

Zur Kenntnis der allmählichen Hydrolyse des Glutins.

Von

M. Siegfried und O. Pilz.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.)
(Der Redaktion zugegangen am 27. November 1908.)

Der eine¹⁾ von uns hat als erstes Kyrin das Glutokyrin durch allmähliche Hydrolyse von Trypsinglutinpepton und Gelatine als Sulfat dargestellt. Dasselbe lieferte bei der völligen Hydrolyse Arginin, Lysin, Glutaminsäure und Glykokoll; die Menge des aus der Lösung der Zersetzungsprodukte durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes betrug $\frac{2}{3}$ vom Gesamtstickstoff. Nachdem aus anderen Proteinkörpern Kyrine gewonnen worden waren, welche sämtlich bei der völligen Hydrolyse Arginin, Lysin und Glutaminsäure gaben, dabei aber eine wesentlich höhere Zahl für den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff der Zersetzungsprodukte durch Schwefelsäure lieferten, ergab sich die Frage, ob, wenn bei weiterer Hydrolyse das Glykokoll aus dem Glutokyrin abgespalten wird, dann ein Zerfall in letzte Spaltungsprodukte überhaupt stattfindet, oder ob, ähnlich wie bei den aus Casein, Fibrin, Hämoglobin gewonnenen Kyrinen, Arginin, Lysin und Glutaminsäure in Verbindung erhalten bleiben.

Darstellung des Glutokyrin- β -sulfates.

I. Darstellung.

500 g beste käufliche Ledergelatine wurden mit 5 Litern der Mischung von 1 Teil Wasser und 2 Teilen 25%iger Salzsäure 4 Wochen bei 38 bis 40° unter häufigem Umschütteln digeriert; die Reaktionsflüssigkeit wurde zunächst mit 10%iger,

¹⁾ M. Siegfried, Ber. d. math.-physik. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wissensch., 1903, S. 63.

dann mit 50 %iger Phosphorwolframsäure kalt ausgefällt. Das Phosphorwolframat wurde abgesaugt und mit 5 %iger Schwefelsäure Cl-frei gewaschen. Der Niederschlag saugt sich im Gegensatz zu den Phosphorwolframatn der letzten Spaltungsprodukte sehr schnell ab. Der chlorfrei gewaschene Niederschlag wurde in Wasser unter Zusatz von Ammoniak bei 30 bis 40° gelöst und mit Barythydrat unter Vermeidung eines wesentlichen Überschusses desselben zersetzt, das Filtrat nach Entfernung des Baryums durch etwas Ammoniumcarbonat auf dem Wasserbade zum Sirup eingedampft. Dieser wurde zunächst mit möglichst wenig 10 %iger Schwefelsäure zum dünnen Sirup gelöst, diese Lösung mit 50 %iger Schwefelsäure bis zur Kongoreaktion und dann mit dem gleichen Volumen der so erhaltenen Lösung 10 %iger Schwefelsäure vermischt, so daß das Rohsulfat jetzt ungefähr in 5 %iger Lösung sich befand. Diese Lösung wurde nach Zusatz des gleichen Volumens 99 %igen Alkohols in 99 %igem Alkohol tropfenweise verrührt, indem auf je 40—45 ccm der mit Alkohol verdünnten Sulfatlösung 1 Liter Alkohol genommen wurde. Das ausgeschiedene Sulfat wurde abgesaugt und mit 99 %igem Alkohol SO_4 -frei gewaschen, dann mit Äther I nachgewaschen und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet.

Dieses Rohsulfat wurde in folgender Weise 15 mal umgefällt: Zu der Lösung des Sulfates in möglichst wenig Wasser, doch so hergestellt, daß sie keinen Sirup, sondern eine leicht bewegliche Flüssigkeit bildete, wurde unter kräftigem Umschütteln allmählich die fünffache Menge 99 %igen Alkohols gegeben. Das Sulfat setzt sich als Öl ab. Anderntags wird die überstehende klare Lösung ab- und weggegossen. Das Öl wird wieder in wenig Wasser gelöst und wie zum ersten Male durch allmählichen Zusatz von Alkohol unter kräftigem Schütteln als Öl gefällt. Jetzt wird das ausgeschiedene Öl nach Abgießen der überstehenden Flüssigkeit in 5 %iger Schwefelsäure gelöst und wie bei der Fällung des Rohkyrinsulfates in 99 %igem Alkohol tropfenweise verrührt.

