

Zur Kenntnis des β -Glutokyrinsulfates.

Von
M. Siegfried.

(Aus der chem. Abteilung des physiologischen Institutes der Universität Leipzig.)
(Der Redaktion zugegangen am 10. März 1913.)

Eine Reihe von Tatsachen, welche meine Schüler und ich erbracht haben, sprechen für die Einheitlichkeit der untersuchten Kyrine, insbesondere für die des β -Glutokyrinsulfates. Hierhin gehört auch die Eigenschaft der Kyrine, gut und charakteristisch krystallisierende Phosphorwolframate zu bilden. Aber jeder Weg, der sich bietet, muß beschritten werden, um die Einheitlichkeit von neuem zu prüfen. Ein solcher ist die Anwendung der Methode von Kossel, die Einwirkung von Silber-salzen unter Sättigen mit Barythydrat, vor allem, nachdem Kossel¹⁾ gezeigt hat, daß sich die Protone mit Hilfe dieser Methode zerlegen lassen. Gemeinsam mit O. Lindner²⁾ habe ich diese Methode auf das Trypsincaseinpepton angewendet und gefunden, daß dieses durch Silberbaryt nicht gefällt und nicht zerlegt wird.

Findet man, daß durch Einwirkung von Silberbaryt z. B. auf ein Kyrin eine Zerlegung bewirkt wird, so bestehen zwei Möglichkeiten: Entweder, das Ausgangsmaterial ist ein Gemenge mehrerer Verbindungen, oder durch Einwirkung des Silberbarytes findet eine Spaltung statt. Diese Spaltung kann schon durch Sättigen mit Baryt erfolgen, es können hierdurch Peptid- und andere Bindungen gelöst werden.

Die Versuche, über die hier berichtet werden soll, sind gemeinsam mit W. Todorowic ausgeführt worden. Todorowic hat dieselben kurz nach seiner im Anfang des vorigen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 49, S. 301 (1906).

²⁾ Pflügers Arch., Bd. 136, S. 185 (1910).

Jahres erfolgten Promotion in der Dissertation¹⁾ veröffentlicht. Diese Versuche ergeben, daß eine Zerlegung des Kyrins durch die Silberbarytbehandlung geschieht, und machen es wahrscheinlich, daß diese Zerlegung durch eine Spaltung des Kyrins erfolgt, daß also das Kyrin nicht aus einem Gemenge von Verbindungen, die durch die Silberbarytmethode getrennt werden, besteht, sondern daß es durch die Silberbarytbehandlung in einfachere Komplexe zersetzt wird. Wenn ich im folgenden die Gründe, welche für eine solche Zersetzung sprechen, an der Hand der gefundenen Tatsachen auseinandersetzen werde, so bemerke ich von vorneherein, daß meines Erachtens in mancher Richtung die Versuche weitergeführt werden müssen, ehe ihr Resultat als zwingend angesehen werden kann. Ich hätte deshalb mit der Veröffentlichung der Versuche bis zur Beendigung einer über diesen Gegenstand mit Herrn Schunke begonnenen Untersuchung gewartet, wenn nicht seit dem Erscheinen der Dissertation von Todorowic, Levene und Birchard²⁾ über ähnliche Versuche berichtet hätten.

Einwirkung von Silbersulfat und Barythydrat auf Glutokyrinsulfat.

Nachdem durch Vorversuche festgestellt war, daß in Lösungen von β -Glutokyrinsulfat mit der Silberbarytmethode Niederschläge erhalten werden, daß aber diese Niederschläge nur einen Teil des Ausgangsmateriales enthalten, wurden zunächst aus Rohsulfat Niederschlags- und Filtrat-Sulfat dargestellt. Das Rohsulfat des Glutokyrins ist bekanntlich zum Zwecke der Reinigung wiederholt in Alkohol umzufällen und zwar so, daß man die Lösung des Sulfats in verdünnter Schwefelsäure in große Mengen Alkohol (99^o/_o) einrührt. Um Material zu sparen, wurde zunächst das Rohsulfat mit Silber-sulfat und Barythydrat behandelt, das aus dem Niederschlage sowie das aus dem Filtrate der Silberbarytfällung gewonnene Filtrat im Alkohol gefällt und wie zur Reinigung des β -Glutokyrin-

¹⁾ B. W. Todorowic, Über die Einwirkung des Silbersulfates und Baryumhydroxydes auf das Glutokyrin- β -sulfat. Weida 1912.

