

	f_2	$d_{22,4}$	$\varepsilon_{22,4}$	$P_{1,2}$	P_0	$\mu 10^{18}$
Méthyl-cyclo-hexénone	0,0517 0,0748	0,8843 0,8873	3,36 3,96	39,63 45,03	228,3	3,30
Pipéritone	0,0178 0,0614	0,8797 0,8837	2,48 3,31	29,75 40,54	227,5	3,30
Pulégone	0,0222 0,0488	0,8810 0,8847	2,51 2,85	30,19 35,14	203,95	3,12
Pipériténone	0,0275 0,0648	0,8824 0,8894	2,85 3,44	34,53 41,64	170,8	2,85

Effet Raman. Les spectres ont été photographiés avec un spectrographe de *Steinheil* à trois prismes, ouvert à $F/4$, dans les conditions exposées précédemment¹⁾.

RÉSUMÉ.

L'étude physico-chimique de la pipériténone et des cétones voisines: 1-méthyl-cyclohexène-1-one-(3), pipéritone, pulégone a été approfondie par celle des parachors, des caractères réfractométriques, du moment dipolaire et de l'effet *Raman*. Les caractères observés ont été comparés à ceux de substances voisines.

Nous tenons à remercier M. le Prof. *Briner*, qui a bien voulu mettre à notre disposition une partie des appareils de mesures physico-chimiques utilisés dans ces recherches.

Laboratoires scientifiques de *L. Givaudan & Cie., S.A.*, Vernier-Genève
Laboratoires de Chimie théorique, technique et d'Electrochimie de
l'Université de Genève.

109. Über Darstellung und Eigenschaften von Proteinsolen.

2. Mitteilung.

Sole mit *L*-Histidin, *d*-Arginin, *L*-Prolin und *L*-Oxyprolin

von Ch. Wunderly.

(2. VII. 42.)

Vorliegende Arbeit ist in methodischer Hinsicht die Fortsetzung der Studie²⁾ über die Wirkung von gallensauren Salzen und von Cholesterin auf Globularproteine. Doch gelangt hier zu der Messung der kolloiden Auflösungsvorgänge, des isoelektrischen Punktes, der Thermostabilität, der Dissolution, neu hinzu die Messung des Depolarisationsgrades. Bei einer Charakterisierung von Proteinsolen, wo die Bewertung der Ergebnisse vom biologisch-chemischen Gesichtspunkt

¹⁾ *Naves, Perrottet*, *Helv.* **23**, 920 (1940).

²⁾ *Wunderly, Ch.*, *Helv.* **25**, 498 (1942).

aus erfolgt, ist jeder Messwert, welcher Beziehung hat zu der Grösse der Grenzfläche der Proteinaggregate, von besonderer Bedeutung. Dabei waren keine Aussagen über die absoluten Grössenverhältnisse zu erwarten, sondern Vergleichszahlen, welche dann aufschlussreich werden, wenn sie in das richtige Verhältnis zu den übrigen Messwerten gesetzt werden. Noch sind bei Molekelkolloiden keine bestimmten Aussagen möglich über den Zusammenhang zwischen der Anisotropie des inneren Feldes und der eigentlichen Form-Anisotropie, jedoch haben vorliegende Messungen¹⁾ Einblick gewährt in die Grössenbeziehung der durchschnittlichen Proteinaggregate zu der Lichtwellenlänge. Die Beurteilung der Sole mit Bezug auf ihre Zugehörigkeit zum *Rayleigh*-Bereich war deshalb wichtig, weil dadurch eine genauere Deutung der Nephelogramme möglich wird. Durch die neuerliche Beschränkung der Proteinkomponente auf die labilste Fraktion der Globuline werden die Messergebnisse um vieles eindeutiger, als es im polydispersen Vollserum möglich wäre. Wie gross der Einfluss des Fettgehaltes des Serums auf die Lichtstreuung sein kann, hat *Lotmar*²⁾ dargelegt. Weiter haben *Holwerda*³⁾ u. a. den Einfluss eines Salzzusatzes (Dehydratation) auf die Teilchengrösse besprochen, eine Wirkung, welche bei jeder Aussalzung unumgänglich ist und durch anschliessende Dialyse nur teilweise rückgängig gemacht werden kann. Demgegenüber liegt hier das Globular-Protein, so wie es durch Verdünnen mit Eiswasser und Behandeln mit Kohlendioxyd gewonnen wird, in unionisiertem Zustand vor. Mit den dargebotenen Aminosäuren geht es koordinative Bindungen ein, was umso leichter geschieht, je ausgesprochener der Dipolcharakter der letzteren ist.

