

# Über aus Proteinstoffen bei tiefgreifender Spaltung mit Salpetersäure erhaltene Verbindungen.

## VI. Mitteilung.

Von

Carl Th. Mörner.

(Der Redaktion zugegangen am 6. September 1917.)

Der Hauptzweck der vorliegenden Untersuchungsserie war, wie aus der ersten Mitteilung <sup>1)</sup> hervorgeht, zu versuchen, die bei tiefgreifender Spaltung mit Salpetersäure aus Proteinstoffen entstehende organische Schwefelverbindung (Methylsulfosäure) zu isolieren. Bei der Isolierung dieser Säure wurden indessen, in reichlichen Mengen, eine Anzahl Nebenprodukte abgeschieden, die behufs weiterer Untersuchung aufgehoben wurden («Rohkrystalle», «Ätherverdunstungsrest» und «Ba-Spiritusfällung 1, 2 bzw. 3»).

Die Mitteilungen II<sup>2)</sup> und III<sup>3)</sup> enthalten einen Bericht über die Bearbeitung der «Rohkrystalle» (abgeschlossen) und des «Ätherverdunstungsrestes» (teilweise).

Es erübrigt mir nun, wenn auch wenig Neues zu gewinnen gewesen ist, der Vollständigkeit wegen die Resultate der fortgesetzten Bearbeitung des «Ätherverdunstungsrestes» sowie der zum Schluß vorgenommenen Bearbeitung der «Ba-Spiritusfällung 1—3» mitzuteilen.

### 1. «Ätherverdunstungsrest» (Fortsetzung).

Der durch Schütteln der vereinigten Mutterlaugen von Roh-Kaliumpikrat mit Äther, bei essigsaurer Reaktion, und Verdunstung des Äthers erhaltene Rest (in welchem, bei ein-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 93, S. 175—202 (1914).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 95, S. 263—309 (1915).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr., Bd. 98, S. 89—92 (1916).

fachen Vorversuchen, nur Restportionen von p-Nitrobenzoesäure und Benzoesäure angetroffen worden waren)<sup>1)</sup> wurde einer weitgehenden, umständlichen Fraktionierung unterzogen. Zunächst wurde das Ausgangsmaterial (Gewicht: ca. 25 g) durch fraktionierte Behandlung mit kochendem Wasser in 5 Fraktionen (a—e) zerlegt.

Frakt. a (= die schwererlösliche, krystallisierende Hauptfraktion; Gewicht: 17,5 g); Bearbeitung siehe unten!

Frakt. b, krystallinisch, von wesentlich derselben Beschaffenheit wie die vorige; die Menge ganz gering (unter 1 g).

Frakt. c, krystallinisch; ergab bei fortgesetzter Fraktionierung mit Alkohol usw. zwei N-freie Säuren, Azaleinsäure und Adipinsäure, offenbar entstanden lediglich durch Salpetersäureeinwirkung auf in dem ursprünglichen Proteinmaterial enthaltenes Fett.

Frakt. d—e, bei gewöhnlicher Temperatur von Ölkonsistenz. In reinem Zustand wurde keine Substanz daraus isoliert; indessen wurde bei Destillation mit Wasserdampf eine Fraktion erhalten, die, dem intensiven, eigenartigen Geruch und qualitativen Reaktionen nach zu urteilen, Phenyllessigsäure enthalten haben dürfte.

Durch anhaltende Destillation von Frakt. a mit Wasserdampf und weitere Bearbeitung des Destillats (Neutralisierung mit Kalilauge, Eindampfung auf geringes Volumen, Behandlung mit Knochenkohle, Freimachen der Säure mittels Essigsäure und wiederholte Umkrystallisierung aus warmem Wasser) wurde Benzoesäure in völlig reinem Zustand erhalten;<sup>2)</sup> Schmelzen trat glatt bei 121—122° ein.

Aus der im Destillationskolben zurückgebliebenen Mischung wurde reichlich anwesende p-Nitrobenzoesäure durch mehrmals wiederholte Mg-Behandlung,<sup>3)</sup> gleichfalls wiederholtes Auskochen mit Kohlenstofftetrachlorid<sup>4)</sup> und Umkrystallisierung aus verdünntem Spiritus entfernt. Hierdurch wurde schließlich, wenn auch in relativ geringer Menge (3 g), eine Säure erhalten, die in allen denkbaren Hinsichten (Elementarzusammensetzung,

<sup>1)</sup> Vgl. Mitteilung III, a. a. O., S. 89.

