

Beiträge zur Kenntniss der Eiweisskörper.

Von

A. Kossel und F. Kutscher.

Die Elementaranalyse, deren Ergebnisse bei den einfacheren organischen Verbindungen die Grundlage für die Erforschung der Constitution liefert, kann bei den Eiweisskörpern nur wenig zur Aufklärung ihrer chemischen Structur beitragen. Sie gibt nur geringe Anhaltspunkte für die Unterscheidung der einzelnen Eiweissstoffe unter einander oder für die Aufstellung eines Systems dieser complicirten Verbindungen. Wir kennen die Molekulargrösse der Eiweissstoffe nicht, aber selbst wenn wir das denkbar geringste Molekulargewicht und die denkbar einfachste Elementarformel derselben unserer Betrachtung zu Grunde legen, so ist doch die Anzahl der Atome in dem Molekül eine so bedeutende, dass die Anzahl der möglichen Combinationen zwischen diesen Atomen über alle Maasse gross ist. Diese Formeln geben also der Constitutionforschung nur geringe Anhaltspunkte.

Für den Zweck dieser Forschung wird eine andere Art der Untersuchung an die Stelle der Elementaranalyse treten müssen, welche nicht mit den Atomen, sondern mit Atomgruppen rechnet. Die Zerlegung der Eiweisskörper durch siedende verdünnte Mineralsäuren liefert gut definirte Spaltungsprodukte und verläuft hinreichend glatt, um die Untersuchung der quantitativen Verhältnisse zwischen den hydrolytischen Zersetzungsprodukten zu ermöglichen. Die so gewonnene Aufklärung über die quantitativen Verhältnisse, die zwischen den grösseren Bruchstücken des Eiweissmoleküls obwalten, wird einen besseren Einblick in die Structur des

Eiweissmoleküls geben, als die Elementarformel geben kann, selbst wenn sie sicher festgestellt ist. Wenn die quantitativen Beziehungen zwischen den Spaltungsproducten der Eiweisskörper bekannt sind, so hat die Eiweisschemie weiterhin die räumliche Vertheilung dieser Atomgruppen nach denselben Principien zu untersuchen, nach welchen die Structurchemie die Lagerung der Atome festzustellen pflegt.

Unsere Untersuchungen beschäftigen sich mit einer bestimmten Gruppe von Spaltungsproducten der Eiweisskörper, nämlich mit den Hexonbasen. Wir haben zunächst Methoden ausgearbeitet, um diese Körper in sicherer Weise quantitativ aus dem Gemisch der Zersetzungsprodukte zu gewinnen, und weiterhin diese Methoden an einigen Eiweisskörpern durchgeführt. Wir betrachten die Bestimmung der Hexonbasen als die Grundlage aller dieser quantitativen Untersuchungen über die Eiweisskörper, weil sich bei dieser Betrachtungsweise ein chemisches System der Eiweisskörper aufbauen lässt, in welchem man von einfacheren Stoffen, den Protaminen, ausgehend stufenweise zu den complicirteren Gliedern der Eiweissgruppe gelangt.

A. Untersuchungsmethoden.

Die bei der Untersuchung in Betracht kommenden Operationen sind folgende:

I. Zersetzung der Eiweisskörper mit Hülfe von Schwefelsäure bei Siedetemperatur.

II. Entfernung der Schwefelsäure gleichzeitig mit den bei der Zersetzung gebildeten Huminstoffen durch Baryt. Bestimmung des Humin-Stickstoffs.

Bestimmung und Entfernung des Ammoniaks durch Magnesia.

III. Fällung von Arginin und Histidin als Silberverbindungen.

IV. Quantitative Bestimmung des Histidins.

V. Quantitative Bestimmung des Arginins.

VI. Quantitative Bestimmung des Lysins.

Wir haben die Mengen der zu untersuchenden Eiweiss-

körper so gross genommen, dass eine genauere Untersuchung der in krystallisirtem Zustand dargestellten Zersetzungsprodukte möglich war und dass die in Lösung bleibenden Antheile der Silber- und Phosphorwolframsäureniederschläge einen möglichst geringen Bruchtheil des Ganzen ausmachten. Nur auf diese Weise kann man sich bei solchen Untersuchungen vor groben Täuschungen bewahren. Beim Histidin ergaben sich in einigen Fällen Zweifel über die chemische Natur des von uns dargestellten Produkts (s. Analyse des Hists).

Wir bemerken ausdrücklich, dass diese Methoden noch nicht als abgeschlossene gelten können und dass wir mit der Vervollkommnung derselben beschäftigt sind.

I. Zersetzung der Eiweisskörper durch Schwefelsäure.

Die Menge der für die Untersuchung verwendeten Substanz richtete sich nach dem zu erwartenden Gehalt an Hexonbasen. Bei den einfachsten Protaminen, z. B. dem Clupein, genügen 2—5 g, bei den basenarmen Eiweisskörpern haben wir 40—50 g verwendet, bei den übrigen dazwischenliegende Menge.

Als Spaltungsmittel wählten wir Schwefelsäure. Nachdem durch die Untersuchungen von F. Kutscher¹⁾ die verschiedenartige Wirkung von Schwefelsäure und Salzsäure in Bezug auf die Bildung der Glutaminsäure aus Casein festgestellt worden war, durfte man nicht ohne Weiteres voraussetzen, dass die höchste Ausbeute an Hexonbasen durch Einwirkung der Schwefelsäure zu erzielen war. Wir stellten deshalb vergleichende Versuche mit anderen Säuren, insbesondere mit Jodwasserstoffsäure (bei Gegenwart von phosphoriger Säure), an, erhielten jedoch auf diese Weise durch die Halogenwasserstoffsäure keine höheren Werthe.

Als Beispiel möge die folgende Zusammenstellung dienen: Spaltung des Glutencaseins durch:

- A) siedende Jodwasserstoffsäure bei Gegenwart von phosphoriger Säure, 12 Stunden.
- B) siedende stärkere Schwefelsäure, 12 Stunden.
- C) siedende schwächere Schwefelsäure, 8 Stunden.

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. XXVIII, S. 123.

	A	B	C
Histidin	0.9	0.76	1.56
Arginin	4.45	4.2	4.5
Lysin	1.84	2.29	2.0

Die Resultate der Spaltung mit Halogenwasserstoff waren hier also annähernd die gleichen, wie die durch Schwefelsäure erzielten, ebenso bewirkte die Concentration der Schwefelsäure keinen Unterschied. Diese Resultate beweisen, dass die Spaltung in allen Fällen eine vollständige war.

Die Zersetzung der Eiweisskörper gestaltete sich hiernach folgendermassen:

I. 25—50 g der zu untersuchenden Eiweisssubstanz werden mit einer Mischung von dem dreifachen Gewicht concentrirter Schwefelsäure und dem sechsfachen Gewicht Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Flüssigkeit wird sodann auf 1 Liter aufgefüllt, genau 5 oder 10 ccm. abgemessen und nach Kjeldahl zur Bestimmung des Stickstoffs verwendet.¹⁾ Aus dem Stickstoffgehalt der Flüssigkeit wird die dem Versuch unterworfenene Eiweissmenge berechnet. In solchen Fällen, wo der Stickstoffgehalt des zersetzten Körpers nicht genau bekannt ist, wird derselbe in einem besonderen Versuch nach Kjeldahl festgestellt.

II. Entfernung der Schwefelsäure. « Huminstickstoff ».

Wie Mulder²⁾ zuerst angegeben hat, bilden sich bei der Einwirkung der Mineralsäuren auf Eiweisssubstanz huminartige Stoffe: das Gemisch dieser in ihren chemischen Beziehungen noch wenig bekannten Stoffe wird neuerdings als « Melanoidinsäure » bezeichnet³⁾.

Diese Stoffe werden durch Baryt grösstentheils niedergeschlagen: wenn man also die Schwefelsäure, welche zur Zerlegung der Eiweissstoffe gedient hat, mit Baryt abstumpft,

1) Alle im Laufe dieser Untersuchungen vorkommenden Kjeldahl-Bestimmungen wurden doppelt ausgeführt.

2) Journal für praktische Chemie Bd. 21 (1840), S. 343.

3) Schmiedeberg. Ueber die Elementarformeln einiger Eiweisskörper u. s. w. Archiv f. exp. Pathologie Bd. 39, S. 65.

so enthält das Baryumsulfat eine gewisse Menge durch siedendes Wasser nicht extrahirbarer Stoffe. Ebenso muss auch die Magnesia, welche zur Austreibung des Ammoniaks hinzugefügt wird, einen Theil dieser humusartigen Stoffe aufnehmen. Wir bezeichnen den Stickstoff der im Baryt- und Magnesianiederschlag zurückbleibenden Stoffe als «Huminstickstoff». Mit dieser Bezeichnung wollen wir nichts über das Verhältniss der in Baryt- und Magnesianiederschlägen zurückbleibenden Stoffe zu der von Schmiedeberg als Melanoidinsäure analysirten Substanz aussagen. Ebenso wenig haben wir Untersuchungen darüber angestellt, inwiefern die Ausfällung dieser huminartigen Stoffe durch Baryt und Magnesia eine vollständige ist; vielmehr betrachten wir die gewonnenen Zahlen lediglich als Minimalwerthe.

Die weitere Verarbeitung der in I gewonnenen Flüssigkeit war demnach folgende.

II. Die schwefelsaure Lösung wird mit einer heissen concentrirten Barytlösung versetzt, bis die Reaction nur noch schwach sauer und fast die ganze Menge der Schwefelsäure ausgefällt war. Der schwefelsaure Baryt wird auf der Nutsche abgesaugt, dreimal mit Wasser ausgekocht, jedesmal abgutscht und mit heissem Wasser nachgewaschen. Filtrate und Waschwasser werden vereinigt, eingedampft und die Flüssigkeit genau auf 1 Liter aufgefüllt. Von dieser Lösung werden je 5 oder 10 ccm. für die Kjeldahl-Bestimmung entnommen. Diese ergibt die Menge des im Barytniederschlag zurückgebliebenen Stickstoffs, also des «Huminstickstoffs I».

Von derselben Flüssigkeit werden zweimal je 100 ccm. zur Bestimmung des Ammoniaks mit Magnesia destillirt. Der Rest der Flüssigkeit wird in einer grossen Schaaale bis zur völligen Vertreibung des Ammoniaks mit Magnesia auf dem Wasserbade erhitzt. Die drei vereinigten Flüssigkeiten werden mit Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, der entstandene Niederschlag abgesaugt und durch dreimaliges Auskochen mit Wasser, Absaugen und Auswaschen gereinigt. Die vereinigten Filtrate werden mit Schwefelsäure zur Entfernung des Baryts angesäuert, das

Baryumsulfat abfiltrirt, der Niederschlag sorgfältig ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser eingedampft und die eingeeengte Flüssigkeit auf 1 Liter aufgefüllt. Je 5 oder 10 ccm. dieser Flüssigkeit dienen zu einer Kjeldahl-Bestimmung. Aus dieser Bestimmung erfährt man unter Berücksichtigung des Resultates der Ammoniakbestimmung die Menge des im alkalischen Barytmagnesianiederschlag zurückgebliebenen Stickstoffs, also des Huminstickstoffs II.

III. Fällung von Arginin und Histidin als Silberverbindungen.

Diese Fällung wurde nach dem früher von A. Kossel angegebenen Verfahren¹⁾ in folgender Weise ausgeführt.

III. Die schwefelsaure in II erhaltene Flüssigkeit wird in einen 5 Liter fassenden Kolben hineingebracht, auf 3 Liter aufgefüllt und auf dem Wasserbade erwärmt. Man fügt zu der heissen Flüssigkeit fein gepulvertes Silbersulfat, erwärmt weiter, indem man von Zeit zu Zeit umschwenkt und prüft, ob die Menge des zugesetzten Silbersalzes ausreicht. Diese Prüfung wird in folgender Weise bewirkt. In einem Uhrgläschen, welches auf dunkler Unterlage steht, befindet sich Barytwasser. Mit Hülfe eines Glasstabes lässt man vom Rande her einen Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit hinzufließen. Ist der entstehende Niederschlag weiss, so ist die Menge des Silbersulfats nicht ausreichend und man fügt entweder mehr Silbersulfat oder, falls dieses in ungelöstem Zustand am Boden des Gefässes bemerkbar ist, mehr Wasser hinzu und wiederholt die Prüfung nach einiger Zeit. Die Menge des gelösten Silbersulfats ist eine ausreichende, wenn das Barytwasser in der silberhaltigen Lösung eine gelbe Fällung erzeugt. Sobald dies erreicht ist, lässt man die Flüssigkeit auf etwa 40° erkalten, sättigt sie mit gepulvertem Aetzbaryt und saugt den entstandenen Niederschlag sogleich auf der Nutsche ab. Man nimmt sodann den Niederschlag vom Filter, reibt ihn mit Barytwasser an, saugt die Flüssigkeit nochmals ab und wäscht mit barythaltigem Wasser sorg-

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. XXII, S. 182, Bd. XXV, S. 177.

fällig aus. Der Niederschlag wird sodann nach IV und V, die Flüssigkeit nach VI behandelt.

