

Aus dem Physiologischen Institut der
Kgl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.

Vergleichende Untersuchungen über die
Zusammensetzung und den Aufbau
verschiedener Seidenarten.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
DER
KÖNIGLICHEN TIERÄRZTLICHEN
HOCHSCHULE ZU BERLIN

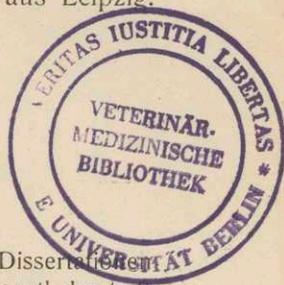
vorgelegt von

James Sington,

approb. Tierarzt und Unterveterinär aus Leipzig.

Berlin 1911.

Hermann Blanke's Spezial-Druckerei für Dissertationen
Kl. Rosenthalerstr. 9. BERLIN C. 54, Kl. Rosenthalerstr. 9.



1955,71

Gedruckt mit Genehmigung der Königlichen Tierärztlichen
Hochschule zu Berlin.

Referent: Prof. Dr. A b d e r h a l d e n.



Meiner Mutter.

Meiner Mutter

Einleitung.

Die grosse Bedeutung, welche die Eiweisskörper für die Tier- und Pflanzenwelt haben, lässt es erklärlich erscheinen, dass die Frage nach ihrer Zusammensetzung und ihrer Struktur schon seit langer Zeit die Physiologen und Chemiker beschäftigt hat. Von den zahlreichen Untersuchungen, die auf diesem Gebiet ausgeführt wurden, war bis vor kurzem nur eine Methode erfolgreich, nämlich der hydrolytische Abbau der Proteine durch Säuren, Alkalien oder Fermente. Mit Hilfe dieser Methode gelangten wir zur Kenntnis der einfachsten Bausteine der Eiweisskörper der Aminosäuren (abgesehen von Ammoniak und Glukosamin). Unter der grossen Zahl von Aminosäuren waren es aber nur wenige, die infolge ihrer Schwerlöslichkeit oder Fällbarkeit durch bestimmte Reagentien aus dem gesamten Gemisch der Aminosäuren abgetrennt werden konnten, oder die in so grossen Mengen in dem Gemisch enthalten waren, dass sie der Untersuchung nicht entgehen konnten. Die direkte Isolierung der bei der totalen Hydrolyse entstandenen Spaltprodukte war daher nicht geeignet, die Zusammensetzung und den Aufbau der Proteine vollständig aufzuklären.

Der Grund hierfür ist darin zu suchen, dass bei der totalen Hydrolyse der Proteine im allgemeinen

eine grosse Anzahl von Spaltprodukten entsteht, die sich durch ihre Eigenschaften fast gar nicht unterscheiden. Ausserdem bilden manche von ihnen Mischkristalle und beeinflussen sich gegenseitig in ihrer Löslichkeit. Bei der Hydrolyse durch Säuren oder Alkalien wird ausserdem ein Teil der Aminosäuren racemisiert und dadurch deren Reingewinnung noch mehr erschwert. Die Methode, welche den ersten Schritt vorwärts geführt hatte, brachte so die Forschung ins Stocken, da die sich bietenden Schwierigkeiten nicht zu überwinden waren.

Erst als Emil Fischer mit seiner Estermethode zur Isolierung der Monoaminosäuren hervortrat, sollte es sich zeigen, dass er das Mittel gefunden hatte, welches geeignet war ein weiteres Fortschreiten zu ermöglichen. Die Ester der Aminosäuren sind grösstenteils Flüssigkeiten, die sich unter vermindertem Druck unzersetzt destillieren lassen und durch fraktionierte Destillation aus einem Gemisch getrennt werden können. Auf der Darstellung der Ester der Aminosäuren und deren fraktionierte Destillation beruht im Prinzip die Fischer'sche Methode. Da im experimentellen Teil ausführlicher auf sie eingegangen wird, so mag hier dieser Hinweis genügen.

Wenn nun die Estermethode auch nicht gestattet, die Aminosäuren quantitativ zu bestimmen, da sie nur annähernde Werte gibt, so findet man doch bei gleichartiger Durchführung der Methode bei ein und demselben Protein gut übereinstimmende Ausbeuten an den einzelnen Aminosäuren. Die Estermethode eignet sich demnach ganz besonders zu vergleichenden Zwecken und wir sind durch sie imstande durch Feststellung und vergleichende Bestimmung der bekannten Bausteine, Unterschiede zwischen verschiedenen Proteinen festzustellen. Wie Abderhalden (1) jedoch wiederholt betont hat, muss eine derartige vergleichende

Untersuchung in zweifacher Weise ausgeführt werden. Durch die totale Hydrolyse kann nur festgestellt werden, in welchem Mengenverhältnis die einzelnen Aminosäuren in den zu untersuchenden Körpern enthalten sind. Sie gibt uns jedoch keine Auskunft darüber, ob bestimmte Eiweisskörper identisch sind. Wenn nämlich auch zwei Proteine bei der totalen Hydrolyse dieselben Aminosäuren in dem gleichen Mengenverhältnis liefern, so kann ihr Aufbau trotzdem vollständig verschieden sein, in dem z. B. die Reihenfolge der einzelnen Bausteine nicht die gleiche ist. Die Frage nach der Identität zweier Eiweisskörper kann nur durch die Ergebnisse der partiellen Hydrolyse geklärt werden. Kann man aus zwei Proteinen grössere Bruchstücke abspalten die unter einander gleich sind, so darf man mit grosser Wahrscheinlichkeit den Schluss ziehen, dass beide identisch sind.

Bei vergleichenden Untersuchungen über Zusammensetzung und Aufbau der Proteine müssen sich demnach die totale und die partielle Hydrolyse ergänzen.

