

Zur Chemie des Gorgonins und der Jodgorgosäure.

Von
M. Henze.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der zoologischen Station zu Neapel.)
(Der Redaktion zugegangen am 1. April 1903.)

Mit dem Namen Gorgonin wurde von Drechsel¹⁾ die schwarzbraune hornige Substanz bezeichnet, aus welcher sich das Achenskelett der schönen Weichkoralle *Gorgonia Cavolinii* aufbaut. Bisher hat sich niemand wieder mit dem chemischen Studium dieser Substanz befaßt. Die früheren Angaben Krukenbergs können hier übergangen werden. Nach den Ergebnissen der Drechselschen Arbeit hat man es mit einem Albuminoid und zwar mit einem dem Keratin der höheren Tiere vergleichbaren Körper zu tun.

Die interessanteste Beobachtung, die bei jener ersten Untersuchung gemacht wurde, bestand in der Entdeckung des außerordentlichen Jodreichtums des Gorgonins, welches somit ein Vertreter der wenigen natürlich vorkommenden Jodeiweißkörper ist. Nach Drechsels Bestimmung enthält das Gorgonin 7.89 % Jod, auf die bei 100° getrocknete Substanz berechnet. Bei der Zersetzung mit Barytwasser gelang es, ein krystallisiertes jodiertes Spaltungsprodukt zu isolieren, was bis jetzt noch nie, weder aus einem natürlich vorkommenden, noch aus einem künstlich dargestellten Jodeiweißkörper gelungen ist. Die letzten darauf hinielenden Versuche stammen meines Wissens von Oswald²⁾ und beziehen sich auf Thyreoglobulin

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 33, S. 90.

2) A. Oswald, Über jodierte Spaltungsprodukte des Eiweißes. Beiträge zur chem. Physiologie u. Pathologie, Bd. III, S. 391.

und auf Jodalbamin. In ebengenannter Hinsicht sind sie negativ ausgefallen. Früher hat Hundshagen¹⁾ das Spongium, die Grundsubstanz der Badeschwämme, gespalten. Er sprach die dabei resultierenden jodhaltigen Produkte als ein Gemenge von jodierten Aminosäuren an, ohne wirklich eine derselben rein isolieren zu können.

Drechsel charakterisierte den von ihm teilweise analysierten jodierten Spaltungskörper, den er Jodgorgosäure nennt, als eine Jodaminobuttersäure. Wir finden sie unter dieser Bezeichnung in fast allen Hand- und Lehrbüchern. Sieht man jedoch die Analyse der Jodgorgosäure im Original nach, so dürfte man erstaunt sein, wie wenig obige Behauptung gerechtfertigt ist. Es existieren von der Jodgorgosäure eine Kohlenstoff- und eine Wasserstoffbestimmung. Der Stickstoffgehalt ist gar nicht bestimmt, und der von Drechsel gefundene Jodgehalt differiert von dem für eine Jodaminobuttersäure berechneten um gerade 3 %. Letzteres dürfte bei einer Halogenbestimmung gewiß einigen Zweifel erregen. Doch abgesehen davon, wenn man bedenkt, wie leicht jodierte Fettsäuren schon beim Kochen mit Wasser Jodwasserstoff abspalten, so muß die genannte Konstitution doppelt zweifelhaft erscheinen, da ja die Jodgorgosäure beim Erhitzen des Gorgonins mit gesättigtem Barytwasser entsteht.

Nach einer im «American Journal of Physiologie» erschienenen Arbeit hat vor zwei Jahren Lafayette Mendel²⁾ einen Versuch gemacht, die Jodgorgosäure in der von Drechsel beschriebenen Weise darzustellen. Er konnte dieselbe nicht finden. Allerdings ist zu bemerken, daß er nicht *Gorgonia Cavolinii*, sondern eine nahe Verwandte: *Gorgonia flabellum* benutzte, die nach seiner Bestimmung nur 1,15 % Jod enthält.

Infolge der genannten Unsicherheiten, ja selbst nicht unbegründeten Zweifel an der Existenz der Jodgorgosäure habe ich eine neue Untersuchung begonnen, durch die ich gleichzeitig der chemischen Natur des Gorgonins etwas näher zu

1) Hundshagen, Über jodhaltige Spongien u. Jodspongium, Zeitschr. angew. Chemie, 1895, S. 473.

2) Americ. J. of Phys. IV, 243.

kommen suchte. Ich war gezwungen, mich dabei zunächst nur auf Ermittlung der Spaltungsprodukte zu beschränken, und konnte diesen nur ab und zu einige ungefähre quantitative Angaben beifügen. Die ersten Ergebnisse sind im folgenden mitgeteilt. Gorgonia C. ist leider im Golf von Neapel nicht mehr so leicht zugänglich und daher schwer zu haben. Sobald wieder genügendes Material angesammelt ist, hoffe ich weiter zu berichten. Über die Jodgorgosäure will ich vorausschiekend nur erwähnen, daß sie entsprechend den Angaben Drechsels existiert, aber sicher keine Jodaminobuttersäure, sondern ebenfalls ein Derivat der aromatischen Reihe ist.

Drechsel fand bei der Zersetzung des Gorgonins mit verdünnter Salzsäure (1 : 1) Tyrosin, was er aus Krystallform und Reaktionen schloß. Ferner sah er in den Tyrosinmutterlauge unter dem Mikroskop charakteristische Scheibchen, die auf Leucin hindeuteten, während er Lysin durch die Analyse des Baryumsalzes sicher nachwies. Er vermutete schließlich auch das Vorkommen von Lysatinin.

