

Die Monoaminosäuren des «Syntonins» aus Rindfleisch.

Von

Emil Abderhalden und Takaoki Sasaki, Tokio.

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

(Der Redaktion zugegangen am 27. März 1907.)

Der vorliegenden Untersuchung lag der Gedanke zugrunde, einen Eiweißkörper nach seiner Zusammensetzung an Aminosäuren kennen zu lernen, der bei der Ernährung des Fleischfressers eine große Rolle spielt, nämlich das Muskeleiweiß. Es wäre natürlich wünschenswert gewesen, aus dem gewiß vorhandenen Gemisch an verschiedenartigen Proteinen, welche im sogenannten Muskeleiweiß enthalten sind, bestimmte Arten von Eiweißkörpern zu isolieren. Vorläufig haben wir auf den Versuch einer «Reindarstellung», soweit man diesen Ausdruck bei der Proteingewinnung überhaupt verwenden darf, verzichtet und das Acidalbumin, genannt Syntonin, untersucht, das man durch Einwirkung von verdünnter Säure auf Muskeleiweiß leicht erhält.¹⁾ Für eine Orientierung schien uns dieses Präparat am besten geeignet.

Die angewandten Untersuchungsmethoden waren die üblichen. Bestimmt wurden in einer besonderen Portion das Tyrosin und die Glutaminsäure, und zwar ersteres durch direkte Krystallisation und letzteres als salzsaures Salz. Die übrigen Aminosäuren wurden mit Hilfe der Estermethode isoliert.

1. Gewinnung von Tyrosin und Glutaminsäure.

50,0 g Syntonin wurden mit 500 ccm 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler auf einem Baboblech

¹⁾ Das Präparat hatte Herr Dr. Grübler in Plauen-Dresden dargestellt.

gekocht. Das dunkelbraun gefärbte Hydrolysat wurde nun mit Wasser auf zwei Liter verdünnt und nach erfolgter Filtration die Schwefelsäure quantitativ mit Baryt entfernt. Das Filtrat vom schwefelsauren Baryt engten wir zusammen mit den wiederholten Auskochungen des Baryumsulfates mit Wasser auf dem Wasserbade so lange ein, bis Krystallisation erfolgte. Die gebildete Krystallhaut, die ausgeprägte Tyrosinreaktion (Millon) zeigte, wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und die Mutterlauge weiter eingeengt, bis von neuem Krystallisation auftrat. Dieser Prozeß wurde wiederholt, bis die Mutterlauge beim Kochen mit Millons Reagens keine Rotfärbung mehr gab. Die vereinigten Krystallfraktionen wurden in kochendem Wasser gelöst, mit Tierkohle gekocht und dann durch Abkühlen und späteres Einengen das Tyrosin wieder zur Abscheidung gebracht. Die Tierkohle kochten wir wiederholt mit Wasser aus. Sie hält erfahrungsgemäß gerne Tyrosin zurück. Das jedesmalige Waschwasser wurde für sich eingeengt. Die Menge des isolierten reinen Tyrosins betrug 0,959 g.

Die Mutterlauge des Rohtyrosins, sowie diejenige des umkrystallisierten Tyrosins engten wir noch weiter ein und leiteten dann gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung ein. Es erfolgte bald Abscheidung von Glutaminsäurechlorhydrat. Nach zweitägigem Stehen bei 0° wurde die Krystallmasse auf Koliertuch abgenutscht, die Mutterlauge eingeengt und wieder auf Eis aufbewahrt. Dieser Prozeß wurde wiederholt, bis keine Abscheidung von Krystallen mehr eintrat. Die erhaltenen Krystallfraktionen lösten wir in Wasser auf, kochten die Lösung mit Tierkohle auf und leiteten wiederum gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung ein. Wir erhielten schließlich auf Glutaminsäure berechnet 5,85 g reine Substanz.

0,1804 g Substanz gaben 0,2188 g CO₂ und 0,0911 g H₂O

Berechnet für C₅H₉NO₄ · HCl:

Gefunden:

32,69% C und 5,45% H. 33,07% C und 5,61% H.

Da das verwendete Syntonin 0,78% Asche enthielt und beim Trocknen bei 100° bis zur Gewichtskonstanz 12,69% Wasser verlor, so ergibt sich aus den angegebenen Zahlen

auf 100 g aschefreies, trockenes Syntonin berechnet eine Ausbeute von 2,2 g Tyrosin und 13,6 g Glutaminsäure.

