

Die Zusammensetzung von aus Kiefern Samen dargestelltem Eiweiß.

Von

Emil Abderhalden und Yutaka Teruuchi, Tokio.

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

(Der Redaktion zugegangen am 21. Juli 1905.)

Von Pflanzeneiweißstoffen ist bis jetzt nur die Gruppe der Edestine genau auf ihre Zusammensetzung untersucht. Es schien uns von Interesse, Vertreter anderer Klassen von Eiweißkörpern pflanzlichen Ursprungs abzubauen, um so allmählich einen Überblick über den Aufbau der verschiedenartigsten Eiweißarten zu erhalten. Wenn wir auch vorläufig nicht in der Lage sind, die einzelnen Spaltprodukte quantitativ zu bestimmen, so erhalten wir doch relative Werte, welche recht gut vergleichbar sind. Die vergleichende Untersuchung der verschiedenartigsten Eiweißstoffe gibt uns eine wesentliche Grundlage für die Auffassung des ganzen Verdauungsprozesses und speziell die Assimilation des Nahrungseiweißes zu Körpereweiß, wie der eine von uns bereits eingehend erörtert hat.¹⁾

Das zu dem vorliegenden Versuche dienende Eiweiß war aus Kiefern Samen (*Picea excelsa*) dargestellt. Die zerkleinerten, fein gemahlenen, entfetteten Samen wurden mit sehr verdünntem Alkali extrahiert, und dann aus den vereinigten Extrakten das Eiweiß mit Essigsäure gefällt. Der ganze Prozeß wurde mehrmals wiederholt, und schließlich das so gereinigte Eiweiß mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und an der Luft getrocknet.

500 g Eiweiß mit einem Wassergehalt von 6,4%, einem Aschengehalt von 2,6% und einem Humingehalt von 15%

¹⁾ Emil Abderhalden, Abbau und Aufbau der Eiweißkörper im tierischen Organismus, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17, 1905.

(also rund 380 g Eiweiß) wurden 6 Stunden mit 1800 ccm rauchender Salzsäure (spez. Gew. 1,19) am Rückflußkühler gekocht. Aus der erkalteten Lösung fielen größere Mengen von «Huminsubstanzen» aus, die abfiltriert wurden. Das Filtrat wurde in gewöhnlicher Weise unter vermindertem Druck bis zur Sirupkonsistenz eingeengt, und hierauf die Masse in zwei Portionen mit Alkohol und gasförmiger, trockener Salzsäure wiederholt verestert. Die Ester wurden aus den Hydrochloraten in der gewohnten Weise in Freiheit gesetzt, und die Ester fraktioniert destilliert, wobei folgende Fraktionen erhalten wurden:

0—60° (Temperatur des Wasserbades)	bei 12 mm Druck	= 40 g
0—105° (» » Ölbad)	» 0,6 » »	= 75 »
105—180° (» » »)	» 0,6 » »	= 80 »

Im Destillationskolben hinterblieb ein beim Abkühlen bald erstarrender, dunkelbraun gefärbter Rückstand.

Die Verarbeitung der einzelnen Fraktionen erfolgte in der bereits wiederholt beschriebenen Weise, weshalb hier Einzelheiten nicht angeführt werden.

I. Fraktion.

Sie wurde mit dem sechsfachen Volumen Wasser 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht und dann zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde fein gepulvert, in absolutem Alkohol suspendiert und trockenes Salzsäuregas bis zur völligen Sättigung eingeleitet. Nach dem Einimpfen eines Kriställchens von Glycocollesterchlorhydrat erfolgte nach einigem Stehen auf Eis bald Kristallisation. Erhalten wurden auf freies Glycocoll umgerechnet 1,5 g Glycocoll.

0,1984 g Substanz gaben 0,2525 g CO₂ und 0,1300 g H₂O

Berechnet für C₄H₁₀NO₂Cl:

Gefunden:

34,41% C und 7,17% H.

34,71% C und 7,28% H.

Die Mutterlauge vom Glycocollesterchlorhydrat wurde durch Kochen mit gelbem Bleioxyd von der Salzsäure befreit. Durch Einengen der durch Schwefelwasserstoff von gelöstem Blei befreiten Lösung wurden 0,5 g Alanin vom Schmelzpunkt 295° (korr.) erhalten.

