

Ein Beitrag zur Kenntniss der in der Seide enthaltenen eiweissartigen Körper.

Von
G. Wetzel.

Assistent am physiologischen Institut zu Breslau.

Aus dem physiologischen Institut zu Breslau.

Der Redaction zugegangen am 11. Januar 1899.

In der vorliegenden Arbeit bringe ich eine kurze Mittheilung über einige von Krukenberg unter dem Namen der Skeletine zusammengefasste Albuminoide und zwar über das aus der Seide darstellbare Fibroin, sowie die Seide überhaupt und über das organische Substrat der Muschelschalen, das Conchiolin. Ich habe diese Stoffe auf das Vorhandensein eines Protaminkernes in ihrem Moleküle untersucht. Die Anregung zu der Untersuchung verdanke ich Herrn Prof. Kössel und habe sie zum Theil schon vor einem Jahre im physiologischen Institut zu Marburg ausgeführt.

Bei der Untersuchung des Elastins sind Hedin¹⁾ und Bergh²⁾ zu dem Resultate gekommen, dass unter den Spaltungsprodukten dieses Körpers, welche beim Kochen mit Salzsäure entstehen, sich nur eine sehr geringe Menge derjenigen Verbindungen nachweisen lässt, welche durch Phosphorwolframsäure in saurer Lösung fällbar sind. Ein chemisches Individuum konnten sie aus ihrem vermittelst der Einwirkung von Phosphorwolframsäure erhaltenen Niederschläge nicht isoliren. Demgemäss

1) Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. XXV. S. 344.

2) Ibid. S. 337.

konnte im Elastin der von Kossel in den Eiweissstoffen angenommene Protaminkern nur in geringer Menge oder in fragmentarischer Gestalt vorhanden sein. Das Elastin wurde sodann auch von Kossel und Kutscher¹⁾ auf seinen Protaminkern hin untersucht. Sie vermochten aus dem spärlichen Phosphorwolframsäureniederschlage, den die Zersetzungsprodukte des Elastins mit einer etwa 33%igen Schwefelsäure lieferten, das Arginin, wenn auch nur in sehr geringer Menge, zu isoliren. Nach der Angabe von Kossel²⁾ soll die Quantität des in Form von Hexonbasen vorhandenen Stickstoffs etwa 4% des Gesamtstickstoffs betragen.

Das Elastin nimmt somit in Hinsicht auf die Grösse der in ihm enthaltenen Basengruppe eine extreme Stellung ein und entfernt sich sehr weit auch noch von den Stoffen, die den demnächst geringsten Gehalt an basischen Spaltungsprodukten besitzen. Ein Stoff, welcher in dieser Eigenschaft sich als dem Elastin verwandt erweist, scheint mir nach den sogleich anzuführenden Beobachtungen das aus der Seide zu gewinnende Fibroin zu sein.

Zunächst geht dies mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit aus quantitativen Bestimmungen hervor, in denen ich den durch Phosphorwolframsäure aus den Zersetzungsprodukten des Fibroins mit Schwefelsäure fällbaren Basenstickstoff in seinem Verhältniss zum Gesamtstickstoff ermittelt habe.

Mit den für das Fibroin erhaltenen Resultaten stelle ich zugleich die entsprechenden Zahlen zusammen, die sich bei den folgenden Körpern gewinnen liessen. Es sind dies: Seidenleim, weisse und gelbe Rohseide, Gelatine und Conchiolin.

Zur Darstellung des Seidenleims nach der Methode von Cramer³⁾ wurde die durch Auskochen gelber Rohseide mit Wasser über 100° erhaltene Lösung verwendet, welche in der Kälte zu einer Gelatine erstarrte. Die warme Lösung wurde

1) Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. XXV, S. 551.

2) Deutsche medicin. Wochenschrift, 1898, Nr. 37.