²⁾ Journ. of Biol. Chem., Bd. 13, S. 277; zit. n. Chem. Zentralblatt, 1913, S. 816.

sulfates in Alkohol umgefällt Wäre durch die Silberbarytfällung keine Trennung oder Zerspaltung des Glutokyrins eingetreten, so müßte sich das Niederschlagsulfat mit dem Filtratsulfat identisch erweisen.

a) Zu einer wässerigen Lösung von 100 g rohem Glutokyrinsulfat wurde solange eine heiße wässerige Lösung von Silbersulfat gegeben, bis ein Tropfen der Flüssigkeit mit Barytwasser einen gelben Fleck gab, worauf der auf 20° abgekühlte Kolbeninhalt mit feingepulvertem Barythydrat (alkalifrei) gesättigt wurde. Der dunkelbraune Niederschlag wurde abgesaugt und mit kaltgesättigtem Barytwasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde allmählich dunkler und zuletzt fast schwarz.

Die Suspension des Niederschlages in Wasser wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, Schwefelwasserstoff eingeleitet, der Überschuß derselben durch Durchleiten von Luft entfernt, filtriert und mit heißem Wasser ausgewaschen. Die Schwefelsäure wurde durch Barythydrat, der geringe Überschuß des letzteren durch Ammoncarbonat entfernt, die baryumfreie Lösung ammoniakfrei eingedampft.

Der dick sirupöse Rückstand wurde zunächst mit möglichst wenig 10%iger Schwefelsäure gelöst, mit 50%iger Schwefelsäure bis zur Kongoreaktion versetzt und dann durch Zusatz einer 10%igen Schwefelsäure auf eine 5% freie Schwefelsäure enthaltende Lösung gebracht. Diese mit dem gleichen Volumen 99%igen Alkohols vermischte Sulfatlösung wurde in 5 l 99%igen Alkohol tropfenweise verrührt. Das ausgeschiedene farblose Sulfat wurde abgesaugt, mit 99%igem Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet. Ausbeute 50 g.

Entsprechend wurde das Filtrat der Silberbarytverbindung weiter verarbeitet. Ausbeute 18 g.

Bei einer zweiten Darstellung wurden aus 100 g Kyrinsulfat 55 g Niederschlagsulfat und 17 g Filtratsulfat gewonnen. Die Zahlen beziehen sich auf die exsikkatortrockenen Substanzen, die beim Trocknen im Luftstrome bei der Temperatur des siedenden Äthylalkohols noch bedeutend an Gewicht abnehmen, sind also nur approximativ.

Beim Fällen und Umfällen des Filtratsulfates tritt ofers ein Verschmieren ein. Fällt man aus verdünnteren Lösungen, so erhält man oft kaum eine Ausscheidung im Alkohol, da die Bestandteile des Filtratsulfates in verdünntem Alkohol relativ leicht löslich sind.

b) Aus fünfmal umgefalltem β -Glutokyrinsulfat. Das als Ausgangsmaterial verwendete Preparat gab ganz schwache Biuretreaktion, mit Kaliumquecksilberjodid, Metaphosphorsäure, Sublimat, Mercurisulfat, Platinchlorid keine Fällung.

Der Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ wurde zu 1 : 2,80; 1 : 2,95; 1 : 3,04.

in Übereinstimmung mit der von M. Siegfried und Pilz¹⁾ gefundenen. Durchschnittszahl 2,9 erhalten. Aus 40 g exsikkator-trockenem Glutokyrinsulfat wurden 23 g Niederschlagsulfat und 6 g Filtratsulfat gewonnen.

