XXII.

Arbeiten aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie
zu Strassburg.

142. Ueber das Glutolin, ein Albuminoid des Blutserums.

Von

Dr. Edwin S. Faust
I. Assistenten des Instituts.

Schon vor mehr als 20 Jahren hat Hammarsten¹⁾, als erster, die Ansicht ausgesprochen, dass das Serum- oder Paraglobulin ein Gemisch von verschiedenen Eiweisskörpern sei, denen jedoch allen die Grundeigenschaften der Globuline zukämen.

Die verschiedenen Darstellungsmethoden des Serumglobulins, als da sind Verdünnung des Blutserums, dann Ansäuern desselben mit Essigsäure, ferner Verdünnung des Serums und Einleiten von Kohlensäure, ferner Dialyse des Serums, haben zu mancherlei Verwechslung und Confusionen seitens der Autoren Veranlassung gegeben²⁾, indem keine der erwähnten Methoden zu einer quantitativen Ausfällung des Globulins, oder besser, der Globuline führt. Selbst die von Hammarsten (l. c.) und Starke³⁾ empfohlene Fällung des Serumglobulins durch Sättigung des Serums mit Magnesiumsulfat, welche Methode auch zur quantitativen Bestimmung desselben Anwendung gefunden hat, kann, wie ich im Folgenden zu zeigen gedenke, nur zur Bestimmung der Gesamtmenge der im Serum vorhandenen Globuline in Anwendung kommen.

Es ist mir nun gelungen, aus dem aus Pferdeblutserum gewonnenen, bisher als Serumglobulin bezeichneten Gemenge einen bis jetzt unbekannten Eiweisskörper zu isoliren, welcher in jedem bisher untersuchten Pferdeblutserum, wie wohl in wechselnden Mengen vorhanden war, und in seinen Eigenschaften und seiner Zusammensetzung so erhebliche Unterschiede vom Serumglobulin aufweist, dass man sich

1) Hammarsten, Lehrbuch der physiolog. Chemie, 1895, S. 104, sowie Pflüger's Archiv Bde. XVII, XVIII, 1878, XXII, 1880.

2) Hammarsten, Ueber das Paraglobulin. Pflüger's Archiv Bde. XVII und XVIII, 1878.

3) Starke, Maly's Jahresbericht Bd. XI, S. 18, 1881.

genöthigt sieht, denselben als eine heterogene Beimischung des letzteren anzusprechen.

Versetzt man abcentrifugirtes Pferdeblutserum mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung, so wird das Serumalbumin nicht gefällt. Hat man defibrinirtes Blut verarbeitet, so ist nach den bisherigen Anschauungen nur Serumglobulin und Fibrinoglobulin in dem Niederschlag enthalten. Löst man diesen auf dem Filter gesammelten Niederschlag in viel destillirtem Wasser und leitet nach nicht zu schwachem Ansäuern mit Essig- oder Salzsäure lange Zeit Kohlensäure ein, so fällt eine zähe, teigartige, zusammenklebende Masse aus, die der Hauptmenge nach am Glasrohr, welches zum Einleiten der Kohlensäure dient, kleben bleibt und so grösstentheils mit Leichtigkeit aus der salzhaltigen Flüssigkeit, aus welcher sie gefällt wurde, entfernt werden kann. Manchmal fällt der Körper indess auch feinflockig aus; bringt man ihn aber dann aus der Salzlösung in destillirtes Wasser und rührt um, so vereinigt sich die feinflockige Masse zu einem zähen Klumpen.

Zur Entfernung des Ammoniumsulfates, sowie des beigemengten Serumglobulins und Albumins, wird nun die zähe Masse zuerst unter destillirtem Wasser, dann unter zehnprocentiger Kochsalzlösung geknetet; hierauf in verdünnter, etwa halbprocentiger Kalilauge gelöst; die Lösung ist keine vollständige, denn ein Theil des in Frage stehenden Körpers quillt bei dieser Behandlung nur auf, löst sich aber auch bei tagelangem Stehen unter verdünnter Kalilauge nicht vollständig auf. Man kann die Reinigung des Körpers und seine Trennung vom Serumglobulin auch vereinfachen, indem man ihn mit halbprocentiger Kalilauge übergiesst und dann direct noch zehnprocentige Kochsalzlösung zugiebt. Filtrirt man dann und setzt dem etwas opalisirenden Filtrat vorsichtig Essig- oder Salzsäure bis zur schwachsauren Reaction zu, so fällt der Körper als feinflockiger Niederschlag aus. Bei genauer Neutralisation der alkalischen Lösung setzt sich der Niederschlag leicht und vollständig klar ab. Man filtrirt denselben ab, löst wieder in verdünnter Kalilauge unter Zusatz von Kochsalz, filtrirt und fällt wiederum durch Säurezusatz aus. Wiederholt man diese Operation mehrmals, so erhält man schliesslich einen schneeweissen, grobflockigen Niederschlag der auf dem Filter gesammelt, mit destillirtem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaction gewaschen, dann unter Alkohol, später unter Aether gebracht und schliesslich im Vacuum bei 100° über Schwefelsäure getrocknet wird. So dargestellt giebt dieser Körper, mit alkalischer Bleilösung gekocht, keine Schwarzfärbung, wie es

für die eigentlichen Eiweisskörper charakteristisch ist. Man erhält statt dessen nur eine ganz leichte, von Schwefelblei anscheinend unabhängige Bräunung der Flüssigkeit. Diese Reaction, d. h. das Ausbleiben einer Schwarzfärbung beim Kochen mit alkalischer Bleilösung habe ich als Kriterium für die Abwesenheit von Serumglobulin genommen.

