

Weiterer Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung verschiedener Seidenarten.

XIV. Mitteilung.

Ergebnisse der totalen und partiellen Hydrolyse der Kokons des Allanthusspinnerers und von Teilung-Seide.

Von

Emil Abderhalden und Ryngo Inouye.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. Juli 1912.)

I. Kokons des Ailanthusspinnerers.

Das zur Untersuchung verwendete Material stammte aus China. Die großen, grau-braun gefärbten Kokons wurden mechanisch vom Inhalt und von Beimengungen befreit. Eine Trennung der verschiedenen Schichten konnte aus Mangel an Material nicht vorgenommen werden. Auch der Leim wurde nicht abgetrennt. 100 g Kokons verloren beim Trocknen bis zur Gewichtskonstanz 9,65 g Wasser. Der Aschengehalt betrug 5,46%. Bei der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure verblieb ein Rückstand von 7% der angewandten Kokons.

1. Ergebnis der totalen Hydrolyse.

100 g Kokons wurden 16 Stunden mit 25%iger Schwefelsäure am Rückflußkühler gekocht, nachdem vorher auf dem Wasserbade bis zur vollständigen Lösung erwärmt worden war. Das Hydrolysat wurde abgesaugt, der Rückstand so lange mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat keine Reaktion auf Schwefelsäure mehr gab. Aus den vereinigten Filtraten wurde die Schwefelsäure quantitativ mit Baryt entfernt. Vom Baryumsulfat wurde abfiltriert, der Filtrerrückstand so lange mit Wasser ausgekocht, bis das Auskochwasser farblos wurde und mit Millons Reagens keine Rotfärbung mehr gab. Gleichzeitig wurde auch der Baryumsulfatniederschlag mit Millons Reagens

auf Abwesenheit von Tyrosin untersucht und ferner durch Glühen einer Mischprobe auf organische Substanz geprüft.

Aus den vereinigten Filtraten entfernten wir nunmehr durch fraktionierte Krystallisation das Tyrosin. Die verbleibende Mutterlauge diente zur Gewinnung der übrigen Monoamino-säuren mit Hilfe der Estermethode. Um einen Einblick in entstehende Verluste zu gewinnen, haben wir auch hier, wie bei früheren Hydrolysen, bei allen Operationen den Gehalt an Stickstoff verfolgt. Die folgende Übersicht ergibt die erhaltenen Resultate:

	Stickstoff auf 100 g Kokons in g	Be- merkungen
Gesamtstickstoff	16,92	
Hydrolysat	16,11	
Ungelöster Rückstand	0,09	
Baryumsulfatniederschlag (Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt)	2,4	
Filtrat der Fällung	13,25	
Durch Krystallisation gewonnenes Tyrosin .	0,26	
Mutterlauge des Tyrosins	12,63	
Abgeschiedenes Glykokoll (als salzsaurer Ester)	1,96	} Verlust eingetreten
Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrates .	7,72	
Ätherische Lösung der freien Aminosäureester (nach Infreiheitsetzung der Ester mit Na- tronlauge und Kaliumcarbonat)	3,21	
Destillation der Aminosäureester:		
I. Fraktion: bis 100° des Wassers des Wasser- bades bei 12 mm Druck	1,92	
II. Fraktion: bis 100° des Wassers des Wasser- bades bei 0,1 mm Druck	0,28	
III. Fraktion: bis 200° des Ölbad bei 0,1 mm Druck	0,08	
Destillationsrückstand	0,64	
Rückstand nach der Ausätherung der Ester (Salzmischung und nicht ausgeätherte Amino- säureester)	4,44	

Die Ausbeute an einzelnen Aminosäuren betrug:

l-Tyrosin 3,34%, Glykokoll 10,5%, d-Alanin 8,5%,

l-Leucin 1%, Prolin: aktives Prolin 0,25%, inaktives 0,45%, Serin war vorhanden, Asparaginsäure 1% und Glutaminsäure 0,8%.

Eine Wiederholung der Tyrosinbestimmung ergab 4,5% l-Tyrosin. Bei der ersten Bestimmung war bei der Reinigung Verlust eingetreten.

Die Identifizierung der einzelnen Aminosäuren erfolgte in der üblichen Weise. Vom Alanin wurde das Kupfersalz analysiert.

0,1352 g Alaninkupfer ergaben 0,0445 g CuO.

Berechnet für $\text{Cu}(\text{C}_3\text{H}_6\text{NO}_2)_2$: 26,54% Cu.

Gefunden: 26,40% Cu.

Leucinkupfer ergab:

0,0450 g Kupfersalz gaben 0,0110 g CuO.

Berechnet für $(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_2)_2$: 19,66% Cu.

Gefunden: 19,53% Cu.

