

144. Über jodierte Eiweisskörper und deren Wirkung

von I. Abelin.

(19. IX. 42.)

Das Verdienst, die weite Verbreitung des Jods in tierischen und pflanzlichen Zellen nachgewiesen zu haben kommt *Chatin*, *v. Fellenberg* und *McClendon* zu. Als Hauptträger des Jods erwies sich das Eiweiss. Demgemäss sind die Fragen der Eiweissjodierung sowohl für den Chemiker wie für den Biologen von hohem Interesse. *Drechsel*¹⁾, *Henze*²⁾, *Wheeler* und *Jamieson*³⁾, *Oswald*⁴⁾ u. a. haben das Dijod-tyrosin als eine der Hauptformen des organisch gebundenen Jods erkannt. Später wurde eine Bindung des Jods auch durch die Aminosäuren Histidin und Tryptophan nachgewiesen. Ebenso wie beim Histidin und Tryptophan kann auch die C-N-Struktur der Polypeptidketten Jod aufnehmen. Diese hauptsächlich Befunde der älteren Forschung wurden durch die wertvollen Untersuchungen von *Kendall*⁵⁾ und *Harington*⁶⁾ bereichert, welche eine neue Bindungsart des Jods an die sogen. Thyroninstruktur [β -4(4'-Hydroxyphenon-oxyphenyl)- α -aminopropionsäure] erkannten. Nach den zuerst von *Harington* entwickelten Vorstellungen bildet sich das Thyroxin aus 2 Molekeln Dijod-tyrosin unter Abspaltung von Alanin unter gleichzeitiger Verknüpfung der beiden aromatischen Ringe mit Hilfe eines Sauerstoffatoms. Die interessante und mehrfach bestätigte Angabe von *v. Mutzenbecher*⁷⁾, dass Dijod-tyrosin selbst in vitro teilweise in Thyroxin übergeht, darf als weitere Stütze der engen Zusammenhänge zwischen diesen beiden Jodverbindungen angesehen werden.

Bei der Kondensation von 1 Mol. Dijod-tyrosin mit einer Mol. Tyrosin würde unter Austritt von Alanin ein Dijod-tyronin gebildet werden. Diese Substanz wirkt durchaus schilddrüsenähnlich (*Harington*), sie liess sich aber bis jetzt weder unter den natürlichen noch unter den künstlichen Jodeiweissderivaten nachweisen. *Bovarnik*, *Bloch* und *Foster*⁸⁾ dachten an die Möglichkeit einer weitergehenden Kondensation zwischen einer Molekel Thyroxin und einer Molekel

1) *Drechsel*, E., Z. Biol. **33**, 85 (1895).

2) *Henze*, M., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Ch.* **51**, 64 (1907).

3) *Wheeler*, H. L. und *Jamieson*, G. S., J. Biol. Chem. **7**, 1 (1909).

4) *Oswald*, A., Z. physiol. Ch. **70**, 310 (1910); **71**, 200 (1911); **72**, 374 (1911); **74**, 290 (1911).

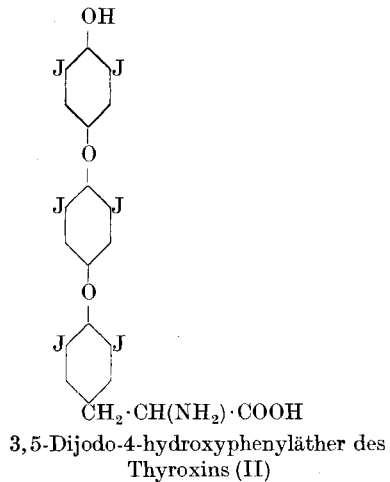
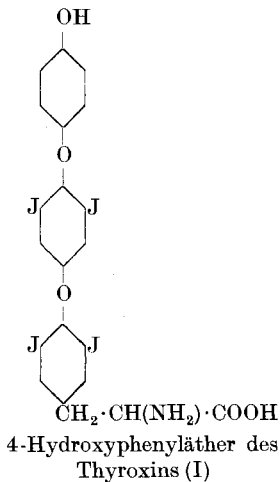
5) *Kendall*, E. C., Thyroxine, New-York 1929.

6) *Harington*, Ch. R., The Thyroid Gland, London 1933.

7) *v. Mutzenbecher*, P., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Ch.* **261**, 253 (1939).

8) *Bovarnik*, M., *Bloch*, K., *Foster*, G. L., Am. Soc. **61**, 2472 (1939).

Tyrosin, bzw. Dijod-tyrosin. Sie stellten synthetisch den 4-Hydroxyphenyläther (I) und den 3,5-Dijodo-4-hydroxyphenyläther (II) des Thyroxins dar. Beide Substanzen erwiesen sich als physiologisch unwirksam.



