

Nachtrag zur Hydrolyse des Caseins und Seidenfibroins durch Säuren.

Von
Emil Fischer.

(Aus dem I. Chem. Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Juni 1903.)

Auf die Bedeutung der Oxyaminosäuren als Spaltungsprodukte der Proteinstoffe habe ich früher wiederholt hingewiesen und mit Hilfe der verbesserten Erkennungsmethoden war es nicht schwer, ihre weite Verbreitung festzustellen.

Das früher nur aus dem Seidenleim isolierte Serin wurde zuerst im Seidenfibroin,¹⁾ dann im Horn²⁾ aufgefunden und seither haben weitere Untersuchungen aus dem hiesigen Institut gezeigt, daß es auch im Oxyhämoglobin,³⁾ Serumalbumin⁴⁾ und Edestin⁵⁾ vorkommt.

Seltener ist die Oxypyrrolidincarbonsäure, die ich zuerst aus Gelatine gewann,⁶⁾ wieder aufgefunden worden, aus dem einfachen Grunde, weil ihr Nachweis ziemlich schwierig ist.

Da nun beim Casein die neuen Methoden zur Erkennung und Trennung der Aminosäuren vorzugsweise ausgearbeitet worden sind,⁷⁾ so schien es mir nicht überflüssig, auch hier auf die Anwesenheit der beiden Oxysäuren zu prüfen.

¹⁾ Emil Fischer und Aladar Skita, Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 221.

²⁾ Emil Fischer und Th. Dörpinghaus, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 462.

³⁾ Emil Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 484.

⁴⁾ Emil Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 495.

⁵⁾ Emil Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 499.

⁶⁾ Ber. der deutsch. chem. Ges., Bd. 35, S. 2660.

⁷⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 151.

Serin und Oxy- α -pyrrolidincarbonsäure aus Casein.

Zum Nachweis des Serins diene vorzugsweise die Fraktion der Ester, die bei 0,25 mm Druck zwischen 95 und 130° siedet. Ihre Menge betrug 110 g aus einem Kilo Casein (nach Hammarsten). Als sie mit der 20fachen Menge Petroläther vermischt wurde, entstand eine ölige Fällung, die nach einiger Zeit mechanisch abgetrennt wurde. Sie enthält die Ester des Serins, der Asparagin- und Glutaminsäure und wenig Phenylalaninester.

Ihr Gewicht betrug 32 g; sie wurde zunächst mit Äther vermischt und dann mehrmals mit dem gleichen Volumen Wasser durchgeschüttelt. Das Phenylalanin und kleinere Mengen von Glutamin- und Asparaginsäureester bleiben in dem Äther. Der Serinester wird dagegen neben dem Rest von Glutamin- und Asparaginsäureester durch das Wasser aufgenommen. Zur Verseifung wird die wässrige Lösung mit überschüssigem Barytwasser zwei Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, dann der Baryt mit Schwefelsäure quantitativ ausgefällt und das Filtrat mit überschüssigem Kupferoxyd gekocht; beim Abkühlen scheidet sich aus der filtrierten tiefblauen Lösung das schwerlösliche asparaginsäure Kupfer ab. Die Mutterlauge enthält das Serinkupfer, außerdem noch ziemlich viel glutaminsäures Kupfer neben wenig asparaginsäurem Salz. Das Kupfer wird mit Schwefelwasserstoff ausgefällt, das Filtrat im Vacuum eingengt und aus dem Rückstand durch sehr konzentrierte Salzsäure die Glutaminsäure ausgefällt. Nachdem die Krystallisation des Hydrochlorates bei 0° möglichst vollständig geworden ist, wird filtriert und aus der Mutterlauge durch Eindampfen im Vacuum und Behandeln mit Silbercarbonat die Salzsäure entfernt. Aus dem stark eingedampften Filtrat scheidet sich das Serin ab und wird durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt. Seine Menge betrug 3,4 g aus einem Kilo Casein; weitere 0,9 g wurden auf dieselbe Art aus der Fraktion 60—95° gewonnen, so daß die Gesamtausbeute 4,3 g betrug. Das entspricht noch nicht ganz 0,5% vom angewandten Casein. In Wirklichkeit ist die Menge aber wohl erheblich größer, da bei der Abscheidung der Ester und der späteren

Isolierung der freien Säuren grade für die Oxyaminosäuren erhebliche Verluste unvermeidlich sind.

Das reine Produkt schmolz bei 241° (korr.) und gab folgende Zahlen:

0,2001 g Substanz gaben 0,2500 g CO₂ und 0,1215 g H₂O.

0,1620 g Substanz gaben 18,4 ccm N bei 17° und 758 mm.