3) Journal f. prakt. Chemie 1865, Bd. 96, cit. nach Hoppe-Seyler Handbuch d. physiolog. u. prakt.-chem. Analyse, IV. Auflage.

mit basisch essigsauerm Blei gefällt, der Niederschlag abfiltrirt und ausgewaschen, bis das Filtrat bleifrei war, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, vom Schwefelblei abfiltrirt und das Filtrat mit Alkohol gefällt. Die ausgefallenen weissen Flocken wurden mit Alkohol und Aether gewaschen und durch Verdunstenlassen des Aethers an der Luft getrocknet. Das Produkt unterschied sich von dem Cramer's dadurch, dass es in kaltem Wasser nicht aufquoll. Weshalb diese Eigenschaft fehlte, kann ich nicht angeben. Da die ursprüngliche Lösung bei Temperaturen zwischen 100° und 130° gewonnen war, so können ausser dem Seidenleim noch andere Substanzen mit extrahirt worden sein. Für den vorliegenden Zweck, bei dem es nur darauf ankam, aus den Stoffen, welche ausser dem Fibroin in der Seide vorhanden sind, denjenigen zu gewinnen, der ihre Hauptmenge ausmacht, ist die grössere oder geringere Reinheit des Präparates ohne jeden Belang.

Das Fibroin habe ich nach Städeler durch Behandlung von Rohseide mit 5%iger Natronlauge dargestellt, mit der Abweichung, dass ich statt 18 Stunden die Behandlung mit Natronlauge so lange fortsetzte, bis die Seidenfäden in kürzeste Bruchstücke zerfielen und keine längeren Fäden mehr mit blossen Auge erkennbar blieben. Mikroskopisch bestand das Präparat aus feinen doppeltbrechenden Stäbchen mit zackigen Bruchenden. Ich habe Fibroin aus weisser (japanischer oder chinesischer) und aus gelber (Mailänder) Seide untersucht.

Das Conchiolin wurde aus dem rothen Theile der Schalen der riesigen Steckmuschel (*Pinna nobilis*) als ein organischer Rest erhalten, welcher übrig blieb, nachdem die Schalen mit 5—10%iger Salzsäure vollständig entkalkt, mit Wasser bis zur Entfernung der Salzsäure gewaschen und schliesslich mit Alkohol und mit Aether behandelt worden waren.¹⁾

1) *Pinna nobilis* ist eine im Mittelmeere häufig vorkommende Muschel. Ich habe die Schalen nebst anderem Material zum Studium thierischer Gerüstsubstanzen während eines Aufenthaltes auf der zoologischen Station zu Neapel im Frühjahr 1898 gesammelt, der mir durch ein Stipendium aus der Gräfin Bose-Stiftung und durch die Gewährung eines Arbeitsplatzes an der Station von Seiten der preussischen Regierung ermöglicht wurde.

Sämmtliche Stoffe sind übereinstimmend in folgender Weise behandelt worden: 5 gr. Substanz wurden mit 50 ccm. einer Mischung von 2 Theilen Wasser und 1 Theil Schwefelsäure 8 Stunden am Rückflusskühler gekocht, die Flüssigkeit auf 300 ccm. aufgefüllt und abgemessene Theile davon zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs, des Ammoniakstickstoffs und des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs entnommen. Die zur Bestimmung des letzteren verwendete Flüssigkeitsmenge wurde mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit dem gleichen Volumen einer 20⁰/oigen Lösung von Phosphorwolframsäure versetzt. Der Ammoniakstickstoff wurde durch Destillation mit überschüssiger Magnesia ermittelt, zu den übrigen Stickstoffbestimmungen habe ich mich der Kjeldahl'schen Methode bedient.

Der Stickstoff des Phosphorwolframsäureniederschlages wurde nach Abzug des Ammoniakstickstoffs in Procenten des Gesamtstickstoffs berechnet.

Material	Basenstickstoff in Procenten des Gesamt-N	Durch Phosphorwolframsäure fällbarer N in Procenten des Gesamt-N
Gelbe Rohseide	6,68	8,46
Weisse Rohseide	—	8,85
Fibroin aus gelber Seide	0,0	—
" " weisser	0,0	—
Seidenleim aus gelber Seide	10,00	—
Conchiolin aus Pinnaschalen	8,66	—
Käufliche Gelatine	18,85	—

Der Phosphorwolframsäureniederschlag des Seidenleims entstand in Folge eines Versehens in einer 9⁰/o Schwefelsäure enthaltenden Flüssigkeit, während die übrigen Niederschläge in Flüssigkeiten entstanden, welche 5—6⁰/o Schwefelsäure enthielten.