IV. Bestimmung des Histidins.

A. Kossel hat bei seinen früheren Versuchen, welche zur Auffindung des Histidins führten,¹⁾ die Trennung dieses Körpers vom Arginin durch Quecksilberchlorid bewirkt. Diese Trennung ist eine unvollständige und wir haben bei den neueren Untersuchungen ein anderes Verfahren angewandt, welches auf folgendem Princip beruht. Fügt man zu einer sauren Lösung, die Arginin und Histidin und zugleich einen Ueberschuss von Silbernitrat enthält, vorsichtig Barytwasser hinzu, so fällt zuerst das Histidinsilber aus. Nachdem die Ausscheidung des Histidinsilbers beendet ist, wird durch weiteren vorsichtigen Zusatz von Baryt zunächst kein Niederschlag bewirkt, erst bei etwas stärkerem Barytüberschuss fällt das Argininsilber. Als Erkennungsmittel für die völlige Ausfällung des Histidins benutzten wir ammoniakalische Silbernitratlösung, welche nach Hedén²⁾ einen unlöslichen Niederschlag von Histidinsilber ($C_6H_7Ag_2N_3O_2$) gibt.

Das durch Baryt gefällte Histidinsilber enthält, wenn es aus complexen Eiweissstoffen dargestellt ist, noch Verunreinigungen durch Silbersalze organischer Säuren, welche sich durch das unten angegebene Verfahren leicht entfernen lassen. Das zum Schluss gewonnene Histidinchlorid krystallisirte vollständig. Es mögen einige Versuche folgen, welche die Brauchbarkeit vorstehender Methode erläutern.

1. 0,5 g Arginin und 0,1 g Histidin werden in 60 ccm. Wasser gelöst, durch Salpetersäure neutralisirt, mit der genügenden Menge von Silbernitrat versetzt (bis ein Tropfen des Gemenges sich in gesättigter Barytlösung sofort braun färbte) und so lange mit verdünnter Barytlösung gefällt, bis eine Probe mit ammoniakalischer Silberlösung keine Fällung mehr gab. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Salzsäure zersetzt und die salzsaure Lösung zur Krystallisation eingedampft.

1) Diese Zeitschrift Bd. XXV, S. 176.

2) Diese Zeitschrift Bd. XXII, S. 194.

II. In Versuch 2 wurden 0,1 g Arginin und 0,1 g Histidin in 20 ccm. Wasser gelöst angewandt.

III. In Versuch 3 endlich kamen 0,2 g Arginin und 0,1 g Histidin in 30 ccm. Wasser gelöst zur Verwendung. Im Uebrigen wurde in Versuch 2 und 3 wie in Versuch 1 verfahren.

Es wurden gewonnen in Versuch 1:

0,16 g krystallinisches Histidindichlorid = 0,108 g freies Histidin,
in Versuch 2:

0,153 g krystallinisches Histidindichlorid = 0,104 g freies Histidin,
in Versuch 3:

0,1465 g krystallinisches Histidindichlorid = 0,0996 g freies Histidin.

Das Verfahren zur Bestimmung des Histidins war somit folgendes:

IV. Der in III erhaltene Silberniederschlag wird in schwefelsäurehaltigem Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, vom Schwefelsilber abfiltrirt und der Niederschlag des Schwefelsilbers, welcher zugleich schwefelsauren Baryt enthält, ausgekocht und mit heissem Wasser sorgfältig ausgewaschen. Die filtrirte saure Flüssigkeit wird zur Vertreibung des Schwefelwasserstoffs eingedampft und auf 1 Liter aufgefüllt. In je 20 ccm. dieser Flüssigkeit wird eine Kjeldahl-Bestimmung ausgeführt, welche die Menge des Stickstoffs der durch Silber und Baryt fällbaren Substanzen angibt.

Nach Ausführung der Kjeldahl-Bestimmungen wird die Flüssigkeit mit Barytwasser neutralisirt, sodann gelöstes Baryumnitrat hinzugefügt, so lange noch die Entstehung eines Niederschlages zu beobachten ist, filtrirt und der Niederschlag sorgfältig ausgewaschen. Die Flüssigkeit wird jetzt auf etwa 300 ccm. eingedampft und mit Silbernitratlösung versetzt, bis eine Tropfenprobe, in der oben beschriebenen Weise geprüft, mit Barytwasser eine Gelbfärbung ergibt. Darauf wird die silberhaltige Lösung mit Barytwasser nochmals genau neutralisirt. Zu der neutralen Flüssigkeit fügt man jetzt (am bequemsten geschieht dies aus einer Bürette) kleine Mengen Barytwasser hinzu, bis das Histidinsilber völlig ausgefällt ist. Man prüft die Lösung nach dem Zusatz einer kleinen Menge

Barytwasser auf Histidin, indem man das Absetzen des Niederschlages abwartet und von der klaren Flüssigkeit mit Hilfe einer Glasröhre eine kleine Probe zur Prüfung mit ammoniakalischer Silberlösung entnimmt. Entsteht beim Zusammenfließen beider Flüssigkeiten ein im Ueberschuss des Ammoniaks leicht löslicher Niederschlag, so ist noch Histidin vorhanden und man fügt weiterhin eine kleine Menge Barytwasser hinzu. Sobald die Ausfällung des Histidins beendet ist, filtrirt man den Niederschlag ab, nimmt ihn vom Filter, reibt ihn mit Wasser an und wäscht ihn sorgfältig aus. Filtrat und Waschwasser des Histidinsilbers werden nach V auf Arginin verarbeitet.

Der argininfreie Silberniederschlag wurde sodann mit schwefelsäurehaltigem Wasser angerieben, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, von Schwefelsilber abfiltrirt, der Niederschlag mit siedendem Wasser völlig erschöpft. In einzelnen Fällen wurden die vereinigten Filtrate und Waschwasser auf 1 Liter aufgefüllt und in 40 ccm. dieser Flüssigkeit der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt, um die Menge der etwa im Schwefelsilber zurückbleibenden stickstoffhaltigen Substanz zu ermitteln.

In allen Fällen wurde die Schwefelsäure mit Barytwasser und der überschüssige Baryt mit Kohlensäure entfernt, bis zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 10—20% iger Silbernitratlösung, der 1 Tropfen verdünnter Salpetersäure zugefügt ist, aufgenommen. Hierbei bleibt eine geringe Menge organischer Substanz, welche das Histidin bis jetzt begleitet hat, unlöslich zurück. Man saugt den Rückstand ab, wäscht mit Wasser aus, fällt aus dem Filtrat das Histidinsilber durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter, ammoniakalischer Silbernitratlösung aus, filtrirt den Niederschlag ab, zersetzt denselben mit Salzsäure und bringt das beim Eindampfen in krystallisirtem Zustand zurückbleibende Histidindichlorid $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HCl$ nach dem Trocknen im Vacuum bei 40° zur Wägung.

V. Bestimmung des Arginins.

Das Arginin wird aus dem Filtrat des Histidinsilbers in Form der Silberverbindung, welche nach den im hiesigen

Institut ausgeführten Analysen von Gulewitsch¹⁾ eine Mischung der Verbindungen $C_6H_{12}Ag_2N_4O_2$, H_2O und $C_6H_{11}Ag_3N_4O_2$, H_2O ist ausgefällt. Das aus der Silberverbindung in Freiheit gesetzte Arginin ist in verschiedenen Fällen nach folgenden 4 Methoden bestimmt worden 1. durch eine Kjeldahl-Bestimmung im Sulfat, 2. durch polarimetrische Untersuchung des Nitrats bei Gegenwart überschüssiger Salpetersäure, 3. durch Wägung des neutralen Nitrats, 4. durch Wägung des sauren Nitrats. Die niedrigsten Werthe wurden meistens bei der polarimetrischen Bestimmung erhalten. Man könnte zur Erklärung dieser Thatsache annehmen, dass aus gewissen Eiweissarten das von F. Kutscher entdeckte²⁾ inactive Arginin in geringer Menge entsteht oder dass ein kleiner Theil des activen Arginins durch die Wirkung der Schwefelsäure inactivirt wird, doch liegen hierüber keine sicheren Beobachtungen vor. Die höchsten Werthe sind bei der Wägung des sauren Nitrats erhalten worden, als die sichersten Werthe haben wir die durch Kjeldahl-Bestimmung des Sulfats und durch Wägung des neutralen Nitrats erhaltenen angesehen. Diese ergaben gute Uebereinstimmung und entsprachen Mittelwerthen. Die Bestimmung des Arginins war folgende:

V. Das Filtrat vom Histidinsilber wurde mit gepulvertem Aetzbaryt gesättigt, der entstandene Niederschlag mit Hülfe der Saugpumpe abgesogen, vom Filter genommen, nochmals mit Barytwasser angerieben und bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaction ausgewaschen. Der Niederschlag wurde sodann mit schwefelsäurehaltigem Wasser angerieben, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, filtrirt, das Schwefelsilber mehrfach ausgekocht und heiss ausgewaschen. Das eingedampfte mit dem Waschwasser vereinigte Filtrat wird sodann auf 1 Liter aufgefüllt, und in je 10 oder 20 ccm. dieser Flüssigkeit eine Kjeldahl-Bestimmung ausgeführt. Aus dieser Bestimmung ist das Arginin zu berechnen. Der Rest wird durch Baryt

1) Wl. Gulewitsch, Ueber das Arginin. Diese Zeitschrift Bd. XXVII. S. 202.

2) F. Kutscher, Ueber das Antipepton III. Diese Zeitschrift Bd. XXVIII. S. 90.

von der Schwefelsäure, durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit. Zur Bestimmung des Arginins als neutrales Nitrat neutralisirt man die Flüssigkeit mit Salpetersäure, dampft ein, trocknet bei gewöhnlicher Temperatur im Vacuum und wägt den Rückstand, den man als $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 + \frac{1}{2} H_2O$ in Rechnung zieht. Zur polarimetrischen Bestimmung füllt man die Flüssigkeit unter Zusatz von Salpetersäure auf das den Polarisations-Röhren entsprechende Volumen auf und stellt den Drehungswinkel fest, aus welchem sich unter Zugrundelegung der von Gulewitsch¹⁾ bei der Untersuchung des sauren Argininnitrats für Arginin gefundenen Zahl $(\alpha)_D = + 25,48$ das Arginin berechnen lässt.²⁾ Durch Eindampfen dieser Lösung kann man das saure Argininnitrat erhalten, aus dem nach der Formel $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot 2HNO_3$ das Arginin zu berechnen ist.

Bei richtiger Ausführung dieser Operationen bildet das erhaltene Argininnitrat eine trockene, weisse Krystallmasse und enthält entweder gar keine Asche oder so geringe Spuren von Magnesia, dass daraus kein beachtenswerther Fehler hervorgeht.

Die Löslichkeit des Argininsilbers ist von Gulewitsch³⁾ festgestellt worden. Man kann nach seiner Untersuchung für jedes Liter barythaltiger Flüssigkeit, aus welcher das Argininsilber ausgefällt worden ist, 0,036 g Arginin der gefundenen Zahl hinzuzählen.

VI. Bestimmung des Lysins.

Das Lysin wird aus dem Filtrat von Arginin und Histidin durch Phosphorwolframsäure gefällt. Da dieser Niederschlag stets Monoamidosäuren, in einzelnen Fällen auch basische Zersetzungsprodukte (Diamidoessigsäure?) enthält, so kann sein Stickstoffgehalt nicht direkt auf Lysin bezogen werden. Das

1) l. c. S. 190.

2) In einem Falle (bei der Untersuchung des Leims) wurde die polarimetrische Untersuchung bei Gegenwart eines Ueberschusses von Schwefelsäure ausgeführt und hier die von Gulewitsch festgestellte Zahl $(\alpha)_D = + 22,35$ der Berechnung zu Grunde gelegt.

3) l. c. S. 209.

letztere wurde daher nach dem von A. Kossel angegebenen Verfahren¹⁾ als Pierat ausgefällt und nach dem Umkrystallisiren aus Wasser als solches gewogen.

Durch besondere Versuche überzeugten wir uns davon, dass die Fällung des Lysins durch Phosphorwolframsäure auch bei Gegenwart von Monoamidosäuren eine hinreichend vollständige ist. Das Verfahren zur Bestimmung des Lysins ist folgendes :

VI. Das Filtrat von dem in III erhaltenen Silberniederschlag wird mit Schwefelsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff von geringen Mengen Silber befreit, filtrirt, der das Schwefelsilber enthaltende Niederschlag mehrfach ausgekocht und heiss ausgewaschen.

