IV. Ueber die Abspaltung von Zucker aus Eiweiss.

Bemerkungen zu dem gleichnamigen Aufsatz des Herrn Dr. Paul Mayer in No. 6 dieser Wochenschrift.

Von Professor Dr. Friedrich Müller und Dr. John Seemann in Marburg.

In dem oben genannten Aufsatz hat Herr P. Mayer gezeigt, dass das Osazon, welches sich aus Eialbumin nach dem Kochen mit verdünnter Salzsäure gewinnen lässt, die Zusammensetzung und den Schmelzpunkt eines Hexosazons darbietet. Gleichzeitig erschien in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft und der Pariser Académie des sciences eine Arbeit von Blumenthal und P. Mayer, in welcher die nämliche Thatsache angeführt und dahin erweitert wird, dass es sich um Glukosazon handelt. Die Autoren kommen zu dem Schluss: „Damit ist die Abspaltung einer Hexose aus Albumin dargethan.“ Da durch diese Darstellung der Glaube erweckt werden könnte, als ob es erst diesen Arbeiten gelungen sei, den oben erwähnten Nachweis zu liefern, so sehen wir uns genöthigt, zur Richtigstellung Folgendes anzuführen.

Blumenthal und Mayer haben den Nachweis einer Hexosegruppe im Eialbumin dadurch geführt, dass sie ein Derivat, das Osazon, untersuchten. Dieses indirekten Beweises bedarf es aber heute nicht mehr: Nachdem der eine von uns (Müller) die aus Mucin abspaltbare reducirende Substanz rein dargestellt und als Glukosamin erkannt hatte, gelang es dem andern (Seemann) mit denselben Methoden diesen Körper auch aus sorgfältig gereinigtem Eialbumin zu erhalten. Durch Elementaranalyse, durch die spezifische Drehung und, was am beweisendsten ist, durch crystallographische Untersuchung und Messung wurde dargethan, dass dieser aus Eialbumin abspaltbare kohlehydratähnliche Körper identisch war mit dem Glukosamin von Ledderhose.¹⁾ Die aus Eiereiweiss abspaltbare reducirende Substanz ist also gar nicht, wie Pavy, Blumenthal und Mayer vermuthen, ein „Zucker“ im engeren Sinne (Blumenthal und Mayer denken an Galaktose, Glukose, Mannose und Lävulose), sondern die Amidoverbindung einer Hexose. Nachdem

¹⁾ F. Müller, Sitzungsbericht der Gesellschaft zur Beförderung der gesammten Naturwissenschaften 1896, No. 6 und 1898, No. 6. Seemann, Ueber die reducirenden Substanzen, welche sich aus Hühner-eiweiss abspalten lassen, Inauguraldissertation, Marburg 1898, abgedruckt im Archiv für Verdauungskrankheiten IV. Unsere Angabe, dass aus Eialbumin und Mucoïd Glukosamin abgespalten wird, hat rasch Bestätigung erfahren, in dem kürzlich erschienenen Jahresbericht für die Fortschritte der Thierchemie findet sich eine Arbeit von Zanetti, der für das Ovomucoïd zum selben Resultat kommt, S. Fraenkel konnte unsere Angaben für das von Ovomucoïd befreite Eialbumin bestätigen.

