

## Zur Kenntnis der Kyrine.

Von

M. Siegfried.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts Leipzig.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. April 1908.)

Als Kyrine habe ich Verbindungen bezeichnet,<sup>1)</sup> welche bei der Zersetzung von Proteinkörpern durch Säuren als Zwischenprodukte zwischen Protein und letzten Spaltungsprodukten entstehen und bei vollständiger Aufspaltung durch Säuren vorwiegend basische Spaltungsprodukte liefern. Diese Kyrine sind durch folgendes charakterisiert:

### 1. Durch die Konstanz der Zusammensetzung der Sulfate.

Aus dem durch Einwirkung von Salzsäure auf die Protein-substanz bei Körpertemperatur entstehenden Reaktionsgemische wird durch Phosphorwolframsäure ein Rohprodukt erhalten, das durch Lösen in Schwefelsäure und Fällen in Alkohol in Sulfat übergeführt und durch Umfällen gereinigt wird. Wird dieses Sulfat bei mehrmaligem Umfällen von konstanter Zusammensetzung erhalten, so ändert sich diese bei weiterem Umfällen nicht. Diese Umfällungen sind bei den späteren, noch nicht publizierten Untersuchungen über Kyrine noch weiter als beim Glutokyrin und Caseinokyrin ausgedehnt worden, in dem weiter unten anzuführenden Falle bis zur 15. Umfällung. Da bei jeder einzelnen Umfällung ein beträchtlicher Teil des Sulfates in den Mutterlaugen bleibt, ist die Konstanz der Zusammensetzung der Sulfate ein Beweis für die Einheitlichkeit der Kyrine. Dementsprechend besitzen auch die zunächst erhaltenen Sulfate, also die der ersten Fällungen, eine abweichende Zusammen-

<sup>1)</sup> Ber. d. math.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss., 1903, S. 64. Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 44 u. 46.

setzung. Bei dem Kyrinsulfat aus Fibrin (s. u.) trat die Konstanz der Zusammensetzung erst von der neunten Umfällung ein.

2. Durch die Konstanz des Verhältnisses des unter früher<sup>1)</sup> angegebenen Bedingungen nach Zersetzung mit Schwefelsäure durch Phosphorwolframsäure fällbaren zu dem nicht fällbaren Stickstoff.

Die einzelnen Sulfate verschiedener Darstellungen und Umfällungen von konstanter elementarer Zusammensetzung liefern das gleiche Verhältnis.

3. Durch die Phosphorwolframate.

Die bei vollständiger Zersetzung durch Mineralsäuren erhaltenen basischen Spaltungsprodukte werden durch Phosphorwolframsäure in der Kälte in einer tonigen, sehr langsam absaugbaren Form gefällt; die Kyrine unter gleichen Umständen körnig, viel schneller absaugbar. Das reine Kyrinphosphorwolframat krystallisiert in charakteristischen, früher<sup>2)</sup> abgebildeten Formen unter den angegebenen Bedingungen; diese Krystalle sind gar nicht zu verwechseln mit den Krystallen von Lysin- und Argininphosphorwolframat (s. S. 61).

Hierzu kommt die Biuretreaktion, welche wenigstens die bisher untersuchten reinen Kyrinsulfate sämtlich liefern. Die Farbe ist bei dieser Reaktion etwas verschieden von der durch proteolytische Enzyme entstehenden Peptone, mehr bordeauxrot. Nach meinen Erfahrungen kommt diese Reaktion den Kyrinen zu, wenn auch bei der Empfindlichkeit der Reaktion die Möglichkeit nicht ganz von der Hand zu weisen ist, daß sie von Spuren von Verunreinigungen verursacht wird. Ferner ist charakteristisch für Kyrine das Verhalten der Pikrate, deren Löslichkeit in absolutem Alkohol (s. S. 63).

Die angeführten, sicher zu prüfenden Eigenschaften, glaube ich, charakterisieren die Kyrine. Ich bin aber fortgesetzt bemüht, die Charakterisierung derselben weiter zu führen, und hoffe, bald hierüber berichten zu können.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 37.

