

Zur Methylierung der Eiweißstoffe.

Von

J. Herzig.

(Aus dem I. chem. Laboratorium der Universität Wien.)
(Der Redaktion zugegangen am 30. September 1920.)

Die interessanten Arbeiten von Edlbacher¹⁾ ergaben das bemerkenswerte Resultat, daß die Methylierung der Eiweißstoffe am Stickstoff bei der Einwirkung von Alkali und Dimethylsulfat, die Größe der Methylzahl betreffend, fast das gleiche Ergebnis liefert, wie beim Anwenden von Diazomethan. In Bezug auf die Deutung der Resultate sind verschiedene Auffassungen möglich, wobei ich mich Edlbacher vollkommen anschließen kann, wenn er bemerkt, daß bei dem jetzigen Stande dieser Fragen alle Schlußfolgerungen mit großer Vorsicht aufzunehmen sind.

Edlbacher geht von dem Verhalten der Aminosäuren und einzelner einfacher Peptide gegen Dimethylsulfat aus und nimmt an, daß die freie Aminogruppe im Eiweißmolekül bei der Behandlung mit Alkali und Dimethylsulfat der Hauptsache nach trimethyliert wird. In Konsequenz der numerischen Übereinstimmung der Werte muß dies, nach ihm, auch bei der Methylierung mittels Diazomethan der Fall sein.

Geht man dagegen von der Wirkungsweise des Diazomethans auf Aminosäuren aus²⁾, so muß für die Proteine die Monomethylierung mit Hilfe von Diazomethan als wahrscheinlich bezeichnet werden. Die oben erwähnte Schlußfolge

¹⁾ Diese Zeitschr. Bd. 107, S. 52 (1919); Bd. 108, S. 287 (1919); Bd. 110, S. 153 (1920).

²⁾ Herzig, Diese Zeitschr. Bd. 110, S. 156 (1920).

aus der numerischen Übereinstimmung der Werte führt natürlich zur Annahme der Monomethylierung auch bei der Anwendung von Alkali und Dimethylsulfat als Methylierungsmittel.

Immer wieder wird also vorausgesetzt, daß nur die freien Aminogruppen des Eiweißmoleküls für die Methylierung am Stickstoff maßgebend sind, und daß sie sich gegen die Agentien genau so verhalten, wie die Aminogruppen in den bis jetzt untersuchten Aminosäuren.

Es bleibt allerdings noch eine Möglichkeit, nämlich die Annahme, daß die bei den beiden Verfahren in Betracht kommenden Gruppen verschieden, daß infolgedessen die methylierten Verbindungen nicht identisch sind, und daß die numerische Übereinstimmung der Werte für CH_3 (an Stickstoff gebunden) eine rein zufällige ist.

Ich muß nunmehr bemerken, daß es mir schon seit einiger Zeit zweifelhaft war, ob die Ursache der Methylierung der Eiweißstoffe am Stickstoff nur in der Anwesenheit der freien Aminogruppe zu suchen wäre.

Die erste Veranlassung zu diesem Zweifel war eine noch nicht veröffentlichte Beobachtung, wonach das Desaminoglutin sich mit Diazomethan geradeso leicht methylieren läßt wie das Glutin selbst.

Die erzielten Grenzwerte waren:

A. Beim Glutin

4,45% OCH_3 und 4,89% CH_3 an N geb.

B. Beim Desaminoglutin

5,60% OCH_3 und 5,30% CH_3 an N geb.

Für den ersten Blick scheint diese merkwürdige Tatsache sehr stark dagegen zu sprechen, daß die freie Aminogruppe dieser Stoffe überhaupt eine Rolle bei der Methylierung am Stickstoff spielt, doch wäre dieser Schluß bei der Kompliziertheit der obwaltenden Verhältnisse etwas voreilig.

In der Tat ergaben mit Herrn Dr. Hans Lieb gemeinsam unternommene Versuche die nicht minder auffallende Beobachtung, daß das Desaminoglutin genau soviel Amino-

stickstoff nachweisen läßt wie das Glutin selbst. Die Bestimmungen sind sowohl nach Sørensen als auch nach van Slyke ausgeführt worden und die Übereinstimmung läßt nichts zu wünschen übrig. Die Desamidierung ist genau nach Skraup vorgenommen worden, und wir haben sogar das Desaminoglutin noch ein zweites Mal derselben Prozedur unterworfen, ohne daß sich der Wert für den Aminostickstoff vermindert hätte.