Von vorneherein bestand die Möglichkeit, daß das Glutokyrin bei der Behandlung mit Silberbaryt unverändert bliebe, und daß es nur nicht vollständig wegen relativer Löslichkeit des Silberbarytniederschlags in gesättigtem Barytwasser gefällt würde. Daß dies nicht der Fall ist, zeigen die folgenden Versuche, welche beweisen, daß Niederschlagsulfat ganz verschieden von dem Filtratsulfat ist.

1. Die Phosphorwolframate.

Das β -Glutokyrinsulfat fällt aus seiner schwefelsauren Lösung bei Zimmertemperatur körnig aus. Im Gegensatz zu dem Phosphorwolframatgemisch, welches man aus der Lösung der totalen Zersetzungsprodukte der Gelatine durch Fällung mit Phosphorwolframsäure bei gewöhnlicher Temperatur erhält und das sich sehr schlecht absaugt (wenn es nicht durch Erwärmen umkrystallisiert wurde), saugt sich das Phosphorwolframat des β -Glutokyrinsulfates sehr schnell ab. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Wasser erhält man dann die früher beschriebenen charakteristischen Krystalle.

Behandelt man hingegen β -Glutokyrinsulfat mit Silber und Baryt nach der Methode Kossels, filtriert aber den Nieder-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 58, S. 227 (1909).

schlag nicht ab, sondern entfernt aus der Mischung Silber und Baryt und fällt dann mit Phosphorwolframsäure, so saugt sich der Niederschlag sehr langsam ab. Schon dieses spricht dafür, daß bei der Behandlung mit Silberbaryt eine Zersetzung erfolgt.

Die Lösungen von je 5 g des Niederschlagsulfates und des Filtratsulfates wurden mit 10%iger Lösung von Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Niederschläge mit Wasser gewaschen und dreimal aus heißem Wasser umkrystallisiert. Das Niederschlagphosphorwolframat krystallisierte in wohlausgebildeten, abgestumpften langen Prismen, das Filtratphosphorwolframat in kleinen, sehr dünnen, einzelnen Nadeln.

II. Der Quotient $\frac{CO_2}{N}$.

Wie ich gemeinsam mit H. Liebermann¹⁾ und mit C. Neumann²⁾ gezeigt habe, reagieren die Aminogruppen der Aminosäuren im allgemeinen vollständig bei der Carbaminoreaktion, sodaß der Quotient für z. B. Glykokoll, Lysin = 1 : 1, für Arginin = 1 : 4 ist, und bei den Peptiden die NH₂-Gruppen quantitativ, während die NH-Peptidgruppen nur bis zu einem gewissen Grade reagieren. So geben Dipeptide den Quotienten 1 : 1,7, Tripeptide 2,55 und das untersuchte Tetrapeptid 3,29. Wenn also Kyrin durch Silberbaryt gespalten wird, müßte man erwarten, daß der Quotient der Summe der Spaltungsprodukte größer als der des Kyrins wird, wie es auch tatsächlich bei der völligen Hydrolyse des Kyrins der Fall ist.

Den Quotienten des β -Glutokyrins hat Pilz, ich selbst und jetzt wieder bei dem Präparate, das zu den folgenden Versuchen diente, Todorowic als 2,9—3,0 bestimmt.

Mit diesem β -Glutokyrinsulfat wurden 8 Versuche ausgeführt; in jedem wurde die Lösung des Sulfates nach Kossel bei gewöhnlicher Temperatur mit Silbersulfat und Baryt behandelt, hierauf in den ersten 4 Versuchen die Mischung

¹⁾ M. Siegfried und H. Liebermann, Diese Zeitschrift.

²⁾ M. Siegfried und C. Neumann, Ebenda, Bd. 54, S. 423 (1908).

3 Stunden, in den darauf folgenden 6, 12, 18, 24 Stunden stehen gelassen, darauf mit Schwefelsäure angesäuert, Silber durch Schwefelwasserstoff entfernt, letzterer durch einen Luftstrom verjagt, Schwefelsäure durch Baryt entfernt, der geringe Überschuß der letzteren durch etwas Ammoncarbonat. Der ammoniakfrei eingedampfte Rückstand wurde carbaminiert. Folgende Zahlen wurden der Reihe nach für $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ erhalten: 1 : 5,60; 1 : 5,68; 1 : 5,51; 1 : 5,58; 1 : 5,78; 1 : 5,32; 1 : 5,14; 1 : 5,43.

