

Über einige Spaltungsprodukte des Thynnins und Percins.

Von

A. Kossel und F. Edlbacher.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)

Im Anschluß an die soeben mitgeteilten Untersuchungen über die Protamine haben wir uns bemüht, die «Monoamidosäuren» kennen zu lernen, welche aus dem Percin und Thynnin bei der Hydrolyse hervorgehen. Wie aus der vorhergehenden Mitteilung zu ersehen ist, sind die beiden genannten Substanzen einfache Proteine von der allgemeinen Formel a₃m. Von den «Monoamidosäuren», welche aus ihnen entstehen, haben wir bisher nur zwei, nämlich das Prolin und eine Amidovaleriansäure, durch die Analyse ihrer Derivate feststellen können — offenbar diejenigen Spaltungsprodukte, welche sich neben dem Arginin in größter Menge bilden. Bei dem spärlichen Ausgangsmaterial wäre diese Untersuchung nicht möglich gewesen, wenn uns nicht in dem Pregl'schen Verfahren der Mikroanalyse ein ausgezeichnetes Hilfsmittel zu Gebote gestanden hätte.

Thynnin.

10 g Thynninsulfat wurden 12 Stunden mit Schwefelsäure hydrolysiert und die Reaktionsflüssigkeit zunächst nach dem Silberbarytverfahren verarbeitet. Der durch Silberbaryt nicht fällbare Teil wurde nach Entfernung des Silbers und des Baryts eingedampft, wobei Tyrosin auskrystallisierte. Von den Tyrosinkrystallen wurde die Mutterlauge abfiltriert und fast zur Trockene eingengt, sodann am Rückflußkühler $\frac{1}{2}$ Stunde mit absolutem Alkohol gekocht und nach dem Erkalten filtriert. Aus dem in Alkohol unlöslichen Teil wurde die Amidovaleriansäure gewonnen, der alkohollösliche Teil diente zur Darstellung des Prolins.

Amidovaleriansäure. Der bei der Alkoholextraktion verbliebene Rückstand wurde $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflußkühler mit Methylalkohol gekocht, sodann filtriert und das Filtrat zur Trockene eingedampft. Es blieb dabei nur eine geringe Substanzmenge (8 mg) ungelöst zurück, während 0,185 g in Methylalkohol löslich waren. Dieser letztere Teil wurde nach dem Verdunsten des Methylalkohols in 2 ccm Normalnatronlauge

gelöst und nach der Vorschrift von E. Fischer mit einer ätherischen Lösung von 2 Mol. Naphthalinsulfochlorid (unter der Voraussetzung, daß Amidovaleriansäure vorlag, berechnet) $1\frac{1}{2}$ Stunden geschüttelt; sodann wurde noch 3mal nach je einstündigem Schütteln 1,5 ccm Normalnatronlauge hinzugefügt. Es wurde nun die wässrige Schicht vom Äther abgetrennt und erstere mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Dabei schied sich ein Öl ab, welches nach einigen Minuten zu rosettenförmig gruppierten Blättchen erstarrte. Die Krystalle wurden wiederholt aus ganz verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Die Verbindung krystallisiert sehr leicht und scheidet sich aus verdünntem Alkohol, Aceton und Eisessig in büschelförmigen Nadeln ab. Sie löst sich sehr leicht in Alkohol und ungemein schwer in Wasser. Die reine Substanz schmilzt bei 160° . Sie wurde als eine Amidovaleriansäure erkannt, deren Konstitution wir vorläufig noch unerörtert lassen.

Zur Analyse war die Substanz 24 Stunden im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet worden.

3,310 mg gaben 1,57 mg H_2O und 7,11 mg CO_2

Gefunden: 5,31% H, 58,58% C

Berechnet für $C_{15}H_{17}O_4NS$: 5,58% H, 58,59% C

4,208 mg gaben 2,01 mg H_2O und 9,03 mg CO_2

Gefunden: 5,35% H, 58,53% C

Berechnet: 5,58% H, 58,59% C

Versuche zur Darstellung des Äthylesters führten zu einer in seidenglänzenden Nadelchen krystallisierenden Substanz, deren Analyse jedoch zu niedere Werte ergab. Der Grund dieser Abweichung konnte nicht festgestellt werden, da die Substanzmenge eine zu geringe war. Der Schmelzpunkt dieser Krystalle lag bei 91° .

Prolin. Die alkoholische Lösung des Monoamidosäureanteils der Spaltungsprodukte (s. oben) wurde zur Trockne gebracht und $\frac{1}{2}$ Stunde mit absolutem Alkohol am Rückflußkühler gekocht. Dabei ging die Hauptmenge wieder in Lösung (A), während ein geringer Teil ungelöst blieb.