Bei allen untersuchten Solen zeigte sich, dass das senkrecht zum einfallenden Licht ausgesandte Streulicht eine Mischung darstellt von linear polarisiertem und natürlichem Licht. Die Proteinaggregate sind stets hinreichend anisotrop hinsichtlich ihrer Polarisierbarkeit, um eine genaue Messung in den Richtungen der drei Hauptachsen zu gestatten. Bei den Solen der beiden Hexonbasen lässt sich, unter der Annahme, dass die Protein-Aggregate die Symmetrie dreiachsiger Ellipsoide besitzen, das Achsenverhältnis α_1 zu α_2 berechnen, während das Prolin-Sol den *Rayleigh*-Bereich nur wenig, das Oxy-prolin-Sol ihn dagegen stark überschreitet.

Bei der Herstellung der Euglobulin-Sole konnte die Ausbeute etwas gesteigert werden, indem nach den Angaben von *Bierry*⁴⁾ die Dauer des Einleitens von Kohlendioxyd auf 90 Minuten ausgedehnt

¹⁾ Die Überlassung der entsprechenden Apparatur möchte ich Herrn Prof. *P. Scherrer*, Institut für Physik der E.T.H., hiemit angelegentlichst verdanken.

²⁾ *Lotmar*, W., *Helv.* **21**, 953 (1938).

³⁾ *Holwerda*, B. J., *R.* **50**, 601 (1931).

⁴⁾ *Bierry*, H., *Trav. Soc. Chim. Biol.* **24**, 1027 (1942).

wird. Das p_H des Soles ist dann 5,6. Im übrigen wird auf die eingangs erwähnte Publikation hingewiesen, wo die genaue Technik angegeben ist. Für die Bestimmung der Lösungskapazität werden die Aminosäurelösungen in folgender Konzentration verwendet: 0,02-m Histidin, 0,01-m. Arginin, 0,05-m. Prolin und 0,05-m. Oxyprolin¹⁾. Von diesen Lösungen werden reihenweise je 0,05, 0,10, 0,15, 0,30, 0,60, 1,00, 1,50 und 2,00 cm³ dem abzentrifugierten und gewaschenen Euglobulin zugesetzt. Da es sich um eine Peptisation handelt und nicht um eine molekulare Auflösung, ist die peptisierte Menge abhängig von der Menge des Bodenkörpers (*Ostwald'sche Regel*)²⁾. Um vergleichbare Daten über die Lösungskapazität der zwei Hexonbasen und Iminosäuren zu erhalten, war es deshalb gegeben, die Ausgangsmenge an Protein in allen Versuchen gleich gross zu wählen und die Menge des Peptisators entsprechend zu variieren. Die dargebotene Menge Protein wurde nach *Kjeldahl* bestimmt und betrug im Mittel von drei Rindersera 14,2 mg pro Röhrchen. Folgende Angaben sind die Mittelwerte der Messreihen mit drei Sera. Wenn wir davon ausgehen, dass der Peptisation während 12 Stunden bei 18° 10 mg Euglobulin angeboten wird, dann braucht es zu ihrer vollständigen Peptisation 0,068 cm³ 0,01-m. Arginin, 0,172 cm³ 0,01-m. *l*-Histidin, 4,00 cm³ 0,01-m. *l*-Oxyprolin und 6,20 cm³ 0,01-m. *l*-Prolin. Wird die Lösungskapazität von Arginin = 1 gesetzt, dann verhalten sich dazu die übrigen in der Reihenfolge Histidin, Oxyprolin, Prolin wie 1 : 2,53 : 58,8 : 91,2.

Demzufolge besitzt das Arginin die grösste Lösungskapazität: wie *Edsall* und *Blanchard*³⁾ gezeigt haben, kommt dem Arginin eine δ -Dipolstruktur zu, mit dem hohen dielektrischen Inkrement $d\epsilon/dc = +62$. Bei Histidin ist die Löslichkeit für diese Messungen nicht ausreichend; dagegen finden *Greenstein* und *Wyman*⁴⁾ für Acetylhistidin $d\epsilon/dc = 62$. Beide Aminosäuren sind genügend basisch, um eine ausgesprochene Dissolutionspeptisation zu erreichen. Diese echte Salz- bildung wird gekennzeichnet durch eine hohe Lösungsintensität, wie solche aus dem Nephelogramm hervorgeht. Sehr verschieden davon gestaltet sich die Lösungskapazität der beiden nahezu neutralen Iminosäuren *l*-Oxyprolin und *l*-Prolin. Die notwendige Menge ist 40—50fach so gross und zeigt damit an, dass es sich in erster Linie um eine Adsorptionspeptisation handelt.

