

Einige Bemerkungen über die basischen Spaltungsprodukte des Elastins.

Von
Dr. S. G. Hedin.

(Lund, medicinisch-chemisches Laboratorium im Mai 1898.)
(Der Redaction zugegangen am 22. Mai 1898.)

Die Arbeit, worüber E. Bergh in der vorhergehenden Abhandlung berichtet hat, gestattet den Schluss, dass bei der Spaltung des Elastins die aus den bisher untersuchten Proteinkörpern entstehenden Basen Arginin und Lysin entweder nicht oder nur in minimaler Menge gebildet werden. Bekanntlich hat Schwarz unter den Spaltungsprodukten des Aorta-Elastins kein Lysin, wohl aber das sogenannte Lysatinin isoliren können.¹⁾ Wie ich vorher gezeigt habe, dürfte wohl das Lysatinin von Drechsel als eine Mischung von Arginin und Lysin anzusehen sein.²⁾ Wenn aber dem so ist, soll nach den Ergebnissen von Schwarz das Elastin bei der Spaltung durch Salzsäure Arginin und Lysin ergeben. Die Resultate von Bergh und von Schwarz können also nicht zugleich zu Recht bestehen.

Obwohl die Untersuchung von Bergh auf meine Veranlassung und nach den von mir gebrauchten Methoden ausgeführt wurde, habe ich es in Anbetracht der Wichtigkeit der Frage angemessen gefunden, auch selbst die Spaltungsprodukte des Elastins einer erneuerten Prüfung zu unterziehen.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 18, S. 487.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 21, S. 297.

Das Elastin wurde von mir aus dem Nackenbande des Rindes nach dem Verfahren von Horbaczewski dargestellt. (Auskochen mit Wasser, Extrahiren und Kochen mit 1^o/oiger Kalilauge und dann mit 10^o/oiger Essigsäure; schliesslich Behandlung in der Kälte mit 5^o/oiger Salzsäure.) Da es mir für das Studium der basischen Spaltungsprodukte nicht viel darauf ankam, dass alles Fett entfernt wurde, zog ich das Elastin nur einmal mit Alkohol-Aether aus.

Bekanntlich hat Kossel gefunden, dass das Protamin aus Lachssperma beim Kochen mit Säure wohl basische Spaltungsprodukte (Arginin, Lysin, Histidin) liefert, aber keine Amidosäuren.¹⁾ Da die eben genannten Basen von Drechsel (Lysin) und von mir (Arginin und Histidin) unter den Spaltungsprodukten aller daraufhin untersuchten Proteinstoffe gefunden waren, nimmt Kossel an, dass alle Proteinkörper einen Kern von Protamin enthalten. Je nachdem an dem Protamin verschiedene Molekülgruppen angelagert sind, entstehen die verschiedenen mehr complicirten Proteinstoffe. Da es ferner Kossel gelungen ist, aus Protaminen durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure peptonähnliche Körper darzustellen, habe ich prüfen wollen, ob dem Elastin möglicher Weise durch Erwärmen mit sehr verdünnter Säure irgend ein basischer Bestandtheil zu entziehen wäre. Deshalb wurden 500 gr. trocknes Elastin einige Stunden mit 0,5^o/oiger Salzsäure gekocht. Dabei löste sich ein Theil des Elastins auf; der Rückstand wog nach Trocknen auf dem Wasserbade 325 gr. (Portion A). In der salzsauren Lösung befanden sich also 215 gr. (Portion B). Da ich die Absicht hegte, zu prüfen, ob die Portion B möglicher Weise mehr basische Eiweissstoffe enthielte als die Portion A, wurden die beiden Mengen des Elastins voneinander getrennt mit 20^o/oiger Salzsäure und Zinnchlorür während 72 Stunden gekocht.