<sup>2)</sup> Ber. d. math.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss., 1903, S. 64.

Vor kurzem haben Zd. H. Skraup und R. Zwerger<sup>1)</sup> Zweifel an der Einheitlichkeit des Caseinokyrins geäußert, auf Grund von Versuchen, bei denen sie unter anderen Bedingungen als ich Casein mit Salzsäure zersetzt und hierbei ein Gemenge basischer Substanzen, die vorwiegend aus Lysin, Arginin und Histidin bestanden, erhalten haben.

Während ich teils mit 12%iger, teils mit 16%iger Salzsäure 3 Wochen bei 38—39° zersetzt habe, haben Skraup und Zwerger das Casein mit konzentrierter Salzsäure 1 Stunde im kochenden Wasserbade erwärmt und dann nach Zusatz der gleichen Menge heißen Wassers ununterbrochen durch 42 Stunden im kochenden Wasserbade erwärmt. Die Verfasser halten sich zu dieser Abweichung für berechtigt, da sie bei einem in gleicher Weise angestellten Vorversuche nach Entfärben mit etwas Phosphorwolframsäure die Drehung im 10 dm-Rohr unmittelbar nach dem Verdünnen mit demselben Volumen Wasser — 1,29° fanden, nach 10 Stunden + 0,4, nach weiteren 3, 7, 10, 23, 30, 48 Stunden beziehungsweise + 0,21, + 0,44, + 0,49, + 1,18, + 1,30, + 1,38. Gerade hieraus aber geht hervor, daß die Zersetzung viel weiter gegangen ist, als bei meinen Versuchen, denn die Linksdrehung ist in die Rechtsdrehung übergegangen, wie es geschieht, wenn die letzten Spaltungsprodukte durch siedende Salzsäure entstehen.

Ich habe weder die Zersetzung von Casein noch die von Gelatine unter Bestimmung der Drehungsänderung verfolgt, sondern die von Trypsinglutinpepton. Es sollte mir die Kontrolle des Verlaufes der Zersetzung unter Beobachtung des Drehungsvermögens den Weg anzeigen, auf dem man zu Zwischenprodukten gelangen kann, und deshalb habe ich diese Beobachtungen bei Zersetzung unter verschiedenen Temperaturen angestellt; es ergab sich aus diesen Versuchen als geeignete Temperatur 38°. Denn sie zeigen, daß nach 166 und 214 Stunden bei 38° noch eine starke Linksdrehung vorhanden ist, während man schon nach 925 Minuten langem Sieden eine Rechtsdrehung erhält, die auf eine vollständige Aufspaltung schließen läßt.

<sup>1)</sup> Monatshefte für Chemie, Bd. XXVI, S. 1403.

Da nun Skraup und Zwirger bei einer der Siedetemperatur meiner Peptonlösung in 12,5%iger Salzsäure + 10% Zinnchlorür nahen Temperatur — im siedenden Wasserbade — gearbeitet haben und ferner eine Rechtsdrehung des Reaktionsgemisches wie ich beim Sieden der Lösung erhalten haben, so mußten sie hieraus von vornherein schließen, daß die von ihnen gewählten Bedingungen nicht zu einem Kyrin, sondern vorwiegend oder ganz zu letzten Spaltungsprodukten führen. Hierzu waren sie umsomehr veranlaßt, als ihnen auch die mikroskopische Untersuchung der Phosphorwolframate zeigte, daß unter den von ihnen gewählten, von den von mir angegebenen ganz verschiedenen Bedingungen, die charakteristischen Krystalle des Kyrinphosphorwolframates immer mehr verschwanden, und daß an ihrer Stelle meist kurze Prismen, die ganz andere Formen zeigten als das Phosphorwolframat des Glutokyrins, entstanden. Die Erkenntnis, daß ihr Basengemisch vorwiegend aus den letzten Spaltungsprodukten bestand, haben Skraup und Zwirger dann erst durch Isolierung des Lysins, Arginins und Histidins gewonnen.