Die Stickstoffbestimmung der einzelnen Aminosäuren gab folgende Werte:

0,1270 g Substanz verbrauchten 14,45 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für Alanin $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$: 15,73% N.

Gefunden: 15,93% N.

0,1400 g Substanz verbrauchten 10,22 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für Leucin $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$: 10,69% N.

Gefunden: 10,22% N.

0,1512 g Substanz verbrauchten 11,61 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für Asparaginsäure $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$: 10,53% N.

Gefunden: 10,75% N.

Die erhaltenen Ausbeuten bedeuten, wie schon oft betont, nur Minimalwerte. Durch einen nicht feststellbaren Verlust bei der Abtrennung des Glykokolls von den übrigen Aminosäuren sind die einzelnen Werte noch besonders niedrig ausgefallen, immerhin ergibt sich aus einer Vergleichung der Ausbeuten, daß auch hier Tyrosin, Glykokoll und d-Alanin die

wesentlichsten Bausteine der Kokons des Ailanthusspinners sind. Die übrigen Bausteine treten an Menge stark zurück.

2. Ergebnis der partiellen Hydrolyse.

90 g Kokons wurden mit 1000 ccm 50%iger Schwefelsäure eine Woche lang bei 34° gehalten. Die Auflösung erfolgte ganz allmählich. Von Zeit zu Zeit wurde der Inhalt der Flasche gut durchgeschüttelt, um den Zerfall des dichten Gespinnstes zu befördern und eine gleichmäßige Mischung herzustellen. Nun wurde das Gemisch mit der fünffachen Menge Wasser versetzt und filtriert. Es verblieb nach erfolgtem Auswaschen, bis das Filtrat keine Reaktion mehr auf Schwefelsäure gab, ein Rückstand von 54,9 g. Im Filtrat wurde die Schwefelsäure mit Baryt quantitativ gefällt. Vom Baryumsulfat wurde abfiltriert und der Rückstand so lange mit kaltem Wasser verrührt und dann abgesaugt, bis das Filtrat keine Reaktion mit Millons Reagens mehr gab. Die gesamten Filtrate wurden bei 40° unter vermindertem Druck zum Sirup eingedampft. Dieser wurde mit Äthylalkohol übergossen und nochmals eingedampft. Jetzt kochten wir den von Wasser möglichst befreiten Rückstand mit absolutem Methylalkohol aus. Es wurde heiß filtriert und das Filtrat in Äthylalkohol gegossen. Es fiel ein weißes Pulver von 1,1 g Gewicht. Es gab Biuretreaktion und Rotfärbung mit Millons Reagens. Das Filtrat der Fällung wurde unter vermindertem Druck zur Trockene verdampft und der Rückstand in wenig heißem Wasser aufgenommen. Ebenso wurde mit den erwähnten 1,1 g und dem in Methylalkohol unlöslichen Teil verfahren. Alle drei wässrigen Lösungen wurden für sich in absoluten Äthylalkohol eingetragen. Von der Fällung wurde nach einigem Stehen abfiltriert und der ganze Prozeß unter erneuter Zugabe von Äthylalkohol wiederholt. Auf diese Weise wurden zahlreiche Fraktionen erhalten. Die schließlich verbleibende Mutterlauge wurde stark eingengt. Dabei schied sich an der Wand des Gefäßes eine gelbe, klebrige Masse ab. Von ihr wurde abgegossen und das weitere Einengen durch ganz langsames Verdunsten bei ca. 30° fortgesetzt. Es kam nicht zur Abscheidung krystallinischer Massen.

Nun wurden die Lösungen vereinigt, mit Tierkohle gekocht und schließlich zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde in heißem, 50%igem Alkohol gelöst und in der Hitze tropfenweise soviel absoluter Alkohol zugesetzt, bis eine leichte Trübung bestehen blieb. Beim langsamen Abkühlen erschienen am Boden des Gefäßes Krystalle, die sich rasch vermehrten und zusehends wuchsen. Schließlich resultierte ein Aggregat von makroskopischen, zugespitzten Blättchen. Sie wurden abgesaugt. Ihre Menge betrug 0,69 g. Sie schmolzen gegen 180° unter lebhaftem Aufschäumen, bei 295° trat Zersetzung ein.

0,1022 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 5,6170 g, α in $\frac{1}{2}$ dm-Rohr = $0,45^{\circ}$ nach rechts.

$$[\alpha]_{20}^D = 49,5^{\circ} \text{ nach rechts.}$$

0,0976 g Substanz ergaben nach Kjeldahl 0,01177 g N.

Berechnet für $C_{11}O_4N_2H_{14}$: 11,76% N.

Gefunden: 12,05% N.

