

Die Spaltprodukte des Spongins mit Säuren.

Von

Emil Abderhalden und Eduard Strauss.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. März 1906.)

Aus der heterogenen Gruppe der Albuminoide sind bis jetzt ganz verschiedenartige Vertreter nach der Estermethode von Emil Fischer untersucht worden. Es hat sich gezeigt, daß zwar die einander nahe stehenden Glieder dieser Reihe in ihrer Zusammensetzung an Aminosäuren manche Ähnlichkeit aufweisen, daß dagegen im übrigen die Proteine dieser mehr nach morphologischen Gesichtspunkten aufgestellten Klasse die einzelnen Bausteine in recht verschiedenen Mengenverhältnissen enthalten.¹⁾ Immerhin kommt ein gemeinsamer Zug bei allen hierher gehörenden Proteinen zum Ausdruck. Es fehlen einmal einzelne Bausteine, so das Tyrosin dem Leim, und wie wir gezeigt haben, auch dem Spongin, ferner scheint das Phenylalanin ihm und den Keratinsubstanzen des Haares und der Federn nicht anzugehören. Andererseits überwiegen bei den Albuminoiden Gruppen von Aminosäuren, von denen uns bekannt ist, daß sie bei der Verdauung durch Trypsin schwer oder gar nicht angegriffen werden. Emil Fischer und Emil Abderhalden²⁾

¹⁾ Vergl. Emil Fischer und Aladar Skita, Über das Fibroin der Seide, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 177, 1901. — Über das Fibroin und den Leim der Seide, Ebenda, Bd. XXXV, S. 221, 1902. — Emil Fischer, P. A. Levene und R. H. Aders, Über die Hydrolyse des Leims, Ebenda, Bd. XXXV, S. 70, 1902. — Emil Fischer und Theodor Dörpinghaus, Hydrolyse des Horns, Ebenda, Bd. XXXVI, S. 462, 1902. — Emil Abderhalden und A. Schittenhelm, Die Abbauprodukte des Elastins, Ebenda, Bd. XLI, S. 293, 1904. — Emil Abderhalden und Gideon Wells, Die Monoaminosäuren des Keratins aus Pferdehaaren, Ebenda, Bd. XLVI, S. 31, 1905. — Emil Abderhalden und E. R. Le Count, Die Monoaminosäuren des Keratins aus Gänsefedern, Ebenda, Bd. XLVI, S. 40, 1905.

²⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, Über die Verdauung einiger Eiweißkörper durch Pankreasfermente, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 81, 1903. — Über die Verdauung des Caseins durch Pepsinsalzsäure und Pankreasfermente, Ebenda, Bd. XL, S. 215, 1903.

fanden in dem der Verdauung mit Pankreassaft widerstehenden Produkt, dem sogenannten Polypeptid, auffallend viel Phenylalanin, Prolin und Glykokoll. Letztere beiden Aminosäuren sind neben Glutaminsäure in sehr großen Mengen im Spongini enthalten. Wir halten es nicht für unwahrscheinlich, daß der tierische Organismus durch die Bevorzugung derartiger Gruppierungen bestimmte, aus dem allgemeinen Stoffwechsel gewissermaßen ausgeschaltete Proteine vor den Gewebsfermenten schützt und sie so in gewissem Sinne ihrer ganzen Funktion als Stütz- und Grundsubstanzen entsprechend stabil macht.

Experimenteller Teil.

Das Spongini wurde mechanisch von dem anhaftenden Sand befreit und zuerst durch Spülen mit Wasser, dann durch Digerieren mit 5%iger Salzsäure in der Kälte und schließliches Nachspülen mit Wasser gereinigt. Die annähernd getrocknete Substanz enthielt noch 8% Asche und hatte einen beim Trocknen bis 100° auf Gewichtskonstanz sich ergebenden Feuchtigkeitsgehalt von 4,5%.

Zur Hydrolyse gelangten 300 g Spongini, welche in der dreifachen Menge konzentrierter Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 bei Wasserbadtemperatur gelöst wurden. Zur vollständigen Hydrolyse wurde die Lösung, wie üblich, 6 Stunden gekocht. Die Menge des dabei gebildeten Melanins betrug 8,89 g = 2,9%. Die Lösung wurde im Vakuum zum Sirup eingedampft, und der Rückstand viermal mit Alkohol und Salzsäuregas verestert. Beim Einengen der alkoholischen Flüssigkeit schied sich in der Kälte 46 g Glykokollesterchlorhydrat ab.