Ich habe übrigens versucht, unter den von Skraup und Zwirger angegebenen Bedingungen, die Zersetzung des Caseins unter Beobachtung der Drehungsänderung zu verfolgen. Verwendet wurde Casein nach Hammarsten von E. Merck. Es gelang mir jedoch nicht, den Versuch zu wiederholen, denn durch Zusatz von etwas Phosphorwolframsäure konnte die zur Polarisation nötige Entfärbung nicht erreicht werden. Erst als zu 10 ccm der nach Skraup und Zwirger erhaltenen Reaktionslösung (1 Teil Casein, 1 Teil Salzsäure, konzentriert, 1 Stunde im Wasserbade, dazu gleiches Volumen Wasser, dann 42 Stunden im Wasserbade erwärmt) 20 ccm einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure unter gutem Umrühren gegeben waren, war das Filtrat zwar immer noch ziemlich gefärbt, aber doch eben zur Polarisation im 10 cm-Rohr geeignet. Durch die beträchtliche Menge Phosphorwolframsäure war aber begreiflicherweise eine so starke Fällung eingetreten, daß Schlüsse aus dem Drehungsvermögen des Filtrates auf das Drehungsvermögen der ursprünglichen Lösung nicht gemacht werden konnten.

Da meine hier in Betracht kommenden Versuche über die Drehungsänderung der Peptonlösung unter dem Einflusse von Salzsäure an einem wenig zugänglichen Orte veröffentlicht sind, gebe ich dieselben hier wieder:

«Um ein Bild der allmählichen Einwirkung verdünnter Salzsäure auf dieses Pepton zu gewinnen, wurde während der Spaltung in kurzen Intervallen das Sinken des Drehungsvermögens der salzsauren Lösung untersucht. Das Pepton dreht sehr stark nach links  $[\alpha]_D^{20} = -101^\circ$ , die Summe der Spaltungsprodukte in der salzsauren Lösung nach rechts. Gerade wegen seines hohen Drehungsvermögens wurde dieses Pepton gewählt.

Versuch I. Eine Lösung des Peptons in 12,5%iger Salzsäure, welche 10% Zinnchlorür enthielt, drehte im 20 cm-Rohr um  $6,1^\circ$  nach links. Die Lösung wurde vor dem Rückflußkühler rasch zum Sieden erhitzt, jedesmal eine bestimmte Zeit im Sieden erhalten und rasch abgekühlt; hierauf wurde im 20 cm-Rohr das Drehungsvermögen bestimmt.

So wurde erhalten:

Nach	0 Minuten	Sieden	$\alpha = -6,1^\circ$
>	20	>	$\alpha = -2,25^\circ$
>	85	>	$\alpha = -0,68^\circ$
>	205	>	$\alpha = -0,34^\circ$
>	325	>	$\alpha = -0,06^\circ$
>	925	>	$\alpha = +0,51^\circ$

Da Versuch I gezeigt hatte, daß durch Sieden mit 12,5%iger Salzsäure und Zinnchlorür die Zersetzung so rasch erfolgt, daß konstante Zwischenphasen nicht zu beobachten waren, wurde in einem

II. Versuch mit 12,5%iger Salzsäure, die 20% Zinnchlorür enthielt, zuerst bei Zimmertemperatur, dann bei  $38^\circ$  zersetzt. Es wurden beobachtet:

Nach	0 Stunden		$\alpha = -11,76^\circ$
>	14	> bei Zimmertemperatur	$\alpha = -11,70^\circ$
>	38	>	$\alpha = -11,45^\circ$
>	62	>	$\alpha = -11,16^\circ$
>	86	>	$\alpha = -10,89^\circ$
>	134	>	$\alpha = -10,46^\circ$

Die durch Sinken des Drehungsvermögens kontrollierte Spaltung des Peptons erfolgte also bei Zimmertemperatur außerordentlich langsam. Deshalb wurde diese Lösung weiter auf  $38^{\circ}$  erwärmt.