<sup>2)</sup> Was nicht völlig bei der Bearbeitung der «Rohkrystalle» gelang (siehe Mitteil. II, a. a. O., S. 295, Anm. 3).

<sup>3)</sup> Siehe Mitteil. II, a. a. O., S. 283.

<sup>4)</sup> In kochender CCl<sub>4</sub> ist p-Nitrobenzoesäure nahezu unlöslich, die m-Säure dagegen löslich im Verhältnis von ca. 1 g auf 40 ccm.

Krystallform, Geschmack, Löslichkeitsverhältnisse und qualitative Reaktionen) gute Übereinstimmung mit m-Nitrobenzoesäure zeigte; nur betreffs des Schmelzpunktes bestand ein Unterschied; der Schmelzpunkt hielt sich, trotz Umkrystallisierungen der freien Säure, stets zu niedrig (unter  $140^{\circ}$ ). Durch Überführung der Säure in Mg-Salz, Zersetzung desselben mittels verdünnter Salpetersäure und Umkrystallisierung der wiedergewonnenen Säure wurde indessen auch der genannte Unterschied beseitigt; Schmelzpunkt danach:  $140-141^{\circ}$  (glatt).

Elementaranalysen. <sup>1)</sup>

|          |          |         |          |                     |              |         |                   |
|----------|----------|---------|----------|---------------------|--------------|---------|-------------------|
| Präp. 1. | 3,906 mg | ergaben | 7,22 mg  | CO <sub>2</sub> ,   | entsprechend | 50,41 % | C,                |
|          | 3,906    | »       | 0,96     | » H <sub>2</sub> O, | »            | 2,75 %  | H,                |
|          | 3,611    | »       | (748 mm, | 17° C.)             | 0,262 ccm    | N,      | entspr. 8,41 % N. |
| Präp. 2. | 3,624 mg | ergaben | 6,63 mg  | CO <sub>2</sub> ,   | entsprechend | 49,89 % | C,                |
|          | 3,624    | »       | 0,95     | » H <sub>2</sub> O, | »            | 2,93 %  | H,                |
|          | 3,337    | »       | (741 mm, | 16° C.)             | 0,245 ccm    | N,      | entspr. 8,46 % N. |

Berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> · NO<sub>2</sub> · COOH:      Gefunden:

|   |         |         |
|---|---------|---------|
| C | 50,28 % | 50,15 % |
| H | 3,02 %  | 2,88 %  |
| N | 8,39 %  | 8,43 %  |

Es kann hiermit als bewiesen angesehen werden, daß auch m-Nitrobenzoesäure — nach welcher Säure vergebens in der «Rohkrystall»-Fraktion geforscht worden ist<sup>2)</sup> — bei Salpetersäureeinwirkung auf Proteinstoff gebildet werden kann, wenn auch ihre Menge verschwindend gering ist, verglichen mit der, in welcher die p-Isomere auftritt; approximativ kann das Verhältnis zwischen den Mengen der beiden Isomeren geschätzt werden auf 1 : 50. Von der o-Säure (erkennbar an ihrem süßen Geschmack) ist auch jetzt nichts angetroffen worden.

Da, wie bereits hervorgehoben worden, Benzoesäure in der Proteinstoff-Salpetersäurereaktionsmischung auftritt und andererseits diese Säure bei direkter Nitrierung, wie Grieb und Hollemann nachgewiesen haben, zur Entstehung von

<sup>1)</sup> Die in dieser Mitteilung angeführten Mikroelementaranalysen sind gütigst von Herrn Privatdozenten Dr. K. Almström in Upsala ausgeführt worden.

<sup>2)</sup> Siehe Mitteil. II, a. a. O., S. 285.

m-Nitrobenzoesäure in weit überwiegender Menge führt (während die p-Säure nur mit einem einzigen Prozent an der Gesamtausbeute beteiligt ist), so ist es wahrscheinlich, daß die jetzt nachgewiesene m-Nitrobenzoesäure aus Proteinstoff mit Benzoesäure als Mittelglied entstanden ist.

