

Das Vorkommen von δ -Hydroxylysin in Extrakten des japanischen Tausendfüßlers (*Scolopendra subspinipes* Leach)

Papierchromatographische Trennung der freien Aminosäuren und Isolierung von δ -Hydroxylysin

Von

Tsuneo Tomita

Aus dem Chemischen Laboratorium der Mukogawa-Frauen-Universität,
Nishinomiya, Japan

(Der Schriftleitung zugegangen am 27. November 1961)

In Ost- und Südasien werden Extrakte aus Tausendfüßlern schon seit langer Zeit als Stärkungsmittel oder als schmerzstillendes Mittel bei Insektenstichen und Verbrennungen verwendet. Im Hinblick auf eine Aufklärung des physiologisch wirksamen Prinzips ist eine analytische Untersuchung dieser Extrakte von Interesse, wobei wir unsere Aufmerksamkeit besonders den N-haltigen Extraktivstoffen zuwendeten. Daher wurden die in wäßr. und alkohol. Extrakten des japanischen Tausendfüßlers enthaltenden freien Aminosäuren durch Chromatographie untersucht. Neben Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Phenylalanin, Serin, Taurin und Glutaminsäure wurden die basischen Aminosäuren Histidin, Ornithin, Arginin, Lysin und δ -Hydroxylysin papierchromatographisch charakterisiert. δ -Hydroxylysin konnte als Dipikrolonat aus der Lysinfraktion des alkohol. Extraktes kristallisiert und durch Mischschmelzpunkt identifiziert werden. Das Vorkommen von δ -Hydroxylysin in den Extrakten des japanischen Tausendfüßlers ist von besonderem Interesse, da es auch in den ebenfalls schon lange als Stärkungsmittel verwendeten japanischen Giftschlangen (*Agkistrodon Blomhoffi*) vorkommt¹.

Beschreibung der Versuche

1500 Stück in Mitteljapan gefangene Tausendfüßler (*Scolopendra subspinipes* Leach) wurden mit Methanol übergossen, schnell mit der IR-Lampe getrocknet, gemahlen und dann mit Benzol und Äther entfettet.

A. Untersuchung des wäßr. Extrakts

200 g getrocknete und entfettete Substanz wurden mit Aceton/Eisessig/Wasser 40:2:10 und anschließend mit Salzsäure-Aceton-Lösung (400 ml Aceton und 5 ml 2n HCl) behandelt. Die so entfärbte Substanz wurde mit heißem Wasser extrahiert und der wäßr. Auszug durch Tannin-Blei-Fällung enteiweißt. Aus dem Extrakt wurde durch Zusatz von Schwefelsäure das überschüssige Blei und anschließend mit Amberlite IR-4B (OH^o) die Schwefelsäure entfernt. Die Lösung wurde auf pH 7,0 eingestellt und auf eine Säule von Amberlite IRC-50 (pH 4,7) gegeben². Die nichtbasischen Aminosäuren wurden mit Wasser aus der Säule gewaschen und eingeengt (Frakt. I). Dann wurde die Säule mit 0,1n HCl eluiert. Das Eluat wurde mit 10proz. Natronlauge neutralisiert und an Amberlite IRC-50 (pH 7,0) chromatographiert. Mit Wasser wird das Histidin aus der Säule gewaschen (Frakt. II). Die übrigen Aminosäuren wurden mit 0,1n HCl eluiert, dann das Eluat mit verd. Natronlauge auf pH 10,0 eingestellt und auf Amberlite IRC-50

¹ T. Tomita, diese Z. **304**, 72 [1956].

² J. C. Winters u. R. Kunin, Ind. Eng. Chem. **41**, 460 [1949].

(pH 10,0) Lysin abgetrennt (Frakt. III). Schließlich wurde die Säule mit 0,1*n* HCl gewaschen und anschließend noch mit Wasser nachgewaschen (Frakt. IV).

Die in Frakt. I—IV enthaltenen Verbindungen wurden papierchromatographisch identifiziert (vgl. Tab. 1).