Bald nach der Synthese des Thyroxins und der Isolierung des Dijod-tyrosins aus dem Schilddrüsengewebe durch *Harington* begannen die eigenen Studien über die Jodierung der Eiweisskörper. Eine Reihe verschiedener Untersuchungen führte zur Erkenntnis der prinzipiell weitgehend übereinstimmenden Vorgänge bei der Eiweissjodierung *in vivo* und *in vitro*. Sowohl aus dem Jodthyreoglobulin wie aus den meisten von mir künstlich hergestellten Jodproteinen liessen sich jodreiche Abbauprodukte gewinnen, welche in ihrem chemischen und hauptsächlich im biologischen Verhalten übereinstimmten. So zeigten die bei der alkalischen Hydrolyse des Jodcaseins gewonnenen Substanzen sämtliche bis jetzt bekannten physiologischen Wirkungen des Schilddrüsenhormons¹⁾. *Ludwig* und *v. Mutzenbecher*²⁾ ist es dann geglückt, aus solchen Hydrolysaten jodierter Eiweisskörper Thyroxin in chemisch reiner Form zu isolieren. Die allgemeine biologische Bedeutung dieser neuen Tatsachen wurde vor kurzem an anderer Stelle ausführlicher besprochen; zur Vermeidung von Wiederholungen sei daher auf diese Abhandlung verwiesen³⁾. Für die weitere Erforschung des ganzen Problems sind 2 Fragen besonders wichtig:

1. Die Frage nach den am besten geeigneten Methoden der Eiweissjodierung.

¹⁾ *Abelin* und Mitarb., Arch exptl. Pathol. Pharmakol. **171**, 443 (1933); **175**, 146, 151 (1934); **181**, 250 (1936); **189**, 437 (1938); Klin. Wschr. **1934**, 940.

²⁾ *Ludwig, W.* und *v. Mutzenbecher, P.*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Ch. **258**, 195 (1939).

³⁾ *Abelin, I.*, Schw. Med. Wschr. **69**, 1241 (1939).

2. Die Frage nach der physiologischen Aktivität der gewonnenen Jodeiweissverbindungen.

ad 1). Die Jodierung des Eiweisses.

Das Jod reagiert mit dem Eiweiss sehr schnell und recht vielseitig. Substitutionen, hydrolytische Spaltungen, Oxydationen usw. spielen sich mit grosser Leichtigkeit ab. Dadurch wird die Gewinnung einheitlicher Jodierungsprodukte sehr erschwert und selbst bei Einhaltung ganz gleicher Versuchsbedingungen ist es wohl kaum möglich, zwei Eiweisskörper mit gleichem Jodgehalt und gleicher Aktivität zu erhalten. Die Aufstellung allgemein gültiger Jodierungsvorschriften ist daher kaum möglich; mehr erfahrungsgemäss ergaben sich im Laufe der Jahre einige Regeln bei der Gewinnung jodierter Proteine mit aktiven Jodkomponenten. Die wichtigsten derselben sind:

a) Die Benutzung nativer Eiweisskörper. Aus abgebauten Eiweissderivaten, wie aus Pepsin- oder Trypsinpeptonen, Ereptonen usw. war es bis jetzt nicht möglich, zu wirksamen jodhaltigen Produkten zu gelangen. Obwohl theoretisch jedes tyrosinhaltige Eiweiss auch tyroxinartige Produkte liefern könnte, zeigen sich Unterschiede zwischen den einzelnen Vertretern der Proteine. Als gute Ausgangsquellen für die Gewinnung aktiver Jodeiweissverbindungen erwiesen sich hauptsächlich tierische Proteine, wie Casein, Serumalbumin, Serunglobulin, Eialbumin, frische Muskeleiweisskörper u. a.

b) Die Jodierung soll sehr langsam erfolgen und ein Überschuss von Jod ist zu vermeiden. Gewöhnlich können der Berechnung etwas mehr als 4 Atome Jod auf je eine Tyrosinmolekel zugrunde gelegt werden. Zwar wird noch mehr Jod vom Eiweiss aufgenommen, doch ohne gleichzeitige Erhöhung der Aktivität. Im Gegenteil erweisen sich jodreiche Eiweisskörper meist unwirksam oder wenig wirksam. Ein Teil des im Überschuss gebundenen Jods lässt sich gewöhnlich durch schweflige Säure, durch schwache Alkalien, durch Dialyse usw., leicht entfernen. Das an der Tyrosinmolekel verankerte Jod widersteht dagegen diesen und anderen Eingriffen.

c) Das Eiweiss kann sowohl in schwach alkalischer wie in schwach saurer Lösung jodiert werden. Die Anwendung schwacher Alkalien hat sich besser bewährt, doch kommt es ausser dem p_H auch auf die Natur des Alkalis an. So führt nicht selten die Jodierung in schwach ammoniakalischer Lösung zu wenig wirksamen oder sogar unwirksamen Produkten. Einige Autoren treten aber für die Verwendung von Ammoniak ein (*F. Blum* und *E. Strauss*¹⁾; *E. Strauss* und *H. Bauer*²⁾, *Wormall*³⁾ u. a.). Die Benutzung von Natron- oder Kalilauge ist wegen der Gefahr der Hydrolyse weniger zu empfehlen,

1) *Blum, F.* und *Strauss, E.*, Z. physiol. Ch. **127**, 199 (1923).