In derselben Weise, also erst 2 Ölfällungen, dann Fällung durch Einrühren in Alkohol als feinkörniger Niederschlag, wurde

das Sulfat noch 12mal umgefällt. Die Ausbeute an Rohsulfat betrug 110 g, die der dritten Umfällung 55 g, die der fünfzehnten 20 g. Die Zahlen sind jedoch nur ungefähr vergleichbar, da erstens das über Schwefelsäure getrocknete Sulfat noch erhebliche Mengen Alkohol enthält und weil zweitens von den späteren Umfällungen Substanzmengen zu den unten verzeichneten Analysen und Spaltungen zum Zwecke der Bestimmung des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes entnommen wurden. Bemerkenswert ist jedoch der Umstand, daß bereits nach der dritten Fällung nur noch die Hälfte des Rohsulfates erhalten wurde, denn er zeigt, wie groß der Verlust und daher wie einschneidend die Reinigung ist, solange noch größere Mengen anderer Substanzen dem Kyrinsulfat beigemischt sind.

II. Darstellung.

Diese Darstellung geschah wie die erste, nur wurde die Zersetzung in dem großen Verdauungsapparate des hiesigen Laboratoriums, welcher ein ununterbrochenes Umrühren gestattet, vorgenommen. Es wurden hier 150 g Rohsulfat erhalten, nach der 15. Umfällung 30 g.

III. Darstellung.

Zersetzt wurde wie bei der zweiten Darstellung unter beständigem Rühren 1 kg Gelatine unter Anwendung der doppelten Mengen Salzsäure und Wasser wie bei der ersten und zweiten Darstellung. Zur Gewinnung des Rohsulfates wurden $\frac{9}{10}$ der Reaktionslösung verarbeitet, die Ausbeute an Rohsulfat betrug 300 g. Die Umfällung geschah diesmal nicht teils durch Einrühren in Alkohol teils als Ölfällung, sondern lediglich durch Einrühren der Sulfatlösung in der oben angegebenen Weise in 99 %igen Alkohol. Diese Reinigungsart führt schneller zum Ziele, als die Ölfällungen. Nach der 7. Umfällung wurden 40 g reines Sulfat gewonnen. In den Fällungen und Umfällungen dieses Präparates waren zusammen 77 kg Alkohol verbraucht worden.

Analysen des Glutokyrin- β -sulfates.

Für die Analysen wurden die Substanzen auf den Schiffchen zunächst mehrere Tage über Schwefelsäure im Vakuum

12. Umfällung.

- XV. 0,1750 g Substanz gaben 0,2067 g CO₂ und 0,0888 g H₂O.
 $C = 32,17\%$ $H = 5,70\%$.
- XVI. 0,1150 » » erf. 13,85 ccm n_{10} -H₂SO₄. $N = 16,79\%$.
- XVII. 0,2100 » » gaben 30,3 ccm tr. N bei 20,5° und 758 mm Bar.
 $N = 16,76\%$.

15. Umfällung.

- XVIII. 0,1755 g Substanz gaben 0,2085 g CO₂ und 0,0894 g H₂O.
 $C = 32,40\%$ $H = 5,64\%$.
- XIX. 0,1923 » » erf. 22,34 ccm n_{10} -H₂SO₄. $N = 16,26\%$.
- XX. 0,3375 » » gaben 0,2480 g BaSO₄. $S = 10,09\%$.
- XXI. 0,1482 » » » 0,1100 » » » = 10,19%.

Präparat Darstellung II.

5. Umfällung.

- XXII. 0,1500 g Substanz gaben 0,1793 g CO₂ und 0,0958 g H₂O.
 $C = 32,67\%$ $H = 7,02\%$.
- XXIII. 0,2610 » » » 38,6 ccm tr. N bei 20° und 755 mm Bar.
 $N = 17,12\%$.
- XXIV. 0,2570 » » » 37,66 » » » » 20° und 749 mm Bar.
 $N = 16,88\%$.

