

Über das Sturin.¹⁾

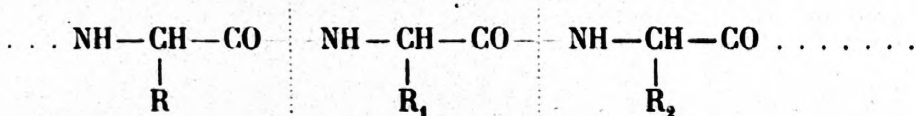
Von

A. Kossel und F. Weiss.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)

Die folgenden Untersuchungen sollen dazu dienen, die freien und reaktionsfähigen Gruppen im Molekül eines der einfachsten Proteine, des Sturins, festzustellen und durch Vergleichung dieser Ergebnisse mit denen der Hydrolyse eine Vorstellung von dem Bau des Moleküls zu erhalten. Selbstverständlich suchen wir die Bedeutung dieser Arbeiten nicht in der Aufklärung der Konstitution dieses speziellen, wenig verbreiteten Protamins, sondern in der Übertragung der an ihm gewonnenen Anschauungen auf die Proteinstoffe im allgemeinen.

Die Vorstellungen über die Konstitution dieses Körpers, welche beim heutigen Stande unserer Kenntnisse in erster Linie zu diskutieren sind, scheinen uns die in der folgenden Formel dargestellten zu sein. Als ein charakteristischer Teil des Sturinmoleküls ist folgende Atomgruppierung anzusehen:



Hierbei können die Zeichen R, R₁, R₂ usw. folgende Werte haben:

- a) $-\text{C}_5\text{H}_6-\text{NH}-\text{CNH}-\text{NH}_2$
- b) $-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{N}=\text{CH} \\ \text{CH}-\text{NH} \end{array}$
- c) $-\text{C}_4\text{H}_9\text{NH}_2$
- d) $-\text{CH}_3$
- e) $-\text{C}_4\text{H}_9$

¹⁾ Vorläufig mitgeteilt in den Sitzungsberichten der Heidelberger Akademie der Wissenschaften, 30. März 1912.

Über die Reihenfolge, sowie über die relativen und absoluten Mengen der unter a), b), c) usw. bezeichneten Gruppen soll die Formel nichts aussagen. Auch ist es nicht ausgeschlossen, daß neben den in der Formel dargestellten Atomverkettungen noch andere, den Proteinen eigentümliche Gruppierungen vorhanden sind.

Findet nun an den durch die punktierte Linie bezeichneten Stellen eine Aufspaltung unter Wassereintritt statt, so erfolgt die Bildung folgender Produkte:

- a) Arginin
- b) Histidin
- c) Lysin
- d) Alanin
- e) Leucin oder ein Isomeres.

Menge der hydrolytischen Spaltungsprodukte. Für alle Untersuchungen dieser Art ist es zunächst wichtig, die Menge der in dem Sturin enthaltenen Bausteine möglichst genau zu ermitteln. Nun sind die Methoden zur quantitativen Bestimmung der basischen Spaltungsprodukte seit den im Jahre 1900 ausgeführten Untersuchungen von A. Kossel und F. Kutscher¹⁾ in mancher Hinsicht verbessert worden und es war deshalb eine erneute Bestimmung derselben wünschenswert.

Das für diese Analysen verwendete Sturin wurde in der früher beschriebenen Weise²⁾ dargestellt und durch die Abscheidung als Öl und als Pikrat gereinigt.

Das Ergebnis dieser Bestimmungen ist in der folgenden Zusammenstellung enthalten. Die Zahlen geben das Verhältnis des Gesamtstickstoffs zum Basenstickstoff an. Die Kolonne II enthält die durch Wägung der krystallisierten Salze ermittelten Werte. Da kleine Verluste hierbei unvermeidlich sind, sind sie als Minimalwerte anzusehen. Die Kolonne I ergibt die Stickstoffwerte der ganzen Fraktion, aus welcher die Basen gewonnen sind, also Maximalwerte. Die richtigen Werte liegen beim Lysin den Minimalzahlen näher.

¹⁾ A. Kossel und F. Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. 31, S. 184 (1900).

²⁾ A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. 25, S. 165 (1898).