2) *Strauss, E.* und *Bauer, H.*, Bioch. Z. **211**, 163 (1929).

3) *Wormall, A.*, J. Exptl. Med. **51**, 295 (1930).

am häufigsten wird die Jodierung in schwach hydrogencarbonatalkalischer Lösung durchgeführt, wobei durch zeitweisen Zusatz von Natriumhydrogencarbonat für eine dauernde Aufrechterhaltung eines p_H von 8—9 gesorgt werden muss.

d) Einen sehr wesentlichen Einfluss auf den Verlauf der Jodierungsreaktionen übt die Temperatur aus. In der Absicht, die Gefahr der oxydativen Jodwirkungen nach Möglichkeit herabzusetzen, wurden von verschiedenen Autoren Temperaturen von 0° oder darunter empfohlen. Aus den so gewonnenen Jodproteinen liessen sich in eigenen und fremden Versuchen keine thyroxinartigen Jodverbindungen isolieren. Auch nimmt die Jodierung dabei einen anderen Verlauf. So haben *Ludwig* und *v. Mutzenbecher* (l. c.) aus verschiedenen in der Kälte jodierten Eiweisskörpern Monojod-thyrosin isoliert, während bei Zimmer- oder Körpertemperatur mit grösster Leichtigkeit Dijod-thyrosin gebildet wird. Man wird daher bei der Gewinnung jodierter Eiweisskörper mit aktiven Jodanteilen am liebsten Temperaturen von $37\text{—}40^{\circ}\text{C}$ anwenden.

e) Die Isolierung der aktiven jodhaltigen Eiweissfraktionen erfolgt am besten nach den Angaben von *Kendall* und *Harington*. Das jodierte Eiweiss wird einer mehrstündigen Hydrolyse mit kochender Barytlauge unterworfen, die abgekühlte Flüssigkeit auf ein p_H von 5 gebracht, wobei die thyroxinhaltigen Abbauprodukte ausfallen. Sie enthalten 30—40% Jod und besitzen die charakteristischen physiologischen Wirkungen des Schilddrüsen-eiweisses. Aus diesem Rohmaterial lässt sich, wie erwähnt, bei weiterer Behandlung Thyroxin in chemisch reiner Form isolieren.

ad 2). Die physiologische Wirksamkeit der jodierten Eiweisskörper.

Es ist sichergestellt, dass viele jodierte Eiweisskörper in ihrer Molekel Thyroxin enthalten. Kommt nun auch den nichtaufgespaltenen jodierten Proteinen eine physiologische Wirksamkeit zu, die sich etwa mit derjenigen der nativen Schilddrüsenproteine vergleichen liesse? Auf diese wichtige Frage geben einige Autoren eine positive Antwort. *Ludwig* und *v. Mutzenbecher* (l. c.) sprechen in ihrer bekannten Arbeit von der „Darstellung eines Jodproteins mit hoher Schilddrüsenwirkung“ und nehmen an, dass ihre Jodcaseine $\frac{3}{4}\text{—}\frac{1}{2}$ der biologischen Wirksamkeit eines Schilddrüsenpräparates hoher Reinheit besitzen. Als Testmethode benutzen sie die Abmagerung von Meerschweinchen, denen bestimmte Mengen der jodierten Caseine verfüttert wurden. Die Spezifität dieses Prüfungsverfahrens erscheint aber recht fraglich. Wenn auch diese Testmethode beim Vergleich verschiedener Schilddrüsenpräparate gewisse Anhaltspunkte liefern kann, so darf sie bei der Beurteilung der biologischen Aktivität künstlich gewonnener Jodeiweissverbindungen kaum weg-

leitend sein. Sowohl anorganisches Jod wie zahlreiche organische Jodverbindungen nicht thyroxinartiger Natur, aus denen aber Jod frei gemacht wird, bedingen bei wiederholter Zufuhr Körpergewichtsverluste.

Beweisender wäre eine Erhöhung der Energieproduktion. *Muus, Coons* und *Salter*¹⁾ jodierten Serumalbumin bei Zimmertemperatur in wässrig-alkoholisch-ammoniakalischer Lösung mit Kaliumtrijodid und erhielten Eiweisskörper mit einem Jodgehalt von 4—15 %. Die Autoren verfolgten den Einfluss der so gewonnenen jodierten Proteine auf den Grundumsatz und den Cholesteringehalt des Blutes von Patienten mit unterfunktionierender Schilddrüse. Die erzielten Resultate waren sehr wechsellvoll und erlauben kaum wohl ein gesichertes Urteil über die Wirksamkeit der verwendeten Jodproteine. Neuerdings beschreiben *Reinecke, Williamson* und *Turner*²⁾ einige von ihnen dargestellte Jodeiweissverbindungen. Die Prüfung der eventuellen schilddrüsenähnlichen Wirkung erfolgte auf Grund einer Beeinflussung der Kaulquappenmetamorphose und der Körpergewichtsabnahme von Meerschweinchen. Beide Reaktionen sind aber nicht charakteristisch und werden auch durch nichtthyroxinartige Stoffe (Dijod-tyrosin, anorganische und organische Jodverbindungen) ausgelöst. Die beobachteten Grundumsatzerhöhungen des Meerschweinchens betrachten *Reinecke, Williamson* und *Turner* mit einer berechtigten Reserve.

