

Über aus Proteinstoffen bei tiefgreifender Spaltung mit Salpetersäure erhaltene Verbindungen.

III. Mitteilung.

Von

Carl Th. Mörner.

(Der Redaktion zugegangen am 8. September 1916.)

Die intensiv braunroten Mutterlaugen von Roh-Kalium-pikrat,¹⁾ zunächst nach Ansäuerung mit Essigsäure auf dem Wasserbad konzentriert, sind weiter bearbeitet worden:

1. Ausschütteln, bei *essigsaurer* Reaktion, mit Äther in reichlicher Menge und zu wiederholten Malen.

(Aus dem Verdunstungsrest des Äthers sind vorläufig nur Restportionen von Benzoesäure und p-Nitrobenzoesäure isoliert worden.)

2. Die mit Äther ausgeschüttelten, andauernd intensiv braunroten Flüssigkeiten (vereinigt) wurden von stark gefärbten Produkten (in Form zähen, klebrigen „Öls“²⁾ abgeschieden) — durch Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure; Sättigung mit Ammoniumsulfat und Aufbewahrung bei ca. 0° ein paar Wochen lang — befreit.

3. Die nunmehr bedeutend hellere, schön orangefarbene, stark *schwefelsäuresaure* Flüssigkeit wurde (nach Konzentrierung durch freiwillige Abdunstung und nach Entfernung auskrystallisierten Ammoniumsulfats) mit Äther (5 mal, jedesmal 1/2 Vol.) ausgeschüttelt.

Aus dem Äther setzten sich, unter freiwilliger, partieller Abdunstung desselben, farblose Krystalle an den Wänden und auf dem Boden des Gefäßes ab (Krystallfraktion 1).

¹⁾ Siehe Mitteilung II, Diese Zeitschr., Bd. 95 (1915), S. 305, Anm. 1.

²⁾ Allem nach zu urteilen, wesentlich von dem Tryptophankomplex des Proteinstoffmoleküls herrührend. Aller Wahrscheinlichkeit nach geht v. Fürths nur in amorpher Form dargestelltes „Xanthomelanin“ in diese Fraktion ein (v. Fürth, Über die Einwirkung von Salpetersäure auf Eiweißstoffe, Straßburg 1899).

4. Nach Abtrennung der erwähnten Krystalle wurde der Rückstand, ohne Anwendung von Wärme, zu Sirup eingedickt, mit Xylol (das einen Rest von Pikrinsäure aufnahm) ausgeschüttelt, nach Verdünnung mit Wasser mit Zinkoxyd in Überschuß behandelt, noch warm filtriert und wieder zu Sirup eingedampft. Dieser wurde mit Alkohol ausgerührt und geknetet. Die alkoholische Flüssigkeit wurde von der ungelöst gebliebenen, kleberartigen, seidig glänzenden Masse¹⁾ abgossen und spontan abdunsten gelassen, worauf in wenig Wasser gelöst und die Lösung behufs langsamer Konzentrierung längere Zeit im Kälteschrank stehen gelassen wurde. Dabei wurde eine honigähnliche Masse erhalten, die reichlich von farblosen Mikrokrystallen durchsetzt war. Durch kräftiges Auspressen, Aufschwemmen des Preßkuchens in Wasser, Filtrieren und erneutes Auspressen wurde die Substanz erhalten (Krystallfraktion 2).

Krystallfraktion 1 (Gewicht 2,2 g). Nach Auflösen in Wasser setzten sich, unter spontaner Abdunstung, große, farblose Krystalltafeln ab, die sich bezüglich physikalischer Eigenschaften und qualitativer Reaktionen wie Bernsteinsäure verhielten, was auch durch Elementaranalyse²⁾ bestätigt wurde:

4,429 mg ergaben 6,61 mg CO₂, entsprechend 40,70 % C

4,429 „ „ 2,01 „ H₂O, „ 5,08 % H.

Berechnet für C₄H₆O₄: C = 40,66 %

H = 5,13 %.

Krystallfraktion 2 (Gewicht 1,0 g). Umkrystallisierung aus kochendem Wasser führte zu nach Auspressen schön weiß-

¹⁾ Die fragliche Prozedur — Überführung evtl. anwesender Säuren in Zinksalz und Alkoholbehandlung — wurde zunächst in der Absicht vorgenommen, oxyglutarsaures Zink aus der alkoholunlöslichen, kleberartigen Masse herauszugewinnen, was Habermann und Ehrenfeld durch ein solches Verfahren gelungen war (Diese Zeitschr., Bd. 35 [1902], S. 235), zumal da Oxyglutarsäure, wenn von Anfang an in der salpetersauren Reaktionsflüssigkeit vorhanden, der Berechnung gemäß in der hier fraglichen Fraktion anzutreffen sein mußte. Das Resultat der zu diesem Zwecke vorgenommenen weiteren Bearbeitung der alkoholunlöslichen Masse ist jedoch vorläufig negativ geblieben.

²⁾ Die in dieser und der nächstfolgenden Mitteilung angeführten Elementaranalysen sind gültigst von Herrn Privatdozenten Dr. K. Almström, Upsala, ausgeführt worden.

glänzenden Präparaten, bestehend aus kleinen sechseckigen Tafeln (2 Fraktionen wurden entnommen: Präp. 1 bzw. 2).

Analysen.¹⁾

Präp. 1. 0,1506 g Gewichtsverlust (bei 100°)²⁾ ergaben 0,0178 g, entsprechend 11,82% Krystallwasser.

