

Zur Kenntnis des Salmins.

Von
A. Kossel.

Die Protamine enthalten nach meinen früheren Untersuchungen neben den Gruppen des Arginins, Histidins und Lysins gewisse Monoamidosäuren.¹⁾ Die Verknüpfung dieser Gruppen ist, wie besonders die Biuretreaktion erweist, eine ähnliche, wie in den komplizierten Eiweißstoffen und ich habe auf meine Untersuchungen die Anschauung gegründet, daß die Protamine als die einfachsten bisher bekannten Glieder der Eiweißreihe aufzufassen sind; demgemäß habe ich mich bemüht, diese einfachen Eiweißkörper in ihrer Konstitution klarzustellen und hieraus Schlüsse auf die komplizierteren abzuleiten.

Eine systematische Betrachtungsweise der Eiweißkörper ergibt sich, wenn man die den Protaminen zugrunde liegende, durch die Untersuchungen von Goto genauer charakterisierte Protongruppe als Kern der einzelnen zum Eiweißmolekül vereinigten größeren Komplexe (Albumosen, Peptone) auffaßt.²⁾

Dasjenige Spaltungsprodukt, welches die weiteste Verbreitung innerhalb dieser Körperklasse besitzt, und das keinem der bisher untersuchten Eiweißkörper fehlt: das Arginin, ist aus den Protonen und Protaminen in reichlicher Menge zu gewinnen. Man wird durch die quantitativen Verhältnisse mit Wahrscheinlichkeit zu der Annahme geführt, daß in gewissen Fällen zwei Argininmoleküle miteinander vereinigt sind. Meine in Gemeinschaft mit F. Kutscher ausgeführte Untersuchung des Salmins hat ergeben, daß von 100 Teilen Stickstoff 87,8

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXVI, S. 588.

²⁾ Berichte d. deutsch. chem. Ges., Bd. 34, S. 3235 (1901), Bulletin de la société chimique de Paris, 30 mai 1903.

Teile in Form des Arginins wiedergefunden werden.¹⁾ Dies würde ziemlich genau dem Verhältnis von 2 Molekülen Arginin auf je 1 Molekül Monoaminosäure entsprechen, welches 88,9% Argininstickstoff verlangt.

Von den Monoaminosäuren, welche neben den basischen Spaltungsprodukten der Protamine auftreten, sind bisher drei bekannt. Beim Clupein konnte ich mit Sicherheit eine Amino-valeriansäure nachweisen²⁾ und ich habe seitdem in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Dakin das Vorkommen dieser Säure auch bei anderen Protaminen bestätigen können³⁾. Ferner fand Herr Dr. Morkowin in meinem Laboratorium das Tyrosin als Spaltungsprodukt des Cyclopterins⁴⁾. In Gemeinschaft mit Herrn Dr. Kutscher habe ich diesen Befund bestätigt und die Menge des Tyrosins zu etwa 8% bestimmt⁵⁾. Auch das Tyrosin findet sich bei anderen Protaminen vor³⁾. Später habe ich im Cyclopterin die Reaktion der Skatolaminoessigsäure nachgewiesen⁶⁾.

Bei meinen gemeinschaftlich mit Herrn Dr. Dakin ausgeführten Untersuchungen ergab sich, daß außerdem noch das Serin unter den Spaltungsprodukten des Clupeins auftritt³⁾.

Vor längerer Zeit habe ich auch das Salmin zum Gegenstand ähnlicher Untersuchungen gemacht. 25 g Salmisulfat wurden in der mehrfach beschriebenen Weise mit Schwefelsäure zersetzt und daraus das Arginin mit Silbersulfat und Baryt ausgefällt. Das Filtrat vom Argininsilberniederschlag lieferte nach Entfernung des Silbers und der Schwefelsäure einen kristallisch erstarrenden Rückstand. Die Kristalle bestanden aus sechsseitigen langgezogenen dünnen Blättchen, welche nach dem Umkristallisieren aus wenig Alkohol folgenden Wert für den Stickstoff ergaben:

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXI, S. 180.

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

³⁾ Die Untersuchungen werden demnächst in dieser Zeitschrift publiziert werden.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 313.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 186.

⁶⁾ Bull. de la société chimique de Paris. Sitzung vom 30. Mai 1905.

0.1585 g Substanz gab 16.0 ccm Stickstoff bei 6° und 756 mm Bar., d. i. 12.2% N.

Zunächst glaubte ich hiernach ebenso wie beim Clupein eine Aminovaleriansäure vor mir zu haben, deren Stickstoffgehalt 11.9% N beträgt. Es ist jedoch im Hinblick auf die folgenden Resultate nicht ausgeschlossen, daß eine um zwei Wasserstoffatome ärmere Verbindung vorlag, mit einem Stickstoffgehalt von 12.17%.