## 2. «Ba-Spiritusfällung 1—3».

### a) Betr. Baryummethylsulfonat.

In der ersten Mitteilung<sup>1)</sup> ist betont worden, daß die daselbst angegebenen Ausbeuten des Baryumsalzes der Methylsulfosäure «Mindestwerte darstellen müssen, indem man hier mit beträchtlichen Verlusten an Substanz, teils in den größeren, voluminösen Fällungen, teils in den Mutterlaugen, zu rechnen hat». Diese Annahme hat bei der jetzt vorgenommenen Bearbeitung der betr. «Ba-Spiritusfällungen» Bestätigung erhalten. Während die Gesamtmenge des bei dem methodischen Verfahren (wie es in der ersten Mitteilung beschrieben worden) isolierten Salzes 48,4 g betrug, sind bei der Bearbeitung der «Ba-Spiritusfällung 1 und 2» (vereinigt) weitere 29,7 g und aus der «Ba-Spiritusfällung 3» 17,2 g oder insgesamt 46,9 g erhalten worden, d. h. ungefähr ebenso viel, wie die ursprüngliche Ausbeute betrug. Auch mit diesem reichlichen Zuschuß muß die tatsächlich gebildete Menge doch die isolierte Gesamtausbeute übersteigen, wesentlich infolge des stets unvermeidlichen Verlustes in den Mutterlaugen bei der Reinigung des Salzes durch Umkrystallisierung.

### b) Betr. Bernsteinsäure.

Bernsteinsäure ist bereits im «Ätherverdunftsrest» (aus diesem isoliert in einer Menge von 2,2 g) angetroffen worden.<sup>2)</sup> Aus den «Ba-Spiritusfällungen» sind ferner insgesamt 22,4 g Baryumsuccinat, entsprechend 10,3 g der freien Säure, isoliert worden. Fumarsäure, gleichwie Bernsteinsäure schwerlösliches Ba-Salz gebend und von Mühlhäuser<sup>3)</sup> als bei der Behandlung von Proteinstoffen mit Königswasser erhalten angegeben, ist

<sup>1)</sup> a. a. O., S. 184.

<sup>2)</sup> Siehe Mitteil. III, a. a. O., S. 90.

<sup>3)</sup> Ann. d. Chemie u. Pharmacie, Bd. 101, S. 171—196 (1857).

dagegen, trotz darauf gerichteter Versuche, nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden. Fumarsäure reduziert, als im Gegensatz zu Bernsteinsäure eine Doppelbindung enthaltend, Kaliumpermanganat bei gewöhnlicher Temperatur, sei es daß dieses Reagens zu der wässerigen Lösung der isolierten Säure oder zu dem Ba-Salz + verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  hinzugesetzt wird. Durch Anwendung dieses Reaktionsverhaltens ist es möglich gewesen, je nachdem Ba-Succinatfraktionen erhalten worden, diese auf die An- bzw. Abwesenheit von Fumarsäure hin zu kontrollieren. Nur eine solche Fraktion, herrührend aus dem Proteinstoffoxydationsversuch IV (Ovomucoid), hat eine derartige Reaktion ergeben, daß die Anwesenheit eines geringen Bruchteils Fumarsäure als nicht ganz ausgeschlossen hat angesehen werden können.

c) Eine Nitrosäure:  $\text{C}_4\text{H}_3\text{O}_4\text{N}_3$ .

Ganz zu Beginn der Bearbeitung der «Ba-Spiritusfällung 1 und 2» (vereinigt), herrührend aus dem Proteinstoffoxydierungsversuch I (Serumeiweiß),<sup>1)</sup> wurde auf einfache Weise (bei Aufbewahrung von in Zimmerwärme, unter mehrtägigem Schütteln mit reichlicher Menge Wasser bereitetem, filtriertem Extrakt mehrere Tage lang im Kälteschrank) eine Portion (3,6 g) eines harten, schweren, schwefelgelbe Prismen bildenden, bei Erhitzung explosiven Baryumsalzes erhalten. Aus nach Umkrystallisierung aus kochendem Wasser (Löslichkeit ca. 1:75) erhaltenem, sehr schönem Präparat (wohlausgebildete, rein schwefelgelbe, glasglänzende Prismen)<sup>2)</sup> wurde die Säure mittels verd. Salpetersäure freigemacht, gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die relativ schwerlösliche, jedoch durchaus nicht unlösliche Säure bildet fast farblose (nur einen

<sup>1)</sup> Siehe Mittel I, a. a. O., S. 176.

