, dass sie beim Neutralisiren nur etwa zur Hälfte ausfiel, zum anderen Theil als Heteroalbumose in Lösung ging, die sich erst nach der Dialyse ausschied. Die Lösungen in Salzsäure und Soda wurden durch Steinsalz gefällt.

Es folgt hieraus, dass die Heteroalbumose lediglich in der Form der Dysalbumose sich vorfand.

Was nach der Behandlung mit Salzsäure im Rückstande geblieben, zeigt genau die Eigenschaften des von Hofmeister beschriebenen Eiweisskörpers. Nach längerem Kochen nahezu vollständig durch 2 % Soda gelöst, fiel es beim Neutralisiren aus, um jetzt im geringen Ueberschuss der Säure wieder zu verschwinden. Der Neutralisationsniederschlag ist in Wasser, reinem oder salzhaltigem, sowie bei jeder Temperatur in Salpetersäure unlöslich. Dem entsprechend entsteht selbst in sauren nicht allzu verdünnten salzfreien Lösungen durch starke Salpetersäure in der Kälte eine Fällung, die sich beim Kochen zu einem gelben Coagulat gestaltet.

Die salzsaure Lösung wird durch Sättigung mit Steinsalz sowie durch wenig Ferrocyankalium gefällt. In der Sodalösung entsteht wie durch Steinsalz, so auch durch etwas Kupfersulphat eine Ausscheidung, welche letztere beim Ansäuern nicht verschwindet, ein grosser Ueberschuss der Säure bewirkt Lösung, die durch viel Kupfersulphat wieder stark getrübt wird.

Das Verhalten der drei isolirten Producte gegen Natronlauge und Kupfersulphat in der Kälte ist besonders bemerkenswerth.

Zur Prüfung desselben wurden wegen der gelblichen auch durch Thierkohle nicht zu beseitigenden Färbung, welche sämtlichen Lösungen anhaftet, dieselben vorsichtig mit verdünnter Kupferlösung überschichtet. Es zeigten dann nicht nur die beiden Albumosen, sondern auch der eiweissartige Körper an der Berührungszone die

für die Spaltungsproducte der Albumine charakteristische purpurrothe Färbung.

Erhitzt man Deuteroalbumose andauernd auf 200°, so entsteht zum grössten Theil eine Substanz, welche auch nicht durch Soda, dagegen durch längeres Kochen in Natronwasser gelöst wird. Dieselbe durch Neutralisation ausgeschieden, wird nunmehr auch durch Soda leicht aufgenommen und ist von dem hierin von vorn herein löslichen, vorher beschriebenen Körper nicht verschieden.

Durch weitere Steigerung der Temperatur tritt unter Entwicklung starker Dämpfe und Abscheidung eines schwarzen Körpers Zersetzung ein.

Die Heteroalbumose in gleicher Weise erhitzt, lieferte ausser in Salzsäure beim Erwärmen lösliche Dysalbumose einen Eiweisskörper von den nämlichen Reactionen wie der aus Deuteroalbumose gewonnene.

Was nach derselben Behandlung der Protalbumose durch siedendes Wasser nicht wieder aufgenommen wurde, gab auch an heisse Salzsäure nur geringe Spuren von Dysalbumose ab. Der ferner entstandene Eiweisskörper unterschied sich indessen von dem aus Hetero- und Deuteroalbumose gewonnenen darin, dass seine Lösung in Soda nach Sättigung mit Steinsalz durchaus klar blieb.

Ogleich diese beim Erhitzen der verschiedenen Albumosen schliesslich entstehenden Substanzen im allgemeinen syntoninartigen Charakter zeigen, so sind dieselben doch keineswegs als mit dem gewöhnlichen Verdauungssyntonin des Fibrins identisch zu bezeichnen.

Da durchaus keine Anhaltspunkte vorliegen, das Verdauungssyntonin bereits als ein Gemenge von Spaltungsproducten der Eiweisskörper aufzufassen, so ist nicht ersichtlich, wie wenigstens die Protalbumose, die doch vornehmlich, wenn nicht ausschliesslich nur einen Atomcomplex des Fibrinmoleküls enthält, in ihrer ganzen Menge zu einem solchen ungespaltenen Eiweisskörper sich zurückbilden könnte. Uebrigens weicht auch, wie gezeigt wurde, die aus ihr hervorgehende Substanz vom Verdauungssyntonin in dem Verhalten ihrer Lösung in Soda nach Steinsalzsättigung ab.

Die Möglichkeit einer Bildung von wirklichem Verdauungssyntonin durch Wasserentziehung liegt anscheinend bei der Hetero-

albumose vor, sowie bei dem Antheil der Deuteroalbumose, welcher aus der ersteren hervorgeht, da hier die Hemi- wie die Antigruppe des Fibrinmoleküls vorhanden ist.