II. Fraktion.

Nach stattgehabter Verseifung durch 7 stündiges Kochen mit der sechsfachen Menge Wasser wurde diese Fraktion, aus der bereits beim Abkühlen Leucin ausfiel, nach Absaugen des Ausgeschiedenen zur Kristallisation eingeengt. Die einzelnen Fraktionen wurden zur Gewinnung der α -Pyrrolidincarbonsäure mit absolutem Alkohol ausgekocht. Aus den einzelnen Fraktionen wurden erhalten: 23,5 g Leucin, 6,3 g Alanin, 0,8 g Glykokoll und 2,1 g eines Produktes, dessen Analysenzahlen auf Aminovaleriansäure hinweisen.

Das Leucin schmolz bei 297° (korr.).

0.1815 g Substanz gaben 0,3649 g CO_2 und 0,1623 g H_2O	
Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:	Gefunden:
54,96% C und 9,92% H.	54,83% C und 9,94% H.

Das isolierte Alanin schmolz bei 295° (korr).

0.1854 g Substanz gaben 0,2740 g CO_2 und 0,1289 g H_2O .	
Berechnet für $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$:	Gefunden:
40,45% C und 7,87% H.	40,31% C und 7,72% H.

Vom rohen Alanin wurde eine Fraktion von 2,1 g abgetrennt, die folgende Analysenzahlen gab:

0.1898 g Substanz gaben 0,3505 g CO_2 und 0,1593 g H_2O	
Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$:	Gefunden:
51,28% C und 9,40% H.	50,36% C und 9,32% H.

Offenbar liegt eine noch mit etwas Alanin und vielleicht auch mit Leucin verunreinigte Aminovaleriansäure vor.

Aus dem in Alkohol löslichen Teil der Fraktionen wurde in üblicher Weise das Prolin als Kupfersalz isoliert, und das aktive Prolinkupfer vom racemischen durch Auskochen mit absolutem Alkohol abgetrennt. Erhalten wurden 9,9 g aktives Prolinkupfer und 3,3 g bei 120° getrocknetes racemisches Prolinkupfer. Identifiziert wurde das aus dem racemischen Kupfersalz durch Zerlegung mit Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzte Prolin durch die Darstellung der Phenylisocyanatverbindung bzw. deren Anhydrid.¹⁾ Aus heißem Wasser umkristallisiert schmolz die Verbindung bei 118° (korr.).

¹⁾ Emil Fischer, Über die Hydrolyse des Caseins durch Salzsäure. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 167, 1901.

0,1756 g Substanz gaben 0,4268 g CO ₂ und 0,0879 g H ₂ O	
Berechnet für C ₁₂ H ₁₂ O ₂ N ₂ :	Gefunden:
66,67% C und 5,57% H.	66,28% C und 5,56% H.

III. Fraktion.

Diese enthielt die Ester des Phenylalanins, der Glutaminsäure, der Asparaginsäure und des Serins. Der erstere wurde, wie üblich, sofort nach der Destillation der Ester mit Äther aus dem mit Wasser versetzten Estergemisch abgetrennt, der Äther zur Entfernung der mitgelösten übrigen Ester mehrmals mit Wasser gewaschen, getrocknet und dann verdampft. Der Rückstand wurde dann mit Salzsäure übergossen und zur Trockene verdampft. Aus dem salzsauren Phenylalanin wurde die freie Säure durch dessen Auflösen in Ammoniak, Eindampfen der Lösung und Auslaugen des gebildeten Chlorammons mit kaltem Wasser dargestellt. Erhalten wurden 4,4 g Phenylalanin. Zur Identifizierung diente das Anhydrid der Isocyanatverbindung:¹⁾

0,1833 g Substanz gaben 0,4836 g CO ₂ und 0,0870 g H ₂ O	
Berechnet für C ₁₆ H ₁₄ O ₂ N ₂ :	Gefunden:
72,18% C und 5,26% H.	71,95% C und 5,27% H.

Die vereinigten wässerigen Lösungen wurden durch dreistündiges Kochen mit Barytlösung auf dem Wasserbade verseift. Nach einiger Zeit schied sich asparaginsaurer Baryt ab, der abgesaugt und mit Schwefelsäure zersetzt wurde. Die Ausbeute an reiner Asparaginsäure betrug 5,0 g.

0,1840 g Substanz gaben 0,2446 g CO ₂ und 0,0880 g H ₂ O	
Berechnet für C ₄ H ₇ NO ₄ :	Gefunden:
36,09% C und 5,26% H.	36,25% C und 5,27% H.