Von 100 Teilen Stickstoff entfallen auf:

	I	II
Arginin	67,4	66,7
Histidin	10,1	9,0
Lysin	7,5	5,5
Im Barytniederschlag zurückgeblieben	5,0	
Im Silberniederschlag zurückgeblieben	1,7	
Im Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung («Monoamidosäuren»)	8,6	

Vergleicht man diese Zahlen mit den früher von A. Kossel und F. Kutscher angegebenen, so ergibt sich folgendes:

	Prozente des Gesamtstickstoffs	
	A. K. u. F. K.	A. K. u. F. W.
Argininfraktion	63,5	67,4
Histidinfraktion	11,8	10,1
Lysinfraktion	8,4	7,5

Säurebindungsvermögen des Sturins. Vergleicht man die Ergebnisse der vollständigen Hydrolyse mit dem Säurebindungsvermögen des Sturins, so gelangt man zu Ergebnissen, welche für die Beurteilung der obigen Formel von Bedeutung sind. In dem gegebenen Schema ist die Carboxylgruppe des Arginins mit der Amidogruppe eines benachbarten Amidosäurerestes, hingegen die α -Amidogruppe des Arginins mit einer Carboxylgruppe unter Wasseraustritt verbunden — somit bleibt die einem Basenäquivalent entsprechende Guanidingruppe frei und reaktionsfähig. Es muß also dieser Formel gemäß jedem Molekül des im Protamin gebundenen Arginins ein Basenäquivalent entsprechen. Dies ist auch bei denjenigen Protaminen, welche nur Arginin und keinen anderen Baustein enthalten, der Fall — wie frühere im hiesigen Institut ausgeführte Untersuchungen erwiesen haben. Das Säurebindungsvermögen des Salmins ist genau so groß, wie der Menge der in ihm enthaltenen Guanidindgruppen entspricht.

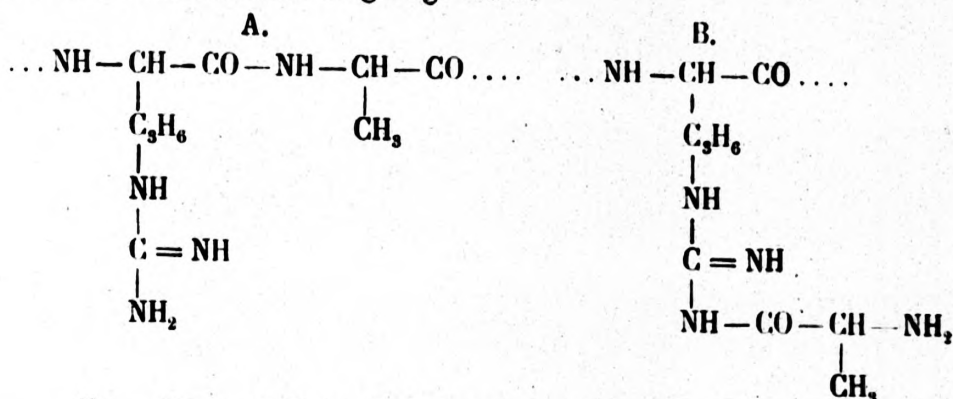
Beim Sturin ist jedoch dies Verhältnis ein anderes. Nimmt man auf Grund der oben mitgeteilten Analyse an, daß von je

¹⁾ Vgl. z. B. M. Goto, Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 94 (1902).

²⁾ Berechnet aus früheren Analysen, z. B. denen von Goto (l. c.).

100 Stickstoffatomen des Sturins 67 in Form von Arginin enthalten sind und zieht man in Betracht, daß auf je vier Atome des Argininstickstoffs ein basisches Äquivalent zu rechnen ist, so würden auf 100 Stickstoffatome des Sturins nur $\frac{67}{4}$, also etwa 17 durch die Guanidingruppe des Arginins bedingte basische Äquivalente vorhanden sein. Da nun aber die basischen Äquivalente des Sturins ungefähr zu 24 für 100 Atome Stickstoff gefunden sind, so ergibt sich, daß auch Histidin und Lysin an der Basicität des Sturins beteiligt sein müssen.

Nun können die basischen Eigenschaften der das Protaminmolekül bildenden Bausteine in verschiedener Weise — direkt oder indirekt — zur Geltung kommen. Es könnte z. B. eine Monoamidosäure, etwa Alanin, dem folgenden Schema B. gemäß an den Guanidinrest angefügt sein.