Wie schon bemerkt, zählte Drechsel das Gorgonin auf Grund der gefundenen Spaltungsprodukte zu den Albuminoiden und stellte es zu den Keratinen. Ist letzteres der Fall, so müßte sich das Gorgonin durch einen besonders hohen Schwefelgehalt auszeichnen. Es existieren darüber keine Angaben. Die folgende Analyse¹⁾

0,4983 g Gorgonin (bei 110° getrocknet)
gaben 0,0841 g BaSO₄ entsprechend 0,0116 g S,
demnach Schwefelgehalt 2,32%

zeigt in der Tat, daß man es mit einem schwefelreichen Eiweißkörper zu tun hat. Der hohe Jodgehalt des Moleküls läßt natürlich den Schwefelgehalt noch geringer erscheinen.

Bei der vorliegenden Untersuchung wurden zwei Agentien zur Aufspaltung des Gorgonins benutzt. Einmal wurde das Gorgonin mit verdünnter Schwefelsäure zerstört und neben den sonstigen Spaltungsprodukten besonders auf die Kosselschen Hexonbasen geachtet. Das andere Mal wurde das Gorgonin

¹⁾ Die Bestimmung wurde nach Carius im geschlossenen Rohr mit HNO₃ ausgeführt.

in Anlehnung an die Drechselschen Versuche der Einwirkung siedenden Barytwassers unterworfen, um dadurch zur Jodgorgosäure zu gelangen. Auch hierbei wurde den nebenbei entstehenden Spaltungsprodukten möglichste Beachtung geschenkt. Es ist gewiß nicht von der Hand zu weisen, daß aus einem Vergleich der Spaltungsprodukte eines Eiweißkörpers, die einerseits durch Einwirkung von Säuren, andererseits von Alkalien gebildet werden, mancherlei Schlüsse zu ziehen sind. Sobald die Methoden der quantitativen Trennung der Spaltungsprodukte weitere Fortschritte gemacht haben, wird dies umso mehr der Fall sein.

Aus der Literatur ist mir nur eine solche vergleichende Untersuchung bekannt. Ich sehe dabei ab von den älteren Arbeiten Schützenbergers. E. Schulze¹⁾ zerlegte das vegetabilische Conglutin sowohl mit Salzsäure als mit Barytwasser unter Druck. Unter den Amidosäuren, auf die bei der Trennung Gewicht gelegt wurde, fehlte die Asparaginsäure bei der Barytspaltung. Wie sich zeigen wird, weist auch das Gorgonin bei den Spaltungen Differenzen auf.

Über Eiweißspaltungen mittels Alkalien sind aus neuester Zeit noch zwei Angaben gemacht worden. Die eine stammt von Steudel.²⁾ Er zersetzte Casein mit Barytwasser, um Aufschluß über etwaige Bildung der Hexonbasen zu gewinnen. Ferner hat E. Fischer³⁾ eine Hydrolyse des Caseins mit 10%iger Natronlauge beschrieben und hierbei die Entstehung der Pyrrolidincarbonsäure nachgewiesen.

Die Spaltung des Gorgonins mit Barytwasser schien in genannter Hinsicht um so aussichtsreicher, als diese Substanz auffallend leicht, bereits nach 1—1½ Stunden bis zu den Ammosäuren zerstört wird. Schützenberger sowie E. Schulze hatten Eiweiß mit Barytwasser in Autoclaven erhitzt und Steudel⁴⁾ mußte 65 Stunden lang kochen, bis die Biuretreaktion verschwunden war.

1) Diese Zeitschr., Bd. IX, S. 63.

2) Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 540.

3) Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 247.

4) cf. oben.

I. Spaltung des Gorgonins mit verdünnter Schwefelsäure.

Zur Hydrolyse mittels verdünnter Schwefelsäure standen mir ca. 50 g des lufttrockenen Gorgonins zur Verfügung. Dieselben wurden mit einer Mischung von 150 g Schwefelsäure und 300 g Wasser gekocht. Bereits nach einer Stunde hat sich alles zu einer klaren, tief schwarzbraunen Flüssigkeit gelöst. Die Entwicklung von Schwefelwasserstoff ist dabei deutlich nachzuweisen. Beim weiteren Erhitzen treten violette Dämpfe von Jod auf, wie dies Drechsel bereits beschrieben hat, und mit der Zeit scheiden sich dicke Beläge von Jodkrystallen im Kühler ab. Der Zersetzungskolben wurde deshalb zeitweise mit einem absteigenden Kühler verbunden, wodurch sich ganz bedeutende Mengen von Jod mit den Wasserdämpfen übertreiben ließen. Das überdestillierte Wasser wurde immer wieder ersetzt. Ob gleichzeitig etwa flüchtige organische Jodverbindungen übergingen, vermag ich nicht mit Sicherheit zu sagen. Dem Geruch nach zu urteilen, schien es wahrscheinlich. Jodwasserstoff läßt sich stets nachweisen.

Die Zersetzungsflüssigkeit blieb ca. 8 Stunden im schwachen Sieden, worauf die tief dunkelgefärbte Lösung mit Wasser verdünnt und die Schwefelsäure durch Baryt soweit entfernt wurde, daß der Gehalt bei ca. 1 Liter Volumen noch 5° o betrug. Durch Titration ließ sich das leicht feststellen. Es wurde nunmehr mit einer ca. 30° oigen Phosphorwolframsäurelösung gefällt, der Niederschlag nach 24 Stunden abgesaugt und mit 5° oiger Schwefelsäure, der etwas Phosphorwolframsäure zugesetzt war, gut ausgewaschen.

A. Untersuchung des Phosphorwolframsäureniederschlags.

Der Niederschlag wurde in der gewöhnlichen Weise mit Baryt zerlegt und nach Entfernung des überschüssigen Baryts die ca. 2½ Liter betragende Flüssigkeit, die noch schwach schwefelsäurehaltig war, nach Kossels Methode¹⁾ auf die Hexonbasen geprüft.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165.

