

Weitere Beiträge zum System der einfachsten Eiweißkörper.¹⁾

Von

A. Kossel und H. D. Dakin.

(Aus dem physiologischen Institut zu Heidelberg.)

I. Über das Sturin.

Von den Bausteinen der komplizierteren Eiweißkörper konnten bisher die folgenden in den Protaminen nachgewiesen werden: Arginin, Histidin, Lysin, Alanin, Serin, Amidovaleriansäure, Prolin, Tyrosin und Tryptophan. Die zweibasischen Mono- und Diamidosäuren sind in diesen einfacheren Eiweißkomplexen überhaupt noch nicht aufgefunden worden, von den einbasischen Monoamidosäuren fehlten bisher das Leucin und die Phenylamidopropionsäure, ferner sind noch nicht nachgewiesen: Oxypyrrolidinkarbonsäure, Cystin und die neueren von Skraup beschriebenen Eiweißderivate. Auffallend war besonders das Fehlen des Leucins, einer Amidosäure, die in so großen Mengen in den typischen Eiweißkörpern vorkommt. Die folgenden Untersuchungen füllen diese Lücke aus. Ein Körper von der Zusammensetzung des Leucins findet sich im Sturin. Hingegen konnten wir im Sturin andere Atomgruppen nicht nachweisen, die sonst in den einfacheren Eiweißkörpern in weiter Verbreitung gefunden werden: die Amidovaleriansäure und das Prolin.

Wir untersuchten zwei Präparate des Sturins, deren eines (A) mit Hilfe des Silberbarytverfahrens²⁾ gereinigt worden

¹⁾ Vorläufige Mitteilung in der Berliner Klinischen Wochenschrift, 1904, Nr. 14.

cf. Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 311 u. 565; Bd. XLI, S. 407.

²⁾ Durch dies von A. Kossel ursprünglich zur Darstellung des Arginins angegebene Fällungsverfahren werden auch Protamine (cf. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 185), Protamine und ähnliche Stoffe gefällt.

war, während bei der Darstellung des Präparats B die alte, früher beschriebene Reinigungsmethode gedient hatte.

Präparat A. Eine etwa 28—30 g Sturin entsprechende Menge des Sulfats wurde mit Schwefelsäure in den früher angewandten Mengenverhältnissen 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht, hierauf soweit verdünnt, daß die Menge der Schwefelsäure ungefähr 5% betrug, und mit Phosphorwolframsäure gefällt.

Aus dem Niederschlag isolierten wir Arginin, Histidin und Lysin. Die Argininfraktion wurde nach dem Verfahren von Steudel mit Pikrolonsäure ausgefällt und nach Kutscher und Otori auf Guanidin¹⁾ untersucht, doch war kein Guanidin nachzuweisen. Das Filtrat wurde durch überschüssigen Baryt in bekannter Weise von Phosphorwolframsäure befreit, der Überschuß des Baryts genau mit Schwefelsäure entfernt, eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol $\frac{3}{4}$ Stunde am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Verdunsten des Alkohols hinterblieb ein geringer sirupöser Rückstand von saurer Reaktion, den wir vergebens auf α -Pyrrolidinkarbonsäure untersucht haben. Der in Äthylalkohol unlösliche Teil ging beim Kochen mit Methylalkohol zum größeren Teil in Lösung. Der ungelöste Teil war an Menge gering und ließ sich nicht mehr in bekannte Körper aufteilen. Durch fraktionierte Kristallisation aus Wasser und wässrigem Alkohol konnten wir aus dem löslichen Teil gut kristallisierte Körper von den Eigenschaften der Monoamidosäuren gewinnen.

Der am schwersten lösliche Anteil gab nach wiederholtem Umkristallisieren folgende mit dem Leucin übereinstimmende Analysenzahlen.

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$:
C = 54,60%	54,96%
H = 9,97%	9,92%

Eine andere Fraktion gab die Zahlen des Alanins.

Gefunden:	Berechnet für $C_3H_7NO_2$:
C = 40,43%	40,45%
H = 7,67%	7,86%

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 458.

Eine dritte Fraktion gab Werte, welche zwischen den beiden eben angeführten lagen.

Gefunden:	Berechnet	
	für $C_3H_7NO_2$:	für $C_6H_{13}NO_2$:
C = 42,53%	40,45%	54,96%
H = 8,16%	7,86%	9,92%

Hier lag offenbar eine Mischung von wenig Leucin und viel Alanin vor.