Wie nun die folgende Zusammenstellung der Lösungsdispersitäten zeigt, sind die beiden Iminosäuresole viel gröber dispers. Dazu wurden Sole hergestellt, welche je 118 mg% Euglobulin enthielten

¹⁾ Die verwendeten Hexonbasen und Iminosäuren wurden von der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.*, Basel, in verdankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

²⁾ v. *Buzàgh*, A., Kolloidik (*Steinkopff* 1936).

³⁾ *Edsall*, J. T. und *Blanchard*, M. H., Am. Soc. **55**, 2337 (1933).

⁴⁾ *Greenstein*, J. und *Wyman*, J., Am. Soc. **58**, 463 (1936).

und durch 0,1 cm³ 0,01-m. Arginin, 0,15 cm³ 0,02-m. Histidin, 1,5 cm³ 0,05-m. Oxyprolin, 2,0 cm³ 0,05-m. Prolin und schliesslich noch mit 1,5 cm³ 0,9-proz. NaCl peptisiert waren. Die Messung im Stufenphotometer von Zeiss mit Einrichtung für Trübungsmessung ergibt folgende absolute Trübwerte $\times 10^{-2}$: Argininsol 1,50, Histidinsol 2,41, Prolinsol 4,75, Oxyprolinsol 21,38 und Natriumchlorid-Sol 20,87.

Zur Prüfung der Lösungsintensität werden dieselben Sole zusammen mit entsprechend abgestuften Calciumchlorid-Verdünnungen 15 Minuten im Wasserbad erhitzt; die Filtrate 10-fach mit Wasser verdünnt und die Trübungen bestimmt. Der Eiweissgehalt der Sole beträgt pro Röhrchen 13,6 mg; damit das Ausgangsserum (Rind) mit einem Gesamteiweissgehalt von 6,7 % verglichen werden kann, wird davon 0,2 cm³ pro Röhrchen genommen. Auf Fig. 1 sehen wir die so entstandenen Nephelogramme.

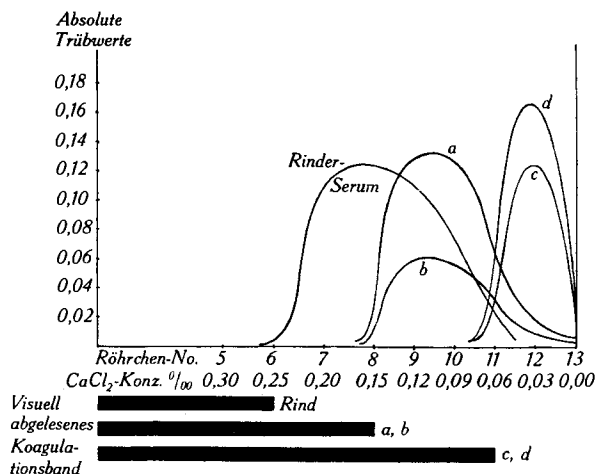


Fig. 1.

Nephelogramme mit der Aminosäurekomponente:

Kurve a: l-Histidin

Kurve c: l-Prolin

„ b: d-Arginin

„ d: l-Oxyprolin

Die Lösungsintensität hat bei allen vier Proteinsolen gegenüber dem Ausgangsserum (Rind) abgenommen. Das Argininsol zeigt auf Grund des niederen Kurvenscheitels ein kleineres Streulicht an, was durch seine oben gezeigte starke Lösungsdispersion vollauf erklärt wird; diese letztere ist eine Folge der argininbedingten elektrischen Teilchenaufladung und übt dadurch einen stabilisierenden Einfluss auf das Sol aus. Demgegenüber ist anzunehmen, dass die niederen Kurvenscheitel, wie sie durch gallensaure Salze bewirkt werden, die Folge einer erhöhten Solvation der Proteinaggregate sind. Die beiden Iminosäuresole werden noch durch die minimale Calcium-

chlorid-Konzentration von 0,06%₁₀₀ restlos koaguliert und lassen damit ihre geringe Lösungsintensität erkennen; dabei bringt das grob disperse Oxyprolinol einen besonders hohen Trübwert. Das Eintreten der Koagulation möchte ich als Folgeprozess vorangegangener Strukturänderungen, wie etwa der Sprengung innermolekularer Ionenbindungen, auffassen.