Es wäre möglich, daß das ganze System in dem Falle B. dieselbe Basicität besitzt, wie bei der unter A. angeführten Verkettung. Analoge Erwägungen können auch für die Histidin- und Lysingruppe angestellt werden. Es erwies sich also als notwendig, durch weitere Versuche eine Aufklärung darüber zu geben, ob die Wasserstoffatome an den basischen Gruppen der Zweigketten frei sind oder nicht.

Für das Histidin ist schon durch die bisherigen Untersuchungen die Gewißheit gegeben, daß alle drei Wasserstoffatome des Imidazolkerns in freiem Zustand vorhanden sind. Nach den folgenden Untersuchungen ist diese Annahme auch bezüglich Arginins und Lysins zulässig; sie erscheint jedenfalls beim heutigen Stande unserer Kenntnisse als die einfachste und nächstliegende.

Die Reaktionsfähigkeit des Imidazolkerns im Sturin ist durch die Versuche von H. Pauly festgestellt worden. Pauly¹⁾ zeigte, daß die Kuppelung mit Diazobenzolsulfosäure, zu deren Zustandekommen nach Burian²⁾ das Vorhandensein der freien Imidogruppe des Imidazolkerns erforderlich ist, auch am Sturinmolekül vor sich geht. Hirayama³⁾ führte nun die Benzol-sulfo- oder die Naphthalinsulfogruppe in das Sturin ein und stellte fest, daß nunmehr diese Reaktion nicht mehr vor sich geht. Es müssen also die für das Zustandekommen dieser Reaktion erforderlichen Wasserstoffatome durch Säurereste substituierbar sein. Eine weitere Schlußfolgerung ergibt sich aus dem Jodbindungsvermögen des Sturins. Nach den Untersuchungen von Pauly⁴⁾ ist dasselbe unter den von ihm angewandten Bedingungen ebenso groß wie das Jodbindungsvermögen des in ihm enthaltenen Histidins. Dadurch hat Pauly festgestellt, daß sich an den Ringkohlenstoffatomen des im Sturin verankerten Histidins zwei durch Jod substituierbare Wasserstoffatome befinden. Somit ist die Schlußfolgerung gerechtfertigt, daß alle drei Wasserstoffatome im Imidazolkern des Sturins, ebenso wie im Histidin selbst, frei und an der Peptidbindung nicht beteiligt sind.

Über die Bindung des Arginins und Lysins ergaben sich wertvolle Aufschlüsse aus den Versuchen über die Einwirkung der salpetrigen Säure. Van Slyke⁵⁾ hat vor kurzem festgestellt, daß die salpetrige Säure unter bestimmten Bedingungen in der Weise auf die Proteinderivate einwirkt, daß die in Peptidbindung vorhandenen Imidgruppen und ebenso die Guanidin-Gruppe nicht angegriffen wird, daß hingegen die Amidogruppe der Amidosäuren unter Stickstoffentwicklung quantitativ zersetzt wird. A. Kossel und A. T. Cameron⁶⁾ haben nun das

¹⁾ H. Pauly, Diese Zeitschrift, Bd. 42, S. 508 (1904).

²⁾ Burian, Ebenda, Bd. 43, S. 502 (1905).

³⁾ Hirayama, Ebenda, Bd. 59, S. 285 (1909).

⁴⁾ Pauly, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 43, S. 2243 (1910).

⁵⁾ Van Slyke, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 43, S. 3170 (1910); Journ. of Biol. Chem., Vol. 9, p. 185 (1911).

⁶⁾ A. Kossel und A. T. Cameron, Diese Zeitschrift, Bd. 76, S. 457 (1912).

Salmin und Clupein mit Hilfe dieses Verfahrens untersucht und gefunden, daß diese Protamine hierbei keinen Stickstoff entwickeln. Wäre in ihnen gemäß der oben in Erwägung gezogenen Formel B. Seite 405 eine nicht zum Guanidin gehörige Amidogruppe vorhanden, so hätte sich eine Stickstoffentwicklung einstellen müssen. Auf Grund dieses Versuchs ist also das Vorhandensein einer freien Guanidogruppe anzunehmen.