<sup>2)</sup> Dieses Präparat, bei der langsamen Abkühlung der stillstehenden warmen Lösung erhalten, war frei von Krystallwasser. Ein anderes Präparat, bei Umrühren mit Glasstab aus einer zimmerwarmen, übersättigten Lösung ausgefallen, von hellerer Farbe und aus nur unter dem Mikroskop wahrnehmbaren Krystallen bestehend, enthielt 5 Mol. Krystallwasser; vollständig schwand es bei anhaltendem Trocknen bei  $110^\circ$ ; nach dieser Prozedur war auch dieses Präparat von rein schwefelgelber Farbe.

schwachen Stich ins Gelbe zeigende) dünne Prismen, hat stark sauren Geschmack, reagiert kräftig auf Kongorot, schmilzt (unter Dunkelfärbung und Gasentwicklung) erst bei ca. 300°. Die wässerige Lösung, die Kaliumpermanganat bei gewöhnlicher Temperatur nicht entfärbt, gibt Fällung u. a. mit Silbernitrat (gelblich, gallertig), Mercuronitrat (gelbweiß, käsig), Bleiacetat (hellgelb, feinkörnig), Cuprisulfat (hellblau, feinkrystallinisch; Rosetten von kleinen Prismen); wird nicht gefällt von Mercurichlorid oder Ferrichlorid. Bei Behandlung mit Zinkoxyd im Überschuß entsteht eine, auch bei Kochen, in Wasser nahezu unlösliche Verbindung. Die Säure gibt nicht schwerlösliches Kaliumsalz. Nach Zusatz von verd. Salpetersäure zu der Lösung des Kaliumsalzes kann die Säure mit Äther ausgeschüttelt werden, dagegen nicht nach Zusatz von Essigsäure, auch in reichlichem Überschuß, zu solcher Lösung, ein Zeugnis für den Charakter der Substanz als einer relativ starken Säure. Prüfung auf Schwefel fällt negativ aus.

#### Elementaranalysen.

##### 1. Die freie Säure.

- a) 3,978 mg ergaben 4,48 mg CO<sub>2</sub>, entsprechend 30,72% C,  
 3,978 „ „ 0,77 „ H<sub>2</sub>O, „ 2,17% H.  
 b) 4,030 „ „ 4,49 „ CO<sub>2</sub>, „ 30,39% C,  
 4,030 „ „ 0,79 „ H<sub>2</sub>O, „ 2,19% H,  
 c) 3,892 „ „ (750 mm, 16,1°) 0,896 ccm N, entspr. 26,83% N,  
 d) 2,913 „ „ (760 „ , 15,2°) 0,6615 „ N, „ 26,90% N.

Berechnet für C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>:

Gefunden:

(Mittel)

C 30,56%

30,50%

H 1,93%

2,18%

N 26,76%

26,86%

##### 2. Das Ba-Salz (bei 110° getrocknet).

- a) 2,488 mg ergaben (748 mm, 15,3°) 0,393 ccm N, entspr. 18,42% N,  
 b) 5,234 „ „ 2,680 mg BaSO<sub>4</sub>, entsprechend 30,13% Ba.

Berechnet für (C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>)<sub>2</sub> Ba:

N 18,70%,

Ba 30,56%.

Höchst bemerkenswert ist die bedeutende Größe des Stickstoffgehalts. Da es in der Natur der Sache liegt, daß derselbe nur teilweise von NO<sub>2</sub>-Gruppe herrühren kann, so

hat man wohl hier zunächst an ein Imidazolderivat, mit dem Histidin des Proteinstoffs als Muttersubstanz, zu denken. Unter den bisher bekannten Verbindungen von der Formel  $C_4H_3O_4N_3$ , befindet sich ein eine  $NO_2$ -Gruppe enthaltendes Imidazolderivat, das auch als ein Harnstoffderivat der Brenztraubensäure betrachtet werden kann und daher Nitropyruvineid genannt wird. Dasselbe ist synthetisch von Grimeaux<sup>1)</sup> dargestellt worden. Die laut der Beschreibung dieser Substanz zukommenden Eigenschaften weisen gewisse Übereinstimmungen mit denen der hier isolierten auf, ohne daß aber andererseits daraufhin eine Identifizierung mit Gewißheit angängig ist. Identität mit einer der übrigen 7 beschriebenen Verbindungen von der erwähnten Formel (Dinitropyrrrol, Nitrouracil, Nitrosobarbitursäure u. a.) scheint, aus dem einen oder anderen Anlaß, nicht in Frage kommen zu können. In Anbetracht dessen und der Knappheit des verfügbaren Materials<sup>2)</sup> muß die Frage nach der näheren Konstitution der im übrigen charakteristischen und als Proteinstoffderivat Interesse darbietenden neuen Nitrosäure offen gelassen werden.