Zu diesem Zwecke wurde in der Wärme pulverisiertes Silbersulfat eingetragen, bis eine Probe der Flüssigkeit mit Barytwasser eine braune Fällung gab. Der geringe schon hierbei entstandene Niederschlag wurde gelassen und die Lösung mit Baryumhydroxyd in Substanz gesättigt. Die gebildete Fällung wurde gut mit barytwasserhaltigem Wasser ausgewaschen, abgesaugt und das Filtrat zur Prüfung auf Lysin zurückgestellt. Nachdem der ebengenannte Niederschlag mit Schwefelsäure und Schwefelwasserstoff zerlegt und die überschüssige Schwefelsäure wiederum durch Baryt weggeschafft worden waren, wurde schwach mit HNO_3 angesäuert. Silbernitrat erzeugte eine graubraune Fällung. Mit Schwefelwasserstoff zerlegt, lieferte dieselbe nach dem Abfiltrieren vom abgeschiedenen Schwefelsilber beim Eindunsten einen bräunlichen Syrup. Durch Ausschütteln mit Chloroform ließ sich kein freies Jod nachweisen, wohl aber nach der Behandlung mit einigen Tropfen roter Salpetersäure. Ich vermute, daß es sich um unreine Jodgorgosäure handelt. Das wenige Material erlaubte keine Reinigung und unreine Jodgorgosäure krystallisiert sehr schwer, wie ich mich überzeugt habe. Dennoch glaube ich sagen zu dürfen, daß, dem mikroskopischen Bild einiger Kryställchen nach zu urteilen, die sich bei langem Stehen ausgeschieden hatten, die Jodgorgosäure auch bei der Säurespaltung in geringer Menge gebildet wird.

Das Filtrat von dem obengenannten geringfügigen Silberniederschlag (der also augenscheinlich jodgorgosaures Silber enthielt) war weiter auf Histidin und Arginin zu untersuchen. Es wurde daher mit Barytwasser versetzt, bis eine Probe mit ammoniakalischer Silbernitratlösung keine Fällung mehr gab. Der so erzeugte Niederschlag wurde in schwefelsäurehaltigem Wasser suspendiert, Schwefelwassertoff eingeleitet, dann die Schwefelsäure durch Baryt und der letztere durch Kohlensäure entfernt. Eine Probe des resultierenden Filtrats gab mit Sublimat die für Histidin charakteristische Fällung. Aus der Hauptmenge wurde mit ammoniakalischer Silberlösung das Histidin ausgefällt. Um das Histidinsilber analytisch als solches zu kennzeichnen, war die Menge zu klein. Als es

aber mit Salzsäure zerlegt worden war, schieden sich aus dem eingeeengten Filtrat vom AgCl die schönen rhombischen Täfelchen des Histidindichlorids ab. Sie wurden nochmals in wenig konzentrierter Salzsäure gelöst und mit absolutem Alkohol gefällt. Nach dem Waschen und Trocknen zeigte die Verbindung den Zersetzungspunkt 230° . Kutscher gibt dafür $231\text{--}233^{\circ}$ an.¹⁾

Aus dem Filtrat der erstmaligen Abscheidung des Histidinsilbers ließ sich durch Sättigung mit Baryt ein Niederschlag erhalten, der nach der Zerlegung und Befreiung von Silber und Baryum eine alkalisch reagierende Lösung lieferte, die genau mit Salpetersäure neutralisiert wurde und beim Eindampfen und Stehen im Exsiccator bald völlig zu einem Brei der charakteristischen kreideartigen Scheibchen des neutralen Argininnitrats erstarrte. Das Rohprodukt wog ca. 3 g. Aus 85 %igem Alkohol ließ es sich gut reinigen.

Zur weiteren Identifizierung wurde ein Teil davon durch Kochen mit Kupferkarbonat in das Kupfernitratsdoppelsalz verwandelt. Die schön krystallisierenden dunkelblauen Nadeln gaben nach dem Entwässern bei 110° folgendes Analysenergebnis:

0,3408 g lieferten	0,0496 g CuO,
	entsprechend 0,0396 g Cu.
Berechnet für $(C_8H_{14}N_4O_3)_2Cu(NO_3)_2$	11,83 % Cu
Gefunden	11,62 %

Im Schmelzpunktröhrchen zersetzte sich die entwässerte Verbindung bei $232\text{--}234^{\circ}$, entsprechend den Angaben von Gulewitsch.²⁾

Die auf Lysin zu prüfende Flüssigkeit³⁾ wurde in folgender Weise behandelt. Zunächst mußten Baryum und Silber entfernt, und die Lösung auf 5 % Schwefelsäure gebracht werden. Phosphorwolframsäure erzeugte jetzt einen reichlichen Niederschlag. Nach dessen Zerlegung und Befreiung der resultierenden Flüssigkeit von den letzten Spuren

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 383.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 197.

3) cf. S. 65.

Baryts wurde bis zum dicken Syrup eingedampft und derselbe mit alkoholischer Pikrinsäure angerührt. Die Menge des rohen Lysinpikrats betrug 3,9 g. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren wurde es gereinigt und bildete sehr feine verfilzte Nadelchen. Im Schmelzpunktröhrchen zersetzten sie sich bei 230—232°.

Das Pikrat wurde zum Teil in das Chlorid verwandelt und zu diesem Zweck in heißem Wasser gelöst und mit konzentrierter Salzsäure versetzt. Das Filtrat der dabei abgeschiedenen Pikrinsäure wurde mehrfach mit Äther ausgeschüttelt, um die letzten Anteile der Pikrinsäure zu entfernen, worauf beim Abdampfen das Chlorid in schön ausgebildeten Prismen hinterblieb. Dieselben wurden bei ca. 193° weich und schmolzen gegen 195°. Henderson¹⁾ gibt den Fp. 192—193° an.