B. Untersuchung des Methanolextrakts

Der Methanolextrakt aus 300 g entfetteter Substanz wurde zu einem Sirup eingengt. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und ebenso wie der wäbr. Extrakt fraktioniert². Die so erhaltenen Frakt. I—IV wurden mit Lösungsmittel A, B, C und D papierchromatographiert. Zur Kontrolle wurde die Lysin-Fraktion (Frakt. III) auch mit den Lösungsmitteln E, F und G untersucht. Im Methanolextrakt wurde außer den im wäbr. Extrakt nachgewiesenen Aminosäuren auch δ -Hydroxylysin gefunden (Tab. 2).

Tab. 1. Papierchromatographie der einzelnen Fraktionen.

Frakt.	Lösungsm.*	Vers.-Bed.	R _F -Wert	Identifiziert als
I	A	18 Stdn. 20 ⁰	0,76	Leucin
			0,50	Valin
			0,36	Alanin
			0,27	Glutaminsäure
	B	22 Stdn. 20 ⁰	0,80	Phenylalanin
			0,31	Serin
C	23 Stdn. 20 ⁰	0,27	Taurin	
		0,11	Glycin	
II	A	16 Stdn. 20 ⁰	0,10	Histidin
	B	25 Stdn. 20 ⁰	0,72	Histidin
III	A	23 Stdn. 15 ⁰	0,08	Lysin
IV	A	20 Stdn. 20 ⁰	0,11	Arginin
			0,06	Ornithin
	D	15 Stdn. 25 ⁰	0,24	Arginin
			0,15	Ornithin

* Lösungsmittel:

A = Butanol-(2)/Ameisensäure/Wasser 15:3:2;

B = Phenol/0,1proz. Ammoniak 3:1;

C = Lutidin/Kollidin/Wasser 1:1:1;

D = Methyläthylketon/Propionsäure/Wasser 15:5:6

Tab. 2. Papierchromatographie der Lysin-Fraktion des alkohol. Extrakts.

Frakt.	Lösungsm.*	Vers.-Bed.	R _F -Wert	Identifiziert als
III	A	23 Stdn. 15 ⁰	0,08	Lysin
			0,05	δ -Hydroxylysin
	E	20 Stdn. 20 ⁰	0,05	Lysin
			0,03	δ -Hydroxylysin
	F	43 Stdn. 15 ⁰	0,03	δ -Hydroxylysin
	G	18 Stdn. 30 ⁰	0,38	δ -Hydroxylysin

* Lösungsmittel:

E = Butanol-(1)/Eisessig/Wasser 4:1:2;

F = *m*-Kresol (wassergesätt.);

G = Phenol/Wasser 5:1.

Nach Zusatz von alkohol. Pikrolonsäurelösung zum Konzentrat der Lysin-Fraktion (Frakt. III) schied sich ein kristalliner Niederschlag ab, der nach dem Umkristallisieren aus Wasser bei 155° schmolz.

Die so erhaltene Substanzmenge war für eine Identifizierung zu gering, doch der Mischschmelzpunkt mit δ -Hydroxylysin-dipikrolonat zeigt keine Depression.

Frl. Kiyoko Koyama sei für ihre Hilfe bei der Ausführung der Versuche gedankt.

Zusammenfassung

Aus dem Methanolextrakt des japanischen Tausendfüßlers (*Scolopendra subspinipes* Leach) wurde δ -Hydroxylysin isoliert.

Daneben wurden ebenso wie im wäßr. Extrakt Histidin, Arginin, Ornithin, Lysin, Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Phenylalanin, Serin, Taurin und Glutaminsäure papierchromatographisch nachgewiesen.

Summary

δ -Hydroxylysine was isolated from methanol extracts of the Japanese centipede, *Scolopendra subspinipes* Leach.

Aqueous and alcoholic extracts also contained histidine, arginine, ornithine, lysine, glycine, alanine, valine, leucine, phenylalanine, serine, taurine and glutamic acid (paper chromatography).

Dr. Tsuneo Tomita, Kurakuen-161, Nishinomiya, Hyogo, Japan.