Selbstverständlich kann durch eine derartige Untersuchung die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß neben diesen Amidosäuren der Reihe $C H_{2n+1}NO_2$, noch andere Spaltungsprodukte entstanden waren, doch halten wir die Gegenwart der Amidovaleriansäure und des Serins, die bei dem bisher untersuchten Protamin stets zu finden waren, für unwahrscheinlich.

Präparat B. Zu dem gleichen Ergebnis führte die Untersuchung des zweiten Sturinpräparates. Hier war nicht nur die Darstellungsweise des Ausgangsproduktes, sondern auch die Methode der Untersuchung eine andere, da wir in diesem Falle die Destillation der Ester nach E. Fischer zur Trennung der Amidosäuren benutzten. Das durch Schwefelsäure hydrolysierte Produkt wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt, das Filtrat nach Entfernung der Phosphorwolframsäure, wie beim Präparat A, mit Alkohol extrahiert. In diesem Falle ging nur eine sehr geringe, zur Untersuchung nicht ausreichende Substanzmenge in den Alkohol, das Prolin war also auch hier nicht zu finden.

Der in Alkohol unlösliche Teil wurde verestert und bei einem Druck von ungefähr 18 mm Quecksilber in zwei Fraktionen destilliert. Der unter 55° destillierende Anteil lieferte nach der Verseifung ein Produkt, welches nach dem Umkristallisieren aus Alkohol die dem Alanin entsprechenden Werte ergab.

Gefunden:	Berechnet für $C_3H_7NO_2$:
C = 40,27%	40,45%
H = 7,67%	7,86%

Die zwischen 55 und 100° übergende Fraktion enthielt einen Körper, dessen Analyse nach der Verseifung zu den Zahlen des Leucins führte.

Gefunden:	Berechnet für $C_8H_{13}NO_2$:
C = 54,50%	54,96%
H = 9,72%	9,92%

II. Über das Scombrin.

Das Scombrin nimmt ein besonderes Interesse in Anspruch, weil es nach unseren Untersuchungen als die einfachste bisher bekannte eiweißartige Substanz gelten muß. Es stellt eine Kombination von Arginin mit Prolin und Alanin dar.

Wir unterwarfen 27 g Scombrinsulfat, welches nach dem früheren Verfahren aus den Testikeln der Makrele gewonnen war, der Hydrolyse mit Schwefelsäure und fällten die passend verdünnte Reaktionsflüssigkeit mit Phosphorwolframsäure. Das Filtrat dieses Niederschlages, der das Arginin enthielt, wurde durch Baryt von der Phosphorwolframsäure befreit und der Baryt durch die genau entsprechende Menge Schwefelsäure entfernt. Der beim Eindampfen verbleibende Rückstand wurde bei gewöhnlicher Temperatur mit absolutem Äthylalkohol extrahiert, das Alkoholextrakt zur Trockne verdunstet und der Rückstand nochmals mit absolutem Alkohol aufgenommen.

Das Alkoholextrakt wurde in bekannter Weise in die Phenylcyanatverbindung übergeführt und diese in das Hydantoin verwandelt. Dasselbe erwies sich als identisch mit dem Phenylhydantoin des Prolins. Sein Schmelzpunkt lag bei 142° , E. Fischer hat 143° angegeben.

Die Analyse ergab:

Gefunden:	Berechnet für $C_{12}H_{12}N_2O_2$:
C = 66,31%	66,67%
H = 5,95%	5,56%

Der in Äthylalkohol unlösliche Teil war in 50 Teilen Methylalkohol völlig löslich. Hieraus mußten wir nach unseren früheren Erfahrungen¹⁾ auf die Abwesenheit des Serins schließen. Der nach dem Verdunsten des Methylalkohols verbleibende Rückstand wurde nach dem Verfahren von E. Fischer verestert und der Ester bei 18 mm Quecksilberdruck destilliert. Die erste Fraktion ging bei etwa 55° über, dann wurde eine

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 566.

zweite Fraktion zwischen 55 und 80° gewonnen, über 80° destillierte nur eine geringe Spur.

Die beiden Fraktionen wurden jede für sich mit Wasser verseift und die bei der Hydrolyse erhaltenen Amidosäuren aus verdünntem Alkohol umkristallisiert. Die Analyse gab in beiden Fällen die Zahlen des Alanins.

Gefunden		Berechnet
Fraktion I:	Fraktion II:	für $C_3H_7NO_2$:
C = 40,64%	40,46%	40,45%
H = 7,72%	7,42%	7,86%

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, daß bei dem Scombrin relativ günstige Verhältnisse für eine quantitative Bestimmung der Spaltungsprodukte gegeben sind. Versuche in dieser Richtung sind im hiesigen Institut bereits in Angriff genommen.