In einzelnen Fällen wurde in dieser Flüssigkeit zunächst noch eine Kjeldahl-Bestimmung ausgeführt, um das völlige Auswaschen der Niederschläge zu kontrolliren. Wenn man die Resultate der ersten in IV ausgeführten und dieser Kjeldahl-Bestimmung vergleicht mit dem Stickstoffgehalt der vom Baryt-Magnesia-Niederschlag abfiltrirten Flüssigkeit, so kann man feststellen, ob in den beiden Silbersulfid und Baryumsulfat enthaltenden Niederschlägen (IV und VI) stickstoffhaltige Substanz zurückgeblieben ist.

In allen Fällen wurde die Flüssigkeit auf etwa 500 ccm. eingedampft, mit Schwefelsäure versetzt, bis der Procentgehalt 5% H_2SO_4 betrug, und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Fällung wurde als beendet angesehen, wenn die vom Phosphorwolframsäureniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit nach weiterem Zusatz von Phosphorwolframsäure noch 10 Sekunden klar blieb.

Der Phosphorwolframsäureniederschlag wurde mit Hülfe der Wasserstrahlpumpe abfiltrirt, sodann vom Filter genommen, mit 5% iger Schwefelsäure angerieben und sorgfältig ausgewaschen. Im Filtrat wurde eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ausgeführt, welche den grössten Theil des Stickstoffs

¹⁾ A. Kossel, Ueber die Darstellung und den Nachweis des Lysins. Diese Zeitschr. Bd. XXVI, Seite 586.

der Monoamidosäuren angibt¹⁾ neben dem Stickstoff etwa noch unbekannter, durch die vorhergehenden Fällungsmittel nicht gefällter Stoffe.

Der Phosphorwolframsäureniederschlag wird sodann durch Aetzbaryt zerlegt, das unlösliche Baryumsalz abgesaugt, mehrfach ausgekocht und mit heissem Wasser ausgewaschen. Das mit den Waschwässern vereinigte Filtrat wird durch Kohlensäure vom Ueberschuss des Baryts befreit, bis fast zur Trockne eingedampft, mit Wasser aufgenommen,²⁾ vom kohlensauren Baryt abfiltrirt und nochmals eingedampft. Der Rückstand wird jetzt mit einer geringen Menge alkoholischer Pikrinsäure unter Zusatz von Alkohol angerührt. Zu der alkoholischen Lösung setzt man in kleinen Portionen so lange alkoholische Pikrinsäure hinzu, als noch die Entstehung eines weiteren Niederschlages bemerkbar ist. Ein Ueberschuss an Pikrinsäure ist durchaus zu vermeiden, da durch diesen das Lysinpikrat wieder gelöst wird. Das ausgeschiedene Pikrat wird nach mehrstündigem Stehen abfiltrirt und mit einer möglichst geringen Menge absoluten Alkohols ausgewaschen, die alkoholische Mutterlauge wird für die weitere Verarbeitung eingedampft. Man löst jetzt das Lysinpikrat in siedendem Wasser, filtrirt nöthigenfalls heiss und dampft die Lösung auf ein geringes Volumen ein. Beim Erkalten scheidet sich das Lysinpikrat in nadelförmigen Krystallen aus, welche auf gewogenem Filter gesammelt, mit wenig Alkohol gewaschen und gewogen werden. Durch Eindampfen der Mutterlauge erhält man eine weitere Menge Lysinpikrat, die in gleicher Weise zur Wägung gebracht wird.

Da Lawrow³⁾ festgestellt hat, dass 100 Theile Wasser bei 21—22° 0,54 g Lysinpikrat lösen, so kann man aus dem

1) Ein geringer Theil der Monoamidosäuren befindet sich im Phosphorwolframsäureniederschlag.

2) Bei einzelnen Versuchen wurde an dieser Stelle eine Kjeldahl-Bestimmung eingeschaltet, um das Verhältniss des Lysinstickstoffs zu dem Stickstoff der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe zu erfahren.

3) Lawrow. Ueber die Spaltungsprodukte des Histons von Leukocyten. Diese Zeitschrift. Bd. XXVIII. S. 398.

Volumen der Mutterlauge des Lysinpikrats eine Correction für die gefundene Lysinmenge herleiten, die aber sicher etwas zu niedrige Zahlen ergeben wird. Zu besseren Resultaten gelangt man in folgender Weise¹⁾: Die eingedampfte alkoholische Mutterlauge des Lysinpikrats wird mit der wässerigen Mutterlauge vereinigt, mit Schwefelsäure angesäuert, durch Aether von Pikrinsäure befreit. Die ätherfreie Lösung wird sodann bei einem Schwefelsäuregehalt von 5% von Neuem mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Das Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlages enthält Monoamidosäuren, die nach Entfernung der Phosphorwolframsäure auskrystallisiren: unter diesen ist Tyrosin durch Millon's Reagens nachweisbar. Der Phosphorwolframsäureniederschlag wird ebenso wie vorher zerlegt, das darin enthaltene Lysin wie oben in Pikrat umgewandelt und die durch Wägung ermittelte Menge zu dem vorher gefundenen Pikrat hinzuaddirt. Aus dem Pikrat berechnet man das Lysin nach der Formel $C_6H_{11}N_2O_2$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$. Die gefundenen Zahlen werden noch immer zu niedrige sein, da das phosphorwolframsaure Lysin nicht ganz unlöslich ist. Doch ist dieser Fehler nicht bedeutend, weil die Menge des Lysins in allen Fällen eine erhebliche war und die Flüssigkeitsmenge 500 ccm. betrug. Ebenso gross war die Menge des Waschwassers.

Spaltung mit Jodwasserstoffsäure.

Wie schon oben erwähnt, haben wir die Spaltung der Eiweisskörper in einzelnen Fällen mit Jodwasserstoffsäure ausgeführt, um festzustellen, ob die mit Schwefelsäure erzielten Werthe der Hexonbasen die Maximalwerthe sind. Diese Spaltung ist analog der zuerst von Bopp²⁾ angewendeten Spaltung durch concentrirte Chlorwasserstoffsäure. Um eine kräftige Reduction zu erzielen, liessen wir die Reaction bei Gegenwart von phosphoriger Säure vor sich gehen. Dies Verfahren ist in mancher Hinsicht einfacher und bequemer als die Spaltung

¹⁾ Dieses Verfahren kam bisher nur bei den Zersetzungsprodukten des Histons zur Ausführung.

²⁾ Liebig's Annalen Bd. 69.

durch Schwefelsäure; es verläuft insofern anders, als die Menge des Ammoniakstickstoffs grösser ist, als bei der Spaltung durch Schwefelsäure. Ein weiterer Unterschied betraf das Chlorid des unter diesen Verhältnissen abgespaltenen Histidins, welches sich als optisch inactiv erwies. Wir haben übrigens diese Methode nicht in grösserem Umfang angewandt und wollen uns deshalb eines abschliessenden Urtheils über ihre Verwendbarkeit enthalten.

Die Ausführung ist folgende:

114 g Jod werden mit 14 g amorphen Phosphor und 86 ccm. Wasser angesetzt. Anfangs gekühlt und später erhitzt, bis die Flüssigkeit farblos war. Der überschüssige Phosphor wird sodann durch Glaswolle abfiltrirt. In diese Lösung bringt man etwa 50 g des Eiweisskörpers und erhitzt anfangs auf dem Wasserbade, später 12 Stunden im Paraffinbade am Rückflusskühler. Sodann wird die Flüssigkeit auf ein Liter aufgefüllt und wie oben nach Kjeldahl untersucht. Zur Entfernung der Jodwasserstoffsäure, der phosphorigen und der Phosphorsäure dient Bleiacetat, zur Entfernung des überschüssigen Bleis Schwefelwasserstoff. Auf das Auswaschen der Niederschläge wird wie oben die grösste Sorgfalt verwandt und im Filtrat durch eine Kjeldahl-Bestimmung die Menge des in den Niederschlägen verbleibenden «Huminstickstoffs» festgestellt.

Bevor man Magnesia zur Entfernung des Ammoniaks hinzufügt, entfernt man die Essigsäure durch mehrmaliges Eindampfen der Flüssigkeit und Wiederaufnehmen mit Wasser vollständig. Die weitere Verarbeitung der Flüssigkeit ist der oben beschriebenen gleich, nur ist zu berücksichtigen, dass eine sehr geringe Menge Jodwasserstoff der Fällung durch Blei entgeht. Man erhält also beim Zusatz des Silbersulfats einen nicht bedeutenden jodhaltigen Niederschlag, den man schon vor Ausfällung von Histidin und Argininsilber aus saurer Lösung abfiltrirt.

B. Untersuchung einzelner Eiweissstoffe.

Die zur vollständigen quantitativen Untersuchung auf Hexonbasen verwendeten Eiweissstoffe sind folgende:

I. Protamingruppe.

1. Salmin.
2. Clupein.
3. Sturin.
4. Cyclopterin.

II. Gruppe der complicirten Eiweissstoffe.

1. Histon der Thymusdrüse.
2. Histon aus den Testikeln des Kabeljau.
3. Glutencasein.
4. Glutenfibrin.
5. Mucedin.
6. Gliadin.
7. Zein.

Unvollständige quantitative oder rein qualitative Untersuchungen wurden am Leim, am Spongin, Elastin, Casein der Kuhmilch, Eieralbumin und Fibrinpepton ausgeführt.

1. Salmin.

Wie A. Kossel früher nachgewiesen hat,¹⁾ entsteht bei der Spaltung des Salmis durch Schwefelsäure keine andere Hexonbase als Arginin. Neben dem Arginin ist ein stickstoffärmerer Rest vorhanden, der vermuthlich eine Monamidosäure enthält. Ammoniak entsteht bei dieser Spaltung nicht.²⁾ Hiernach ist die Bestimmung des bei dieser Spaltung entstehenden Arginins sehr einfach auszuführen.

2,5 g lufttrockenes Salmisulfat, welches nach dem früher von A. Kossel angegebenen Verfahren³⁾ dargestellt worden war, wurden mit einer Mischung von 16 ccm. Wasser und 8 ccm. Schwefelsäure 8 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Analyse der Mischung ergab Folgendes:

a) Stickstoffgehalt der gesammten Flüssigkeit: 0,539 g. Daraus berechnet⁴⁾ Menge des trockenen Salmis: 1,74 g.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 588.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 181.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 166.

4) Dieser Berechnung ist die von A. Kossel aufgestellte Formel des Salmis $C_{39}H_{59}N_{17}O_7$ (diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 170) zu Grunde gelegt worden. Nach der Formel $C_{46}H_{78}N_9O_2$ (Miescher-Schmiedeberg) würde sich ergeben 1,61 g Salmin.

β) Stickstoffgehalt der durch Silbersulfat und Baryt fällbaren Bestandtheile, nach Zersetzung mit Schwefelwasserstoff im Filtrat vom Schwefelsilber bestimmt (s. oben, Untersuchungsmethoden III—V): 0,473 g. In diesem Falle war die Gesamtmenge des Stickstoffs auf Arginin zu beziehen, somit ergibt sich an Arginin: 1,465 g.

γ) Bestimmung der Versuchsfehler. Die Untersuchung der Flüssigkeit vor und nach Entstehung des ersten Barytniederschlags (s. oben Untersuchungsmethoden II) hat erwiesen, dass trotz der Auslaugung in dem Niederschlag 0,007 g Stickstoff zurückgeblieben ist.

Ebenso ergibt die Analyse der Flüssigkeit nach Entfernung des Silberbarytniederschlags, dass in diesem Niederschlag 0,006 g Stickstoff zurückgeblieben ist. Der Gesamtverlust beträgt somit 0,013 g Stickstoff oder 2,4% des gesammten Stickstoffs. Dieser Verlust kann nicht auf Arginin allein bezogen werden, betrifft vielmehr alle stickstoffhaltigen Bestandtheile der Lösung und ist, wie eine einfache Ueberlegung zeigt, so gering, dass er vernachlässigt werden kann.

Das Resultat der Argininbestimmung ist hiernach folgendes:

1,74 g Salmin ergaben 1,465 g, d. i. 84,3% Arginin. In 100 Theilen Stickstoff des Salmins sind 87,8 Theile in einer solchen Form enthalten, dass sie bei der hydrolytischen Spaltung als Arginin erscheinen. Am einfachsten würden sich die relativen Verhältnisse der Zersetzungsprodukte gestalten, wenn es möglich wäre, eine der älteren Formeln des Salmins mit 9 (oder 9n) Atomen Stickstoff, wie sie von Miescher aufgestellt worden sind, beizubehalten. Dann würde man zu der Annahme gelangen, dass auf je 2 Moleküle Arginin ein Atom Stickstoff in anderweitiger Bindung vorhanden sei. Doch ist diese Formel bisher nicht genügend begründet.

