

Über die Spaltungsproducte des Eiweisses bei der Verdauung.¹

(II. Mittheilung.)

Über die Reindarstellung der sogenannten Kohlehydrat- gruppe des Eiweisses

von

Dr. Sigmund Fränkel.

Aus dem chemischen Laboratorium des Herrn Hofrathes Ad. Lieben an der
k. k. Universität in Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 15. December 1898.)

Die Vermuthung, dass im Eiweissmolekül Kohlehydratgruppen vorgebildet sind, ist gegründet auf Beobachtungen chemischer Natur, sowie auf Erfahrungen der Physiologen und Pathologen. So hat zuerst Berzelius gezeigt, dass bei Einwirkung von starken organischen Säuren auf Eiweiss Huminsäure, Zuckersäure und Oxalsäure entstehen, als deren Muttersubstanz der Zucker anzusprechen ist, welcher einen Theil des Proteïns ausmache. Andererseits sahen die Pathologen bei der schweren Form des Diabetes, wenn auch die Patienten lange Zeit eine absolut kohlehydratfreie Kost zu sich nahmen, eine sehr reiche Zuckerausscheidung im Harne, welche nur von Eiweiss abstammen kann. Dieser Zucker kann nun im Eiweissmolekül vorgebildet sein oder durch Lebensprocesse der Zellen aus den Eiweisspaltungsproducten im Organismus neu gebildet werden. Man hat diese beiden Probleme bald zu einem vereinigt und die erhaltenen Resultate zur Klärung beider verworther, aber, wie es sich aus der folgenden Untersuchung ergibt, mit Unrecht. Aber noch ein anderes Problem wurde

¹ Mit Unterstützung der kaiserl. Akademie in Wien ausgeführt.

damit verquickt, nämlich die Frage nach den reducirenden Eigenschaften des Eiweisses (Krukenberg, Drechsel), welche aber in gar keinem Zusammenhange mit der Frage nach den Kohlehydratgruppen im Eiweisse steht. Die unnöthige Verquickung dreier Probleme hat keineswegs zur Klärung und Lösung derselben beigetragen.

Es ist die Lösung der Frage nach der Kohlehydratgruppe des Eiweisses in mancherlei Hinsicht sehr wichtig. Vor Allem als Beitrag zur Constitution des Eiweissmoleküls, sowie auch für die eventuelle Aufklärung der so reichen Zuckerbildung aus Körpereiwiss beim schweren Diabetes. Ist überhaupt eine Kohlehydratgruppe im Eiweissmolekül vorgebildet, und wenn, reicht die Menge des vorhandenen Kohlehydrates aus, die reiche Zuckerbildung aus Eiweiss im Organismus zu erklären? Welche Natur hat diese Kohlehydratgruppe?

Dass der Organismus aus Eiweiss Kohlehydrat (Glykogen, Traubenzucker) bilden kann, beweisen die Versuche mit hungernden Thieren, welche ja in kurzer Zeit »kohlehydratfrei«, beziehungsweise glykogenfrei werden, hernach aber durch Verfütterung von ausgekochtem Fleisch reichlich Glykogen wieder aufspeichern können. Claude Bernard zeigte auch, dass Fliegenmaden, auf ausgekochtem Fleisch gezüchtet, viel Glykogen bilden. Die schönen Untersuchungen von v. Mering über den Phloridzindiabetes¹ stellten die Thatsache fest, dass bei hungernden kohlehydratfreien Thieren, welche mittelst Phloridzin diabetisch gemacht wurden, Zucker aus zersetztem Körpereiwiss und nicht etwa aus Fett entsteht, dass selbst im Hungerzustande dem Organismus die Fähigkeit zukommt, aus Eiweiss Kohlehydrat zu bilden; auf Grund seiner Versuche muss man annehmen, dass beim Zerfall des zugeführten oder des Körpereiwisses auch im normalen Organismus Kohlehydrat, respective Traubenzucker gebildet wird.

20 g Eiweiss mit 3·4 g Stickstoff lassen, nach v. Mering, nach Abtrennung des Stickstoffs als kohlen-saures Ammon, welches direct nach Abgabe von Wasser in Harnstoff übergeht, so viel Kohlenstoff übrig, dass aus ihm unter Wasseraufnahme

¹ Zeitschrift für klinische Medicin, XVI, 431—446.

27 g Zucker erhalten werden könnten. Es können demnach theoretisch im Eiweiss auf 1 g Stickstoff 8 g Zucker oder auf 1 g Harnstoff 4 g Zucker kommen. Im v. Mering'schen Versuche bei Hungerthieren, die mit Phloridzin gefüttert waren, haben sich nun aus 20 g Eiweiss, beziehungsweise 100 g Fleisch 11·8 g Zucker gebildet, während theoretisch aus 100 g Fleisch 27 g Zucker sich bilden könnten. In einem anderen, unter gleichen Bedingungen angestellten Versuche lieferte das Hungerthier auf 20 g zersetztes Eiweiss 17 g Zucker.

Beim Diabetes des Hundes nach Pankreasexstirpation konnte O. Minkowski¹ zeigen, dass im Hungerzustande oder bei reiner Fleischnahrung ein auffallendes Verhältniss zwischen der ausgeschiedenen Zucker- und Stickstoffmenge besteht; auf 1 Theil Stickstoff werden 2·7—2·8 Theile Zucker im Harn abgeschieden. Da nun auf der Höhe des Pankreasdiabetes keine nennenswerthen Zuckermengen im Organismus mehr verbraucht werden, so entstehen aus je 100 g zerfallenden Eiweisses im Körper mindestens 45 g Kohlehydrat.

Auch Prausnitz² kam durch Gesamtbestimmung der Kohlehydrate von Thieren vor und nach der Verfütterung von Phloridzin zu dem Resultate, dass auch beim hungernden Thiere eine nicht unbedeutliche Menge von Zucker, und zwar aus dem zersetzten Eiweisse gebildet wird.

Auf anderem Wege konnte H. Thierfelder dieselbe Thatsache erweisen, indem er durch Hunger glykogenfreie Thiere mit Chloralhydrat und Dimethyläthylcarbinol fütterte und nun gepaarte Glykuronsäuren im Harn nachwies, und dies in Mengen, welche nicht aus noch vorhandenem Glykogen stammen können. Es ergibt sich aus seinen Untersuchungen der Schluss, dass als Quelle des Zuckers, beziehungsweise der von ihm derivirenden Glykuronsäure nur das Eiweiss des Körpers in Anspruch genommen werden kann. Zu demselben Resultate ist durch eine Beweisführung anderer Art Seegen gelangt; es würde zu weit führen, auf diese in ihrer Gesamtheit nicht eindeutigen Versuche hier einzugehen.³

¹ Berl. klinische Wochenschrift, 1892, Nr. 5.

² Zeitschrift für Biologie, XXIX, 168—174.

³ Seegen, Zuckerbildung im Thierkörper. Berlin, 1890.