Dennoch geht auch aus diesen kein Verdauungssyntonin hervor, da die entstehenden Producte sich gegen die beiden Verdauungsfermente durchaus resistent verhalten und zudem wie erwähnt die sog. Biuretreaction der gespaltenen Albumine zeigen.

Ich möchte demnach diese Körper als die dem Verdauungssyntonin entsprechenden Anhydridstufen der durch Hydrolyse entstandenen Spaltungsproducte des Fibrins betrachten.

Durchaus entsprechende Substanzen erhielt Kühne<sup>1)</sup>, als er albumosefreie Peptone im trocknen Zustande einige Stunden auf 140° oder vorübergehend auf 160° erhitzte. Sowohl aus einem Theil des Anti- wie des Amphopeptons waren in Wasser unlösliche aus alkalischer Lösung durch Neutralisation sowie durch Ammoniumsulfat vollkommen fällbare Körper entstanden, welche aber andererseits Biuretreaction gaben und durch Pepsinsalzsäure, sowie durch Trypsinsodalösung nicht verändert wurden.

Diese syntoniartigen Körper scheinen übrigens nur unter gewissen Umständen aus den Peptonen durch Wasserentziehung nach der Hofmeister'schen Methode zu entstehen, indem in anderen Fällen hierbei sehr bald eine Zersetzung eintritt, welche Kühne und Chittenden<sup>2)</sup> bereits theilweise beobachteten, als sie behufs Trocknung der Peptone dieselben nur auf 110° erwärmten.

Zu einem nach dieser Richtung hin angestellten Versuch verwandte ich vollkommen albumosefreie Peptone, die vorher bei 100° getrocknet waren.

Eine Zersetzung begann augenscheinlich schon bei wenig über 100° C. und nahm zu, je höher ich die Temperatur steigen liess.

Sowohl Ampho- wie Antipepton färbten sich unter Aufblähen und Entwicklung stark brenzlich riechender Dämpfe immer dunkler, bis schliesslich bei 200° eine tief schwarze Masse resultirte.

Proben wurden bei verschiedenen Temperaturen entnommen. Dieselben lösten sich bis 170° kurze Zeit erhitzt mit Leichtigkeit

1) Verhandl. des naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. 3 S. 291.

2) Zeitschr. f. Biol. Bd. 22 S. 428 u. 437.

in kaltem Wasser, ohne dass sie noch Biuretreaction gaben oder durch Sättigung mit Ammoniumsulfat auch nur getrübt wurden. Bis 200° erhitztes Pepton lieferte dieselben Producte wie die schliesslich zersetzten Albumosen, nämlich einen kaffeesatzähnlichen Körper, der jeder Reaction unzugänglich war.

Indem ich glaube, dass aus dem bisher Angeführten die Beziehungen der verschiedenen bei der peptischen Verdauung entstehenden Albumosen zu einander genügend hervorgeht, erübrigt es nunmehr auch, die tryptische Verdauung des Fibrins einer Betrachtung zu unterwerfen.

Eine diesbezügliche Angabe liegt von Jac. G. Otto<sup>1)</sup> vor. Er beobachtete bei der Einwirkung von Pankreasauszug auf Fibrin bis zur völligen Lösung des letzteren keine Bildung von Albumosen, welche aus neutraler Lösung durch Steinsalz fällbar sind (also von Prot- und Heteroalbumose), nachdem er die Flüssigkeit von Globulin-substanz auf eine nicht angegebene Methode völlig befreit hatte. Dagegen erhielt er eine Albumosenfällung durch Zusatz von Salzsäure, die also Deuteroalbumose war.

Bei der Wiederholung dieses Versuches war es die nächste Aufgabe, die Globulinsubstanz zu entfernen, welche in den tryptischen Verdauungslösungen neben den ersten Spaltungsproducten des Fibrins immer zu finden ist.

Die Auffassung, dass dieses Globulin bereits ein spezifisches Product der tryptischen Einwirkung sei, scheint mir nicht haltbar, da ich die Beobachtung machte, dass von reinem Fibrin, welches mit einer 0,2 proc. Sodalösung während 24 Stunden auf 40° erwärmt wird, ebenfalls nicht unbedeutende Mengen einer Substanz in Lösung gehen von genau demselben Verhalten wie dies Globulin. Ja, das letztere lässt sich immer wieder von neuem in der Flüssigkeit nachweisen, wenn man Fibrin gleichviel, ob im frischen oder gekochten Zustande mit Glaspulver fein zerreibt und unter Tymolzusatz mit einer 5 proc. Chlornatrium haltigen 0,4 proc. Sodalösung bei 40° behandelt.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 8 S. 133.