Die von Zinn befreite und stark concentrirte Lösungen wurden mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die dabei entstehenden Niederschläge waren überraschend gering im Vergleich mit den-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XXII, S. 176, sowie Sitzungsber. der Ges. z. Bef. der ges. Naturw. zu Marburg 1897, S. 56.

jenigen Mengen, welche aus anderen Proteinkörpern erhalten wurden. Wenn die Lösungen warm gefällt wurden, schied sich eine schmierige Masse aus, die beim Erkalten erstarrte. Beim Fällen in der Kälte schied sich ein flockiger Niederschlag aus, der unter dem Mikroskope kein krystallinisches Aussehen darbot. Die aus der Portion A erhaltene Menge war etwa anderthalbmal so gross wie die aus B, und da die ursprünglichen Portionen A und B 325 resp. 215 gr. ausmachten, hatte folglich die Portion A basische Spaltungsprodukte in demselben Maasse geliefert wie die Portion B. Nach dem oben Gesagten hätte man erwarten können, dass die Portion B, welche beim Kochen des Elastins mit sehr verdünnter Salzsäure gelöst worden war, basische Spaltungsprodukte in grösserer Menge ergeben sollte als der ungelöste Rückstand (Portion A). Da dies nicht der Fall war, wurden die beiden Niederschläge im Folgenden zusammen behandelt. Dieselben wurden also mit Barythydrat zerlegt und die Lösung nach Entfernung des Barytüberschusses concentrirt. Dabei schied sich eine weiche Masse aus, die unter dem Mikroskope wie unreines Leucin aussah. Es waren also in dem Phosphorwolframsäureniederschlag auch Amidosäuren enthalten, was daran lag, dass ich das Ausfällen in sehr concentrirter Lösung vorgenommen hatte. Auch früher habe ich nämlich gefunden, dass die Amidosäuren aus sehr concentrirter Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt werden können, und zwar in Form einer schmierigen Masse. Um die Amidosäuren zu entfernen, wurde noch einmal mit Phosphorwolframsäure gefällt; der Niederschlag war jetzt viel geringer als beim ersten Ausfällen (anscheinend nur $\frac{1}{3}$ des ersten Niederschlages). Derselbe wurde wie üblich zerlegt und die barytfreie, stark alkalische Lösung nach Concentriren mit Silbernitrat versetzt. Es entstand ein Niederschlag, der ohne Erfolg auf Histidin geprüft wurde.¹⁾ Das Filtrat wurde concentrirt und zum Krystallisiren hingestellt; nach einiger Zeit war dasselbe zu einer zähen Masse eingetrocknet, ohne dass sich Krystalle ausgeschieden hatten. Es waren also darin

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII, S. 191.

weder Arginin noch Lysin in nachweisbaren Mengen vorhanden.¹⁾

Es scheint also festgestellt zu sein, dass beim Kochen des Elastins mit Salzsäure die Basen Arginin, Lysin und Histidin nicht oder nur in nach üblichen Methoden nicht nachweisbaren Mengen entstehen. Daraufhin deutet schon der Umstand, dass das Elastin im Vergleich mit anderen Proteinkörpern nur einen sehr geringen Phosphorwolframsäureniederschlag ergibt.

Meine Ergebnisse sowie die von Bergh stehen also mit denjenigen von Schwarz im Widerspruch. Auch das Aorta-Elastin, welches Bergh nach dem Verfahren von Schwarz darstellte, ergab keine nachweisbaren Mengen der Basen.

Da aber Schwarz nur das sogenannte Lysatinin isoliren konnte und dieses in Form des Salzes $\text{AgNO}_3 + \text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HNO}_3$ erhalten wurde, habe ich auch dieses Salz zu gewinnen versucht und zwar in folgender Weise: Die silberhaltige Lösung, aus der ich vergebens die Silberverbindungen des Arginins und Lysins darzustellen versucht hatte, wurde von Silber befreit und nochmals mit Phosphorwolframsäure gefällt. Hierbei schied sich ein krystallinischer Niederschlag aus und ausserdem wurden noch feine Krystallnadeln mit dem Mikroskope beobachtet. Die vorhandenen Basen waren also verhältnissmässig rein, was uns nicht Wunder zu nehmen braucht, da dieselben jetzt zum dritten Mal mit Phosphorwolframsäure ausgefällt waren. Der Niederschlag wurde wie gewöhnlich mit Barythydrat zerlegt und nach Entfernen des Barytüberschusses die stark alkalische Lösung mit Salpetersäure neutralisirt, mit Silbernitrat versetzt, concentrirt und mit Alkohol² vermischt. Hierbei schied sich ein Oel aus, das auch nach mehrtägigem Stehen nicht krystallisirte. Ebenso wenig war die Lösung durch Zugeben von Aether zum Krystallisiren zu bringen.