2. Clupein.

Das Clupein ist dem Salmin ausserordentlich ähnlich und A. Kossel¹⁾ sprach in einer früheren Abhandlung die Ansicht aus, dass beide identisch seien. Trotzdem wurden Salmin und Clupein von uns bezüglich der quantitativen Verhältnisse ihrer Spaltungsprodukte gesondert untersucht. Die früheren Arbeiten von A. Kossel²⁾ haben gezeigt, dass bei der Spaltung des

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 173.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 590.

Clupeins nur eine Hexonbase, nämlich das Arginin, erscheint und daneben Amidovaleriansäure. Ammoniak entsteht nicht.

Wir stellten drei Versuche an, von denen die beiden ersten den Zweck hatten, festzustellen, ob mit verschiedenen Fällungsmitteln das gleiche Resultat erzielt werde, während der dritte dazu diente, um festzustellen, ob die Einwirkung des Spaltungsmittels eine genügende sei, oder ob bei längerer Dauer der Einwirkung eine grössere Ausbeute an Arginin erzielt werde.

Im Versuch I wurde Phosphorwolframsäure, in II Silbersulfat und Baryt für die Fällung des Arginins benutzt. Bei der Fällung mit Phosphorwolframsäure ist zu beachten, dass die aus Clupein entstehende Amidovaleriansäure in concentrirter Flüssigkeit mit diesem Fällungsmittel einen krystallisirten Niederschlag gibt. Berücksichtigt man diese Thatsache nicht, so kann man sehr hohe Werthe für den Stickstoffgehalt des Phosphorwolframsäureniederschlages finden. A. Kossel erhielt bei seinen ersten im Jahre 1896 publicirten¹⁾ Versuchen 93,4 und 93,6% des gesammten Stickstoffs im Phosphorwolframsäureniederschlag, als die Fällung der Spaltungsprodukte von etwa 1 g Protaminsulfat aus 50 ccm. Lösung gewonnen war.²⁾

5 g lufttrockenes Clupeinsulfat wurden mit 45 ccm. 33% iger Schwefelsäure 8 Stunden am Rückflusskühler gekocht, auf 250 ccm. aufgefüllt und der Stickstoffgehalt der Lösung durch eine Kjeldahl-Bestimmung ermittelt.

Versuch I. 120 ccm. obiger Lösung, entsprechend 0,511 g Stickstoff und 1,61 g Clupein (nach der Formel $C_{30}H_{57}N_{17}O_6$ ³⁾ berechnet) wurden in einer 5% Schwefelsäure enthaltenden Lösung mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die Stickstoffbestimmung des ausgewaschenen Niederschlages und des Filtrats ergab

im Niederschlag: 0,4256 g Stickstoff,

im Filtrat: 0,0770 »

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 186.

2) Stickstoffbestimmung im Filtrat ohne Auswaschen des Niederschlages.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 168.

Kochen mit 33° iger Schwefelsäure eine vollständige gewesen ist.

3. Sturin.

Das Sturin wurde in der früher beschriebenen Weise¹⁾ als Sulfat dargestellt und durch 8 stündiges Kochen mit 33° iger Schwefelsäure gespalten. Die Gesamtmenge des Stickstoffs betrug 1,379 g entsprechend 4,676 g Sturin.²⁾ Davon verblieben im Barytniederschlag 0,0616 g Stickstoff, entsprechend 4,5° des gesamten Stickstoffs.

Der durch Baryt und Silbersulfat erhaltene Niederschlag enthielt 1,085 g N, d. i. 78,7° des gesamten Stickstoffs. Davon waren im Histidinniederschlag enthalten 0,163 g N, entsprechend 0,6020 g Histidin. Somit waren 11,8° des gesamten Stickstoffs in Form von Histidin vorhanden. Die Menge des Histidins betrug 12,9° des zersetzten Sturins. Im Argininiederschlag waren vorhanden 0,876 g N entsprechend 2,72 g Arginin. Somit war 63,5° des Gesamtstickstoffs im Arginin enthalten. Die Menge des bei der Spaltung gebildeten Arginins betrug 58,2° des zersetzten Sturins.

Die polarimetrische Untersuchung ergab 0,274 g Arginin, d. i. 58,6° des gespaltenen Sturins. Im Filtrat vom Silberbarytniederschlag wurde das Lysin ohne vorhergehende Phosphorwolframsäurefällung als Pikrat bestimmt. Die Bestimmung ergab 0,6042 g Lysin, somit würden 100 Theile Sturin 12,9 Theile Lysin liefern. Die gefundene Lysinmenge entspricht 0,1158 g Stickstoff, somit sind 8,4° des ganzen Stickstoffs in Form des Lysins vorhanden. In dem unbekanntem Rest befinden sich noch 0,1101 g Stickstoff, d. i. 8° des ganzen Stickstoffs. Die Vertheilung des Stickstoffs auf die Spaltungsprodukte des Sturins war hiernach folgende:

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 173.

2) Das Sturin wurde nach der Formel $C_{33}H_{61}N_{17}O_7$, welche der genaueste Ausdruck der Analysen ist (diese Zeitschrift Bd. XXV, S. 174), berechnet.

Tabelle I.

Vertheilung des Stickstoffs unter den Spaltungsprodukten des Sturins.

	Stickstoffmenge in g		Procente des Gesamtstick- stoffs	
Gesamtmenge	1,379	—	100	—
A. Basenstickstoff	1,155	—	83,7	—
Davon a) im Histidin	—	0,163	—	11,8
b) im Arginin	—	0,876	—	63,5
c) im Lysin	—	0,116	—	8,4
B. Stickstoff in unbekannter Form . .	0,224	—	16,3	—
Davon a) im Barytniederschlag	—	0,062	—	4,5
b) im Silberniederschlag (als Bei- mischung zu den Basen)	—	0,052	—	3,8
c) im Filtrat des Lysinpikrats . .	—	0,110	—	8,0

Die bei der Zersetzung des Sturins entstehenden Mengen der Hexonbasen ergeben sich aus folgender Tabelle:

Tabelle II.

	Gramm	Procente
Zersetztes Sturin	4,676	100
Histidin	0,602	12,9
Arginin	2,72	58,2
Lysin	0,604	12,9

Dividirt man die ermittelten Gewichtsmengen der drei Hexonbasen durch ihre Molekulargewichte, so erhält man folgende Zahlen: Histidin : 3,9: Lysin : 4,1: Arginin : 15,6. Hieraus ist zu schliessen, dass die Basen in dem Molekularverhältniss 1 Mol. Histidin : 1 Mol. Lysin : 4 Mol. Arginin aus dem Sturin hervorgehen.

Die weiteren Schlussfolgerungen aus diesen Ergebnissen mögen bis zur Vollendung weiterer im hiesigen Institut im Gange befindlicher Arbeit verschoben werden.

Vergleichen wir diese Resultate mit den von A. Kossel

nach den älteren unvollkommenen Methoden gefundenen Zahlen,¹⁾ so ergibt sich, dass der Argininstickstoff nur wenig von den früheren Ergebnissen abweicht, dass jedoch der Histidin- und der Lysinstickstoff früher durchgehends zu hoch gefunden worden sind. Wir sehen davon ab, weitere Betrachtungen über den Stickstoff in unbekannter Form anzustellen, es möge jedoch bemerkt werden, dass aus der Vertheilung dieses Stickstoffs in die beiden Niederschläge und in das Filtrat des Lysinpicrats durchaus nicht der Schluss gezogen werden darf, dass neben den Hexonbasen mehrere Spaltungsprodukte aus dem Sturin hervorgehen. Es ist wohl möglich, dass die Zurückhaltung der an sich geringen Mengen stickstoffhaltiger Substanz in den Niederschlägen auf Schwierigkeiten des Auswaschens beruht oder dass geringe Mengen schwer löslicher, in den Niederschlägen haftender Produkte durch Nebenreactionen gebildet worden sind.

4. Cyclopterin.

Das von Morkowin²⁾ im hiesigen Institut aus den Testikeln von *Cyclopterus lumpus* dargestellte Cyclopterin hat ein ganz besonderes Interesse für die Beurtheilung des Verhältnisses der Protamine zu den complexen Eiweissstoffen. Wie Morkowin fand, besitzt das Cyclopterin die charakteristischen Eigenschaften der Protamine, unterscheidet sich jedoch von den übrigen Protaminen dadurch, dass es die Millon'sche Reaction in ausgeprägter Weise gibt. Die folgenden Untersuchungen erweisen, dass diejenige Gruppe, welche zu der Millon'schen Reaction Veranlassung gibt, bei der Spaltung des Cyclopterins als Tyrosin auftritt, dass hier also derselbe aromatische Atomcomplex vorhanden ist, wie bei den Eiweisskörpern im engeren Sinne des Worts.

Die Darstellung des Cyclopterinsulfats aus den mit Alkohol und Aether erschöpften reifen Testikeln des «Seehasen»³⁾

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 185.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 313.

3) Für diese Darstellung diente der Rest des von Morkowin verarbeiteten Testikelpräparates.

wurde ebenso ausgeführt, wie bei den übrigen Protaminen. Von dem lufttrocknen Cyclopterinsulfat wurden 3,5 g mit einer Mischung von 21 cem. Wasser und 10,5 cem. concentrirter Schwefelsäure 12 Stunden gekocht.

Die Lösung enthielt 0,6552 g Stickstoff, entsprechend 2,2 g Cyclopterin. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt waren in der Lösung nur noch 0,594 g N nachweisbar, im Barytniederschlag somit 0,061 d. i. 9,4% des gesammten Stickstoffs verblieben. Von dieser Flüssigkeit wurde für die weitere Analyse soviel entnommen, wie 0,575 g N der ursprünglichen Lösung oder 1,93 g des zersetzten Cyclopterins entsprach. Diese Flüssigkeit wurde auf 20 cem. eingedampft und blieb 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Es schieden sich während dieser Zeit Krystallnadeln aus, deren Menge im trockenen Zustande 0,1612 g betrug, welche dem Aussehen nach Tyrosinnadeln glichen und die Millon'sche Reaction gaben. Dieselben wurden nach nochmaligem Umkrystallisiren nach Kjeldahl analysirt. Es sättigten 0,1179 g der Substanz 6,4 cem. $\frac{1}{10}$ N-Säure.

	Gefunden	Berechnet für Tyrosin
N	7,6	7,7

Auf die ganze Menge berechnet betrug das Tyrosin 0,1836 g, also 8,3% des zersetzten Cyclopterins: 2,2% des gesammten Stickstoffs waren im Tyrosin enthalten. Die vom Tyrosin abfiltrirte Flüssigkeit wurde verdünnt und mit Silbersulfat und Baryt gefällt. Die Menge des im Silberniederschlag enthaltenen Stickstoffs betrug (aufs Ganze berechnet) 0,4434 g. Der Niederschlag, in oben beschriebener Weise auf Histidin verarbeitet, zeigte sich frei von Histidin. Somit war die ganze Menge der im Silberniederschlag vorhandenen Substanz auf Arginin zu beziehen. Das Gewicht des gesammten bei diesem Versuch entstandenen Arginins betrug hiernach 0,1376 g oder 62,5% des zersetzten Cyclopterins. Die polarimetrische Untersuchung ergab 0,1355 g Arginin oder 61,6% des Cyclopterins. Nach ersterer Bestimmung waren 67,7% des gesammten Stickstoffs in Form von Arginin vorhanden. Das Filtrat vom Arginniederschlag erwies sich frei von Lysin.

Die Vertheilung des Stickstoffs war hiernach folgende:

	Stickstoffmenge in g		Procente des Gesamtnick- stoffs	
Gesamtmenge	0,655	—	100	—
Stickstoff des Arginins	0,443	—	67,7	—
" Tyrosins	0,014	—	2,2	—
Stickstoff unbekannter Form	0,198	—	30,1	—
Davon im Barytniederschlag	—	0,061	—	9,4
Im Filtrat des Lysins	—	0,137	—	27,7

Die beim Cyclopterin erhaltenen Resultate sind in mehrfacher Beziehung lückenhaft. Die zu Gebote stehende Menge des Materials war eine geringe und gestattete keine Wiederholung der Analyse, eine solche wäre aber im Hinblick auf die auffallende hohe Zahl des im Barytniederschlag verbliebenen Stickstoffs besonders wünschenswerth. Ferner sind auch die Elementaranalysen noch nicht ausreichend, um aus dem Stickstoffgehalt der Flüssigkeit die Menge des zur Zersetzung benutzten Cyclopterins mit Genauigkeit zu berechnen.

Diese Resultate sind trotzdem schon jetzt publicirt worden, weil die Beschaffung des Ausgangsmaterials von Zufälligkeiten abhängt und weil sich schon aus diesen vorläufigen Bestimmungen principiell wichtige Schlussfolgerungen ableiten. Diese sind folgende: 1. das Mengenverhältniss, in welchem das Arginin aus dem Cyclopterin hervorgeht, ist ein so hohes, wie es bisher nur bei Protaminen gefunden worden ist. Diese Thatsache bestätigt die schon aus den Eigenschaften des Cyclopterins gezogene Schlussfolgerung, dass das Cyclopterin zu den Protaminen zu rechnen ist; 2. das Cyclopterin gehört zu denjenigen Protaminen, welche nur Arginin, kein Histidin und Lysin liefern; 3. das Cyclopterin liefert bei der Spaltung mehr als 8% Tyrosin.