Die Versuche der Chemiker, dem Problem näher zu treten, haben durchaus nicht übereinstimmende und auch keine sicheren Resultate gefördert, umso mehr als nicht alle Beobachter und Untersucher das chemische Problem an sich zu lösen gesucht haben, nämlich welche Gruppe im Eiweiss es ist, welche die verschiedenartigen Reactionen bedingt, auf Grund deren man annehmen muss, dass im Eiweiss eine vorgebildete Kohlehydratgruppe ist, und weil insbesondere einige Forscher nicht mit reinem Eiweiss gearbeitet haben, sondern mit Eiweiss, welches mit Ovomukoid etc. vermischt war, mit Körpern, in denen das Vorhandensein einer Seitenkette von leicht abspaltbarem Kohlehydrat uns bekannt ist. Störend für die physiologischen Chemiker war insbesondere die stete Berücksichtigung der Diabetestheorie, welche, wie ich zeigen werde, mit den chemischen Resultaten der Untersuchung der Frage nach dem Kohlehydratgehalt des Eiweisses durchaus nicht zusammenhängt, wenn auch die Diabetesforschung immer wieder Untersuchungen dieser Art veranlasste.

Ich habe schon Eingang der Beobachtung Berzelius' gedacht, dass durch Einwirkung von starken Säuren auf Eiweiss Huminsäure, Zuckersäure und Oxalsäure gebildet wird. Da aber das Ausgangsmaterial dieses Forschers nach unseren Kenntnissen als mit uns bekannten Kohlehydraten und Kohlehydratverbindungen vermischt angesehen werden muss, erwähne ich Berzelius nur der Vollständigkeit halber.

Schützenberger¹ ist eigentlich der Erste, welcher mit reinem Material eine grundlegende Beobachtung gemacht hat. Umso mehr ist es zu verwundern, dass seine Angaben überhaupt nicht in die Literatur übergegangen und von fast keinem der Forscher nach der Kohlehydratgruppe des Eiweisses erwähnt werden. Vielleicht ist dies dem Umstande zuzuschreiben, dass Schützenberger seiner Beobachtung nur nebenbei erwähnt und sie in die zusammenfassende Darstellung seiner Untersuchungen über die Spaltung des Eiweisses mit Baryt in den »Annales de chimie« gar nicht aufgenommen hat. Bei der

¹ Schützenberger, Bulletin de la société chimique, XXIII, 171, 248, 251.

Spaltung von coagulirtem und mit Wasser gut gewaschenem Hühnereiweiss (also frei von Ovomukoid und Traubenzucker) mittelst starker Schwefelsäure fand er in den Mutterlaugen nach dem Ausfällen mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen stickstofffreien Körper, welcher Fehling'sche Lösung energisch reducirte, mittelst Blei und Ammoniak fällbar ist, von salpetersaurem Quecksilberoxyd nicht gefällt wird und Glukose oder ein analoger Körper zu sein scheint. Bei der Spaltung von gleicherweise dargestelltem und gereinigtem Hühneralbumin mit Baryt bei 100° C. durch 120 Stunden zeigten sich die Barytsalze in geringem Verhältnisse vermischt mit einem in Alkohol unlöslichen, stickstofffreien, mit Blei und Ammoniak fällbaren Körper, welcher, mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, sich in einen Fehling'sche Lösung reducirenden Körper verwandelt, während der ursprüngliche Körper nicht reducirt. Salpetersäure oxydirt ihn zu Oxalsäure. Der Körper enthält C 42·8%, H 6·56%. Schützenberger vergleicht ihn mit Dextrin und sagt: »Évidemment il y a un lieu entre l'apparition d'un corps cellulosique dans l'expérience de la baryte et d'une matière réduisant la liquer de Fehling dans le dédoublement sulfurique«. Als Muttersubstanz dieses Dextrins findet er nämlich einen in absolutem Alkohol unlöslichen Körper $C_{12}H_{28}N_4O_8$ oder $C_6H_{14}N_2O_4$. »Ce serait une amide cellulosique et c'est de lui que dériverait la petite quantité de matière dextrineuse trouvée.« Die Menge dieser Substanz ist so gering, dass Schützenberger bei seinen Berechnungen der quantitativen Verhältnisse der Spaltungsproducte von den 72 C der Lieberkühn'schen Eiweissformel nur ein Kohlenstoffatom für die Amidocellulose und noch für Essigsäure rechnet, was ja aus dem Grunde zulässig ist, da man die C_{72} dieser Eiweissformel n -mal nehmen kann.

Eine Reihe weiterer Untersuchungen führte zu recht widersprechenden Resultaten. C. Wehmer und B. Tollens¹ konnten aus Casein, Fibrin, Nackenband, also aus eigentlichen Proteinstoffen, keine Lävulinsäure durch Kochen mit wässriger Salzsäure oder Schwefelsäure abspalten, während alle eigentlichen Kohlehydrate bei diesem Verfahren Lävulinsäure geben

¹ Berichte der Deutschen chem. Gesellsch., XIX, 707, 708

müssen. Es enthalten also die Proteinstoffe keine durch Salzsäure isolirbare Kohlehydratgruppe. Hingegen erhielt L. v. Udránszky¹ beim Erhitzen von Fibrin und Globulin mit concentrirter Schwefelsäure ein Furfuroldestillat, welche Furfurolbildung nach seiner Ansicht »zum ersten Male auf chemischem Wege nahe Beziehungen zwischen Kohlehydraten und Eiweisskörpern anzeigt«.

Die Bildung von Furfurol aus Eiweisskörpern erklärt den von Seegen² gemachten Einwurf, dass die Eiweisskörper ebenfalls die Reaction mit α -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure (H. v. Molisch'sche Reaction) geben. Auf die Abspaltung von Furfurol führt Udránszky auch zwei andere Eiweissreactionen zurück, nämlich die von Liebermann und Adamkiewicz. Seegen selbst sagt schon, dass es denkbar wäre, dass die concentrirte Schwefelsäure eine Spaltung der Eiweisskörper veranlasst, dass dabei Zucker auftritt, der durch die Reaction angezeigt wird. Aber A. Günther, G. de Chalmot und B. Tollens³ berichten, dass Eiweissstoffe (Casein, von Kohlehydraten freies Pferdefleischpulver) bei der Destillation mit Salzsäure stets nur Spuren von Furfurol gaben. Nur die ersten Tropfen des Destillates gaben mit Anilinacetatpapier schwache Röthung. Für die Annahme von merklichen Mengen von Pentosegruppen in Eiweissstoffen liegt daher nach Ansicht dieser Forscher ebenso wenig Positives vor, wie für die Annahme erheblicher Mengen von Hexakohlenhydraten.

Anschliessend an ein Referat über Bondzynski's und Zoja's Untersuchungen der Eiweissoxydationsproducte mit Kaliumpermanganat macht Andreasch⁴ folgende Bemerkung: »Maly hat bei stärkerer Oxydation des Eiweisses oder der Oxyprotsulfonsäure einen neuen Körper, die Peroxyprotsulfonsäure, erhalten. Dieselbe lieferte ihm bei der Spaltung durch Barythydrat unter Anderem das Barytsalz einer Säure, welche er gleichzusammengesetzt mit Glycerinsäure gefunden und als Isoglycerinsäure bezeichnet hat. Die doppelte Formel minus

¹ Zeitschrift für physiol. Chemie, XII, 355—395 und XIII, 248—263.

