

Über aus Proteinstoffen bei tiefgreifender Spaltung mit Salpetersäure erhaltene Verbindungen.

IV. Mitteilung.

Von

Carl Th. Mürner.

(Der Redaktion zugegangen am 8. September 1916.)

Über p-Nitrobenzoesäure als Oxydationsprodukt aus Proteinstoffen (Fortsetzung).

1. p-Nitrobenzoesäure aus Glutin.

Wie in Mitteilung II¹⁾ erwähnt worden, eignete sich die Reaktionsflüssigkeit, die bei einem früheren, in größerem Maßstabe angestellten Oxydationsversuch mit Glutin erhalten wurde, nicht zu weiterer Verarbeitung u. a. betreffs etwa vorhandener aromatischer Nitroprodukte, da bei diesem Versuch, infolge der vorbereitenden HCl-Hydrolyse des Materials, der Reaktionsverlauf durch die Einwirkung von freiem Chlor in gewissem Grade kompliziert wurde. Zwecks diesbezüglicher Ergänzung wurde ein neuer Oxydationsversuch angestellt, bei welchem, zur Erzeugung der erforderlichen Menge niederer Stickstoffoxyde, Amylum hinzugesetzt wurde (ohne einen besonderen derartigen Zusatz kann, wie früher erwähnt, Glutin nicht zu der kräftigen Reaktion mit konz. Salpetersäure in Wasserbadwärme gebracht werden, die u. a. zu massenhafter Oxalsäurebildung führt). Durch langdauernde Extraktion mit verdünnter Kalilauge, verdünnter Essigsäure, destilliertem Wasser bezw. Alkohol sorgfältig gereinigte Gelatine, in einer Menge entsprechend 750 g (wasser- und aschefreie Substanz), wurde mit 7½ Liter konzentrierter Salpetersäure 24 Stunden lang

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 95 (1915), S. 264, Anm. 2.

bei gewöhnlicher Temperatur behandelt; nach Zusatz von 375 g Amylum, das in $3\frac{3}{4}$ Liter ebensolcher Säure aufgeschwemmt war, wurde die Mischung auf das Wasserbad gesetzt; nach ein paar Stunden trat kräftige Reaktion ein. Auf früher¹⁾ näher angegebene Weise wurde Roh-p-Nitrobenzoesäure isoliert (Gewicht: 4,0 g, entsprechend 0,5% der angewandten Glutinemenge), worauf die Säure durch das Äthylacetat-Magnesiumverfahren²⁾ gereinigt wurde. Das erhaltene, schön krystallisierte Präparat schmolz gleichzeitig mit zum Vergleich angewandter reiner p-Nitrobenzoesäure.

Analyse.

3,729 mg ergaben (770 mm, 20,5°) 0,267 ccm N, entsprechend 8,44% N
Berechnet: 8,39% N.

Obwohl in seinem Molekül nicht Tyrosin, Tryptophan oder einen anderen aromatischen Komplex als Phenylalanin enthaltend, gibt also auch Glutin p-Nitrobenzoesäure, was in guter Übereinstimmung mit der früher gelieferten Angabe über Phenylalanin als Muttersubstanz dieser Säure steht, da es aus Proteinstoffen erhalten wird.³⁾

2. Prüfung solcher Proteinstoffe, in denen durch das Hydrolyseverfahren Phenylalanin nicht mit Sicherheit hat nachgewiesen werden können, rücksichtlich p-Nitrobenzoesäurebildung.⁴⁾

Die fragliche Untersuchung wurde gerichtet auf a) Keratin aus Pferdehaaren, b) Keratin aus Gänsefedern, c) Spongin (aus Badeschwamm) und d) Ichthylepidin.

Das betreffende, stark zerkleinerte Rohmaterial von a)—c) wurde durch Digestion bei 40° mit kräftiger Pepsinchlorwasserstoffsäure, in großer Menge (24 Liter für jedes), während 1 Woche, danach Extraktion bei Zimmerwärme mittels 1%-igen Ammoniaks, mehrmals gewechselt (30 Liter jedesmal) während 3 Wochen, schließlich mit Wasser gereinigt, worauf

¹⁾ A. a. O., S. 280.

²⁾ A. a. O., S. 284, letzter Absatz. Terephthalsäure wurde dabei nicht angetroffen.

³⁾ A. a. O., S. 289.

⁴⁾ Siehe a. a. O., S. 290.

kräftig ausgepreßt wurde. Ichthylepidin wurde (aus Schuppen von Karausche und Kühling) auf von Verfasser früher angegebene Weise¹⁾ dargestellt.

Nach der Behandlung mit konzentrierter Salpetersäure (auf 1 kg aschefreie Trockensubstanz 10 Liter Säure)²⁾ auf Wasserbad wurde die abgetrennte Roh-p-Nitrobenzoesäure auf zuvor angegebene Weise gereinigt.³⁾

Die Ausbeute an Roh-p-Nitrobenzoesäure wird in folgender Tabelle angegeben:

	g	Absolute Menge	%
a) Keratin aus Pferdehaaren	600 ⁴⁾	4,1	0,7
b) „ „ Gänsefedern	400	6,8	1,7
c) Spongín	300	1,0	0,3
d) Ichthylepidin	20	0,20	1,0

In sämtlichen 4 Fällen wurden schließlich Präparate (a—d) erhalten, die die Eigenschaften der reinen p-Nitrobenzoesäure aufwiesen.

Analysen.

Präp. a.	4,852 mg	ergaben (766 mm, 18°)	0,337 ccm N,	entspr. 8,21 % N
„ b.	3,775 „	„ (766 „ 16°)	0,267 „ N,	„ 8,42 % N
„ c.	5,388 „	„ (764 „ 15,5°)	0,372 „ N,	„ 8,21 % N
„ d.	5,024 „	„ (762 „ 18,5°)	0,353 „ N,	„ 8,25 % N

Berechnet: 8,39 % N.

Unter Hinweis auf eine frühere Bemerkung,⁵⁾ erachtet Verfasser es hiermit, dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnis gemäß, als bewiesen, daß auch die nun untersuchten

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. 24 (1898), S. 125—137.

²⁾ Da Spongín in seinem Verhalten gegen konzentrierte Salzsäure mit Glutin nahe übereinstimmt, wurde, zwecks Herbeiführung einer kräftigen Reaktion, das halbe Gewicht Amylum, aufgeschwemmt in der entsprechenden Menge Säure, hinzugesetzt.

³⁾ Dabei wurden aus den a)- und b)-Portionen 0,3 bzw. 0,4 g Roh-Terephthalsäure erhalten; in den c)- und d)-Portionen konnte Terephthalsäure nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

⁴⁾ Die Zahlen in dieser Spalte beziehen sich auf aschefreie Trockensubstanz.

⁵⁾ a. a. O., S. 290—291.

4 verschiedenen Proteinstoffe — in Übereinstimmung mit dem Schafwollekeratin, worüber früher berichtet worden — den Komplex des Phenylalanins enthalten, obwohl die bisher ausgeführten, auf einen direkten Nachweis nach Hydrolyse gerichteten Versuche dem widersprechen oder es nicht mit Sicherheit haben feststellen können. Damit scheint auch eine weitere Stütze für den Wert des indirekten Verfahrens — des der p-Nitrobenzoesäurebildung — als Indikator auf Phenylalanin in Proteinstoffen erhalten zu sein.