Die Lage des I.E.P. der vier Sole wurde ebenso geprüft wie früher beschrieben¹⁾. Es wurde dazu der p_H-Bereich von 4,4—6,7 mit 0,1-m. Natriumacetat-Essigsäure-Puffer durchgemessen. Wenn bei allen Solen der I.E.P. bei p_H 5,2 gefunden wurde, so ist dazu zu bemerken, dass nur Sole zur Messung gelangten, wo der Gehalt an Hexonbasen und Iminosäuren eben ausreichte, um vollständige Peptisation zu gewährleisten. Anschliessend wurde die Thermostabilität der Sole im I.E.P. gemessen. Es zeigten beginnende Flockung das Histidinsol bei 35°, Argininsol bei 33°, Prolinsol bei 32° und Oxyprolinol bei 29°. Somit sind diese Sole wesentlich unstabiler als jene mit gallensauren Salzen; bei den letzteren wirkt sich der teils hydrophile, teils lipophile Bau stabilisierend aus.

Für die Bestimmung des Dissolutionsvermögens wird neben Acridinorange NO²⁾ noch das basische Viktoriablau B (Diphenyl-naphtyl-methanderivat) benutzt. Dasselbe geht als heteropolares Micellkolloid in Lösung. Da das Sol überhaupt keine hochdispersen Farbstoffteilchen enthält, wird es von den *Schleicher & Schüll*-Rundfiltern Nr. 602 e. h. gesamthaft zurückbehalten. Von beiden Farbstoffen werden Sole hergestellt mit 1 mg-% Gehalt und diese für die Messungen innerhalb 24 Stunden verwendet. Die vier Globulinsole sind wie gewohnt durch Peptisation hergestellt und ihr Proteingehalt nach *Kjeldahl* bestimmt. Die Auswertung der Farbstoffkonzentration geschieht in 20 mm-Küvetten des Stufenphotometers, wobei für Acridinorange das Farbfilter S 47 und für Viktoriablau S 61 verwendet wird. Volum des Ansatzes 10 cm³; Volumausgleichsflüssigkeit: Wasser; E = Extinktion.

Tabelle 1.

Aminosäurekomponente	Ansatz:		Acridinorange NO		Viktoriablau B	
	Proteingehalt mg %	Farbstoffkonz. mg %	E	%	E	%
Histidin . .	72	0,5	0,17	68	0,044	19
Arginin . .	72	0,5	0,19	76	0,051	24
Prolin . . .	72	0,5	0,16	64	0,027	11
Oxyprolin .	72	0,5	0,13	52	0,031	13
NaCl . . .	72	0,5	0,046	15	0,008	4,4

¹⁾ loc. cit.

²⁾ Wunderly, Ch., Koll.-Z. **98**, 76 (1942).

Aus vorher angelegten Eichkurven werden die Prozentzahlen entnommen, welche uns angeben, wieviel Farbstoff im Filtrat erscheint, wenn die Ausgangskonzentration von 0,5 mg-% als 100 gesetzt wird. Ein Vergleich der erzielten Dissolutionswirkung zeigt, wie das Argininsol, welches die höchste Lösungsdispersion aufweist, von beiden Farbstoffen die grössten Mengen in das Filtrat bringt, und wie im Gegensatz dazu das grobdisperse Natriumchlorid-Sol nur eine 4—5mal kleinere Farbstoffmenge dissolviert. Zu diesem grundlegenden Zusammenhang kommen noch Wirkungen, die als spezifisch für den strukturechemischen Aufbau der Proteinsole angesehen werden müssen; so zeigt das ebenfalls grobdisperse Oxyprolinsol noch ein Dissolutionsvermögen, welches dreimal grösser ist als jenes von Natriumchlorid-Sol. Der Auflösungsvorgang scheint somit in erster Linie bedingt zu sein durch die Grösse der Grenzfläche Proteinaggregat-Lösungsmittel, dem sich eine strukturspezifische Wirkung überlagert.

Der Aufbau der Apparatur, wie sie für die Messung des Depolarisationsgrades notwendig ist, ist von *Stuart*¹⁾ beschrieben worden. Für gute Ergebnisse ist die Justierung besonders wichtig, und diese findet man ausführlich geschildert bei *Volkmann*²⁾. Nachdem *Putzeys* und *Brosteaux*³⁾ darauf hingewiesen haben, wie stark die Streulichtmessung beeinflussbar ist durch die Gegenwart selbst winziger Mengen an Substanzen mit grossen Partikeln (Verunreinigungen), wurden die Sole vor der Messung stets 3 Minuten bei 10000 und 3 Minuten bei 15000 T. zentrifugiert. Vom überstehenden Sol wurde darauf 10 cm³ abpipetiert und in die Küvette fliessen gelassen. Alle Lösungen sind mit zweifach destilliertem Wasser hergestellt. Als erste Aufgabe wurden *Rayleigh*-Streulicht und Depolarisation vergleichend durchgemessen. Der Proteingehalt der vier Sole betrug stets 118 mg-% und die Aminosäurekonzentration wie bei der Lösungsdispersion angegeben.