die reducirende Substanz aus dem Eialbumin in schönen Crystallen rein dargestellt und mit einem schon bekannten kohlehydratähnlichen Körper identificirt worden war, ist es selbstverständlich, dass auch die Derivate dieser beiden Stoffe identisch sein müssen. Glukosamin liefert, wie Tiemann gezeigt hat, Glukosazon. Wenn Blumenthal und Mayer nach unseren Methoden arbeiten wollen, wird es ihnen mit Leichtigkeit gelingen, auch den Stickstoffgehalt und das Rechtsdrehungsvermögen des von ihnen gesuchten Zuckers zu erkennen. Da die Autoren unsere Arbeiten kannten, so ist es uns schwer verständlich, warum sie diese bereits bekannten Thatsachen nicht erwähnten und zu der Vermuthung kamen, es müsste der Beweis für die Abspaltung einer Hexose aus dem Eialbumin erst erbracht werden. Blumenthal und Mayer erwähnen, dass das von Seemann verarbeitete Albumin vielleicht nicht ganz frei von Ovomucoïd war, doch erwähnt Seemann ausdrücklich, dass er sein Präparat sorgfältig von anhaftendem Traubenzucker und Ovomucoïd durch wiederholtes Auskochen gereinigt hatte, und er hebt hervor, wie unwahrscheinlich es ist, dass der bedeutende Gehalt des Albumins an reducirender Substanz (8%) von einer Beimengung von Ovomucoïd herrührte. Auch Weiss¹⁾ und S. Fränkel,²⁾ die sich neuerdings mit der Frage nach der reducirenden Substanz aus Eiereiweiss beschäftigt haben, bedienen sich desselben Verfahrens und haben danach ihr Eialbumin als frei von Ovomucoïd aufgefasst. Nur die Thatsache, dass das kohlehydratähnliche Spaltungsprodukt des Eialbumins identisch war mit dem des Ovomucoïds, veranlasste Seemann, die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass auch die Muttersubstanz verwandt oder identisch war. Diese Möglichkeit wird vielleicht dadurch eliminirt werden können, dass crystallisirtes Albumin als Ausgangsmaterial verwandt wird. Die von Blumenthal und Mayer geübte Reinigungsmethode unterscheidet sich von der unserigen nur dadurch, dass das durch Siedehitze coagulirte Eiweiss nach dem Auswaschen mit Alkalilauge wieder in Lösung gebracht und dann mit Essigsäure ausgefällt wurde. Man wird den Beweis abwarten müssen, ob ein so eingreifendes Verfahren zweckmässiger und geeignet ist, ein reineres Eialbumin darzustellen, und ob aus diesem andere Spaltungsprodukte erhalten werden, als wir unter Anwendung des bisher üblichen Reinigungsverfahrens gewinnen konnten.

Ob ausser dem Glukosamin noch andere kohlehydratartige Körper im Eiereiweiss vorgebildet sind, ist vor der Hand noch nicht zu entscheiden. Nach Blumenthal und Mayer spricht dafür der Umstand, dass neben dem Glukosazon noch Phenylhydrazinverbindungen von niedrigerem Schmelzpunkt, grösserer Löslichkeit und anderem mikroskopischen Aussehen erhalten wurden. Doch ist dieser Befund wenig beweiskräftig, denn solche unreinen, niedrig schmelzenden Osazone werden neben den höher schmelzenden stets und in desto grösserer Menge gefunden, je weniger rein das Ausgangspräparat war. Befreit man das nach der Spaltung von Mucin, Ovomucoïd oder Albumin mit HCl resultirende Filtrat gründlich von den Albumosen, so behält man ein hohes schmelzendes und besser crystallisirendes Osazon, als wenn man keine derartige Reinigung vorausschickt. Tiemann³⁾ ist es selbst bei Anwendung reinen Glukosamins nur nach vielen Bemühungen gelungen, reines Glukosazon vom richtigen Schmelzpunkt zu gewinnen, und auch Blumenthal und Mayer geben an, dass sie bisweilen, bei anscheinend reinen Osazonpräparaten, einen Schmelzpunkt von 195° statt des richtigen von 205° fanden. Weiss⁴⁾ hat aus Eialbumin Osazone vom Schmelzpunkt 179–191° dargestellt und hat aus dem niedrigen Schmelzpunkt und der (nicht publicirten) Elementaranalyse geschlossen, dass nicht eine Hexose, sondern eine Methylpentose vorlag. — Wie wenig Gewicht auf den Schmelzpunkt, die Crystallform, die Löslichkeit und selbst die Elementaranalyse nicht vollständig reiner Osazone gelegt werden darf, haben wohl alle diejenigen erfahren, die sich eingehender mit diesen Fragen beschäftigt haben.

Pavy ebenso wie Blumenthal und Mayer sind bei ihren Untersuchungen von dem Bestreben ausgegangen, im Eiweissmolekül denjenigen zuckerartigen Atomcomplex abzuspalten, der es erklären soll, dass bei schwerem Diabetes auch im Hunger und bei kohlehydratfreier Kost noch grosse Mengen von Zucker ausgeschieden werden⁵⁾.

¹⁾ Weiss, Centralblatt für Physiologie XII, 15.

²⁾ S. Fränkel, Sitzungsbericht der Wiener Akademie der Wissenschaften 1898, 107, IIb.

³⁾ Tiemann, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 17, S. 241 und 19, S. 49.