² Centralblatt für medicin. Wissenschaften, 1886, Nr. 44 und 45.

³ Berichte der Deutschen chem. Gesellsch., XXV, 2569—2572.

⁴ Maly's Jahresber. für Thierch., XXIV, S. 12.

2 Atomen H würde zur Formel der Zuckersäure oder einer Isomeren führen; sollte hier vielleicht das erste Mal ein wahres Derivat der Kohlehydrate aus dem Eiweissmolekül in grösserer Menge erhalten worden sein? Eine Nachprüfung und Untersuchung dieser Verhältnisse mit reinem Eialbumin wäre sehr am Platze.«

Ich komme nun zu einer Reihe von Untersuchungen, an welche sich die meinigen anschliessen (Pavy), welche zum Theile mit den meinigen zeitlich und auch in Bezug auf die Spaltungsproducte in den Resultaten zusammenfallen (Müller).

Durchaus vom Standpunkte eines Diabetesforschers und Physiologen machte Pavy,¹ dem ich die erste Aufmunterung zum Studium dieser Frage verdanke, chemische Versuche, welche die glykoside Natur des Eiweisses erweisen sollen. Er arbeitete mit coagulirtem, also ovomukoidfreiem Eiweiss. Dieses wurde mit 10% Kalilauge gekocht, mit Essigsäure neutralisirt, stark eingeengt und mit absolutem Alkohol gefällt; es resultirte eine gummiartige Masse, die an Landwehr's thierisches Gummi erinnert. Sie gibt wie letzteres eine Kupferverbindung, aus welcher man mit Salzsäure und Alkohol das Gummi isoliren kann. Der Körper ist diffusibel. Mit Mineralsäuren gekocht, verwandelt er sich in eine Kupfersalze reducirende Substanz. ebenso beim Erhitzen auf 150° C. eine halbe Stunde lang im Autoclaven. Das Saccharificirungsproduct gibt mit Phenylhydrazin und Essigsäure eine reichliche Menge von Krystallen.

Ebenso kann man aus coagulirtem Eiweiss Osazonkrystalle erhalten, wenn man es vorerst mit 10% Schwefelsäure kocht. Angeblich soll auch durch Verdauung mit Pepsin und Salzsäure aus dem Eiweiss ein Körper abgespalten werden, welcher direct ein Osazon liefert. Merkwürdigerweise verdaut Pavy mit Pepsin bei 54° C. durch 8½ Stunden. Ich werde auf diesen Versuch noch zurückkommen.

Nach Pavy ist die gummiartige Masse optisch inactiv; sie wurde nicht analysirt. Hingegen analysirte R. Ling² das

¹ Proceedings of the Royal Society, vol. 54, p. 53. Physiology of the carbohydrates. London, 1894.

² Pavy, Epicriticism. Physiology of the carbohydrates. London, 1895.

nach Pavy's Methode dargestellte, ebenfalls inactive Osazon. Es schmilzt bei 207—208°, und die Analysenresultate stimmten für die Formel $C_6H_{10}O_4(N_2H.C_6H_5)_2$. Nach öfterem Umkrystallisiren wurde der Schmelzpunkt bei 210—212° gefunden.

Auch Krawkow¹ konnte Pavy's Angaben bestätigen. Er arbeitete mit sorgfältig von Mukoid befreitem Eiweiss. Nach Kochen mit Säuren erhielt er Reduction, sowie Osazonkrystalle mit dem Schmelzpunkte 183—185°.

Gar nicht einwandfrei sind die Untersuchungen von Heinrich Weydemann² und sind daher nur mit grosser Vorsicht für das Albumin selbst auszulegen. Er ging nach Pavy vor und fällte dann das »thierische Gummi« als Kupferverbindung. Nach Aufspalten dieser und Ausfällen mit Almen'schem Reagens erhielt er eine sehr hygroskopische, braune, zähe Substanz, die schwer filtrirbar war, circa 11% Asche enthielt und circa 5% N, auf aschefreie Substanz gerechnet. Aus 500 g Eiweiss hatte er 1·8 g Substanz erhalten. Verfasser selbst gibt zu, dass die Pavy'sche Methode der seinigen überlegen ist.

Wie nun F. Müller mittheilt,³ hat nun Weydemann eine bessere Methode zur Darstellung des »thierischen Gummis« aus Eiweiss, welche aber an citirter Stelle nicht angegeben wird. Das thierische Gummi wird dabei als ein schneeweisses amorphes Pulver erhalten, das beim Kochen mit Säuren 60 bis 80% reducirender Substanz liefert. Es zeigt die Eigenschaften einer Säure und hat einen Stickstoffgehalt von 8—10%. Die Hoffnung, auf diesem neuen Wege zu einem gut definirten Körper von constanter Zusammensetzung zu kommen, hat sich aber nicht erfüllt. Auch gab das Präparat stets noch in geringem Grade die Biuretreaction.

Im Gegensatz zu Krawkow und Weydemann, welche positive, wenn auch nur theilweise einwandfreie Resultate erhalten hatten, die Darstellbarkeit und den Nachweis von sogenanntem Kohlehydrat im Eiweiss betreffend, kam John

¹ Pflüger's Archiv für die ges. Physiologie, 1896, Bd. 65.

² Inauguraldissertation: Über das thierische Gummi und seine Darstellbarkeit aus Eiweiss. Marburg, 1896.

³ Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg, Nr. 6, Juli 1898.

G. Spenzer¹ im Drechsel'schen Laboratorium zu Bern zu einem durchaus negativen Resultate. Er konnte aus sorgfältig gereinigtem Eiweiss nach Pavy's Methode keine Substanz abspalten, welche nach Kochen mit Mineralsäuren alkalische Kupferlösungen reducirte oder ein Osazon bildete. Er führt alle von seinen Vorgängern auf diesem Arbeitsgebiete erhaltenen Resultate auf Verunreinigungen des Ausgangsmateriales mit Ovomukoid zurück.

Die Pavy'schen Versuche wurden aber zum grossen Theile durch eine neuere Untersuchung von Eichholz, unter Leitung von Sheridan Lea,² bestätigt. Dieser Forscher bekam aus reinem Eieralbumin Osazonkrystalle mit dem Schmelzpunkte 205° C. Hingegen konnte er aus reinem Serumalbumin und reinem Casein keine reducirende Substanz und kein Osazon erhalten.

