

## Neutralsalzverbindungen der Aminosäuren und Polypeptide.

(Ein Beitrag zur Frage nach der Natur der Adsorption von Salzen an Eiweißkörper.)

Von PAUL PFEIFFER, Bonn.

(Eingez. 18./I. 1923.)

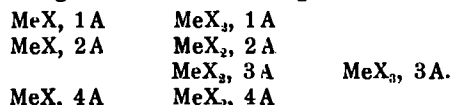
Bekanntlich vermögen die Neutralsalze nach zwei verschiedenen Richtungen hin auf Eiweißkörper einzuwirken. Einerseits werden die meisten Eiweißkörper aus ihren wässerigen Lösungen durch Zusatz konzentrierter Salzlösungen ausgesalzen, andererseits besitzen die Eiweißkörper die Fähigkeit, sich in gelöstem, wie in festem Zustande mit Salzen zu vereinigen. Diese Vereinigungen von Eiweißkörpern mit Salzen, die uns hier näher beschäftigen sollen, rechnet man gewöhnlich zu den Adsorptionen; man nimmt meist an, daß ihre Bildung ganz wesentlich mit der kolloidalen Natur der Eiweißkörper zusammenhängt. Nun ist aber der Begriff der Adsorptionen sehr wenig bestimmt; man faßt unter diesem Begriff ganz verschiedenartige Dinge zusammen, so z. B. die Verdichtungen von Gasen an festen Oberflächen, die sicher den physikalischen Kohäsionswirkungen nahestehen und die Anfärbungen der Textilfasern mit organischen Farbstoffen, die unverkennbar durch chemische Kräfte bewirkt oder wenigstens stark beeinflußt werden. Zwischen solchen Extremen haben wir alle denkbaren Übergänge.

Zur Aufklärung der Natur der Adsorptionen von Salzen an Eiweißkörper hielt ich es für zweckmäßig, Modellversuche anzustellen, d. h. das Verhalten von Verbindungen gegen Neutralsalze zu studieren, die chemisch einheitlich sind, echte Lösungen geben und dabei den Eiweißkörpern chemisch möglichst nahestehen. Es wurden daher umfangreiche, vergleichende Versuche über das Verhalten der Aminosäuren und einfacheren Polypeptide gegen Neutralsalze in Angriff genommen. Die hierbei erhaltenen Resultate mußten wertvollen Aufschluß über die Systeme Eiweiß + Neutralsalz geben, da ja die Eiweißkörper den chemischen Charakter von Aminosäuren haben.

Die ersten Resultate der Untersuchung wurden bereits 1912 in Gemeinschaft mit J. v. Modelski publiziert<sup>1)</sup>. Die Arbeit ist inzwischen, mit durch äußere Umstände bedingten Unterbrechungen, gemeinsam mit Fr. Wittka<sup>2)</sup>, J. Würgler<sup>3)</sup>, Frau M. Klosmann<sup>4)</sup> und Fräulein O. Angern<sup>5)</sup> fortgesetzt worden<sup>6)</sup>. Eine ausführlichere Mitteilung wird demnächst an anderer Stelle erscheinen.

Als wichtigstes Ergebnis der Untersuchung sei hervorgehoben, daß die Aminosäuren, wie Glykokoll, Alanin und Sarkosin, dem sich auch das Glykoll-Betain anschließt, mit Neutralsalzen wohlcharakterisierte Verbindungen einheitlicher Zusammensetzung geben. Man erhält sie am einfachsten durch Verdunstenlassen oder Eindampfen der wässerigen Lösungen von Aminosäuren und Neutralsalzen unter bestimmten Bedingungen der Temperatur, der Konzentration und der Mengenverhältnisse der Komponenten, die jeweils festgestellt werden müssen; vielfach lassen sie sich auch aus der wässerigen Lösung der Komponenten durch Alkohol ausfällen. Die Additionsprodukte sind gut kristallisiert und in Wasser klar mit neutraler Reaktion löslich.

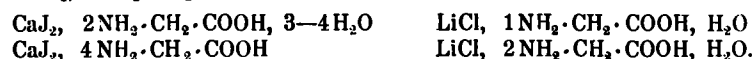
Die Zusammensetzung der von uns isolierten Additionsprodukte läßt sich durch folgende Formeln wiedergeben:



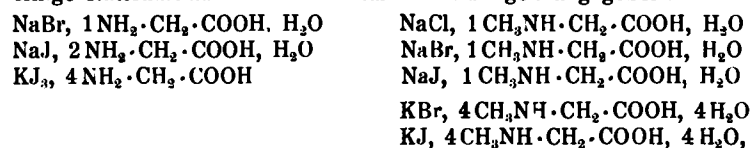
Weitere Verbindungstypen aufzufinden ist uns bisher nicht gelungen; vor allem fehlen noch Verbindungen des Typus  $\text{MeX}, 3\text{A}$  und mehrere Verbindungsreihen der Salze  $\text{MeX}_3$ . Es gelang uns auch nicht, Verbindungen darzustellen, in denen auf 1 Aminosäuremolekül mehr als 1 Salzmolekül kommt. Der „Maximaltypus“  $\text{MeX}_n, 4\text{A}$  wird sowohl bei Salzen einwertiger, wie bei Salzen zweiwertiger Metalle erreicht, steht also in keiner Beziehung zur Wertigkeit des Metallatoms.

Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß in zahlreichen Fällen Neutralsalz und Aminosäure in verschiedenen Molekularver-

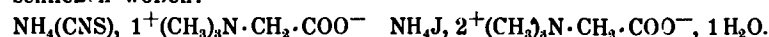
hältnissen zusammentreten können. Einige Beispiele seien herausgegriffen:



Sie zeigen uns, daß bei den Calciumsalzen die höchsten Verbindungstypen wasserfrei kristallisieren; sie sind aber durchaus luftbeständig. Von weiteren Salzverbindungen der Aminosäuren seien hier noch einige Natriumsalz- und Kaliumsalzverbindungen angegeben:

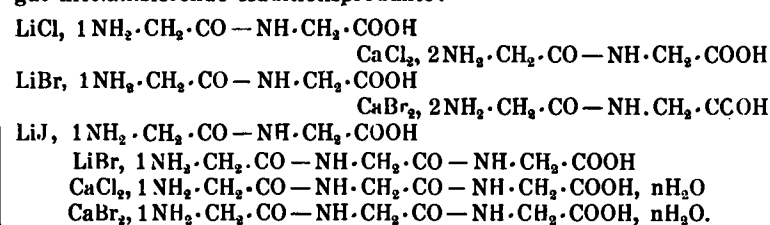


denen wir noch zwei Ammoniumsalzverbindungen des Betains anschließen wollen:

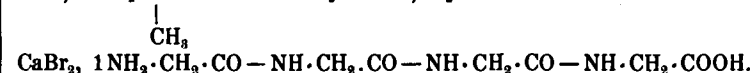
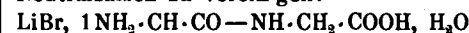


Eine Kochsalzverbindung des Glykokolls existiert, wenigstens bei gewöhnlicher Temperatur, nicht.

Um diese Resultate zur Aufklärung der Natur der „Adsorptionen“ von Salzen an Eiweißkörper verwenden zu können, war es unbedingt notwendig, auch einige Polypeptide auf ihr Verhalten gegen Neutralsalze zu prüfen. Zur Anwendung kamen zunächst Glycylglycin und Diglycylglycin, auch sie addieren leicht Salze. Isoliert wurden folgende, gut kristallisierende Additionsprodukte:



Neuerdings ist es gelungen, auch ein gemischtes Dipeptid, das Alanylglycin und vor allem auch das Tetrapeptid Glycylidiglycylglycin, welches schon eine ganz charakteristische Biuretreaktion gibt, mit Neutralsalzen zu vereinigen:



Auffällig und für eine zukünftige Auswertung der Daten über die Eiweiß-Salzverbindungen von Interesse ist die Tatsache, daß bei wachsender Zahl der Aminosäurekomponenten des Polypeptids die Zahl der pro Molekül aufgenommenen Salzmoleküle keine Tendenz zeigt, zu wachsen.

Die für das Verständnis des Verhaltens gelöster Eiweißkörper gegen Neutralsalze wichtige Frage, ob die Neutralsalzverbindungen der Aminosäuren und Polypeptide, resp. ihre Komplexionen, auch in wässriger Lösung existieren (im Gleichgewicht mit ihren Komponenten) konnte durch Löslichkeitsversuche, Molekulargewichtsbestimmungen und Messung der optischen Aktivität der Lösungen in positivem Sinne entschieden werden.

Wir fanden, daß in all den Fällen, in denen sich kristallisierte Verbindungen zwischen Salzen und Aminosäuren isolieren lassen, die Löslichkeit der Aminosäuren in Wasser durch die betreffenden Salze stark erhöht wird, eine Tatsache, die sich nur durch die Annahme erklären läßt, daß solche Salzverbindungen auch in Lösung existieren. Daß sich Löslichkeitserhöhungen auch dann ergeben, wenn sich feste Additionsprodukte nicht fassen lassen, ist ohne weiteres verständlich. In derartigen Fällen kann aber auch die Löslichkeit der Aminosäure in Wasser durch Salzzusatz so erheblich herabgesetzt werden, daß starke Aussalzen eintreten. Diese Aussalzen, für die ganz charakteristische Ionenreihen maßgebend sind, die den bekannten Hofmeisterschen Reihen nahestehen, sind ebenfalls genau untersucht worden. Sie sind für das Verständnis des Aussalzens der Eiweißkörper von Wichtigkeit; auch kann man auf Grund des unterschiedlichen Verhaltens der Aminosäuren beim Aussalzen Trennungen einzelner Aminosäuren voneinander ausführen.