Die einfachste Erklärung für diese Erscheinung scheint mir die, daß gleichzeitig mit der Desamidierung eine mehr oder minder eingreifende Abspaltung von Resten eintritt unter automatischer Rückbildung einer fast gleichen Anzahl von freien Aminogruppen. Zwei Momente kommen hier, sich in der Wirkung gegenseitig verstärkend, wesentlich in Betracht. Auf der einen Seite die sehr bedeutende Molekulargröße und auf der anderen die sehr kleinen analytischen Werte für den Aminostickstoff. Handelt es sich doch beispielsweise beim Glutin und Casein nur um 1—1,3% N als Aminostickstoff.

Diese mit Unterstützung des Herrn Stern betriebenen Studien sind übrigens noch keineswegs abgeschlossen und können unter den jetzigen sehr schwierigen Verhältnissen nur langsam fortschreiten. Sie sollen gelegentlich ausführlich mitgeteilt werden.

Immerhin scheint es mir ziemlich erwiesen, daß wir für die Wirkung des Diazomethans mit der freien Aminogruppe das Auslangen nicht finden können. Eine Polymethylierung ist, mit Diazomethan a priori unwahrscheinlich, auch nicht beobachtet worden, und bei einer Monomethylierung können 1—1,3% Aminostickstoff nicht 5—6% CH_3 am Stickstoff liefern.

Es ergibt sich also die Notwendigkeit, neben der Aminogruppe andere am Stickstoff methylierbare Reste namhaft zu machen.

Es muß aber auch die Frage nach der Methoxylierung der Eiweißstoffe angeschnitten werden und ich möchte vorerst den Stand unserer Erfahrungen in dieser Richtung kurz skizzieren.

In Bezug auf die Methoxylierung der Eiweißstoffe liegen nur Beobachtungen über die Wirkung von Diazomethan vor, und zwar von Skraup und seinen Mitarbeitern¹⁾ sowie von Herzig und Landsteiner²⁾. Die bis jetzt untersuchten Stoffe verhalten sich ziemlich gleich und die Grenzwerte liegen in der Regel bei 5—6% OCH_3 .

Die Erklärung der Bildung der Methoxylgruppen gestaltet sich geradeso schwierig wie die der vorhandenen Methylimidreste. Nimmt man für jede freie Aminogruppe je einen Karboxylrest an, so genügen dieselben keineswegs, um die beobachteten Methoxylzahlen zu erklären. Der Mehr- oder Mindergehalt an Tyrosin macht sich bei der Methoxylzahl der Eiweißstoffe, offenbar wegen der Größe des Moleküls, fast gar nicht geltend.

Es liegt also hier wieder der Fall so, daß wir für die Erklärung der Methoxylierung neue, für diese Reaktion brauchbare Gruppen heranziehen müssen.

Hierfür scheint mir der Rest CONH besonders geeignet. Daß wir diese Gruppe in den Proteinen in größerer Menge voraussetzen können, bedarf keiner weiteren Erörterung. Ebenso klar ist es, daß durch die tautomere Reaktion (CONH und CNOH) die Möglichkeit vorliegt, sowohl am Sauerstoff als auch am Stickstoff methylierte Derivate zu erhalten. Ich halte mich nicht für verpflichtet, in dieser kurzen Notiz auf die in der Literatur diesbezüglich vorliegenden Angaben näher einzugehen. Ich möchte nur bemerken, daß trotz einzelner schöner Resultate — ich nenne als Beispiel nur die ingenösen Versuche von Hantzsch³⁾ bei der Cyanursäure — das Ganze mir in der oben erwähnten Richtung nicht genügend ausgewertet erscheint. Namentlich über das Verhalten gegen Diazomethan liegen, meines Wissens, keine Angaben vor.

Vorläufige, zunächst nur mit Diazomethan ausgeführte Versuche lieferten bei einer Reihe von Stoffen dieser Klasse

¹⁾ Monatshefte f. Chem. Bd. 30, S. 447 (1909); Bd. 31, S. 1035 (1910).

²⁾ Biochem. Zeitschr. Bd. 61, S. 458 (1914); Monatshefte f. Chem. Bd. 39, S. 269 (1918).

³⁾ B. B. 38, S. 1005 (1905); 39, S. 139 (1906).

glatte, in beiderlei Richtung (OCH_3 und NCH_3) positive Resultate.

Die Materialbeschaffung macht große Schwierigkeiten, und es können daher die endgültigen Resultate erst nach einiger Zeit mitgeteilt werden.

Immerhin ist aber damit eine neue Möglichkeit für die Erklärung der Methylierung der Eiweißstoffe sowohl am Sauerstoff als auch am Stickstoff gewonnen.