⁴⁾ Weiss, l. c. stützt die Annahme, dass aus dem Eialbumin eine Methylpentose abgespalten werde, ausserdem noch auf den Ausfall einer Farbenreaction im Destillat. Man wird die ausführliche Publication abwarten müssen, ehe man beurtheilen kann, wie weit den Angaben von Weiss Beweiskraft zuzuerkennen ist. Unsere Untersuchungen stimmen mit seinen Befunden nicht überein.

⁵⁾ Es ist allerdings noch nicht sicher erwiesen, dass diese Traubenzuckermengen wirklich nur aus dem Eiweiss der Nahrung oder des Körpers stammen, die Möglichkeit, dass sie aus Fett gebildet werden könnten, ist noch nicht sicher widerlegt, und vom chemischen Standpunkt würde die Zuckerbildung aus Fett keine grösseren und keine geringeren Schwierigkeiten bieten als die aus Eiweiss; doch sprechen

Man dachte sich (neuerdings hält auch Lusk¹⁾ an dieser Anschauung fest), dass im „Eiweiss“ des Körpers und der Nahrung ein grosser kohlehydratartiger oder wenigstens stickstoffreicher Atomcomplex vorhanden sei, der im Stoffwechsel von den stickstoffhaltigen Gruppen der Eiweissmoleküle abgetrennt und bei Diabetes zu Traubenzucker verwandelt und nicht weiter oxydirt werden sollte. Wir möchten nicht versäumen, nochmals²⁾ darauf hinzuweisen, dass die Anschauung nach den neueren Untersuchungen kaum mehr zulässig ist. Durch den qualitativen und quantitativen Abbau des Eiweissmoleküls, wie er besonders durch Kossel inauguriert worden ist, wurde der Nachweis geführt, dass die verschiedenen Proteinsubstanzen trotz ihrer ziemlich gleichbleibenden elementaren Zusammensetzung eine sehr verschiedene Constitution darbieten, insbesondere lässt sich ein kohlehydratartiger, oder sagen wir besser reduzierender Bestandtheil durchaus nicht bei allen nativen Eiweisskörpern auffinden, geschweige denn in gleicher Menge nachweisen. Im Casein fehlt er zum Beispiel vollkommen, im Muskeleiweiss und im Serumalbumin ist er anscheinend nur in sehr geringer Menge vorhanden, nur im Eieralbumin erreicht er eine bedeutendere Grösse (circa 8%)³⁾. Man ist also eigentlich nicht berechtigt, in Stoffwechselversuchen und ihren Berechnungen das „Eiweiss“ als einen stets gleichartigen Stoff einzustellen und in ihm einen kohlehydratartigen Complex als constant vorhanden anzusehen, wie er im Eieralbumin nachgewiesen ist. — Von dem einzigen bisher bekannten kohlehydratähnlichen Spaltungsproduct der Eiweisskörper, nämlich dem Glukosamin, ist es überdies noch nicht bekannt, ob es im Organismus in Traubenzucker übergehen kann. Da die freie Base in wässriger Lösung bei alkalischer Reaction ganz ausserordentlich leicht zersetzlich ist⁴⁾, erscheint es sogar recht wohl möglich, dass sie auch in den Körpersäften rasch zerstört wird.

Aber selbst wenn im „Eiweiss“ durchschnittlich ein so hoher Gehalt an reduzierender Substanz vorhanden wäre, wie im Eiereiweiss oder selbst im Ovomucoid oder Mucin, so würde dies immer noch nicht hinreichen, um die grossen Zuckermengen zu erklären, von denen nachgewiesen ist, dass sie sich bei schwerem Diabetes aus dem Eiweiss bilden.

Minkowski⁵⁾ fand bei Hunden nach Pankreasexstirpation, dass bei Hunger und reiner Fleischkost das Verhältniss des Stickstoffs zum Zucker im Harn fast constant 1:2,8 beträgt, woraus berechnet werden kann, dass auf 100 g zersetzten Eiweiss ungefähr 45 g Zucker ausgeschieden werden. v. Mering⁶⁾ konnte beim Phloridzindiabetes den Nachweis führen, dass auf einen Eiweissumsatz von 100 g sogar eine Ausscheidung von 60 g Traubenzucker traf, und diese Angabe ist von Lusk⁷⁾ dahin erweitert worden, dass nach hohen Phloridzindgaben bei Hunden im Hungerzustand sowohl als bei ausschliesslicher Fütterung mit Fleisch und Leim das Verhältniss des Stickstoffs zur Dextrose im Harn nahezu constant wie 1:3,75 bleibt; daraus lässt sich der Schluss ziehen, dass aus 100 g Eiweiss 58,7 bis 60 g Zucker gebildet worden sein müssen.

