

Zur Kenntniss der Jodirungsproducte der Albuminstoffe. III.

Von

C. H. L. Schmidt.

Der Redaction zugegangen am 17. Januar 1903.

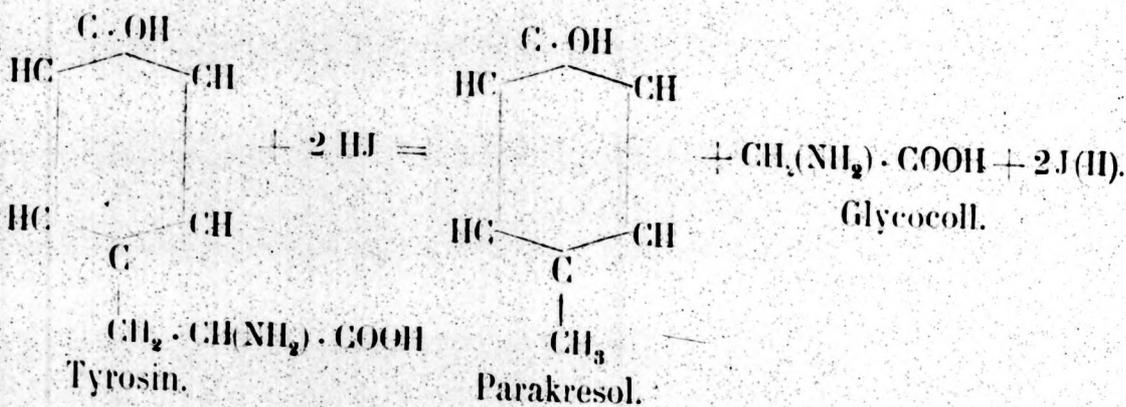
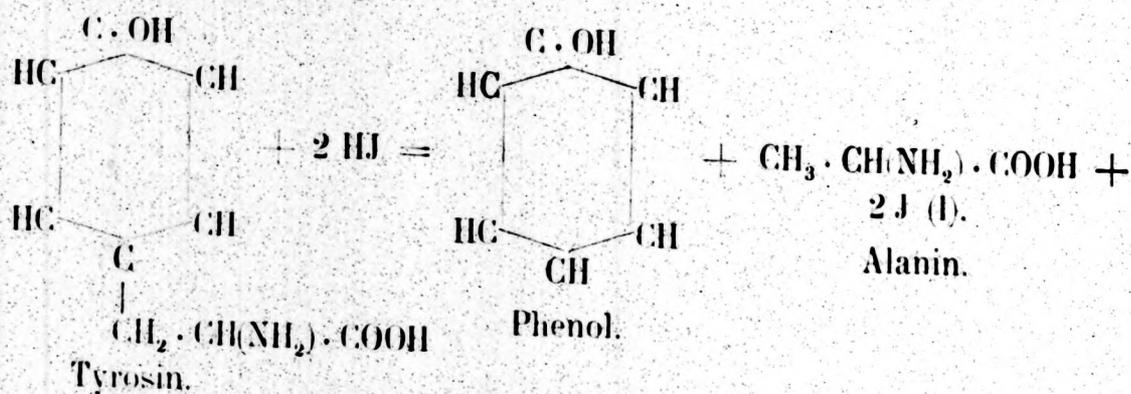
Im XXXVI. Bande dieser Zeitschrift untersuchte ich die durch Einwirkung von Jod auf Albuminstoffe entstehenden Spaltungsproducte, insbesondere die Jodirungsproducte des aliphatischen Theils des Tyrosins: die folgenden Versuche sollen über das Schicksal des aromatischen Theils des Tyrosins, eventuell über anderweitige, nach Erschöpfung des Tyrosins oder zugleich mit demselben auftretende Abbauproducte des Eiweissmoleküls Aufklärung geben. Als Ausgangsmaterial dienten 35 g Albumin aus Eigelb, von denen 10 g. bereits mehrfach mit Jod behandelt, aus der vorigen Arbeit (S. 375 ff.) übernommen wurden. Die Reaction verlief unter denselben Temperaturbedingungen wie früher; ferner wurden, zur Vermeidung zu intensiver Reductionswirkung seitens der entstehenden Jodwasserstoffsäure, zu Beginn jeder Jodirung zu der jedesmaligen Eiweiss suspension (500 cem) je 2 cem einer 2%igen Jodsäurelösung hinzugefügt; hierdurch musste nicht nur ein Theil der freien Jodwasserstoffsäure, sondern auch die etwa entstehende Ameisensäure oxydirt werden. Nach 24-stündiger Jodeinwirkung kühlte ich die jeweilige Reactionsflüssigkeit ab, von der entstehenden Trübung wurde abfiltrirt, dann durch Schütteln mit Quecksilber das freie Jod eliminirt, ferner der grösste Theil des Jodoforms: das Filtrat vom Quecksilberjodür zeigte, namentlich zu Beginn der Jodeinwirkung, also nachdem neue Eiweissmengen der Reaction unterworfen waren, einen erheblichen Gehalt an Quecksilberjodid, entstanden durch Einwirkung von Alkalijodid (dieses bildete sich aus dem das Eiweiss verunreinigenden Alkalicarbonat) auf Quecksilberjodür; das Hg wurde durch Schwefelwasserstoff als anfangs gelb, dann braun, dann schwarz erscheinendes HgS ausgefällt, filtrirt, dann durch Zu-