Tabelle 2.

Aminosäurekomponente	Rayleigh-Streulicht abs. Trübg. $\times 10^{-2}$	100 Δ_U	100 Δ_V	Δ_H	
				gem.	ber.
Histidin . .	2,41	1,63	0,81	1,02	1,02
Arginin . .	1,50	1,51	0,77	0,99	0,97
Prolin . . .	4,75	4,52	1,30	1,15	2,91
Oxyprolin .	21,38	4,91	2,24	3,69	1,24
NaCl . . .	20,87	6,70	—	—	—

¹⁾ *Stuart, H. A.*, Molekülstruktur (Berlin 1934); Z. El. Ch. **45**, 180 (1939); *Peterlin und Stuart*, Z. Physik **113**, 663 (1939); Koll.-Z. **96**, 149 (1941).

²⁾ *Volkmann, H.*, Ann. Physik **24**, 457 (1935).

³⁾ *Putzeys und Brosteaux*, Faraday **31**, 1314 (1935).

Wenn Δ_U und Δ_V bekannt sind, so kann aus der *Krishnan*-Beziehung Δ_H berechnet werden, indem

$$\Delta_U = \frac{1 + \Delta_H}{1 + \frac{1}{\Delta_V}}$$

Die weitere Beziehung von Δ_U und Δ_V für kleine Teilchen ($d \ll \lambda$) hat *Gans*¹⁾ angegeben; sie lautet:

$$\Delta_U = \frac{2 \Delta_V}{1 + \Delta_V}$$

Setzt man die Δ_V -Werte der Sole der beiden Hexonbasen in diese Formel ein, so erhält man in guter Übereinstimmung die für Δ_U gemessenen Grössen. Da bei den erwähnten Solen auch $\Delta_H = 1$ ist, gehören sie zu dem *Rayleigh*-Bereich. Dieselben Überlegungen zeigen für die Sole der Iminosäuren, dass dort grössere Teilchen vorliegen. Die Kriterien dafür hat *Lotmar*²⁾ zusammengestellt; während das Prolinsol noch angenähert dem *Rayleigh*-Bereich entspricht, entfernen sich Oxyprolin- und Natriumchlorid-Sol stark davon.

Tabelle 3.

Protein- gehalt mg %	Rayleigh Trübung abs. $\times 10^{-2}$	Depolarisation			
		100 Δ_U	100 Δ_V	Δ_H gem.	ber.
a) Histidin-Sol:					
105	2,02	1,88	0,93	0,95	1,06
210	3,28	1,77	0,96	0,93	0,89
315	4,58	1,89	0,87	0,97	1,19
420	5,78	1,93	0,98	0,94	0,95
	Mittel	1,87	0,89	0,95	1,02
Aus diesen Mittelwerten ergibt sich das Verhältnis von					
$\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = 0,58$ (Scheibe), $\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = 1,33$ (Zylinder).					
b) Arginin-Sol:					
105	1,40	1,56	0,75	0,97	1,09
210	2,34	1,66	0,81	0,94	1,06
315	3,28	1,64	0,83	0,93	0,99
420	4,26	1,58	0,77	0,99	1,07
	Mittel	1,61	0,79	0,96	1,05
daraus ergibt sich					
$\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = 0,61$, $\frac{\alpha_1}{\alpha_2} = 1,30$.					

Nach dieser qualitativen Prüfung der mittleren Teilchengrösse in bezug auf die Lichtwellenlänge, war die Konzentrationsabhängig-

¹⁾ *Gans*, Ann. Physik **62**, 331 (1920).

²⁾ *Lotmar*, W., Helv. **21**, 811 (1938).

keit von *Rayleigh*-Streulicht und Depolarisationsgrad zu messen. Da feindisperse Sole am besten geeignet sind, um im notwendigen Konzentrationsbereich hinlängliche Lösungsstabilität zu gewährleisten, kamen nur Histidin- und Argininsole zur Messung. Zu ihrer Darstellung wurde wieder genau soviel genommen, als für die vollständige Peptisation des vorgesetzten Euglobulins notwendig ist.