Die Hauptmasse der aus den «Ba-Spiritusfällungen» mit Wasser herausgelösten Ba-Salze — leichtlöslich in Wasser, unlöslich in Spiritus — hält sich, auch nach halbjähriger Aufbewahrung in kaltem Zimmer, andauernd im Stadium eines homogenen, zähen Sirups, der von einer weiteren Bearbeitung keine Resultate erhoffen läßt.

#### Anhang.

Zum Schluß seien hier ein paar mehr freistehende Beobachtungen angeführt, die aus den Proteinstoffoxydierungsversuchen V (Hämoglobin) [1] und VII (Glutin) [2] herrühren.

1. Während der Ausschüttelung der ursprünglichen, salpetersäuresauren Reaktionsmischung mit Äther fiel aus der anfangs klaren Flüssigkeit ein hellgelbes Pulver aus, das sich in der

<sup>1)</sup> Ann. de chimie et de physique. Sér. V, Bd. 11, S. 378 (1877).

<sup>2)</sup> Aus so reichlichem Ausgangsmaterial (Serumeiweiß) wie 3,5 kg erhalten.

unteren sauren Flüssigkeitsschicht schwebend erhielt. Man bekam den Eindruck, daß mit dem Äther ein Stoff oder einige Stoffe, die zuvor die fragliche Substanz in Lösung gehalten hatten, entfernt wurden. Das abgeschiedene Pulver (nach Trocknen 6 g), eine Säure darstellend, wurde durch Zusatz von Kaliumcarbonat in etwas Überschuß (3 g) + etwas Wasser in Lösung gebracht, woraus bei freiwilliger, partieller Verdunstung krystallisiertes K-Salz (5 g) erhalten wurde. Nach Umkrystallisierung (große, rechteckige, fast farblose Tafeln) wurde in Wärme mit Essigsäure dekomponiert. Die freie Säure, aus kochendem Wasser (1 : 200) unter Knochenkohlezusatz umkrystallisiert, wurde in Form eines schweren, farblosen Pulvers (ganz kleine, polygone Krystalle) erhalten.

Die in Wasser äußerst schwerlösliche, in Äther unlösliche, schwefelfreie Säure schmilzt nicht bei Erhitzen, zersetzt sich aber, ohne Verpuffen, bei etwa 300° unter braunschwarzer Färbung, Aufquellen und Hinterlassung eines reichlichen, porösen Kohlenrestes. Dabei weggehende Dämpfe reagieren stark alkalisch und haben einen an Blausäure erinnernden Geruch. In schwefelsäuresaurer Lösung wird Kaliumpermanganat reichlich bei gewöhnlicher Temperatur entfärbt.

#### Elementaranalysen.

|             |                                   |                              |                   |
|-------------|-----------------------------------|------------------------------|-------------------|
| a) 4,816 mg | ergaben 7,64 mg CO <sub>2</sub> , | entsprechend                 | 43,26% C.         |
| 4,816       | •                                 | 0,99 • H <sub>2</sub> O,     | 2,30% H.          |
| b) 3,952    | •                                 | (762 mm, 16,5°) 0,666 ccm N, | entspr. 19,93% N. |
| c) 3,655    | •                                 | (763 mm, 15,2°) 0,667 ccm N, | • 19,86% N.       |

Als einfachste Formel ergibt sich aus diesen Werten: C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (berechnet: 43,15% C, 2,18% H, 20,15% N); eine Verbindung von dieser Formel (oder einem Vielfachen davon) ist bisher nicht bekannt.

2. Bei dem Proteinstoffoxydierungsversuch VII, bei dem das Ausgangsmaterial (das Glutin) einer vorbereitenden Hydrolyse mittels Chlorwasserstoffsäure vor der Behandlung mit konzentrierter Salpetersäure unterzogen worden war, wurde der Reaktionsverlauf durch die Cl-Einwirkung kompliziert,<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Siehe Mitt. II. a. a. O., S. 264.



weshalb der Effekt in Wirklichkeit ungefähr derselbe war, als wenn das Material direkt mit Königswasser behandelt worden wäre. Unter solchen Umständen vermißt man hier das Produkt p-Nitrobenzoesäure.<sup>1)</sup>