Also gerade das Gegenteil des Erwarteten trat ein. Der Quotient wurde kleiner anstatt größer. Die Erklärung ist folgende: Von den Produkten, welche bei der Zersetzung des Glutokyrins bei der Silberbarytbehandlung entstehen, bildet ein Teil schwer lösliche Calciumverbindungen bei der Carbaminierung, die infolgedessen in dem ersten Kalkniederschlage bleiben. Da dieses gerade solche sind, die einen hohen Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ besitzen, erhält man, namentlich wenn man nicht sehr ver-

dünnte Lösungen der Spaltungsprodukte benutzt, als scheinbaren Quotienten der Summe der Spaltungsprodukte einen sehr niedrigen: in Wahrheit ist dies jedoch der Quotient nur eines oder eines Teils der Spaltungsprodukte, derjenigen, welche bei der Carbaminierung nicht oder in geringem Maße gefällt werden. Tatsächlich gab die aus solchem Calciumniederschlage regene-

rierte Substanz $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}} = 1 : 2,06$, wobei wieder zu berücksichtigen ist, daß auch hier wieder ein Teil der einen niedrigen Quotienten liefernden Substanz im Calciumniederschlage enthalten war, also für den Quotienten nicht zur Geltung kam.

Da sowohl das Niederschlagssulfat als das Filtratsulfat aus mehreren Substanzen besteht, von denen solche, die einen hohen Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ besitzen, bei der Carbaminierung im Kalkniederschlage verbleiben, erhält man unter verschiedenen Bedingungen, bei verschiedenen Konzentrationen, abweichende Quotienten.

Jedenfalls sprechen die mitgeteilten Versuche dafür, daß

bei der Einwirkung von Silbersulfat und Barythydrat eine Spaltung des Glutokyrins stattfindet, denn während für verschiedene Präparate des nicht mit Silbersulfat und Barythydrat behandelten Kyrins übereinstimmend von 3 Untersuchern der Wert ca. 2,9 gefunden wurde, haben die Versuche von Todorowic ergeben, daß das Kyrin nach Behandeln mit Silbersulfat und Barythydrat viel kleinere Werte, beinahe halb so kleine Werte liefert, weil diejenigen Bestandteile, welche einen größeren Quotienten liefern, im Kalkniederschlage zurückgehalten werden. Diese Versuche sollen mit neuen Präparaten verschiedener Darstellungen fortgesetzt werden.

So empfehlenswert die Bestimmung des Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ bei Individuen zur Charakterisierung derselben ist, so muß vor der Anwendung der Methode auf Gemische gewarnt werden, es sei denn, daß die Anwendung zur Prüfung, ob ein Gemisch vorliegt, geschieht. Denn die verschiedenen Bestandteile von Gemischen bleiben in verschiedenem Maße im Kalkniederschlage zurück und der Quotient wird nur aus dem Filtrate gewonnen.

III. Die Anwendung der Formoltitrierung nach Sörensen.

Todorowic hat für das β -Glutokyrin den formoltitrierbaren Stickstoff bestimmt und im Mittel von 2 Bestimmungen 39,0% gefunden. Dieser Wert ist etwas höher, als man nach der Größe des Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ erwarten sollte. Da derselbe, 1 : 2,9, besagt, daß auf 2,9 Atome Gesamt-N 1 Atom N kommt, welches quantitativ carbaminiert, hätte man etwa eine Zahl 34,5 zu erwarten, und wenn Peptidgruppen des Kyrins bei der Carbinoreaktion bis zu einem gewissen Grade (s. o.) reagieren, die bei der Formoltitrierung gar nicht reagieren, eine noch niedrigere Zahl. Aus diesem Grunde und weil sich bei Todorowic ein Druck- oder Schreibfehler findet (statt $\frac{n}{5}$ steht $\frac{n}{10}$; die mitgeteilten Zahlen schließen jedoch die Möglichkeit, daß $\frac{n}{10}$ -Lösung verwendet wurde, aus), habe ich neue Bestimmungen mit einem

früher dargestellten Präparate β -Glutokyrinsulfat, dessen Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{N}}$ ich seinerzeit selbst bestimmt hatte, ausgeführt.