Dieser Körper giebt nur äusserst langsam sein hydratartig gebundenes Wasser ab, denn selbst nach dreiwöchentlichem Trocknen im Vacuumexsiccator über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur hatte das Präparat noch kein constantes Gewicht angenommen. Ich habe denselben deshalb im Trockenapparat (im luftverdünnten Raum) mehrere Stunden lang bei ca. 95° getrocknet, wobei dann eine Gewichtconstanz erzielt wurde. Wie schon oben erwähnt, ist es mir gelungen, aus acht verschiedenen Proben von Pferdeblutserum diesen Körper auf die beschriebene Weise zu isoliren, und zwar sowohl aus defibrinirtem, als auch aus durch Zusatz von Ammoniumoxalat ungerinnbar gemachtem Blut. Einmal habe ich auch aus Rinderblutserum einen Körper mit denselben physikalischen Eigenschaften erhalten. Für die Analyse wurden 3 Präparate dargestellt; ich gebe hier die analytischen Daten wieder.

Präparat I.

Substanz	CO ₂	C	C Proc.	H ₂ O	H	H Proc.	N	N Proc.	BaSO ₄	S	S Proc.
0,2796	0,5232	0,1428	51,07	0,1839	0,0204	7,29	—	—	—	—	—
0,1685	0,3146	0,0858	50,92	0,1090	0,0121	7,18	—	—	—	—	—
0,1232	—	—	—	—	—	—	0,02128	17,27	—	—	—
0,1341	—	—	—	—	—	—	0,02331	17,38	—	—	—
0,3021	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0136	0,00187	0,62
0,2313	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0118	0,00162	0,70
0,7213	gaben 0,00288 g Asche = 0,40 Proc.										

Präparat II.

0,1553	0,2896	0,0789	50,80	0,1009	0,0112	7,21	—	—	—	—	—
0,1612	0,3014	0,0822	50,99	0,1051	0,0116	7,19	—	—	—	—	—
0,1038	—	—	—	—	—	—	0,01806	17,40	—	—	—
0,1435	—	—	—	—	—	—	0,02485	17,31	—	—	—
0,4012	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0224	0,0028	0,69
0,2413	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0105	0,00144	0,59
0,6122	gaben 0,0023 g Asche = 0,37 Proc.										

Präparat III.

Sub- stanz	CO ₂	C	C Proc.	H ₂ O	H	H Proc.	N	N Proc.	BaSO ₄	S	S Proc.
0,1471	0,2760	0,0753	51,18	0,0965	0,0107	7,27	—	—	—	—	—
0,1411	0,2641	0,0720	51,02	0,0914	0,0101	7,15	—	—	—	—	—
0,1424	—	—	—	—	—	—	0,02492	17,50	—	—	—
0,1611	—	—	—	—	—	—	0,02835	17,59	—	—	—
0,1512	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0075	0,00103	0,67
0,3214	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0138	0,00189	0,59
0,5261	gaben 0,0026 g Asche = 0,49 Proc.					—	—	—	—	—	—
Mittel:			50,99			7,21		17,41			0,64

Aus dem Mittel der für jedes Präparat gefundenen Zahlen erhält man auf aschefreie Substanz berechnet folgende Werthe:

	I.	II.	III.	Mittel, aschefrei.
C	51,19	51,08	51,35	51,20
H	7,26	7,22	7,24	7,24
N	17,39	17,41	17,62	17,47
S	0,66	0,64	0,63	0,64

Aus diesen analytischen Daten berechnet sich die schwefelfreie Formel¹⁾ dieses Körpers zu $C_{34}H_{56}N_{10}O_{12}$, welche entsprechend den für den Schwefelgehalt gefundenen Werthen versechsfacht werden muss, woraus sich dann die Formel $C_{204}H_{336}N_{60}SO_{70}$ ergibt.

Berechnet für $C_{204}H_{336}N_{60}SO_{70}$ Gefunden im Mittel, aschefrei.

C	51,25	51,21
H	7,03	7,24
N	17,58	17,47
S	0,67	0,64

Es scheint mir von Interesse, hier einer Arbeit von Chabrié²⁾ Erwähnung zu thun, in welcher dieser Autor über Auffindung eines neuen von ihm „Albumon“ genannten Eiweisskörpers im Menschenblutserum berichtet, welcher Körper weder mit dem Serumalbumin, noch mit dem Serumglobulin identisch sein soll.

Brunner³⁾ hat dann im Drechsel'schen Laboratorium die Angaben von Chabrié nachgeprüft. Er verwandte zu seinen Versuchen nicht

1) Schmiedeberg, Ueber die Elementarformeln einiger Eiweisskörper u. s. w. Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXXIX, S. 2, 1897.

2) Chabrié, Sur une nouvelle substance albuminoïde du sérum sanguin de l'homme. Compt. rend. hebdom. des séances de l'Académie des sciences. Tome CXIII, 1891.

3) Brunner, Beiträge zur Kenntniss der Eiweisskörper des Blutserums. Inaug.-Dissert. Bern 1894.

Menschen-, sondern Rinderblut, welches er genau nach den Angaben von Chabrié behandelte. Brunner zeigte, dass ein sogenanntes „Albumon“ auch aus Rinderblutserum erhalten werden kann, dass aber dasselbe darin nicht präformirt vorkommt, sondern bei der Coagulation des Serums aus dem Serumalbumin und Serumglobulin als Spaltungsproduct entsteht. Das aus Rinderserum von Brunner dargestellte „Albumon“ ist identisch mit dem aus Menschenblut gewonnenen Chabrié'schen Körper. Analysen sind weder von Brunner, noch von Chabrié ausgeführt worden.