6. Umfällung.

- XXV. 0,1560 g Substanz gaben 0,1855 g CO₂ und 0,0855 g H₂O.
 $C = 32,43\%$ $H = 6,09\%$.
- XXVI. 0,1750 » » » 0,2079 g CO₂ und 0,0940 g H₂O.
 $C = 32,40\%$ $H = 6,00\%$.
- XXVII. 0,2600 » » » 38,5 ccm tr. N bei 19° und 756 mm Bar.
 $N = 17,22\%$.

7. Umfällung.

- XXVIII. 0,1755 g Substanz gaben 0,2079 g CO₂ und 0,0894 g H₂O.
 $C = 32,31\%$ $H = 5,66\%$.
- XXIX. 0,1430 » » » 20,9 ccm tr. N bei 16° und 741 mm Bar.
 $N = 16,82\%$.
- XXX. 0,1552 » » » 0,1125 g BaSO₄. $S = 9,95\%$.
- XXXI. 0,0900 » » » 0,0640 » » » = 9,76%.

In folgender Tabelle sind die Resultate dieser Analysen zusammengestellt; hierbei ist bei Parallelanalysen das Mittel angegeben.

Wie man sieht, stimmen die Werte für Kohlenstoff mit dem Durchschnittswert innerhalb der Fehlergrenzen überein,

dasselbe gilt im allgemeinen auch für die Wasserstoff- und Stickstoffwerte. Bei letzteren erklären sich die etwas größeren Differenzen wohl aus dem Umstande, daß das Sulfat in Lösung so stark hydrolysiert ist, daß es Kongopapier bläut und daher leicht etwas Ammoniak aus der Atmosphäre anzieht, das schon in geringen Mengen die Stickstoffwerte beeinflußt.

		% C	% H	% N	% S
Darstellung I	9. Umfällung	31.85	6.22	16.40	—
	12. >	32.13	6.20	16.99	—
	15. >	31.84	6.01	17.15	9.94
Darstellung II	9. Umfällung	31.89	6.15	16.26	—
	12. >	32.17	5.70	16.77	—
	15. >	32.40	5.64	16.26	10.14
Darstellung III	5. Umfällung	32.67	7.02	17.00	—
	6. >	32.41	6.04	17.22	—
	7. >	32.31	5.88	16.82	9.86
Mittel . . .		32.2	6.1	16.8	9.9

Jedenfalls beweisen die mitgeteilten Analysen, daß bei 3 verschiedenen Darstellungen und häufigem Umfällen des Sulfates Produkte konstanter Zusammensetzung erhalten wurden.

Darstellung des Glutokyrin- β -sulfates aus umkrystallisiertem Phosphorwolframat.

Das Phosphorwolframat krystallisiert aus Wasser leicht und ganz gleichmäßig in Drusen, die den früher¹⁾ für das Glutokyrin- α -sulfat beschriebenen und abgebildeten sehr ähnlich sind. Wäre das Sulfat ein Gemenge, so wäre zu erwarten, daß durch Krystallisation und Umkrystallisation aus Wasser, wobei, wie unten gezeigt wird, ein großer Teil des Phosphorwolframmates in den Mutterlauge bleibt, eine wenigstens teilweise Trennung des Gemenges stattfinden würde. Dies müßte

¹⁾ Ber. d. math.-phys. Kl. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss., 1903, S. 70.

sich in abweichender elementarer Zusammensetzung kundgeben. Da das Phosphorwolframat wegen seines hohen Gehaltes an Phosphorwolframsäure nicht geeignet zur Elementaranalyse ist, wurde aus dem umkrystallisierten Phosphorwolframate wieder das Sulfat dargestellt.