Hierzu kommt, dass diese Globulinsubstanz keineswegs allgemein bei der Trypsinwirkung auf Eiweiss entsteht, indem das krystallisirende Vitellin mit diesem Enzym behandelt, direct Albumosen liefert, ohne dass sich die vorausgehende Bildung eines dem Globulin entsprechenden Körpers nachweisen liesse. Ebenso verhält sich reines Serumalbumin. Weder durch schwaches Ansäuern, noch durch Dialyse seiner mit Trypsin behandelten Lösung konnte ich mich in irgend einem Stadium von dem Vorhandensein einer globulinartigen Substanz überzeugen.

Es scheint somit die Annahme gerechtfertigt, dass ähnlich der Pepsinwirkung auch die des Trypsins zunächst nur die Lösung des Fibrins in der alkalischen Flüssigkeit befördert, und zwar entweder als solches, oder nachdem die Verschmelzung des Para- und Metaglobulins durch die Hydrolyse aufgehoben wurde, so dass dann diese Globuline erst der eigentlichen Verdauung anheim fallen.

Vermuthlich hat hierauf auch die Thatsache Bezug, dass chemisch reines, also jedes Lösungsmittels für die globulinartigen Eiweisskörper bares Trypsin gegen Fibrin unwirksam ist, aber durch den Zusatz von etwas Kochsalz zum reinen Wasser seine digestive Function wieder erlangt.

Von den bekannten Fällungsmethoden des Globulins fand ich für die vorliegende Aufgabe die einfachste, nämlich Kochen der neutralen oder soweit angesäuerten Lösung, als noch eine Ausscheidung erfolgt, nicht geeignet, indem hiernach immer, wenn auch geringe Mengen des Globulins in Lösung blieben, daran erkenntlich, dass der in einer Probe durch Salpetersäure und etwas Kochsalzlösung in der Kälte entstehende Niederschlag sich beim Kochen nicht wieder vollständig löste.

Anwendbar war auch nicht die Sättigung der Lösung mit neutralem Magnesiumsulphat bei 30°, wodurch zwar eine vollständige Ausfällung der Globuline bewirkt wird, aber auch die Prot- und Heteroalbumose zum grössten Theil sich niederschlagen.

Somit blieb nur die Dialyse übrig, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, dass hierdurch auch etwa in der Flüssigkeit vorhandene Heteroalbumose unlöslich wird.

Die bei der Pepsinverdauung gemachten Erfahrungen legten die Vermuthung nahe, dass auch bei der Trypsinwirkung auf Fibrin zunächst Prot- und Heteroalbumose entstünden, welche dann weiterhin in Deuteroalbumose übergehen.

Mit Rücksicht hierauf erwärmte ich annähernd gleiche Portionen feinzerriebenen Fibrins und ebenso einen albumosenfreien Pankreasauszug auf 40°, vereinigte dann eine jede der Fibrinmengen mit einem gleichen Volumen der Trypsinlösung und unterbrach von zehn zu zehn Minuten eine dieser Verdauungen.

Die auf diese Weise gewonnenen Verdauungsflüssigkeiten wurden mit Salzsäure neutralisirt, gekocht und einer zweitägigen Dialyse ausgesetzt, wobei eine nachweisbare Abscheidung von Heteroalbumose nicht stattfand.

Sämmtliche neutralen Verdauungsproben blieben durch Sättigung mit Steinsalz vollkommen klar, enthielten aber nichts desto weniger geringe Spuren von Protalbumose, nur daran erkenntlich, dass Kupfersulphat Trübung erzeugte. Reichlich dagegen war Deuteroalbumose, namentlich in den am längsten erwärmten Portionen vorhanden.

Um die Einwirkung des Enzyms abzuschwächen, wiederholte ich dieselben Versuche mit gekochtem Fibrin, welches sich im grossen Ueberschuss befand, ohne indessen ein anderes Resultat als vorher zu erhalten.

Wie bereits gezeigt wurde, ist im Gegensatze zur Heteroalbumose die durch peptische Verdauung gewonnene Protalbumose nicht im Stande, eine Deuteroalbumose zu liefern, sondern fällt direct der Zersetzung anheim.

Ganz ähnliche Verhältnisse finden also auch statt bei unmittelbarer Einwirkung des Trypsins auf Fibrin. Es scheint hier schon im Entstehungsmoment die Heteroalbumose so schnell in Deuteroalbumose verwandelt zu werden und die Protalbumose zu zerfallen, dass letztere immer nur in Spuren nachweisbar ist.

Bei der directen Einwirkung auf Fibrin nicht minder wie bei der auf Protalbumose offenbart sich die geringe Widerstandsfähigkeit der Hemigruppe gegen das tryptische Ferment.

Die durch Trypsinwirkung gelieferte Deuteroalbumose geht wahrscheinlich in der Weise aus den Elementen der Heteroalbumose her-

vor, dass nach Zersetzung der Hemigruppe nur die Antigruppe das Material für dieselbe bildet.