Es erübrigt noch, auf eine Arbeit von Hofmeister³ einzugehen, welche in einer bestimmten Beziehung zu unserem Thema steht. Bei Jodirung des krystallisirten Eiweisses mit Jodkalium, jodsaurem Kalium und Schwefelsäure spaltete sich ein stickstofffreier Complex ab, welcher als Kohlehydrat anzusehen ist, ein anderer Kohlehydratcomplex bleibt aber im Jodalbumin. Das krystallisirte Eieralbumin ist unerwartet reich an Kohlehydrat und liefert nach Kochen mit Säuren viel Osazon, so dass Hofmeister den Kohlehydratgehalt auf etwa 15% schätzt.

Auf die interessanten Untersuchungen von Müller und seinem Schüler Seemann über die reducirende Spaltungsproducte von Mucin und Eiweiss werde ich bei Besprechung der von mir erhaltenen identischen Spaltungsproducte ausführlich zu sprechen kommen.

Während der Niederschrift dieser Mittheilung erschien noch eine mit meinen Resultaten, sowie mit denen aller anderen Forscher nicht übereinstimmende vorläufige Mittheilung von Otto Weiss.⁴ Er bekam nach Pavy's Methode einen Körper

¹ Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiolog. Chemie, XXIV, S. 354.

² Journal of physiology, XXIII, 3, p. 163, 26. Juli 1898.

³ Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiolog. Chemie, 1898, XXIV, S. 169.

⁴ Centralblatt für Physiologie, XII, 15.

mit 1.8% N und 1.2% Asche. Dieser war optisch inactiv, doch wurde er durch Kochen mit Säuren in einen optisch activen, und zwar linksdrehenden übergeführt. Das Osazon hatte einen Schmelzpunkt von 179—191° C. Das Destillat der Substanz mit Salzsäure gab keine Furfurolreaction, sondern die Reactionen des Methylfurfurols. Der Körper ist also Methylpentose $C_6H_{12}O_5$, ein der Rhamnose isomerer Körper. Es gelang ihm später, die Pentose selbst in farblosen monoklinen Kristallen zu gewinnen, welche bei 91—93° C. schmolzen, sich in Alkohol und Wasser leicht lösten und frei von Stickstoff waren.

Es bleibt jedenfalls ungemein auffällig, dass aus einer optisch inactiven Substanz eine optisch active durch blosses Kochen mit Säure entsteht. Eine Analogie hiefür existirt nicht.

Meine eigenen Versuche, welche sich auf einen Zeitraum von zweieinhalb Jahren erstrecken, so dass ein grosser Theil der in der Einleitung angeführten Untersuchungen zeitlich mit den meinigen zusammenfällt, gingen von folgender Überlegung aus. Wenn Pavy's Befund richtig war, so musste man nicht nur bei alkalischer Spaltung, sondern auch bei den peptischen und tryptischen Spaltungen des Eiweissmoleküls, welche ja mit einem mehr oder minder tiefen Zerfall und Abbau des grossen Moleküles einhergehen, auf Substanzen stossen, welche mit dem Pavy'schen Kohlehydrat identisch sind. Nach den angeführten Untersuchungen schien es sich um ein Polysaccharid zu handeln, welches erst nach Kochen mit Mineralsäuren ein reducirendes Product (Zucker) liefert. Dieses Polysaccharid war unter den alkoholunlöslichen Spaltungsproducten zu suchen. Die Frage, welche ich mir vorerst stellte, war, diese Muttersubstanz der reducirenden Körper zu isoliren und deren Natur festzustellen, bevor ich die Spaltungsproducte derselben, über welche wir schon einige Anhaltspunkte haben, untersuchte.

Pavy¹ führt einen Versuch, welchen er als Beweis für die Kohlehydratabspaltung aus Eiweiss ansieht, an, wobei aus

¹ Physiology of carbohydrates. London, 1894, p. 49. Cleavage of Carbohydrates from proteid matter by digestive ferment action.

reinem Eiweiss mit Pepsin und 0·2% Salzsäure bei 54° C. ein Zucker abgespalten wurde, welcher ein krystallisirtes Osazon gab. Das Behandeln von Eiweiss mit 0·2% Salzsäure bei gleicher Temperatur gab kein solches Resultat.

Es war vor Allem an diesem Versuche methodisch sehr auffällig, dass dieser Forscher bei einer so hohen Temperatur mit Pepsin verdaute, bei welcher das Pepsin schon durch das Erwärmen zerstört werden kann. Das Optimum der Temperatur ist ja bekanntlich 37° C. Ferner war es auffällig, dass Pavy einen Zucker erhielt, während uns eine kohlehydratabbauende (diastatische) Wirkung des reinen Pepsinenzym nicht bekannt war. Ich wiederholte diesen Versuch mit der nothwendigen Modification, dass die richtige Verdauungstemperatur eingehalten wurde.

Von Globulinen durch Filtration nach vorhergehender Verdünnung und Neutralisation befreites Hühnereiweiss wurde in schwach mit Essigsäure angesäuertes, kochendes Wasser in dünnem Strahle eingegossen, coagulirt, filtrirt und mit heissem Wasser auf dem Filter gewaschen, hierauf unter der Schraubepresse trocken gepresst, fein zerrieben in siedendes Wasser gebracht, filtrirt und gewaschen, bis das Filtrat keine Reaction mit alkalischer Bleilösung auf Schwefel mehr gab und keine Eiweissreaction mehr zeigte. Das mehrmalige Abpressen entfernt das anhaftende Ovomukoid viel besser, als das lange Waschen des Eiweisscoagulums mit Wasser.

Das so dargestellte, möglichst reine, von Ovomukoid und Zucker befreite Eiweiss wurde zu den meisten in der Folge beschriebenen Versuche verwendet.

Als ich nun 50 g reines Eiweiss mit 2% Salzsäure und Pepsin¹ verdaute, konnte ich selbst nach 14tägigem Verdauen mit Phenylhydrazin keine Osazonkrystalle erhalten. Vielleicht

¹ Das Pepsin muss sehr sorgfältig für solche Versuche gereinigt werden. Die käuflichen Präparate werden zumeist mit Stärke oder Milhzucker beschwert und haltbar gemacht. Ich verwendete nach Durchprüfung verschiedener Präparate sogenanntes Pepsinum absolutum (Finzelberg) und Pepsinum crystallis. (Parke, Davis & Co.) Es müssen auch diese Präparate durch Dialyse gereinigt werden, nachdem man sich vorher überzeugt, dass sie keine bei der Fabrication zugesetzten Kohlehydrate enthalten.

ist Pavy's Resultat nicht auf einen Beobachtungsfehler, sondern auf die Anwesenheit einer Zuckerart im verwendeten Pepsinpräparat zurückzuführen.