Fragen wir nun, welcher Kategorie von Albumin- oder Albuminoidstoffen dieser neue Körper angehört, so deutet das Fehlen des bleischwärenden Schwefels von vorn herein auf die Zugehörigkeit zur Glutingruppe hin. Damit stimmt auch der geringe Schwefelgehalt überhaupt überein, wie weiter unten noch näher gezeigt werden soll. Ich schlage deshalb für denselben vorläufig den Namen Glutolin vor.

Vom Globulin unterscheidet sich das Glutolin durch seine Unlöslichkeit in Neutralsalzlösungen von jedwelcher Concentration. Löslich ist es nur in Aetzkalkalien und Ammoniak, aus welchen Lösungen es durch Säurezusatz gefällt wird. Geht man über den Neutralisationspunkt hinaus, d. h. hat man einen Ueberschuss von Säure zugesetzt, so quillt der Körper in der Säure stark auf, und der noch ungelöste Theil lässt sich nur schlecht abfiltriren.

Das Glutolin giebt auf Zusatz von wenig Kupfer zur alkalischen Lösung, ohne Erwärmen, unmittelbar Biuretreaction.

Mit Millon's Reagens versetzt und gekocht, giebt es nur eine schwache Rothfärbung, die indessen doch stärker ausfällt als bei reinem Leim.

Mit dem Serumglobulin hat dagegen das Glutolin die Fällbarkeit aus schwach alkalischer Lösung durch Neutralsalze wie Magnesiumsulfat, Kochsalz und Ammoniumsulfat gemein. Die Fällung durch Kochsalz ist keine vollständige, während Magnesium- und Ammoniumsulfat quantitativ fällen.

Um eine weitere Vergleichung des Glutolins mit den Körpern der Leimgruppe zu ermöglichen, habe ich im Folgenden für verschiedene dieser Körper, theils aus den vorhandenen Analysen und theils auf Grund eigener Untersuchungen Grundformeln berechnet, wie sie Schmiedeberg¹⁾ für eine Anzahl von Eiweisskörpern und deren Spaltungsproducte in letzter Zeit aufgestellt hat. Die atomistische Zusammensetzung gestattet dann eine bessere Vergleichung als die blossen procentischen Analysenwerthe.

1) Schmiedeberg, loc. cit.

Für das Glutin ergibt sich als Mittel aus allen vorhandenen Analysen¹⁾ folgende procentische Zusammensetzung: C = 50,20, H = 6,56, N = 18,16 Proc.

Aus diesen Zahlen lässt sich für das Glutin folgende Grundformel ableiten $C_{32}H_{49}N_{10}O_{12}$.

Berechnet für $C_{32}H_{49}N_{10}O_{12}$	Gefunden
C 50,19	50,20
H 6,41	6,56
N 18,30	18,16

Das von mir analysirte Glutin habe ich in folgender Weise dargestellt. Reinste Gelatine des Handels von der Firma Coignet Père & Fils & C^{ie} in Paris wurde in destillirtem Wasser ad maximum aufquellen gelassen, dann das Wasser abgegossen, frisches zugegeben, etwas Ammoniak zugesetzt und nach etwa 24stündigem Stehen mit frisch destillirtem, also keimfreiem Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction ausgewaschen.

Hierauf erfolgte die gleiche Behandlung mit Wasser, welches mit Essigsäure angesäuert war, und sodann mit reinem Wasser; mit letzterem so lange, bis die saure Reaction verschwunden war. Zuletzt wurde das Glutin noch mit Kochsalzlösung von 10 Proc. extrahirt und dann bis zum Verschwinden der Chlorreaction ausgewaschen. Durch diese Operation sollten alle löslichen Eiweisskörper entfernt werden. Nun wurde die so gereinigte Gelatine durch Erwärmen auf ca. 50° C. in wenig Wasser gelöst und zu dieser Lösung Alkohol bis zur beginnenden Trübung hinzugefügt. Diese alkoholische wässrige Lösung wurde dann warm filtrirt und das wasserhelle, klare Filtrat allmählich mit Alkohol versetzt, so dass sich ein feinflockiger Niederschlag bildete. Die über letzterem stehende Flüssigkeit liess sich leicht abgiessen. Auf weiteren allmählichen Zusatz von Alkohol entstand abermals ein Niederschlag. Die beiden Niederschläge wurden dann vereinigt, mit Alkohol von allmählich zunehmender Concentration gewaschen und gehärtet, die harte Masse nochmals gewässert, dann wieder mit Alkohol behandelt, schliesslich unter Aether gebracht, der Aether durch ein gehärtetes Filter abfiltrirt und das Glutin im Vacuum über Schwefelsäure bei 100° C. bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. In ähnlicher Weise wurde noch ein zweites Präparat aus derselben käuflichen Gelatine dargestellt und analysirt. Ich lasse die Analysenzahlen dieser Gelatinepräparate hier folgen.

1) v. Gorup-Besanez, Lehrbuch der physiol. Chemie. S. 149 und 150, Dasselbst Litteraturangaben.

Glutin aus käuflicher Gelatine. Ia.