Gefunden	Berechnet für $C_5H_9NO_2$	$C_5H_{11}NO_2$
N 12.2	12.17	11.96

Für weitere Analysen reichte diese Fraktion nicht aus. Die nächste in Alkohol noch leichter lösliche Fraktion, welche eine weiße Kristallmasse bildete, wurde in wässriger Lösung unter Zusatz von Kalilauge mit der gleichen Gewichtsmenge Phenylisocyanat geschüttelt, die Reaktionsflüssigkeit nach vorheriger Filtration schwach angesäuert und der nach einigem Stehen entstandene Niederschlag abfiltriert. Die ausgeschiedene Phenylhydantoinensäure wurde durch Kochen mit Salzsäure in das gut kristallisierende Hydantoin übergeführt, welches bei 137 bis 138° (unkorr.) schmolz. Die Analyse führte zu folgenden Resultaten:

1. 0.1940 g Substanz gab 0.4742 g CO_2 und 0.1003 g H_2O , das ist 66.66% C und 5.78% H:

2. 0.1669 g Substanz gab 18.9 ccm Stickstoff bei 12° und 738 mm Bar., das ist 13.0% N.

Gefunden	Berechnet für $C_{12}H_{12}N_2O_2$	$C_{12}H_{14}N_2O_2$
C 66.66	66.7	66.1
H 5.78	5.6	6.4
N 13.0	12.9	12.8

Hiernach ist die Formel $C_{12}H_{14}N_2O_2$, welche dem Phenylhydantoin einer Aminovaleriansäure entspricht, ausgeschlossen und man wird zur Annahme der Formel $C_{12}H_{12}N_2O_2$, der die Säure $C_5H_9NO_2$ zugrunde liegt, genötigt. Es ergibt sich also, daß bei der Spaltung des Salmins durch verdünnte Schwefelsäure eine Säure von der Formel $C_5H_9NO_2$ entsteht. Ob daneben noch Aminovaleriansäure auftritt, ist noch nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Diese Untersuchungen sind im Februar 1901 beendet worden. Schon im vorhergehenden Jahre hatte Willstätter

in der α -Pyrrolidincarbonsäure einen Körper von der Formel $C_5H_7NO_2$ synthetisch dargestellt,¹⁾ dessen Phenylhydantoin im Februar 1901 von Emil Fischer gleichzeitig mit einer neuen Synthese beschrieben wurde.²⁾

Einige Monate später machte E. Fischer die wichtige Mitteilung, daß die α -Pyrrolidincarbonsäure als Spaltungsprodukt des Caseins,³⁾ des Eieralbumins⁴⁾ und der Gelatine⁵⁾ auftritt. Später fanden E. Fischer und E. Abderhalden dieselbe Säure auch bei der Hydrolyse des Oxyhämoglobins durch Salzsäure und kamen zu dem Ergebnis, daß die α -Pyrrolidincarbonsäure zu den regelmäßigen Bestandteilen des Proteinmoleküls gehört.⁶⁾ Diese Annahme fand in den weiteren Untersuchungen von E. Fischer und Th. Dörpinghaus über die Hornsubstanz,⁷⁾ sowie in den neueren Arbeiten von Abderhalden⁸⁾ über das Serumalbumin und über das Edestin ihre Bestätigung. Besonders interessant ist in dieser Hinsicht die Auffindung eines durch Trypsin aus Eiweißkörpern gebildeten polypeptidartigen Stoffes, welcher bei weiterer Hydrolyse mit kochender Salzsäure α -Pyrrolidincarbonsäure liefert (E. Fischer und E. Abderhalden).⁹⁾

Nach der Beschreibung E. Fischers ist es mir nicht zweifelhaft, daß das von mir erhaltene, in Alkohol leichter lösliche Spaltungsprodukt des Salmisins die aktive α -Pyrrolidincarbonsäure ist. Der Unterschied im Schmelzpunkt ist in Anbetracht des Umstandes, daß die geringen Substanzmengen ein mehrfaches Umkristallisieren meines Präparates nicht gestatteten, nicht von Bedeutung — meine Substanz schmolz bei 137 bis 138° (unkorr.), während E. Fischer für das aktive Hydantoin den Schmelzpunkt 143° (unkorr.) angibt.¹⁰⁾

¹⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 33, S. 1160 (1900).

²⁾ Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 34, S. 454 (1901).

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIII, S. 151.

⁴⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIII, S. 112.

⁵⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIV, S. 70.

⁶⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVI, S. 268.

⁷⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVI, S. 162.

⁸⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXVII, S. 495 u. S. 499.

⁹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIX, S. 87.

¹⁰⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXIII, S. 168.