

Über einige Pikrylverbindungen von Spaltungsprodukten der Proteine.

Von

Dr. K. Hirayama.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Heidelberg.)

Der Redaktion zugegangen am 23. März 1909.)

Die Erfahrung, daß die Pikrate der basischen Proteinkomponenten als gut krystallisierende, schwer lösliche Salze bei der Aufteilung der Spaltungsgemische gute Dienste geleistet haben, hat zu der Untersuchung einer Reihe von Pikrylverbindungen Veranlassung gegeben, welche ich auf Veranlassung des Herrn Professor A. Kossel unternommen habe. Einzelne derselben können zur Charakterisierung der Spaltungsprodukte Verwendung finden.

I. Pikrylglykokoll. $(\text{NO}_2)_3\text{C}_6\text{H}_2-\text{NH}-\text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$. Das Glykokoll wird in Wasser unter Zusatz der äquivalenten Menge Normalalkalilösung gelöst und mit der molekularen Menge Pikrylchlorid, welches in Toluol gelöst ist, zwei Stunden lang im Schüttelapparat geschüttelt. Man trennt von der Toluolschicht ab, filtriert nötigenfalls, säuert mit Salzsäure an und versetzt mit weiteren Mengen Salzsäure, solange sich noch eine Vermehrung der gelblichen Trübung bemerken läßt. Beim Stehen scheidet sich allmählich eine gelbbraune, ölige Masse ab, welche allmählich zu gelben Nadeln erstarrt. Aus heißem Wasser umkrystallisiert, bilden dieselben eine in Äther sowie in wässriger Natronlauge leicht lösliche Masse.

Die Löslichkeit in 96%igem Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur beträgt etwa 36,42 Teile Pikrylglykokoll in 1000 Volumteilen, die Löslichkeit in Wasser bei gewöhnlicher Temperatur 1,16 g Pikrylglykokoll in 1000 Teilen.

Die Stickstoffbestimmung ergab folgendes Resultat:

Gefunden:		Berechnet für $C_6H_3N_3O_4$:
I.	II.	
19,67 %.	19,69 %.	19,59 %.

Die Substanz schmilzt scharf bei 161°.

II. Pikryl- α -aminoisovaleriansäure. $(NO_2)_3C_6H_2-NH-C_4H_9 \cdot COOH$. α -Aminoisovaleriansäure wurde in Wasser gelöst, mit der äquivalenten Menge Natronlauge und der molekularen Menge des in Toluol gelösten Pikrylchlorids 3 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt. Die dunkel gefärbte, wässrige Schicht wurde jetzt vom Toluol getrennt, filtriert und mit Salzsäure angesäuert. Es schied sich ein rötliches Öl ab, welches allmählich zu hellgelben Nadeln erstarrte. Dieselben wurden aus wässrigem Alkohol umkrystallisiert: sie lösen sich leicht in Alkohol und Äther, ebenso in Natronlauge, hingegen löst ein Liter Wasser bei Zimmertemperatur nur 0,29 Teile der Pikrylverbindung. Die Stickstoffbestimmung (vol.) gab folgenden Wert:

Gefunden:	Berechnet für $C_{11}H_{12}O_8N_4$:
N 17,16 %.	17,08 %.

Die Substanz sintert bei 166° und schmilzt bei 171°.

III. Pikrylasparaginsäure. $(NO_2)_3C_6H_2-NH-C_2H_3 \cdot COOH$. Die Asparaginsäure wird unter Zusatz einer geringen Menge verdünnter Salzsäure in Wasser gelöst und mit der molekularen Menge des in Toluol gelösten Pikrylchlorids und so viel Natronlauge versetzt, daß die Lösung stark alkalisch war. Während des Schüttelns im Schüttelapparat sorgte ich durch nachträglichen Zusatz von Natronlauge dafür, daß die Flüssigkeit stets alkalisch blieb. Nach dreistündigem Schütteln wurde die Lösung von dem Toluol abgetrennt, filtriert und mit Salzsäure angesäuert. Es schied sich ein Öl ab, aus dem allmählich rhombische Blättchen auskrystallisierten.

Auch diese Verbindung löst sich sehr leicht in Äther, leicht in Alkohol, wenig in Wasser, wohl aber in Natronlauge. Zur Reinigung wurde der Körper in möglichst wenig heißem Alkohol gelöst und durch Zusatz von Wasser abgeschieden. Er fällt dann nach längerem Stehen erst ölig aus und dies Öl erstarrt später zu Krystallen. Diese Reinigung nahm ich zwei-

mal vor und erhielt dabei eine Substanz, welche bei der volumetrischen Stickstoffbestimmung folgende Werte ergab:

Gefunden:	Berechnet für $C_{10}H_7O_{10}N_4$:
16,57 %.	16,29 %.

Die Substanz schmilzt bei 137°.

IV. *Dipikrylarginin*. $[(NO_2)_3C_6H_2 - NH -]_2C_6H_{12}N_2O_2$. Die Erwartung, gut krystallisierbare Pikrylverbindungen der basischen Spaltungsprodukte des Eiweißes zu erhalten, hat sich bis jetzt nicht bestätigt. Wenn man Arginin mit der doppelt molekularen Menge Pikrylchlorid in Toluollösung 3 Stunden im Schüttelapparat schüttelt, so erhält man eine undeutlich krystallisierte Masse, in Äther, Alkohol und Wasser wenig löslich, ohne Schmelzpunkt. Nach dreimaligem Umlösen aus Wasser gab die bei 100° getrocknete Substanz folgenden Wert bei der Stickstoffbestimmung (vol.):

Gefunden:	Berechnet für Dipikrylarginin:
N 23,88 %.	23,5 %.

Für Monopikrylarginin ergibt sich: 25,46% N.

V. *Dipikrylhistidin*. $[(NO_2)_3C_6H_2]_2 = C_6H_7N_3O_2$. Auch aus dem Histidin ließ sich eine Dipikrylverbindung gewinnen, deren Eigenschaften jedoch derartige sind, daß sie für die Aufsuchung des Histidins voraussichtlich keine Bedeutung haben wird. Die Darstellung ist eine ähnliche wie bei der betreffenden Verbindung des Arginins. Es scheidet sich zunächst eine ölige Masse ab, die später krystallisiert. Die Krystalle bilden feine, gebogene Nadelchen. Ein Schmelzpunkt war nicht zu beobachten. Die Analyse des durch Umlösen gereinigten Öls ergab folgende Zahlen:

	Gefunden:		Berechnet für	
	I.	II.	Dipikrat:	Monopikrat:
N (vol.)	22,20 %	22,24 %	21,85 %	22,96 %

Es ist hiernach anzunehmen, daß die Bildung eines Dipikrylhistidins stattgefunden hat.

Schließlich möge noch erwähnt werden, daß auch das Clupein mit Pikrylchlorid unter obigen Verhältnissen in Reaktion tritt. Es bildet sich eine amorphe Masse, die in getrocknetem Zustand ein rotes, in den gewöhnlichen Lösungsmitteln unlösliches Pulver darstellt und 27% N enthält.