Abderhalden war nun der erste, der es unternommen hat, derartige vergleichende Untersuchungen auszuführen und zwar wählte er dazu eine grössere Anzahl von Seidenarten, die er direkt aus dem Ursprungsland erhalten hatte. Dieses Protein hat den Vorzug, dass seine Zusammensetzung durch die Untersuchungen Fischers genau bekannt ist und dass ausserdem die partielle Hydrolyse beim Seidenfibroin bis jetzt am erfolgreichsten gewesen ist, indem bis jetzt aus ihm zwei Dipeptide und ein Tetrapeptid isoliert worden sind. Der Plan Abderhaldens war nun, durch die totale Hydrolyse festzustellen, ob die verschiedenen Seidenarten verschiedener Herkunft auch eine verschiedene Zusammensetzung zeigen. Später sollen die

so erhaltenen Ergebnisse durch die partielle Hydrolyse ergänzt werden.

Da nun inzwischen bereits eine grosse Anzahl derartiger Unternehmungen fertig gestellt ist, so dürfte es wohl von Interesse sein, die bisher gewonnenen Resultate einmal gegenüberzustellen und zu vergleichen. Vor diesen im Zusammenhang durchgeführten Untersuchungen Abderhaldens müssen hier jedoch noch einige andere erwähnt werden, die früher ausgeführt worden sind und denen ähnliche Körper zu Grunde lagen.

Zunächst sei darauf hingewiesen, dass der von der Seidenraupe gelieferte Faden aus zwei scharf trennbaren Substanzen besteht nämlich aus dem Seidenfibroin und aus dem mit Wasser weglösbarem Leim. Die Mehrzahl der bisher ausgeführten Untersuchungen hat sich mit dem Seidenfibroin beschäftigt, während über den Leim bis jetzt nur zwei Untersuchungen bekannt sind. Bei einem Vergleich der Seidenarten muss auch stets Fibroin und Leim getrennt betrachtet werden.

Zum erstenmal wurde das Seidenfibroin mit der Estermethode von Emil Fischer und Aladar Skita (2) untersucht. Schon mit Hilfe der älteren Methoden war es gelungen, einzelne Aminosäuren zu isolieren. So hatte schon 1853 Hinterberger und Waltenberger Tyrosin und Leucin gefunden. 1865 isolierte Cramer das Glykokoll. Schützenberger und Bourgeois fanden 1875 neben Ammoniak, Oxalsäure, Kohlensäure und Essigsäure ein Gemisch von Aminosäuren, das aus Tyrosin (10%), einem Gemisch von Glykokoll und Alanin zu gleichen Teilen (60%), Aminobuttersäure (70%) und ungesättigten Säuren (20%) bestand. Weyl (1888) wies Tyrosin, Glykokoll und eine Aminopropionsäure (wahrscheinlich das Alanin) mit Sicherheit

nach. Wetzel (1899) suchte unter den Hydrolyseprodukten nur die Diaminosäuren.

Emil Fischer und Alada Skita bewiesen nun, dass die Zusammensetzung des Fibroins wesentlich komplizierter ist, als bisher angenommen worden war. Sie verwendeten zu ihren Untersuchungen Fibrion aus lombardischer, technisch degommierter Seide. Zur Hydrolyse benutzten sie einmal 25%ige Schwefelsäure (Tyrosinbestimmung) und das andere Mal Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19. Der gefundene Prozentgehalt an den einzelnen Aminosäuren ist:

Glykokoll	36,0
Alanin	21,0
Leucin	1,5
Serin	1,6
Tyrosin	10,5
Phenylalanin	1,5
Arginin	1,0
Lysin	in geringen Mengen
Asparaginsäure	vorhanden
Prolin	„
Histidin	in geringen Mengen.

Neben dieser echten Seide untersuchte Fischer (3) das seidenartige Produkt von *Nephila madagascariensis*, einer Spinnenart, die in den Wäldern von Madagaskar auf Bäumen lebt. Der französische Pater Camboné begründete dort eine Versuchsanstalt, wo die Spinnen gezüchtet und ihr der Faden künstlich entnommen wird. Die Gewinnung ist jedoch zu kostspielig als dass es bis jetzt zu einem erfolgreichen Wettbewerb mit der gewöhnlichen Seide gekommen wäre.

Die Untersuchung Fischers zeigte nun, dass so wohl äusserlich als auch chemisch eine grosse Aehnlichkeit dieser Spinnenseide mit der gewöhnlichen Sei-

de vorliegt. Biologisch interessant ist es ferner, dass beide aus einem flüssigen Drüsensekret entstehen, das beim Austritt aus dem Tierkörper erstarrt. Während aber die Drüsen der Seidenraupe als modifizierte Speicheldrüsen angesehen werden, liegen die Spinnrüsen am Hinterteil des Tieres und um so beachtenswerter ist die chemische Aehnlichkeit beider Sekrete. Der prozentuale Gehalt an Aminosäuren ergibt sich aus beistehender Tabelle.

An dieser Stelle verdient auch noch eine von Abderhalden (4) ausgeführte Untersuchung über die Zusammensetzung des Byssus von *Pinna nobilis* erwähnt zu werden. Byssus sind Fäden, die von einer am sogenannten Fuss mancher Muscheln befindlichen Drüse produziert werden und mittelst deren die Muschel sich auf ihrer Unterlage anheftet. Dieser Byssus wurde nach Müller schon im Altertum zu Geweben verarbeitet und wird auch noch heute in Italien verwendet. Abderhalden konnte nun feststellen, dass der Byssus zur Gruppe der Eiweisskörper und zwar zu den Albuminoiden gehört. Trotz des wenigen, ihm zur Verfügung stehenden Materials, konnte er doch die Zusammensetzung des betreffenden Byssus qualitativ feststellen. Die Resultate sind in der nebenstehenden Tabelle enthalten.