Die Zahlen in dieser Tabelle dürfen selbstverständlich nur als ungefähre angesehen werden und sie haben für die Menge der Basen eines der aufgeführten Körper nur einen

vergleichsweisen Werth.¹⁾ Die Angabe über die Gelatine habe ich nur mit aufgenommen, um einen Vergleich meiner Zahlen mit den etwa von anderen Untersuchern an anderen Substanzen gewonnenen zu ermöglichen.

Als eiweissartige Hauptbestandtheile der Seide kennt man das Fibroin und den Seidenleim. Diese beiden Stoffe liefern nach der obigen Tabelle höchst verschiedene Mengen basischer Produkte bei der Zersetzung mit Säuren, und zwar weist der Seidenleim einen höheren, das Fibroin einen äusserst niedrigen Antheil daran auf, während die Seide selbst etwa in der Mitte steht. Für die beiden untersuchten Seidesorten ergibt sich ein völlig gleiches Verhalten sowohl für die Seiden selbst, als auch für das aus ihnen dargestellte Fibroin.

Das Fibroin müsste, wenn obige Zahlen einen absoluten Werth besässen, gar keine basischen Produkte geben. Aus concentrirteren Lösungen erhält man jedoch einen in Betracht kommenden Niederschlag mit Phosphorwolframsäure. So erhielt ich bei einem Versuche, bei dem ich ein abgemessenes Quantum der Reactionsflüssigkeit nur mit dem gleichen Volumen einer 20%igen Phosphorwolframsäure versetzte, ohne ausserdem noch die gleiche Menge Wasser hinzuzufügen, einen Niederschlag, welcher, nach Abzug des Ammoniakstickstoffs, 0,9% des Gesamtstickstoffs an Basenstickstoff enthielt. Bei noch grösserer Concentration erhält man eine weitere Vermehrung des Niederschlages. Da nach den Anschauungen Kossel's die Biuretreaction der Eiweisskörper auf den basischen Kern zu beziehen ist, so müsste dieser auch hiernach im Fibroin vorhanden sein, denn es gibt die Biuretreaction, wenn auch mit violetter Nüance. Jedoch muss es offenbar als ein Körper betrachtet werden, dessen Protaminkern nur eine sehr geringe Grösse besitzt, und ist in dieser Hinsicht dem Elastin anzureihen.

Das Conchiolin gehört mit 8,66% ebenfalls noch zu den eiweissartigen Stoffen, welche nur eine verhältnissmässig geringe Menge basischer Spaltungsprodukte liefern. Jedoch übertrifft

1) Vergl. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, S. 182.

die Menge dieser sehr erheblich die im Fibroin (oder Elastin) enthaltene.

Schliesslich ist noch darauf hinzuweisen, dass alle diese an basischen Spaltungsprodukten armen Körper solche sind, welche keine weitere Verwendung mehr im Stoffwechsel finden und mit der Bildung organischer Substanz nichts mehr zu thun haben.

Im Gegensatz zu diesen Stoffen sind, wie Kossel ausgeführt hat, die Bildungsstätten organischer Substanz reich an Gruppen, welche Hexonbasen liefern, und auch an solchen, aus denen Alloxurbasen sich bilden, während die Monoamidsäuren unter den Spaltungsprodukten zurücktreten oder ganz verschwinden.¹⁾

Die weitere Verfolgung der Aufgabe würde nun die Isolirung einzelner chemischer Individuen aus dem Phosphorwolframsäureniederschlage zum Ziel haben. Zu diesen Untersuchungen, welche vor den hier zuerst mitgetheilten begonnen worden sind, ist ein durch Behandlung der Seide mit Natronlauge gewonnenes Fibroin verwendet worden, welches nicht die oben geschilderte Beschaffenheit besass, sondern längere makroskopische Fasern bildete, die jedoch leichter zerreisslich wie die der ursprünglichen Seide waren und auch nur noch einen matten Glanz hatten. Die aus diesem Präparate isolirten Zersetzungsprodukte möchte ich daher vor der Ausführung weiterer Untersuchungen nur als Zersetzungsprodukte der Seide beschreiben.