Aus dem Filtrat vom asparaginsauren Baryt wurde der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure gefällt, das Filtrat vom Baryumsulfat stark eingeeengt und mit Salzsäuregas gesättigt. Nach längerem Stehen erfolgte reichliche Abscheidung von Glutaminsäurechlorhydrat. Auf freie Säure berechnet 20,7 g Glutaminsäure.

0,1802 g Substanz gaben 0,2176 g CO ₂ und 0,0940 g H ₂ O	
Berechnet für C ₅ H ₂₀ NO ₄ Cl:	Gefunden:
32,69% C und 5,45% H.	32,93% C und 5,79% H.

¹⁾ Emil Fischer, l. c. S. 172.

Die Mutterlauge vom Glutaminsäurechlorhydrat wurde sodann zur Entfernung der Salzsäure mit Bleioxyd gekocht. Durch Einengen der vom gelösten Blei mittels Schwefelwasserstoff befreiten Lösung wurden 2,0 g Asparaginsäure gewonnen und aus deren Mutterlauge 0,3 g reines Serin.

0,1789 g Substanz gaben 0,2269 g CO ₂ und 0,1093 g H ₂ O	
Berechnet für C ₃ H ₇ NO ₃ :	Gefunden:
34,28% C und 6,66% H.	34,59% C und 6,79% H.

Rückstand.

Der bei der Destillation der Ester im Destillationskolben verbleibende Rückstand wurde in heißem Wasser geköst und mit 200 g Baryt mehrere Stunden am Rückflußkühler gekocht, dann der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt, und das Filtrat vom Baryumsulfat stark eingengt und mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Nach einigem Stehen auf Eis schied sich reichlich Glutaminsäurechlorhydrat ab. Ausbeute auf reine Glutaminsäure berechnet 8,8 g.

Nach Entfernung der Salzsäure wurde beim Einengen eine dem Leucin sehr ähnlich sehende Kristallisation erhalten.

0,1707 g Substanz gaben 0,3383 g CO ₂ und 0,1492 g H ₂ O	
Berechnet für C ₆ H ₁₃ NO ₂ :	Gefunden:
54,96% C und 9,92% H.	54,05% C und 9,71% H.

Ihre Menge betrug 0,8 g.

Bestimmung des Tyrosins.

200 g Eiweiß (nach Abzug von Asche, Wasser, Huminsubstanz) wurden mit 3 l 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht und dann in der bekannten Weise das Tyrosin durch Kristallisation gewonnen. Es wurden 3,4 g reines Tyrosin erhalten.

0,1869 g Substanz gaben 0,4075 g CO ₂ und 0,1035 g H ₂ O	
Berechnet für C ₉ H ₁₁ NO ₃ :	Gefunden:
59,66% C und 6,07% H.	59,46% C und 6,15% H.

Nachweis des Tryptophans.

10 g Eiweiß wurden in 50 ccm Wasser suspendiert und nach Zusatz von Toluol und aktiviertem Pankreassaft 10 Tage

bei 36° aufbewahrt. Die Verdauungsflüssigkeit zeigte mit Bromwasser sehr deutliche Tryptophanreaktion.

Ein Versuch, nach der üblichen Methode Cystin zu gewinnen, führte zu keiner Abscheidung. Der Versuch soll an größeren Eiweißmengen wiederholt werden.

Wie die vorliegende Untersuchung zeigt, enthält auch das aus Piniensamen dargestellte Eiweiß dieselben Bausteine, wie alle übrigen bis jetzt untersuchten Eiweißkörper. In der quantitativen Zusammensetzung zeigen sich, wie bereits wiederholt hervorgehoben, zwischen den einzelnen Eiweißarten große Unterschiede. Auf 100 g reines Eiweiß berechnen sich:

Glycocoll	0,6%
Alanin	1,8%
Aminovaleriansäure	vorhanden
α -Prolin	2,8%
Leucin	6,2%
Glutaminsäure	7,8%
Asparaginsäure	1,8%
Phenylalanin	1,2%
Serin	0,08%
Tyrosin	1,7%
Tryptophan	vorhanden.

Nach E. Schulze und E. Winterstein¹⁾ enthält das Kiefern Sameneiweiß 0,62% Histidin, 10,9% Arginin und 0,25% Cystin.

¹⁾ E. Schulze und E. Winterstein. Über die Ausbeute an Hexonbasen, die aus einigen pflanzlichen Eiweißstoffen zu erhalten ist. Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 547 (557), 1901.