Die Lösung von 5 g Sulfat der 7. Umfällung der dritten Darstellung in 100 ccm Wasser wurde mit 250 ccm 10%iger Phosphorwolframsäure ausgefällt, abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Das Phosphorwolframat wurde auf dem Wasserbade mit 2 Liter Wasser 1 Stunde unter häufigem Umschütteln digeriert: aus dem Filtrate krystallisierte beim Erkalten das Phosphorwolframat ganz gleichmäßig aus. Dasselbe wurde anderntags abgesaugt; das ungelöst gebliebene Phosphorwolframat wurde mit dem Filtrate wieder eine Stunde auf dem Wasserbade digeriert. Nach Filtrieren wurde das Phosphorwolframat wieder bis zum andern Tage krystallisieren gelassen und dann abgesaugt. Mit dem Filtrate wurde das ungelöst gebliebene Phosphorwolframat wieder auf dem Wasserbade behandelt. Jetzt löste sich der Rest bis auf eine geringe Menge auf.

Die 3 Krystallisationen wurden eingehend mikroskopisch untersucht und erwiesen sich als ganz gleichmäßig in Drusen krystallisiert. Einzelne Krystalle wie bei der Krystallisation beigemengten Arginin- und Lysinphosphorwolframates waren nicht vorhanden.

Das erhaltene Phosphorwolframat wurde wieder aus 2 Liter Wasser umkrystallisiert. Die aus der völlig farblosen Lösung auskrystallisierten, ebenfalls farblosen Fraktionen waren wiederum ganz gleichmäßig krystallisiert.

Das Phosphorwolframat wurde in üblicher Weise in das Sulfat übergeführt, die Lösung dieses in 99%igen Alkohol tropfenweise verrührt; das Sulfat abgesaugt und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet. Ausbeute nur 2 g, also weniger als die Hälfte des Ausgangsmateriales.

Zu den Analysen, die wir Herrn Dr. H. Liebermann verdanken, wurde das Sulfat erst über Schwefelsäure und dann im getrockneten Luftstrome in dem mit siedendem Wasser umgebenen Rohr getrocknet.

Analysen:

- I. 0,2024 g Substanz gaben 0,2406 g Cl_2 und 0,1108 g H_2O .
 II. 0,1842 » » erforderten 22,2 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$.

Gefunden:	Durchschnitt der früheren Analysen:
C 32,42%	32,2%
H 6,03%	6,1%
N 16,87%	16,8%

Das aus dem umkrystallisierten Phosphorwolframate erhaltene Sulfat besaß also die gleiche Zusammensetzung wie das Ausgangsmaterial.

Eigenschaften des Glutokyrin- β -sulfates.

Das hier beschriebene Kyrinsulfat sei als Glutokyrin- β -sulfat bezeichnet, während das früher isolierte Glutokyrinsulfat Glutokyrin- α -sulfat genannt sei.

Das Glutokyrin- β -sulfat ist optisch inaktiv oder ganz schwach linksdrehend. $[\alpha]_D^{20}$ wurde $-0,2^\circ$ gefunden.

Es gibt eine schwache Biuretreaktion. Kaliumquecksilberjodid gibt keine Fällung, nur eine schwache Opalescenz. Mercurisulfat in 5%iger Schwefelsäure, Sublimat, Metaphosphorsäure fällen nicht.

Bestimmung der Menge des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffes der Zersetzungsprodukte des Glutokyrins β .

Diese Versuche bezweckten erstens die Feststellung des Verhältnisses des durch Phosphorwolframsäure fällbaren und nicht fällbaren Stickstoffes; zweitens sollte geprüft werden, ob die Präparate der verschiedenen Darstellungen und Umfällungen gleiche oder verschiedene Werte liefern.

Die Ausführung geschah wie früher¹⁾ angegeben. Als Korrektionswert für die Löslichkeit des Phosphorwolframsäureniederschlages wurde in drei Versuchen gefunden:

- a) 500 ccm erforderten 8,5 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$.
 b) 500 » » 8,6 » »
 c) 500 » » 8,4 » »

sodaß der Korrektionswert für 100 ccm Mutterlauge = 1,7 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$
 und » 100 » Waschflüssigkeit = 0,85 ccm ist.

¹⁾ M. Siegfried, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 57.