Vergleichen wir nun diese beiden Tabellen mit der ersten, so fällt bei ihnen eine grosse Aehnlichkeit sofort auf, die um so bemerkenswerter ist, als es sich doch um drei Körper handelt, die von drei verschiedenen Tieren produziert worden sind. Wenn auch bei dem Byssus die Bestimmung der einzelnen Aminosäuren einen mehr qualitativen Charakter trägt, so ist doch bewiesen, dass auch er in der Hauptsache aus denselben Bestandteilen aufgebaut ist wie die Seide und die Spinnenseide.

Vol. 40c
Bibl. J. -
B 846

	Spinnenseide	Byssus
Glykokoll	35,1	vorhanden
Alanin	23,4	„
Leucin	1,8	?
Serin	—	—
Asparaginsäure	5,24	vorhanden
Glutaminsäure	11,7	?
Lysin	—	—
Arginin	—	—
Phenylalanin		?
Tyrosin	8,2	vorhanden
Prolin	3,7	—

Wenn nun schon interessant war, die Zusammensetzung dreier so verschiedener Eiweisskörper zu betrachten wie der eben beschriebenen, so ist dies in noch höherem Grade der Fall bei solchen Körpern, die ihrer Herkunft und Abstammung nach eine gewisse Verwandtschaft zeigen. Das Material zu einem solchen Vergleich bieten die an verschiedenen Seidenarten ausgeführten Untersuchungen, auf die bereits weiter oben hingewiesen worden ist.

Ehe jedoch auf die einzelnen Ergebnisse weiter eingegangen werden kann, muss zunächst der Gang der Untersuchung näher beschrieben werden. Dies soll in dem folgenden experimentellen Teil geschehen, der die von mir ausgeführte Untersuchung über die Zusammensetzung der Bengal-Seide enthält.

=====

Experimenteller Teil.

Von Herrn Professor Aberhalden war mir eine goldgelbe Seidenart übergeben worden, die aus Bengalen stammt. Meine Untersuchung führte ich in dem Physiologischen Institut der Berliner Tierärztlichen Hochschule aus und ich möchte es an dieser Stelle nicht unterlassen, Herrn Professor Aberhalden für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen Dank auszusprechen.

Es wurde zunächst der Leimgehalt festgestellt durch wiederholtes Auskochen mit Wasser im Porzellanbecher unter Druck. Dabei ergaben sich 20 bis 21% Seidenleim. Das degommierte Seidenfibroin zeigte eine hellgelbe Farbe und verlor lufttrocken beim Trocknen bei 100° bis zur Gewichtskonstanz 8,22% an Gewicht. Der Aschengehalt wurde durch Veraschen im Porzellantiegel und Wiegen des Rückstandes festgestellt und ergab 0,46%.

Tyrosin-Bestimmung.

Um den Tyrosingehalt des Seidenfibroins festzustellen, wurden 100 g davon mit der fünffachen Menge 25%iger Schwefelsäure hydrolisiert. Diese Methode ist hierfür besonders geeignet, weil die Säure durch Bariumhydroxyd leicht wieder entfernt werden kann. Die Hydrolyse wurde in der Weise ausgeführt, dass

das Seidenfibroin mit der Schwefelsäure in einen Rundkolben gebracht wurde und im Wasserbade am Rückfluss-Kugelkühler unter häufigem Umschütteln erwärmt wurde. Nach 5 Stunden war alles Fibroin gelöst. Hierauf wurde der Rundkolben auf ein Baboblech gestellt und die Lösung 12 Stunden lang am Rückflusskühler kräftig unter Zusatz von Siedesteinchen gekocht. Nach Ablauf dieser Zeit wurde mit Hilfe der Biurettreaktion untersucht, ob schon eine vollkommene Spaltung eingetreten wäre. Die Reaktion fiel jedoch noch positiv aus und bewies dadurch, dass die Lösung noch ungespaltenes Eisweiss oder Pepton enthielt. Erst nachdem noch weitere 6 Stunden erhitzt worden war, gab die Lösung keine Biurettreaktion mehr. Es wurde nun filtriert und dabei zeigte es sich, dass ein geringer Teil nicht in Lösung gegangen war. Dieser Rückstand wurde mit destilliertem Wasser solange ausgewaschen, bis das Filtrat von Schwefelsäure frei war und hierauf getrocknet und gewogen. Seine Menge betrug 3,2%. Die dabei erhaltenen Waschwässer wurden mit dem ersten Filtrat vereinigt. Die gesamte Lösung wurde mit der berechneten Menge Bariumhydroxyd versetzt und die Schwefelsäure quantitativ ausgefällt.

Der Niederschlag von Bariumsulfat wurde dann abfiltriert und solange mit destilliertem Wasser ausgekocht, bis das Filtrat mit Millon's Reagens keine Rotfärbung mehr gab. Die Waschwässer wurden mit dem ersten Filtrat vereinigt und nun wurde die gesamte Lösung im Vacuum bei 40° des Wasserbades eingeengt. Das dabei auskristallisierende Tyrosin wurde durch Abfiltrieren entfernt. Zuletzt wurde die bereits stark konzentrierte Lösung in einer Porzellschale und bei 100° des Wasserbades so weit verdampft, bis alles Tyrosin auskristallisiert war und die Mutterlauge mit Millon's Reagens keine Rotfärbung

mehr gab. Das so erhaltene Roh-Tyrosin wog 11,3 g. Es wurde durch Aufkochen mit Tierkohle und wiederholtes Umkristallisieren gereinigt. Seine Menge betrug 10,0%. Der Schmelzpunkt war unter Zersetzung bei 315°, die Drehung in 21%iger Salzsäure 8,7°.