Nach	22	Stunden	bei	$38^{\circ}$	$\alpha = - 8,40^{\circ}$
>	70	>	>	$38^{\circ}$	$\alpha = - 6,14^{\circ}$
>	118	>	>	$38^{\circ}$	$\alpha = - 5,00^{\circ}$
>	166	>	>	$38^{\circ}$	$\alpha = - 4,82^{\circ}$
>	214	>	>	$38^{\circ}$	$\alpha = - 5,00^{\circ}$

Dieser Versuch zeigt, daß durch Spaltung mit 12,5%iger Salzsäure bei  $38^{\circ}$  die Zersetzung, soweit sie durch das Drehungsvermögen der Lösung kontrollierbar ist, nach 118 Stunden Halt macht und auch nach 214 Stunden nicht merklich weiter geht. Hieraus war zu schließen, daß Zwischenprodukte entstanden waren, welche der weiteren Spaltung durch 12,5%ige Salzsäure bei  $38^{\circ}$  hartnäckig widerstehen.»

Die zwei angeführten Versuche zeigen recht deutlich, wie außerordentlich verschieden die Siedetemperatur gegenüber der Temperatur von  $38^{\circ}$  wirkt. Nach 20 Minuten langem Kochen ist in dem einen Versuche das Drehungsvermögen von  $- 6,1$  auf  $- 2,25 =$  um 63,1% gesunken, hingegen nach 134 Stunden bei Zimmertemperatur und 118 Stunden bei  $38^{\circ}$  erst von  $- 11,76$  auf  $- 5,00 =$  um 57,5%.

Bei der Darstellung von Kyrinen sind ferner die Phosphorwolframsäurefällungen bei Zimmertemperatur und nicht, wie es Skraup und Zwirger getan haben, heiß vorzunehmen. Auch muß bei der Zersetzung des Phosphorwolframsäureniederschlags mit Barythydrat Wärme bei einem Überschuße des letzteren vermieden werden. Es empfiehlt sich, den Phosphorwolframsäureniederschlag bei  $30-40^{\circ}$  in Wasser und Ammoniak zu lösen und mit Barythydrat unter Vermeidung eines wesentlichen Überschusses zu zersetzen.<sup>1)</sup>

Skraup und Zwirger glauben für 2 Fraktionen der Phosphorwolframate ihres Basengemenges gleiche Zusammensetzung gefunden zu haben. Die von Skraup und Zwirger analysierten Phosphorwolframate enthalten rund 90% Glührück-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 47.

stand. Nach meinen Erfahrungen läßt sich aus diesem Rückstand der Kohlenstoff ganz nur nach Vermischen mit Kupferoxyd verbrennen.<sup>1)</sup> Abgesehen davon, daß solche Körper mit 90% Glutrückstand überhaupt wenig geeignet sind zur Ermittlung der Zusammensetzung der in ihnen vorhandenen organischen Substanz, hat man, wenn man die Übereinstimmung der erhaltenen Werte prüfen will, die relativen Prozente oder die für aschefreie Substanz berechneten Werte zu vergleichen. In Berücksichtigung der Tatsache, daß ein solcher Glutrückstand, vorausgesetzt, daß er nicht die Genauigkeit der Bestimmungen beeinflußt, für die Beurteilung der Analysenwerte eine ähnliche Rolle spielt, wie das Substanzschiffchen, nimmt man auch eine entsprechend der Menge des Glutrückstandes viel größere Menge Substanz; so haben auch Skraup und Zwenger Mengen von über 1 g verwendet. Sie fanden folgende Werte:

	% C	% H	% N
Fraktion I:	4,25	0,93	2,01
> IV:	4,30	0,84	1,83

Es enthielt also das Phosphorwolframat der I. Fraktion 10,71% H mehr als das der anderen von dessen Gesamtmenge, und ebenso 9,84% N mehr.

Da die verbrannten Substanzen fast genau 90% (90,06, 89,99) Glutrückstand enthielten, so ergeben sich aus den Prozentzahlen der Verfasser für aschefreie Substanz berechnet fast genau die zehnfachen Zahlen:

	% C	% H	% N
Fraktion I:	42,5	9,3	20,1
> IV:	43,0	8,4	18,3

Die Werte für Wasserstoff und Stickstoff stimmen also nicht überein; sie beweisen vielmehr, daß die zwei Fraktionen der Gemenge nicht, wie Skraup und Zwenger glauben, identisch, sondern verschieden sind. Damit haben also Skraup und Zwenger einen neuen Beweis für die Richtigkeit meiner Ansicht gebracht, daß man durch fraktionierte Fällung aus Gemengen Präparate verschiedener Zusammensetzung erhält.