Nach Fällung mit Phosphorwolframsäure wurde stets mit 5% Phosphorwolframsäure-Schwefelsäure auf 120 ccm aufgefüllt und der abgesaugte Niederschlag mit 50 ccm desselben Säuregemisches nachgewaschen, sodaß die Korrektion für jeden Versuch beträgt:

$$1,7 \times 1,2 = 2,04 \text{ ccm}; + 0,85 \times 0,5 = + 0,43 \text{ ccm} = 2,47 \text{ ccm.}$$

Diese Korrektion ist somit bei der Berechnung der Werte für den Niederschlag zuzurechnen, bei der der Werte für das Filtrat abzuziehen.

			20 ccm der Lösung erf. ccm $n/10$ -Säure für Gesamt-N Mittel aus 2 Bestimmungen	20 ccm der Lösung erf. ccm $n/10$ -Säure für durch Phosphorwolframsäure fällbaren N	20 ccm der Lösung erf. ccm $n/10$ -Säure für durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren N	% des durch Phosphorwolframsäure fällbaren N vom Gesamt-N	% des durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren N vom Gesamt-N
Darstellung I	9. Umfällung	a	21,4	16,2	5,15	87,3	12,5
		b		15,7	5,5	84,9	14,2
	12. Umfällung	a	40,1	32,2	7,6	86,4	12,8
		b		32,5	7,2	87,2	11,8
	15. Umfällung	a	38,2	30,9	7,3	87,3	12,6
		b		31,0	7,4	87,6	12,9
Darstellung II	9. Umfällung	a	38,5	29,5	7,5	83,0	13,1
		b		29,1	7,6	84,0	13,1
	12. Umfällung	a	29,8	23,4	6,2	86,8	12,5
		b		23,6	6,0	87,5	11,8
	15. Umfällung	a	23,2	17,6	5,4	86,5	12,6
		b		17,6	5,6	86,5	13,4

Die Bestimmungen zeigen, daß die Sulfate verschiedener Darstellungen und Umfällungen übereinstimmend etwa 86% durch Phosphorwolframsäure fällbaren N bei der vollständigen Hydrolyse liefern.

Untersuchung der Spaltungsprodukte des Glutokyrin- β -sulfates.

10 g Sulfat (Darstellung III, 7. Umfällung) wurden mit der Mischung von 100 ccm Wasser und 50 g konz. Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht, die Lösung nach Verdünnen mit 200 ccm Wasser mit 20 ccm 10 %iger und 150 ccm 50 %iger Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag abgesaugt und mit 350 ccm 5 %iger Phosphorwolframsäure-Schwefelsäure gewaschen.

A. Der Phosphorwolframsäureniederschlag

wurde in Wasser bei gelinder Wärme unter Zusatz von etwas Ammoniak gelöst, die Phosphorwolframsäure durch Barythydrat, das Baryum durch Ammoniumcarbonat entfernt. Nach völligem Eindampfen auf dem Wasserbade wurde der Rückstand in Wasser gelöst und auf 500 ccm aufgefüllt.

1. Bestimmung des Stickstoffs im Silberbarytniederschlag.

Je 10 ccm der Lösung wurden kjeldahlisiert und erforderten 18,2 bzw. 18,4 ccm, im Mittel 18,3 ccm $n/10$ -H₂SO₄.

In je 20 ccm der Lösung wurde der Silberbarytniederschlag erzeugt, derselbe lieferte Ammoniak entsprechend 24,8 und 24,8 ccm $n/10$ -Säure, das sind unter Berücksichtigung der für die Löslichkeit des Argininphosphorwolframats anzuwendenden Korrektur 70,1 % N. Bezieht man diesen Stickstoff auf Arginin, so kommen etwa $\frac{2}{3}$ des Gesamt-N auf Arginin, $\frac{1}{3}$ auf Lysin, wenn im Filtrate vom Silberbarytniederschlage nur noch Lysin vorhanden war. Es würde sich also die Menge des Arginins zu der des Lysins wie 1 Molekül Arginin zu 1 Molekül Lysin verhalten.

2. Nachweis des Arginins und Lysins.

Die Trennung des Arginins vom Lysin geschah nach Kossel, das Arginin wurde als Silbernitratdoppelsalz isoliert. Nach Umkrystallisieren aus Wasser durch Alkohol wurde dieses Salz rein erhalten. Fp. korr. 183°.