Die Bestimmung der übrigen Aminosäuren

wurde nach der Estermethode ausgeführt. Die Mutterlauge des Tyrosins samt der beim Umkristallisieren erhaltenen Waschwässer wurde im Vacuum bei 42° des Wasserbades vollkommen zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit 500 ccm absolutem Alkohol übergossen und durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure unter häufigem Umkristallisieren gelöst. Dabei trat eine starke Erwärmung ein als Zeichen dafür, dass die in Lösung befindlichen Aminosäuren in ihre salzsäuren Ester übergingen. Das reichliche Entweichen von Salzsäuredämpfen zeigte die Beendigung dieses Prozesses an. Nachdem die Lösung sich abgekühlt hatte, wurde mit einem Kriställchen von Glykokollesterchlorhydrat geimpft und die Lösung 36 Stunden lang in den Eisschrank gestellt. In dieser Zeit fiel eine beträchtliche Menge von Glykokollesterchlorhydrat aus, welches abfiltriert wurde. Da sich bei der Veresterung stets Wasser bildet und dieses das Auskristallisieren des sehr leicht in Wasser löslichen Glykokollesterchlorhydrats verhindert, so wurde das Filtrat der salzsäuren Ester bis zur Sirupkonsistenz im Vacuum eingengt und darauf durch Uebergießen mit absolutem Alkohol und Einleiten von gasförmiger Salzsäure die Veresterung wiederholt. Nach 36 stündigem Stehen im Eisschrank war wiederum eine gewisse Menge von Glykokollesterchlorhydrat ausgefallen und wurde abfiltriert. Nach abermaligem Einengen des Filtrates wur-

de die Veresterung noch ein drittes Mal ausgeführt, jedoch liess sich kein Glykokollesterchlorhydrat mehr abscheiden. Die gesamte Ausbeute an Glykokollesterchlorhydrat betrug 30,5 g. Sein Schmelzpunkt lag bei 144°.

Nunmehr wurden aus der Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrats die Ester in Freiheit gesetzt. Zu diesem Zwecke wurde die Mutterlauge im Vacuum bis zur Sirupdicke eingedampft und dann in etwa $\frac{1}{3}$ ihres Volumens Wasser gelöst. Diese Lösung wurde in einer Kältemischung aus Kochsalz und Eis gut abgekühlt und mit Aether überschichtet. Dann wurde mit in Eis gekühlter Natronlauge neutralisiert und gleichzeitig die Ester mit festem Kaliumcarbonat ausgesalzen. Dieser Prozess wurde unter fortwährendem kräftigen Umschütteln ausgeführt, wobei der Aether stets rasch erneuert wurde unter allmählichem Zusatz der Alkalien. Der abgegossene Aether enthält die von der Salzsäure befreiten Ester der Aminosäuren.

Die aetherische Lösung der Ester wurde zunächst auf Kaliumcarbonat gegossen nach 15 Minuten filtriert und dann 12 Stunden lang über geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Nach dieser Zeit wurde der Aether im Vacuum bei 30° des Wasserbades abdestilliert, bis das Gesamtvolumen des Auszuges nur noch etwa 300 ccm betrug. Diese wurden in einen Claisenkolben gefüllt um nunmehr die fraktionierte Destillation auszuführen. Es wurden im Ganzen drei Fraktionen aufgefangen und zwar:

- I. bis 100° des Wasserbades und 12 mm Druck
- II. bis 100° „ „ „ 0,1 bis 0,5 mm Druck
- III. bis 200° des Oelbades „ 0,1 „ 0,5 mm „

I. F r a k t i o n .

Um die Aminosäuren aus ihren Estern zu gewinnen, wurde die I. Fraktion durch 8stündiges Ko-

chen am Rückflusskühler mit der 10fachen Menge Wasser verseift. Das Verschwinden der alkalischen Reaktion zeigt die Beendigung der Verseifung an. Hierauf wurde die ganze wässrige Lösung der Aminosäuren unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft. Um das darin enthaltene Prolin zu gewinnen, wurde sie dann wiederholt mit absolutem Alkohol ausgekocht. Dieser alkoholische Auszug wurde mit dem aus der II. Fraktion entsprechend erhaltenen vereinigt. Die in Alkohol unlöslichen Aminosäuren der I. Fraktion wurden alsdann in Wasser gelöst und durch Eindampfen in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade und Auskristallisierenlassen in 10 weitere Fraktionen zerlegt. Diese wurden getrocknet und ihr Schmelzpunkt bestimmt. Zur weiteren Untersuchung wurden aus diesen Fraktionen die Kupfersalze hergestellt. 1 g der betreffenden Substanz wurde mit einem Ueberschuss von Kupferoxydaufschwemmung in einem Erlenmeyerkolben 5 Minuten lang gekocht. Hierauf wurde abfiltriert, mit warmem Wasser nachgewaschen und die so erhaltene Kupfersalzlösung in einer Porzellanschale zur fraktionierten Kristallisation eingeengt. Von den so gewonnenen Kupfersalzen wurden dann bestimmte, bei 100^o getrocknete Mengen in einem Porzellantiegel bis zur Gewichtskonstanz verascht, und aus der jeweiligen Gewichts-differenz der Kupfergehalt berechnet. Ausserdem wurde das optische Verhalten der einzelnen Fraktionen untersucht.

II. F r a k t i o n .

Die Verseifung wurde bei der I. Fraktion durch 5stündiges Kochen am Rückflusskühler mit der zehnfachen Menge Wasser vorgenommen. Die Lösung der freien Ester wurde dann im Vacuum zur Trockne eingedampft und wiederholt mit absolutem Alkohol

ausgekocht, um das vorhandene Prolin zu entfernen. Der alkoholische Auszug wurde mit dem entsprechenden aus der I. Fraktion vereinigt. Die weitere Verarbeitung der II. Fraktion erfolgte wie bei der ersten. Die in Alkohol unlöslichen Bestandteile wurden in Wasser gelöst und dann durch Eindampfen auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale und Auskristallisierenlassen in vier Fraktionen zerlegt. Von diesen wurden wiederum die Kupfersalze hergestellt, der Schmelzpunkt bestimmt und ihr optisches Verhalten untersucht.

