

facilement dans l'eau bouillante. Par réduction au moyen d'anhydride sulfureux ou d'iode de potassium en milieu sulfurique dilué, on obtient l'acide nitro-5-hydroxy-4-iodo-2-benzoïque (IV), identique au composé décrit plus haut (F. des deux échantillons et de leur mélange: 221—223°).

12,79 mg subst. ont consommé¹⁾ 0,780 cm³ Na₂S₂O₃ 0,1-n.

C₇H₄O₆NI (325,03) Calculé «O» actif 4,92% Trouvé «O» actif 4,88%

RÉSUMÉ.

L'acide dinitro-4,5-iodo-2-benzoïque est obtenu, par voie diazoïque, à partir de l'acide dinitro-4,5-anthranilique. Dans le nouveau composé, le groupe nitro situé en 4 est mobile; il en est de même dans le dérivé iodé correspondant.

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université.

274. Strepogenin-Gehalt und «biologische Wertigkeit» von Casein- und Sojaprotein-Hydrolysaten

von Walter Karrer und Hilde Pfaltz.

(3. 10. 51.)

1944 berichteten *Sprince & Woolley*²⁾ über einen neuen Wachstumsfaktor für verschiedene Mikroorganismen (z. B. *Lactobacillus casei*) und nannten ihn Strepogenin. Es wurde vermutet, dass er mit früher festgestellten, aber nicht näher untersuchten Wachstumsfaktoren identisch sei. Das Strepogenin wurde in partiell hydrolysiertem Casein gefunden; nicht hydrolysiertes und vollständig hydrolysiertes Casein zeigten diesen Wachstumseffekt bei Mikroorganismen nicht. In der Folge wurde dann bei Ernährungsversuchen an der Maus und an der Ratte die Überlegenheit der enzymatisch dargestellten, also partiellen Eiweisshydrolysate dem Vorhandensein dieses Strepogenins zugeschrieben³⁾. *Woolley* stellte in weiteren Arbeiten fest, dass es sich beim Strepogenin vermutlich um ein wenig stabiles Peptid — vielleicht Tripeptid — oder um einen peptidähnlichen Stoff handelt, über dessen Zusammensetzung aber nichts Genaues bekannt ist.

In den letzten 2—3 Jahren ist es stiller um das Strepogenin geworden. Es erscheinen zwar immer wieder einzelne Arbeiten, die die Bedeutung dieses Wuchsstoffes hervorheben⁴⁾, doch mehren sich neuerdings die Stimmen, die dem Strepogenin eine ernährungs-

¹⁾ D'après le mode opératoire décrit *Helv.* **15**, 1103 (1932).

²⁾ *H. Sprince & D. W. Woolley*, *J. Exp. Med.* **80**, 213 (1944).

³⁾ *Z. B.: D. W. Woolley*, *J. Biol. Chem.* **162**, 383 (1946).

⁴⁾ *Z. B.: F. Rausch & M. Loos*, *Ärztl. Forschung* **4**, 492 (1950).

physiologische Bedeutung absprechen¹⁾). In den meisten diesbezüglichen Arbeiten der letzten Jahre wird dafür dem Vorhandensein anderer Wachstumsfaktoren (z. B. „animal protein factor“) oder bestimmten Vitaminen und Aminosäuren eine besondere, ausschlaggebende Bedeutung zugemessen, und sonderbarerweise taucht auch wieder die Behauptung auf, dass mit Säure dargestellte Proteinhydrolysate ernährungsphysiologisch den intakten Proteinen gleichwertig seien.

Letztes Jahr erschien eine beachtenswerte Arbeit von *M. O. Schultze*²⁾, nach welcher Ratten, die als Eiweissquelle nur Sojaprotein + Methionin erhielten, durch 4 Generationen gezüchtet werden konnten. Vitamin B₁₂ und der „animal protein factor“ waren bei der eingehaltenen Ernährungsweise bestimmt abwesend. Die Tiere entwickelten sich normal; einzig ihr Gewicht hatte sich von der 1. bis zur 4. Generation um 12–20 % vermindert.