A. Die Lösung wurde zur Trockne verdunstet und wieder mit absolutem Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur übergossen.

Bei längerem Stehen schied sich aus der Lösung eine ansehnliche Menge eines gelblich gefärbten Niederschlages aus. Von diesem wurde abfiltriert und das alkoholische Filtrat zur Trockne verdunstet, der Rückstand, welcher starke Fichtenspanreaktion gab, in wenig Natronlauge gelöst und unter starkem Schütteln bei 0° mit Phenylisocyanat versetzt, bis ein dicker Niederschlag von Phenylharnstoff entstand. Von diesem wurde abfiltriert und das Filtrat mit verdünnter Salzsäure angesäuert; es schied sich eine schwammige Masse aus, welche in bekannter Weise durch Salzsäure in das Hydantoin übergeführt wurde. Dieses schied sich zunächst in Form stark doppelbrechender rhombischer Blättchen aus, welche nach weiterer Reinigung durch Tierkohle und Umkrystallisieren als schneeweiße Nadelchen vom Schmelzpunkt 143° erschienen. Denselben Schmelzpunkt besitzt das von E. Fischer beschriebene aktive Prolinphenylhydantoin.

Die im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Substanz gab folgende Zahlen:

1. 4,20 mg gab 0,480 ccm N (749 mm, 20°)

Gefunden: 13,11% N

Berechnet: 12,96% N

2. 3,62 mg gab 0,409 ccm N (749 mm, 20°)

Gefunden: 12,97 = N

Berechnet: 12,96% N.

Das Prolin ist somit als Spaltungsprodukt des Thynnins nachgewiesen.

Percin.

5 g Percin aus *Perca flavescens* wurden 15 Stunden lang mit Schwefelsäure hydrolysiert und das Reaktionsprodukt ebenso verarbeitet wie dies beim Thynnin beschrieben ist. Auch in diesem Fall wurde der durch das Silberbarytverfahren nicht fällbare Anteil der Spaltungsprodukte in einen alkohollöslichen und einen unlöslichen Teil geschieden, ersterer diente zur Darstellung des Prolins, letzterer zum Nachweis der Amidovaleriansäure.

Amidovaleriansäure. Der in Äthylalkohol unlösliche Teil löste sich in diesem Falle vollständig in Methylalkohol

auf, der nach dem Verdunsten des Methylalkohols verbliebene Rückstand wurde in die Naphthalinsulfoverbindung übergeführt und diese zeigte nach mehrmaligem Behandeln mit Tierkohle und Umkrystallisieren aus verdünntem Alkohol dieselben Eigenschaften wie die analoge aus Thynnin gewonnene Verbindung, sie schmolz bei 159° , die Analyse zeigte jedoch, daß sie noch nicht aschefrei war.

4,840 mg enthielten 0,350 mg Asche und gaben 2,35 mg H_2O und 9,65 mg CO_2 .

Gefunden: ¹⁾ 5,85% H, 58,60% C Berechnet: für $C_{15}H_{17}O_4NS$.

» : 5,58% H, 58,59% C

Die Zahlen führen mit großer Wahrscheinlichkeit zu dem Schluß, daß dieselbe Amidovaleriansäure vorgelegen hat, welche auch aus dem Thynnin hervorgeht.

Prolin. Aus dem Alkoholextrakt wurde nach dem Verdunsten des Lösungsmittels eine pyrrolidinartig riechende Substanz gewonnen, welche in wenig Natronlauge gelöst, bei 0° mit Phenylisocyanat geschüttelt und ebenso wie beim analogen Körper aus Thynnin verarbeitet wurde. Die Krystalle schmolzen bei 141° . E. Fischer gibt als Schmelzpunkt des Prolinphenylhydantoin 143° an.

3,72 mg gaben 0,407 ccm N (761 mm, 19°).

Gefunden: 12,83% N

Berechnet: 12,96% N.

Die Verbindung ist somit das Hydantoin des Prolins.

Diese Befunde zeigen wiederum eine Eigentümlichkeit der Protamine sehr deutlich, welche auch schon aus früheren Beobachtungen ersichtlich ist, nämlich das Vorwalten von C_5 -Gruppen unter den Bausteinen. Bekanntlich findet sich unter den basischen Spaltungsprodukten das Ornithin — als Bestandteil des Arginins — stets in überwiegender Menge, unter den Monoamidosäuren fehlen das Prolin und eine Amidovaleriansäure nie oder fast nie, während die C_6 -Gruppen, welche im Aufbau der komplizierten Proteine als Lysin, Leucin, Isoleucin eine so große Rolle spielen, bei den Protaminen nur vereinzelt auftauchen.

¹⁾ Nach Abzug der Asche.