Bei der Wichtigkeit der Frage, ob native künstlich jodierte Eiweisskörper thyreoglobulinartig wirken, entschloss ich mich in Anlehnung an frühere Versuche (l. c.), einige jodierte Caseinverbindungen herzustellen und dieselben auf ihre schilddrüsenähnliche Wirksamkeit zu prüfen. Als Kriterium der physiologischen Leistungsfähigkeit sollte aber nicht eine einzige Schilddrüsenwirkung, sondern eine Anzahl miteinander verketteter und für das Schilddrüsenhormon sehr charakteristischer biologischer Reaktionen dienen. Als solche können neben der oben erwähnten Grundumsatzerhöhung und Abmagerung angesehen werden: die Beschleunigung der Herz- und Lungentätigkeit, die nervöse Übererregbarkeit der Tiere, die Fähigkeit der Leber zur Glykogenablagerung sowie der Kreatingehalt von Herz und Muskel. Wie im experimentellen Teil näher ausgeführt, liessen sich diese typischen Thyroxinwirkungen bei den künstlichen Jodproteinen nicht feststellen. Der Beweis für die Existenz jodierter nicht abgebauter Eiweisskörper mit charakteristischer Schilddrüsenwirkung muss daher (entgegen einigen Literaturangaben) als noch nicht erbracht betrachtet werden. Ferner darf nicht übersehen werden, dass Jodthyreoglobulin eine hochgiftige Substanz ist, während

¹⁾ *Muus, Coons* und *Salter*, J. Biol. Chem. **139**, 135 (1941).

²⁾ *Reinecke, Williamson* und *Turner*, J. Biol. Chem. **143**, 285 (1942).

die jodierten Eiweisskörper schadlos ertragen werden und seit Jahrzehnten in der menschlichen Therapie Verwendung finden, ohne dass bisher schilddrüsenähnliche Wirkungen bekannt wurden.

Experimenteller Teil.

Jodierung des Caseins. Präparat A1:

20 g fettfreies feingepulvertes Casein wurden unter Zusatz von 6 g Natriumhydrogencarbonat in 800 cm³ Wasser von 38° gelöst und die Lösung mit kleinen Portionen (ca. 0,4 g) Jod im Laufe von 2½ Stunden versetzt. Insgesamt wurden 2 g Jod verbraucht. Das Jodierungsgemisch blieb während 12 Stunden bei 38° stehen, worauf es mit 10-proz. Essigsäure bis zur maximalen Fällung versetzt wurde. Nach einer halben Stunde wurde durch ein Leintuch filtriert, der Niederschlag mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen und zuletzt in 125 cm³ destilliertem Wasser unter Zusatz der gerade erforderlichen Menge 10-proz. Natronlauge aufgelöst. Zwecks Entfernung der anorganischen Jodide wurde die Lösung 24 Stunden lang gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die im Dialysierschlauch befindliche Flüssigkeit wurde in dünnem Strahl in eine Mischung von 300 cm³ Äthylalkohol und 6 cm³ Eisessig eingegossen, die Fällung filtriert, mit Alkohol gewaschen und an der Luft getrocknet. Jodgehalt 4,55%.

Die Präparate A4 und A8 wurden in ähnlicher Weise hergestellt, die Abscheidung des jodierten Produktes erfolgte nicht mit Hilfe von essigsäurehaltigem Alkohol, sondern durch verdünnte Schwefelsäure bei einem p_H von 4 und Zugabe von 20 g festem Natriumsulfat auf je 1 Liter Flüssigkeit. Das Präparat A4 enthielt 4,36%, das Präparat A8 7,36% Jod.

Bei der Gewinnung des Präparates A3 wurden 50 g Casein in 200 cm³ 25-proz. Ammoniak und 800 cm³ Wasser aufgelöst, auf + 4° gebracht und bei dieser Temperatur tropfenweise mit einer Lösung von 5 g Jod und 10 g Kaliumjodid in 250 cm³ Wasser versetzt. ½ Stunde nach Zugabe der letzten Portion Kaliumtrijodidlösung wurde das Produkt zuerst bei p_H 4 gefällt, der Niederschlag in alkalischem Wasser gelöst, die Lösung dialysiert und wie oben weiterbehandelt. Jodgehalt = 3,50%.