5. Histon aus Kalbsthymus.

Die Darstellung des für diesen Versuch benutzten Histons war folgende: das fein zerhackte Thymusgewebe wurde mit

Wasser bei gewöhnlicher Temperatur ausgezogen und das wässerige Extract mit Salzsäure versetzt, bis der Gehalt an Salzsäure 0,8 % betrug. Der Niederschlag wurde durch Centrifugiren und Filtriren entfernt und das klare Filtrat mit Ammoniak gefällt. Das ausgefällte Histon wurde mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, in Alkohol gebracht und sodann mit Alkohol, zuletzt mit Aether völlig extrahirt.

Zur Zersetzung wurden ca. 25 g der lufttrockenen Substanz benutzt, die mit 75 g concentrirter Schwefelsäure und 150 g Wasser 12 Stunden am Rückflusskühler gekocht wurden. Es schied sich dabei eine geringe Menge schwarz gefärbter Substanz ab. Dieselbe wurde durch Glaswolle abfiltrirt und nach Kjeldahl in ihr der Stickstoff bestimmt. Sie lieferte 0,033 g Stickstoff. Das Filtrat von der Huminsubstanz enthielt 3,328 g Stickstoff. Demnach hatte das gesammte zur Zersetzung gebrachte Histon $3,328 + 0,033 = 3,361$ g Stickstoff geliefert.

Die Zersetzungsflüssigkeit wurde durch Baryt vom grössten Theil der Schwefelsäure befreit und der als Ammoniak abgespaltene Stickstoff durch Destillation mit Magnesia bestimmt. Es waren im Ganzen 0,251 g Stickstoff im austreibbaren Ammoniak vorhanden.

Nach der Austreibung des Ammoniaks wurde die Magnesia durch Baryt, der Baryt wieder mit Schwefelsäure abgeschieden, die Flüssigkeit auf ein bestimmtes Volumen gebracht und der Gehalt an Stickstoff von Neuem bestimmt. Es zeigte sich, dass sie jetzt nur noch 2,642 g Stickstoff besass. Es waren also 0,468 g Stickstoff an Substanzen gebunden, die mit den Baryt- und Magnesianiederschlägen mitgefallen waren und aus denselben sich nicht auswaschen liessen.

Die von Ammoniak etc. befreite Zersetzungsflüssigkeit wurde auf die Hexonbasen verarbeitet. Es wurde Arginin und Histidin durch Silbersulfat und Baryt ausgefällt und ihre Trennung, wie vorstehend angegeben ist, vorgenommen.

Das gewonnene Histidindichlorid zeigte lange Zeit keine Neigung zur Krystallisation, erstarrte aber schliesslich fast plötzlich zu einer Krystallmasse, die in ihrem Aussehen merklich von den Krystallisationen des gewöhnlichen Histidindichlorids

abwich. In der erhaltenen Krystallisation wurde der Stickstoff bestimmt und da ihre Menge nicht für mehrere Analysen hinreichte, die gefundene Stickstoffzahl auf Histidin verrechnet. Es wurden erhalten 0,060 g N. die 0,222 g freiem Histidin entsprechen würden.

Das gewonnene Arginin wurde in das neutrale Arginin-nitrat übergeführt. Dasselbe krystallisirte bis auf den letzten Tropfen. Es unterschied sich in seinem Aussehen, in seiner Löslichkeit etc. nicht von dem gewöhnlichen Arginin-nitrat. Das Arginin-nitrat wurde im Vacuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wurden 3,718 g neutrales Arginin-nitrat, entsprechend 2,63 g freiem Arginin, mit 0,846 g Stickstoff erhalten.

Das auskrystallisirte Arginin-nitrat war sofort analysenrein. Denn 0,295 g der im Vacuum getrockneten Masse lieferten bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung bei 16° C. und 746 mm. Barometerstand 73,2 ccm. Stickstoff.

Für $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 + \frac{1}{2} H_2O$	
Berechnet	Gefunden
N = 28,45 %	N = 28,54 %

Das Filtrat vom Arginin- und Histidinsilber wurde auf Lysin verarbeitet. Es wurden erhalten 3,622 g Lysin-pikrat, entsprechend 1,41 g freiem Lysin mit 0,270 g Stickstoff.

Vertheilung des Stickstoffs unter den Spaltungs- produkten des Thymushistons.

	Stickstoff in g		Procente des Gesamtstick- stoffs
Gesamtmenge	3,361	—	100
A) Basenstickstoff	1,427	—	42,46
Davon a) im Ammoniak	—	0,251	—
b) im Histidin	—	0,060	—
c) im Arginin	—	0,846	—
d) im Lysin	—	0,270	—
B) Stickstoff in nicht bestimmter Form	1,934	—	57,54
Davon a) unlöslich abgeschieden	—	0,033	—
b) in Baryt- und Magnesianieder- schlägen	—	0,468	—

Die Mengenverhältnisse der aus dem Thymushiston hervorgehenden Hexonbasen ergeben sich, unter der Voraussetzung, dass das Thymushiston 18,35% Stickstoff enthält, aus folgender Tabelle:

	Gramm	Procente
Zersetztes Thymushiston	18,32	100
Ammoniak	0,304	1,66
Histidin	0,222	1,21
Arginin	2,63	14,36
Lysin	1,41	7,7

6. Histon aus dem Sperma des Kabeljau.

Bei der Verarbeitung der reifen Testikeln von *Gadus Morrhua* fand sich statt des Protamins in erheblicher Menge ein Eiweisskörper vor, welcher die charakteristischen Eigenschaften des Histons besass. In dieser Hinsicht weichen also die reifen Spermatozoen des Dorsches von denen der bisher untersuchten Fische ab.

Aus einigen Angaben früherer Untersucher kann man jedoch schliessen, dass das Vorkommen der Histone in den Spermatozoen ein verbreitetes ist. Die ältesten Angaben Miescher's¹⁾ über «eine peptonartige Substanz von basischen Eigenschaften» in den reifen Testikeln des Karpfens und den unreifen Hoden des Lachses sind allerdings so knapp, dass man aus ihnen keinen Schluss auf die Natur dieses Körpers ziehen kann: nachdem jedoch die Histone im Jahre 1884 von A. Kossel²⁾ als eine eigenartige Gruppe von Eiweisskörpern charakterisirt worden war, erschienen auch von Miescher im Jahre 1896 genauere Angaben³⁾ über den histonartigen Körper des unreifen Lachsspermas. Obwohl die Eigenschaften

1) Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel Bd. VI, S. 138—208, 1874.

2) Diese Zeitschrift Bd. VIII, S. 511.

3) Archiv f. experimentelle Pathologie u. Pharmakologie Bd. 37.

und der hohe Stickstoffgehalt mindestens auf eine nahe Verwandtschaft mit den Histonen schliessen lassen, findet sich in der Publication kein Hinweis auf die Aehnlichkeit mit diesen Stoffen.¹⁾ Erst Mathews²⁾ behauptete die Zugehörigkeit eines aus den Spermatozoen von *Arbacia* dargestellten Körpers zu den Histonen und endlich fand Bang³⁾ in den unreifen Spermatozoen der Makrele einen von ihm zur Histongruppe gestellten Körper, den er *Scombro* nennt.

Der von uns untersuchte Körper wurde in folgender Weise aus den Spermatozoen dargestellt. Aus den Testikeln des Kabeljau wurden in der früher beschriebenen⁴⁾ Weise die Spermatozoen gewonnen und mit Alkohol und Aether extrahirt.

Die so vorbereiteten getrockneten Massen wurden mit verdünnter Salzsäure (die im Liter 20 cem. concentrirte Salzsäure enthielt) gut durchgeschüttelt, filtrirt und diese Extraction mehrfach wiederholt. Das Filtrat wurde mit Kochsalz versetzt, bis die Lösung fast gesättigt war, der entstandene Niederschlag abfiltrirt und mit gesättigter Kochsalzlösung ausgewaschen. Der Niederschlag wurde jetzt mit Wasser angerieben, die Flüssigkeit in Dialysirschläuche gefüllt und 24 Stunden gegen fliessendes Wasser dialysirt. Hierbei ging das durch Kochsalz gefällte Histon wieder in Lösung. Aus der filtrirten klaren Lösung wurde das Histon jetzt mit Ammoniak ausgefällt, mit ammoniakhaltigem Wasser, sodann mit Alkohol und zuletzt mit Aether gewaschen. Der so dargestellte Körper, den wir als *Gadushiston* bezeichnen wollen, zeigte die bekannten Reactionen der Histone: zwei nach Kjeldahl ausgeführte Stickstoffbestimmungen ergaben einen Stickstoffgehalt von 18,65 und 18,64⁰ %.

Ueber die Ausführung der Analyse sei Folgendes be-

1) Anscheinend hat Miescher in dem Verhalten zu Quecksilberchlorid ein Hinderniss gesehen, den von ihm gewonnenen Körper mit dem Histon zu identificiren.

2) Diese Zeitschrift Bd. XXIII. S. 399.

3) Diese Zeitschrift Bd. XXVII. S. 463.

4) Diese Zeitschrift Bd. XXII. S. 178.

merkt: 45 g des lufttrockenen Gadushistons wurden mit einer Mischung von 137 g concentrirter Schwefelsäure und 273 cem. Wasser 18 Stunden am Rückflusskühler gekocht. In diesem Fall schied sich ein Theil der Zersetzungsprodukte in der Weise ab, dass derselbe auf einem Filter gesammelt und ausgewaschen werden konnte. In diesem Niederschlag wurde die Menge des Stickstoffs bestimmt.

Das Histidin wurde als Dichlorid bei 40° im Vacuum getrocknet. Ebenso wie beim Thymushiston entstanden auch hier Zweifel über die Identität des Präparats mit dem Histidin, da die Krystalle in ihrem Aussehen und in ihrer Löslichkeit von denen anderer Herkunft abwichen. Wir sind mit der weiteren Untersuchung dieser Frage beschäftigt.¹⁾

Die Bestimmung des Arginins wurde in diesem Falle nach drei verschiedenen Methoden ausgeführt: a) polarimetrisch, b) durch Stickstoffbestimmung in derjenigen Flüssigkeit, welche nur Arginin enthielt, c) durch Wägung als Arginindinitrat. Die polarimetrische Bestimmung gab hier — wie in den meisten Fällen — ein niedrigeres Resultat, während Wägung und Kjeldahl-Bestimmung gut übereinstimmten. Es ist dies aus folgender Zusammenstellung ersichtlich.

	Arginin in g	Arginin in Procenten des Histons
Polarimetrisch	5.59	14.28
Durch Kjeldahl-Bestimmung .	5.98	15.52
Durch Wägung des Dinitrats .	6.01	15.61

Die Untersuchung des durch Phosphorwolframsäure erzeugten Niederschlages ergab das bemerkenswerthe Resultat, dass in diesem Falle nur etwa die Hälfte des darin enthaltenen

¹⁾ Es ist bemerkenswerth, dass Lawrow bei der polarimetrischen Untersuchung des aus Histon dargestellten Histidinchlorids ungefähr die gleichen Werthe fand, wie A. Kossel für das Histidin anderer Herkunft (trotz Lawrow's gegentheiliger Bemerkungen: diese Zeitschr. Bd. XXVIII, S. 392).

Stickstoffs auf Lysin zu beziehen war. Der Stickstoffgehalt dieses Niederschlages betrug nämlich 1,215 g, während daraus nur 3,20 g Lysin mit 0,614 g Stickstoff enthalten war. Aus der vom Lysin völlig befreiten Flüssigkeit liess sich eine beträchtliche Menge stickstoffhaltiger organischer Substanz gewinnen, die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar, also bei der vorhergehenden Phosphorwolframsäurefällung nur mitgerissen war. Die eingedampfte Flüssigkeit gab Millon's Reaction und lieferte eine erhebliche Menge von Krystallen, welche den Knollen des Leucins und homologen Monoamidosäuren glichen.

Die Vertheilung des Stickstoffs unter den Spaltungsprodukten des Gadushistons ist aus folgender Tabelle zu ersehen.

Vertheilung des Stickstoffs unter den Spaltungsprodukten des Gadushistons.