Als diese Arbeit von *Schultze* erschien, waren unsere Untersuchungen von Casein- und Sojaprotein-Hydrolysaten bereits abgeschlossen. Dabei wurden einige bemerkenswerte Feststellungen gemacht, die unter anderem auch eine Erklärung für die Befunde von *Schultze* geben.

Folgende Hydrolysate wurden von uns dargestellt:

- A) Casein-Hydrolysat, mit Schwefelsäure dargestellt,
- B) Casein-Hydrolysat, mit Pankreatin dargestellt,
- C) Casein-Hydrolysat, mit Papain dargestellt,
- D) Sojaprotein-Hydrolysat, mit Pankreatin dargestellt,
- E) Sojaprotein-Hydrolysat, mit Papain dargestellt.

Für die Hydrolysate A–C wurde technisches Casein verwendet, und zwar wurde dieses vor Gebrauch einmal umgefällt: Lösen in Natronlauge, Ausfällen mit Essigsäure. Das zur Darstellung der Sojaprotein-Hydrolysate D und E notwendige Sojaprotein wurde aus 3 verschiedenen amerikanischen und einem italienischen Sojamehl gewonnen. Die wässrigen Aufschlämmungen der Sojaproteine wurden vor der Hydrolyse erhitzt, wobei der im Sojamehl enthaltene Trypsin-Inhibitor und auch der kürzlich festgestellte Papain-Inhibitor³⁾ zerstört wurden. Die Hydrolysen mit Pankreatin wurden bei 37° und pH 8 durchgeführt, die mit Papain bei 65° und pH 4,5–5.

Die Hydrolysate wurden eingehend analysiert, insbesondere wurde auch ihr Streptogeningehalt, das heisst ihr Wachstumseffekt auf *Lactobacillus casei* ermittelt⁴⁾; ferner wurden die wichtigsten Aminosäuren mikrobiologisch bestimmt⁵⁾. In Tabelle 1 sind die analytischen Daten zusammengestellt.

¹⁾ Z. B.: *D. V. Frost & H. R. Sandy*, J. Biol. Chem. **175**, 635 (1948); *K. H. Maddy & C. A. Elvehjem*, J. Biol. Chem. **177**, 577 (1949); *G. B. Ramasarma, L. M. Henderson & C. A. Elvehjem*, J. Nutr. **38**, 177 (1949); *W. Kollath*, Ztschr. f. Naturforschg. **5b**, 47 (1950).

²⁾ J. Nutr. **41**, 103 (1950).

³⁾ *E. M. Learmonth*, Nature **167**, 820 (1951).

⁴⁾ Diese Bestimmungen wurden 1948–1949 von Dr. *E. Burlet* (†) nach der Methode von *H. Sprince & D. W. Woolley*, J. Exp. Med. **80**, 213 (1944), ausgeführt.

⁵⁾ Die Bestimmungen wurden in unserem mikrobiologischen Laboratorium (Leitung Dr. *M. Walter*) und im *Laboratoire Universitaire de Recherches de diagnose clinique et de biologie expérimentale dans le domaine des vitamines*, Lausanne (Leitung Prof. *A. Girardet*) ausgeführt.

Tabelle 1.