Indessen wurde hier ein krystallisiertes Produkt isoliert, das wohl mit Fug als ein der p-Nitrobenzoesäure in den übrigen (durch Cl-Einwirkung nicht komplizierten) Proteinstoffoxydierungsversuchen, I—VI, entsprechendes Produkt betrachtet werden kann. Bei Verdunstung des, infolge der Abwesenheit von Nitroprodukten, nur blaß-gelben Ausschüttelungsäthers wurde ein Rückstand erhalten, der verhältnismäßig um ein vielfaches größer war als bei den übrigen Versuchen, der aber einen ganz anderen Charakter aufwies. Er bildete eine stark saure, dickflüssige, ölartige Flüssigkeit von stechendem Geruch (offenbar darstellend, was Mühlhäuser<sup>2)</sup> mit dem Namen «Chlorazol» bezeichnet hat). Bei Verdünnung mit mehreren Litern zimmerwarmem Wasser trat milchige Trübung ein. Nach 24stündiger Aufbewahrung bei kühler Temperatur wurde die klare Flüssigkeit von einer pflasterähnlichen Masse auf dem Boden des Gefäßes abdekantiert. Aus der klaren Flüssigkeit setzte sich während 24stündiger Aufbewahrung in kaltem Zimmer eine fast farblose, lockere Masse von äußerst schmalen Krystallnadeln ab, die abgetrennt wurde (Gewicht: 4,5 g). Nach wiederholter Umkrystallisierung erst aus warmem Wasser, schließlich aus verdünntem Spiritus wurde ein aus feinen, seidenglänzenden Nadeln bestehendes Präparat erhalten. Geruch schwach aromatisch, Geschmack säuerlich-bitter.

#### Elementaranalysen.

- |                     |                           |              |             |
|---------------------|---------------------------|--------------|-------------|
| a) 3,222 mg ergaben | 4,91 mg CO <sub>2</sub> , | entsprechend | 41,59 % C,  |
| 3,222 » »           | 0,67 » H <sub>2</sub> O,  | »            | 2,33 % H,   |
| b) 7,143 » »        | 10,50 » AgCl,             | »            | 36,37 % Cl. |

Diese Werte zeigen, daß das erhaltene Präparat, trotz der wiederholten Umkrystallisierung und des schönen Aussehens,

<sup>1)</sup> Daß Glutin, bei dazu geeigneter Versuchsanordnung, gleichwohl zur Entstehung auch dieses Produktes führen kann, ist an anderer Stelle (Mitteil. IV, Diese Zeitschr., Bd. 98, S. 93—96 [1916]) nachgewiesen worden.

<sup>2)</sup> Ann. d. Chemie u. Pharmacie, Bd. 90, S. 171—181 (1854).

nicht eine einheitliche Substanz ist, worauf auch die protrahierte Schmelztemperatur hinweist.<sup>1)</sup> Allem nach zu urteilen, liegt der Hauptsache nach eine Mischung von Dichlorbenzoesäure (C-Gehalt: 43,98%) mit Dichloroxybenzoesäure (C-Gehalt: 40,58%) vor. Zu einer Dichloroxybenzoesäure («einer Bichlorosalicylsäure») ist auch Mühlhäuser<sup>2)</sup> gekommen, wenn auch auf mehr indirektem Wege, nämlich dadurch, daß er «mit dem Hundertfachen rauchender Salpetersäure (spez. Gew. 1,5)» ein bei Königswasserbehandlung von Hühnereiweiß erhaltenes Rohprodukt (von der empirischen Formel  $C_{12}H_{12}O_4NCl_3$ ) destillierte.

**Zusammenfassung.**

Als Produkte tiefgreifender Salpetersäureeinwirkung auf Proteinstoffmaterial sind, im Laufe der Arbeit, nachstende 11 Verbindungen, sämtlich Säuren darstellend, isoliert worden:

Benzoessäure,  
Bernsteinsäure,  
Methylsulfosäure,  
Oxalsäure,  
Oxyisobuttersäure, (α-),  
Nitrobenzoesäure, Para-,  
                                  »                  Meta-,  
Pikrinsäure,  
Terephthalsäure,  
Säure:  $C_4H_3O_4N_3$ ,  
      » :  $C_5H_3O_3N_2$ .

Für *Oxalsäure*, *p-Nitrobenzoesäure* und *Pikrinsäure* ist durch direkte Experimente festgestellt worden, welches Bruchstück bzw. welche Bruchstücke des Proteinstoffmoleküls die Ursprungsquelle bilden.

<sup>1)</sup> Beginnendes Schmelzen bei 158°; völlig klar erst bei etwa 10 Grad darüber.

<sup>2)</sup> a. a. O. (1857), S. 180f.