Berechnet C₅H₇O₃N: 34,30% C, 6,67% H, 13,30% N.

Gefunden 34,07% C, 6,75% H, 13,18% N.

Es zeigte auch in Krystallform, Geschmack und Löslichkeit die Eigenschaften des Serins und gab wie dieses eine β-Naphtalinsulfoverbindung, die den richtigen Schmelzpunkt 214° besaß.

Zum Nachweis der Oxy pyrrolidincarbonsäure unter den Spaltungsprodukten des Caseins wurde dasselbe Verfahren wie beim Leim benutzt,¹⁾ dessen Beschreibung deshalb hier überflüssig erscheint. Ein Kilo Casein gab allerdings nur 2,3 g reine krystallisierte Säure vom Schmelzpunkt 270°, aber ihre Menge dürfte auch erheblich größer sein, da die Abscheidung keineswegs quantitativ ist.

Die Analyse der Säure gab folgende Zahlen:

0,1446 g Substanz gaben 0,2420 g CO₂ und 0,0141 H₂O.

0,1665 g Substanz gaben 16,1 ccm N bei 22° und 758 mm.

Berechnet C₅H₉O₃N: 45,80% C, 6,86% H, 10,69% N.

Gefunden 45,64% C, 7,03% H, 10,92% N.

Zur weiteren Charakteristik diene die β-Naphtalinsulfoverbindung,²⁾ die bei 90—91° schmolz und folgende Zahlen lieferte:

0,1529 g Substanz gaben 0,2991 g CO₂ und 0,0701 H₂O.

Berechnet C₁₅H₁₅O₅N S + H₂O: 53,09% C, 5,01% H.

Gefunden 53,34% C, 5,09% H.

α-Pyrrolidincarbonsäure aus Seidenfibroin.

Während die gewöhnlichen Eiweißkörper ziemlich erhebliche Mengen von Pyrrolidincarbonsäure bei der Hydrolyse liefern, konnte dieses Spaltungsprodukt beim Seidenfibroin bisher nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Die folgenden Beobachtungen füllen diese Lücke aus.

200 g Seidenfibroin, welches in der früher beschriebenen Weise vom Seidenleim befreit war, wurde mit Schwefelsäure

¹⁾ Ber. der deutsch. chem. Ges., Bd. 35, S. 2660.

²⁾ ibid., Bd. 35, S. 3785.

hydrolysiert,¹⁾ das Tyrosin nach dem Ausfällen der Schwefelsäure durch Krystallisation abgetrennt und die Mutterlauge, welche die übrigen Aminosäuren enthält, im Vacuum zur Trockne verdampft. Zur Isolierung der Pyrrolidincarbonsäure diente ihre Löslichkeit in Alkohol. Das Gemisch der freien Aminosäuren wurde mit 2 l absolutem Alkohol tüchtig ausgekocht. Beim Verdampfen der alkoholischen Lösung blieben 4,2 g eines dicken Sirups, der den charakteristischen Geruch der Fleischbrühe besaß; er wurde mit 40 ccm Alkohol aufgenommen und nach dem Kochen mit Knochenkohle das erkaltete Filtrat vorsichtig mit Äther versetzt, bis die Krystallisation der α -Pyrrolidincarbonsäure eintrat. Von ihr wurden 0,6 g erhalten, die gegen 207° (korr.) schmolzen und die richtige Zusammensetzung zeigten.

0,1755 g Substanz gaben 0,3342 g CO₂ und 0,1281 g H₂O.

Berechnet C₅H₉O₂N: 52,18% C, 7,83% H.

Gefunden 51,93% C, 8,16% H.

Aus der Mutterlauge der Säure fällt auf Zusatz von mehr Äther ein amorphes, stark hygroskopisches Produkt aus, welches mit Wasser gekocht den schon erwähnten charakteristischen Geruch nach Fleischextrakt in hohem Maße zeigte und in dem man eine neue Aminosäure vermuten darf.

Bemerkenswert ist die kleine Quantität der Pyrrolidincarbonsäure im Fibroin, besonders mit Rücksicht auf die ebenfalls sehr geringe Menge der Diaminosäuren. Diese quantitative Beziehung zwischen der cyclischen Säure und den Diaminverbindungen scheint allgemein zu sein und gibt der Vermutung Raum, daß sie einen gemeinsamen Ursprung haben.

Bei der Ausführung obiger Versuche bin ich von Herrn Dr. Th. Dörpinghaus aufs eifrigste unterstützt worden, wofür ich ihm auch hier besten Dank sage.

¹⁾ Emil Fischer und Aladar Skita, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 177.