Prolin-Bestimmung.

Das in den beiden ersten Fraktionen enthaltene Prolin war durch die Behandlung mit Alkohol entfernt worden. Die alkoholischen Auszüge, die das Prolin enthielten, wurden nunmehr vereinigt und unter vermindertem Druck bis zur beginnenden Kristallisation eingeeengt. Die kristallinen Bestandteile wurden abfiltriert, das Filtrat dann vollständig zur Trockne verdampft und wiederum in Alkohol gelöst. Dieser Prozess wurde so oft wiederholt, bis der gesamte Rückstand vollständig in Alkohol löslich war. Die unlöslichen Produkte wurden vereinigt, getrocknet und gewogen und darauf ihr Schmelzpunkt und optisches Verhalten bestimmt. Die alkoholische Lösung, die das ziemlich reine Prolin enthielt, wurde zur Trockne verdampft. Es blieb nun noch übrig, aus dem Prolin das l-Prolin vom dl-Prolin abzutrennen. Zu diesem Zweck wurde das Prolin mit Kupferoxydaufschwemmung gekocht, filtriert und das erhaltene Kupfersalz im Vakuum zur Trockne verdampft. Da l-Prolinkupfer in absolutem Alkohol leicht löslich ist im Gegensatz zu dem Kupfersalz des race-

mischen Prolins, so wurde der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgeköcht. Dabei ging ein Teil in Lösung, der von dem ungelöst gebliebenen Anteil abfiltriert wurde. Das ungelöste dl-Prolinkupfer wurde aus Wasser umkristallisiert, bei 120° getrocknet und sein Kupfergehalt bestimmt. Die alkoholische Lösung des l-Prolinkupfers wurde unter vermindertem Druck eingedampft und ergab einen sirupösen Rückstand.

III. F r a k t i o n.

Sie enthielt die Ester des Serins des Phenylalanins, der Asparagin- und Glutaminsäure. Zuerst wurde der Phenylalaninester abgetrennt. Zu diesem Zweck wurde das Estergemisch mit der fünffachen Menge Wasser versetzt, worauf eine milchige Trübung eintrat, die das Ausfallen des Phenylalaninesters anzeigte. Um diesen Estern nun zu isolieren, wurde das Gemisch mit Aether geschüttelt, dann in den Scheidetrichter gebracht und gewartet bis Schichtung eingetreten war. Da der Phenylalaninester in den Aether übergeht, so konnte er jetzt leicht mit der aetherischen Schicht abgetrennt werden. Um etwaig mitgelöste Ester der übrigen Aminosäuren, aus der aetherischen Lösung des Phenylalaninesters zu entfernen, wurde noch mehrmals mit dem gleichen Volumen Wasser nachgewaschen. Der Aether wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand durch wiederholtes Verdampfen mit rauchender Salzsäure verseift. Das so erhaltene salzsaure Phenylalanin wurde aus Salzsäure umkristallisiert.

Die wässrige Lösung der übrigen Aminosäureester wurde dann mit dem zum Ausziehen der aetherischen Lösung verwendeten Waschwässern vereinigt und durch Kochen mit frisch umkristallisiertem Baryt verseift. Die verseifte Lösung blieb 8 Tage lang stehen.

Wenn Asparaginsäure in grösseren Mengen vorhanden ist, so sieht man allmählich das Bariumsalz der racemischen Asparaginsäure auskristallisieren. Die ausgefallenen Kristalle, die aus Bariumhydroxyd und asparaginsaurem Baryt bestanden, wurden zunächst abfiltriert und durch Kochen mit Schwefelsäure versetzt. Aus der stark verdünnten Lösung wurde die Schwefelsäure dann wieder quantitativ durch Bariumhydroxyd entfernt. Das ausgefallene Bariumsulfat wurde abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Der Rückstand wog 0,8 g und wurde durch Analyse und Eigenschaften als Asparaginsäure identifiziert.

Aus der Mutterlauge des asparaginsauren Baryts wurde nun der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt. Das ausgefallene Bariumsulfat wurde abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck stark eingeeengt. Hierauf wurde gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Nachdem die Lösung 24 Stunden lang bei 0° gestanden hatte waren Spuren eines kristallinischen Niederschlages ausgefallen. Der ganze Prozess wurde mehrmals wiederholt, jedoch liess sich die Ausbeute an Glutaminsäurechlorhydrat nicht wesentlich verbessern, so dass von einem Umkristallisieren aus Salzsäure abgesehen werden musste.

Die Mutterlauge des Glutaminsäurechlorhydrats wurde hierauf unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde in Wasser wiederholt aufgenommen und eingedampft, um möglichst viel Salzsäure zu entfernen. Als dies geschehen war wurde er in Wasser gelöst und solange mit gelbem Bleioxyd gekocht, bis alle Salzsäure gebunden war. Hierauf wurde filtriert und aus dem Filtrat das gelöste Blei durch Schwefelwasserstoff ausgefällt. Das Filtrat vom Bleisulfid enthält Asparaginsäure und Serin. Durch Einengen gelang es, die Asparaginsäure zum Ausfallen zu bringen. Nachdem so deren Haupt-

menge gewonnen war, wurde die saure Lösung mit normal Natronlauge genau neutralisiert und wiederum eingeengt. Hierdurch wurde auch das Serin zum Auskristallisieren gebracht.

Die gesamte Ausbeute an Aminosäuren, die aus 100 g bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknetem, aschenfreiem Seidenfibroin gewonnen wurde, ist in nachfolgender Uebersicht zusammengestellt.

Glykokoll	30,5 g
Alanin	20,0 „
Serin	1,75 „
Leucin	1,2 „
Asparaginsäure	0,8 „
Phenylalanin	1,4 „
Tyrosin	10,0 „
Prolin	1,0 „
Glutaminsäure	in Spuren.