Substanz	CO ₂	C	C Proc.	H ₂ O	H	H Proc.	N	N Proc.	BaSO ₄	S	S Proc.
0,1027	0,1849	0,0504	49,07	0,0638	0,0071	6,91	—	—	—	—	—
0,1429	0,2577	0,0702	49,12	0,0873	0,0097	6,78	—	—	—	—	—
0,1360	0,2453	0,0669	49,19	0,0835	0,0093	6,83	—	—	—	—	—
0,1038	—	—	—	—	—	—	0,01841	17,73	—	—	—
0,1619	—	—	—	—	—	—	0,02849	17,59	—	—	—
0,5222	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0153	0,0021	0,40
0,6141	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0269	0,0036	0,58
Mittel:			49,13			6,84	—	17,66			0,49
0,6233	gaben 0,0025 g Asche = 0,40 Proc.					—	—	—	—	—	—

Glutin aus käuflicher Gelatine. Ib.

0,2122	0,3820	0,1041	49,05	0,1278	0,0142	6,69	—	—	—	—	—
0,2583	—	—	—	—	—	—	0,04572	17,70	—	—	—
0,6231	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0225	0,0030	0,48
0,4235	gaben 0,0019 g Asche = 0,44 Proc.					—	—	—	—	—	—
Mittel aus Ia und Ib			49,09			6,76		17,68			0,48

Aus diesen Zahlen lässt sich folgende schwefelfreie Formel berechnen: $C_{32}H_{50}N_{10}O_{12} + H_2O$.

	Berechnet	Gefunden
C	48,97	49,09
H	6,63	6,76
N	17,85	17,68

Zur Darstellung weiterer Glutinpräparate diente die Kopfhaut eines 14 Tage alten Kalbes. Das Material wurde vom Schlachthaus bezogen und wenige Stunden nach dem Tod des Thieres verarbeitet. Nach Entfernung der Haare und der Epidermis durch öfteres, momentanes Eintauchen in heisses Wasser und Abkratzen mit einem scharfen Skalpelli wurde die Haut vom Kopfe abpräparirt, auf einem Holzteller aufgespannt und von der Innenseite Bindegewebe und Hautmuskulatur sorgfältig abpräparirt, sodann die Haut möglichst fein zerkleinert, was mit einer Fleischhackmaschine oder mit einem Wiegemesser geschehen kann. Das fein zerkleinerte Material wurde dann mit schwach ammoniakhaltigem Wasser mehrmals ausgezogen, mit destillirtem Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction gewaschen, hierauf mit verdünnter Essigsäure behandelt, dann durch öfteres Decantiren ausgewaschen und zum Schluss mit Kochsalzlösung ausgezogen und abermals mit Wasser ausgewaschen.

Diese Behandlung sollte, wie auch oben bei der Gelatine, alle löslichen Eiweisskörper entfernen.

Bringt man darauf dieses so vorbereitete Material mit Wasser übergossen in einen Brutofen, der auf 50° C. eingestellt ist, so löst sich nach 24stündigem Stehen bei dieser Temperatur die Hauptmenge der Bindesubstanz. Nun wird vom Ungelösten durch einen Heisswassertrichter filtrirt. Lässt man dann abkühlen, so erstarrt die Flüssigkeit zu einer nur sehr schwach opalescirenden Gallerte. Die grösste Schwierigkeit bereitet nun das Sammeln des Leimes. Von einer Alkoholfällung musste abgesehen werden wegen der dazu erforderlichen Menge Alkohols. Es ist ja bekannt, dass eine 1 procentige Leimlösung beim Erkalten noch gelatinirt. Es wurde, um die Alkoholfällung zu vermeiden, der Versuch gemacht, den Leim mit Kupfer zu fällen, um eine Kupferverbindung desselben zu erhalten, welche zur Analyse hätte verwendet werden können.

Versetzt man die wässrige Leimlösung mit Kupferchlorid und dann mit so viel Kalilauge, dass die Reaction des Gemisches noch deutlich sauer ist, so fällt ein grobflockiger, grüner Niederschlag aus, der die Kupferkaliverbindung des Leimes darstellt. Um das Kali in dieser Verbindung sicher durch Kupfer zu ersetzen, wurde sie mit Kupferchlorid behandelt und dann tagelang mit destillirtem Wasser gewaschen. Es stellte sich jedoch heraus, dass das Chlor auf diese Weise nicht zu entfernen war, sondern in dem Niederschlag festgebunden blieb, so dass von einer Analyse dieser Kupferverbindung Abstand genommen werden musste.

Um den Leim aus der Kupferverbindung frei zu machen, behandelte ich die letztere mit alkoholischer Salzsäure und entfernte das Kupferchlorid durch anhaltendes Waschen des frei gewordenen Leimes, abwechselnd mit verdünntem Alkohol und mit wenig Wasser.

Nach der Entfernung des Kupferchlorids wurde der Leim weiter mit Wasser, darauf mit Alkohol von allmählich zunehmender Concentration und schliesslich mit Aether gewaschen und dann wie die anderen Präparate im Vacuum bei 100° C. bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und als Glutinpräparat II analysirt.

Bekanntlich entstehen aus dem Leim durch Behandlung mit heissem Wasser sehr leicht Leimalbumosen und Leimpeptone. Trotz der Gefahr einer solchen Veränderung des Leimes durch heisses Wasser engte ich einen Theil der aus dem Kalbskopf erhaltenen Leimlösung auf dem Wasserbad stark ein, versetzte die warme Flüssigkeit mit Alkohol bis zur Trübung, filtrirte warm, fügte zum Filtrat mehr Alkohol hinzu und erhielt auf diese Weise eine Fällung des

Leimes, der dann, wie oben angegeben, gewaschen, getrocknet und als Glutinpräparat III analysirt wurde.

Die Analysenzahlen dieses Präparates beweisen die Identität desselben mit demjenigen, welches aus der Kupferverbindung durch Behandlung mit alkoholischer Salzsäure dargestellt war.