2. Hydrolyse mit rauchender Salzsäure und Anwendung der Estermethode.

Das zu dieser Untersuchung verwendete Syntonin stammte von derselben Darstellung, wie das zur Tyrosin- und Glutaminsäurebestimmung angewandte. 180,0 g Syntonin wurden mit 600 ccm rauchender Salzsäure (vom spez. Gew. 1,19) 8 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die dunkelbraun gefärbte Lösung wurde dann nach dem Erkalten und Verdünnen mit Wasser abgenutscht und unter vermindertem Druck zur Trockene verdampft. Auf dem Filter verblieben 6,0 g Huminsubstanz. Den Destillationsrückstand veresterten wir mit Alkohol und Salzsäure in der gewohnten Weise. Die Veresterung wurde 4mal wiederholt. Es gelang nicht, Glykokoll als Esterchlorhydrat abzuscheiden.

Bei der Destillation der Ester erhielten wir folgende Fraktionen:

I. Fraktion:	0—100°	des Wasserbades	und 12 mm Druck	= 32,8 g
II. :	—100°	» »	» 0,5 » »	= 25,4 »
III. :	100—200°	» Ölbades	» 0,5 » »	= 31,4 »

Der Destillationsrückstand wog 14,5 g.

Die beiden ersten Fraktionen wurden sofort durch Kochen mit der siebenfachen Menge Wasser verseift, während von der dritten Fraktion zunächst in der bekannten Weise der Phenylalaninester abgetrennt wurde. Die übrigen Ester verseiften wir mit Barytwasser.

Fraktion I und II dampften wir unter vermindertem Druck zur Trockene ein. Es hinterblieb bei der ersten Fraktion ein Rückstand von 20,5 g, bei Fraktion II ein solcher von 19,0 g. Aus beiden Fraktionen lösten wir mit kochendem absolutem Alkohol zunächst das Prolin heraus und vereinigten die alkoholischen Auszüge. Die in Alkohol unlöslichen Aminosäuren lösten wir in Wasser und engten die mit Tierkohle aufgekochten Lösungen solange ein, bis sich Krystalle abschieden. Wir zerlegten so jede Fraktion in eine größere Anzahl von Krystallisationen und untersuchten diese. Meist stellten wir auch Kupfer-

salze dar und fraktionierten diese zur weiteren Identifizierung und Reinigung. Je ein Gramm von Fraktion I und II untersuchten wir auf Glykokoll, indem wir das Aminosäuregemisch mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols übergossen, bis zur Sättigung gasförmige, trockene Salzsäure einleiteten und nach dem Abkühlen mit einem Kryställchen von Glykokollesterchlorhydrat impften.

Fraktion I enthielt 0,75 g Glykokoll, 3,5 g Alanin, 1,35 g Valin und 5,30 g Leucin.

Fraktion II ergab: 2,6 g Alanin, 6,4 g Leucin.

An Prolin wurde aus beiden Fraktionen 5,0 g erhalten.

Fraktion III enthielt 0,75 g Asparaginsäure, 12,5 g Glutaminsäure und 3,75 g Phenylalanin. Serin konnte nicht vollständig rein erhalten werden.

Glykokollesterchlorhydrat [Schmelzpunkt 144° (korr.)]:

0,1818 g Substanz gaben 0,2305 g CO₂ und 0,1214 g H₂O

Berechnet für C₄H₁₀NO₂Cl: Gefunden:

34,41% C und 7,17% H. 34,59% C und 7,42% H.

Alanin:

0,1471 g Substanz gaben 0,2177 g CO₂ und 0,1041 g H₂O

Berechnet für C₃H₇NO₂: Gefunden:

40,45% C und 7,87% H. 40,32% C und 7,86% H.

Valin:

0,1822 g Substanz gaben 0,3412 g CO₂ und 0,1541 g H₂O

Berechnet für C₅H₁₁NO₂: Gefunden:

51,28% C und 9,40% H. 51,07% C und 9,39% H.

Leucin:

0,1510 g Substanz gaben 0,3042 g CO₂ und 0,1358 g H₂O

Berechnet für C₆H₁₃NO₂: Gefunden:

54,96% C und 9,92% H. 54,95% C und 9,99% H.

Prolin:

0,1211 g lufttrockenes, inaktives Kupfersalz verloren bei 120° 0,0131 g H₂O

Berechnet für C₁₀H₁₆O₄N₂Cu + 2 H₂O: Gefunden:

10,99% H₂O. 10,82% H₂O.

0,1912 g bei 120° getrocknetes Kupfersalz gaben 0,0518 g CuO

Berechnet für C₁₀H₁₆O₄N₂Cu: Gefunden:

21,8% Cu. 21,60% Cu.

Asparaginsäure:

0,1748 g Substanz gaben 0,2304 g CO₂ und 0,0843 g H₂O

Berechnet für C₄H₇NO₄: Gefunden:

36,09% C und 5,26% H. 35,96% C und 5,36% H.