Analyse:

0,1605 g Substanz gaben 0,0428 g Ag.	
Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 \cdot NO_3Ag$:
Ag = 26,66%	26,55%

Zum Nachweis des Lysins wurde sowohl das Platindoppelsalz als das Pikrat dargestellt.

Das Platinsalz ist besonders geeignet, weil es zugleich zeigt, ob aktives oder racemisches Lysin vorliegt. Denn bekanntlich¹⁾ wird aus dem optisch aktiven, rechtsdrehenden Lysin ein Platinsalz erhalten, das nach Trocknen über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewichte 1 Molekül Krystallalkohol enthält, während das inaktive Lysin ein Platinsalz gibt, das nach Trocknen über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewichte keinen Krystallalkohol enthält.

Analyse:

0,2087 g Substanz über H_2SO_4 bis zum konst. Gew. getr. gaben 0,0680 g Pt.	
Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2PtCl_6H_2 + C_2H_5OH$:
Pt = 32,58%	32,37%

Vor der Verbrennung war das Salz bei 110° bis zum konstanten Gewichte getrocknet. Das Gewicht der so getrockneten Substanz betrug 0,1947 g. Hiernach berechnet sich für das krystallalkoholfreie Salz:

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2PtCl_6H_2$:
Pt = 34,92%	35,05%

Es war also optisch aktives Lysin bei der Spaltung entstanden.

Die Proben auf Histidin mit ammoniakalischer Silberlösung und mit Mercurisulfat fielen negativ aus.

B. Das Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlags.

Nach Entfernung der Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure mit Barythydrat und Ammoniumcarbonat wurde das Filtrat eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst. Silbernitrat und ammoniakalische Silberlösung fällten einen starken Niederschlag, der abgesaugt und mit Wasser ausge-

¹⁾ M. Siegfried, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXIV, S. 429 und Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 363.

waschen wurde. Derselbe wurde mit Salzsäure zersetzt, das Filtrat vom Chlorsilber eingeeengt und mit Salzsäuregas gesättigt. Beim Stehen in der Kälte krystallisierte Glutaminsäurechlorhydrat aus.

Analyse:

0,1505 g über Natronkalk im Vakuum getrocknete Substanz gaben
0,1156 g ClAg.

Gefunden:	Berechnet für $C_5H_9NO_4 \cdot HCl$:
Cl = 18,99 %.	19,31 %.

Das Chlorhydrat schmolz unter Zersetzung unkorrekt bei 209° . Gegenüber anderen Angaben in der Literatur entspricht dieser Schmelzpunkt dem des Glutaminsäurechlorhydrates. Bei reinem, wiederholt umkrystallisierten Glutaminsäurechlorhydrat aus Casein durch Spaltung mit Salzsäure erhalten, wurde als Zersetzungspunkt 207° gefunden (unkorrekt).

War bei der Spaltung des Kyrins außerdem Glykokoll entstanden, so mußte dies wie beim Glutokyrin auf folgende Weise erhalten werden: Das Filtrat vom glutaminsauren Silber wird mit Schwefelammonium vom Silber befreit, das Filtrat vom Schwefelsilber vollständig auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand zur Entfernung des Ammoniumnitrates mit 99 %igem Alkohol extrahiert. Wird der nunmehr verbleibende Rückstand in wenig Wasser gelöst, die Lösung in heißen 99 %igen Alkohol eingetragen, so scheidet sich das Glykokoll aus. In diesem Falle wurde nach der Extraktion des Ammoniumnitrates ein geringer Rückstand erhalten, der nach Eintragen in Alkohol einen geringen Bodensatz bildete. Derselbe erwies sich jedoch als rein anorganisch, als eine geringe Menge Baryumsalz.

Glykokoll war also bei der Spaltung des Glutokyrin- β -sulfates in nachweisbaren Mengen nicht entstanden.

Als Spaltungsprodukte sind nachgewiesen: Arginin, Lysin, Glutaminsäure.

Bestimmung des Quotienten $\frac{CO_2}{N}$ bei der Carbaminreaktion.