Leim aus der Kopfhaut des Kalbes. Mit Cu gefällt u. s. w.
Glutinpräparat II.

Substanz	CO ₂	C	C Proc.	H ₂ O	H	H Proc.	N	N Proc.	BaSO ₄	S	S Proc.
0,2696	0,4715	0,1287	47,73	0,1668	0,0185	6,86	—	—	—	—	—
0,1507	—	—	—	—	—	—	0,02555	16,95	—	—	—
0,6233	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0200	0,0027	0,43
0,4158	gaben 0,0063 g Asche = 1,51 Proc.					—	—	—	—	—	—

Leim aus der Kopfhaut des Kalbes. Mit Alkohol fraktionirt gefällt.
Präparat III.

0,3190	0,5450	0,1485	46,55	0,1845	0,0205	6,42	—	—	—	—	—
0,2021	—	—	—	—	—	—	0,033808	16,72	—	—	—
0,5122	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0182	0,0025	0,48
0,3985	gaben 0,0155 g Asche = 3,88 Proc.					—	—	—	—	—	—

Auf aschefreie Substanz umgerechnet ergeben diese Zahlen folgende Werthe.

Präparat mit Cu gefällt u. s. w.	Präparat mit Alkohol fraktionirt gefällt	Mittel
C 48,45	48,41	48,43
H 6,96	6,68	6,82
N 17,20	17,40	17,30
S 0,43	0,52	0,47

Aus diesen analytischen Daten berechnet sich für das aus der Kalbskopfhaut gewonnene Glutin die folgende schwefelfreie Formel:

	Berechnet	Gefunden
C	47,82 Proc.	48,43 Proc.
H	6,84 „	6,82 „
N	17,43 „	17,30 „

Weiter habe ich den Leim aus der Hausenblase analysirt. Mulder¹⁾ fand für diesen Leim folgende Zahlen:

C = 50,70 Proc. H = 6,60 Proc. N = 18,30 Proc.,
woraus sich die folgende Formel berechnen lässt: $\text{C}_{32}\text{H}_{49}\text{N}_{10}\text{O}_{11} + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}.$

1) Mulder, Bullet. des sc. phys. en Neerlande 1839. S. 24. Citirt nach Schlossberger, Thierchemie. 1856. S. 22.

	Berechnet	Gefunden
C	50,72 Proc.	50,70 Proc.
H	6,47 "	6,60 "
N	18,49 "	18,30 "

Ich stellte mir aus der käuflichen Ichthyocolla von Accipenser Huso 2 Leimpräparate in folgender Weise dar. Ich liess die Hausenblase in Wasser aufquellen, zog sie erst mit ammoniakalischem Wasser, dann mit ganz schwacher Essigsäure und zuletzt mit Kochsalzlösung von 10 Proc. aus. In ihrem Verhalten zur Essigsäure zeigte die Hausenblase einen bemerkenswerthen Unterschied von der käuflichen Gelatine und dem aus der Kopfhaut des Kalbes gewonnenen Leim. Sie quillt nämlich derartig stark auf, dass das Sammeln des so gequollenen Leimes durch Filtration oder Coliren unmöglich war. Es musste deshalb wieder die Fällung mit Kupfer zu Hülfe genommen werden. Die Fällung der wässerigen Leimlösung und die Entfernung des Kupfers mit alkoholischer Salzsäure geschah, wie oben beim Kalbskopfleim angegeben ist. Nach der Behandlung mit Alkohol und Aether wurden die Präparate, wie bei der Gelatine und dem Glutin, bis zur Gewichtconstanz getrocknet und analysirt.

Glutin aus Hausenblase. Ichthyocolla. Präparat IV.

Substanz	CO ₂	C	C Proc.	H ₂ O	H	H Proc.	N	N Proc.	BaSO ₄	S	S Proc.
0,2124	0,3791	0,1032	48,58	0,1296	0,0144	6,73	—	—	—	—	—
0,2262	0,4044	0,1101	48,67	0,1404	0,0156	6,89	—	—	—	—	—
0,3113	—	—	—	—	—	—	0,0551	17,69	—	—	—
0,2012	—	—	—	—	—	—	0,0362	17,99	—	—	—
0,5215	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0152	0,00208	0,39
0,7241	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0264	0,00352	0,48
0,4237	gaben 0,0025 g Asche = 0,59 Proc.					—	—	—	—	—	—

Glutin aus Hausenblase. Präparat V. Dargestellt wie Präparat IV.

0,2186	0,3927	0,1071	48,99	0,1334	0,0148	6,77	—	—	—	—	—
0,3251	0,5793	0,1578	48,53	0,1876	0,0208	6,39	—	—	—	—	—
0,1822	—	—	—	—	—	—	0,0323	17,72	—	—	—
0,2243	—	—	—	—	—	—	0,0394	17,56	—	—	—
0,5321	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0196	0,00268	0,50
0,3853	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0138	0,00188	0,49
0,6281	gaben 0,0032 g Asche = 0,50 Proc.					—	—	—	—	—	—
Mittel:			48,69			6,69		17,74			0,46

Aus diesen Analysenzahlen lässt sich folgende schwefelfreie Formel berechnen: $C_{32}H_{50}N_{10}O_{12} + H_2O$.

	Berechnet	Gefunden
C	48,97 Proc.	48,69 Proc.
H	6,63 "	6,69 "
N	17,85 "	17,74 "

Für das Collagen fand Hofmeister¹⁾ bei der Analyse folgende procentische Zusammensetzung:

C = 50,75, H = 6,47, N = 17,86 Proc.,

woraus sich folgende Formel berechnen lässt: $C_{33}H_{50}N_{10}O_{12}$.