Bei der Herstellung sämtlicher Präparate wurden die Mischungen während der ganzen Dauer der Jodierung gerührt. Die so gewonnenen Eiweisskörper geben keine Reaktion nach *Millon*, zeigen aber sonst die meisten chemischen Eigenschaften von denaturierten Proteinen.

Einfluss künstlich jodierter Eiweisskörper auf die Kalorienbildung.

Bei einer vergleichenden Prüfung der Wirkung des Jodthyreoglobulins und eines künstlich jodierten Eiweisskörpers auf die Kalorienproduktion fallen sehr wesentliche Unterschiede auf. Unter dem Einfluss der Schilddrüsensubstanz steigt die Wärmeabgabe fortwährend und nach 2—4 Wochen erscheint der Grundumsatz um etwa 60 bis 120% erhöht. In diesem Stadium entwickeln sich schwere Krankheitserscheinungen, das Tier ist nicht mehr lebensfähig.

Damit verglichen, liefert die Verfütterung eines künstlich jodierten Eiweisses ein ganz anderes, fast vollkommen harmloses Bild. Zwar treten auch hier ziemlich regelmässig Grundumsatzerhöhungen und Körpergewichtsverluste ein; dieselben nehmen aber einen anderen Verlauf als bei der Thyreotoxikose. Bei einer 3—4 Wochen dauernden täglichen Zufuhr der jodierten Caseine betragen die maximalen Grundsteigerungen 25—30%, sie sind im Gegensatz zur Hyperthyreose nur vorübergehender Natur und wachsen nicht wie dort fortwäh-

rend an. Hie und da kann eine vorübergehende Erniedrigung der Kalorienproduktion unter die Norm auftreten (vgl. Tabelle 2, Tier Nr. 198 und 199). Ferner fehlt gewöhnlich oder ist bloss schwach angedeutet die Beschleunigung der Atmung, die übrigen charakteristischen Merkmale sind ebenfalls nicht feststellbar. Es ist daher kaum statthaft, aus der Grundumsatzerhöhung allein Schlussfolgerungen über bestehende Beziehungen zum Schilddrüsenhormon abzuleiten. Ebenso unbegründet sind die in der Literatur vorliegenden quantitativen Vergleiche der Aktivität eines künstlich jodierten Proteins mit einem Schilddrüsenpulver. Ergibt z. B. das Jodeiweiss eine Grundumsatzsteigerung von 30 % und das Schilddrüsenweiweiss eine solche von 90 %, so wird dem Jodeiweiss $\frac{1}{3}$ der „Schilddrüsenwirksamkeit“ zugeschrieben, wobei aber die vielseitigen sonstigen stoffwechselphysiologischen Einflüsse des Thyreoidea-Hormons ausser acht gelassen werden.

Entsprechend den früheren Erfahrungen wirkte das in ammoniakalischer Lösung bei 4^o jodierte Casein (Präparat A3) schwächer als die bei 37—40^o jodierten Proben; es bewirkte eine Grundumsatzerhöhung von rund 12 %, die kaum in Betracht fällt. Das Körpergewicht nahm sogar zu, die Atemfrequenz pro Minute blieb unverändert (vgl. Tabelle 4).

Tabelle 1.

Zwei männliche weisse Ratten bekamen im Laufe von 29 Tagen täglich 0,2 g eines in hydrogencarbonatalkalischer Lösung bei 38—40^o jodierten Caseins peroral. Jodgehalt der Substanz 4,55% (Präparat A1). Der mittlere Grundumsatz der Normalperiode betrug beim Tier Nr. 193 1199,8 Kal. und beim Tier Nr. 194 1326,5 Kal. pro 1 m² Körperoberfläche und 24 Stunden. Das Tier Nr. 193 hatte eine durchschnittliche normale Atemfrequenz pro Minute von 88 und das Tier Nr. 194 eine solche von 92. Ernährungsart: Milch, Brot, rohe Vegetabilien.

Fütterungstag mit jodiertem Casein	Grundumsatzerhöhung im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode		Körpergewicht in g		Atemfrequenz pro Minute		Allgemeines Verhalten
	Tier Nr. 193	Tier Nr. 194	Tier Nr. 193	Tier Nr. 194	Tier Nr. 193	Tier Nr. 194	
3ter	+ 15%	+ 5%	157	188	96	89	keine nervöse Überregbarkeit, ruhiger Schlaf, kein Schwitzen, keine Darmstörungen
7ter	22,94	15,8	154	188	95	102	
9ter	14,30	—	153	180	95	101	
15ter	21,77	9,54	155	183	102	103	
18ter	7,76	8,14	154	192	84	108	
21ter	10,22	21,50	169	201	102	95	
24ter	31,84	18,92	166	194	96	95	
29ter	16,72	17,40	159	204	87	90	

Die in hydrogencarbonat-alkalischer Lösung bei 38—40^o jodierten Produkte verursachten ein Anwachsen der Kalorienproduktion von höchstens 20—35 %; die Körpergewichtsverluste sind nachweisbar, das sonstige Verhalten der Tiere war normal (vgl. Tabellen 1,

2, 3). Direkte Beziehungen zwischen Jodgehalt und Wirksamkeit der einzelnen Substanzen liessen sich nicht nachweisen, denn das Präparat A 8 mit einem Jodgehalt von 7,36% wirkte nicht wesentlich anders als die Präparate A 1 und A 4 mit 4,55 und 4,36% Jod.