Bei schwerem menschlichem Diabetes ist bei kohlehydratfreier Kost wiederholt schon das Verhältniss von N:Traubenzucker im Harn wie 1:3,2,⁸⁾ 1:2,9 ja sogar 1:3,7⁹⁾ gefunden worden, was mit Minkowski's, v. Mering's und Lusk's Zahlen übereinstimmt.

Ist es nun möglich, dass im Eiweissmolekül eine diesen Zahlen ent-

eine Reihe gewichtiger Gründe dafür, dass beim schweren Diabetes des Menschen und beim experimentellen Diabetes der Thiere die Zuckerbildung thatsächlich nur auf Kosten des Eiweiss stattfindet. Bei diesen Diabetesfällen steigt die Zuckerausscheidung mit der Steigerung der Eiweissnahrung, während Fettzuckerung keine Zunahme der Zuckerausscheidung erzeugt. Beim Pankreasdiabetes hat Minkowski im Hunger und bei Fleischfütterung ein constantes Verhältniss zwischen der Zuckerausscheidung und dem Eiweissumsatz gefunden. Bei Phloridzindiabetes konnte v. Mering und neuerdings in einer sehr sorgfältigen Arbeit Lusk nachweisen, dass im Hungerzustand wie auch bei ausschliesslicher Fleisch- und Leimfütterung die Zuckerausscheidung dem Eiweissumsatz genau proportional geht und dass durch Fettzufuhr keine Zunahme, sondern eine Abnahme der Zuckerausscheidung stattfindet.

¹⁾ Lusk, Reilly und Nollan, Phloridzindiabetes in dogs. American Journal of Physiology 1898, Vol. I. Ferner: The Chemistry of the proteid molecule. Yale medical Journal, June 1898.

²⁾ cf. F. Müller, Allgemeine Pathologie der Ernährung in v. Leyden's Handbuch der Ernährungstherapie Bd. I, S. 188.

³⁾ Aus Ovomucoid lässt sich allerdings eine grössere Menge reduzierender Substanz abspalten, nach Seemann circa 15%, aus dem Mucin des Sputums 34% und aus dem der Submaxillaris 24%, doch kommen diese Mucine und Mucoide für den Stoffwechsel wohl weniger in Betracht.

⁴⁾ cf. Breuer, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1898, Bd. XXXI, S. 2193.

⁵⁾ Minkowski, Untersuchungen über Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Leipzig 1893.

⁶⁾ v. Mering, Zeitschrift für klinische Medicin Bd. XIV, S. 431.

⁷⁾ Reilly, Nollan und Lusk, American Journal of Physiology 1898, Vol. I.

⁸⁾ Eigene Beobachtung.

⁹⁾ Rumpf, Berliner klinische Wochenschrift 1898, No. 43.

sprechend grosse Menge von kohlehydratartigen oder sagen wir auch nur stickstoffreichen Stoffen präformirt vorhanden ist?

Herr College Kossel hatte die grosse Liebesswürdigkeit, mir einige seiner Untersuchungen zur Verfügung zu stellen, in welchen er die Zersetzungsproducte verschiedener Eiweisskörper nach Spaltung mit Säuren quantitativ bestimmt hatte. Diese Untersuchungen, welche Herr Professor Kossel zum Theil in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Kutscher ausführte, sollen später von ihnen ausführlich mitgeteilt werden. Die hier angeführten Zahlen können noch nicht als endgiltig betrachtet werden, sie genügen aber, um eine Uebersicht über die Vertheilung des Kohlenstoffs auf die verschiedenen Spaltungsproducte der Eiweisskörper zu geben.

Eieralbumin.

15% N 53,28% C

Spaltung mit 20% Salzsäure 72 Stunden.

Gesamtstickstoff . . . = 100 gesetzt entspricht 355,0 g Kohlenstoff darin Hexonbasen

(Arginin, Histidin, Lysin) = 27,0 N

46,6 g

Stickstoff der Mono-

amidosäuren . . . = 50,4 N

237,6 g (annähernd)

77,4 N entspricht 284,2 g Kohlenstoff.

In Form nicht zuckerartiger Verbindungen finden sich also etwa 80% des gesammten Kohlenstoffs.

Histon.