	Berechnet	Gefunden
C	50,89 Proc.	50,75 Proc.
H	6,42 "	6,47 "
N	17,99 "	17,86 "

Für das Conchiolin hat Krukenberg²⁾ folgende Zahlen erhalten: C = 50,70, H = 6,76, N = 17,75. Hieraus ergibt sich die nachstehende Formel: $C_{33}H_{50}N_{10}O_{12}$.

	Berechnet	Gefunden
C	50,89 Proc.	50,70 Proc.
H	6,42 "	6,76 "
N	17,99 "	17,75 "

Zur bequemeren Uebersicht stelle ich hier die Formeln der oben erwähnten Leimpräparate und des Glutolins tabellarisch zusammen.

I. Glutin.	a. der Autoren . . .	$C_{32}H_{49}N_{10}O_{12}$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Berechnet aus} \\ \text{Mittel von vorhan-} \\ \text{denen Analysen.} \\ \text{Von mir darge-} \\ \text{stellt und} \\ \text{analysirt.} \end{array} \right.$
	b. aus Gelatine . . .	$C_{32}H_{50}N_{10}O_{12} + H_2O$	
	c. aus der Kopfhaut des Kalbes	$C_{33}H_{51}N_{10}O_{12} + 2H_2O$	
	d. aus Hausenblase	$C_{32}H_{49}N_{10}O_{11} + \frac{1}{2}H_2O$	
	e. aus Hausenblase	$C_{32}H_{50}N_{10}O_{12} + H_2O$	
II. Collagen		$C_{33}H_{50}N_{10}O_{12}$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Von mir darge-} \\ \text{stellt u. analysirt.} \end{array} \right.$
III. Conchiolin		$C_{33}H_{50}N_{10}O_{12}$	
IV. Glutolin		$C_{34}H_{56}N_{10}O_{12}$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Hofmeister} \\ \text{Krukenberg} \\ \text{Von mir darge-} \\ \text{stellt u. analysirt.} \end{array} \right.$

Vervielfältigt man diese schwefelfreien Formeln entsprechend den für den Schwefel gefundenen Werthen und ersetzt dann 20 durch 1 S, so erhält man die folgenden schwefelhaltigen Grundformeln.

1) Hofmeister, Ueber die chemische Structur des Collagens. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. II, S. 322, 1878—79.

2) Krukenberg, Fortgesetzte Untersuchungen über die Skeletine. Zeitschrift f. Biologie Bd. XXII, S. 250, 1886. — Ueber das Conchiolin u. s. w. Berichte d. Deutsch. chem. Gesellschaft Bd. XVIII, S. 990, 1885.

Glutin.	a. der Autoren	$C_{192}H_{294}N_{60}SO_{70}$ ¹⁾
	b. aus Gelatine	$C_{192}H_{300}N_{60}SO_{70} + 6H_2O$ ²⁾
	c. aus der Kopfhaut des Kalbes	$C_{192}H_{306}N_{60}SO_{70} + 12H_2O$ ²⁾
	d. aus Hausenblase	$C_{192}H_{294}N_{60}SO_{64} + 3H_2O$ ³⁾
	e. =	$C_{192}H_{300}N_{60}SO_{70} + 6H_2O$ ²⁾
	Glutolin	$C_{204}H_{336}N_{60}SO_{70}$

Wegen der Unsicherheit der Bestimmung des Wasserstoffes zeigen die Atomzahlen des letzteren in den obigen Formeln keine genaue Uebereinstimmung. Nimmt man etwa das Mittel derselben als zutreffend an, so erhält man für das Glutin, mit Einschluss des Hausenblasenleimes — abgesehen von der Formel des letzteren nach den Analysen der Autoren — die folgende Grundformel:

Zum Vergleich sind im Folgenden die von Schmiedeberg ⁴⁾ für verschiedene Eiweisskörper berechneten Grundformeln zusammengestellt.

1. Eieralbumin . . . $C_{80}H_{122}N_{20}SO_{24}$
2. Serumalbumin . $C_{78}H_{122}N_{20}SO_{24}$
3. Paraglobulin . . $C_{117}H_{182}N_{30}SO_{38} + \frac{1}{2}H_2O$
4. Fibrinoglobulin . $C_{114}H_{176}N_{30}SO_{37}$
5. Fibrinogen . . . $C_{111}H_{168}N_{30}SO_{35}$
6. Fibrin $C_{111}H_{168}N_{30}SO_{35}$
7. Myosin $C_{108}H_{172}N_{30}SO_{33}$

Vergleichen wir zunächst den Schwefelgehalt der Glutinkörper mit demjenigen der Eiweissstoffe, so finden wir bei ersteren auf 192 C-Atome 1 S-Atom, während bei den letzteren schon auf 80 bis 108 C-Atome 1 S-Atom kommt.

Was das Verhältniss des C zum N betrifft, so ist es bei allen angeführten Leimpräparaten 32:10, während nach den obigen Formeln für die Albuminstoffe folgende Zahlen dieses Verhältniss ausdrücken.

1. Eieralbumin 40:10
2. Serumalbumin 39:10
3. Paraglobulin 39:10
4. Fibrinoglobulin 38:10

1) Der Schwefelgehalt des Glutins ist zu 0,56 Proc. angegeben. Gorup-Besanez, loc. cit.

2) Nach Analysen meiner Glutinpräparate.

3) C-, H- und N-Bestimmungen von Mulder, loc. cit. S-Bestimmung von Schlieper. Liebig's Annalen Bd. LVIII, p. 378.

