

Über Oxyprotosulfonsäure.

I. Mitteilung.

Von

J. Buraczewski und L. Krauze.

(Aus dem chem. Laboratorium der k. k. Staatsgewerbeschule in Krakau.)

(Vorgelegt der Akademie d. Wissensch. in Krakau am 3. Juli 1911.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. Oktober 1911.)

In einer vorläufigen Mitteilung¹⁾ haben wir angegeben, daß die zuerst von Maly, später von Bondzyński und Zoja, Bernert und endlich von Schulz untersuchte Oxyprotosulfonsäure durch Einwirkung von konzentrierter Essigsäure bei Siedetemperatur in zwei, im Falle der aus Eier- oder Serumalbumin erhaltenen Oxyprotosulfonsäure möglicherweise sogar in drei verschiedene Körper mit ausgeprägtem Säurecharakter zerfällt. Bei weiterer Verfolgung dieser Arbeit haben wir unsere früheren Angaben nicht nur bestätigen, sondern auch noch erweitern können.

I. Trennung der Fraktionen der Oxyprotosulfonsäure.

a) Behandlung mit Essigsäure.

Das Rohprodukt wurde aus Handelseiweiß (E. Merck, Darmstadt) nach Malyscher Vorschrift dargestellt, durch Lösen in 10%iger Sodalösung und Ausfällen mit Salzsäure gereinigt, dann mit Wasser sorgfältig gewaschen, bis die letzten Cl-Spuren ausgetrieben waren, und bei ziemlich niedriger Temperatur getrocknet. Das fein zerriebene Präparat wurde einigemal mit neuen Portionen Eisessig unter Benutzung eines Rückflußkühlers zum Sieden gebracht und von dem unlöslichen Rückstande abfiltriert.

Der Rückstand, den wir α -Oxyprotosulfonsäure genannt hatten, wird, nach vorherigem Auswaschen mit Äther, in verdünnter Sodalösung gelöst, mit HCl gefällt und sorgfältig bis zum Verschwinden der Cl-Reaktion mit Wasser und dann mit Alkohol und Äther gewaschen. Das so erhaltene Präparat stellt

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 71, S. 153 (1911). Frühere Literatur daselbst.

ein schwachgelbes Pulver vor, das in Essigsäure und Alkohol gänzlich unlöslich ist.

Aus den Eisessigfiltraten scheidet sich beim Erkalten ein reichlicher Niederschlag von β -Oxyprotsulfonsäure aus. Derselbe wird auf dem Filter gesammelt, mit kalter konzentrierter Essigsäure gewaschen und durch nochmaliges Umkristallisieren aus siedendem Eisessig gereinigt. Zur weiteren Reinigung wird der Körper in Soda gelöst, mit HCl gefällt und in üblicher Weise verarbeitet. Die β -Fraktion stellt einen fast weißen Körper dar, der in Essigsäure nur bei Siedetemperatur löslich ist und nach dem Erkalten daraus fast quantitativ ausfällt.

Diese Fraktion fehlt dem Präparate aus Casein gänzlich.

Das zurückbleibende Filtrat wird mit viel Äther versetzt; es scheidet sich dabei ein weißer Niederschlag aus, der durch sehr genaues Auswaschen mit Äther von Essigsäure vollständig befreit werden muß, denn sonst backt er beim Trocknen zusammen.

b) Behandlung mit Alkohol.

Es stellte sich heraus, daß dieser durch Äther fällbare Teil sich noch in drei verschiedene Komponenten durch Kochen mit starkem Alkohol trennen läßt, und zwar in einen in Alkohol unlöslichen, einen in Alkohol bei Siedetemperatur löslichen und beim Erkalten wieder ausfallenden und einen in Alkohol beim schwachen Erwärmen löslichen und nur durch Äther aus dieser Lösung fällbaren.

Der aus der Eisessiglösung durch Äther fällbare Teil wird mit 96% igem Alkohol längere Zeit gekocht. Ein bedeutender Teil des Niederschlags löst sich dabei in Alkohol auf; der ungelöst gebliebene Rest wird mit neuen Alkoholportionen gekocht, bis aus dem Filtrat durch Äther kein merklicher Niederschlag ausgeschieden wird. Der ungelöst gebliebene Teil stellt die γ_1 -Oxyprotsulfonsäure vor. Der Körper wird, wie vorher, in Soda gelöst und mit HCl gefällt. Das nach dem Auswaschen und Trocknen erhaltene Präparat stellt ein weißes Pulver dar, das leicht in kalter Essigsäure löslich, jedoch in Alkohol fast unlöslich ist.

Aus der ersten heißen Alkohollösung scheidet sich beim

Erkalten der größte Teil der γ_2 -Oxyprotosulfonsäure aus. Sie wird mit kaltem Alkohol gewaschen, nochmal in Alkohol bei Siedetemperatur gelöst, durch Abkühlen gefällt und wie vorher gereinigt. Es wird endlich ein weißer Körper erhalten, der nach dem Trocknen in Alkohol nur bei Siedetemperatur löslich ist und beim Erkalten der Lösung fast quantitativ ausfällt. In Essigsäure löst er sich schon in der Kälte ziemlich leicht.