Ca. 0,5 g büchsentrockenes Sulfat zu 25 ccm Volumen in Wasser gelöst, 20 ccm erforderten zur Neutralisation 13,2 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$, nach Zusatz der Formolmischung 15,9 ccm (Thymolphthalein) und erforderten nach Kjeldahl 40,6 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$. Formol-N = 39,2%.

Diese Zahl stimmt also ganz genau mit der von Todorowic erhaltenen überein. Die Tatsache, daß für 2 verschiedene Präparate der gleiche Wert für Formol-N erhalten wurde, spricht wiederum für die Einheitlichkeit des β -Glutokyrinsulfates.

Wenn bei der Einwirkung von Silbersulfat und Barythydrat eine Spaltung des Kyrins eintritt und bei dieser Spaltung Peptidbindungen gelöst werden, so ist zu erwarten, daß das Gemenge der Spaltungsprodukte einen größeren Wert für Formol-N gibt als das Kyrin.

Deshalb habe ich ca. 1,8 g desselben Präparates β -Glutokyrinsulfat, mit welchem ich die oben mitgeteilte Bestimmung des Formol-N ausgeführt habe, in Wasser gelöst, mit Silbersulfat und Barythydrat nach Kossel behandelt, ohne zu filtrieren mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff entsilbert, den Schwefelwasserstoff durch Luft verjagt, Schwefelsäure durch Barythydrat ausgefällt, den geringen Überschuß des letzteren durch Ammoncarbonat und das Filtrat ammoniakfrei eingedampft. Der Rückstand wurde zu 100 ccm in Wasser gelöst und nach Sörensen formoltitriert.

Je 10 ccm erfordern zur Neutralisation (Lackmus) 3,25 und 3,2 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$, darauf nach Zusatz der Formolmischung 6,65 und 6,85 ccm $n/10$ -Barytlösung (Thymolphthalein), im Mittel 6,75 ccm; sie erforderten nach Kjeldahl 17,7 und 17,9 ccm $n/10\text{-H}_2\text{SO}_4$, im Mittel 17,8 ccm = 37,9%.

Durch die Behandlung mit Silberbaryt ist also die Größe des formoltitrierbaren Stickstoffs nicht erhöht worden, sondern ungefähr die gleiche geblieben. Dieser Befund ist nur so zu erklären, daß entweder das Kyrin ein Gemenge mehrerer Verbindungen ist, daß also durch die Silberbarytbehandlung keine Spaltung eintritt, oder daß eine Spaltung eintritt, daß jedoch bei dieser Spaltung keine Peptidbindung gelöst wird.

IV. Über die Zusammensetzung der drei nach Ausführung der Silberbarytmethode erhaltenen Fraktionen.

Aus dem Silberbarytniederschlag wird, schließlich in Alkohol gefällt und umgefällt, das Niederschlagsulfat, aus dem Filtrate ebenso das Filtratsulfat und aus dem alkoholischen Filtrate dieses Sulfates Fraktion III erhalten.

1. Niederschlagsulfat.

Ca. 3 g Niederschlagsulfat mit der Mischung von 30 g Wasser und 15 g konzentrierter Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Der durch Phosphorwolframsäure-N in der früher angegebenen Weise unter genauer Befolgung der angegebenen Bedingungen bestimmt. Korrektionswert gefunden für 1 l Filtrat: 15,2 ccm n_{10} -H₂SO₄. Die Reaktionslösung auf 100 ccm aufgefüllt, in je 10 ccm gef. Ges.-N: 40,0; 40,8 ccm n_{10} -S. Mittel 40,9, in je 10 ccm der durch PWS fällbare N: 31,8 ccm; 31,2 ccm, im Mittel 31,5 ccm n_{10} -S, der nicht fällbare 8,1 ccm; 7,6 ccm, im Mittel 7,85 ccm n_{10} -S. Korrektion dabei 0,8 ccm.