4) Schmiedeberg, Archiv f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XXXIX, S. 37, 43, 47, 53.

5. Fibrinogen	37:10
6. Fibrin	36:10
7. Myosin	36:10

Beim Glutolin ist das Verhältniss von

C:S = 204:1 und von

C:N = 34:10

Man sieht also, dass die Glutinkörper sich von den wahren Eiweissstoffen sehr wesentlich dadurch unterscheiden, dass sie auf je die gleiche Anzahl N-Atome weniger C-Atome, auf je ein S-Atom dagegen durchschnittlich fast die doppelte Anzahl C-Atome enthalten.

In Bezug auf dieses letztere Verhältniss schliesst sich das Glutolin völlig den Glutinstoffen an, während das Verhältniss der C- und N-Atome ihm eine mittlere Stellung zwischen beiden Gruppen von Stoffen anweist.

Weiter kam es darauf an, die Spaltungsproducte des Glutolins zu untersuchen und mit denen der Albumin- und Glutinkörper zu vergleichen. Der Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen von Stoffen besteht darin, dass wie zuerst Braconot (1820) nachgewiesen hat, der Leim beim Kochen mit Mineralsäuren Glykokoll liefert, während nach den übereinstimmenden Angaben von Hlasiwetz und Habermann¹⁾ und Hoppe-Seyler²⁾ die wahren Eiweissstoffe dies nicht thun.

Um nochmals festzustellen, ob auch bei der Zersetzung der Eiweissstoffe des Blutes kein Glykokoll entsteht, habe ich darauf zunächst das Serumalbumin und Serumglobulin, nachdem das Glutolin aus letzterem entfernt war, ferner Fibrin und Hämoglobin untersucht. Ich kochte die genannten Körper mit concentrirter Salzsäure bis zum Verschwinden der Biuretreaction und dampfte die Flüssigkeit zur Trockne ein. Das gebildete Melanoidin entfernte ich dann durch Zusatz reichlicher Mengen concentrirter Kupferacetatlösung und Erhitzen.³⁾ Die vom melanoidinsäuren Kupfer abfiltrirte, blaue Flüssigkeit wurde durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und aus ihr durch Phosphorwolframsäure die Basen oder Diamidoverbindungen ausgefällt, das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag mit Barythydrat gesättigt, filtrirt, das Baryum durch Schwefelsäure entfernt, darauf stark eingengt und nach Zusatz von Natronlauge, in

1) Hlasiwetz und Habermann, *Liebig's Annalen* Bd. CLXIX, S. 154, 164, 166.

2) Hoppe-Seyler, *Chemische Analyse*. 6. Auflage. 1893, S. 238.

3) Schmiedeberg, *loc. cit.* S. 73.

der bekannten Weise nach Schotten-Baumann benzoylirt.¹⁾ Nach beendiger Benzoylirung wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Essigäther ausgeschüttelt. Auf Zusatz von Petroläther zum abgegossenen und gewaschenen Essigäther entstand eine Trübung oder Fällung, am stärksten beim Fibrin und Globulin. In der durch Petroläther zur Ausscheidung gebrachten Masse wurde nun nach Hippursäure gesucht. Die durch Petroläther gefällten Massen wurden in Natronlauge gelöst und darauf mit Salzsäure angesäuert. Es fiel dabei viel Benzoësäure aus, die durch Filtration entfernt wird; den Rest derselben kann man durch Eindampfen der Flüssigkeit und Behandeln mit Petroläther entfernen.

Die von Benzoësäure befreiten Rückstände wurden in Wasser gelöst und diese Lösungen zuerst mit Aether und dann mit Essigäther ausgeschüttelt. In den Aether ging wenig, in den Essigäther viel über. Die beiden Auszüge wurden separat behandelt; der Aether und Essigäther verjagt und die Rückstände mit heissem Wasser behandelt. Zur vollständigen Lösung war viel Wasser erforderlich, da anderenfalls ein braunes Oel, welches in der Kälte krystallinisch erstarrt, ungelöst blieb. Als die heissen Lösungen rasch abgekühlt wurden, schieden sich bei den aus dem Globulin und Fibrin erhaltenen Portionen reichliche Mengen der in Lösung gewesenen Körper aus. Unter diesen fand sich jedoch Hippursäure nicht; diese scheidet sich aus verdünnteren Lösungen erst nach längerem Stehen aus. Als ich von der durch rasches Abkühlen ausgeschiedenen amorphen Substanz abfiltrirte, erhielt ich ein klares Filtrat, aus welchem sich selbst bei tagelangem Stehen keine Hippursäure ausschied. Auch nach dem Einengen der Flüssigkeit bis auf ein sehr kleines Volumen erfolgte nach dem Erkalten keine Ausscheidung von Hippursäure. In allen vier untersuchten Körpern ist somit Glykokoll unter den Spaltungsproducten nicht zu finden gewesen. Auch in dem Antheil der in Essigäther löslichen Producte, welche durch Zusatz von Petroleumäther nicht gefällt wurden, fand sich keine Hippursäure.

Aus dem Globulin, Fibrin und Hämoglobin erhielt ich in der vorstehend beschriebenen Weise einen Körper, dessen Krystallform zuerst Hippursäure vermuthen liess. Aus Wasser krystallisirt, schied er sich nämlich in feinen, langen, zu Drusen vereinigten Nadeln aus und zeigte den Schmelzpunkt 189—190°. Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen ergaben bei der Elementaranalyse dieses Körpers

1) Vgl. Fischer, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. XIX, 1894, S. 164; Gonnermann, Pflüger's Archiv Bd. LIX, 1895, S. 42.

stark von einander abweichende Zahlen. In zwei nach Kjeldahl ausgeführten N-Bestimmungen wurde der N-Gehalt dieser Substanz zu 8,63 und 8,30 Proc. gefunden, während Hippursäure 7,82 Proc. N verlangt.

