

Die Monoaminosäuren des Salmins.

Von

Emil Abderhalden.

(Aus dem ersten chemischen Institute der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 7. Januar 1904.)

Die Gruppe der Protamine zeichnet sich gegenüber den gewöhnlichen Eiweißkörpern durch den hohen Gehalt an «Diaminosäuren», speziell an Arginin aus. Kossel, dem wir die eingehendsten Studien über diese Klasse der Eiweißkörper verdanken, fand mit seinen Schülern¹⁾ folgende Gewichtsprocente an Arginin: im Salmin 84,3⁰/₀, im Clupein 82,2⁰/₀, im Cyclopterin 62,5⁰/₀, im Sturin 58,2⁰/₀. Letzteres enthält außerdem 12,9⁰/₀ Histidin und 12,0⁰/₀ Lysin, während die übrigen genannten Protamine neben Arginin keine weiteren Diaminosäuren zu enthalten scheinen. Kossel hat ferner nachgewiesen, daß auch Monoaminosäuren im Molekül der Protamine enthalten sind. Im Clupein²⁾ findet sich Aminovaleriansäure, im Cyclopterin³⁾ Tyrosin und Skatolaminoessigsäure.⁴⁾ Im Salmin konnte Kossel ebenfalls eine Monoaminosäure nachweisen, welche der Aminovaleriansäure zu entsprechen schien.⁵⁾

¹⁾ Kossel, A. und Fr. Kutscher. Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 207, 1900/01.

²⁾ Kossel, A., Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 590, 1898/99.

³⁾ Morkowin, N., Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 313, 1899.

⁴⁾ Kossel, A., Bull. de la Société chimique de Paris, Bd. XXIX—XXX, Nr. 14, 3. série, 1903.

⁵⁾ Nachdem diese Arbeit bereits abgeschlossen war, ist von Kossel ein weiterer Beitrag «Zur Kenntnis des Salmins» erschienen (Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 311, 1903). Kossel teilt darin mit, daß es ihm gelungen ist, unter den Spaltungsprodukten des Salmins α -Pyrrolidinkarbonsäure nachzuweisen.

Es war nun von hohem Interesse, durch eine möglichst genaue Bestimmung der am Aufbau des Protaminmoleküls beteiligten Verbindungen die Stellung der Protamine zu den übrigen Eiweißkörpern zu präzisieren. Auf Anregung von Herrn Geh. Rat Emil Fischer wandte ich deshalb auf das Protamin der Lachstestikel, das Salmin, die Estermethode an. Den Einwand, den man übrigens gegen jede Untersuchung an Proteinstoffen erheben kann, daß das untersuchte Material keine Garantie für chemische Einheitlichkeit biete, suchte ich durch möglichst sorgfältige Darstellung einzuschränken. Als Spaltungsprodukte des Salmins wurden mit Sicherheit nachgewiesen: Alanin, Leucin und α -Pyrrolidinkarbonsäure. Als wahrscheinlich vorhanden zu bezeichnen sind Phenylalanin und Asparaginsäure.

Durch diesen Befund ist — die Einheitlichkeit des Salmins vorausgesetzt — nachgewiesen, daß das Protamin (Salmin) gegen die gewöhnlichen Eiweißkörper nicht scharf abgegrenzt ist. Das Salmin ist kein einfacher Eiweißkörper. Es steht gewissermaßen am Ende einer kontinuierlichen Reihe von Eiweißkörpern, deren anderes Ende durch die fast gar keine Diaminosäuren aufweisende Seide gebildet wird. Den Übergang von den Protaminen zu den gewöhnlichen Eiweißkörpern dürften die Histone bilden. Wie Miescher in seinen Studien über das Leben des Lachses im Süßwasser bereits geschildert hat, dürfte sich die Bildung des Salmins aus den komplizierten Eiweißkörpern gleichfalls über die Histone vollziehen.

Experimenteller Teil.