18,5% N 52,3% C

Spaltung mit 33% Schwefelsäure 20 Stunden.

Gesamtstickstoff . . . = 100 gesetzt entspricht 282,7 g Kohlenstoff

darin Basen . . . = 40,5 N

59,3 g

„ Monoamidosäuren = 38,4 N

181,0 g (annähernd)

78,9 N entspricht 240,3 g Kohlenstoff.

In Form nicht zuckerartiger Verbindungen sind also annähernd 85% des gesammten Kohlenstoffs vorhanden.

Casein

15,7% N 53,0% C

Gesamtstickstoff . . . = 100 gesetzt entspricht 337,6 g C.

darin Basen . . . = 23,0 N

41,2 g C.

„ Monoamidosäuren = 53,7 N

253,0 g C.

76,7 N entspricht 294,2 g C.

In Form nicht zuckerartiger Verbindungen finden sich also ungefähr 87% des gesammten Kohlenstoffs.

Unter den Monoamidosäuren ist Leucin, Tyrosin, Glutaminsäure und Asparaginsäure zu verstehen; von diesen bildet Leucin die weit überwiegende Menge. Unter den stickstoffhaltigen Spaltungsproducten findet sich stets auch Ammoniak (circa 10% des Gesamtstickstoffs) sowie ein wechselnder Bruchtheil unbekannter Stoffe, welche ebenfalls noch eine gewisse Menge von Kohlenstoff in Anspruch nehmen; unter einer dieser letzteren, oben nicht in Rechnung eingestellten Gruppen ist auch das Glukosamin zu erwarten.

Diese Analysen Kossel's zeigen also, dass im Eiweissmolekül durch die nicht zuckerartigen Verbindungen (Leucin, Tyrosin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Arginin, Histidin, Lysin u. a.) bereits 80 bis 87% des gesammten Kohlenstoffs in Anspruch genommen sind; für die zuckerartigen Verbindungen bleiben höchstens 20—13% des Kohlenstoffs übrig, und zwar beim Eieralbumin, das grössere Mengen reduzierender Substanzen abspalten lässt, mehr als beim Casein, das davon frei ist. R. Cohn¹⁾ glaubte sogar bei der Spaltung des Caseins durch Salzsäure 91—97,8% der zur Analyse verwandten Menge in Form von Spaltungsproducten erhalten zu haben, es blieben dann also noch weniger stickstofffreie Körper als möglich über.

Nehmen wir den günstigsten Fall, nämlich den des Eieralbumins, wo 20% des gesammten Kohlenstoffgehalts in zuckerartigen Verbindungen vorhanden sein können, so würden diese 50 Theilen Zucker entsprechen. Bei einem Kohlenstoffgehalt des Eieralbumins von 53% würde sich daraus berechnen lassen, dass auf 100 g Albumin höchstens 26 g Zucker treffen könnten. Für die anderen Eiweissstoffe würde sich aber noch eine geringere Menge von Zucker als möglich ergeben.

Diese Zahlen reichen also nicht entfernt hin, um die gewaltigen Zuckermengen zu erklären, welche sich nach den Berechnungen von Minkowski, v. Mering, Lusk beim experimentellen Diabetes oder auch nach den oben angeführten Beispielen beim Diabetes des Menschen aus Eiweiss bilden müssen.

Es bleibt also nur übrig, anzunehmen, dass der Zucker, welcher sich bei Diabetes aus Eiweiss bildet, nicht als solcher präformirt im Eiweissmolekül vorgebildet ist, sondern dass er sich aus stickstoffhaltigen Atomcomplexen durch theilweise Oxydation und unter Abspaltung des Stickstoffs (zum Beispiel der Amidgruppe) bildet.²⁾ Man

¹⁾ Rudolph Cohn, Ueber eine quantitative Eiweisspaltung durch Salzsäure. Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. XXVI, S. 395.

²⁾ Eine ähnliche Anschauung, dass nämlich der Zucker aus den N-haltigen Eiweissbestandtheilen durch „die Amidirung“ entsteht, hat auch S. Fränkel in einer soeben erschienenen Arbeit ausgesprochen. Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften in Wien, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, Bd. CVII, II, b.

wird dabei zunächst an diejenigen Spaltungsproducte des Eiweiss denken müssen, die sechs Atome Kohlenstoff aufweisen und welche von Kossel als Hexone bezeichnet worden sind, also die Hexonbasen und vor allem das Leucin.