Der Quotient $\frac{CO_2}{N}$ ist bei Peptonen und Kyrinen erstens eine wertvolle Konstante. Zweitens zeigt er, verglichen mit

dem der Gemische der Spaltungsprodukte der Peptone und Kyrine, den Unterschied zwischen beiden scharf an.

Die folgenden Bestimmungen wurden teils von O. Pilz, teils später von M. Siegfried ausgeführt.¹⁾ Sowohl aus dem Sulfate als aus der Lösung der Zersetzungsprodukte durch Schwefelsäure (1 Teil Säure, 2 Teile Wasser) wurde die Schwefelsäure durch Barythydrat, der geringe Überschuß des letzteren durch Ammoniumcarbonat entfernt. Die zu den Bestimmungen verwendeten Lösungen waren frei von Ammoniak und Ammoniumsalzen.

Sulfat-Darstellung II.

15. Umfällung.

1.	0,1000 g	CaCO ₃	29,9 ccm	n/10-H ₂ SO ₄	CO ₂ : N = 1 : 2,99
2.	0,0530 »	»	15,9 »	»	= 1 : 3,00

Sulfat-Darstellung III.

6. Umfällung.

1.	0,0553 g	CaCO ₃	16,83 ccm	n/10-H ₂ SO ₄	CO ₂ : N = 1 : 3,04
2.	0,1159 »	»	34,77 »	»	= 1 : 3,00

7. Umfällung.

1.	0,1596 g	CaCO ₃	44,6 ccm	n/10-H ₂ SO ₄	CO ₂ : N = 1 : 2,80
2.	0,1444 »	»	41,2 »	»	= 1 : 2,85
3.	0,1384 »	»	40,2 »	»	= 1 : 2,90

Gemisch der Zersetzungsprodukte des Sulfates der Darstellung III.

7. Umfällung.

1.	0,3526 g	CaCO ₃	52,6 ccm	n/10-H ₂ SO ₄	CO ₂ : N = 1 : 1,49
2.	0,4186 »	»	60,9 »	»	= 1 : 1,45

Diese Bestimmungen ergeben für den Quotienten des Glutokyrin-β-sulfates 1 : 2,9 und zeigen ferner, daß er etwa halb so groß ist, wie der der Spaltungsprodukte.

Was dies zu bedeuten hat, sei an einem Beispiel erklärt.

Gesetzt den Fall, es existiere eine Verbindung, ein Kyrin, das bei der Hydrolyse als Spaltungsprodukte lediglich Lysin, Arginin und Glutaminsäure, und zwar in molekularen Mengen liefert. Dieses Gemisch der Zersetzungsprodukte würde als Quotienten ca. 1 : 1,75 ergeben, denn

¹⁾ M. Siegfried und C. Neumann, Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 423.

vom Lysin	werden auf 2 Atome N	2 Moleküle CO ₂	gebunden
» Arginin	» 4 »	» 1 Molekül	» »
von der Glutaminsäure	» 1 Atom	» 1 »	» »
In Summa	» 7 Atome N	4 Moleküle	» »
Also 1 Molekül CO ₂ auf $\frac{7}{4} = 1,75$ Atome N.			

Ist das Kyrin aus den 3 Spaltungsprodukten in molekularen Mengen unter Verlust zweier Moleküle Wasser aufgebaut zu denken und fallen 2 Stickstoffatome für die Bindung der Kohlensäure fort, so kommen jetzt im Kyrin also auf 7 Atome N nur 2 Moleküle CO₂.

Der Quotient wird somit $1 : \frac{7}{2} = 1 : 3,5$.

Da von dem einen von uns und H. Liebermann¹⁾ bei einer Reihe von Verbindungen nachgewiesen worden ist, daß die Peptidgruppen $-\text{N}^{\text{H}}-\text{CO}$ bis zu einem gewissen Grade reagieren, so würde, wenn das hypothetische Kyrin ein Tripeptid wäre, anzunehmen sein, daß der Quotient etwas größer gefunden würde, und zwar nach den bei den bisher untersuchten Peptiden gemachten Erfahrungen den Wert von 3,0 bis 3,1 haben würde.

¹⁾ M. Siegfried und H. Liebermann, Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 437.