Da ich nach meiner Überlegung aber ein Polysaccharid finden musste, so habe ich unter den Verdauungsproducten nach einem solchen gesucht. Insbesondere in der nach der Kühnischen Nomenclatur als »Deuteroalbumose« bezeichneten Gruppe von peptischen Verdauungsproducten des Eiweisses fiel mir der Reichthum an Substanzen auf, welche Kohlehydratreactionen gaben. Der besonders intensive Ausfall der H. v. Molisch'schen Probe mit α -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure bei der nach meiner Methode¹ mit Kupfersulfat und Ferrocyanbaryum dargestellten »Deuteroalbumose« veranlasste mich, diese weiter zu untersuchen. Wenn man diese Deuteroalbumose kurze Zeit mit verdünnter Mineralsäure kocht, erhält man hierauf eine reichliche Reduction von Fehling'scher Lösung und nach Behandeln mit Phenylhydrazin und Essigsäure eine reichliche Menge von schönen Osazonkrystallen. Ich musste mir nun die Frage aufwerfen, ob die »Kohlehydratgruppe« hier noch im Molekül der »Deuteroalbumose« enthalten ist, oder ob nicht schon etwa eine Abspaltung eingetreten und hier ein Gemenge von Körpern mit Eiweissreactionen und von Körpern mit den Eigenschaften eines Kohlehydrates vorliegt. Ich versuchte eine Trennung mittelst Gerbsäure. Die reine Deuteroalbumose wurde mit Tannin unter Vermeidung eines grossen Überschusses gefällt, die überschüssige Gerbsäure mit essigsaurem Blei entfernt, das Blei aus dem Filtrat mit Schwefelwasserstoff niedergeschlagen, das Filtrat eingeeppt und mit absolutem Alkohol gefällt. Beim Wiederholen dieses Reinigungsverfahrens gelang es, ein weisses Pulver zu erhalten, welches weder Millon'sche, noch Biuretreaction gab, in verdünnter Lösung eine prachtvolle Molisch-Reaction zeigte und nach dem Kochen mit Mineralsäuren Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirte, sowie ein krystallisirtes Osazon gab. Die Substanz selbst gab eine starke Stickstoffreaction nach Lassaigne, spaltete aber beim Kochen mit kaustischer Lauge kein Ammoniak ab. Sie erwies sich aber als reich an Asche.

¹ Monatshefte für Chemie, 1898, XVIII, S. 433.

Die Mühseligkeit der Darstellung grösserer Quantitäten von Deuteroalbumose aus reinem Eiweiss, sowie der Aschengehalt der Substanz veranlassten mich, dieselbe nach anderen Methoden rein darzustellen und das ursprüngliche Verfahren bald zu verlassen.

Es gelang mir, nach den folgenden Methoden die gleiche Substanz rein darzustellen und deren physikalische und chemische Eigenschaften zu studiren.

Darstellung der Muttersubstanz des reducirenden Körpers aus Eiweiss durch Kochen mit Barytwasser.

Bei Wiederholung der Pavy'schen Versuche ergaben sich folgende Resultate. Es wurde reines Eiweiss mit 10% Kalilauge gekocht, hierauf mit Essigsäure neutralisirt, filtrirt, eingengt und der Syrup nach vorhergehendem Zusatze von gleichem Volum Alkohol in das zehnfache Volum absoluten Alkohols gegossen. Der Niederschlag war reich an Asche und gab eine sehr starke Biuretreaction; wenn man aber die alkoholische Lösung abdampfte, so konnte man auch im Rückstande noch mittelst der Molisch-Reaction einen starken Gehalt an »Kohlehydrat« nachweisen. Es gelingt aber nicht, mittelst Gerbsäure das nach Pavy dargestellte Kohlehydrat frei von Substanzen zu erhalten, welche die Biuretreaction geben; überdies enthält die so erhaltene Substanz reichlich Asche. Ich wählte daher ein neues Verfahren, das auf Ausfällung mittelst Blei und Ammoniak beruht, welche ein reineres Präparat, sowie eine bessere Ausbeute versprach, da ja beim Pavy'schen Verfahren ein Theil der Substanz in Alkohol gelöst bleibt.

Nach dem oben beschriebenen Verfahren gereinigtes Eiweiss wurde mit der Hälfte seines Gewichtes an Ätzbaryt in der entsprechenden Menge Wasser sechs Stunden lang gekocht. Nach dieser Zeit ist das coagulirte Eiweiss völlig gelöst. Man lässt erkalten, filtrirt von dem Niederschlag ab und fällt den Baryt mit verdünnter Schwefelsäure aus, filtrirt vom schwefelsauren Baryt ab, fällt mit essigsauerm Blei, filtrirt vom Bleiniederschlag und überzeugt sich, dass genügende Mengen von Blei in Lösung sind; man setzt nun so lange Ammoniak hinzu, als noch ein Niederschlag entsteht; diesen lässt man gut

absetzen, decantirt ihn mit ammoniakhaltigem Wasser, bringt ihn auf ein Filter und saugt ihn mittelst der Pumpe ab. Hierauf nimmt man ihn vom Filter, vertheilt ihn in ammoniakalischem Wasser, schüttelt gut durch und filtrirt die Bleiverbindung wieder. Der mit Wasser ammoniakfrei gewaschene Bleiniederschlag wird nun mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat wurde zum Syrup eingeeengt, in absoluten Alkohol eingegossen und die weisse Fällung untersucht. Diese erwies sich als sehr aschearm, stark stickstoffhaltig, gab aber noch die Biuretreaction. Die Substanz wurde wieder in Wasser gelöst und mit einem geringen Überschusse von Tannin versetzt, vom überschüssigen Tannin mit essigsauerm Blei¹ befreit und die Lösung mit Schwefelwasserstoff entbleit. Dieses Verfahren muss öfters wiederholt und schliesslich, wenn die Lösung nur noch eine ganz schwache Biuretreaction gibt, mit einigen Tropfen Tannin versetzt werden, wobei erst nach Stunden ein flockiger Niederschlag ausfällt. Man erhält dann beim Ausfällen mit absolutem Alkohol und Waschen mit Äther eine schneeweisse, nicht hygroskopische Substanz, welche sich unter dem Mikroskope als undeutlich krystallisirt erwies, sehr aschearm war und reichlich Stickstoff enthielt. Sie ist in Wasser sehr leicht löslich, die Lösung reagirt schwach sauer, schwer löslich in Alkohol, unlöslich in Äther. Sie gibt mit α -Naphthol und Schwefelsäure eine äusserst intensive Reaction, reducirt weder Kupfer-, noch Wismuthsalze in alkalischer Lösung, gibt keine Biuret- und keine Millon'sche Reaction.

Die Substanz bräunte sich bei 160° C. leicht und zersetzt sich bei 200°, ohne zu schmelzen.

Wenn man die wässrige Lösung mit Kali und Kupfervitriol versetzt, so bekommt man eine hellblaue Fällung, welche sich beim Kochen nicht verändert. Mit Benzoylchlorid und Lauge liess sie sich aus ihrer Lösung wieder abscheiden.

Wenn man die wässrige Lösung mit verdünnter Mineralsäure kochte, so reducirte sie äusserst intensiv Fehling'sche Lösung, sowie das Nylander'sche Reagens.

¹ Bleioxydhydrat statt essigsauerm Blei zu verwenden, empfiehlt sich nicht, da man in Folge Bildung der unlöslichen Bleiverbindung der Substanz grosse Verluste an dieser erleidet.