In der That entsteht lediglich eine Antideuteroalbumose, denn nach der bekannten Methode isolirt, zeigt sie zwar in ihren Reactionen keine Abweichung von der Deuteroalbumose der peptischen Verdauung, wird aber, beliebig lange mit Trypsin behandelt, ohne Zersetzung zu erleiden in Antipepton übergeführt.

Dem entsprechende Resultate ergab die Trypsinwirkung auf Deuteroalbumose, welche aus einer peptischen Verdauung stammte. Es gelingt hier nach vorgeschrittener Peptonbildung durch Sättigung der Lösung mit Ammoniumsulphat noch eine geringe Albumosenausscheidung zu erhalten, welche sich ebenfalls als Antideuteroalbumose erweist.

Es erhellt, wie durch diese Thatsachen bei der tryptischen Verdauung die Auffassung der Protalbumose als reinen Hemikörper wesentliche Unterstützung findet.

---

## Ueber Vitellosen.

Von

**Dr. R. Neumeister.**

Im Anschluss an die Arbeiten von Kühne und Chittenden über die Albumosen des Fibrins<sup>1)</sup>, welchen neuerdings die Untersuchung über die Globulosen<sup>2)</sup> gefolgt ist, habe ich es unternommen, die entsprechenden Verdauungsproducte des vegetabilischen Vitellins zu isoliren, eines Eiweisskörpers, der sogleich ein grosses physiologisch-chemisches Interesse erregt hat, nachdem er durch die von Drechsel<sup>3)</sup> und Grübler<sup>4)</sup> angegebene Darstellungsweise allgemein zugänglich geworden ist.

Eine Arbeit „über Hemialbumose aus vegetabilischem Eiweiss“ liegt von F. Szymanski bereits vor<sup>5)</sup>. Indessen ist derselbe „auf die Unterschiede, welche Kühne und Chittenden zwischen ihren mittelst Pepsin und Säure erhaltenen Albumosen machen“, nicht eingegangen. Auch war die Muttersubstanz, aus der diese Albumosen erhalten wurden, wie der Verfasser angibt, kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemisch von Conglutin und Legumin.

Das Vitellin dagegen bietet durch seine Fähigkeit zu krystallisiren eine Garantie absoluter Reinheit, ausserdem aber wählte ich diesen Eiweisskörper, weil er in Bezug auf Herstammung möglichst abweicht von den Muttersubstanzen der bisher dargestellten Albumosen und Globulosen.

Zur Untersuchung dienten mir 45<sup>g</sup> des von Grübler hergestellten Präparats aus Kürbissamen.

1) Zeitschrift f. Biol. Bd. 20 S. 11.

2) Zeitschrift f. Biol. Bd. 22 S. 409.

3) Journ. f. pract. Chem. Bd. 19 S. 331.

4) Journ. f. pract. Chem. Bd. 23 S. 97.

5) Berichte d. deutschen chem. Ges. 1885 S. 1371

### Peptische Verdauung des Phytovitellins.

Da es darauf ankam, den hydrolytischen Process auf die Bildung von Vitellosen zu beschränken, musste eine möglichst gleichmässige Einwirkung des Ferments auf die ganze Menge des Vitellins erzielt werden.

Digerirt man Vitellin, gleichviel, ob in der Kälte oder unter Erwärmen mit 0,4 proc. Salzsäure, so wird dasselbe zwar reichlich, aber niemals vollständig hiervon aufgenommen und folglich auch der peptischen Einwirkung kein gleichartiger Angriffspunkt geboten.

Aber auch die Lösung vom Rückstand getrennt wird nicht gleichmässig verdaut, denn sie enthält nach der Einwirkung von Pepsin neben Syntonin immer noch bemerkenswerthe Mengen unveränderten Vitellins. Neutralisirt man die Verdauungsflüssigkeit, genau, nachdem bereits Vitellosenbildung eingetreten ist, so erscheint zwar ein reichlicher Niederschlag, der sich aber bei ganz schwachem Ansäuern noch bedeutend vermehrt. Dass diese zweite Fällung unverändertes Vitellin ist, zeigt die Prüfung des Gesamtniederschlages. Nach dem völligen Auswaschen desselben mit Wasser geht ein Theil davon durch 10% Chlornatrium in Lösung, fällt vom Rückstande getrennt beim schwachen Ansäuern zum grössten Theil, aber nie vollständig aus, coagulirt beim Kochen der neutralen Flüssigkeit ebenso wie nach dem Zusatz von Salpetersäure, scheidet sich durch völlige Sättigung mit Steinsalz dagegen nicht aus.