Schon früher hatten Skraup und Hoernes beobachtet,¹⁾ daß das Casein und Glutin durch salpetrige Säure in Substanzen übergeführt werden können, welche bei der Hydrolyse kein Lysin liefern. A. Kossel und A. T. Cameron, welche — wie eben erwähnt — bei den lysinfreien Protaminen keine Einwirkung der salpetrigen Säure fanden, stellten bei den lysinhaltigen Protaminen eine solche fest, und zwar war die entwickelte Stickstoffmenge bei dem lysinreicheren Cyprinin eine größere, als bei dem lysinärmeren Sturin. Alle diese Beobachtungen wiesen darauf hin, daß in verschiedenen Protaminen eine Aminogruppe des Lysins frei und für die Einwirkung der salpetrigen Säure leicht zugänglich geblieben ist.

Diese Annahme wird durch die folgenden Versuche bestätigt.

10 g Sturinsulfat wurden unter Zusatz von 70 ccm Eisessig in 200 ccm Wasser gelöst. Ferner wurden 90 g Natriumnitrit in 400 ccm Wasser gelöst. Zu dieser Lösung ließen wir unter Umrühren durch einen Rührapparat die Sturinlösung tropfenweise hinzutreten. Nach Beendigung der Reaktion wurde der größere Teil der noch in Lösung befindlichen salpetrigen Säure bei Zimmertemperatur durch Einleiten von Kohlensäuregas ausgetrieben, die Flüssigkeit mit Natronlauge neutralisiert und mit Natriumpikrat ausgefällt. Der reichliche Niederschlag wurde abfiltriert, ausgewaschen, in schwefelsäurehaltigem Wasser suspendiert und durch Äther von Pikrinsäure befreit. Die schwefelsaure Lösung wurde durch Alkohol gefällt, der Niederschlag nochmals in Wasser gelöst und die Alkoholfällung wiederholt. Die anfangs klebrige Alkoholfällung wurde beim Stehen unter

¹⁾ Zd. H. Skraup und Ph. Hoernes, Monatshefte der Chemie, Bd. 27, S. 631 und 653 (1906); Bd. 28, S. 447 (1907).

Alkohol so hart, daß sie sich leicht zu einem weißen, schwach gelbstichigen Pulver zerreiben ließ. Die Ausbeute betrug 8 g.

Das so gewonnene «Desamidosturin» hatte seine basischen Eigenschaften bewahrt, wenn auch das Säurebindungsvermögen infolge des Verlustes einer Amidogruppe etwa um ein Fünftel abgenommen hatte. Die durch Alkohol gefällte Substanz war ein Sulfat, dessen Schwefelsäuregehalt nach dem Trocknen bei 100° im Mittel 17,44% H_2SO_4 betrug, während als Ausgangsmaterial angewandtes Sturinsulfat 21,97% H_2SO_4 enthielt.

1. 0,1811 g Desamidosturin gaben 0,0746 g $BaSO_4$, entsprechend 17,33% H_2SO_4 .

2. 0,1624 g Desamidosturin gaben 0,0678 g $BaSO_4$, entsprechend 17,55% H_2SO_4 .

Das Desamidosturinsulfat war in Wasser leicht löslich und wurde ähnlich wie Sturinsulfat durch Ammonsulfat aus dieser Lösung ausgesalzen. Es gab die Biuretreaktion und in sodaalkalischer Lösung mit Diazobenzolsulfosäure sofort einen scharlachroten Farbstoff, der als Niederschlag ausfiel.

5 g des Sulfats wurden mit einer Mischung von 15 ccm Schwefelsäure und 30 ccm Wasser 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht und dann mit Hilfe des Silberbarytverfahrens untersucht. Die Analyse führte zu folgenden Zahlen:

Prozente des Gesamtstickstoffs:

	Desamidosturin	Sturin
Argininfraktion	67,6	67,4
Histidinfraktion	10,1	10,1
Lysinfraktion	0	5,5
Monoamidosäurefraktion	12,7	8,6

Vergleichen wir diese Zahlen mit denen des ursprünglichen Sturins, so sehen wir, daß die Prozente des Histidin- und Argininstickstoffs die gleichen geblieben sind. Es beweist also dieser Versuch — in Übereinstimmung mit den oben erwähnten Resultaten von A. Kossel und A. T. Cameron —, daß die Amidogruppen des Arginins durch die salpetrige Säure nicht angegriffen werden. Die prozentische Steigerung des Arginin- und Histidinstickstoffs, welche durch den Wegfall des Lysins

hervorgerufen werden sollte, ist so gering, daß sie in den Analysen nicht zum Ausdruck gelangt.