Das zu den vorliegenden Untersuchungen verwendete Protamin stammt aus Lachsperna. Dasselbe wurde als Sulfat nach dem Verfahren von Kossel¹⁾ dargestellt. Zur vollständigen Trennung des Salminsulfates von anhaftenden Nukleinsäuren wurde dasselbe zweimal in heißem Wasser gelöst, mit Alkohol ausgefällt und schließlich über das Pikrat gereinigt. Das so erhaltene Salminsulfat bildete ein weißes, lockeres Pulver.

46 g Salminsulfat wurden mit der dreifachen Menge kon-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 166, 1898.

zentrierter Salzsäure (spezifisches Gewicht 1.19) 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht, und hierauf nach der von Emil Fischer angegebenen Methode verestert.

Es wurden 10,5 g Rohester erhalten.

Die Destillation der Ester ergab folgende Fraktionen:

Fraktion I:	bis 100° des Wasserbades bei 10 mm Druck	1,5 g
" II:	" 100° " " " " "	0,5 " " 3,0 "
" III:	100° " 170° Ölbades	0,5 " " 3,0 "

Fraktion I wurde durch 6stündiges Kochen mit der fünffachen Menge Wasser verseift. Beim Einengen schieden sich zunächst Kristalle aus, welche nach Aussehen und Schmelzpunkt dem Leucin entsprachen. Aus der Mutterlauge dieser Kristalle wurde nach wiederholtem Umkristallisieren eine Verbindung erhalten, welche sich nach Schmelzpunkt, Geschmack und Zusammensetzung als Alanin erwies. Erhalten wurden 0,4 g.

0,1630 g Substanz gaben 0,2395 g CO_2 und 0,1137 g H_2O .

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

Gefunden:

40,45% C und 7,87% H

40,07% C und 7,81% H

Schmelzpunkt 297° (korr.).

Glykokoll ließ sich keines nachweisen. Auch aus dem von den Estern abdestillierten Äther konnten mit Salzsäure keine Aminosäuren abgeschieden werden.

Fraktion II bestand größtenteils aus Leucin.

0,1856 g Substanz gaben 0,3734 g CO_2 und 0,1650 g H_2O .

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

Gefunden:

54,97% C und 9,92% H

54,87% C und 9,96% H

Schmelzpunkt 299° (korr.).

Aus der Leucinfraction ließ sich durch Auskochen mit Alkohol eine Verbindung isolieren, deren wiederholt umkristallisiertes Kupfersalz die Zahlen des α -pyrrolidinkarbonsauren Kupfers gab:

0,1993 g Substanz gaben 0,2658 g CO_2 und 0,1073 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cu} + 2\text{H}_2\text{O}$:

Gefunden:

36,63% C und 6,10% H

36,37% C und 6,03% H

Das Estergemisch der Fraktion III wurde mit der fünffachen Menge Wasser versetzt. Es trat eine schwache, milchige Trübung auf. Die Flüssigkeit wurde hierauf mit dem gleichen Volumen Äther vermischt und geschüttelt. Der wiederholt mit Wasser ausgewaschene Äther hinterließ beim Verdunsten einen

Ester. Nach Verseifung mit Salzsäure und Isolierung der Aminosäure durch Ammoniak¹⁾ ergab der Rückstand mit 25% Schwefelsäure und Kaliumbichromat beim Kochen ausgesprochenen Phenylacetaldehydgeruch.

Die vereinigten wässrigen Auszüge wurden durch zwei-stündiges Kochen mit Baryt auf dem Wasserbade verseift. Beim Erkalten schied sich ein schwer lösliches Barytsalz in feinen Drusen nach Art des asparaginsauren Baryts ab. Das abfiltrierte Barytsalz wurde mit Schwefelsäure gekocht, die Schwefelsäure mit Baryt quantitativ entfernt, und das Filtrat vom schwefelsauren Baryt eingedampft. Der kristallinische Rückstand schmeckte und reagierte stark sauer.

Das Filtrat vom ausgeschiedenen Barytsalz wurde mit Schwefelsäure quantitativ vom Baryt befreit, das Filtrat vom schwefelsauren Baryt eingeengt und mit Salzsäure gesättigt. Es gelang nicht, eine Abscheidung von Kristallen zu erhalten.

¹⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, II, 4, S. 273, 1902.