Aus dem alkoholischen Filtrate dieses Körpers wird durch Äther ein reichlicher Niederschlag der letzten Fraktion γ_3 -Oxyprotosulfonsäure ausgefällt. Dieser wird gesammelt, nochmals bei leichtem Erwärmen in Alkohol gelöst, die Lösung durch einen Wasserstrahl abgekühlt, wobei keine Trübung entstehen darf, dann mit Äther gefällt und gründlich gewaschen. Das Endprodukt, ein weißes Pulver, ist ziemlich leicht beim Erwärmen in Alkohol, sowie in Essigsäure löslich und nur durch Zusatz von viel Äther aus diesen Lösungsmitteln fällbar.

Zur Feststellung, ob die ursprüngliche Oxyprotosulfonsäure nicht durch Kochen mit Eisessig verändert wird und in Körper von verschiedener Löslichkeit in Alkohol und Essigsäure übergeht, stellten wir die Versuche in umgekehrter Richtung an. Wir trennten nämlich die Oxyprotosulfonsäure zuerst mit Alkohol und den darin ungelöst gebliebenen Teil mit Essigsäure, wie oben. Beim Behandeln mit Essigsäure schieden sich aus der Lösung, wie zu erwarten war, keine γ_2 - und γ_3 -Fraktionen, sondern nur in Alkohol unlösliche Teile β und γ_1 aus.

II. Analysenergebnisse.

Die C- und H-Verbrennungen, sowie die N-Bestimmungen wurden in üblicher Weise in einer mit Bleichromat ev. Kupferoxyd beschickten Verbrennungsröhre ausgeführt. Schwefel wurde nach der Na_2O_2 -Methode bestimmt; jedoch sollen die angeführten S-Zahlen mit allem Vorbehalte angeführt werden, denn die angewandte Methode scheint uns nicht ohne weiteres zulässig zu sein.

Den Schwefelbestimmungen fehlt übrigens wegen Mangels an Material Vollständigkeit und Genauigkeit; sie erfordern eine besondere Betrachtung und bilden die Aufgabe unserer weiteren Forschungen in dieser Richtung.

C- und H-Bestimmungen.

Präparat	Substanz	CO ₂	H ₂ O	C	H
	g	g	g	%	%
Aus Eiereiweiß:					
α-Säure	0,1445	0,2602	0,0899	49,14	6,97
	0,1518	0,2740	0,0962	49,23	7,09
β-Säure	0,1415	0,2528	0,0900	48,72	7,12
	0,1412	0,2518	0,0893	48,64	7,08
γ ₁ -Säure	0,1590	0,2940	0,1000	50,43	7,04
γ ₂ -Säure	0,1902	0,3511	0,1266	50,34	7,45
	0,1526	0,2811	0,1005	50,24	7,37
γ ₃ -Säure	0,1339	0,2484	0,0901	50,60	7,53
Aus Blutserum:					
α-Säure	0,1873	0,3500	0,1215	50,96	7,26
	0,1755	0,3290	0,1126	51,13	7,18
β-Säure	0,1503	0,2865	0,0983	52,01	7,32
γ ₁ -Säure	0,1332	0,2532	0,0867	51,84	7,28
γ ₂ -Säure	0,1358	0,2555	0,0904	51,31	7,45
	0,1544	0,2918	0,1019	51,54	7,39
γ ₃ -Säure	0,1620	0,3030	—	51,01	—
	0,1652	0,3102	—	51,21	—
	0,1530	—	0,0964	—	7,05
Aus Casein:					
α-Säure	0,1489	0,2601	0,0894	47,64	6,75
	0,1542	0,2693	0,0927	47,63	6,74
γ ₁ -Säure	0,1468	0,2687	0,0964	49,92	7,35
γ ₂ -Säure	0,1640	0,3128	0,1072	52,02	7,31
	0,1537	0,2942	0,1007	52,21	7,33
γ ₃ -Säure	0,1444	0,2770	0,0974	52,32	7,55
	0,1517	0,2890	0,0991	51,96	7,31

N-Bestimmungen.

Präparat	Substanz g	N ccm	Hg mm	t ° C.	N %
Aus Eiereiweiß:					
α-Säure	0,1949	26,5	752,5	19	15,39
	0,1497	20,3	751	20	15,26
β-Säure	0,1522	20,7	740	19	15,12
	0,1494	20,2	746	18	15,23
γ ₁ -Säure	0,1494	18,2	745	13	14,06
γ ₂ -Säure	0,1243	15,7	750,5	19	14,59
γ ₃ -Säure	0,1430	18,6	749	23	14,38
Aus Blutserum:					
α-Säure	0,1636	21,2	746	17	14,67
	0,1514	19,7	744	20	14,50
β-Säure	0,1350	17,6	733	18	14,44
γ ₁ -Säure	0,1256	16,0	745	12	14,70
γ ₂ -Säure	0,1534	20,2	744	18	14,81
γ ₃ -Säure	0,1568	19,5	744	14,5	14,31
Aus Casein:					
α-Säure	0,1430	17,8	742,5	21	13,77
	0,1450	18,0	742	22	13,64
γ ₁ -Säure	0,1997	24,5	742,5	22	13,50
γ ₂ -Säure	0,1405	18,5	747	21	14,31
γ ₃ -Säure	0,1334	16,2	747	22	13,44
	0,1664	20,0	746	21	13,35

Schwefelbestimmungen.