Bemerkenswert ist der Zuwachs des Monoamidosäurestickstoffs, der offenbar von der Desamidierung des Lysins herzuleiten ist.

Von Bedeutung für die Beurteilung der Guanidingruppen im Sturin sind auch einige Versuche über die Einwirkung der Salpetersäure auf das Sturin. A. Kossel und E. L. Kennaway¹⁾ haben festgestellt, daß das Clupein durch Salpetersäure in Nitroclupein übergeführt wird. Dieses liefert bei der Hydrolyse durch Schwefelsäure Nitroarginin. In gleicher Weise verhält sich das Salmin nach den Beobachtungen von E. Wechsler.²⁾ Hierbei tritt die Nitrogruppe in den Guanidinrest ein³⁾ und das Nitroarginin, welches übrigens auch durch Nitrieren von Arginin dargestellt werden kann, ist offenbar als ein Derivat des von Thiele⁴⁾ dargestellten asymmetrischen Nitroguanidins aufzufassen. Wir haben die analoge Substanz auch aus dem Sturin dargestellt.

Sturinsulfat wurde in der von A. Kossel und E. L. Kennaway angegebenen Weise in Portionen von 4–5 g nitriert und das Nitroprodukt tropfenweise unter Umrühren in Eiswasser gegossen. Das Nitrosturin fiel zunächst in weißen Flocken aus, welche sich jedoch bald schmierig zusammenballten. Mit Eiswasser gewaschen und alsdann mit absolutem Alkohol durchgeknetet, erstarrt es zu einer Masse, welche sich leicht zu einem schweren gelblichen Pulver verreiben läßt. Die Ausbeute betrug 80% des angewandten Sturinsulfats.

Der Körper besitzt ebenso wie das Nitroclupein und das Nitrosalmin saure Eigenschaften, er ist löslich in verdünnter Natronlauge und aus dieser Lösung durch Säuren fällbar. Die Biuretreaktion fällt positiv aus, auch tritt, ebenso wie beim

¹⁾ A. Kossel und E. L. Kennaway, Diese Zeitschrift, Bd. 72, S. 486 (1911).

²⁾ E. Wechsler, Diese Zeitschrift, Bd. 78, S. 53 (1912).

³⁾ A. Kossel und F. Weiss, Sitzungsber. d. Heidelberger Akademie d. Wissensch., 30. März 1912.

⁴⁾ J. Thiele, Annalen d. Chemie, Bd. 270, S. 1 (1892).

Sturin, in sodaalkalischer Lösung die Bildung eines roten Farbstoffs mit Diazobenzolsulfosäure ein.

8 g des Nitrosturins wurden mit einer Mischung von 24 g konzentrierter Schwefelsäure und 48 ccm Wasser 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht und das Reaktionsprodukt in der bekannten Weise mit Hilfe des Silberbarytverfahrens verarbeitet. Es wurden folgende Spaltungsprodukte nachgewiesen: Nitroarginin, Arginin, Histidin, Lysin.

Die Ausbeute an Nitroarginin betrug 0,7 g. Der Körper schmolz scharf bei 229° (unkorr.). Die Stickstoffbestimmung gab folgende Werte:

0,1255 g Substanz gaben 34,4 ccm Stickstoff bei 14° und 749 mm Bar.

Gefunden: Berechnet für $C_6H_{13}N_5O_4$:

Stickstoff 31,6 31,96 %.

Die Menge des Arginins war nur eine geringe; dasselbe wurde als Pikrolonat nachgewiesen; ebenso das Histidin. Das Lysin wurde in bekannter Weise als Pikrat dargestellt. Die Gegenwart des Arginins neben dem Nitroarginin läßt vermuten, daß die Nitrierung des Sturins keine vollständige gewesen ist.

Einwirkung der Alkalien auf Sturin. Wir führen noch einige Beobachtungen an, aus denen sich ein Schluß auf die Bindung der Carboxylgruppen des Arginins, Histidins und Lysins ziehen läßt.