	Casein-Hydrolysate, dargestellt mit:			Sojaprotein-Hydrolysate ¹⁾ , dargestellt mit:	
	Säure (Hydro- lysat A)	Pankreatin (Hydro- lysat B)	Papain (Hydro- lysat C)	Pankreatin (Hydro- lysat D)	Papain (Hydro- lysat E)
N-Gehalt . .		12,4	13,3	13,0—13,7	14,0—14,7
Amino-N . .		4,8	5,4	4,1—4,6	4,7—5,2
Strepogenin ²⁾ .	Ø	1,0	0,2—0,4	2,0—3,5	1,5—2,1
Methionin . .	2,35	2,3	2,2	0,5—0,6	0,7—0,9
Threonin . .	3,15	2,7	3,1	2,5—2,6	3,0—3,7
Valin	(?)	7,2	6,8	4,3—4,9	4,1—5,0
Arginin . . .	4,4	1,7	1,5	6,1—6,5	6,6—7,9
Tryptophan .	Ø	0,9	0,65	1,0—1,2	1,0—1,2
Histidin . . .	2,6	2,6	2,7	2,0—2,3	2,0—2,5
Leucin	9,2	?	5,2	4,7—5,3	5,0—5,4
Isoleucin . . .	5,2	?	5,3	4,4—4,8	3,7—4,2
Lysin	7,7	10,4	7,0	4,1—5,2	5,5—6,5
Phenylalanin .	5,2	5,4	6,4	3,4—4,0	2,3—3,0
Cystin	0,3	1,4	1,0	2,2—2,9	2,7—3,2
Glutaminsäure	19,7	15	18	6,8—7,8	7,0—8,7
Tyrosin . . .	?	3,2	3,3	1,8—2,6	2,1—2,3

Im Gehalt der einzelnen Aminosäuren bestehen zwischen den Casein- und Sojaprotein-Hydrolysaten — entsprechend dem verschiedenen Eiweiss — zum Teil grössere Unterschiede; zwischen mit Pankreatin und Papain verdauten Proteinen bestehen bei der gleichen Eiweissart dagegen keine weitgehenden Differenzen im Gehalt der einzelnen Aminosäuren. Auffallend ist der stark erhöhte Strepogenin-gehalt beim Soja-Eiweiss gegenüber dem beim Casein vorhandenen. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Angaben von *M. L. Scott*, *L. C. Norris & G. F. Heuser*³⁾ und zu den allgemeinen Angaben von *J. Kühnau*⁴⁾, nach denen Strepogenin nur sehr selten in pflanzlichen Proteinen vorkommen soll. Ferner zeigten die mit Pankreatin hergestellten Hydrolysate regelmässig einen deutlich höheren Strepogenin-gehalt als die mit Papain dargestellten⁵⁾.

¹⁾ Die Hydrolysate der oben (Seite 2226) erwähnten 4 Soja-Proteine verschiedener Herkunft wurden getrennt analysiert; hier sind die gefundenen Niedrigst- und Höchstwerte angegeben.

²⁾ Bezogen auf ein mit Pankreatin dargestelltes Casein-Standardhydrolysat = 1,0.

³⁾ J. Biol. Chem. **166**, 481 (1946).

⁴⁾ Angew. Ch. **61**, 362 (1949).

⁵⁾ Es sei erwähnt, dass bei Hydrolyseversuchen mit verschiedenen Bakterien- und Pilzproteasen ein als Rhozyme P—11 bezeichnetes Pilzprotease-Präparat (*Rohm und Haas* Comp., Philadelphia) Hydrolysate mit zum Teil noch wesentlich höherer Strepogeninwirkung gab; diese entsprach bei so dargestellten Sojaprotein-Hydrolysaten einem Strepogeningehalt von 5—6 (siehe Fussnote 5).

Die dargestellten Hydrolysate A—D wurden dann im Ernährungsversuch an jungen männlichen 35—40 g schweren Ratten geprüft.

Die Tiere erhielten folgende Diät:

Casein- oder Sojaprotein-Hydrolysat	18%	Cocosfett	9%
Reisstärke, nicht extrahiert	55%	Lebertran	1%
Zucker	12,5%	Salzmischung.	4%
Vitamine: Vitamin B ₁	10,0 γ	Pantothensäure	100 γ
Vitamin B ₂	40,0 γ	Nicotinsäureamid	500 γ
Vitamin B ₆	20,0 γ		
ferner Cholin	3,0 mg.		

Von den fettlöslichen Vitaminen erhielten die Tiere pro Woche:

Vitamin A . . . 20 i. E.; Vitamin E . . . 100 γ ; Vitamin D . . . 0,3 γ

Das Hydrolysat D wurde wegen seines niedrigen Methioningehaltes mit 2,5% DL-Methionin ergänzt. Hydrolysat A wurde mit einem mit Wasser extrahierten Casein im Verhältnis 1 : 1 gemischt.