satz von Silbernitratlösung, H_2S und HJ als Schwefelsilber und Jodsilber entfernt. Im weiteren Verlauf der Jodirung war jedoch Quecksilber in dem Filtrat vom Jodür nicht nachweisbar; dann versetzte ich das letztere zur Eliminirung von durch Jodsäure noch nicht oxydirter HJ und von NH_4J mit dünner Silbernitratlösung so lange, bis eine entnommene Probe auf Zusatz von Kaliumchromat schwache, aber deutliche Rothfärbung zeigte: überschüssiges Silber wurde durch Kochsalzlösung ausgefällt, die Flüssigkeit stark geschüttelt und filtrirt; das Filtrat war jod- und HJ -frei, enthielt nur selten Spuren von Jodoform (Rothviolettffärbung einer mit Zinkstaub reducirten Probe nach Zusatz von Stärke und HNO_2 , keine Färbung auf Zusatz von Stärke und HNO_2 allein), sodann kleine Mengen von Kochsalz, $NaNO_3$ und dem $NH_4 \cdot J$ entsprechende Mengen von $NH_4 \cdot NO_3$; Biuretreaction war negativ. Die Jodirung wurde so lange fortgesetzt, bis ich von dem soeben beschriebenen, deutlich sauer reagirenden Filtrat 20 Liter gesammelt hatte: nach Uebersättigung mit Na_2CO_3 folgte Eindampfen im Vacuumapparat auf 2 Liter, das Destillat (ca. 18 Liter) wurde mit Aetzkali stark alkalisirt und als D_1 vorläufig beiseite gestellt; der zugehörige Rückstand R_1 mit Schwefelsäure angesäuert und abermals unter vermindertem Druck auf 1 Liter eingeengt; so ergibt sich das Destillat D_2 (1 Liter) und der Rückstand R_2 (1 Liter). Von R_2 wird noch der vierte Theil über freier Flamme abdestillirt: D_3 und R_3 bezeichnen in diesem Falle Destillat und Rückstand. R_3 extrahire ich 3 Mal mit Aether, sammle die Aetherextracte und dunste nach Reinigung mit Natriumcarbonatlösung auf dem Wasserbade ab; der spärliche Aetherrückstand, zum Theil aus einer braunen Harzmasse bestehend (Paranitrophenol?), scheidet keine Krystalle ab, auch nicht aus wässriger Lösung, gibt, in Wasser gelöst, weder mit Silbernitrat und Ammoniak noch mit Eisenchlorid Reactionen auf Brenzkatechin, auf Zusatz von Bromwasser jedoch deutliche Trübung, die mikroskopisch zum Theil amorph, zum Theil krystallinisch erscheint: feine, vielfach verzweigte kurze Nadeln, etwas stärker als Tribromphenolkrystalle und unlöslich in Ammoniak. Nun wird D_3 mehrmals mit Aether ausgeschüttelt,

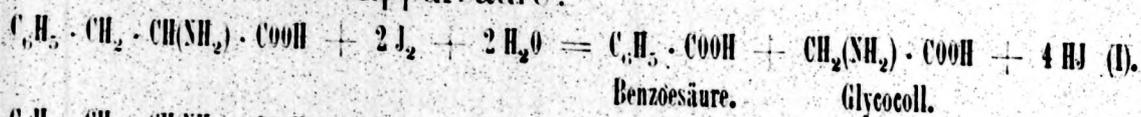
der Aether nach Auswaschen mit Natriumcarbonatlösung abdestillirt; der Aetherrückstand färbt sich schwachroth mit Millon's Reagens, reagirt aber nicht mit Bromwasser. D_2 wird nach Ebersättigung mit Na_2CO_3 über freier Flamme auf $\frac{3}{4}$ seines Volumens abdestillirt, das Destillat mit D_1 vereinigt; der zugehörige Rückstand jedoch stark eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert und mehrmals mit Aether ausgeschüttelt, der Aether verdunstet; als Rückstand bleibt eine ziemlich reichliche Krystallmasse, ferner Essigsäure. Letztere wird durch Digeriren auf dem Wasserbade entfernt; der Rückstand mehrmals mit heissem Wasser umkrystallisirt, das mikroskopische Bild zeigt durchweg langgestreckte, dünne, farblose Tafeln von rechteckiger Form und folgender Eigenschaft: Kocht man die Krystalle mit etwas starker Salpetersäure stark ein und erhitzt noch weiter, so macht sich intensiver Geruch nach Nitrobenzol bemerkbar: bei der Destillation des mit Schwefelsäure angesäuerten R_1 (unter vermindertem Druck) waren also hauptsächlich Benzoessäure und Essigsäure übergegangen, ein braunes Oel nicht nachweisbar. Die zur Entsäuerung der Aetherextracte verwendete Natriumcarbonatlösung wird wiederum mit Schwefelsäure angesäuert, mehrmals mit Aether ausgeschüttelt, der stark braun gefärbte Aether abdestillirt (nach Beendigung dieser Operation scheiden sich Krystalle ab, die mit den Krystallformen der Hippursäure völlig übereinstimmen), der Rückstand zur Entfernung der Essigsäure auf dem Wasserbade digerirt, mit Natriumcarbonat schwach alkalisirt und im Wasserbade zum Syrup verdampft. Diesen Syrup extrahirt man mit Alkohol, entfernt dann den Alkohol durch Verdampfen und mischt mit Salzsäure; sofort scheidet sich ein schwarzbraunes Oel ab (Gemenge von o- und p-Nitrophenol) in kleinen Tröpfchen, die gesammelt und mit kaltem Wasser gewaschen werden: charakteristischer Geruch nach Nitrophenol (die Menge ist zur Destillation, Reduction, Diazotirung, Schmelzpunktbestimmung etc. zu gering). Die salzsaure Lösung extrahire ich wiederholt mit Essigäther, wasche die abgegossenen Essigätherlösungen mit kleinen Mengen Wasser, verdunste den Essigäther und erschöpfe den Rückstand mit Petroläther. Nach genügend langer Einwirkung wird