Es geht daraus hervor, dass im beobachteten Konzentrationsgebiet die *Rayleigh*-Streuung genau der Konzentration proportional ist. Damit deckt sich das Resultat von *Putzeys* und *Brosteaux*¹⁾, mit Messungen an Solen von Ovalbumin, Amandin, Excelsin und Haemocyanin. Dagegen ist der Depolarisationsgrad konzentrationsunabhängig; es entspricht dies den Befunden von *Krishnamurti*²⁾ an 0,5- bis 1- bis 2-proz. Gelatinesolen und den Messungen von *Ettisch*, *Sachse* und *Lange*³⁾ an Proteinsolen. Wie *Lepeschkin*⁴⁾ ebenfalls an Proteinsolen nachgemessen hat, ist in diesem Grössenbereich der Teilchen, die Stärke des Streulichtes der vierten Potenz der Lichtwellenlänge umgekehrt proportional. Es tritt in dem von mir gewählten Konzentrationsgebiet keine Beeinflussung der in den Teilchen induzierten Momente durch benachbarte Teilchen auf. Da mit steigender Konzentration weder Δ_H zu-, noch Δ_V abnehmen, so kann man eine Depolarisation durch Mehrfachstreuung ausschliessen (*Rousset*)⁵⁾. Ebenso fehlt der von *Herzog* und *Lange*⁶⁾ an Glykogen- und Insulinsolen gemessene Verdünnungseffekt (Dissoziation). Unsere Werte für Δ_H sind = 1, somit $d \ll \lambda$. Dass die berechneten Werte von Δ_H so gut mit den gemessenen übereinstimmen, dürfte mit der annähernd monodispersen Struktur der Sole zusammenhängen. Unter der Annahme, dass die beiden Querrichtungen α_2 und α_3 gleich gross sind (Rotationsellipsoid), lässt sich aus dem Verhältnis von $\Delta/1-\Delta$ das Verhältnis der Längsrichtung α_1 zu der Querrichtung α_2 errechnen (s. *Lotmar*, S. 796). Da der Ausdruck auf eine quadratische Gleichung herausläuft, erhalten wir zwei gleichwertige Lösungen: die eine entspricht räumlich gesehen, einer Scheibe, die andere einem langgestreckten Zylinder.

Besprechung der Ergebnisse.

Auf Grund ausgedehnter Analysen der basischen Bausteine der Serumfraktionen hat *Block*⁷⁾ gefunden, dass Histidin und Arginin in erster Linie in den Globularproteinen eingebaut sind, dagegen Lysin mehr in den Albuminen. Ferner hat *Balint*⁸⁾ im Globin normaler Personen (Darstellung nach *Schenk*) als Hauptbestandteil Histidin mit 7,3%

¹⁾ loc. cit.

²⁾ *Krishnamurti*, K., Proc. Roy. Soc. London **129**, 490 (1930).

³⁾ *Ettisch*, *Sachse* und *Lange*, Bioch. Z. **230**, 93 (1931).

⁴⁾ *Lepeschkin*, W., Bioch. Z. **309**, 254 (1941).

⁵⁾ *Rousset*, Ann. physique **5**, 5 (1936).

⁶⁾ *Herzog* und *Lange*, B. **62**, 491 (1929).

⁷⁾ *Block*, *Darrow*, W. und *Cary*, J. Biol. Chem. **104**, 339, 343, 347 (1934).

⁸⁾ *Balint*, P. und *Balint*, M., Bioch. Z. **308**, 83 (1941).

ermittelt, daneben Arginin mit 1,4%; *Abderhalden*¹⁾ gibt die Werte 8,5 und 3,5%. Wenn unsere Versuche ergeben, dass die erwähnten Hexonbasen, Euglobulin mit Leichtigkeit über salzartige Bindungen peptisieren, so liegt darin eine Bestätigung der Ansicht von *Haurowitz*²⁾, dass im Euglobulin-Typus neben positiven auch negative Exogruppen bestehen. In unserem Falle reagiert demnach das Euglobulin mehrheitlich wie ein Stoff mit Polyanionen und liefert mit den Hexonbasen Salze makromolekularer Säuren. Das Euglobulin gehört entsprechend der Aufteilung von *Staudinger*³⁾ zu den koordinativen Molekelkolloiden, welche Gruppen mit Dipolcharakter besitzen. Es ist denkbar, dass damit die spezifische Wirkungsmöglichkeit der Agglutinine, welche sowohl in der Euglobulin- wie in der Pseudoglobulinfraktion enthalten sind, zusammenhängt.