Aus der sirupösen Flüssigkeit wurden in bekannter Weise mit Natrontauge und Kaliumcarbonat die Ester in Freiheit gesetzt, und diese durch fraktionierte Destillation in 3 Anteile zerlegt:

- | | | |
|------|----------------------|------------------------------|
| I. | 12 mm Druck bei 100° | (Temperatur des Wasserbades) |
| II. | 0,4 „ „ „ 100° | („ „ „) |
| III. | 0,4 „ „ bis 200° | („ „ Ölbad). |

Fraktion I.

Die Gesamtmenge der Fraktion betrug 45 g. Die Ester wurden sofort verseift, und die Lösung zur Trockne verdampft.

Die verbleibende Krystallmasse kochten wir zur Entfernung des Prolins zweimal mit absolutem Alkohol aus. Ungelöst blieben 15 g. Aus diesem Rückstand konnten 8 g Glykokollesterchlorhydrat abgeschieden werden.

Die Analyse des Glykokollesterchlorhydrats gab folgende Werte:

0,2002 g Substanz ergaben 0,1328 g H ₂ O und 0,2527 g CO ₂	
Berechnet für C ₄ H ₁₀ NO ₂ Cl:	Gefunden:
C = 34,41%	C = 34,42%
H = 7,17%	H = 7,37%

Fraktion II.

Nach der Verseifung der Estermenge, welche 56 g betrug, wurde der Trockenrückstand zweimal mit absolutem Alkohol ausgekocht, und diese alkoholische Lösung mit der aus Fraktion I gewonnenen vereinigt. Beim Verdampfen in Vakuum hinterblieb ein Rückstand von 16 g Prolin. Hiervon wurde das Kupfersalz dargestellt, und das beim Auskochen mit absolutem Alkohol verbliebene racemische Kupfersalz analysiert.

1. Wasserbestimmung: 0,8248 g Substanz verloren bei 110°: 0,0899 g H₂O.
 Berechnet für C₁₀H₁₆O₄N₂Cu + 2 H₂O: 10,90% H₂O
 Gefunden: 10,89%
2. Kupferbestimmung: 0,1915 g bei 110° getrockneter Substanz gaben 0,0514 g CuO = 0,0410 g Cu = 21,4% Cu.
 Berechnet für C₁₀H₁₆O₄N₂Cu: 21,8% Cu.

Wie sich aus der Veresterung einer Probe des in Alkohol unlöslichen krystallinischen Rückstandes — 30 g — dieser Fraktion ergab, enthielt er Glykokoll. Es wurden 12 g Glykokollesterchlorhydrat gewonnen. Die größte Menge der Fraktion bestand aus Leucin, welches durch fraktionierte Krystallisation rein erhalten wurde und zwar in einer Menge von 21 g.

Es war, wie schon sein Zersetzungspunkt und vor allem auch sein Geschmack zeigte, nicht ganz rein. Mit großer Mühe gelang es durch wiederholte Krystallisation, Verwandlung in das Kupfersalz und durch dessen Fraktionierung Präparate in sehr kleinen Mengen zu gewinnen, welche das Aussehen und die Eigenschaften des Alanins zeigten. Ferner erhielten wir eine Substanz, die einen recht einheitlichen Ein-

druck machte und Zahlen gab, die auf Aminovaleriansäure stimmen. Wir schätzen die Gesamtausbeute an beiden Aminosäuren auf etwa 2 g. Wir halten ihren Nachweis trotz der gut stimmenden Analysenzahlen nicht für ganz einwandfrei, weil uns eine reiche Erfahrung gezeigt hat, daß oft Mischkrystalle einheitliche Substanzen vortäuschen.

0,1858 g Substanz gaben 0,2758 g CO_2 und 0,1312 g H_2O

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$:	Gefunden:
40,45% C und 7,86% H	40,48% C und 7,84% H.