Die Identifizierung der einzelnen Spaltprodukte geschah in folgender Weise. Glykokoll war als Esterchlorhydrat gewonnen und nachgewiesen worden. Alanin wurde durch das Drehungsvermögen des salzsauren Salzes $[\alpha]_{20}^D = 9,2^\circ, 8,9^\circ, 9,8^\circ$ und $10,1^\circ$ und durch die Analyse bestimmt. Das Serin wurde ebenfalls analysiert. Phenylalanin wurde durch sein Chlorhydrat nachgewiesen. Vom Prolin wurde der Kupfergehalt des bei 120° getrockneten Kupfersalzes bestimmt und auch das Leucin wurde in Form seines Kupfersalzes identifiziert. Die Asparaginsäure wurde durch die Analyse und durch ihre Eigenschaften bestimmt.

Die Analysen ergaben:

Alanin:

0,1020 g Substanz gaben 0,1505 g CO₂ u. 0,0715 g H₂O
Berechnet für C₃ H₇ NO₂: 40,45 % C und 7,86% H
Gefunden für 40,24 % C und 7,79% H

Serin:

0,1592 g Substanz gaben 0,1994 g CO₂ und 0,0970 g H₂O
Berechnet für C₃ H₇ NO₃: 34,28% C und 6,66% H
Gefunden: 34,15% C und 6,76% H

Asparaginsäure:

0,3025 g Substanz gaben 0,3959 g CO₂ u. 0,1466 g H₂O
Berechnet für C₄ H₇ NO₄: 36,09% C und 5,26% H
Gefunden: 35,69% C und 5,39% H

U e b e r s i c h t

über die bis jetzt ausgeführten totalen Hydrolysen verschiedener Seidenarten.

Nach dieser Beschreibung der Untersuchungsmethode sollen nun kurz die übrigen bereits ausgeführten Hydrolysen erwähnt werden.

Bald nachdem Abderhalden auf die Bedeutung einer derartigen vergleichenden Untersuchung hingewiesen hatte und gleichzeitig zu deren Ausführung die Anregung gab, erschien als erster Beitrag eine totale Hydrolyse der New-Chwang-Seide (5). Die verwendete Seide stammt aus China und wird von einer nicht näher bekannten Seidenraupenart geliefert, die sich anscheinend von Eichenblättern nährt. Diese Seide stellt ein bestimmtes Handelsprodukt dar. Ihr Leimgehalt beträgt durchschnittlich 20%, ihr Wassergehalt 10% und ihr Gehalt an Asche 2%. Die Ausbeute an Aminosäuren ist in der am Schluss folgenden Tabelle wiedergegeben.

Die zweite totale Hydrolyse einer Seidenart wurde an einer südchinesischen Seide, der Canton-Seide ausgeführt (6).

An diese schloss sich die Untersuchung der Schantung-Tussah-Seide an (7). Diese zeigte, ebenso wie auch die an erster Stelle erwähnte New-Chwang-

Seide bei der totalen Hydrolyse mit kochenden starken Säuren einen ganz beträchtlichen Rückstand. Nach den Angaben von Abderhalden und Brahm scheint ein derartiges Verhalten allen sogenannten Tussah-Seiden eigentümlich zu sein und besonders denjenigen Arten, deren Erzeuger sich von Eichenlaub ernähren. Der Leimgehalt dieser Seide beträgt 20%, der Wassergehalt 9,2% und der Aschegehalt 0,56%.

Die nun folgende Untersuchung betraf die Nietngö-tsam Seide (8) einer chinesischen Art, die von einer Raupenart geliefert wird, die sich von Maulbeerblättern nährt. Die Untersuchung wurde an den Cocons ausgeführt. Der Leimgehalt wurde gleich 25 Prozent gefunden, der Wassergehalt gleich 1,1% und der Aschegehalt gleich 1,2%.

Eine weitere Tussah-Seide, sogenannte Grège-Tussah aus Indien wurde von Emil Abderhalden und Wladimir Spack untersucht (9). Ihr Leimgehalt betrug 16%, ihr Wassergehalt 5,7% und ihr Aschegehalt 1,6%. Da auch bei dieser Art die Hydrolyse mit kochender Säure einen erheblichen Rückstand ergab, so wurde die Seide mit kalter 70%iger Schwefelsäure übergossen und erst nach acht Tagen die Lösung soweit verdünnt, dass ihr Säuregehalt 25% betrug. Darauf wurde 20 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Der Rückstand betrug dabei nur noch $\frac{1}{3}$ des bei der sonstigen Methode erhaltenen.

Der Leim der bereits oben erwähnten Canton-Seide wurde von E. Abderhalden und Worms der totalen Hydrolyse unterworfen (10). Er enthielt 8,64 Prozent Wasser und 1,93% Asche.

E. Abderhalden und Julius Schmid (11) untersuchten eine andere chinesische Seidenart: „Tsai-Tsao-Tsam“ genannt. Sie fanden den Leimgehalt gleich 15%, den Wassergehalt gleich 4,8% und den Aschegehalt gleich 0,43%.

Ebenso untersuchte E. Aberhalden und Ernst Welde eine „Chefoo“-Seide (12) und bestimmten deren Leimgehalt als 15%, den Wassergehalt 6,0% und den Aschegehalt als 1,5%.