Tabelle 2.

Zwei männliche weisse Ratten wurden täglich im Laufe von 25 Tagen mit 0,1 g eines in hydrogencarbonatalkalischer Lösung bei 38—40° jodierten Caseins behandelt. Jodgehalt des Präparates 4,36% (Präparat A4).

Der mittlere Grundumsatz der Normalperiode betrug beim Tier Nr. 198 1231 Kalorien pro 1 m² Körperoberfläche und 24 Stunden, beim Tier Nr. 199 1181 Kalorien.

Die durchschnittliche normale Atemfrequenz pro Minute war beim Tier Nr. 198 99 und beim Tier Nr. 199 92.

Ernährungsart: Milch, Brot, rohe Vegetabilien.

Fütterungstag mit jodiertem Casein	Grundumsatzerhöhung im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode		Körpergewicht in g		Atemfrequenz pro Minute		Allgemeines Verhalten
	Tier Nr. 198	Tier Nr. 199	Tier Nr. 198	Tier Nr. 199	Tier Nr. 198	Tier Nr. 199	
3ter	+ 9,67%	+ 2,71%	183	217	108	102	normal
5ter	14,70	3,98	189	229	81	80	
8ter	19,64	35,40	173	209	110	110	
10ter	21,00	- 8,22	175	214	104	116	
12ter	11,70	+ 2,46	172	211	104	108	
15ter	6,00	1,70	156	193	84	108	
17ter	- 12,30	13,12	162	207	75	100	
19ter	- 16,30	32,94	164	201	98	92	
23ter	+ 11,30	—	158	189	75	104	
25ter	+ 11,40	- 8,41	148	179	83	104	

Tabelle 3.

Eine männliche weisse Ratte wurde während 23 Tagen täglich mit 0,1 g eines in hydrogencarbonatalkalischer Lösung bei 38—40° jodierten Eiweisses peroral behandelt. Jodgehalt des Präparates 7,36% (Präparat A 8).

Mittlerer Grundumsatz der Normalperiode 1414 Kalorien pro 1 m² und 24 Stunden. Mittlere Atemfrequenz pro Minute 94.

Ernährungsart: Milch, Brot, rohe Vegetabilien.

Fütterungstag mit jodiertem Casein	Grundumsatzerhöhung im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode	Körpergewicht in g	Atemfrequenz pro Minute	Allgemeines Verhalten
1ter	0%	187	86	Ganz normal
5ter	9,54	186	97	
8ter	9,10	187	88	
12ter	30,7	187	95	
18ter	25,5	180	103	
21ter	28,10	176	88	
23ter	18,5	174	98	

Tabelle 4.

Zwei männliche weisse Ratten wurden 19 Tage lang täglich mit 0,1 g eines in ammoniakalischer Lösung bei +4^o jodierten Caseins peroral behandelt. Jodgehalt des Präparates 3,5% (Präparat A3).

Der mittlere Grundumsatz der Normalperiode betrug beim Tier Nr. 191 1218 Kalorien pro 1 m² Körperoberfläche und 24 Stunden, beim Tier Nr. 192 1221 Kalorien.

Die durchschnittliche normale Atemfrequenz pro Minute war beim Tier Nr. 191 99 und beim Tier Nr. 192 91.

Ernährungsart: Milch, Brot, rohe Vegetabilien.

Fütterungs- tag mit jo- diertem Casein	Grundumsatzerhöhung im Vergleich mit dem Mittel- wert der Normalperiode		Körper- gewicht in g		Atemfre- quenz pro Minute		Allge- meines Verhalten
	Tier Nr. 191	Tier Nr. 192	Tier Nr. 191	Tier Nr. 192	Tier Nr. 191	Tier Nr. 192	
5ter	0%	-2,70%	214	203	103	101	normal
7ter	+10,45	+11,56	221	204	101	90	
15ter	-5,60	11,80	214	202	102	99	
19ter	+5,01	11,80	239	216	102	99	

Einfluss der jodierten Eiweisskörper auf die Glykogen- bildungsfähigkeit der Leber.