Bei den zur Kontrolle mitgeführten Tieren wurde an Stelle der zu prüfenden Eiweiss-hydrolysate vitaminfreies Casein gegeben.

Das Gewicht und der Allgemeinzustand der Tiere wurden 1—2mal wöchentlich kontrolliert. Über den Verlauf dieser Versuche, die — wenn möglich — bis auf 10 Wochen ausgedehnt wurden, geben Fig. 1 und Tab. 2 Auskunft.

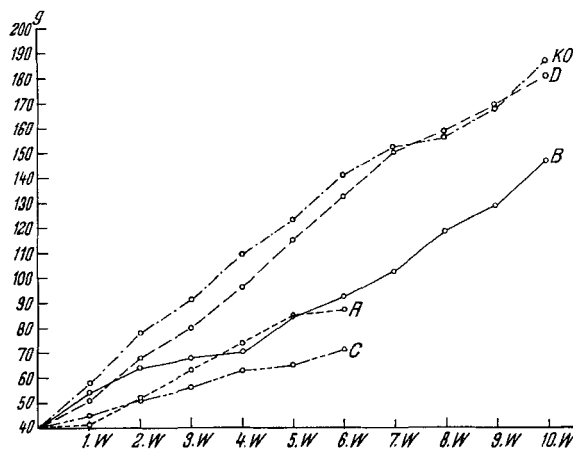


Fig. 1.

Wachstumszunahme der Ratten bei Verfütterung der Hydrolysate A—D und beim Kontrollversuch (KO).

Die Ernährungsversuche zeigen also folgendes Bild:

- Mit Hydrolysat A: Bei geringer Gewichtszunahme sterben alle Tiere rasch.
- Mit Hydrolysat B: Bei ordentlicher Gewichtszunahme beträgt die Sterblichkeit 33%.
- Mit Hydrolysat C: Bei geringer Gewichtszunahme sterben alle Tiere rasch.
- Mit Hydrolysat D: Bei guter Gewichtszunahme bleiben alle Tiere am Leben.
- Mit Casein (Kontrolltiere): Bei guter Gewichtszunahme bleiben alle Tiere am Leben.

Tabelle 2.

Art der Hydrolysate	Anzahl d. Versuchstiere	Anzahl der in den einzelnen Versuchs- wochen eingegangenen Ratten									
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10. Woche
Casein-Hydrolysat A (mit Säure dargestellt) + mit Wasser extrahiertes Casein (1:1)	26	1	0	4	5	9	7				
Casein-Hydrolysat B (mit Pankreatin dargestellt)	18	0	2	0	1	0	1	2	0	0	0
Casein-Hydrolysat C (mit Papain dargestellt)	10	0	0	1	3	3	3				
Sojaprotein-Hydrolysat D . (mit Pankreatin dargest.) + 2,5% DL-Methionin	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle mit Casein vitaminfrei	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie wir aus Tabelle 1 ersehen, zeigen die verschiedenen Hydrolysate — abgesehen vom Fehlen des Tryptophans im Säurehydrolysat — in ihrem Strepogeningehalt die auffallendsten Unterschiede. Es ist nun interessant, dass in den Gruppen A und C, bei denen der Strepogeningehalt 0 bzw. 0,2—0,4 beträgt, sämtliche Tiere innert 6 Wochen starben; in Gruppe B, bei einem Strepogeningehalt von 1, starben $\frac{1}{3}$ der Tiere und in Gruppe D mit 2,8 Strepogenin überhaupt keine. Die biologische Wertigkeit der untersuchten Eiweisshydrolysate geht also parallel mit den Strepogeninwerten.