	Stickstoff in g	Procente des Gesamtstickstoffs
Gesamtmenge	7,165	100
A) Basen-Stickstoff	3,022	42,0
Davon a) im Ammoniak	0,235	3,3
b) im Histidin	0,247	3,3
c) im Arginin (Kjeldahl-Bestimmung.)	1,926	26,9
d) im Lysin	0,614	8,5
B) Stickstoff in nicht bestimmter Form .	4,143	58,0
Davon a) unlöslich abgeschieden	0,060	0,8
b) im ersten Baryt-Niederschlag .	0,189	2,6
c) im Magnesia-Baryt-Niederschlag	0,177	2,4
d) im Silberniederschlag (Beimengung der Basen)	0,397	5,5
e) im Phosphorwolframsäure-Niederschlag neben Lysin . . .	0,601	8,4
f) im Filtrat	2,719	38,3

Die Mengenverhältnisse der aus dem Gadushiston hervorgehenden Hexonbasen ergeben sich aus der folgenden Zusammenstellung.

	Gramm	Procente
Zersetztes Gadushiston	38,52	100
Ammoniak	0,286	0,74
Histidin	0,91	2,34
Arginin (Kjeldahl-Bestimmung)	5,98	15,52
Lysin	3,20	8,30

7. Glutencasein.

Zu weiteren Versuchen dienten Eiweissstoffe pflanzlichen Ursprungs und zwar das Glutencasein, Glutenfibrin und Mucedin, welche nach Ritthausen's Vorschriften¹⁾ aus Weizenmehl dargestellt wurden und Zein aus Maismehl. Für die Wahl dieser Eiweissstoffe war zunächst der Wunsch massgebend, möglichst verschiedenartige Typen von Eiweissstoffen den Untersuchungen zu unterwerfen, um festzustellen, wie weit sich die Verschiedenheiten bezüglich des Vorkommens der Hexonbasen erstrecken.

Das Glutencasein wurde zugleich benutzt, um den Einfluss der Spaltungsmethode auf die Menge der Hexonbasen zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden von einem Präparat des Glutencaseins drei Portionen von 45–50 g entnommen. Die erste Portion wurde durch 12stündiges Kochen mit Jodwasserstoff gespalten und nach dem oben S. 178 beschriebenen Verfahren weiter verarbeitet, die Spaltung der zweiten Portion wurde durch stärkere, die der dritten durch schwächere Schwefelsäure ausgeführt.

A. Spaltung mit Jodwasserstoffsäure.

Die Vertheilung des Stickstoffs der Spaltungsprodukte ergibt sich aus folgender Tabelle.

¹⁾ Ritthausen. Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen. Bonn 1872.

	Stickstoff in g	Procente des Gesamtstickstoffs
Gesamtmenge	7.623	100
A) Basen-Stickstoff	2.418	31.6
Davon a) im Ammoniak	1.455	19.9
b) im Histidin	0.114	1.5
c) im Arginin	0.676	8.9
d) im Lysin	0.173	2.9
B) Stickstoff in nicht bestimmter Form .	5.205	68.4
Davon a) im Blei-Niederschlag	0.752	9.9
b) nach Entfernung des Bleis ab- geschieden (Tyrosin)	0.095	1.2
c) im Magnesia-Baryt-Niederschlag	0.170	2.2
d) Beimengung der Basen im Silber- Niederschlag	0.229	3.0
e) neben Lysin im Phosphorwolfram- säure-Niederschlag	0.272	3.6
f) im Filtrat	3.687	48.4

Die Mengenverhältnisse der Spaltungsprodukte sind folgende:

	Gramm	Procent
Zersetztes Glutencasein	47.03	100
Ammoniak	1.77	3.8
Histidin	0.42	0.9
Arginin	2.10	4.5
Lysin	0.90	1.9

B. Spaltung des Glutencaseins mit stürkerer Schwefelsäure.

Es wurden ca. 54 g lufttrockener Substanz mit 162 **ccm.** concentrirter Schwefelsäure und 324 **ccm.** Wasser 12 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die Isolirung der Spaltungsprodukte geschah nach vorstehend geschildertem Verfahren. Die Vertheilung des Stickstoffs der Spaltungsprodukte ergibt sich aus folgender Tabelle.

Vertheilung des Stickstoffs auf die Spaltungsprodukte
des Glutencaseins
(Spaltung mit stärkerer Schwefelsäure).

	Stickstoff in g		Procente des Gesamt- stickstoffs	
Gesamtmenge	7,999	—	100	—
A. Basenstickstoff	1,906	—	23,87	—
Davon a) im Ammoniak	—	0,919	—	11,49
b) im Histidin	—	0,102	—	1,28
c) im Arginin	—	0,669	—	8,4
d) im Lysin	—	0,216	—	2,7
B. Stickstoff in nicht bestimmter Form	6,093	—	76,13	—
Davon a) im Barytniederschlag	—	1,251	—	15,64
b) in den Magnesiabaryt- niederschlägen	—	0,058	—	0,72
c) Beimengung der Basen im Silberniederschlag	—	0,319	—	3,99

Die Mengenverhältnisse der Spaltungsprodukte ergeben sich aus folgender Zusammenstellung. Das Glutencasein besass 16,20% Stickstoff (bei 120° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet). Es berechnet sich daraus:

	Gramm	Procente
Zersetztes Glutencasein	49,35	100
Ammoniak	1,116	2,26
Histidin	0,377	0,76
Arginin	2,079	4,2
Lysin	1,128	2,29

C. Spaltung des Glutencaseins mit schwächerer Schwefelsäure.

Es wurden ca. 50 g lufttrockener Substanz mit 150 Gramm concentrirter Schwefelsäure und 300 g Wasser 8 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Die folgende Tabelle zeigt die Ver-

theilung des Stickstoffs auf die verschiedenen Spaltungsprodukte.

Vertheilung des Stickstoffs auf die Spaltungsprodukte
des Glutencaseins
(Spaltung mit schwächerer Schwefelsäure).

	Stickstoff in g		Procente des Gesamtstickstoffs	
Gesamtmenge	7,368	—	100	—
A. Basenstickstoff	2,0179	—	27,39	—
Davon a) im Ammoniak ¹⁾	—	0,9874	—	13,40
b) im Histidin	—	0,1923	—	2,6
c) im Arginin	—	0,6647	—	9,0
d) im Lysin	—	0,1735	—	2,39
B. Stickstoff in nicht bestimmter Form	5,3501	—	72,61	—
Davon im Baryt- und Magnesia-niederschlag	—	1,0886	—	14,78

Die Mengenverhältnisse der Spaltungsprodukte zeigt nachstehende Zusammenstellung:

	Gramm	Procente
Zersetztes Glutencasein	45,45	100
Ammoniak	1,199	2,64
Histidin	0,7097	1,56
Arginin	2,065	4,54
Lysin	0,9047	2,0

Auffällig ist, dass bei der Spaltung des Glutencaseins mit schwächerer Schwefelsäure und bei kürzerer Einwirkung der

1) Um zu sehen, ob bei der Destillation des Ammoniaks andere flüchtige Basen mitgingen, wurde von einem Theil der Zersetzungsflüssigkeit das übergetriebene Ammoniak als Ammoniumchlorid zur Wägung gebracht. Gewichtsanalytisch wurden 0,9832 g Stickstoff = 13,34% des Gesamtstickstoffs als an Ammoniak gebunden nachgewiesen.

Säure mehr Ammoniak abgespalten würde, wie durch stärkere Schwefelsäure. Addirt man jedoch in beiden Fällen den Huminstickstoff und den Ammoniakstickstoff, so erhält man sehr annähernd die gleiche Zahl, denn bei der Spaltung durch schwächere Schwefelsäure sind im Huminstickstoff 14,78%^o, im Ammoniakstickstoff 13,4%^o, also zusammen 28,18%^o des Gesamtstickstoffs enthalten. Bei der Spaltung mit stärkerer Schwefelsäure fanden wir in den Huminsubstanzen 16,36%^o, im Ammoniak 11,49%^o, also zusammen 27,85%^o des Gesamtstickstoffs vor. Es liegt danach der Gedanke nahe, dass, ähnlich wie in den Versuchen von Udransky,¹⁾ ein Theil des bei der Spaltung gebildeten Ammoniaks unter der Einwirkung der stärkeren Säure an die Huminsubstanzen getreten ist.

Glutenfibrin.

Es wurden ca. 50 g lufttrockene Substanz mit 150 g concentrirter Schwefelsäure und 300 g Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Ueber die erhaltenen Spaltungsprodukte geben die nachstehenden Tabellen Aufschluss. Bezüglich des Lysins, das weder aus dem Glutenfibrin noch den übrigen in Alkohol löslichen pflanzlichen Eiweisskörpern isolirt werden konnte, ist noch zu bemerken, dass, als wir versuchten, aus dem Filtrat von der Silberfällung durch Phosphorwolframsäure einen Niederschlag zu erzeugen, wir erst auf Zusatz eines starken Ueberschusses von Phosphorwolframsäure einen solchen erhielten. Derselbe schied sich jedoch nicht wie gewöhnlich körnig ab, sondern als schmieriger, stark gefärbter Syrup, der auch nach längerem Stehen nicht fest wurde. Bei seiner Zersetzung vermochten wir nur Leucin und Tyrosin, aber kein Lysin zu gewinnen. Die übrigen alkohollöslichen pflanzlichen Eiweisskörper gaben nach der Entfernung des Histidins und Arginins mit Phosphorwolframsäure Niederschläge, die sich dem eben geschilderten durchaus ähnlich verhielten. Auch aus ihnen liess sich wohl Leucin und Tyrosin, aber kein Lysin isoliren.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 42 u. f.

Die Mengenverhältnisse der Spaltungsprodukte sind folgende: Das Glutenfibrin enthielt bei 120° C. getrocknet 17,05% Stickstoff. Danach berechnet sich:

	Gramm	Procente
Zersetztes Gutenfibrin	44,76	100
Ammoniak	1,741	3,89
Histidin	0,684	1,53
Arginin	1,363	3,05
Lysin	0	0

Vertheilung des Stickstoffs auf die Spaltungsprodukte des Glutenfibrins.

	Stickstoff in g		Procente des Gesamtstickstoffs	
Gesamtmenge	7,632		100	—
A. Basenstickstoff	2,0583		26,96	—
Davon a) in Ammoniak	—	1,434	—	18,78
b) im Histidin	—	0,1857	—	2,43
c) im Arginin	—	0,4386	—	5,75
d) im Lysin	—	0	—	0
B. Stickstoff in nicht bestimmter Form	5,5737	—	73,04	—
Davon in den Baryt- und Magnesia-niederschlägen	—	0,823	—	10,78

Gliadin.

Von Gliadin wurden ca. 50 g lufttrockene Substanz mit 150 g concentrirter Schwefelsäure und 300 g Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Bezüglich der gewonnenen Zersetzungsprodukte siehe die Tabellen.

Das zur Zersetzung gebrachte Gliadin enthielt bei 120° C. getrocknet 17,25% Stickstoff. Danach berechnen sich folgende Mengenverhältnisse für die Zersetzungsprodukte des Gliadins:

	Gramm	Procente
Zersetztes Gliadin	43,60	100
Ammoniak	1,781	4,1
Histidin	0,524	1,20
Arginin	1,199	2,75
Lysin	0	0

Vertheilung des Stickstoffs auf die Spaltungsprodukte des Gliadins.

	Stickstoff in g		Procente des Gesamtstickstoffs	
Gesamtmenge	7,519	—	100	—
A. Basenstickstoff	1,9941	—	26,52	—
Davon a) im Ammoniak	—	1,467	—	19,51
b) im Histidin	—	0,1421	—	1,89
c) im Arginin	—	0,385	—	5,12
d) im Lysin	—	0	—	0
B. Stickstoff in nicht bestimmter Form	5,5249	—	73,48	—
Davon im Baryt- und Magnesia-niederschlag	—	0,886	—	11,78

Mucedin..

Ungefähr 50 g der lufttrockenen Substanz wurden mit 150 g concentrirter Schwefelsäure und 300 g Wasser 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Bezüglich der Vertheilung der einzelnen Spaltungsprodukte siehe nachstehende Tabellen. Das Mucedin enthielt bei 120° C. getrocknet 16,82% N. Danach berechnet sich:

	Gramm	Procente
Zersetztes Mucedin	44,18	100
Ammoniak	1,868	4,23
Histidin	0,188	0,43
Arginin	1,382	3,13
Lysin	0	0

Vertheilung des Stickstoffs auf die einzelnen Spaltungsprodukte des Mucedins.

	Stickstoff in g		Procente des Gesamtstickstoffs	
Gesamtmenge	7,432	—	100	—
A. Basenstickstoff	2,0343	—	27,38	—
Davon a) im Ammoniak	—	1,5385	—	20,70
b) im Histidin	—	0,0510	—	0,69
c) im Arginin	—	0,4448	—	5,99
d) im Lysin	—	0	—	0
B. Stickstoff in nicht bestimmter Form	5,3977	—	72,62	—
Davon im Baryt- und Magnesia-niederschlag	—	0,7695	—	10,36

Zein.