Im Laufe unserer Untersuchungen über die Einwirkung von Alkalien auf Protamine und höhere Proteine¹⁾ machten wir die Beobachtung, daß alle diese Körper durch Natronhydrat oder Barythydrat bei Bruttemperatur allmählich so verändert werden, daß ihre optische Aktivität stark herabgesetzt wird oder verschwindet. Wir haben nachgewiesen, daß diese Umwandlung auf einer Änderung der Konfiguration beruht, denn man erhält bei der Hydrolyse des inaktiven Clupeins oder Clupeons oder Leims sowohl Arginin, wie Ornithin, Histidin und Lysin in inaktivem Zustand.

Ähnliche Resultate haben wir auch beim Sturin erhalten.

10 g Sturinsulfat wurden in 200 ccm $n/2$ -Natronlauge gelöst, die Lösung blieb 6 Tage bei Bruttemperatur stehen. Die Links-

¹⁾ A. Kossel und F. Weiss, Diese Zeitschrift, Bd. 59, S. 492 (1909); Bd. 60, S. 311 (1909); Bd. 68, S. 165 (1910).

drehung ging anfangs schnell, später sehr langsam zurück, sie war am sechsten Tage fast völlig verschwunden. Die Flüssigkeit wurde sodann mit Schwefelsäure bis zur sehr schwach sauren Reaktion versetzt, mit überschüssigem Baryumcarbonat angerührt und durch Erhitzen auf dem Wasserbade von dem bei der Reaktion gebildeten Ammoniak befreit. Die filtrierte Flüssigkeit wurde nach dem Einengen mit Schwefelsäure angesäuert und in bekannter Weise dem Silberbarytverfahren unterworfen. Hierdurch wurde das durch die Natronlauge abgespaltene und in freiem Zustand in Lösung befindliche Lysin von den übrigen Basen und dem durch Silberoxyd fällbaren Gemisch der protonartigen Spaltungsprodukte getrennt. Das Lysin wurde in bekannter Weise als Pikrat gewonnen und erwies sich als völlig inaktiv. Der durch Silbernitrat und Baryt erhaltene Niederschlag, welcher neben etwa vorhandenem Arginin und Histidin die Protone, d. h. die peptidartig gebundenen Bausteine, enthielt, wurde vom Silber befreit und durch sechsstündiges Kochen mit 33 volumprozentiger Schwefelsäure völlig hydrolysiert. Aus der Reaktionsflüssigkeit wurde das Arginin und Histidin in inaktivem Zustande gewonnen. Das durch die Schwefelsäure abgespaltene Lysin war fast ganz inaktiv, es war nur eine sehr geringe Beimengung von Rechtslysin nachzuweisen.

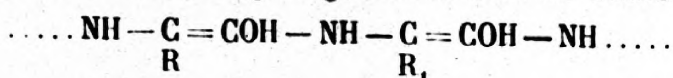
Daß diese Racemisierung nicht etwa durch eine nachträgliche Wirkung des Natronhydrats auf das bereits abgespaltene Arginin bewirkt sein kann, geht aus unsern früheren Versuchen hervor. Ebenso läßt sich auch beim Histidin feststellen, daß die in obigen Versuchen obwaltenden Bedingungen nicht imstande sind, eine Racemisierung herbeizuführen.

2 g Histidinchlorhydrat wurden mit 24 ccm $\frac{1}{2}$ -Natronlauge bei Brutttemperatur digeriert. Die Untersuchung der alkalischen Lösung unmittelbar nach ihrer Herstellung ergab im 10 cm-Rohr eine Drehung von $1,0^\circ$. Diese Drehung veränderte sich auch nach einer Einwirkungsdauer von 60 Tagen nicht. Ebenso unwirksam war Barythydrat.

Nach den interessanten Beobachtungen von H. D. Dakin¹⁾ an Hydantoïnen ist anzunehmen, daß diese Racemisierung auf die Bildung einer Enolform zurückzuführen ist, bei welcher

¹⁾ H. D. Dakin, Americ. Chem. Journ., Vol. 44, Nr. 1, (1910).

das Kohlenstoffatom der Gruppe CH seine asymmetrische Beschaffenheit verliert. Die obige Formel würde also in der alkalischen inaktiven Lösung folgendermaßen zu schreiben sein:



Bei der hydrolytischen Spaltung würden aus der Enolform inaktive Reaktionsprodukte hervorgehen.