Ob die zum Teil hohe Sterblichkeit der Versuchstiere durch das Fehlen anderer lebenswichtiger Faktoren oder durch das Vorhandensein von toxisch wirkenden Substanzen (racemische Aminosäuren, Abbauprodukte der Aminosäuren) mitbedingt wird, kann auf Grund der vorliegenden Versuche nicht entschieden werden. Ohne Erklärung bleibt auch die Feststellung, dass das intakte Casein-Protein (Kontrolle) günstiger wirkt als das beste, mit Pankreatin daraus hergestellte Hydrolysat. Dass die Ratte die mit Pankreatin dargestellten Hydrolysate besser verwerten kann als die mit Papain dargestellten, hängt vielleicht damit zusammen, dass der Abbau mit Pankreatin, der den Verhältnissen im Tierkörper eher entspricht als der Abbau mit pflanzlichem Papain, für den Aufbau des tierischen Eiweisses geeignetere peptidische Hydrolyseprodukte, zu denen ja auch das Strepogenin gehören dürfte, liefert.

Zusammenfassung.

Im Ernährungsversuch an der Ratte sind enzymatisch dargestellte Casein-Hydrolysate dem mit Säure dargestellten Hydrolysat überlegen. Mit Pankreatin dargestellte Hydrolysate haben gegenüber

mit Papain dargestellten einen höheren Strepogenin-Gehalt und eine grössere biologische Wertigkeit. Sojaeiweiss-Hydrolysate zeigen eine wesentlich höhere Strepogeninwirkung (an *Lactobacillus casei* geprüft) als entsprechende Casein-Hydrolysate und erweisen sich — entgegen der üblichen Auffassung — diesen im Ernährungsversuch an der Ratte überlegen. Die Strepogeninwerte sind die einzigen experimentell festgestellten Werte, die mit der biologischen Wertigkeit der untersuchten Eiweiss-Hydrolysate parallel gehen.

Wissenschaftliche Laboratorien der
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel.

275. Elektronenverteilung des Naphtalins

von **O. Klement.**

(4. X. 51.)

In einer vorhergehenden Mitteilung¹⁾ wurde gezeigt, dass man im Rahmen der *Heitler-Rumer*²⁾ Methode neben der Energie auch die Elektronenverteilung einfacher Systeme berechnen kann. Dieses Verfahren soll nun in der vorliegenden Arbeit durch ein Beispiel illustriert werden. Zu diesem Zweck wählen wir einen möglichst einfachen aromatischen Kohlenwasserstoff, nämlich das Naphtalin, da hier die verschiedenen Kohlenstoffatome im Gegensatz zum Benzol nicht gleichwertig sind, sondern in drei Gruppen, in die α -, β - und meso-Stellungen, zerfallen. Man kann zum vornherein vermuten, dass dieser Unterschied auch in der Elektronenformel der isolierten Molekel zum Ausdruck kommen wird, und damit hätten wir bereits einen ersten Beweis für die Brauchbarkeit dieser Formel.

Die vollständige Naphtalinmolekel ist ein System bestehend aus 18 Kernen und 68 Elektronen. Beim heutigen Stand der Theorie ist die Lösung eines derartig grossen Systems praktisch undurchführbar. Deshalb sind wir gezwungen, ausser den in (*HR*) gemachten Vernachlässigungen, das Problem noch weiter zu reduzieren. Zu diesem Zweck werden wir nur zehn Elektronen in Betracht ziehen. Diese Vereinfachung wird übrigens bei den meisten Energieberechnungen aromatischer Molekeln vorgenommen. Wir betrachten also das System als eine dem Naphtalin ähnlich geschlossene Kette von zehn einvalentigen Atomen, und es wird sich zeigen, dass schon dieses einfache Modell Resultate liefert, welche mit der Erfahrung in Einklang stehen.

¹⁾ Helv. **34**, 1368 (1951), (im folgenden mit (I) bezeichnet).

²⁾ *W. Heitler*, Quantentheorie und homöopolare chemische Bindung, Hdb. der Radiologie, Bd. VI/2, 2. Aufl. (1934), (im folgenden mit (*HR*) bezeichnet).