

Hydrolyse des krystallisirten Serumalbumins aus Pferdeblut.

Von
Emil Abderhalden.

(Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin
(Der Redaction zugegangen am 5. März 1903.)

Zur Hydrolyse wurden 250,0 g zweimal umkrystallisirtes Serumalbumin¹⁾ verwendet. Dasselbe wurde 6 Stunden am Rückflusskühler mit der dreifachen Menge rauchender Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,19 gekocht, die Lösung in der bekannten Weise im Vacuum eingeeengt, verestert und die Ester in Freiheit gesetzt.

Bei der Destillation der Ester wurden folgende Fractionen erhalten:

Fraction 1	bis 40° (Temp. der Dämpfe gemessen)	bei 10 mm. Druck	12,0 g
• 2	40—60° ()	10 „ 21,5
• 3	bis 100° (des Wasserbades)	0,2 „ 68,4
• 4	100—130° (Ölbades)	0,2 „ 17,0
• 5	130—160° ()	0,2 „ 21,0

Die Untersuchung der einzelnen Fractionen wurde in der wiederholt geschilderten Art und Weise vorgenommen und führte zu folgenden Resultaten:

Fraction 1 (bis 40°).

Dieselbe bestand neben Alkohol und etwas Aether hauptsächlich aus Alanin. Die Prüfung auf Glycocoll ergab ein negatives Resultat. Isolirt wurden 1,2 g Alanin.

1) Conf. A. Michel, Zur Kenntniss der Gürber'schen Serumalbuminkrystalle. Verhandl. der physikalisch-medizinischen Gesellschaft zu Würzburg, Bd. 29, N. F. 1895, Nr. 3 und Hopkins und Pinkus, Observations on the crystallisation of animal bodies. Journal of Physiology, Vol. XXIII, 1898/99, S. 130.

Die Elementaranalyse des verwendeten Präparates hatte folgende Zahlen ergeben: C 52,93, H 7,05, N 15,89, S 1,82.

0.1342 g Substanz gaben 0.1985 g CO_2 und 0.0955 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$:

Gefunden:

40.45% C und 7.87% H.

40.34% C und 7.98% H.

Schmelzpunkt: 293° (uncorr.).

Fraction 2 (40 bis 60°).

Aus dieser Fraction wurden isolirt 5,5 g Alanin und 7,5 g Leucin.

Die Analyse des letzteren ergab:

0.1523 g Substanz gaben 0.3071 g CO_2 und 0.1352 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:

Gefunden:

54.96% C und 9.92% H.

54.99% C und 9.95% H.

Schmelzpunkt: 297° (uncorr.).

Die optische Bestimmung des Alanins zeigte, dass es sich um gewöhnliches d-Alanin handelte. Das isolirte Leucin bestand aus einem Gemisch von l-Leucin und racemischem Leucin.

Fraction 3 (60 bis 100°).

Es wurden isolirt 42,5 g Leucin und 2,6 g α -Pyrrolidincarbonensäure.

Letzteres ergab folgende Analysen-Zahlen:

0.1332 g Substanz gaben 0.2553 g CO_2 und 0.0952 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$:

Gefunden:

52.18% C und 7.83% H.

52.27% C und 7.97% H.

Schmelzpunkt: 208° (uncorr.).

Die isolirte α -Pyrrolidincarbonensäure war zum grössten Theil racemisirt.

Fraction 4 (100 bis 130°).

Das in der bekannten Weise isolirte Phenylalanin wog 4,2 g.

0.1001 g Substanz gaben 0.2404 g CO_2 und 0.0603 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$

Gefunden:

65.45% C und 6.66% H.

65.49% C und 6.75% H.

Die nach der Abtrennung des Phenylalaninesters zurückbleibende wässrige Lösung wurde nach der Verseifung mit Baryhydrat und nach der quantitativen Fällung des überschüssigen Baryts — nach vorheriger Trennung vom abgeschiedenen asparaginsäuren Baryt — in zwei gleiche Portionen getheilt. Aus der einen wurden Asparagin- und Glutaminsäure isolirt, die andere diente zur Isolirung des Serins mit Hilfe des β -Naphthalinsulfochlorids. Es wurden erhalten 1.1 g Glutaminsäure.

0.1791 g Substanz gaben 0.2675 g CO_2 und 0.0968 g H_2O .
 Berechnet für $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}_4$:
 40.81% C und 6.12% H.

Gefunden:
 40.73% C und 6.05% H.

Ferner wurden isoliert 2,2 g Asparaginsäure:

0.1131 g Substanz gaben 0.1493 g CO_2 und 0.0531 g H_2O .
 Berechnet für $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$:

Gefunden:
 36.09% C und 5.26% H. 36.00% C und 5.29% H.

Das isolierte β -Naphthalinsulfoserin ergab folgende Analysenzahlen:

0.1101 g Substanz gaben 0.2136 g CO_2 und 0.0438 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_5\text{NS}$:

Gefunden:
 52.88% C und 4.41% H. 52.91% C und 4.46% H.

Schmelzpunkt: 214° (uncorr.).

Die Menge des Serins betrug 1,5 g.

Fraction 5 (130 bis 160°).

Diese Fraction wurde in ganz analoger Weise wie Fraction 4 behandelt. Phenylalanin wurden erhalten 3,5 g. Die zur Bestimmung des Serins dienende Portion war mit der entsprechenden aus Fraction 4 vereinigt worden. Es wurden erhalten 0,8 g Glutaminsäure, 1,7 g Asparaginsäure.

Bestimmung des Tyrosins und des Cystins.

Die Isolierung erfolgt in der bereits beim Hämoglobin¹ geschilderten Weise aus je 100,0 g zweimal unkrystallisiertem Serumalbumin.

Es wurden erhalten 2,1 g Tyrosin und 2,3 g Cystin.

0.1112 g Substanz gaben 0.2430 g CO_2 und 0.0595 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$:

Gefunden:
 59.66% C und 6.07% H. 59.59% C und 5.99% H.

Zersetzungspunkt: 312° (uncorr.).

Das Cystin ergab:

0.2002 g Substanz ergaben 0.3901 g BaSO_4 — 0.0536 g S.

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_4$:

Gefunden:
 26.66% S. 26.77% S.

Nachweis des Tryptophans.

Das Tryptophan konnte auch hier in ganz analoger Weise, wie es beim Hämoglobin angeführt wurde, isoliert werden.

Aus dem bei der Destillation der Ester verbleibenden

Rückstände konnte auch hier Leucinimid isolirt werden. Seine Menge betrug 1,2 g. Dasselbe schmolz bei 295° (uncorr).

Auf 100,0 gr bei 100° getrocknetes Serumalbumin berechnet ergeben sich folgende Mengenverhältnisse:

Alanin	2,68
Leucin	20,00
α -Pyrrolidincarbonsäure	1,04
Phenylalanin	3,08
Glutaminsäure	1,52
Asparaginsäure	3,12
Cystin	2,3
Serin	0,6
Tyrosin	2,1
Tryptophan	vorhanden.
Summa	36,44

Hinzuzurechnen wäre noch das in Leucinimid (0,48 g) übergegangene Leucin.