Es ist nämlich zu berücksichtigen, dass die Verdauungslösung durch die Neutralisation kochsalzhaltig wird und dass in 1% Chlornatrium das Vitellin, wie ein Versuch belehrt, in gewisser Menge löslich ist.

Eine Beimischung unveränderten Vitellins zur Verdauungslösung lässt sich aber leicht und vollständig ausschliessen, wenn man ersteres zunächst in Wasser suspendirt, durch Coagulation unlöslich macht und darauf erst mit 0,2 proc. Salzsäure und reinem Pepsin behandelt.

Das Enzym wirkt auf das Coagulat leicht ein, nicht langsamer wie auf frisches Fibrin.

Nachdem dasselbe fast vollständig zergangen, wurde durch genaues Neutralisiren reines Syntonin erhalten, denn die Verdauungs-

flüssigkeit blieb nach der Entfernung des Niederschlages beim schwachen Ansäuern vollständig klar.

Das gewonnene Syntonin wurde zunächst mit 5 %  $\text{ClNa}$ , sodann mit Wasser vollständig ausgewaschen.

Es zeigt in Bezug auf leichte Löslichkeit in verdünnter Soda und Säure, sowie auf vollständige Fällbarkeit aller seiner Lösungen beim Neutralisiren, sowie durch Sättigung mit Steinsalz keine Abweichung von den bisher bekannten Acidalbuminen.

Sehr kleine Mengen in Wasser suspendirt werden durch starke Salpetersäure in der Kälte nicht aufgenommen, beim Kochen aber scheinbar vermindert, ohne sich indessen jemals vollständig zu lösen. Je mehr man gleichzeitig zur Flüssigkeit Kochsalzlösung gibt, um so weniger verändert sich der Niederschlag in der angegebenen Weise beim Sieden.

Es ist hier eine Eigenthümlichkeit des Vitellins anzuführen, auf welche hin auch andere peptonfreie vegetabilische Eiweisskörper untersucht werden sollten.

Dasselbe verhält sich nämlich gegen Natronlauge und Kupfersulphatlösung genau wie die Peptone und Albumosen, gibt also mit diesem Reagens in der Kälte eine purpurrothe Färbung (Biuret-reaction), nicht die blauviolette der übrigen Eiweisskörper.

Dieselbe Reaction zeigt das aus dem Vitellin entstandene Syntonin, welches daher nur durch seine Unlöslichkeit in Salpetersäure beim Kochen als solches gegenüber den Vitellosen und Albumosen charakterisirt ist.

Das Acidalbumin mit den noch vorhandenen Resten des coagulirten Vitellins vereinigt, wurde einer erneuten Verdauung unterworfen, bis beim Neutralisiren nur noch sehr wenig Syntonin sich ausschied.

Die Verdauungslöung bildet schliesslich nach der Abscheidung einer mässigen Menge von Antivitellid eine klare Flüssigkeit, die auch beim Kochen sich nicht trübt und demnach einen Körper, welcher der coagulirbaren Substanz der peptischen Globulinverdauung <sup>1)</sup> entspräche, nicht enthält.

1) Zeitschrift f. Biol. Bd. 22 S. 413.

### Tryptische Verdauung des Phytovitellins.

Auf Grund der meisten bisher beobachteten Verdauungsvorgänge wird mit Recht angenommen, dass von den beiden peptonisirenden Enzymen das Trypsin, wie es bekanntlich allein nur im Stande ist auf die Albumine bis zur Bildung der Amidosäuren zersetzend einzuwirken, auch die vorausgehende hydrolytische Spaltung in Albumosen und Peptone schneller leiste als das Pepsin. Die letztere Thatsache findet indess auf die Verdauung des Vitellins keine Anwendung.

Dasselbe wird auch im coagulirten Zustande, wie gezeigt wurde, durch peptische Einwirkung schnell gelöst, viel resistenter aber verhält es sich gegen das Trypsin.

Verwendet man zum Versuch eine 0,2proc. sodahaltige reine Trypsinlösung, solcher Verdünnung, dass sie eine Fibrinflocke in einer Viertelstunde auflöst, so bedarf es zur Verflüssigung in ihr suspendirten Vitellins bis zur vollständigen Durchsichtigkeit der Lösung etwa 24 Stunden und auch dann fällt der Eiweisskörper beim Neutralisiren fast noch vollständig wieder aus. Um Albumosen und Peptone zu erhalten, ist eine Einwirkung von etwa vier Tagen nöthig, wo dann bereits eine partielle weitere Zersetzung durch die Violettfärbung einer gerade angesäuerten Probe beim Zusatz von Bromwasser sich anzeigt. Eine Bildung von Antivitellid wurde hierbei nur in unbedeutender Menge wahrgenommen.

Nunmehr wurde durch Neutralisiren mit Salzsäure ein reichlicher Niederschlag hervorgerufen, der sich beim schwachen Ansäuern stark vermehrte. Derselbe erwies sich nach dem Auswaschen der Säure durchaus als unverändertes Vitellin.