0,1820 g Substanz gaben 0,3406 g CO_2 und 0,1520 g H_2O

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_2$:	Gefunden:
51,28% C und 9,40% H	51,04% C und 9,28% H.

Die Analyse des Leucins ergab:

0,1812 g Substanz gaben 0,3840 g CO_2 und 0,1636 g H_2O

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:	Gefunden:
54,96% C und 9,92% H	54,78% C und 10,03% H.

Fraktion III.

Die Gesamtmenge dieser Fraktion betrug 50 g. Beim Versetzen mit der fünffachen Menge Wasser schieden sich geringe Mengen eines Öles ab, welches ausgeäthert wurde. Nach dem Waschen mit Wasser wurde der Äther verjagt, und der Rückstand durch zweimaliges Abrauchen mit Salzsäure verseift. Die braune Masse wurde nun zweimal mit Ammoniak auf dem Wasserbade digeriert. Es hinterblieben 6 g Trockenrückstand, aus welchem mittels der Phenylcyanatverbindung und durch darauffolgende Umwandlung derselben in das entsprechende Benzylphenylhydantoin das Phenylalanin nachzuweisen versucht wurde. Es gelang nicht, den Beweis seiner Anwesenheit in einwandfreier Weise zu führen. In einem zweiten Versuch waren wir nicht glücklicher, so daß wir es noch offen lassen müssen, ob das Phenylalanin zu den Bausteinen des Spongins hinzuzurechnen ist.

Die wässerige Lösung der Ester wurde durch zweistündiges Kochen mit konzentrierter Barytlösung verseift. Beim Stehen in der Kälte schieden sich Krystalle von asparaginsaurem Baryt aus. Dieselben wurden abgesaugt, mit verdünnter Schwefelsäure zerlegt, und die gewonnene Asparaginsäure mehrfach aus Wasser umkrystallisiert. Wir erhielten so 12 g Asparaginsäure. Die Analyse ergab:

0,2102 g Substanz gaben 0,2789 g CO₂ und 0,0999 g H₂O

Berechnet für C₄H₇NO₄:

Gefunden:

36,09% C und 5,26% H 36,18% C und 5,32% H.

Das Filtrat vom ausgeschiedenen asparaginsäuren Baryt wurde vom Baryt befreit und eingengt. Hierbei schied sich Glutaminsäure ab. Wir erhielten im ganzen 32,0 g dieser Säure. Die Mutterlauge wurde weiter eingengt, ergab aber nur noch geringe Mengen von Glutaminsäure. Analysiert wurde das Glutaminsäurechlorhydrat.

0,1947 g Substanz gaben 0,2353 g CO₂ und 0,0977 g H₂O.

Berechnet für C₅H₁₀NO₄Cl:

Gefunden:

32,69% C und 5,45% H. 32,96% C und 5,57% H.

Der bei der Vakuumdestillation hinterbleibende braune Rückstand wurde durch mehrstündiges Kochen mit Barytwasser verseift, das Filtrat barytfrei gemacht, eingengt und mit Salzsäuregas gesättigt. Dabei wurden noch 18 g Glutaminsäurechlorhydrat gewonnen (= 14 g der freien Säure).

Tyrosin konnte im Spongin nicht nachgewiesen werden. Auf 100 g Gewichtsteile asche- und wasserfreien Spongins berechnet, ergeben sich — abzüglich des Melanins — folgende Mengen von Monoaminosäuren:

Glykokoll	13,9%
Leucin	7,5%
Prolin	6,3%
Glutaminsäure	18,1%
Asparaginsäure	4,7%

Alanin und Aminovaleriansäure möchten wir, trotz der gut stimmenden Analysen, noch nicht als sicher festgestellte Bausteine des Spongins betrachten. Wir erwähnen noch, daß bereits A. Kossel und F. Kutscher auf den hohen Gehalt des Spongins an Glutaminsäure hingewiesen haben. Sie fanden auf 100 g lufttrockene Substanz annähernd 15 g salzsaure Glutaminsäure.¹⁾ Ferner erhielten sie aus derselben Menge 5—6 g Arginin²⁾ und 3—4 g Lysin.²⁾

¹⁾ A. Kossel und F. Kutscher, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165 (214), 1901.

²⁾ l. c. (S. 205).