Damit ist das Vorkommen der drei Hexonbasen unter den mit Schwefelsäure entstehenden Spaltungsprodukten des Gorgonins erwiesen.

Um zu konstatieren, ob durch die Fällung mit Phosphorwolframsäure etwa auch Monoaminosäuren mit zur Abscheidung gelangen, habe ich noch das Filtrat vom phosphorwolframsauren Lysin untersucht. E. Schulze und Winterstein²⁾ haben gezeigt, daß dies in Bezug auf Leucin und Tyrosin augenscheinlich nicht der Fall ist, während über das Verhalten des Phenylalanins, das nach ihren Beobachtungen aus einer 5%igen Schwefelsäurelösung durch Phosphorwolframsäure-zusatz fällt, noch nichts mit absoluter Sicherheit gesagt werden konnte.

Aus diesem Grunde wurde zunächst aus dem Filtrat von der Lysinfällung die Phosphorwolframsäure und dann das Baryum weggeschafft. Beim Konzentrieren der Filtrate schied sich eine kleine Quantität eines Krystallbreies ab, der aus Nadelchen bestand. Dieselben gaben die Millonsche Reaktion. Ich kann leider bei der geringen zur Verfügung stehenden Menge nicht sagen, ob diese Reaktion lediglich durch eine Verunreinigung von Tyrosin bedingt war, oder ob die ganze

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 321.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 574.

Menge aus Tyrosin bestand. Die unter dem Mikroskop sehr einheitlich erscheinende Krystallmasse wurde zu einer Stickstoffbestimmung verwandt.

0,0570 g bei 100° getrocknet	verbrauchten 3,6 ccm n ₁₉ HCl, d. h.
die Substanz enthält	8,84 % N
Berechnet für Tyrosin	7,73 % »
» » Phenylalanin	8,48 % »

Allein hieraus auf das Vorhandensein von Phenylalanin schließen zu sollen, wage ich nicht. Die Frage bleibt deshalb noch offen.

B. Untersuchung des Filtrats vom Phosphorwolframsäureniederschlag.

Aus dem Filtrat der phosphorwolframsauren Hexonbasen war zunächst die Phosphorwolframsäure durch Baryumhydrat und der Überschuß des letzteren durch Kohlensäure entfernt worden. In Anbetracht der geringen Menge der voraussichtlich vorhandenen Monoamidosäuren (das Gewicht des angewandten Gorgonins betrug 50 g) schien es nicht durchführbar, eine Trennung derselben nach dem E. Fischerschen Veresterungsverfahren vorzunehmen. Es wurde deshalb versucht, soweit als möglich durch fraktionierte Krystallisation Aufschluß über die vorhandenen Aminosäuren zu bekommen.

Die erste Krystallfraktion bestand nach der mikroskopischen Untersuchung aus rosettförmig gelagerten Prismen von völlig einheitlichem Habitus. Nach Reinigung aus ammoniakalischem Alkohol deuteten sowohl Krystallform als Xanthoprotein- und Millonsche Reaktion auf Tyrosin. Eine Stickstoffbestimmung bestätigte dies.

Gefunden	7,60 % N
Berechnet	7,73 % »

Das Filtrat von Krystallfraktion I wurde weiter eingeeengt, worauf nach einigen Tagen eine zweite sandige Abscheidung erfolgt war. Unter dem Mikroskop zeigten sich neben den charakteristischen Tyrosinformen eigentümliche sechsseitige Täfelchen. Die Vermutung, es mit Cystin zu tun zu haben, lag sehr nahe bei dem hohen Schwefelgehalt des Gorgonins.

Die Krystallfraktion wurde zunächst mit wenig Wasser ausgekocht und die beim Eindunsten erhaltene sehr geringe Abscheidung mikroskopisch auf Leucin untersucht. Es konnte nichts von dessen Vorkommen entdeckt werden. Die ganze Krystallfraktion II wurde nunmehr aus verdünntem Ammoniak fraktioniert krystallisiert, wobei sich sämtliche anfangs vorhandenen gewesenen sechsseitigen Täfelchen in die büschelförmigen Nadelchen des Tyrosins verwandelten. Auch zeigte keine der getrennten Krystallabscheidungen eine Schwefelbleireaktion, die auf die Anwesenheit von Cystin hätte schließen lassen. Das Rohgewicht an Tyrosin aus Fraktion I und II betrug ca. 2,5 g.

Die Mutterlauge von Fraktion II gab bei weiterem Einengen und Stehenlassen noch eine sehr geringe Menge eines in Blättchen krystallisierenden Körpers, der durch Tyrosin verunreinigt war. Durch Umkrystallisieren aus ammoniakalischem Alkohol wurde das letztere so gut als möglich entfernt und der Rest mit frischgefälltem Kupferhydroxyd gekocht. Die Menge des dabei gebildeten schwerlöslichen Kupfersalzes reichte gerade aus, um nach nochmaliger Reinigung aus Wasser eine Kupferbestimmung zu machen.

0,2102 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0514 g CuO, entsprechend 0,0411 g Cu.

Gefunden	19,52 % Cu
Berechnet für Leucin	19,51 %

Damit ist das Vorkommen von Leucin unter den Spaltungsprodukten des Gorgonins erwiesen. Jedenfalls tritt es besonders gegenüber dem Tyrosin nur in sehr geringer Quantität auf.

In dieser Beziehung stimmt das Gorgonin mit den Keratinen überein, die ebenfalls neben grossen Tyrosinmengen nur wenig oder kein Leucin liefern sollen.