<sup>1)</sup> Ber. d. math.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss., 1903, S. 71.

Wie schon gesagt, halte ich die Benutzung der Phosphorwolframate zur Feststellung der Zusammensetzung der die Phosphorwolframate bildenden Substanzen nicht für geeignet. Deshalb habe ich auch nicht die Phosphorwolframate, sondern die Sulfate der Kyrine fraktioniert. Ich habe lediglich seinerzeit<sup>1)</sup> das krystallisierte Phosphorwolframat des Glutokyrins analysiert, um mich zu überzeugen, daß die Zusammensetzung dieser schön krystallisierenden Verbindung der auf andere Weise festgestellten des Glutokyrins entspricht. Dieses Phosphorwolframat enthielt übrigens ca. 50% mehr organische Substanz, wie aus den mitgeteilten Analysen hervorgeht, als die Phosphorwolframate von Skraup und Zwenger. Es ist auch ganz verständlich, daß die Kyrine weniger Phosphorwolframsäure binden, als das Gemenge ihrer Spaltungsprodukte.

Skraup und Zwenger geben ferner an, daß sie aus 1 kg Casein 500 g eines Phosphorwolframates erhalten hätten, indem sie das Atomverhältnis N : C mit 1 : 2,6 gefunden, «also genau so, wie es Siegfried inzwischen bei dem Caseinokyrin (1 : 2,55) ermittelt hat». Im Caseinokyrin ist nun aber das Verhältnis N : C nicht 1 : 2,55, sondern ein ganz anderes, nämlich 1 : 2,155.

Die weitere Angabe der Verfasser, daß dieses Verhältnis in der Naphtalinsulfoverbindung 1 : 2,2 gewesen sei, ist wohl Druckfehler.

---

Aus Anlaß der oben zitierten Mitteilung von Skraup und Zwenger sei folgendes über die Unterschiede zwischen den Phosphorwolframaten der Kyrine und der basischen Spaltungsprodukte Lysin und Arginin bemerkt.

Erwärmt man das Gemisch von Arginin- und Lysinphosphorwolframat auch nur gelinde mit etwas Wasser und verdünnter Schwefelsäure oder außerdem Phosphorwolframsäure und läßt erkalten, so erscheint das ausgeschiedene Salzgemenge, wie bekannt, unter dem Mikroskope durchaus schön krystallisiert.

---

<sup>1)</sup> Ber. d. math.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss. 1903, S. 71.

Namentlich zeichnet sich das Lysinphosphorwolframat durch die wohlausgebildeten dünnen Prismen, die öfters zu Büscheln vereinigt sind, aus. Das Argininphosphorwolframat krystallisiert bisweilen in Sternchen, die aber nicht mit den Drusen des Kyrinphosphorwolframates zu verwechseln sind. Wenn man die Mischung von Lysin und Arginin in gleichem Verhältnis, wie sie als Spaltungsprodukte aus dem Caseinokyrin erhalten werden, oder einfacher die Lösung der Spaltungsprodukte von Caseinokyrin mit Phosphorwolframsäure fällt und erwärmt, so hat man nach dem Erkalten stets das gleiche Bild der einzelnen Krystalle des Lysin- und Argininphosphorwolframates.

Ganz anders verhält sich das Kyrinphosphorwolframat. Dasselbe fällt in der Kälte in Gestalt gut absaugbarer Körnchen aus, die sich nach Erwärmen in schwach schwefelsaurer Lösung fast immer wieder als Körnchen ausscheiden. Die charakteristischen Krystalle zu erhalten, gelingt sicher nur auf dem angegebenen Wege, durch Ausfällen mit Phosphorwolframsäure ohne Schwefelsäure aus der alkalischen Lösung und Krystallisieren aus heißem Wasser. Die Krystalle des Kyrinphosphorwolframates sind schlechterdings nicht mit den aus dem Gemenge von Lysin und Arginin erhaltenen Phosphorwolframaten zu verwechseln.