Denn er löste sich vollständig in 10% Chlorammonium bei 45° um beim Erkalten sich theilweise wieder krystallinisch abzuscheiden.

Ein Auszug mit 5proc. Chlornatriumlösung, welcher reichlich Eiweiss enthielt, blieb nach Sättigung mit Steinsalz vollständig klar. Demnach war bei der Verdauung ein anderer globulinartiger Körper, welcher hierdurch sich ausgeschieden hätte, nicht entstanden.

Das Filtrat vom abgeschiedenen Vitellin wurde nach genauem Neutralisiren gekocht, wodurch noch gelöstes Eiweiss als unbedeutendes Coagulat entfernt werden konnte.

Die Hälfte der klaren Verdauungsflüssigkeit schied nach ihrer Sättigung mit Ammoniumsulphat Vitellosen ab.

Dieser Niederschlag ergab sich entsprechend der tryptischen Verdauung des Fibrins lediglich als Antideuterovitellose. Denn ihre Lösung in Wasser blieb beim Dialysiren ebenso nach Sättigung mit Steinsalz vollkommen klar, wurde aber gefällt beim gleichzeitigen Ansäuern. Durch weitere tryptische Einwirkung gab sie nur unzersetzbares Antipepton.

Im Rest der Verdauungslösung liessen sich nach dem Eindampfen und üblichem Extrahiren mit Alkohol als Endproducte der digestiven Zersetzung Leucin und Tyrosin in ihren charakteristischen Krystallformen mikroskopisch auch hier nachweisen. Letzteres veranlasste ferner in einer Probe die violette Färbung der Piria'schen Reaction.

Dass sich bei der Zersetzung krystallisirten Vitellins durch anhaltendes Kochen mit Zinnchlorür und starker Salzsäure ausser Leucin und Tyrosin noch Asparaginsäure, Glutaminsäure und Phenylamidopropionsäure bilden, hat E. Schulze<sup>1)</sup> nachgewiesen.

### Antivitellid.

Dasselbe in hinreichender Menge bei der peptischen Verdauung gewonnen löst sich leicht in 0,2% Soda und wird aus dieser Lösung durch Behandlung mit wenig Trypsin bei 40° als Gerinnsel gefällt. Durch Auswaschen mit warmer Schwefelsäure von 1% und schliesslich mit Wasser wurde er völlig gereinigt.

Das Antivitellid unterscheidet sich in seinen Reactionen vom Antialbumid wesentlich darin, dass es einmal in Soda aufgenommen hierdurch für verdünnte Essig- oder Salzsäure irgend welcher Concentration nicht löslich wird. Im Uebrigen gibt es die Biuretreaction und wird aus seinen alkalischen Lösungen durch Steinsalz gefällt.

Durch Kochen mit 5 proc. Schwefelsäure liefert es Antideuterovitellose und einen weiter nicht mehr veränderlichen Körper, ganz entsprechend demjenigen, welcher bei der gleichen Behandlung des Antialbumids beschrieben wurde.

1) Zeitschrift f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 69.

### Die Vitellosen.

Die peptische Verdauungslösung wurde durch Sättigung mit Steinsalz stark gefällt. Der Niederschlag ist nur zum Theil durch chlornatriumhaltiges Wasser wieder auflöslich. Der Rückstand bestand aus Dysvitellose. Heterovitellose fehlte fast gänzlich, da die salzhaltige Lösung bei der Dialyse im Wesentlichen klar blieb.

Durch Steinsalzsättigung wurde aus der concentrirten Vitellosenlösung Protovitellose ausgeschieden, sodann ein Gemisch von Proto- und Deuterovitellose durch salzgesättigte Essigsäure. Im Filtrat vom letzteren befand sich noch reichlich Deuterovitellose, welche nach der Neutralisation durch Dialyse von den Natronsalzen befreit, von dem Pepton durch Sättigung der Lösung mit Ammoniumsulphat getrennt wurde.

Lässt man die concentrirten salzfreien Vitelloselösungen in absoluten Alkohol tropfen, so wird ein Zusammenballen der Niederschläge verhindert. Nach der Verdrängung des Alkohols durch Aether und Trocknen im Exsiccator erhält man die Vitellosen als schneeweiße Pulver.

Sie geben sämmtlich die Biuretreaction. Die Aschen derselben lösen sich vollständig in Salpetersäure ohne Entwicklung von Kohlenensäure. Diese Lösungen sind frei von Chlor und enthalten wesentlich Calciumsulphat.