Die dickflüssige Mutterlauge der III. Krystallfraktion zeigte keine weitere Tendenz zur Krystallisation. Da, wie unten gezeigt werden wird, das Glycocoll bei der Barytspaltung des Gorgonins in sehr bedeutenden Quantitäten gebildet wird, war es von Interesse, zu entscheiden, ob auch die Säurespaltung diesen Körper liefert. Der Nachweis sollte durch Abscheidung des Glycocolls in Form seines salzsauren Esters versucht

werden. Die genannte Mutterlauge wurde daher im Vacuum bis zu dickem Syrup konzentriert und nach dem Übergießen mit dem dreifachen Volumen absoluten Alkohols mit trockenem Salzsäuregas gesättigt und zuletzt noch 1 Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Die Flüssigkeit blieb 24 Stunden im Eisschrank stehen und schied auch nach Einimpfen eines Krystalles von salzsaurem Glycocollester nichts ab. Allem Anschein nach wird also Glycocoll bei der Säurespaltung des Gorgonins nicht oder wenigstens in nicht nachweisbarer Menge gebildet.

Zur weiteren Untersuchung wurde die alkoholische Lösung der Ester im Vacuum bei niedrigerer Temperatur verdunstet und aus dem Rückstand die Ester aus ihren Chlorhydraten durch Natronlauge und Kaliumcarbonat abgeschieden und sofort in Äther aufgenommen. Durch Kochen mit Baryumhydrat wurden die beim Abdunsten des Äthers hinterbleibenden Ester verseift. Durch genaues Ausfällen des Baryums mit verdünnter Schwefelsäure resultierte eine alkalisch reagierende Flüssigkeit, aus der beim Abdampfen nur sehr wenige Krystallblättchen auskrystallisierten. Mit Asparaginsäure konnten sie nicht identifiziert werden. Die Kryställchen samt Mutterlauge wurden nun mit frischgefälltem Kupferhydroxyd gekocht. Es entstand zwar dabei eine nicht sehr tiefblau gefärbte Lösung, die jedoch weder beim Erkalten, noch beim Konzentrieren ein schwerlösliches Kupfersalz lieferte. Die sehr schwerlöslichen asparagin- oder glutaminsauren Kupfersalze hätten bei Anwesenheit jener Säuren jedenfalls hier auftreten müssen.

Das Resultat der Spaltung des Gorgonins mit verdünnter Schwefelsäure ist demnach folgendes:

Es werden gebildet: die drei Hexonbasen und zwar in sehr geringer Menge Histidin, reichlich Arginin und Lysin. Von den Monoaminosäuren treten reichlich auf: Tyrosin; in verschwindendem Maße: Leucin. Nicht mit absoluter Sicherheit konnten nachgewiesen werden: Phenylalanin und Jodgorgosäure. Nebenbei liefert die Zersetzung grosse Quantitäten freien Jods neben Schwefelwasserstoff und Ammoniak.

Folgende Verbindungen scheinen zu fehlen, da sie trotz

darauf gerichteter Untersuchung nicht entdeckt werden konnten. Es sind Glycocoll, Cystin und wohl auch Asparagin- und Glutaminsäure.

II. Spaltung des Gorgonins mit Barytwasser.

Die Menge des für diese Untersuchung zu Gebote stehenden Materials bestand im ganzen aus ca. 170 g lufttrockenem Gorgonin, das in 3 Portionen getrennt verarbeitet wurde. In erster Linie kam es auf die Auffindung der Jodgorgosäure an. Der erste und zweite Spaltungsversuch führte nicht zum Ziel, weshalb später ein klein wenig von der Drechselschen Methode abgewichen wurde. Auf jeden Fall ist es nicht leicht, auch nur kleine Mengen der fraglichen Substanz in reinem Zustand zu isolieren. Konzentration des Barytwassers und Dauer des Kochens haben sicherlich großen Einfluß auf die Ausbeuten. Es ist mir jedoch unmöglich, einstweilen darüber etwas Definitives auszusagen.

A. Darstellung der Jodgorgosäure.

Ich erwähne hier auch die ersten mißglückten Versuche, da bei einem derselben eine offenbar chlorhaltige, schön krySTALLisierte Verbindung gefaßt werden konnte. In allen Fällen wurde wie folgt verfahren:

Das Gorgonin (im ersten Versuch waren es 50 g) wurde mit heißgesättigtem Barytwasser übergossen und dieses zum ganz schwachen Sieden gebracht. Bereits nach 1—1½ Stunde hatten sich die Stengel völlig gelöst. Durch Einleiten von Kohlensäure wurde der Baryt entfernt und das ausgefällte Baryumcarbonat mehrfach mit heißem Wasser ausgezogen und fest abgesaugt. Das Filtrat ist tiefbraunrot, die Farbe rührt jedoch nicht von freiem Jod her, wie man sich durch Ausschütteln mit Chloroform überzeugen kann. Es wird dagegen sofort nachweisbar, wenn man eine Probe der Flüssigkeit mit einigen Tropfen roter Salpetersäure behandelt.

Die Lösung wurde nunmehr, entsprechend dem Verfahren Drechsels, mit Silbernitrat völlig ausgefällt. Der entstandene graue Niederschlag wurde nach dem Waschen mit etwas

Wasser mit verdünnter Salpetersäure behandelt, wobei er sich bis auf einen aus Chlorsilber und Jodsilber bestehenden Niederschlag zu einer braunroten, stark jodähnlich riechenden Flüssigkeit löste. Trotzdem ist in derselben kein freies Jod nachzuweisen. Durch Neutralisation mit verdünntem Ammoniak wird der graue Niederschlag von neuem hervorgerufen und nunmehr gut mit Wasser und zuletzt mit verdünntem Alkohol ausgewaschen.