Zu den für das Schilddrüsenhormon am meisten charakteristischen physiologischen Wirkungen gehört die Glykogenfreiheit der Leber. Reichliche Zufuhr von Kohlehydraten führt beim normalen Tier zu einer Glykogenanhäufung in der Leber, die Leber eines mit Schilddrüse vorbehandelten Tieres bleibt aber selbst unter diesen Umständen glykogenarm bis glykogenfrei (*Cramer und Krause, Parhon*, u. v. a.). Aus diesem Grunde darf dieser Reaktion eine Beweiskraft verliehen werden, um so mehr, als bisher ausser dem Schilddrüsenhormon kein anderer Stoff bekannt ist, der bei peroraler Zufuhr die Leber dauernd ihres Glykogenvorrates beraubt. Die oben aufgezählten, im Grundumsatzversuch benutzten jodierten Caseinprodukte wurden auch auf ihre Beeinflussung des Glykogenstoffwechsels untersucht. Weisse Ratten wurden eine Woche oder länger täglich mit dem fraglichen Jodeiweiss gefüttert. Am letzten Versuchstag bekamen die Tiere eine bestimmte Menge Rohrzucker, wobei sie vor der Zuckereingabe 16—18 Stunden ohne jede weitere Nahrungszufuhr blieben. 8 Stunden nach der Zuckereingabe wurden die Tiere getötet und das Leberglykogen nach *Pflüger-Bertrand* analysiert. Die Zahlen der Tabelle 5 sprechen (mit einer Ausnahme) für eine vollständig normale (in einigen Fällen sogar übernormale) Glykogenablagerung in der Leber. Bei mit Schilddrüsensubstanz vorbehandelten Ratten würde der Glykogengehalt unter den gleichen Bedingungen etwa 0,2—0,4%, bei normalen Tieren etwa 1,0—2% betragen.

Tabelle 5.

Einfluss jodierter Eiweisstoffe auf den Glykogengehalt der Leber. 8 Stunden vor der Tötung bekam jedes Tier 1 g Rohrzucker auf 100 g Körpergewicht.

Nr. und Geschlecht des Tieres	Verfüttertes Präparat	Art der Behandlung	Glykogengehalt	
			der Leber	des Muskels
1 ♂	Jodcasein mit einem Jodgehalt von 3,5% (vgl. Tab. 4)	7 Tage lang täglich 200 mg, insgesamt 1,4 g Jodcasein	3,96%	—
2 ♂	id.	id.	3,58%	—
3 ♂	Jodcasein mit einem Jodgehalt v. 7,36% (vgl. Tab. 3)	7 Tage lang täglich 200 mg, insgesamt 1,4 g Jodcasein	4,75%	—
4 ♂	id.	id.	4,34%	—
5 ♂	Jodcasein mit einem Jodgehalt v. 4,55% (vgl. Tab. 1)	28 Tage täglich 200 mg, insgesamt 5,6 g Jodcasein	0,12%	0,23%
6 ♂	id.	id.	1,22%	0,26%
7 ♀	Jodcasein mit einem Jodgehalt v. 4,36% (vgl. Tab. 2)	7 Tage lang täglich 100 mg, insgesamt 700 mg Jodcasein	1,23%	—
8 ♀	id.	id.	1,51%	—
Mittel			2,60%	

Einfluss der jodierten Eiweisskörper auf den Kreatin-gehalt des Herzens und des Muskels.

Neben einem Verschwinden des Leberglykogens gehört eine Verminderung des Kreatingehaltes des Herzens und des quergestreiften Muskels zu den besonders kennzeichnenden Wirkungen des Schilddrüsenhormons. Jede Substanz, von der eine Ähnlichkeit mit dem Thyroxin vermutet wird, muss daher auch in dieser Richtung untersucht werden. Die genauere Durchführung derartiger Experimente ist in früheren Arbeiten ausführlich beschrieben¹⁾. Das Organ wird mit Schwefelsäure im Autoklaven hydrolysiert, das freigewordene Kreatin in Kreatinin übergeführt und letzteres mit alkalischer Pikrinsäure nach *Jaffé* kolorimetrisch bestimmt. Als durchschnittliche Normalzahlen können für Ratten angesehen werden: 380 bis etwa 420 mg % Muskelkreatin und 170 bis etwa 200 mg % Herzkreatin. Selbst eine kurzdauernde Schilddrüsenbehandlung führt zu einem Übertritt erhöhter Kreatinmengen in den Harn und zu einer Abnahme des Herz- und Muskelkreatins. Bei mit Schilddrüsensubstanz vorbehandelten Ratten findet man im Herzen durchschnittlich rund bloss 120—100 mg %, und im Muskel etwa 300—350 mg % Kreatin. Die

¹⁾ *Abelin* und *Spichtin*, *Bioch. Z.* **228**, 250 (1930).

Zahlen der Tabelle 6 beweisen, dass die Jodcaseine ohne Einfluss auf den Kreatingehalt des Herzens und des Muskels sind. Die Analogie mit der Wirkung der Schilddrüsensubstanzen fehlt auch hier.

Tabelle 6.

Einfluss der jodierten Caseinprodukte auf den Kreatingehalt des Herzens und des Muskels.