So wie man an die biologischen Funktionen der Serumeiweisskörper denkt, steht die Grösse der inneren Grenzfläche der Proteinaggregate an wichtigster Stelle; denn von ihrer Beschaffenheit sind unzählige serologische und chemotherapeutische Reaktionen, sowie Probleme der Immunität, der Gerinnung, der Ödembereitschaft und des Transportes abhängig. Aus diesen Gründen misst die Klinikerschaft (vgl. *Post* und *Patek*⁴⁾) auch heute noch dem Verhältnis von feindispersen zu grobdispersen Serumbestandteilen grosse Bedeutung zu. Ihre genauere Erforschung wurde jedoch erst durch die modernen physikalischen Methoden möglich, welche Einblick in die Struktur kolloider Systeme gestatten. Wie hier ausgeführt, erlaubt die Messung des Depolarisationsgrades Aussagen über das Achsenverhältnis der Teilchen der Histidin- und Argininsole. Zusammen mit der grösseren Lösungsdispersion leitet sich ab, dass bei gleichem Gesamtvolum, dem Argininsol die grössere innere Grenzfläche zukommt. Dieser Befund steht in genauer Übereinstimmung mit den Messungen der Dissolutionsfähigkeit dieses Soles. Es zeigt sich, dass Argininsol 8 % mehr Acridinorange in das Filtrat schafft als Histidinsol. Es kann dies als eine in vitro erreichte erhöhte Transportleistung bewertet werden. Dieses Verhältnis wiederholt sich mit anderen Acridinfarbstoffen, wie etwa Trypaflavin oder Rivanol, von denen *Pfaff* und *Herold*⁵⁾ auf Grund der Kataphorese zeigten, dass sie sich an die Globuline binden. Weiter hat *Dirr*⁶⁾ bei Belastungsversuchen mit Arginin in vivo gefunden, dass dasselbe rasch dem Blutstrom entzogen wird, um im Gewebe deponiert zu werden. Insofern dies im Lebergewebe stattfindet, ist anzunehmen, dass die Hexonbase grösstenteils zur Eiweissgenese mitverwendet wird. Jedoch ist denkbar, dass der Organismus einen Rest von freiem Arginin zurückbehält, um diesen dann in die Blutbahn auszuschütten, wenn das Eintreten pathologischer Verhältnisse die Vergrösserung

¹⁾ *Abderhalden, E.*, Lehrb. d. physiol. Chemie (Berlin 1941).

²⁾ *Haurowitz, F.*, Z. physiol. Ch. **256**, 28 (1938).

³⁾ *Staudinger, H.*, Die hochmolek. org. Verb. (Berlin 1932); Organ. Kolloidchemie (Braunschweig 1940).

⁴⁾ *Post* und *Patek*, Arch. Internal Med. **69**, 67 (1942).

⁵⁾ *Pfaff* und *Herold*, Grundl. einer neuen Therapieforschung der Tuberkulose (Leipzig 1937).

⁶⁾ *Dirr, K.*, Ergebn. inn. Med. **57**, 260 (1939).

der inneren Grenzfläche der Serumkolloide wünschbar macht. Wir hätten damit eine endogene Steuerung der Transportmöglichkeiten der Serumglobuline als Funktion der Arginkonzentration.

Mit Absicht wurde als zweiter Farbstoff für die Untersuchung der Dissolution das basische Viktoriablauf gewählt, denn es haftet sich nach *Bennhold*¹⁾ an die Albumine und an das am schnellsten wandernde Globulin. Nach *Moore* und *Lynn*²⁾ würde dies dem α -Globulin entsprechen. Nun fand ich bei der Messung des Dissoziationsvermögens pathologischer Sera (*Wunderly*³⁾) mit Viktoriablauf dasselbe bei exudativen Erkrankungen zumeist erhöht und bei fibrösen Prozessen erniedrigt. In genauer Übereinstimmung damit erweist sich nach *Luetscher*⁴⁾ bei Pneumonie das α -Globulin stark erhöht, das Albumin leicht erniedrigt; bei Lebercirrhose α -Globulin etwa normal und das Albumin beträchtlich erniedrigt. Der Zusammenhang zwischen Dissoziationsvermögen der Sera für Viktoriablauf und ihrem Gehalt an Albumin und α -Globulin ist damit gegeben. Ebenso wird verständlich, warum das hier beschriebene Sol 3—4 mal mehr Acridinorange in das Filtrat schafft als Viktoriablauf; die von uns verwendete Proteinkomponente besteht überwiegend aus den langsam wandernden β - und γ -Globulinen. Die gleichzeitige Anwendung beider Farbstoffe in Parallelversuchen gestattet eine Aussage zum relativen Verhältnis der elektrophoretisch schnell und der langsam wandernden Anteile eines Serums.

Die Sole, welche wir mit Prolin und Oxyprolin erzielen, zeigen eine wesentlich kleinere Lösungsstabilität. Mit der Proteinkomponente sind nur lose Kovalenzbindungen anzunehmen; schon das Verdünnen des Soles mit Wasser führt zur Dissoziation, was sich durch gleichzeitige starke Trübungszunahme zu erkennen gibt.