Nach Drechsels Angabe wurde dieses Silbersalz mit Salzsäure zerlegt und zwar wurde soviel der verdünnten Säure zugesetzt, daß dieselbe eben durch Kongopapier nachweisbar war. Das tiefgefärbte Filtrat vom abgeschiedenen Chlorsilber hinterließ beim Konzentrieren immer dickliche Syrupe, wie dies auch Oswald bei Spaltung des Jodalbumins und Jodothyrens beobachtete, und alle Bemühungen, dieselben durch wiederholtes Lösen in Wasser, Stehenlassen mit Alkoholzusatz (cfr. Drechsel) etc. zum Krystallisieren zu bringen, schlugen fehl. Bei einem zweiten Versuch wurde die braungefärbte Flüssigkeit eine Zeit lang mit gut gereinigter Tierkohle gekocht. Der beim Abdunsten des Wassers hinterbliebene Rückstand löste sich teilweise in heißem Alkohol und wurde mit Äther gefällt. Nach zweimaliger Wiederholung dieser Operation wurde die Fällung in viel warmem Alkohol gelöst und langsam im Exsiccator über Schwefelsäure abgedunstet. Auf diese Weise gelang es, eine kleine Quantität einer in langen, glasellen Prismen krystallisierenden Substanz zu gewinnen, die nochmals aus Alkohol gereinigt wurde. Die Verbindung war sehr leicht in Wasser löslich, verbrannte ohne Rückstand und reagierte stark sauer auf Lackmus. Mit Silbernitrat gab sie einen weißgelblichen Niederschlag, der sich aber in wenigen Sekunden tief rotbraun färbte, jedenfalls unter Zersetzung. Die Probe auf Stickstoff durch Schmelzen mit Kalium etc. fiel negativ aus. Schon diese Reaktionen zeigten, daß man es nicht mit Jodgorgosäure zu tun hatte. Auffällig ist, daß die Substanz chlorhaltig ist. Als der kleine noch zur Verfügung stehende Rest im Einschlußrohr nach Carius mit Salpetersäure zersetzt wurde, schied sich weißes Chlorsilber ab.

0.0671 g vacuumtrockener Substanz gaben 0.00639 g AgCl.
Gefunden und auf Chlor berechnet: 2.55% Cl.

Ich möchte nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß das Gorgonin nach Drechsels Bestimmung neben Jod, auch einen Gehalt von 2,18% Chlor besitzt, daß also das Gorgonin ein gleichzeitig chlor- und jodhaltiges Albuminoid ist. Sollte sich demnach die Existenz der fraglichen Säure bestätigen, so wäre dieselbe als ein chlorhaltiges Spaltungsprodukt des Gorgonins aufzufassen.

Der Körper, welcher die von Drechsel beschriebenen Eigenschaften seiner Jodgorgosäure aufwies, wurde schließlich in der Weise erhalten, daß eine neu dargestellte Portion des obengenannten Silberniederschlags in heißem Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Das Filtrat vom Schwefelsilber war nur sehr wenig gefärbt. Trotzdem wurde es noch mit Tierkohle behandelt und dann eingeeengt. Schon in der Wärme fielen dabei Krystalle aus. Die Abscheidung war beim Erkalten so vollständig, daß die Mutterlaugen beim Abdampfen kaum einen Rückstand hinterließen. Die Substanz, die demnach in Wasser sehr schwer löslich ist, wurde mehrfach daraus umkrystallisiert. Sie behält trotzdem einen schwachen Stich ins Gelbliche und bildet eigentümlich lanzettförmige, lang zugespitzte Krystalle, die meist zu Drusen verwachsen sind. Der Schmelzpunkt wurde zu 205° bestimmt, wobei spontane Zersetzung eintritt. Die Verbindung ist jodhaltig, wie die unten angegebene Analyse beweist. In Alkalien, auch Soda, löst sie sich leicht und wird beim Neutralisieren wieder ausgefällt. Mineralsäuren liefern salzartige Verbindungen. So hinterbleibt beim Abdunsten einer Lösung von Jodgorgosäure in Salzsäure das Chlorhydrat in runden Drusen, die unter dem Mikroskop den unreinen Formen des Leucins ähneln. Drechsel gibt an, daß sich das Chlorhydrat mit Wasser zersetze und dabei Krystalle der freien Säure ausfallen. Ich konnte diese Beobachtung nicht machen. Raucht man einige Kryställchen der Säure auf einem Platinblech vorsichtig mit Salpetersäure ab, so hinterbleibt ein stark gelbgefärbter Fleck, der mit Ammoniak oder Natronlauge tief gelb-

rot wird. Diese Xanthoproteinreaktion deutet zweifellos darauf hin, daß die Jodgorgosäure einen aromatischen Komplex enthält. Sie kann keine einfache Säure der Fettreihe sein. Auch die analytischen Daten beweisen entschieden, daß man es nicht mit einer Jodaminobuttersäure zu tun hat, wie Drechsel meinte.

Die Millonsche Reaktion fiel negativ aus. Damit ist jedoch keineswegs bewiesen, daß die Jodgorgosäure nicht doch vielleicht ein Tyrosinderivat ist. Bekanntlich ist von mehreren Seiten¹⁾ die Ansicht geäußert worden, daß Eiweiß, welches durch Einführung von Halogen die Millonsche Reaktion verliert, das Halogen in den Tyrosinkomplex aufnimmt. Das Ausbleiben der genannten Reaktion erklärt sich nach Blum und Vaubel sehr einfach. Sie wiesen nach, daß Tyrosin, in dem die beiden Ortho- oder beiden Metastellungen zum Hydroxyl durch Halogene substituiert sind, die Millonsche Reaktion nicht mehr gibt.