Nr. und Geschlecht des Tieres	Verfüttertes Präparat	Art der Behandlung	Kreatingehalt in mg%	
			des Herzens	des Muskels
1 ♂	Jodcasein mit einem Jodgehalt von 3,5% (vgl. Tab. 4)	7 Tage lang täglich 200 mg, insgesamt 1,4 g Jodcasein	174,30	419,60
2 ♂	id.	id.	171	422,50
3 ♂	Jodcasein mit einem Jodgehalt v. 7,36% (vgl. Tab. 3)	id.	137,70	462,10
4 ♂	id.	id.	145,70	386,50
5 ♂	Jodcasein mit einem Jodgehalt v. 4,36% (vgl. Tab. 2)	7 Tage lang täglich 100 mg, insgesamt 700 mg Jodcasein	159,80	—
6 ♀	id.	id.	176,70	—
7 ♀	id.	id.	192,20	—
Mittel			165,34	422,70

Zusammenfassung.

Die künstliche Jodierung des Eiweisses verläuft nicht einheitlich und führt zur Bildung einer Reihe von Substanzen. Neben Dijodtyrosin, Monojodtyrosin (*Ludwig* und *v. Mutzenbecher*), Jodhistidin und Jodtryptophan konnte neuerdings die Bildung von tryoxinhaltigen Proteinen nachgewiesen werden. Aus letzteren lässt sich bei energischer Hydrolyse Thyroxin in reiner Form erhalten.

Obwohl somit viele Jodeiweissverbindungen genau so wie das Schilddrüsen-eiweiss Thyroxin enthalten, besteht doch ein wesentlicher physiologischer Unterschied zwischen diesen beiden jodierten Proteinarten. Im Gegensatz zum Thyreoglobulin erweisen sich die unaufgespaltenen jodierten Jodeiweisskörper ohne jeden spezifischen Einfluss auf den Glykogenstoffwechsel der Leber sowie auf den Kreatinhaushalt des Herzens und des quergestreiften Muskels. Es fehlt ihnen auch die erregende Wirkung auf die Herz- und Lungentätigkeit sowie auf das Nervensystem.

Einige künstlich jodierte Eiweisskörper bewirken zwar eine Erhöhung der Kalorienbildung, doch in viel geringerem Masse als die natürlichen Thyreoproteine.

Ausserhalb des tierischen Körpers kann auf chemischem Wege nur der Wirkstoff des Schilddrüsenhormons, das Thyroxin, erhalten werden. Die Gewinnung künstlich jodierter Eiweisskörper mit voller Schilddrüsenwirkung ist (entgegen einigen anderslautenden Literaturangaben) bis heute noch nicht verwirklicht.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der *Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der bernischen Hochschule* ausgeführt. Der Stiftung sei auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Physiologisches Institut der Universität Bern (Hallerianum).

145. Der chemische Nachweis von Blausäure in der Leiche

von S. Wehrli.

(22. IX. 42.)

Der Nachweis der Blausäure bietet in der Toxikologie gewisse Schwierigkeiten, weil die nachzuweisende Blausäuremenge, absolut gemessen, bereits sehr klein ist, vor allem aber weil es sich gleichzeitig um sehr grosse Verdünnungen handelt. Die zahlreichen Literaturangaben empfehlen in der Regel, die zu untersuchenden Organe, meistens Blut, zunächst unter Zugabe von etwas Säure zu destillieren und mit dem Destillat die bekannten Nachweis-Reaktionen zu versuchen.

Für forensische Zwecke ist vor allem die Berlinerblau-Reaktion geeignet, weil sie absolut eindeutig ist und auch dem Laien einleuchtet. Die Blausäure hat ja davon her ihren Namen und der Niederschlag von Berlinerblau kann dem Gericht als überzeugender Beleg vorgewiesen werden. Es bleibe nicht unerwähnt, dass gesunde Organe oft gewisse Mengen Rhodanwasserstoff enthalten und die Benützung der Rhodanprobe infolgedessen zu Fehlschlüssen Anlass geben kann, wenn die zu identifizierende Blausäure nicht auch noch auf andere Weise erfasst wurde. Auch dafür sind in der Literatur leider Beispiele vorhanden.

Anlässlich von Blausäure-Todesfällen haben wir immer wieder die Erfahrung machen müssen, dass der Nachweis Schwierigkeiten bereitet und oft auch bei Fällen, die sicher Blausäure-Todesfälle sind, versagte. Es hat sich schliesslich herausgestellt, dass gewisse Fehlerquellen absolut vermieden werden müssen, wenn die chemische Analyse sicher gelingen soll. Bei der Destillation geht leicht ein Teil oder sogar die gesamte Blausäure verloren. Zu ihrer sicheren Erfassung bleibt nur das Arbeiten in einer völlig geschlossenen Apparatur, in welcher zudem in der Vorlage etwas Lauge enthalten ist, damit die Blausäure nicht als Dampf in dem leeren Teil der Kolben