Präp. 2. 0,2041 g Gewichtsverlust (bei 100°) ergaben 0,0237 g, entsprechend 11,61% Krystallwasser.

Präp. 1.	8,876 mg	ergaben	11,32 mg	CO ₂ ,	entsprechend	34,78%	C
	8,876	»	»	3,95	»	H ₂ O,	»
							4,98% H
	8,876	»	»	2,681	»	ZnO,	»
							24,27% Zn
Präp. 2.	5,548 mg	ergaben	7,20 mg	CO ₂ ,	entsprechend	35,39%	C
	5,558	»	»	2,52	»	H ₂ O,	»
							5,08% H
	5,548	»	»	1,637	»	ZnO,	»
							23,70% Zn.

Berechnet für C₅H₁₄O₆ · Zn + 2 H₂O: Krystallwasser 11,72%.

Berechnet für krystallwasserfreie Substanz:

C 35,36%

H 5,20%

O 35,36%

Zn 24,09%.

Die freie Säure wurde durch Ausschütteln der Lösung des Zinksalzes in verdünnter Schwefelsäure mit Äther, Abdunstung des Äthers und Umkrystallisierung der strahlig krystallinischen Masse in der Wärme aus mit Ligroin versetzter Ätherlösung dargestellt (zentimeterlange, schmale Prismen). Schmelzpunkt: 81° C. Die Analysen geben eine Oxybutter-säure an; der Schmelzpunkt,³⁾ wie auch die Krystallform des Zinksalzes, zeigen, daß die vorliegende Säure α-Oxyiso-buttersäure («Acetonsäure»), (CH₃)₂ · C(OH) · COOH, ist.

Während sich betreffs des näheren Ursprungs der Bernsteinsäure im vorliegenden Fall schwerlich etwas Sicheres

¹⁾ Krystallwasserbestimmung wurde an im H₂SO₄-Exsikkator getrocknetem Material ausgeführt; die übrigen Analysen an bei 100° getrocknetem Material.

²⁾ Bei darauffolgender Erhitzung auf 120° trat kein weiterer Gewichtsverlust ein.

³⁾ Der Schmelzpunkt für «Acetonsäure» wird von Morkownikoff (Ann. d. Chemie und Pharmacie, Bd. 146 [1868], S. 341) zu 79° angegeben; der Schmelzpunkt der α-Oxybutter-säure wird (in Beilsteins Handbuch) zu 42—42½ bzw. 43—44° angegeben. Die beiden Isomeren können also völlig sicher voneinander durch Schmelzpunktbestimmung unterschieden werden.

sagen läßt, weist der Fund von α -Oxyisobuttersäure unter den gegebenen Umständen mit Bestimmtheit auf α -Aminoisobuttersäure als Muttersubstanz und damit auf die Stellung dieser Aminosäure als Proteinstoffbaustein hin.¹⁾

Aminobuttersäure wird, als Spaltungsprodukt eines Proteinoffs, zum erstenmal von Schützenberger²⁾ angegeben; bei näherer Prüfung seiner Arbeiten zeigt es sich aber, daß ein bindender Beweis dafür nicht erbracht worden ist. Das Ganze beschränkt sich darauf, daß seiner auf eine Elementaranalyse gestützten Ansicht nach eine erhaltene Krystallfraktion darstellen sollte: «un mélange ou peut-être une combinaison à équivalents égaux de butalanine et d'acid amido-butyrrique».³⁾

E. Fischer fand mittels der Estermethode im Fibroin und Leim einen Körper, der wahrscheinlich Aminobuttersäure war, aber noch nicht mit Sicherheit identifiziert werden konnte.⁴⁾ Auch Meisenheimer hat es, bei Untersuchung von durch Autolyse aus Hefe erhaltenen Aminosäuren, «wahrscheinlich» gefunden, daß «eine Aminosäure vorhanden ist».⁵⁾

Die einzige bestimmter formulierte Angabe über eine Aminobuttersäure — und zwar die Isoverbindung — als hydrolytisches Spaltungsprodukt eines Proteinoffs ist neulich von Foreman⁶⁾ geliefert worden, der die genannte Säure aus Prolinfraktionen nach der Hydrolyse des Caseins isoliert hat.

Unter solchen Umständen dürfte unser Fund von Oxyisobuttersäure nicht seines Interesses ermangeln, indem er einen auf indirektem Wege erhaltenen, aber gleichwohl kaum weniger exakten Beweis für die Rolle der Aminobuttersäure als eines der Bausteine, die in das Proteinstoffmolekül eingehen können, liefert und demnach geeignet ist, Foremans diesbezügliche Angabe zu bestätigen.

¹⁾ Bei Proteinstoffoxydation mit Salpetersäure wird, wie bekannt, in reichlicher Menge salpetrige Säure gebildet, wodurch die Möglichkeit für eine wenigstens partielle Überführung von in dem Proteinstoffmolekül enthaltener Aminoisobuttersäure in die entsprechende Oxysäure (gemäß bekanntem Reaktionsverlauf) gegeben ist.

²⁾ Bull. de la soc. chim., Bd. 23 (1875), S. 193.

³⁾ a. a. O., S. 244.

⁴⁾ Laut Referat in Cohnheims Chemie der Eiweißkörper, 3. Aufl. (1911), S. 40.

⁵⁾ Laut Referat in Chem. Zentralbl. 1915, Bd. 2, S. 1259.

⁶⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. 56 (1913), S. 1—10.