Gefunden durch PWS fällbarer N: 77,1 %.

» » » nicht » N: 19,2 %.

Arginin-N:

3 g Niederschlagsulfat wie oben zersetzt, Lösung auf 100 ccm aufgefüllt, davon 80 ccm mit 80 ccm Wasser verdünnt, mit 250 ccm 10%iger PWS kalt gefällt, auf dem Wasserbade erwärmt, andern Tags abgesaugt, mit 150 ccm 5%iger PWS — 5%iger H₂SO₄ ausgewaschen, der Niederschlag in Wasser bei 70° unter Zusatz von Ammoniak gelöst, mit Baryt ausgefällt usw., der ammoniakfreie Rückstand auf 100 ccm aufgefüllt. Je 10 ccm erfordern 30,2; 30,0 ccm n_{10} -H₂SO₄. Ges.-N im Mittel 30,1 ccm. Korrektion (6,1 + 1,1 = 7,2) : 10 Ges.-N = 30,8. 10 ccm gaben im Mittel 26,1 ccm n_{10} -S, Arginin-N + Korrektion 0,7 = 26,8 ccm = 87% Arginin-N.

Zur Isolierung des Arginins als Silbernitratdoppelsalz wurde der aus der Zersetzungslösung von 10 g Niederschlagsulfat erhaltene Silberbarytniederschlag verwendet. Das erhaltene Salz hatte zunächst einen um ca. 1% höheren Silbergehalt, als der Theorie entspricht, nach Umkrystallisieren aus Wasser unter Zusatz von Alkohol war es rein. Fp. 183°.

0,1554 g Substanz gaben 0,0414 g Ag = 26,64%. Berechnet für C₆H₁₁N₄O₂ · HNO₃ · AgNO₃: 26,55%.

Pikrolonat aus Niederschlagsulfat.

12 g des Niederschlagsulfats wurden von H_2SO_4 befreit, der basische, durch Eindampfen erhaltene Rückstand in etwas Wasser gelöst und mit heißer alkoholischer Pikrolonsäurelösung gefällt. Das Pikrolonat wurde dreimal aus heißem Wasser umkrystallisiert, zuletzt mit Alkohol und Äther nachgewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute 8 g. Das Pikrolonat krystallisiert kugel- und beerenförmig, ähnlich wie das Argininpikrolonat. Zersetzungspunkt 242° gefunden.

Von diesem Pikrolonate wurden 7 g in wenig Wasser suspendiert, mit 30 g konzentrierter Schwefelsäure vermischt und so lange mit Äther ausgeschüttelt, bis die Ätherschicht völlig farblos war. Die vom Äther getrennte Lösung wurde mit 60 ccm Wasser verdünnt und 12 Stunden am Rückflußkühler gekocht, die Reaktionslösung auf 250 ccm aufgefüllt.

10 ccm erfordern im Mittel 31,15 ccm n_{10} -S Ges.-N.

10 „ „ „ „ 25,65 „ „ Arginin-N.

Gefunden Arginin-N: 82,31 % vom Ges.-N.

Isolierung des Arginins aus der Zersetzungslösung des Pikrolonates.

200 ccm der Zersetzungslösung wurden mit Silbersulfat und Barythydrat behandelt, aus dem Niederschlage wurde das Arginin als Kupfernitratsdoppelsalz isoliert.

0,1739 g S geben 0,0260 g CuO .

Cu gef.: 11,98 %. Ber. für $(C_6H_{14}N_4O_2)Cu(ONO_2)_2$: 11,87 %.

Isolierung des Lysins aus der Zersetzungslösung des Pikrolonates.

Aus dem Filtrate der Silberbarytfällung wurde wie üblich die Base, und aus dieser durch einen Überschuß von Platinchlorid das Platindoppelsalz dargestellt.