Wenn man Mischungen der Lösungen von Kyrinsulfat und von Lysin mit Phosphorwolframsäure fällt und nach Zusatz von etwas Schwefelsäure im Wasserbade etwa auf 40° erwärmt, so beobachtet man neben den Körnchen des Kyrinphosphorwolframates die freien, schön ausgebildeten Krystalle des Lysinphosphorwolframates. Sehr deutlich traten dieselben regelmäßig auf, wenn zu 1 ccm einer 0,2%igen Lösung von Caseinokyrinsulfat 0,2 ccm oder mehr einer 0,2%igen Lösung von Lysinmonochlorid und hierzu 1,2 ccm einer 10%igen Lösung von Phosphorwolframsäure gegeben, gelinde erwärmt und langsam abgekühlt wurde. Eine erhebliche Verunreinigung des Kyrins mit Lysin ist also durch mikroskopische Untersuchung der Phosphorwolframate zu erkennen, eine geringe nicht. Stets kann man jedoch eine Mischung von Lysin und Arginin vom Kyrin auf diesem Wege unterscheiden. Auf keinen Fall aber darf man annehmen, daß man Kyrin in den Händen hat, wenn bei

dieser mikroskopischen Untersuchung die charakteristischen Krystalle des Lysinphosphorwolframate erscheinen.

#### **Pikrat des Caseinokyrins.**

Sehr deutlich zeigt sich der Unterschied zwischen Caseinokyrin und dem Gemenge von Lysin und Arginin in den Pikraten.

Aus der wässerigen Lösung von 8 g Caseinokyrinsulfat wurde in der Kälte durch Barytwasser die Schwefelsäure, im Filtrate vom Baryumsulfat durch Ammoncarbonat der geringe Überschuß von Barythydrat entfernt; das völlig eingedampfte Filtrat wurde in ca. 80 ccm Wasser gelöst und auf dem Wasserbade allmählich mit 15 g Pikrinsäure vermischt. Es schied sich ein Öl ab, daneben war ungelöste Pikrinsäure vorhanden. Andern Tags wurde die wässerige Schicht, welche beim Einengen wieder Öl abschied, abgegossen und das mit Pikrinsäure vermischte Öl in ca. 50 ccm Alkohol (99<sup>0</sup>/<sub>0</sub>) gelöst; diese Lösung wurde in 5 l Äther I eingerührt. Vom abgeschiedenen Pikrate wurde die Mutterlauge abgegossen, das Pikrat mit Äther dekantiert, bis dieser keine merklichen Mengen Pikrinsäure mehr löste, dann abgesaugt und mit Äther gewaschen. Nach Trocknen über Schwefelsäure im Vakuum wurde ein scharf citronengelbes Pulver, das stark elektrisch beim Reiben wurde, in einer Ausbeute von 7,5 g erhalten. Hiervon gaben 3,0131 g büchsentrockene Substanz durch Ausäthern bei Gegenwart von verdünnter Schwefelsäure 1,7829 g Pikrinsäure. In dem Pikrat war also nicht viel mehr als die Hälfte des als Ausgangsmaterial gewonnenen Kyrins gewonnen worden.

Das Pikrat ist schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heißem Wasser und scheidet sich beim Erkalten der heißen wässerigen Lösung als Öl ab; es ist leicht löslich in Alkohol, Aceton, unlöslich in Benzol und Äther.

3,0131 g dieses Pikrates wurden im Scheidetrichter mit 50 ccm Wasser + 5 g konzentrierter Schwefelsäure übergossen und mit Äther ausgeschüttelt. Da noch öliges Pikrat in der schwefelsauren Lösung blieb, wurde noch 5 g konzentrierte Schwefelsäure mit etwas Wasser verdünnt zugegeben. Nunmehr erfolgte klare Lösung, die mit Äther vollständig extrahiert wurde.

Eine Probe dieser Lösung gab eine ausgesprochene, mehr bordeauxfarbige Biuretreaktion. Die ausgeätherte Lösung wurde nach Verdunstenlassen des gelösten Äthers mit noch 15 g konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 7 Stunden am Rückflußkühler gekocht, die Zersetzungslösung auf 250 ccm aufgefüllt.