Nach allen Eigenschaften — das Produkt gab auch Millons Reaktion — lag **Glycyl-l-tyrosin** vor.

II. Teilung-Seide.

Diese Seidenart war uns aus China übersandt worden. Sie hatte ein grauweißes, faseriges Aussehen. Die einzelnen Fasern waren auffallend grob. Zur Hydrolyse verwandten wir 70 g. Das verwendete Präparat verlor beim Trocknen bis zur Gewichtskonstanz 9,9% an Gewicht. Die Aschenbestimmung ergab 0,99% Asche. Bei der 6stündigen Hydrolyse mit rauchender Salzsäure verblieb ein Rückstand von 0,18 g. Gewicht — berechnet auf 100 g Seide.

Die Verarbeitung auf die einzelnen Monoaminosäuren erfolgte in der üblichen Weise, nur wurde vor der Veresterung das Tyrosin abgeschieden. Zu diesem Zwecke wurde das salzsaure Hydrolysat zur möglichst vollständigen Vertreibung der freien Salzsäure unter vermindertem Druck zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde hierauf in Wasser gelöst und in die Lösung so lange Ammoniakgas eingeleitet, bis sie deutlich alkalisch reagierte. Jetzt verdampften wir sie zur Trockene und lösten den Rückstand in heißem Wasser, kochten die

Lösung mit Tierkohle, filtrierten und ließen das Filtrat erkalten. Es erfolgte nur eine geringe Abscheidung von Tyrosinkristallen. Durch Einengen wurde alles Tyrosin zur Abscheidung gebracht. Die Mutterlauge vom Tyrosin wurde dann in der gewohnten Weise verestert.

Auch hier wurden, wie die folgende Tabelle zeigt, alle Operationen mittels Stickstoffbestimmungen kontrolliert.

	Stickstoff auf 100 g Seide in g
Gesamtstickstoff	18,5
Hydrolysat	18,31
Ungelöster Rückstand	0,05
Tierkohle, die zum Entfärben benutzt worden war . .	0,76
Durch Krystallisation gewonnenes Tyrosin	0,21
Abgeschiedenes Glykokoll (als salzsaurer Ester)	3,47
Tierkohle, die zur Entfärbung angewandt worden war	0,15
Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrates	15,12
Ätherische Lösung der freien Aminosäureester	9,01
Destillation der Aminosäureester:	
I. Fraktion, bis 100° des Wasserbades bei 20 mm Druck	0,05
II. > > 100° > > > 2 > >	3,32
III. > > 200° > Ölbad bei 0,4—0,1 > >	1,11
Destillationsrückstand	1,67

Es wurden folgende Mengen an Monoaminosäuren erhalten:

	Ausbeute an Amino- säureester g	Ausbeute an Amino- säuren g	De- stillations- zeit Min.
Abdestillierter Äther	—	3,79 (salzsaure Salze)	—
I. Fraktion bis 100° des Wasserbades, bei 20 mm Druck	36,2	2,55	30
II. Fraktion bis 100° des Wasserbades, bei 2 mm Druck	19,3	11,43	30
III. Fraktion bis 200° des Ölbad, bei 0,4—0,1 mm Druck	7,0	1,04	40

Daraus wurden folgende Aminosäuren isoliert: 13% Glykokoll, 12% d-Alanin, 1% l-Leucin, 1% Asparaginsäure, etwas Serin und Glutaminsäure, ferner Prolin (aktives Kupfersalz 0,82 g, inaktives 0,65 g). An Tyrosin gewannen wir 2,7%. Eine zweite Bestimmung, wobei die Hydrolyse mit 25%iger Schwefelsäure vorgenommen wurde, ergab 3,6% l-Tyrosin.

Es besteht somit auch diese Seidenart in der Hauptsache aus Glykokoll, d-Alanin und l-Tyrosin, nur tritt die letztere Aminosäure an Menge stark zurück.

Das Glykokoll wurde als Esterchlorhydrat identifiziert, Alanin und Leucin durch das Drehungsvermögen, den Stickstoffgehalt und den Kupfergehalt des Kupfersalzes. Prolin wurde als Kupfersalz isoliert. Die Glutaminsäure schieden wir als Chlorhydrat ab. Von der Asparaginsäure bereiteten wir das Kupfersalz.

0,2105 g Substanz verbrauchten 23,80 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für Alanin $C_3H_7NO_2$: 15,73% N

Gefunden: 15,83% N.

0,2062 g Kupfersalz gaben 0,0680 g CuO.

Berechnet für $(C_3H_6NO_2)_2Cu$: 26,54% Cu

Gefunden: 26,34% Cu.

0,1558 g Substanz verbrauchten 12,02 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$: 10,69% N

Gefunden: 10,80% N.