0,1012 g S geben 0,0328 g Pt = 32,41 %. Berechnet für $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot PtCl_6H_2 + C_2H_5OH$: 32,37 %.

Die Versuche zeigen, daß das untersuchte Niederschlagsulfat sowohl wie das aus ihm dargestellte Pikrolonat bei der

totalen Hydrolyse Arginin und Lysin geben. Ob das Pikrolonat ein Individuum ist oder nicht, ist noch zu eruieren. Im ersteren Falle könnte es eine Verbindung sein, welche bei der totalen Hydrolyse in 2 Moleküle Arginin und 1 Mol. Lysin zerfällt (Diarginyllysyl?)

In dem Filtrate der Phosphorwolframsäurefällung der aus dem Niederschlagsulfat, das sicher ein Gemenge ist, erhalten wurde, ließ sich durch Silbernitrat und ammoniakalische Silbernitratlösung nur eine ganz geringe Ausscheidung erzeugen. Glutaminsäure war also nur in Spuren oder nicht vorhanden.

2. Filtratsulfat.

Wenn schon das Niederschlagsulfat keinen Anspruch auf Individualität machen kann, so stellt sich das Filtratsulfat als ein ausgesprochenes Gemenge dar. Je nachdem, ob aus verdünnterer oder konzentrierter Lösung gefällt wird, wird mehr oder weniger Filtratsulfat gefällt, unter Umständen überhaupt keine Fällung erzielt, da das Filtratsulfat in verdünntem Alkohol relativ löslich ist. Es interessierte in erster Linie zu wissen, ob im Filtratsulfat Verbindungen enthalten sind, welche bei der Hydrolyse Arginin liefern. Todorowic hat in einem solchen Filtratsulfat fast nur Arginin als durch Phosphorwolframsäure fällbaren Teil der Zersetzungsprodukte erhalten.

Wenn man solches Filtratsulfat der erneuten Behandlung von Silbersulfat und Barythydrat unterwirft, so erhält man wieder eine geringe Ausscheidung. Die aus 5 g Filtratsulfat durch Silbersulfat und Barythydrat gewonnene geringe Ausscheidung wurde untersucht, um festzustellen, ob sie etwa an Silberoxyd adsorbierte, durch Barytwasser nicht auswaschbare Bestandteile wären. Nach Entfernung des Silbers und Baryts usw. wurde die Ausscheidung total hydrolysiert, die Lösung auf 100 ccm aufgefüllt. Ges.-N wurde gefunden: 0,0459 g. Davon wurden 80,8% Arginin-N gefunden, also ungefähr soviel als im Pikrolonat aus Niederschlagsulfat. Man hat den Eindruck, als ob die Zerspaltung des Kyrins durch Silbersulfat und Barythydrat keine ganz vollständige sei, und daß bei erneuter Be-

handlung dann solche ungespalten gebliebenen Reste gespalten werden.

3. Der in alkoholischer Mutterlauge verbliebene Teil des Filtratsulfates.

Die aus 40 g fünfmal umgefällten β -Glutokyrinsulfates erhaltenen alkoholischen Mutterlaugen der Fällung des Sulfates aus dem Filtrate der Silberbarytfällung erhalten alkoholischen Mutterlaugen wurden nach Zusatz von Wasser eingengt, durch Barythydrat von der Schwefelsäure befreit. Nach Eindampfen wurden 1,8 g basischer Substanz gewonnen. Sie wurden mit 18 ccm Wasser + 9 g Schwefelsäure 12 Stunden gekocht. Aus der Reaktionslösung wurden Argininsilbernitrat und Lysinplatinsalz isoliert.

Argininsalz:

0,1015 g S geben 0,0272 g Ag. Gef. 26,78%. Ber. 26,55%.

Lysinsalz:

0,1053 g S geben 0,0342 g Pt. Gef. 32,52%. Ber. 32,37%.

Also auch unter den Spaltungsprodukten des alkohol-löslichen Teiles der Sulfate findet sich Arginin. Das Lysin scheint hier vorzuherrschen.