63 gr. des Präparates wurden mit 300 cem. Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 und ebensoviel Wasser unter Zusatz von 10 gr. Zinnchlorür 72 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Die Flüssigkeit wurde verdünnt, durch Einleiten von H_2S vom Zinn befreit und siedend heiss mit einer heissen Lösung von etwa 400 gr. Phosphorwolframsäure versetzt. Zunächst fiel nichts aus, am andern Tage jedoch war ein sandiger schwerer Niederschlag in nicht sehr grosser Menge zu Boden gefallen. Der Niederschlag wurde mit Barytlösung

¹⁾ Deutsche medicin. Wochenschr., 1898, Nr. 37.

zersetzt und das Filtrat mittelst Einleitens von CO_2 vom überschüssigen Baryt befreit.

Die schwach alkalisch reagirende Flüssigkeit wurde zunächst auf Histidin nach der Methode von Kossel¹⁾ durch Zusatz von Quecksilberchlorid untersucht. Es entstand ein Quecksilberniederschlag, der auffälliger Weise durch Zusatz von Natronlauge auch nach Zugabe von überschüssigem Quecksilberchlorid sich nicht vermehrte, sondern wieder auflöste. In einer gleichzeitig auf dieselbe Weise gewonnenen Lösung von Zersetzungsprodukten der Gelatine entstand ebenfalls ein Niederschlag mit Quecksilberchlorid, welcher jedoch beim Zusatz von Natronlauge beträchtlich zunahm.

Der Quecksilberniederschlag, welcher von der Seide her stammte, wurde abfiltrirt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Quecksilbersulfid wurde eingedampft und zum Krystallisiren hingestellt. Nach einigen Wochen schieden sich grosse Krystalle aus. Diese zeigten im convergenten polarisirten Licht die gleichen optischen Verhältnisse, wie sie von Kossel²⁾ und Bauer³⁾ für das Histidinchlorhydrat beschrieben sind. Der Schmelz- und zugleich Zersetzungspunkt lag bei 243° , während er für das Histidinchlorhydrat nach Kossel bei 251° liegt. Das entsprechende, aus der Gelatine erhaltene Histidinchlorhydrat zeigte dieselben Krystallverhältnisse, wie das aus der Seide, und ebenfalls den Schmelzpunkt 243° . Indessen dürfen die Substanzen wohl trotz des abweichenden Schmelzpunktes bis auf weitere Untersuchungen auf Grund der krystallographischen Bestimmung als Histidinpräparate angesehen werden.

Das Filtrat von dem Quecksilberniederschlage wurde nach Entfernung des Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff nochmals mit Phosphorwolframsäure gefällt, mit Barythydrat zersetzt und das Filtrat nach Entfernung des überschüssigen Baryts eingedampft. Es lieferte ein in kleinen Prismen gut krystallisirendes Salz, welches aus Salzsäure umkrystallisirt und als salzsaure Verbindung analysirt wurde, jedoch keine genügenden

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII, S. 182.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII, S. 176.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII, S. 285.

Analysenwerthe ergab. Meine Bemühungen, auf verschiedenen Wegen entweder Arginin oder Lysin oder ein anderes reines Präparat aus dieser Krystallmasse zu isoliren, sind bisher ohne Resultat geblieben.

Die Ergebnisse meiner Arbeit sind folgende:

Das Fibroin, der Seidenleim und das Conchiolin liefern mit Säuren unter anderen solche Zersetzungsprodukte, die mit Phosphorwolframsäure fällbar sind, also einen basischen Charakter haben müssen. Es muss also in ihnen die Gegenwart einer basische Körper liefernden Gruppe angenommen werden (Protaminkern Kossel's).

Dieser Kern findet sich somit auch in eiweissartigen Stoffen, die Repräsentanten der Kreise der Arthropoden und Mollusken entnommen sind.

Die Menge der Basen ist im Fibroin äusserst gering, eine im Verhältniss zu diesem Stoffe grössere Menge ergeben der Seidenleim und das Conchiolin. Jedoch müssen auch diese Körper noch zu denen mit wenig basischen Zersetzungsprodukten gerechnet werden.

Aus den Spaltungsprodukten des einen Fibroinpräparates (vergl. S. 540) liess sich von den bisher bekannten Hexonbasen, wie sie Kossel benennt, dem Histidin, Arginin und Lysin, das Histidin isoliren und durch seine Krystallform als solches erkennen, während es allerdings einen von den Angaben Kossel's abweichenden Schmelzpunkt besass.