Zur Entscheidung der Frage, ob der Substanz Zucker mit 6 C oder mit 5 C zu Grunde liegen, wurden folgende Versuche gemacht.

Eine Quantität der Substanz wurde vorerst mit einer mit Phloroglucin gesättigten, rauchenden Salzsäure erhitzt. Ich konnte aber weder eine Rothfärbung, noch die Abscheidung eines Niederschlages erzielen.

Es wurden hierauf 0·4 g der Substanz mit 12% Orthophosphorsäure sechs Stunden lang unter Ersatz des abdestillirten Wassers destillirt. Im Destillate liess sich mit den üblichen Reagenzien kein Furfurol nachweisen.

Beide Versuche sprachen gegen die Annahme eines Pentosencharakters dieser Substanz, sowie auch dagegen, dass es sich um eine Glykuronsäureverbindung handelt. Diese Constatirung ist um so wichtiger, als sich aus einzelnen Nukleoproteiden und Nukleinen Pentosen abspalten lassen.

So lange meine Substanz noch nicht rein war, konnte ich eine optische Activität derselben mit den gewöhnlichen Zuckerapparaten nicht beobachten. Die ganz reine Substanz erwies sich aber als optisch activ, und zwar als rechtsdrehend. Pavy's Substanz, beziehungsweise der aus ihr dargestellte Zucker erwies sich bei der Untersuchung durch Sheridan Lea in Cambridge¹ als inactiv; wenn überhaupt eine Drehung bemerkbar war, so handelte es sich um eine Linksdrehung, die aber 0·1 g nicht überstieg. Auch Weydemann² konnte keine Drehung des polarisirten Lichtes constatiren, meint aber, dass es nicht ausgeschlossen sei, dass bei der geringen Menge der von ihm erhaltenen Substanz die auf Drehung geprüfte Lösung nicht concentrirt genug war, um eine Drehung deutlich zu machen.

Auch Otto Weiss³ will aus Eiweiss eine inactive Substanz nach dem Pavy'schen Verfahren abgespalten haben.

Die Drehungsbestimmung wurde mit einer bei 100° C. getrockneten Substanz mit dem grossen Lippich'schen Polarisationsapparate bei Bromnatriumbeleuchtung vorgenommen.

¹ Pavy, l. c. p. 40.

² Dissertation: Über das sogenannte thierische Gummi, S. 23.

³ Centralblatt für Physiologie, XII, 15.

0·6822 g Substanz mit 0·6% Asche, also 0·6782 g aschefreie Substanz, wurden in 50 cm^3 Wasser gelöst.

Bei der Beobachtung im 2 dm-Rohre zeigte sich bei mehreren Ablesungen übereinstimmend eine Rechtsdrehung von 0·82°, was ergibt:

$$\alpha_d = +30\cdot22.$$

Die Stickstoffbestimmungen dieser Substanz aus verschiedenen Darstellungen ergaben:

- I. 0·1618 g, bei 100° C. getrocknet, aschefreie Substanz 0·1594 g, gaben nach Dumas $V = 11\cdot5\text{ cm}^3$, $T = 23^\circ$, $B = 750\text{ mm}$, was 0·0128 g N oder 8·007% N entspricht.
- II. 0·1762 g, aschefrei gerechnet 0·1764 g, gaben nach Dumas $V = 13\cdot5\text{ cm}^3$, $B = 749\text{ mm}$, $T = 16^\circ$, was 0·0145 g N oder 8·22% N entspricht.
- III. 0·1703 g Substanz, aschefrei gerechnet 0·1693 g, gaben nach Dumas $V = 12\text{ cm}^3$, $T = 19^\circ$, $B = 748\text{ mm}$, was 0·01357 g N oder 8·01% N entspricht.
- IV. 0·2015 g Substanz, aschefrei gerechnet 0·2001 g, gaben nach Dumas $V = 13\cdot5\text{ cm}^3$, $T = 22^\circ$, $B = 749\text{ mm}$, was 0·0151 g N oder 7·54% N entspricht.

Die Elementaranalyse der Substanz II ergab:

0·1396 g Substanz, aschefrei, mit Asche 0·1428 g, gaben 0·1866 g CO_2 und 0·0918 g H_2O , entsprechend 0·0509 g C und 0·0102 g H oder 42·57% C und 7·30% H.

Die Elementaranalyse der Substanz III ergab:

0·1919 g Substanz, aschefrei gerechnet 0·1903 g, gaben 0·2964 g CO_2 und 0·1358 g H_2O , entsprechend 0·0808 g und 0·0151 g H oder 42·39% C und 7·92% H.

Die Zusammenstellung der Resultate ergibt:

| | Gefunden in Procenten | | | | Berechnet für $2(C_6H_9O_4 \cdot NH_2) + H_2O$ |
|-------------|-----------------------|-------|-------|------|---|
| | I. | II. | III. | IV. | |
| C | — | 42·57 | 42·39 | — | 42·34 |
| H | — | 7·30 | 7·92 | — | 7·59 |
| N | 8·007 | 8·22 | 8·01 | 7·54 | 8·23 |
| Berechnet O | — | 41·91 | 41·68 | — | 41·43 |

Die Resultate der Elementaranalysen meiner reinsten Substanzen führen dahin, den aus dem Eiweiss abgespaltenen Körper als ein stickstoffhaltiges Polysaccharid anzusehen, welches am allerwahrscheinlichsten ein Biose ist. Als Monose, welche dieser Substanz zu Grunde liegt, muss ein Chitosamin oder ein ihm isomerer Körper gedacht werden. Dann führt diese Überlegung zur Annahme eines Polysaccharids $n(\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_4 \cdot \text{NH}_2) + \text{H}_2\text{O}$. Nach den Elementaranalysen nähert sich der Werth für n am meisten der Zahl 2. So lange die Constitution nicht ganz feststeht, schlage ich vor, den Körper »Albumin« zu nennen.

Zur Unterstützung meiner Ansicht über die Constitution führe ich meine, sowie Müller's und Seemann's Studien über die Spaltungsproducte an.

Wenn man das reine Albumin mit verdünnter Säure kocht und die Lösung am Wasserbade einengt, bekommt man einen nicht krystallisirenden, in Alkohol löslichen Syrup, welcher sich stark bräunt und beim Behandeln mit concentrirter Salzsäure stark zersetzt.

Wenn die mit Säure verzuckerte Substanz mit Essigsäure und Phenylhydrazin behandelt wurde, so gab sie (erst nach längerem Kochen) eine gute Ausbeute an einem schön krystallisirten Osazon, welches nach häufigem Umkrystallisiren bei 204°C . schmolz. Das Osazon war in Alkohol schwer löslich. Das Phenylglukosazon schmilzt bei 205°C .