Um diese Resultate nochmals zu controliren, behandelte ich Fibrin und Globulin in der angegebenen Weise mit concentrirter Salzsäure, entfernte aus der eingedampften Flüssigkeit die Melanoidinsäure mit Kupfer, sodann das Kupfer durch Einleiten von Schwefelwasserstoff und benzoylirte dann direct, ohne vorherige Fällung mit Phosphorwolframsäure. Die benzoylirten Verbindungen wurden in viel Ammoniak gelöst und mit Bleiessig so lange versetzt, als noch ein Niederschlag entstand. Etwa vorhandene Hippursäure, oder auch nicht benzoylirtes Glykokoll, musste bei dieser Behandlung in Lösung bleiben, sich also im Filtrat vom Bleiniederschlag befinden. Der Niederschlag wurde auf dem Filter gut ausgewaschen, Filtrat sammt Washwasser mit Essigsäure angesäuert, hierauf zur Entfernung des Bleies Schwefelwasserstoff eingeleitet, vom Schwefelblei abfiltrirt und das Filtrat bis zur Syrupeconsistenz eingeeengt. Der Essigätherauszug dieses Rückstandes hinterliess beim Verjagen des Lösungsmittels neben einem nicht krystallisirenden Oel eine krystallisirende Verbindung, die sich als Benzamid erwies.

Als ich dagegen käufliche Gelatine nach dem zuerst beschriebenen Verfahren behandelte, erhielt ich reichliche Mengen von Hippursäure.

Bei der Untersuchung der Spaltungsproducte des Glutolins auf die Gegenwart von Glykokoll verfuhr ich ganz in der vorstehend angegebenen Weise unter Anwendung der Fällung mit Phosphorwolframsäure vor der Benzoylirung. Die Menge des angewendeten Glutolins betrug 30 g.

Bei der Zersetzung des Glutolins mit Salzsäure fiel im Vergleich zur Gelatine die starke Melanoidinbildung auf.

Ich reinigte dieses Melanoidin im wesentlichen nach dem von Schmiedeberg (l. c. S. 73) angegebenen Verfahren und führte eine Schwefelbestimmung aus. 0,4445 g Substanz gaben 0,0726 g BaSO₄ = 0,00992 g S = 2,23 Proc. Aus dem schwefelarmen Glutolin ist also in diesem Falle ein relativ schwefelreiches Melanoidin entstanden.

Nach der Benzoylirung schüttelte ich die angesäuerte Flüssigkeit mit Essigäther aus, dampfte den letzteren bis auf einen geringen Rest ein und fällte dann mit Petroleumäther. Ich erhielt hierbei ein gelblichweisses Pulver, welches abfiltrirt, in heissem Wasser gelöst und mit Thierkohle entfärbt, ein wasserhelles Filtrat lieferte, aus

welchem sich beim langsamen Erkalten die charakteristischen langen Nadeln der Hippursäurekrystalle neben anderen Krystallen ausschieden. Es gelang leicht, aus dem Gemenge von Krystallen die Hippursäure durch Umkrystallisiren bei passender Concentration der Lösung zu isoliren und rein darzustellen.

Die Analyse dieser Krystalle bestätigt ihre Identität mit Hippursäure.

0,2833 g Substanz gaben 0,6237 g CO_2 = 0,1701 g C = 60,04 Proc.
 und 0,1328 g H_2O = 0,0147 g H = 5,18 =
 0,2690 g Substanz gaben nach Kjeldahl 0,02163 g N = 8,04 =

Berechnet für $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_3$.

Gefunden.

C 60,33

60,04

H 5,02

5,18

N 7,82

8,04

Das nach Ausfällung der Basen oder Diamidverbindungen erhaltene Gemenge von Monamidosäuren gab mit Millon's Reagens eine schöne Rothfärbung, woraus auf die Anwesenheit von Tyrosin oder anderer aromatischer hydroxylierter Verbindungen in den Zersetzungsproducten geschlossen werden konnte.

Es wäre somit durch die Auffindung des Glykokolls in Form der Hippursäure in den Zersetzungsproducten des Glutolins seine Zugehörigkeit zur Gruppe des Glutins erwiesen.

Das Glutolin ist kein eigentlicher Glutinkörper, sondern muss als eine Zwischenstufe zwischen den letzteren und den wahren Eiweisskörpern angesehen werden.

Was die physiologische Bedeutung des Glutolins betrifft, so darf man wohl vermuthen, dass es die Muttersubstanz ist, aus der das Bindegewebe und alle übrigen leimgebende Bestandtheile der Gewebe entstehen. Abgesehen von der Angabe von Scherer¹⁾, dass er in einem Falle in leukämischem Blute wahren Leim gefunden habe, musste man annehmen, dass im Blute nur Eiweissstoffe im engeren Sinne — Serumalbumin und Globuline — enthalten seien, und dass aus diesen auch die leimgebenden Stoffe hervorgehen. Jetzt müssen wir annehmen, dass diese nur für die Bildung der Protoplasmaeiweissarten bestimmt sind, während den Binde-substanzen für diesen Zweck das Glutolin zur Verfügung steht. Vielleicht wird es gelingen, durch Spaltung oder Verdauung aus dem Glutolin auch künstlich Glutin darzustellen.

1) Scherer, Verhandlungen d. Würzburger med. Ges. 1851. Bd. II, S. 323.