Es wäre interessant, der Jodgorgosäure durch Erhitzen in wässriger Lösung unter Druck das Jod zu entziehen und zu prüfen, ob dann vielleicht die Millonsche Reaktion eintritt. Auf diese Weise ließe sich wohl am leichtesten konstatieren, ob die aromatische Gruppe, deren Vorhandensein durch die Xanthoproteinreaktion ziemlich sicher anzunehmen ist, Beziehungen zum Tyrosinkomplex hat. Substanzmangel erlaubte einstweilen nicht, diese Frage zu entscheiden.

Es sei noch erwähnt, daß sich mit dem ungespaltenen Gorgonin die Millonsche Reaktion nicht anstellen läßt, da die Substanz an und für sich zu stark gefärbt ist.

Der noch zur Verfügung stehende Rest an reiner Säure reichte leider nur zu zwei Analysen. Ich habe deshalb zunächst eine Jodbestimmung gemacht, da die von Drechsel angegebene nach seiner eigenen Meinung ungenau ist. Andererseits wurde eine Stickstoffanalyse nach Dumas ausgeführt. Es fehlte bisher eine solche, und Drechsel nahm bei der Auf-

¹⁾ Hofmeister, Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 159; Blum und Vaubel, Zeitschr. f. pr. Chem., N. F., Bd. 57, S. 365.

stellung seiner Formel den Prozentgehalt an Stickstoff einfach willkürlich an.

Die Substanz wurde bei 100° getrocknet. Das vorher im Vacuum konstant gewordene Gewicht änderte sich dabei nicht.

Nach Carius im Bombenrohr zersetzt, lieferten:

0,1151 g Substanz 0,1221 g AgJ entsprechend 0,06597 g J.

Gefunden: 57,32 % Jod.

0,1714 g Substanz gaben 5,50 ccm N (16°, 769 mm).

Gefunden: 3,78 % N.

Im folgenden sind die von Drechsel und mir gefundenen analytischen Daten zusammengestellt. Zum Vergleich stehen daneben die für eine Jodaminobuttersäure berechneten Werte. Daraus dürfte hervorgehen, daß der Jodgorgosäure eine derartige Konstitution nicht zukommen kann.

	Drechsel	Henze	Berechnet für Jodaminobutter- säure
C	20,99	fehlt	20,96
H	4,04	fehlt	3,49
N	fehlt	3,78	6,11
J	52,46 (?)	57,32	55,46

Eine Formel aus dem einstweilen vorliegenden Analysenmaterial abzuleiten, halte ich für zwecklos.

B. Entstehen bei der Barytspaltung neben der Jodgorgosäure Hexonbasen?

Das Filtrat¹⁾ der erstmaligen Fällung des jodgorgosauren Silbers²⁾ wurde von dem Überschuß des Silbernitrats durch Schwefelwasserstoff befreit und auf ca. 500 ccm eingedampft. Phosphorwolframsäure erzeugte in der auf 5% Schwefelsäure gebrachten Lösung einen Niederschlag, der in der gewöhnlichen

1) Zur Verarbeitung kamen die vereinigten Filtrate, welche aus drei verschiedenen Barytzersetzungen von insgesamt ca. 90 g Gorgonin stammten.

2) cf. S. 71.

Weise zerlegt und nach Kossels Vorschrift¹⁾ auf die Hexonbasen geprüft wurde. Es wurde demnach versucht, zunächst Histidin und Arginin in Form ihrer Silbersalze bei Gegenwart von Baryumhydrat abzuscheiden. Aus dem entstandenen Niederschlag wurden Silber und Baryum entfernt und eine in der bekannten Weise erzeugte und eventuell für Histidinsilber anzusprechende geringfügige Fällung auf Histidindichlorid verarbeitet. Es ließ sich jedoch keine für Histidindichlorid charakteristische Krystallisation erhalten. Es resultierte ein nicht krystallisierender Rückstand, der beim Behandeln mit Salpetersäure Jodreaktion gab. Es war vielleicht eine kleine Menge vorher nicht völlig abgeschiedener Jodgorgosäure.

Bei weiterer Verfolgung des Kosselschen Trennungsvorgangs wurde eine geringe Fällung isoliert, die derjenigen des Argininsilbers entsprach. Die nähere Untersuchung lieferte jedoch weder die charakteristischen Formen des Argininnitrat, noch die des Kupfernitrattoppelsalzes, obwohl Kupfercarbonat von der fraglichen Verbindung gelöst wurde.

Die Frage nach der Entstehung von Histidin und Arginin bei der Barytspaltung dürfte daher im verneinenden Sinne zu beantworten sein. Anders verhält es sich mit der Bildung des Lysins.

Das Filtrat von dem durch Silbernitrat und Baryumhydrat bewirkten Niederschlag gab nach Entfernung der im Überschuß zugesetzten Fällungsmittel mit Phosphorwolframsäure bei Schwefelsäuregegenwart einen Niederschlag. Derselbe lieferte nach der Zerlegung eine Flüssigkeit, aus der sich nach dem Abdampfen mit alkoholischer Pikrinsäurelösung ein Pikrat gewinnen ließ, welches alle Eigenschaften des inaktiven Lysin-pikrats zeigte. Die in Alkohol kaum, in heißem Wasser leicht lösliche Verbindung bildete im Gegensatz zu den feinen seidenglänzenden Nadelchen der aktiven Modifikation kurze derbe Kryställchen, die bei 230° unter Zersetzung schmolzen.²⁾ Die Stickstoffbestimmung ist leider verloren gegangen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 170.

²⁾ Vergl. E. Fischer, Ber. d. chem. Ges., Bd. 35, S. 3775.

Das Filtrat vom phosphorwolframsauren Lysin hinterließ nach Ausfällung der Phosphorwolframsäure beim Eindampfen eine kleine Quantität eines alkalisch reagierenden Syrups. Es wäre möglich gewesen, in demselben Ornithin, entstanden durch Spaltung primär gebildeten Arginins, zu finden. Der Versuch, dasselbe durch Abscheidung mittels Phenylisocyanat nachzuweisen, fiel negativ aus.