Die verzuckerte Substanz wurde mit Benzoylchlorid und Lauge verestert, der frische Ester in Äther gelöst. Beim Abdunsten des Äthers krystallisirten in Besenreiserform angeordnete Nadeln einer schönen weissen Substanz heraus, welche, vom Syrup abgesaugt und mit wenig Äther und Alkohol gewaschen, sich als stark stickstoffhaltig erwies und $F = 195^\circ \text{C}$. zeigte. Die restirende Substanz war ein Syrup, welcher aus absolutem Alkohol, Eisessig etc. nicht krystallisirte. Ich schloss den Syrup mit Essigsäureanhydrid in ein Rohr ein und erhitzte im Wasserbade bei 100°C . vier Stunden lang.¹ Die Substanz

¹ Einen analogen Vorgang benützte E. Baumann, um aus dem Ester-gemenge der benzoylirten Glykose möglichst viel Pentabenzoylglykose zu erhalten.

hatte sich etwas verfärbt. Sie wurde über Ätznatron unter die Glocke gebracht, wo nach mehreren Tagen ein grosser Theil des Syrups sich in eine Krystallmasse verwandelt hatte; die gereinigten Krystalle zeigten einen Schmelzpunkt von 193 bis 194° C. Der Schmelzpunkt des Tetrabenzoylglukosamins (Baumann) beträgt 195° C.

Diese meine vorläufigen Resultate stehen in engen Beziehungen zu den bereits erwähnten Untersuchungen von Müller¹ und Seemann.²

Müller ist es gelungen, aus Mucin nach Kochen mit Säuren eine Benzoylverbindung abzuscheiden, welche zwischen 203 bis 212° schmolz und deren Elementaranalyse Werthe zwischen Tetra- und Pentabenzoylglukosamin gab. Aus der Benzoylverbindung konnte er eine Substanz abscheiden, welche nach ihrer Elementaranalyse, ihrer Drehung und ihrer Krystallform anscheinend mit dem salzsauren Glukosamin identisch ist. Doch unterschied es sich vom Glukosamin in Bezug auf das Osazon. Dieses war optisch inactiv und hatte einen Schmelzpunkt von 192—196°. Emil Fischer, welcher es untersuchte, sprach sich bestimmt dahin aus, dass es vom Glukosazon verschieden und glaubt in ihm Galaktosazon zu erkennen. Seemann konnte nach einem analogen Verfahren aus sorgfältig gereinigtem Eiweiss nach Kochen mit Säure ebenfalls salzsaures Glukosamin darstellen, dessen Osazon zwischen 199—203° schmolz. Seemann schätzt den Gehalt des Albumins an dieser reducirenden Substanz auf 9%.

Wenn auch alle diese Untersuchungen noch nicht völlig exact den Beweis für die Annahme, dass jenes Chitosamin, welches aus Chitin abgespalten wird, die Grundlage des von mir erhaltenen polymeren Körpers bildet, so ist die Wahrscheinlichkeit jedenfalls gross; wenn nicht das Chitosamin selbst, so kann es sich jedenfalls nur um einen ihm isomeren Körper handeln.

¹ Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften zu Marburg, Nr. 6, Juli 1898.

² Boas'sches Archiv für Verdauungskrankheiten. IV. Bd., 3. Heft, 29. October 1898.

Scheinbar spricht dagegen, dass ich nach Verzuckern mit Säure nicht direct salzsaures Chitosamin erhalten, welches aus Chitin durch langes Kochen mit concentrirter Salzsäure quantitativ erhalten wird. Es verhält sich aber hier ganz anders. Schon das Chitosan, welches nur noch eine Acetylgruppe hat, verhält sich nicht mehr der Salzsäure gegenüber so resistent, wie das Chitin, und es kommt bei der Verzuckerung zu einer secundären Zersetzung.¹

Ich bin jetzt mit dem weiteren Studium der Spaltungsproducte, sowie mit der Durcharbeitung eines Verzuckerungsverfahrens beschäftigt, bei welchem eine secundäre Zersetzung anscheinend ausgeschlossen ist, und hoffe ich, demnächst darüber weitere Mittheilung machen zu können.

Ich will noch bemerken, dass das Verzuckerungsproduct von Pavy nicht krystallisirte, in absolutem Alkohol kaum löslich war, das Ansehen eines zuckerigen Extractivstoffes (sugary extractive) und einen ausgesprochenen Geruch nach gebranntem Zucker hatte.

Die Muttersubstanz des reducirenden Körpers ist mir noch nach den folgenden Verfahren aus dem Eiweiss abzuspalten gelungen. Die folgenden Versuche beweisen, dass es sich nicht etwa um ein Kunstproduct der Alkalieinwirkung, sondern um eine im Eiweissmolekül vorgebildete Gruppe handelt, welche an das Eiweiss locker gebunden und durch die Einwirkung sowohl der peptischen, als auch des tryptischen Enzyms losgelöst werden kann.

Darstellung der Muttersubstanz des reducirenden Körpers aus Eiweiss durch Verdauung mit Pepsin und Salzsäure.

Nach dem oben beschriebenen Verfahren gereinigtes Eiweiss wurde in 1·3% Salzsäure fein vertheilt und mit dialysirtem reinen Pepsin vierzehn Tage lang unter häufigem Umschütteln und Ersatz der verbrauchten Salzsäure im Brutofen bei 37·25° C. verdaut. Das neutralisirte und filtrirte Verdauungs-

¹ Araki, Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiolog. Chemie, 1895, XX, S. 507.

product wurde auf dem Wasserbade zum Syrup concentrirt und in die vierfache Menge absoluten Alkohols gegossen. Der zähe Niederschlag wurde mit absolutem Alkohol gewaschen, hierauf in Wasser gelöst und mit Sublimat gefällt. Man lässt 12 Stunden stehen, filtrirt vom Niederschlage ab und fällt im Filtrate das gelöste Quecksilber mit Schwefelwasserstoff aus, filtrirt vom Schwefelquecksilber, entfernt den Schwefelwasserstoff, indem man Luft durch die Lösung durchsaugt, neutralisirt genau und fällt nun mit essigsaurem Blei. Es entsteht ein geringer, hauptsächlich aus Chlorblei bestehender Niederschlag, welcher abfiltrirt wird. Durch Zusatz von Ammoniak fällt nun die Bleiverbindung des sogenannten Kohlehydrates, welche gut gewaschen und hierauf mit Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Die vom Schwefelwasserstoff befreite Lösung gibt eine, wenn auch geringe Fällung mit Tannin; die Lösung wird von der überschüssigen Gerbsäure mit essigsaurem Blei befreit, mit Schwefelwasserstoff entbleit, in dieser Weise mehrere Male mit Tannin gereinigt, schliesslich concentrirt und in absoluten Alkohol eingegossen, die entstandene weisse Fällung mit absolutem Alkohol und absolutem Äther gewaschen. Man erhält eine undeutlich mikroskopisch krystallisirte Substanz, welche in allen ihren Eigenschaften mit der mittelst der im Vorhergehenden geschilderten Barytmethode übereinstimmt.

Durch Trypsinverdauung gelingt es ebenfalls die Substanz nach einer ähnlichen Methode darzustellen, doch ist mir bis nun die Reinigung nicht in der Weise gelungen, wie bei den mittelst Baryt oder Pepsin und Salzsäure dargestellten Präparaten.