Präparat	Substanz g	BaSO ₄ g	S %
Aus Eiereiweiß:			
α-Säure	0,2849	0,0319	1,53
Aus Blutserum:			
α-Säure	0,3048	0,0233	1,05
Aus Eiereiweiß:			
β-Säure	0,4097	0,0525	1,76

III. Chemisches Verhalten einzelner Fraktionen.

Die verschiedenen Komponenten, welche wir durch oben angeführte Behandlungen erhalten haben, besitzen im allgemeinen vollständig den Charakter der ursprünglichen Oxyprot-sulfonsäure; sie unterscheiden sich jedoch voneinander, wenn man auch von dem verschiedenen Löslichkeitsvermögen in Alkohol und Essigsäure absieht, noch durch den verschiedenen Gehalt an leicht abspaltbarem, bleischwärendem Schwefel. Während die in Essigsäure unlösliche α -Fraktion eine intensive Bleireaktion gibt, tritt diese bei den weiteren Fraktionen β und γ_1 immer weniger deutlich hervor und fehlt gänzlich bei den alkohollöslichen Fraktionen γ_2 und γ_3 . In ähnlicher Weise nimmt die Intensität der Biuretreaktion mit wachsender Löslichkeit der Produkte stets ab.

Die oben angeführte Gradation ist in folgender Tafel dargelegt:

	Biuretreaktion	Bleireaktion
Aus Serumalbumin:		
α -Säure	sehr intensiv	sehr intensiv
β -Säure	» »	sehr schwach
γ_1 -Säure	intensiv	» »
γ_2 -Säure	»	0
γ_3 -Säure	»	0
Aus Eialbumin:		
α -Säure	sehr intensiv	schwach
β -Säure	» »	sehr schwach
γ_1 -Säure	intensiv	0
γ_2 -Säure	sehr intensiv	0
γ_3 -Säure	» »	0
Aus Casein:		
α -Säure	intensiv	sehr schwach
γ_1 -Säure	»	0
γ_2 -Säure	»	0
γ_3 -Säure	»	0

Andere Farbenreaktionen waren im allgemeinen negativ, so die Millonsche und die Xanthoproteinreaktion; die Reaktion von Adamkiewicz und von Molisch fielen sehr undeutlich aus.

Es muß noch bemerkt werden, daß Bernert bei seiner Untersuchung der Oxyprotosulfonsäure die Löslichkeit derselben in Essigsäure und Alkohol bereits beobachtet hatte; diese Eigenschaft beachtete er nicht weiter, da er weder absolute Essigsäure noch starken Alkohol zur Anwendung brachte und da Oxyprotosulfonsäure mit solchen mäßig konzentrierten Lösungsmitteln keine so scharfen Resultate gibt.

Was die quantitativen Verhältnisse bei dieser Arbeit anbelangt, so können wir nur angenäherte Resultate angeben, weil bei mehrmaliger Reinigung ziemlich große Verluste an Material nicht zu vermeiden sind. Aus ca. 50 g Produkt erhielten wir:

α -Oxyprotosulfonsäure		18 g
β	»	5 »
γ_1	»	2 »
γ_2	»	3 »
γ_3	»	3 »

Der angeführte Umstand bezüglich der Bleiprobe steht im Widerspruch mit bisherigen Angaben über die Eigenschaft der Oxyprotosulfonsäure in dieser Richtung. Nur Schulz behauptet, daß die Oxyprotosulfonsäure bei sorgfältiger Ausführung der Probe bleischwärenden Schwefel, wenn auch in sehr geringer Menge, abspaltet. Aus dem graduellen Sinken des Gehaltes an bleischwärendem Schwefel mit dem Steigen der Löslichkeit der Produkte kann geschlossen werden, daß die letzte Eigenschaft gerade in dem Maße steigt, als die Oxydation des Eiweißes fortschreitet, wenn man in dem Sinken des Gehaltes an leicht abspaltbarem Schwefel den Maßstab für die Oxydation erblickt. Die Analysenresultate sämtlicher Präparate können keinen genügenden Aufschluß über den Grad der Oxydation geben. Eine Untersuchung über die Natur dieser Stoffe, sowie die Entscheidung der Frage, ob die auf diese Weise erhaltenen Fraktionen der Oxyprotosulfonsäure tatsächlich einheitliche Körper sind, soll die Aufgabe weiterer Arbeit sein.