Während sich die übrigen pflanzlichen Eiweisskörper unter Aufwendung reichlicher Mengen Alkohols in Form weisser, staubfeiner Pulver gewinnen liessen, vermochten wir das Zein schliesslich nur als hornartige Masse darzustellen, die sich nicht ganz von eingeschlossenem Alkohol befreien liess. Wir benutzten ca. 42 g der über Schwefelsäure getrockneten Substanz zur Zersetzung. Dieselben wurden mit 125 g concentrirter Schwefelsäure und 252 g Wasser während 14 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Bezüglich der erhaltenen Spaltungsprodukte siehe die Tabellen:

	Gramm	Procente
Zersetztes Zein 1)	30,82	100
Ammoniak	0,789	2,56
Histidin	0,250	0,81
Arginin	0,562	1,82
Lysin	0	0

1) Die Berechnung wurde ausgeführt, indem nach Ritthausen's Angabe für Zein ein Gehalt von 15,58% N angenommen wurde.

Vertheilung des Stickstoffs auf die Spaltungsprodukte
des Zein.

	Stickstoff in Gramm.	Procente des Gesamtnick- stoffs.
Gesamtmenge	4.802	100
A. Basen-Stickstoff	0.8981	18.70
Davon a) im Ammoniak	0.6497	13.53
b) im Histidin	0.0677	1.41
c) im Arginin	0.1807	3.76
d) im Lysin	0	0
B. Stickstoff in nicht bestimmter Form	3.9039	81.30
Davon im Baryt-Magnesia-Niederschlag	0.5681	11.83

Leim.

Für die Untersuchung wurde feine käulliche Gelatine verwendet.

Der Nachweis des Histidins und Lysins wurde nur qualitativ geführt, er fiel für beide Substanzen positiv aus, und zwar erwies sich die Menge des Histidins als sehr gering, die des Lysins hingegen als recht beträchtlich.²⁾ Es wurden zwei Versuche angestellt: im ersten Falle wurde die Spaltung mit Schwefelsäure, im zweiten mit Jodwasserstoff bewirkt.

A. Spaltung mit Schwefelsäure.

50 g lufttrockne Gelatine wurden mit einer Mischung von 50 cem. concentrirter Schwefelsäure und 100 cem. Wasser 20 Stunden am Rückflusskühler gekocht.

Die Bestimmung des Arginins wurde nach Entfernung des Histidins mit Hülfe der Stickstoffbestimmung ausgeführt. Die polarimetrische Bestimmung fiel bei diesem Versuch viel zu niedrig aus.

B. Spaltung mit Jodwasserstoff.

50 g lufttrockne Gelatine wurde mit 150 g Jodwasserstoffsäure 3 Stunden am Rückflusskühler gekocht.

²⁾ Die Menge des Lysins betrug im Versuch B etwa 5—6% des trocknen Leims.

Die Resultate ergeben sich aus folgender Zusammenstellung:

	Stickstoffmengen in Gramm		Procente des Gesamtstickstoffs	
	Spaltung mit Schwefel- säure	Spaltung mit Jodwasser- stoff	Spaltung mit Schwefel- säure	Spaltung mit Jodwasser- stoff
Gesamt-Stickstoff	7,000	7,070	100	100
Ammoniak-Stickstoff	0,098	0,1918	1,4	2,7
Arginin-Stickstoff (Kjeldahl- Bestimmung)	1,1614	1,014	16,6	14,3

Für die Berechnung der gefundenen Argininmenge auf Procente des untersuchten Leims wurde der von Paal gefundene Stickstoffgehalt des Leims: 18,12% zu Grunde gelegt. Hiernach erhält man folgende Tabelle:

	Gefundene Gewichtsmengen		Gewichts-Procente	
	Spaltung mit Schwefel- säure	Spaltung mit Jodwasser- stoff	Spaltung mit Schwefel- säure	Spaltung mit Jodwasser- stoff
Gespaltener Leim	38,7	39,02	100	100
Ammoniak	0,119	0,233	0,3	0,6
Arginin:				
a) polarimetrisch		3,17		
b) Kjeldahl-Bestimmung	3,61	3,15	9,3	8,1
c) Wägung als Dinitrat		3,17		

Die polarimetrische Bestimmung stimmte in diesem Falle genau mit der Kjeldahl-Bestimmung und der Wägung als Dinitrat überein.

Die Jodwasserstoffspaltung hatte in diesem Falle weniger Arginin geliefert als die Spaltung mit Schwefelsäure. Es lässt sich aus diesen Versuchen nicht ersehen, ob die erstere überhaupt weniger tiefgreifend gewesen war oder ob sich ein Theil des Arginins durch nachträgliche Einwirkung wieder zersetzt hatte.

Hingegen war hier wie bei dem Versuch mit Glutencasein durch Jodwasserstoff mehr Ammoniak gebildet, wie durch Schwefelsäure.

Elastin.

Qualitativ wurden weiterhin die Spaltungsprodukte des Elastins auf das Vorhandensein von Lysin untersucht. Es war die Frage, ob sich Lysin aus dem Elastin bildet, besonders deshalb von Interesse, weil seiner Zeit die Frage, ob überhaupt Hexonbasen aus dem Elastin gebildet werden, zur Discussion gekommen war.¹⁾ Es gelang uns damals, zunächst das Arginin nachzuweisen. Aus den Filtraten vom Argininsilber stellten wir dann später nach dem Verfahren Kossel's das Lysin-pikrat dar. Die Ausbeute an demselben war eine geringe. Die Analyse desselben lieferte für Lysin-pikrat gut stimmende Zahlen. 0,2032 g Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2844 g Kohlensäure und 0,0853 g Wasser.

Für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_6H_3N_3O_7$.

Berechnet:	Gefunden:
C = 38,40%	C = 38,18%
H = 4,53%	H = 4,69%

Spongjin.

Mehrfach gespalten haben wir sowohl mit Salzsäure wie mit Schwefelsäure grössere Mengen sorgfältig gereinigtes Spongjin und die Spaltungsprodukte auf die verschiedenen Hexonbasen untersucht. In keinem Fall vermochten wir Histidin zu isoliren. Allerdings hatten wir damals noch nicht die im Vorstehenden mitgetheilte Methode zur Trennung des Histidins und Arginins ausgearbeitet, und es ist möglich, dass es später vielleicht doch noch gelingt, Histidin unter den Spaltungsprodukten des Spongjins nachzuweisen. Stets reichlich, gleichgültig ob wir mit Salzsäure oder Schwefelsäure das Spongjin zersetzten, erhielten wir Arginin und Lysin Arginin 5—6 g, Lysin 3—4 g auf 100 g lufttrockenes Spongjin. Dass sich das erhaltene Arginin und Lysin des Spongjins in nichts von dem gewöhnlichen Arginin und Lysin unterscheiden, bestätigten uns die Analyse und die polarimetrischen Untersuchungen.

Es gaben 0,165 g Arginin-nitrat bei 19° C. und 746 mm. Barometerstand 44,6 ccm. Stickstoff.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 551.

Für $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 + \frac{1}{2} H_2O$.

Berechnet:	Gefunden:
N = 28.45 %	N = 28.61 %

Das Lysin wurde als Lysindichlorid zur Analyse gebracht.

Berechnet:	Gefunden:
32.34	32.49% Cl.

Die polarimetrischen Bestimmungen des Lysindichlorids sind von Henderson ausgeführt worden.¹⁾

(Bezüglich des Glutaminsäure-Gehaltes siehe Nachtrag.)

Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlussfolgerungen.

I.

Die von uns durch Spaltung mit Schwefelsäure erhaltenen Zahlen lassen sich in der auf Seite 207 befindlichen Tabelle zusammenfassen.

Sonstige Bestimmungen des Arginins unter den Zeretzungsprodukten der Eiweisskörper liegen nur sehr wenige vor. Hedin,²⁾ durch dessen Untersuchungen überhaupt zuerst gezeigt worden ist, dass das von E. Schulze und Steiger entdeckte Arginin aus dem Eiweiss hervorgeht, hat auch Angaben über die Mengenverhältnisse gemacht, die jedoch von ihm selbst als Minimalwerthe bezeichnet werden. Nach dem Verfahren von Hedin hat auch Schulze³⁾ das Arginin aus pflanzlichen Eiweisskörpern dargestellt und gefunden, dass die Eiweisssubstanz aus den Samen von *Picea excelsa* soviel Arginin liefert, dass 20,7% ihres Stickstoffs in dieser Form abgespalten werden. 100 Theile dieser Proteinsubstanz liefern mehr als 10 Theile Arginin. Ungefähr ebenso gross war die Ausbeute aus einer Proteinsubstanz des Samens von *Abies pectinata*. Etwa $\frac{2}{3}$ des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs entfallen auf Arginin. Diese Ergebnisse würden den betreffenden pflanzlichen Eiweissstoffen in obiger Tabelle einen Platz zwischen den Histonen und dem Leim anweisen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 320.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXI, S. 155.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 276, Bd. XXV, S. 360.

	Procente des Gesamtstickstoffs		Gewichtsprocente						
	Histidin	Arginin	Lysin	Ammoniak		Histidin	Arginin	Lysin	Ammoniak
Salmin	0	87,8	0	0	0	84,3	0	0	
Clupein (Mittel)	0	83,5	0	0	0	82,2	0	0	Amidovaleriansäure.
Cyclopterin	0	67,7	0	?	0	62,5	0	Nicht geprüft	8,3 % Tyrosin.
Sturin	11,8	63,5	8,4	0	12,9	58,2	12,0	0	
Histon (Thymus)	1,79	25,17	8,04	7,46	1,21	14,36	7,7	1,66	
Histon (Fischhoden)	3,3	26,9	8,5	3,3	2,34	15,52	8,30	0,74	
Leim (Handelsgelatine)	Nicht bestimmt	16,6	Nicht bestimmt	1,4	Vorhandene Menge gering	9,3	Ungefähr 5—6 Procent	0,3	Spaltung durch Schwefelsäure. Den Stickstoffgehalt zu 18,12 % angenommen.
Glutencasein (Mittel)	1,9	8,7	2,5	12,5	1,16	4,4	2,15	2,45	Spaltung durch Schwefelsäure.
Glutenfibrin	2,43	5,75	0	18,78	1,53	3,05	0	3,89	
Mucedin	0,69	5,99	0	20,70	0,43	3,13	0	4,23	
Gliadin	1,89	5,12	0	19,51	1,20	2,75	0	4,1	
Zein	1,41	3,76	0	13,53	0,81	1,82	0	2,56	

II.

Wir können die Bindungsweise des Stickstoffs in den Eiweisskörpern in folgender Weise eintheilen.

1. Die harnstoffbildende Gruppe (mit Diamidovaleriansäure vereinigt im Arginin).

2. Die Gruppe der Diamidosäuren (Diamidovaleriansäure im Arginin, Diamidocaprinsäure).

3. Die Gruppe der Monoamidosäuren (Leucin und Homologe, Asparaginsäure und Homologe, Tyrosin, Phenylamidopropionsäure, Amidothiomilchsäure und deren Disulfid.¹⁾

4. Die Ammoniak bildende Gruppe (noch unbekannt).

Hierzu kommt vielleicht noch die huminbildende Gruppe als fünfte hinzu. Die Existenz der letzteren als stickstoffhaltige Gruppe ist aber zweifelhaft, da es möglich ist, dass der Stickstoffgehalt der Huminsubstanzen nur auf einer Nebenreaction beruht.²⁾

Dass bei der Spaltung mit Säuren ein Theil der Diamidosäuren mit der harnstoffbildenden Gruppe vereinigt als Arginin auftritt, ist eine Thatsache, die vom Standpunkte obiger Eintheilung als eine nebensächliche erscheinen muss. Würde die Spaltung durch Alkali ausgeführt sein, so würden beide Gruppen gesondert erscheinen.

Jede der vier Gruppen muss im Stoffwechsel der Organismen ihre besondere Rolle spielen und da der Gehalt der Eiweisskörper an diesen Gruppen nach unsern Untersuchungen ein sehr verschiedener ist, so wird man hieraus auf eine verschiedene physiologische Werthigkeit verschiedener Eiweissarten schliessen müssen. Vom physiologischen Standpunkt aus ist es besonders interessant, den Gehalt der verschiedenen Eiweisskörper an der harnstoffbildenden Gruppe festzustellen oder aus unsern Untersuchungen zu berechnen, wie viel Harnstoff aus jedem der oben genannten Eiweisskörper durch blosser Spaltung hervorgehen kann. Die Resultate dieser Be-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 595.

2) Nach Udransky (diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 42 u. f.) können die Huminsubstanzen im Momente ihrer Entstehung Ammoniak aufnehmen.

rechnung sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt, bei deren Verwerthung übrigens nicht übersehen werden darf, dass sie nur die bis jetzt thatsächlich gefundenen Mengen Harnstoff und Diamidosäure-Stickstoff darstellt. Es ist die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass diese Mengen in Wirklichkeit etwas grösser sind und dass bei Verfeinerung unserer Methoden noch weitere harnstoffbildende Gruppen oder Diamidosäuren aufgefunden werden. Speciell gilt dies bezüglich des Histidins, dessen Constitution noch unbekannt, dessen Menge aber auch bei den meisten Eiweisskörpern sehr gering ist. Ferner wird man mit dem Vorkommen der von Drechsel beim Casein aufgefundenen Diamidoessigsäure zu rechnen haben.