Es wurde reines Eiweiss fein zerrieben und in 0·25⁰/₁₀ Natriumcarbonatlösung mit Trypsin versetzt. Alkoholische Thymollösung und Chloroform wurden in genügender Quantität zugesetzt, um während des Verdauungsprocesses die Fäulniss hintanzuhalten. Nach 14 Tagen wurde vom Unverdauten und den auskrystallisirten Verdauungsproducten abfiltrirt und die Lösung mit Sublimat ausgefällt, hierauf wie das Pepsinverdauungsproduct behandelt. Jedoch gelingt hier die schliessliche Reinigung mit Tannin nicht, da man keine Fällung in den Spaltungsproducten des Bleiniederschlages erzielen kann. Mit

einer Modification dieser Methode für das Verdauungsproduct des Eiweisses mit Trypsin bin ich beschäftigt.

Ich habe meine Untersuchungen über die Darstellung der Kohlehydratgruppe auch auf andere Eiweisskörper ausgedehnt; gegenwärtig kann ich erst über die Resultate der Fleischuntersuchung berichten. Ich verarbeitete amerikanisches Fleischpulver (Rückstand der Fleischextractfabrication) nach der oben beschriebenen Barytmethode. Dieses Pulver erwies sich dem Eiweiss gegenüber als recht arm an Kohlehydraten. Es gelang mir nach dieser Methode aus dem Fleische die in allen Reactionen gleiche Substanz, wie aus dem Hühnereiweiss darzustellen, doch ist es schwer ein ganz reines Präparat zu erhalten. Über Untersuchungen anderer rein dargestellter Eiweisskörper werde ich in der Folge berichten.

Die aus dem Eiweiss dargestellte kohlehydratartige Substanz wurde von Pavy nach ihren Reactionen mit Landwehr's thierischem Gummi verglichen. Weydemann, welcher schon den Stickstoffgehalt der Substanz kannte, bezeichnete sie geradezu als thierisches Gummi. Haben wir Recht, diese beiden Substanzen für identisch zu halten?

Als thierisches Gummi wurde von Landwehr¹ ein stickstoffreies Kohlehydrat der Formel $C_{12}H_{20}O_{10}$ beschrieben, welches er aus Metalbumin und aus einer Reihe verwandter Substanzen dargestellt hat. Die Landwehr'sche Substanz ist in allen ihren Reactionen mit der unserigen identisch. Es ist schwer anzunehmen, dass er den Stickstoffgehalt übersehen hat, da er ursprünglich immer N-haltige Producte erhielt und eine Methode zur Entfernung der nach seiner Ansicht von Eiweisskörpern herrührenden Stickstoffes suchte. Es war ihm auch bekannt, dass Pouchet² einen ganz ähnlichen Körper aus der Lunge dargestellt, welcher aber noch immer 5% N enthielt.

Loebisch³ hat das thierische Gummi aus Sehnenmucin abgespalten und analysirt, ohne jedoch etwas vom Stickstoffgehalt zu erwähnen. Auch Hammarsten⁴ erhielt aus *Helix*

¹ Zeitschrift für physiolog. Chemie, VIII, S. 122.

² Comptes-rendues, 1883, p. 1, Nr. 20 et 21.

³ Zeitschrift für physiolog. Chemie, X, S. 40.

⁴ Lehrbuch der physiolog. Chemie, III. Aufl.

Pomatia eine Substanz, welche die qualitativen Reactionen des thierischen Gummis gab und bei Prüfung mit der Lassaigne'schen Probe sich als stickstofffrei erwies. Aus Submaxillarmucin konnte er aber nie ein stickstoffreies Kohlehydrat abspalten. Folin,¹ welcher die Untersuchungen Landwehr's wiederholte, erhielt aber eine Substanz mit 2% Asche, welche C 47·60%, H 7·20%, N 9·84% enthielt. Andere Präparate enthielten 10·33% N und 12·4% N. Nach der Art der Darstellung des Landwehr'schen Gummis glaube ich annehmen zu können, dass es sich um einen mit dem unseren identischen Körper handelt, welcher aber zum Theil zersetzt, zum Theil verunreinigt mit anderen Spaltungsproducten zur Untersuchung gelangt.

Nach meinen Erfahrungen lässt sich von dem Albumin aus reinem Eiweiss nur circa 1% rein darstellen. Man erleidet aber in Folge der vielen Fällungen und Reinigungen erhebliche Verluste, so dass der Gehalt des Eiweisses an dieser Substanz viel höher zu schätzen ist. Seemann schätzt ihn auf 9%, Hofmeister auf 15%. Da Hofmeister anscheinend bei der Jodirung des Albumins einen N-freien Complex abtrennt, welcher als Kohlehydrat anzusehen ist, muss man die Frage aufwerfen, ob nicht im Eiweiss zwei verschiedene Kohlehydrat-complexe, ein stickstofffreier und ein stickstoffhaltiger, vorgebildet sind. Aus den Untersuchungen Seemann's, wie den meinen geht nur hervor, dass ein stickstoffhaltiger Kohlehydrat-complex vorhanden ist. Ich lasse die Frage nach einem zweiten Kohlehydratcomplex offen, wengleich ich einem solchen bei meinen zahlreichen Untersuchungen bis nun nicht begegnen konnte.

Aus den Mengenverhältnissen, sowie aus der wahrscheinlichen Constitution dieses Körpers können wir jedoch den sicheren Schluss ziehen, dass keineswegs die sogenannte Kohlehydratgruppe des Eiweisse zur Lösung der Frage nach der Zuckerausscheidung beim schweren und experimentellen Diabetes herangezogen werden kann, es sich vielmehr dort nicht etwa um Abspaltung von im Eiweiss vorgebildetem Kohle-

¹ Zeitschrift für physiolog. Chemie, XXIII, 347 f.

hydrat, sondern um einen tiefgehenden Zerfall und synthetische Zuckerbildung unter Desamidirung des Eiweisses handelt. Ebenso muss der Zusammenhang zwischen den reducirenden Eigenschaften des Eiweisses und seiner peptischen Spaltungsproducte mit der Frage nach der Kohlehydratnatur des Eiweisses bestritten werden, weil man im Eiweiss keine reducirenden Monosen, sondern ein polymeres, nicht reducirendes, stickstoffhaltiges Polysaccharid findet.

Vom biologischen, sowie entwicklungsgeschichtlichen Standpunkte ist es jedenfalls sehr interessant, die engen Beziehungen, welche zwischen dem Eiweiss und den chitin-haltigen Gerüstsubstanzen der niederen Thiere bestehen und für welche die vorliegende Arbeit neue Beweise erbringt, kennen zu lernen, da das Chitin sich nur um drei Acetylgruppen von dem Albumin unterscheidet. Der endgiltige Beweis für die Identität der Substanzen kann nur erbracht werden, wenn es gelingt, durch Abspaltung aller drei Acetylgruppen des Chitins zu dieser Substanz zu gelangen.