I. 30 ccm dieser Lösung erforderten nach Kjeldahl 17,45 ccm  $n_{10}$  S.

II. 40 „ „ „ gaben mit Phosphorwolframsäure gefällt nach früher<sup>1)</sup> gegebener Vorschrift 19,4 ccm  $n_{10}$  S (korr.)

Basen-N = 83,3% vom Gesamt-N.

Die unter Benutzung der richtigen Korrektionswerte früher erhaltenen Zahlen sind: 83,8%; 83,9%; 85,3%.

Es wurde also in diesem Pikrate dasselbe Verhältnis von Basen-N:Gesamt-N der Spaltungsprodukte wie im Sulfat erhalten.

Ferner ließen sich auch aus dem Reste der Zersetzungslösung Lysin und Glutaminsäure wie früher als Lysinplatin Salz und glutaminsaures Silber isolieren. Das aus dieser Lösung erhaltene Argininsilbersalz gab jedoch einen zu hohen Silberwert. Deshalb wurden zum Nachweis des Arginins 2 weitere g desselben Pikrates mit 50 ccm Wasser + 5 g Schwefelsäure auf dem Wasserbade erwärmt, nach Erkalten von ausgeschiedener Pikrinsäure filtriert, das Filtrat ausgeäthert und nach Zusatz weiterer 22 g Schwefelsäure  $7\frac{3}{4}$  Stunden am Rückflußkühler gekocht. Aus dieser Zersetzungslösung wurde nach zweimaligem Umkrystallisieren das Argininsalz rein erhalten.

Lysin:

	0,1772 g Substanz gaben 0,0577 g Pt
Gefunden:	Ber. für $(C_6H_{14}N_2O_2)_2PtCl_4H_2 + C_2H_5OH$ :
Pt = 32,56%	32,37%

Arginin:

	Zersetzungspunkt des Silbersalzes: 185—186° (korr.)
	0,1468 g Substanz gaben 0,0393 g Ag
Gefunden:	Ber. für $C_{16}H_{14}N_4O_2 \cdot NO_3H \cdot AgNO_3$ :
Ag = 26,77%	26,55%

Glutaminsäure:

	0,0798 g Substanz gaben 0,0477 g Ag
Gefunden:	Berechnet für $C_5H_7NO_4Ag_2$ :
Ag = 59,65%	59,81%

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 57.

Um dieses Pikrat des Caseinokyrins mit den auf gleiche Weise dargestellten Pikraten der Mischung von Lysin und Arginin vergleichen zu können, wurden die Lösungen von 1,53 g Lysinchlorid und die von 1,705 g Argininsilbersalz, entsprechend 2 Mol. Lysin und 1 Mol. Arginin, vermischt, nach Absitzen des Chlorsilbers filtriert und das Filtrat mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure ausgefällt. Nach Erwärmen auf dem Wasserbade und Erkaltenlassen war das ganze Phosphorwolframat gut krystallisiert, wie oben besprochen; nirgends ließen sich Krystalle, die dem Kyrinphosphorwolframat ähnelten, entdecken. Aus diesem Phosphorwolframat wurden die Basen durch Lösen in Wasser und Ammoniak auf dem Wasserbade, Ausfällen mit Barythydrat, Entfernen des Baryums durch Ammoncarbonat dargestellt. Die wässerige Lösung der Basen wurde ganz wie oben mit Pikrinsäure, 6,7 g, auf dem Wasserbade vermischt. Auch hier schied sich zunächst ein Öl ab, mit Pikrinsäure vermischt. Feucht läßt sich auch dieses Öl in Alkohol lösen; diese alkoholische Lösung wurde in Äther verrührt und so ein Pikratpulver erhalten.

Den Unterschied zwischen diesem Pikrat und dem Kyrin-pikrat zeigen folgende Versuche deutlich:

Schüttelt man die wässerige Lösung des Kyrinpikrates mit Äther aus, bis dieselbe keine Pikrinsäure mehr aufnimmt, und engt die wässerige Lösung auf dem Wasserbade oder bei gewöhnlicher Temperatur ein, so scheidet sich ein Öl, niemals aber Krystalle ab.