	100 g der betreffenden Eiweisssubstanz liefern an Harnstoff durch Spaltung g	Procente des Gesamtstickstoffs	
		in der Harnstoffgruppe	in der Diamidosäure- gruppe.
Salmin	29,1	43,9	43,9
Clupein	28,4	41,8	41,8
Cyclopterin	21,5	33,8	33,8
Sturin	20,1	21,7	(30,1)
Histon (Thymus)	5,0	12,6	20,5
Histon (Kabeljau-Testikel)	5,3	13,5	22,0
Leim	3,2	8,3	Nicht bestimmt
Glutencasein	1,5	4,4	6,9
Glutenfibrin	1,0	2,9	2,9
Mucedin	1,1	3,0	3,0
Gliadin	1,0	2,5	2,5
Zein	0,9	1,9	1,9

Die vorliegende Tabelle zeigt, dass der Organismus verschiedenartige chemische Leistungen zu vollziehen hat, wenn er aus den gleichen Mengen Stickstoff des einen oder des anderen Eiweisskörpers Harnstoff bildet. Im Histon ist bereits 13—14% des Stickstoffs in solcher Form vorhanden, dass derselbe durch blosse Hydratation in Harnstoff übergeht, im Zein oder in gewissen Eiweissstoffen des Weizenklebers muss fast die ganze Menge des Harnstoffs aus Monoamidosauren

und aus der uns noch unbekanntem ammoniakbildenden Gruppe bereitet werden.

III.

Durch unsere Analysen wird die von A. Kossel ausgesprochene Auffassung der Protamine als der einfachsten Eiweisskörper bestätigt. Besonders werthvoll ist in dieser Hinsicht die Auffindung eines tyrosinbildenden Protamins, des Cyclopterins, welches seine Verwandtschaft mit den Eiweisskörpern durch zwei charakteristische Reactionen: die Biuretreaction und die Millon'sche Reaction auch äusserlich verräth. Das Cyclopterin zeigt also einerseits seine nahen Beziehungen zum Eiweiss sehr deutlich, kann aber andererseits nicht von den Protaminen getrennt werden. Ein durchgreifender qualitativer Unterschied zwischen Protaminen und complexen Eiweissstoffen in Bezug auf die Constitution ergibt sich aus den bisherigen Beobachtungen nicht, da die ammoniakbildende Gruppe und der Schwefelgehalt, die den Protaminen fehlen, bei gewissen Eiweissstoffen ebenfalls auf ein Minimum herabsinken.

IV.

Die Histone sind von den übrigen Eiweissstoffen im Wesentlichen durch zwei Eigenschaften ausgezeichnet, die sich offenbar gegenseitig bedingen, nämlich durch ihren hohen Gehalt an Hexonbasen und durch die basische Eigenschaft des ganzen Moleküls. Letztere steht wiederum in engem Zusammenhang mit der Fällbarkeit durch Ammoniak, welche von A. Kossel bei der Aufstellung dieser Eiweissgruppe als charakteristisches Merkmal angeführt worden ist.¹⁾ Die basischen Eigenschaften bewirken auch, dass die Histone mit gewissen eiweissfällenden Säuren auch dann Verbindungen eingehen, wenn eine Base zugegen ist.

Die Erklärung dieser zuerst von A. Kossel²⁾ für basische

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 511.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 168, vgl. auch Mathews. Diese Zeitschrift, Bd. 23, S. 402; später hat Bang diese Reactionen bei den Histonen noch einmal hervorgehoben (diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 463).

Eiweisskörper angegebenen Reaction ist eine sehr naheliegende. Ein Eiweisskörper wird im Stande sein, sich mit Ferrocyankalium in neutraler Lösung umzusetzen, wenn er hinreichende basische Eigenschaften besitzt, um das Kalium aus der Verbindung mit Ferrocyanwasserstoffsäure zunächst theilweise zu verdrängen. Stehen dem Eiweisskörper nicht genügende basische Eigenschaften zur Verfügung, so wird die Umsetzung nur dann stattfinden, wenn eine andere Säure, etwa Essigsäure, zugegen ist, die sich an der Bindung des Kaliums beteiligt oder die — wie Cohnheim und Krieger neuerdings hervorgehoben haben¹⁾ — das Eiweiss nach Art einer Pseudobase im Sinne von Hantzsch umwandelt. Da die Protamine und Histone ausgeprägt basische Eigenschaften besitzen, so wird hiernach verständlich, dass diese Stoffe in neutraler und sogar in schwach alkalischer Lösung durch phosphorwolframsaures, wolframsaures, pikrinsaures, chromsaures, ferrocyanwasserstoffsaures Alkali gefällt werden, während diese Fällung bei den nicht basischen Eiweisskörpern nur bei Gegenwart freier Säure eintritt.

Der hohe Gehalt der Histone an basischen Spaltungsprodukten tritt auch beim Vergleich mit anderen als den oben erwähnten Eiweisskörpern hervor. Die folgende Tabelle gibt die Resultate einer Anzahl Analysen wieder, die in folgender Weise gemacht waren. Nachdem die Eiweisskörper durch Spaltung mit Schwefelsäure oder Salzsäure zerlegt waren, wurde (nöthigenfalls nach Entfernung des grössten Theils der Salzsäure durch Eindampfen u. s. w.) das Ammoniak — wie oben angegeben — vertrieben und zugleich quantitativ bestimmt. Hierauf wurde durch Baryt und Silbersulfat ein Niederschlag erzeugt, welcher das Arginin und Histidin enthalten musste. Der Stickstoffgehalt dieses Niederschlages kann zwar nicht direkt als Ausdruck für die Menge der beiden genannten Hexonbasen betrachtet werden, denn die oben angeführten Tabellen (S. 185—197) ergeben, dass stets noch eine gewisse Menge anderer stickstoffhaltiger Substanz mit gefällt wird, jedoch ist es zulässig, diese Zahlen einer vergleichenden

¹⁾ Zeitschrift für Biologie. Bd. 40. N. F. Bd. 22. S. 95.

Betrachtung zu Grunde zu legen, und dann ergibt sich dasselbe Resultat, welches schon aus der Tabelle S. 207 hervorgeht: die Masse der basischen Produkte ist in den Histonen eine grössere als in den übrigen bisher untersuchten complexen Eiweisskörpern.

	Procente des Gesamtstickstoffs		Spaltungs- verfahren
	Stickstoff des Silber- niederschlags	Stickstoff des Ammoniaks	
Histon	30.7—35.5	4—7.5	4 Versuche, z. Th. Schwefelsäure z. Th. Salzsäure
Fibrinpepton	20	10	Salzsäure 72 Stunden
Eieralbumin	18.7	11	Salzsäure
Casein	14.6	9.1	Schwefelsäure
Casein	16.4	12.9	Salzsäure
Parahiston 1)	11.7	Nicht bestimmt	

V.

Ein auffallendes Ergebniss unserer Untersuchungen ist das Fehlen des Lysins unter den Spaltungsprodukten der alkohollöslichen Eiweisskörper des Weizenmehls und des Maismehls. Hier treffen wir also wiederum auf eine eigenartige, scharf umschriebene Gruppe von Eiweisssubstanzen, die wahrscheinlich in grösserer Verbreitung im Pflanzenreich auftreten. Neben den lysinfreien Eiweissstoffen findet sich im Weizenmehl ein lysinhaltiger, das Glutencasein. Diese Versuche bestätigen die früheren Angaben von Ritthausen²⁾ über die Zusammensetzung des Weizenklebers. Freilich ergibt sich aus unseren Untersuchungen mit Sicherheit nur das Vorhandensein von zwei verschiedenen Eiweissarten. Die Differenzen in der Zusammensetzung der alkohollöslichen Eiweisskörper sind wenigstens nur sehr geringe. Die Arbeiten von Morishima,³⁾

1) Nach einem Versuch des Herrn A. Ascoli. Hiernach gehört das Parahiston Fleroff's (diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 307) nicht zur Histongruppe.

2) Ritthausen, l. c. und Journ. f. pract. Chemie [2] 50, 474.

3) Morishima, Archiv f. experim. Pathologie und Pharmakologie, Bd. 41, S. 291.

welcher die Eintheilung der Weizenkleberproteinstoffe nach Ritthausen verwarf und zu dem Ergebniss kam, dass im Weizenmehl nur ein Eiweissstoff, das «Artolin», enthalten sei, beruhen also auf einem Irrthum. Die Auffindung der lysin-freien Eiweisskörper eröffnet neue Fragen auf dem Gebiete der Ernährungslehre. Man wird die Rolle dieser Eiweissstoffe im Stoffwechsel untersuchen müssen, um festzustellen, ob die beiden verschiedenartigen Bestandtheile unseres Brotes die gleiche oder verschiedene Bedeutung für Ansatz und Umsatz besitzen.

VI.

Auf die Gründe, welche uns veranlassen, die Protamine als die einfachsten Eiweisskörper zu betrachten, haben wir schon mehrfach hingewiesen. Diese Auffassung bringt es mit sich, dass wir die in den Protaminen vorhandene Atomverkettung auch zur Grundlage unserer Anschauungen über die Constitution des Eiweissmoleküls machen. Was wir von dieser Atomverkettung kennen, ist die Vereinigung der harnstoffbildenden Gruppe mit der Diamidovaleriansäure im Arginin und diese Gruppe mit 6 Kohlenstoffatomen ist bisher bei keinem Eiweisskörper vermisst worden, wo sie aufgesucht worden ist.

Neben dem Arginin findet man andere basische Stoffe, die zwar sehr häufig, doch nicht constant auftreten, wie Histidin und Lysin. Ferner bemerken wir schon bei den Protaminen, dass ein kleiner Theil des Stickstoffs in Form von Monoamidosäuren (Amidovaleriansäure, Tyrosin) gebunden ist. Gehen wir zu den complexen Eiweisskörpern über, so sehen wir, wie dieser Monamidosäureantheil mehr und mehr wächst. Ferner tritt hier noch die ammoniakbildende und die schwefelhaltige Gruppe hinzu und alle diese verschiedenartigen Gruppen fügen sich an den basischen Antheil wie an einen Kern an.¹⁾

Eine weitere Complication wird dadurch geschaffen, dass mehrere derartig aufgebaute Atomgruppen sich mehr oder

¹⁾ Diese Betrachtungsweise würde an Fruchtbarkeit auch dann nicht verlieren, wenn es gelingen sollte, Körper eiweissähnlichen Charakters ohne Argininkern oder Diamidogruppe aufzufinden.

weniger fest mit einander zu grösseren Complexen vereinigen. Die Spaltung der Eiweisskörper in mehrere nebeneinander entstehende peptonartige Complexe ist kaum anders zu erklären, als durch die Auffassung des Eiweissmoleküls als Zusammenlagerung einer gewissen Anzahl von Gruppen, die alle nach einem ähnlichen Typus gebaut sind. Dass sich solche Zusammenlagerungen auch ausserhalb des Körpers leicht vollziehen, ist durch verschiedene Beobachtungen bei einfachen und complexen Eiweissgruppen sicher gestellt. Wir verweisen auf die Anlagerung der Protamine¹⁾ und Histone²⁾ an Eiweiss, auf die Vereinigung von Propeptonen mit Globulinen,³⁾ von Fibrinogen mit den Eiweissstoffen des Blutserums.⁴⁾

Nachtrag.

Bildung der Glutaminsäure aus Spongins.

In einem Fall verarbeiteten wir das mit concentrirter Salzsäure zersetzte Spongins so, dass wir die Hexonbasen mit Phosphorwolframsäure ausfällten, das Filtrat mit Baryt von überschüssiger Phosphorwolframsäure befreiten und allen Baryt genau durch Schwefelsäure entfernten. Aus der restirenden Zersetzungsflüssigkeit schieden wir darauf nach dem Verfahren von Hasiwetz und Habermann⁵⁾ die Glutaminsäure in Form ihrer salzsauren Verbindung ab. Wir erhielten aus ca. 100 g lufttrockenen Spongins annähernd 15 g analysenreine salzsaure Glutaminsäure.

Es gaben 0,2507 g Substanz 0,1932 g AgCl.

Für $C_5H_9NO_4 \cdot HCl$.

Berechnet:
Cl = 19,3 %

Gefunden:
Cl = 19,05 %

1) Kossel, Deutsche medicinische Wochenschrift, 1894, S. 147.

2) Mathews, Diese Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 402.

Bang, Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 463.

3) Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXIII, S. 115.

4) Hammarsten, Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 333.

5) Liebig's Annalen, Bd. 169.