der Petroläther abgegossen, er lässt ungelöst Krystalle von der Form der Hippursäurekrystalle: dieselben werden mehrmals aus heissem Wasser umkrystallisirt (es resultiren stets dieselben charakteristischen Krystallformen) und gesammelt: beim Erhitzen tritt unter Verkohlung der bekannte bittermandelöl-ähnliche Geruch nach Benzonnitril auf. Der Petrolätherrückstand lässt wiederum Krystalle der Benzoesäure erkennen, die beim Erhitzen mit Salpetersäure (nach dem Eindampfen) intensiven Nitrobenzolgeruch geben. Zum Schluss wird das stark alkalisirte Destillat D_1 zum Theil wieder destillirt, zum Theil eingedampft auf $\frac{1}{4}$ Liter (hierbei entweicht eine angenehm esterartig riechende Verbindung, die sich durch Ausschütteln des Destillats mit Ligroin sammeln lässt, jedoch keine Indolreaction gibt), mit Schwefelsäure angesäuert und mehrmals mit Aether ausgeschüttelt, der Aetherrückstand mit wenig Wasser aufgenommen und zu folgenden Reactionen verwendet: eine Probe färbt sich mit Millon's Reagens deutlich, wenn auch schwach roth, eine zweite Probe mit Eisenchlorid violettblau, eine dritte Probe gibt mit Bromwasser nach längerem Stehen deutliches Sediment, das zum grössten Theil aus haarfeinen Nadeln (Tribromphenol) und zum geringeren Theil aus feinen Blättchen besteht (Tribromkresolbrom); die Menge war so gering, dass nur mikroskopisch eine Wahrscheinlichkeitsanalyse möglich war. Der grösste Theil der Phenole war also durch Einwirkung der Salpetersäure in ein zum Theil mit Wasserdämpfen flüchtiges, in Alkohol, Aether, heissem Wasser, Alkalicarbonat leicht lösliches, aus Alkalicarbonat durch Salzsäure leicht wieder abscheidbares, schweres, schwarzbraunes Oel von dem bekannten aromatischen Geruch des Nitrophenols (Gemenge von o- und p-Nitrophenol) verwandelt worden. Bei der weiteren Einwirkung von Jod auf «Albumin aus Eigelb» (unter partieller Ausschaltung der freien HJ durch H_2O_3) entsteht also hauptsächlich Phenol, daneben Parakresol als Spaltungsproducte des Tyrosins, ferner Benzoesäure und Hippursäure. Die letzteren beiden sind als durch Oxydation eines weiteren Abbauproductes des Eiweissmoleküls, und zwar des Phenylalanins entstanden aufzufassen. Die Zersetzung des Tyrosins durch Jod, bei nicht völliger Ab-

wesenheit von freier Jodwasserstoffsäure, verläuft demnach in zwiefacher Richtung:



Während die Entstehung von Phenol und Parakresol der reducirenden und spaltenden Wirkung der HJ zuzuschreiben ist, müssen wir uns die Zersetzung des Phenylalanins als reine Oxydationswirkung vorstellen; dabei entsteht zum Theil Benzoesäure, zum Theil Hippursäure:



Bezüglich der Genese der Hippursäure bleibt die Frage zu erörtern, ob unter den obwaltenden Versuchsbedingungen dieselbe aus ihren Componenten Benzoesäure und Glycocoll (ähnlich der Einwirkung einer Temperatur von 160° auf die letzteren) entstehen kann. Solange die Jodwasserstoffsäure nicht vollständig eliminirt wird, bleibt im Allgemeinen die Wirkung des Jods eine doppelte, und zwar 1. reducirend und spaltend, 2. oxydirend entweder durch directe Wasserstoffentziehung oder indem aus Wasser freie Hydroxyle entstehen, diese sich zu H₂O₂ polymerisiren und H₂O₂ nach der Gleichung 2 H₂O₂ = 2 H₂O + O₂ zerfällt.