Hingegen gibt das Pikrat des Basengemisches sogleich beim Einengen Lysin-pikrat. Das Lysin-pikrat wird offenbar durch überschüssige Pikrinsäure in seiner Löslichkeit verändert, wird diese überschüssige Pikrinsäure durch Äther entfernt, so krystallisiert das schwer lösliche Lysin-pikrat aus.

0,5 g des mit Äther gefällten Basen-pikrates wurden mit Alkohol (99%) auf dem Wasserbade erwärmt. Selbst 150 ccm Alkohol lösten es nicht ganz auf. Von diesem ungelösten Rückstand wurde filtriert; das erkaltete Filtrat schied ein Pikrat aus, dessen Menge nach Umkrystallisieren aus Wasser ohne Alkohol-zusatz 0,1084 g über Schwefelsäure getrocknetes reines Lysin-pikrat lieferte.



Bei den Zersetzungen von Proteinkörpern durch Säuren und Enzyme leistet uns jetzt ein Verdauungsapparat gute Dienste, der es ermöglicht, durch Wochen und Monate hindurch Reaktionsgemische in 2 Gefäßen von je 25 l und 2 von je 12 l bei Körpertemperatur, die durch einen Ostwaldschen Regulator konstant gehalten wird, unter fortwährendem Rühren zu digerieren. Da die betreffenden beweglichen Teile auf Kugellagern laufen, genügt ein kleiner Motor, den Apparat zu treiben; jedes einzelne Gefäß läßt sich außer Betrieb setzen, ohne in den anderen das Rühren unterbrechen zu müssen.

#### Kyrin aus Fibrin.

Von weiteren Untersuchungen über allmähliche Hydrolyse von Proteinkörpern sei kurz aus der jetzt abgeschlossen vorliegenden Arbeit des Herrn H. Geide, welcher demnächst seine Ergebnisse ausführlich mitteilen wird, folgendes berichtet.

Aus Fibrin läßt sich ebenfalls ein Kyrin gewinnen, welches bei der vollständigen Hydrolyse Lysin, Arginin und Glutaminsäure gibt.

Das Phosphorwolframat krystallisiert ähnlich wie das des Caseinkyrins. Die Isolierung des Kyrins geschah nach 2 etwas abweichenden Verfahren, die Reinigung durch Umfällen des Sulfates. Konstanz in der Zusammensetzung des Sulfates wurde erst nach der 9. Umfällung erreicht und bis zur 15. Umfällung kontrolliert. Die Präparate der ersten Umfällungen, welche keine konstante Zusammensetzung besaßen, gaben auch abweichende Werte für Basen-N bei vollständiger Zersetzung; die Präparate konstanter Zusammensetzung gaben dagegen auch konstante Werte für Basen-N.

#### Analysenwerte des reinen Sulfates.

%	Darstellung I			Darstellung II	
	9. Umfällung	12. Umfällung	15. Umfällung	9. Umfällung	12. Umfällung
C	33,57; 33,79	33,69; 33,30	33,24; 33,60	33,38; 33,51	33,48; 33,56
H	6,00; 6,11	5,90; 6,02	6,01; 6,22	6,39; 6,30	6,14; 6,26
N	15,39; 15,53	15,40; 15,47	15,50; 15,47	15,29; 15,40	15,32; 15,28
S	10,08	10,04; 9,98	9,93	10,03	10,09

Nach Spaltung durch Kochen mit Schwefelsäure wurden erhalten:

Darstellung I			Darstellung II		
Prozent	9. Umfällung	12. Umfällung	15. Umfällung	9. Umfällung	12. Umfällung
Durch PWS fällbarer N	72,73	72,51	73,12	73,49	72,89
Nicht fällbarer N	26,11	27,66	26,95	26,57	27,96

Sowohl aus der 15. Umfällung, Darstellung I, als aus der 12. Umfällung, Darstellung II, wurde gefunden, daß etwa die Hälfte des Basen-N auf Arginin kommt.