Es war also nicht möglich, das Lysatinin in Form des Salzes $\text{AgNO}_3 + \text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot \text{HNO}_3$ zu isoliren, was mich nicht überraschte, da nach meiner Ansicht dieses Salz als eine

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 166 und S. 297.

Mischung von dem Argininsalz $\text{Ag NO}_3 + \text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HNO}_3$ und dem Lysinsalz $\text{Ag NO}_3 + \text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HNO}_3$ anzusehen ist und weder Arginin noch Lysin in nachweisbaren Mengen vorhanden waren.

Wie soll man es aber erklären, dass Schwarz das Lysatininsalz erhielt, da dieses Salz weder von Bergh noch von mir isolirt werden konnte? So viel ich finden kann, dürfte dies nur daran liegen können, dass das Elastin von Schwarz noch andere Proteinstoffe enthielt, welche bei ihrer Spaltung Arginin und Lysin lieferten. Wohl stimmen die Analysenwerthe von Schwarz recht gut mit den von Chittenden und Hart und von Horbaczewski überein; dies kann aber nicht beweisen, dass sein Elastin von anderen Proteinstoffen frei war, da die meisten Proteinkörper etwa dieselbe quantitative Zusammensetzung besitzen.

Bekanntlich hat Drechsel eine Methode angegeben, durch welche man sehr kleine Mengen von Lysin nachweisen können soll und welche darin besteht, dass die lysinhaltige Lösung mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt wird. Bei Zusatz von Salzsäure soll sich das Lysin in Form eines Dibenzoylderivates ausscheiden. Diese Verbindung — die Lysursäure — gibt ein saures Barytsalz, das in Wasser sehr schwer löslich ist.¹⁾ Auch die von Drechsel unter den basischen Spaltungsprodukten des Caseins aufgefundene Diamidoessigsäure gibt, mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt, ein schwerlösliches Benzoylderivat — die Monobenzoyldiamidoessigsäure, welche durch ihre Schwerlöslichkeit in Alkohol von der Lysinverbindung getrennt werden kann.²⁾

Um kein Mittel unversucht zu lassen, das zum Isoliren der Basen führen könnte, habe ich die basische Lösung mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt und mit Salzsäure angesäuert. Dabei schied sich zunächst Benzoësäure aus und dann nach Concentriren noch spärliche Oeltropfen, die nicht krystallisirten und für eine nähere Untersuchung nicht genügten.

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 28, S. 3189.

2) Sitzungsber. der königl. sächs. Ges. d. Wiss. Bd. 44, S. 115.

Es waren folglich weder Lysin noch Diamidoessigsäure in nachweisbaren Mengen vorhanden.

Die einzige Base, welche ich unter den basischen Spaltungsprodukten des Elastins habe nachweisen können, ist Ammoniak, das in ziemlich bedeutender Menge gebildet zu werden scheint. Unzweifelhaft sind aber ausserdem noch andere Basen vorhanden.

Es besteht also ein durchgreifender Unterschied in Bezug auf die basischen Spaltungsprodukte zwischen dem Elastin und den vorher untersuchten Proteinstoffen, welcher Unterschied sich dadurch kund macht, dass der aus den Spaltungsprodukten des Elastins erhaltene Phosphorwolframsäureniederschlag sehr gering ist und die aus anderen Proteinkörpern erhaltenden Basen Arginin, Lysin und Histidin nicht in nachweisbaren Mengen enthält.

Wie oben erwähnt, hat neulich Kossel gefunden, dass die aus Fischspermatozoen dargestellten Protamine beim Kochen mit Schwefelsäure wohl die Basen Arginin, Lysin und Histidin ergeben, aber keine Amidosäuren. Darauf basirt Kossel die Annahme, dass alle Proteinstoffe einen Kern von Protamin enthalten, der beim Spalten die genannten Basen liefert; nebenbei enthalten aber die Proteinstoffe noch andere Molekülgruppen, welche die übrigen Spaltungsprodukte (Amidosäuren) abgeben. Die Protamine sind folglich als die einfachsten Eiweisskörper anzusehen.

Nachdem es sich herausgestellt hat, dass das Elastin die Spaltungsprodukte des Protamins nicht enthält, wird den Proteinstoffgruppen von Kossel noch eine neue Gruppe hinzuzufügen sein, welche Gruppe diejenigen Proteinstoffe umfassen soll, welche verhältnissmässig wenig basische Spaltungsprodukte liefern und besonders kein Protamin enthalten können.