### Protovitellose.

Sie ist vollkommen klar in Wasser löslich, wenn auch bei weitem nicht so leicht wie die Deuterovitellose. Die durch siedendes Wasser hergestellten concentrirten Lösungen werden beim Abkühlen trüb, um sich beim Erhitzen wieder zu klären. Die Lösung bleibt klar sowohl beim Kochen, als auch wenn man die neutrale Reaction verändert.

Steinsalzsättigung fällt die neutrale Lösung etwa zur Hälfte. Der im Filtrat hiervon noch gelöste Antheil wird durch einen geringen Zusatz salzgesättigter Essigsäure vollständig ausgefällt.

Salpetersäure fällt die salzfreie Lösung, indem anfangs jeder Tropfen einen Niederschlag erzeugt, welcher beim Umschütteln sich

löst. Sodann erfolgt Fällung, die beim Kochen unter Gelbfärbung der Flüssigkeit verschwindet. Je mehr man zur Lösung gleichzeitig Kochsalz gibt, desto weniger Salpetersäure bedarf es, um in der Kälte einen bleibenden Niederschlag zu erzeugen, um so weniger schnell aber erfolgt Gelbfärbung beim Kochen, die bei einem gewissen Gehalt an Chlornatrium überhaupt ausbleibt.

Vorher stark mit Essigsäure versetzte Lösungen werden durch Salpetersäure auch in der Kälte nicht einmal getrübt, dagegen werden sie hierdurch sogleich gelb gefärbt. Ebenso löst ein Ueberschuss von Salpetersäure die in salzfreien wie salzhaltigen Lösungen anfangs hervorgegerufenen Niederschläge schon in der Kälte unter Gelbfärbung.

Der durch Gerbsäure bewirkte Niederschlag wird im starken Ueberschuss derselben, namentlich aber auch beim Kochen geringer, niemals aber vollständig gelöst.

Im Ueberschuss des Fällungsmittels unlösliche Ausscheidungen erzeugen Ferrocyankalium in angesäuerten Lösungen, Quecksilberchlorid und starke Natronlauge; wogegen die durch Kupfersulphat und basisches Bleiäretat entstandenen Niederschläge sich im Ueberschuss dieser Salze lösen. Kochen mit Natronlauge und Bleilösung bewirkt tiefe Schwärzung durch Bildung von Schwefelblei.

Unterwirft man die Protovitellose der tryptischen Einwirkung, so scheidet sie nur eine Spur von Antivitellid ab. Im Uebrigen wird sie als solche in die Endproducte dieser Verdauung gespalten, das heisst in Antipepton, Tyrosin, Leucin und den mit Brom violett werdenden Körper.

Peptische Einwirkung dagegen oder Kochen mit Säuren führen die Protovitellose in Deuterovitellose über.

0,5552<sup>g</sup> Protovitellose gaben 0,0026<sup>g</sup> = 0,47% Asche.

### Hetero- und Dysvitellose.

Heterovitellose durch die peptische Verdauung nicht in genügender Menge gebildet, wurde durch Dialysiren des Filtrats aus der neutralisirten salzsauren Auflösung der Dysvitellose reichlich gewonnen.

Spuren von Heterovitellose wurden indessen immer, sowohl beim Dialysiren der Protovitellose als auch der Deuterovitellose als geringfügige Abscheidungen nachgewiesen.

Die Heterovitellose wird schwer nach längerem Digeriren durch Kochsalzlösung (7 %) aufgenommen, um hieraus nach der Sättigung derselben mit Steinsalz reichlich, aber nicht vollständig auszufallen, so dass Salpetersäure in dem mit Wasser verdünnten Filtrat deutlich die Albumosenreaction gibt.

Was in der Flüssigkeit in Lösung geblieben, erfährt durch Zusatz eines Tropfens salzgesättigter Essigsäure starke Trübung, die beim Kochen sehr gering wird, ohne indessen gänzlich zu verschwinden, beim Abkühlen in der früheren Deutlichkeit wiederkehrt. Im grossen Ueberschuss der Säure wird die Lösung klar, bei einer gewissen Säuremenge vollständig gefällt.

Auch die Heterovitellose zeigt wie die Heteroalbumose die Eigenschaft, beim Kochen im reinen Wasser sowohl wie in einer concentrirten neutralen Lösung zu coaguliren. Im Weiteren verhält sie sich hierauf genau wie die letztere, so dass ich mich auf die von Kühne und Chittenden angegebenen Reactionen<sup>1)</sup> beziehen kann.

Ebenso weicht sie in Bezug auf ihre Löslichkeit in Säuren und Alkalien nicht von der Heteroalbumose ab.

Neutrale Lösungen werden durch sehr wenig Essigsäure anfangs getrübt, bei stärkerem Zusatz derselben wieder klar.

Salpetersäure fällt die Lösungen und zwar um so stärker, je mehr man hierauf gesättigte Chlornatriumlösung zugibt. In der Hitze erfolgt Lösung, ebenso schon in der Kälte, wenn die Salpetersäure im Ueberschuss oder starke Essigsäure zugesetzt wird.