C. Die bei der Barytspaltung gebildeten Monoaminosäuren.

Das Filtrat des ersten Phosphorwolframsäureniederschlags¹⁾ wurde nach Befreiung von der Phosphorwolframsäure eingengt und der Krystallisation überlassen. Es ließen sich drei Krystallfraktionen erhalten, die sämtlich aus Tyrosin bestanden. Leucin war auf mikroskopischem Wege nicht zu entdecken. Um dennoch einen weiteren Anhalt für die An- oder Abwesenheit dieser Verbindung zu haben, wurden die vereinigten Krystallfraktionen mit Eisessig ausgekocht. Beim Abdunsten desselben blieb ein kaum nennenswerter Rückstand, der in keiner Weise auf Leucin schließen ließ. Bekanntlich gelingt es nach einer neueren Arbeit von Habermann und Ehrenfeld²⁾ sehr leicht, Leucin und Tyrosin auf diesem Wege zu trennen.

Das Tyrosin wurde durch seine Krystallform, seine Reaktionen und durch eine Kjeldahlbestimmung charakterisiert.

0,1461 g verbrauchten 7,90 n₁₀ HCl.

Gefunden: 7,57% N

Berechnet: 7,73%

Die von den Tyrosinfraktionen abgesaugte Mutterlauge wurde weiter auf Glutaminsäure untersucht. Sie wurde mit Salzsäuregas gesättigt und zur Krystallisation gestellt. Es erfolgte jedoch keine Abscheidung von salzsaurer Glutaminsäure.

Die Flüssigkeit wurde deshalb unter vermindertem Druck zum dicken Sirup eingedampft, der letztere mit absolutem Alkohol übergossen und nach E. Fischer verestert. Beim

¹⁾ cf. S. 75.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 18.

Stehen in der Kälte schied sich ein dicker Krystallbrei von salzsaurem Glycocollester aus, der ca. 8 g wog (erhalten aus etwa 80 g Gorgonin). Die abgesaugte und zweimal aus verdünntem Alkohol umkrystallisierte Verbindung zeigte den scharfen Schmelzpunkt 144°.

Das reichliche Vorkommen von Glycocoll unter den Spaltungsprodukten des Gorgonins mit Barythydrat, im Gegensatz zu dem Fehlen dieser Verbindung bei der Säurespaltung, ist jedenfalls bemerkenswert. Meines Wissens ist dadurch auch zum ersten Mal das Auftreten von Glycocoll unter den Spaltungsprodukten eines Eiweißkörpers mit Barythydrat bewiesen.

Aus der vom salzsauren Glycocollester abfiltrierten Flüssigkeit wurden die Ester nach dem Verjagen des Alkohols im Vacuum nach der bekannten E. Fischerschen Methode abgeschieden¹⁾. Die zunächst erhaltene ätherische Lösung hinterließ nach dem Trocknen mit Natriumsulfat allerdings nur eine geringe Menge einer dicklichen, gefärbten Flüssigkeit, die aber dennoch in 3 Fraktionen zerlegt werden konnte. Leider hat die Untersuchung derselben kein definitives Resultat geliefert. Trotzdem soll darüber berichtet werden.

Fraktion I enthielt die bis 60° (8 mm Druck) übergehenden Anteile. Die dickliche Flüssigkeit wurde durch Kochen mit Wasser verseift. Beim Eindampfen krystallisierte eine sehr einheitlich aussehende, aus weißen Nadelchen bestehende Verbindung aus, die in Wasser ziemlich leicht löslich war. Leider ist gerade dieser Körper, der allem Anschein nach Phenylalanin zu sein schien, durch ein Mißgeschick verloren gegangen.

Fraktion II (60—80°): Nach der Verseifung mit Wasser resultierte eine sehr leicht in Wasser lösliche Krystallisation, die aus anscheinend zwei Krystallformen bestand. Ein Versuch, mittels Phenylisocyanat zu einem Derivat zu gelangen, welches zu identifizieren gewesen wäre, mißlang. Auf die Untersuchung eines in Nadelchen krystallisierenden Körpers vom Fp. 286° mußte wegen der geringen Quantität verzichtet werden.

Fraktion III (80—100°) wurde mit Barytwasser verseift.

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIII, S. 151.

Die von Baryum befreite Flüssigkeit schied beim Einengen weiße, in Wasser schwer lösliche Blättchen ab. Ein aus dieser Verbindung durch Kochen mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd dargestelltes Kupfersalz, das sehr schwer in Wasser löslich war, hatte nach dem Trocknen im Vacuum folgenden Kupfergehalt:

0,0982 g Substanz lieferten: 0,0160 g CuO.

Gefunden: 13,01 % Cu.

Die Spaltung des Gorgonins mit Barytwasser ergab zusammengefaßt folgendes Resultat: Es entstehen neben Ammoniak Jodgorgosäure in sehr geringer Ausbeute, Tyrosin und Glycocoll in grosser Menge. Zu fehlen scheinen Leucin, sowie Glutamin- und Asparaginsäure. Daneben ist das Auftreten einer chlorhaltigen, krystallisierenden Substanz von saurem Charakter mit ziemlicher Sicherheit anzunehmen. Es ist zweifellos, daß auch nicht amidierte Säuren bei dieser Art der Zersetzung gebildet werden. Ihre Aufsuchung ist unterblieben.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß die durch Baryt als auch durch Schwefelsäure gebildeten Zersetzungsflüssigkeiten mehrfach auf das Vermögen, Fehlingsche Lösung zu reduzieren, geprüft wurden. Das Resultat war stets negativ. Das Gorgonin dürfte demnach keine Kohlehydratgruppe im Molekül enthalten.