Im nativen Eiweiss kann das Prolin entweder als Peptid-Prolyl-Peptid in die Hauptkette eingebaut oder als Prolyl-peptid als Endglied gebunden sein. Auf Grund der Berechnungen an Molekelmodellen kommt *Pauling*⁵⁾ zu der Annahme, dass $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ der endständigen Gruppen in Globularpolypeptidketten aus Prolin oder Oxyprolin bestehen. Er glaubt, dass unter dem Einfluss dieser Iminosäuren die Hauptketten jeweils um 180° abgebogen werden und deshalb bestimmenden Einfluss haben auf die Faltung der Ketten. Nach *Bergmann* und *Niemann*⁶⁾ sollen die beiden Iminosäuren in der Peptidkette der Gelatine die hohe Periodenzahl 6 besitzen. Leider besteht bis heute kein Weg, um in vitro den besprochenen Einbau zu erzielen; ebenso wenig wie es gelingt, das Arginin als Amidbrücke zwischen zwei Hauptketten zu verankern, womit auf die spezifischen Leistungen des Organismus hingewiesen sei.

¹⁾ *Bennhold, H.*, Die Eiweisskörper d. Blutplasmas (Dresden 1938).

²⁾ *Moore und Lynn, J. Biol. Chem.* **141**, 819 (1941).

³⁾ *Wunderly, Ch.*, Z. ges. exp. Med. **110**, 273 (1942).

⁴⁾ *Luetscher, J. A.*, J. clin. Invest. **20**, 99 (1941).

⁵⁾ *Pauling, L.*, Am. Soc. **62**, 2643 (1940).

⁶⁾ *Bergmann und Niemann, J. Biol. Chem.* **118**, 301 (1937).

Zusammenfassung:

Es wird die Darstellung von vier Proteinsystemen beschrieben, wobei die Proteinkomponente aus Euglobin besteht, und die Aminosäurekomponenten aus den Hexonbasen *l*-Histidin und *d*-Arginin, sowie aus den Iminosäuren *l*-Prolin und *l*-Oxyprolin.

Die kolloiden Auflösungsvorgänge dieser vier Proteinsysteme werden charakterisiert durch ihre Lösungsdispersität, ihre Lösungsintensität sowie die Lösungskapazität des Peptisators. Die Lösungsstabilität wird gekennzeichnet durch die Lage des I.E.P., sowie die Thermostabilität in demselben.

Als Messwert für die innere Grenzfläche der Proteinaggregate wird ihr Dissolutionsvermögen, sowie der Depolarisationsgrad bestimmt. Im untersuchten Konzentrationsgebiet ist das *Rayleigh*-Streulicht genau proportional der Proteinkonzentration, während der Depolarisationsgrad davon unabhängig ist. Auf die Grössenbeziehung der Teilchen zur Lichtwellenlänge wird hingewiesen.

Medizin. Universitätsklinik Zürich. (Dir. Prof. Dr. W. Löffler.)

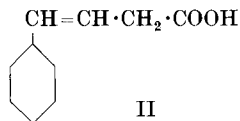
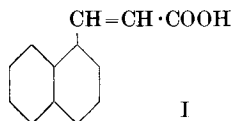
110. Über die Wirkung verschiedener Säuren auf das Wachstum von *Bacterium coli*

von Hubert Bloch und H. Erlenmeyer.

(2. VII. 42.)

In einer vorangegangenen Mitteilung¹⁾ haben wir über die hemmende Wirkung von β -[Naphtyl-(1)]acrylsäure (I) auf das durch Tryptophan geförderte Wachstum von *Bact. coli* berichtet. Diese Versuche waren angeregt worden durch eine Beobachtung von *Fildes*²⁾, wonach Indolyl-acrylsäure das Wachstum von *Coli*- und Typhusbakterien zu hemmen vermag und zu einem für diese Bakterien wichtigen Wuchsstoff, dem Tryptophan, in einem ähnlichen Verhältnis steht wie z. B. Sulfanilsäure zur *p*-Aminobenzoessäure.

In Fortsetzung unserer ersten Versuche war es nun interessant zu sehen, wie sich weitere ungesättigte und andere Säuren, die zur β -[Naphtyl-(1)]acrylsäure gewisse Strukturähnlichkeit besitzen, gegenüber dem durch Tryptophan geförderten Wachstum von *Bact. coli* verhielten. Wir untersuchten deshalb die Styryl-essigsäure (Smp. 88°) (II), die *trans*-Zimtsäure, die Dihydro-zimtsäure, die Benzoessäure und die Fumarsäure.



¹⁾ H. Bloch und H. Erlenmeyer, *Helv.* **25**, 694 (1942).

²⁾ P. Fildes, *Brit. J. exptl. Path.* **22**, 293 (1941).