H. D. Dakin hat sogleich auf die Bedeutung der Enolform für die Erklärung der bei den Proteinen beobachteten Inaktivierung aufmerksam gemacht und zugleich angedeutet, daß es möglich ist, auf diesem Wege festzustellen, ob die Carboxylgruppe der Amidosäuren frei ist oder nicht, denn nur in letzterem Falle kann die Racemisierung eintreten.

Diesen Anschauungen von H. D. Dakin gemäß ist also aus der Inaktivierung durch Natronhydrat der Schluß zu ziehen, daß die Carboxylgruppen der Arginin-, Histidin- und Lysinmoleküle bei ihrer Bindung im Sturin verstopft sind. Auch dies stimmt mit der obigen Formel überein.

Partielle Hydrolyse des Sturins. Während die Untersuchungen über die hydrolytische Spaltung des Clupeins gewisse Aufklärungen über die Verteilung der Argininreste gegeben haben,¹⁾ ist über die Anordnung der Bausteine im Molekül des Sturins nichts bekannt. Es erhebt sich die Frage, ob es nicht möglich ist, durch partielle Hydrolyse Bruchstücke des Moleküls zu gewinnen, deren Untersuchung einen Schluß auf die Verteilung der Bausteine zuläßt. Wir haben derartige Untersuchungen ebenfalls in Angriff genommen, doch haben sich in diesem Falle nicht so einfache Resultate ergeben, wie sie bei den früher im hiesigen Institut ausgeführten Arbeiten über die partielle Spaltung des Clupeins zu erzielen waren. Durch unvollständige Hydrolyse konnten wir Produkte erhalten, welche eine andere Zusammensetzung hatten, wie das ursprüngliche Protamin, z. B. ließen sich aus dem Gemisch der hydrolytischen Zersetzungsprodukte protonartige Substanzen gewinnen, welche reicher an Histidin und Arginin und ärmer an Lysin, sowie an

¹⁾ A. Kossel und H. Pringle, Diese Zeitschrift, Bd. 49, S. 301 (1906).

Monoamidosäuren waren, hingegen andere, welche wenig Histidin und viel Lysin enthielten. Durch passende Wahl der Fällungsmittel hatten wir uns hierbei gegen die Möglichkeit der Beimengung von freiem Arginin, Histidin und Lysin, sowie von freien Amidosäuren geschützt. Wir verzichten auf eine Beschreibung unseres Verfahrens, da dasselbe keine Gewähr dafür bietet, daß wir völlig reine Produkte in Händen gehabt haben, da somit ohnehin bis jetzt noch keine weitergehenden Schlüsse aus diesen Analysen gezogen werden können. Diese Analysenzahlen würden eine größere Bedeutung erlangen, wenn es gelänge, auf anderem Wege Produkte von der gleichen Zusammensetzung zu erhalten.

Einige der von uns gewonnenen protonartigen Bruchstücke des Sturinmoleküls hatten folgende Zusammensetzung:

Von 100 Teilen Stickstoff entfallen auf

	die Arginin- fraktion	die Histidin- fraktion	die Lysin- fraktion
im Proton I	70,2	15,9	3,0
» II	75,4	3,5	1,7
» III	75,3	9,4	3,4
» IV	76,8	4,3	8,5.

Das einzige Bruchstück des Sturins, welches bisher in reinem Zustand aus dem Sturin erhalten ist, ist anscheinend der von A. Kossel und A. Mathews¹⁾ durch Trypsinverdauung erhaltene Körper, welcher als Silbernitratverbindung in schönen Krystallen zu gewinnen war und die Zusammensetzung $C_{18}H_{35}N_7O_5$ zeigte.

Wir ziehen aus diesen Untersuchungen den Schluß, daß das am Eingang dieser Mitteilung aufgestellte Schema für die Zusammensetzung des Sturins den bisher bekannten Tatsachen am besten entspricht.

Die Untersuchungen werden im hiesigen Institut fortgesetzt.

Heidelberg, 4. April 1912.

¹⁾ A. Kossel und A. Mathews, Diese Zeitschrift, Bd. 25, S. 193 (1898).