Einen im Ueberschuss der Säure auflöslichen Niederschlag erzeugt Ferrocyankalium und Essigsäure.

Dagegen sind die durch Kupfersulphat und basischer Bleiacetat erfolgenden Ausscheidungen in Ueberschuss der Fällungsmittel bleibend.

Sublimat bewirkt keine Trübung, eine solche tritt aber ein beim Ansäuern mit Essigsäure, um im Ueberschuss der letzteren wieder zu schwinden.

Durch tryptische Einwirkung wird die Heterovitellose unter reichlicher Abscheidung von Antivitellid in Antideuterovitellose, durch

---

1) Zeitschrift f. Biol. Bd. 20 S. 34.

die peptische Verdauung oder durch Kochen mit Säuren dagegen in Amphodeuterovitellose übergeführt.

0,3846<sup>g</sup> Heterovitellose gaben 0,0043<sup>g</sup> = 1,12% Asche.

### Deuterovitellose.

Ihre neutralen Auflösungen werden durch Steinsalz bei keiner Temperatur gefällt. Erst nach dem Zusatz salzgesättigter Essigsäure tritt Fällung ein, die indessen nur eine sehr unvollkommene ist, da bei weitem die grösste Menge in Lösung bleibt. Setzt man etwas mehr von der Säure zu, so wird die Flüssigkeit wieder klar.

Salpetersäure trübt auch in der Kälte die salzfreien Lösungen nicht, aber auch ebenso wenig solche, die sehr reichlich Chlornatrium enthalten. Erst nahezu vollständig mit Steinsalz gesättigte Lösungen werden durch Salpetersäure gefällt. Es geht demnach bemerkenswertherweise der Deuterovitellose das allgemeine Verhalten der Albumosen, durch Salpetersäure und wenig Chlornatrium in der Kälte gefällt zu werden, ab.

Sättigt man jedoch eine mit Salpetersäure versetzte Lösung so weit mit Steinsalz, dass gerade Trübung entsteht und giesst dann von den Krystallen ab, so klärt sich die trübe Flüssigkeit beim Erhitzen, um in der Kälte wieder undurchsichtig zu werden.

Ebenso wie Salpetersäure verhält sich Essigsäure gegen die Deuterovitelloselösungen, um so mehr, als auch eine Gelbfärbung der letzteren durch Salpetersäure nicht wahrzunehmen ist.

Basisches Bleiacetat bewirkt eine im Ueberschuss desselben auflösliche, Sublimat sowie Ferrocyankalium und Säure eine bleibende Fällung.

Die aus der peptischen Verdauung erhaltene Deuterovitellose erfährt durch Kupfersulphat eine deutliche im Ueberschuss des Kupfersalzes unlösliche Trübung, im Gegensatz zu der nach der nämlichen Methode gewonnenen Deuteroalbumose. Dagegen blieb die durch tryptische Einwirkung auf Vitellin sowie auf die Heterovitellose und ferner die durch Kochen des Antivitellids mit Schwefelsäure hervorgehende Antideuterovitellose beim Zusatz von Kupfersulphat klar. Ob, dieses abweichende Verhalten in der That auf eine verschiedene Reaction der Ampho- und Antideutero-

vitellose zu beziehen ist, oder vielmehr einer noch nicht völlig gelungenen Abscheidung der Heterovitellose aus der peptischen Deuterovitelloselösung zugeschrieben werden muss, ist vorläufig nicht zu entscheiden, um so weniger als auch in den salzfreien Lösungen der Proto- und Deuterovitellose die Heterovitellose nicht ganz unlöslich scheint.

0,4288 g Deuterovitellose gaben 0,0039 = 0,91% Asche.

Wegen mangelnden Materials musste ich vorläufig auf die Elementaranalyse der einzelnen Vitellosen verzichten, doch behalte ich mir die nachträgliche Mittheilung derselben vor.

Im Ganzen erhellt aus dem Obigen, dass abgesehen von einzelnen Reactionen sich die Vitellosen nicht wesentlich von den entsprechenden Spaltungsproducten des Fibrins und des Globulins unterscheiden. Namentlich ihre Beziehungen zu einander erscheinen durchaus denen der Albumosen analog, so dass die dort von mir gegebene Uebersicht der nach einander entstehenden peptischen Verdauungsproducte auch für die des Vitellins volle Gültigkeit behält.

Schliesslich gereicht es mir zur angenehmen Pflicht, Herrn Geheimrat Professor Dr. Kühne für die Anregung zu den beiden vorstehenden Arbeiten, sowie die mir hierbei gewährte freundliche Unterstützung meinen verbindlichsten Dank abzustatten.



12844