	Seiden- fibroin.	Canton- Seide.	Bengal- Seide.	Grège Tussah Inde	Schan- tung Tussah- Seide.	New- Chwang Seide.	Chefoo- Seide.
Glykokoll	36,0	37,5	30,5	9,5	14,5	19,7	12,5
Alanin	21,0	23,5	20,0	24,0	22,0	23,8	18,0
Serin	1,6	1,5	1,75	2,0	1,8	1,0	1,0
Leucin	1,5	1,5	1,2	1,5	1,0	1,6	1,2
Asparaginsäure	vorh.	0,75	0,8	2,5	1,0	2,9	2,0
Phenylalanin	1,5	1,6	1,4	0,6	1,0	1,2	1,0
Tyrosin	10,5	9,8	10,0	9,2	9,7	9,8	8,5
Prolin	vorh.	1,0	1,0	1,0	2,5	1,85	2,5
Glutaminsäure	—	—	vorh.	1,0	1,75	1,7	2,0
Histidin	vorh.	—	—	—	—	—	—
Lysin	vorh.	—	—	—	—	—	—
Arginin	1,0	—	—	—	—	—	—

	Cocons der ital. Seiden- raupe.	Niet ngötsam Seide.	Coc. ns d. japan. Seide Haruko	Tsei- Tsoo- Tsam- Seide.	Leim der Canton Seide.	Gelatine
Glykokoll	33,5	24,0	35,0	25,2	1,2	16,5
Alanin	20,0	18,5	22,6	18,2	9,2	0,8
Serin	1,9	1,5	0,7	1,2	5,8	0,4
Leucin	0,75	1,2	0,7	0,9	5,0	2,1
Asparaginsäure	1,0	2,0	1,0	2,1	2,5	0,56
Phenylalanin	1,2	1,0	1,3	1,0	0,6	0,4
Tyrosin	9,0	7,8	9,7	7,8	2,3	—
Prolin	0,8	1,2	0,7	1,0	2,5	5,2
Glutaminsäure	0,25	3,0	0,07	2,0	2,0	0,88
Histidin	—	—	—	—	—	—
Lysin	—	—	—	—	—	—
Valin	—	—	—	—	—	1,0
Arginin	—	—	—	—	—	—

Eine weiterhin ausgeführte Untersuchung betraf die Cocons der italienischen Seidenraupe (13). Der Leimgehalt betrug 28%, der Aschegehalt 1,9%.

Die letzte Untersuchung wurde von E. Abderhalden und Akikazu Suwa (14) ausgeführt an den Cocons einer aus der Provinz Miken in Japan stammenden Seidenart. Der Leimgehalt betrug 18%, der Aschegehalt 0,4%.

Die Ergebnisse aller dieser Untersuchungen sind in den vorstehenden Tabellen zusammengestellt. Die angeführten Zahlen geben den Gehalt an Aminosäuren für 100 g wasser- und aschefreier Substanz an.

Z u s a m m e n f a s s u n g.

Aus diesen Tabellen sieht man nun, dass auf Grund der durch die totale Hydrolyse erhaltenen Resultate zwei grosse Gruppen von Seidenarten unterschieden werden können, die insofern eine grosse Aehnlichkeit haben, als beide dieselben Aminosäuren als Bausteine besitzen. Die erste Gruppe wird von den künstlich gezüchteten Seidenarten gebildet, die alle durch einen hohen Gehalt an Glykokoll ausgezeichnet sind. Im Gegensatz zu diesen stehen die wilden Seiden, die als Tussah-Arten zu einer zweiten Gruppe zusammengefasst werden können. Die Vertreter dieser Gruppe enthalten weit weniger Glykokoll und weichen auch hinsichtlich ihres physikalischen Verhaltens von denjenigen der ersten Gruppe ab.

Zum Schluss soll noch erwähnt werden, dass der Seidenleim eine ganz andere Zusammensetzung besitzt als die Gelatine, deren Gehalt an Aminosäuren durch Fischer, Levene und Aders bestimmt worden ist. (15).

Literatur.

1. Emil Abderhalden. Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der speziellen Eiweisschemie 1909.
2. Emil Fischer. Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine 1899—1906. p. 654.
3. Emil Fischer. Ueber Spinnenseide, Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. 53 p. 126.
4. Emil Abderhalden. Die Monoaminosäuren des Byssus von *Pinna nobilis*. Z. f. ph. Ch. Bd. 55 p. 236.
5. Emil Abderhalden und Auguste Rilliet. Die Monoaminosäuren der „New-chwang“-Seide. Z. f. ph. Ch. Bd. 58 p. 337.
6. Emil Abderhalden und Lotte Behrend. Die Monoaminosäuren aus Canton-Seide. Z. f. ph. Ch. Bd. 59 p. 236.
7. Emil Abderhalden und Carl Brahm. Die Monoaminosäuren aus Schantung-Tussah-Seide, Z. f. ph. Ch. Bd. 61 p. 256.
8. Emil Abderhalden und Alessandro Brossa. Die Monoaminosäuren aus „Niet-ngò-tsam-Seide“. Z. f. ph. Ch. Bd. 62 p. 129.
9. Emil Abderhalden und Wladimir Spack. Die Monoaminosäuren aus Indischer Tussah. Z. f. ph. Ch. Bd. 62 p. 131.
10. Emil Abderhalden und Worms. Die Monoaminosäure aus dem Leim der Canton-Seide. Z. f. ph. Ch. Bd. 62 p. 142.
11. Emil Abderhalden und Julius Schmid. Die Monoaminosäuren aus „Tai-Tsao-Tsam-Seide“. Z. f. ph. Ch. Bd. 64 p. 460.
12. Emil Abderhalden und Ernst Welde. Die Monoaminosäuren aus „Chefoo-Seide“. Z. f. ph. Ch. Bd. 64 p. 462.
13. Emil Abderhalden und Georg Roose. Die Monoaminosäuren der Cocons der italienischen Seidenraupe. Z. f. ph. Ch. Bd. 68 p. 273.
14. Emil Abderhalden und Akikazu Suwa. Die Monoaminosäuren der Cocons aus der japanischen Seide „Haruko“ Z. f. ph. Ch. Bd. 68 p. 275.
15. Emil Fischer, P. A. Levene und R. H. Aders. Ueber die Hydrolyse des Leims. Z. f. ph. Ch. Bd. 35 p. 70.

1. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1891, Ber. d. D. Chem. Ges., 18, 103-104.
2. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1892, Ber. d. D. Chem. Ges., 19, 103-104.
3. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1893, Ber. d. D. Chem. Ges., 20, 103-104.
4. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1894, Ber. d. D. Chem. Ges., 21, 103-104.
5. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1895, Ber. d. D. Chem. Ges., 22, 103-104.
6. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1896, Ber. d. D. Chem. Ges., 23, 103-104.
7. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1897, Ber. d. D. Chem. Ges., 24, 103-104.
8. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1898, Ber. d. D. Chem. Ges., 25, 103-104.
9. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1899, Ber. d. D. Chem. Ges., 26, 103-104.
10. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1900, Ber. d. D. Chem. Ges., 27, 103-104.
11. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1901, Ber. d. D. Chem. Ges., 28, 103-104.
12. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1902, Ber. d. D. Chem. Ges., 29, 103-104.
13. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1903, Ber. d. D. Chem. Ges., 30, 103-104.
14. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1904, Ber. d. D. Chem. Ges., 31, 103-104.
15. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1905, Ber. d. D. Chem. Ges., 32, 103-104.
16. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1906, Ber. d. D. Chem. Ges., 33, 103-104.
17. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1907, Ber. d. D. Chem. Ges., 34, 103-104.
18. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1908, Ber. d. D. Chem. Ges., 35, 103-104.
19. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1909, Ber. d. D. Chem. Ges., 36, 103-104.
20. Emil Fischer, Ueber die Constitution der Zucker-
1910, Ber. d. D. Chem. Ges., 37, 103-104.

Lebenslauf.

Ich James, Fritz, Theo Sington wurde am 25. Oktober 1886 in Leipzig, Königreich Sachsen, geboren als Sohn des Sprachlehrers William Sington und seiner Ehefrau Clara geborene von Arenstorff. Von 1893 bis 1896 besuchte ich die Volksschule zu Heidelberg, worauf ich dann in die dortige Oberrealschule eintrat. Hier erlangte ich 1902 die Berechtigung zum Einjährig-Freiwilligen Dienst und bestand im Jahre 1905 die Reifeprüfung. Im Anschluss an diese legte ich am Realgymnasium zu Mannheim die Ergänzungsprüfung in Latein ab. Mein Vater starb 1898 während eines Aufenthaltes in Berlin. Meine Mutter erwarb daher die badische Staatsangehörigkeit und ermöglichte mir damit den Eintritt in das deutsche Heer. Nachdem ich von der Inspektion des Militär-Veterinär-Wesens als Veterinär-Aspirant angenommen worden war, trat ich als Einjährig-Freiwilliger in das erste Garde-Feldartillerie-Regiment in Berlin ein. Am 1. April 1906 trat ich von dort das Kommando zu der Militär-Lehrschmiede Berlin an und wurde am 1. Oktober 1906 als Studierender von der Königlichen Militär-Veterinär-Akademie übernommen. Von hier aus besuchte ich die Vorlesungen der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin und bestand nach drei Semestern am 1. Mai 1908 die naturwissenschaftliche Vorprüfung. Bis zum Jahre 1910 absolvierte ich dann die zur tierärztlichen Fachprüfung erforderlichen weiteren vier Semester und erlangte dann die Approbation als Tierarzt. Am 29. Juli 1910 wurde ich zum Unterveterinär an der Königl. Militär-Veterinär-Akademie befördert.

Lebenslauf

1870 James Esler, Theobaldus wurde am 22. Oktober 1870
in Leipzig geboren. Seine Eltern sind als Sohn des
Herrn Wilhelm Esler und seiner Ehefrau Clara geboren
von Ansbach. Von 1873 bis 1883 besuchte er die Volksschule
sowie in Theobaldus, wozu ich dann in die dortige Ober-
realschule eintrat. Hier erlangte ich 1885 die Berechtigung
zum Höheren Lehrerbienstand und bestand im Jahre 1887
die Kolonialprüfung im Ansbach an diese Jahre ist im Kon-
gremium ein Abschied als Lehrungsprüfung in Ansbach
im Jahre 1888 wurde während eines Aufenthaltes in Berlin
meine Mutter erkrankte daher die deutsche Staatsangehörigkeit
und erschiedliche Art durch den Tod in der deutschen Literatur
Mittelpunkt ist von der Geschichte der Mittel-Vorder-Asien
als Lehrungsprüfung angenommen worden war, was ich im
Einführungsbuch in das erste Lehrerbienstandsbüchlein
in Berlin im Jahr 1888 hat ich von der Kom-
mission in der Mittel-Vorder-Asien wurde er und wurde im
1. Oktober 1888 ein Lehrer an der Höheren Lehr-
Anstalt in Ansbach. Von hier aus besuchte ich
die Vorlesungen der Theologischen Fakultät in Ansbach und
bestand nach drei Semestern am 1. Mai 1890 die theologische
erfolgreich. Im Jahr 1890 erkrankte ich
dann die zur notwendigen Fachprüfung erforderlichen weichen
hierhin und erlangte nach der Approbation die Theologie.
Am 22. Juli 1892 wurde ich zum Lehrbeauftragten an der Königl.
Höheren Lehr-Anstalt in Ansbach.



846000000569044

Inhaltsverzeichnis

Das Buch ist in drei Teile gegliedert. Der erste Teil (S. 1-100) enthält die Geschichte der Freie Universität Berlin von ihrer Gründung im Jahre 1810 bis zur Gegenwart. Der zweite Teil (S. 101-200) behandelt die Organisation der Universität, die verschiedenen Fakultäten und die verschiedenen Institute. Der dritte Teil (S. 201-300) enthält die Verfassung der Universität, die Rechte und Pflichten der verschiedenen Organe.