<sup>1)</sup> H. 81, 329 [1912]; 85, 1 [1913].

<sup>2)</sup> B. 48, 1041, 1289, 1938 [1915]; Chem.-Ztg. 40, 357 [1916] (Zur Theorie des Färbeprozesses).

<sup>3)</sup> B. 48, 1938 [1915]; H. 97, 128 [1916].

<sup>4)</sup> Noch nicht veröffentlicht.

<sup>5)</sup> Siehe auch King u. Palma, C. 1921, I, 10.

Wir fanden ferner, daß in nicht zu verdünnten Lösungen die Gefrierpunktsdepression von Aminosäure + Neutralsalz kleiner ist als die Summe der Einzeldepressionen, eine Tatsache, die ebenfalls für das Vorhandensein von Additionsprodukten zwischen Aminosäure und Neutralsalz resp. Neutralsalzionen in wässriger Lösung spricht. Es wurde eingehend der Einfluß der Natur und des Molekularverhältnisses der Komponenten, wie auch der Einfluß der Verdünnung auf die Gefrierpunktsniedrigungen der Aminosäure-Salz-Lösungen untersucht. Bei dem heutigen Stand der Theorie der Lösungen ist es aber leider noch nicht möglich, die erhaltenen Zahlen quantitativ auszuwerten.

Daß die Drehungswerte gelöster, optisch aktiver Aminosäuren durch Neutralsalze beeinflusst werden, spricht ebenfalls für die Existenz von Additionsprodukten in wässriger Lösung.

Unser Befund, daß Aminosäuren und Polypeptide mit Neutralsalzen (vor allem mit Alkali- und Erdkalisalzen) gut definierte einheitliche Verbindungen geben, die auch in wässriger Lösung, im Gleichgewicht mit den Komponenten, bestehen, wirft ein helles Licht auf die Adsorption von Salzen an Eiweißkörper. Da die Eiweißkörper ihrer chemischen Natur nach wahrscheinlich hoch molekulare Polypeptide sind, jedenfalls aber solchen sehr nahe stehen, so müssen wir annehmen, daß auch sie, wie die gewöhnlichen Aminosäuren, Affinitätskräfte zur Bindung von Neutralsalzen besitzen, das heißt, wir müssen die Salzadsorptionen der Eiweißkörper als chemische Verbindungen betrachten, vergleichbar den Salzverbindungen der Aminosäuren und Polypeptide.

Daß sich für die Salzadsorptionen der Eiweißkörper im allgemeinen keine konstanten Molekularverhältnisse nachweisen lassen, beruht wohl darauf, daß sich bei der Herstellung solcher Verbindungen die Salzmenge an die an der Oberfläche der kolloidalen Eiweißpartikeln befindlichen Eiweißmoleküle anlagern, in das Innere der Partikeln aber kaum eindringen können.

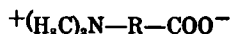
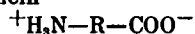
In diesem Zusammenhang ist es für uns von Interesse, daß Kossel<sup>6)</sup> schon 1879 die Ansicht vertreten hat, daß die aus calciumsalzhaltigen wässrigen Eiweißlösungen mit Alkohol gefällten salzhaltigen Eiweißkörper chemische Verbindungen zwischen Salz und Eiweißkörper sind, und daß W. Pauli, vor allem auf Grund der mit Oryng<sup>7)</sup> und Matula<sup>8)</sup> durchgeführten Untersuchungen (1915/17) gezeigt hat, daß wässrige Lösungen von Salzeiweißverbindungen existieren. Die ersten Resultate unserer eigenen Untersuchungen sind 1912 mitgeteilt worden.

Die Untersuchung und Aufklärung der Salzverbindungen der Aminosäuren und Polypeptide regt zu mannigfachen Betrachtungen auf physiologisch-chemischem und technisch-chemischem Gebiete an. So erscheint es möglich, daß die Hauptsatz der Knochen und Zähne eine chemische Verbindung zwischen dem Eiweißkörper Kollagen und den Salzen Calciumphosphat und Calciumcarbonat oder einer Doppelverbindung derselben darstellt. Zu untersuchen wäre auch, ob das Anfärben von Wolle und Seide mit organischen Farbstoffen in allen Fällen ein Salzbildungsprozeß zwischen Faser und Farbstoffsäure oder Farbstoffbase ist (entsprechend der Nietzkischen Ansicht), ob nicht auch in bestimmten Fällen Farbstoffsalze zur Anlagerung gelangen. Mit einer solchen chemischen Bindung von Farbstoffsalzen haben wir es sicherlich in vielen Fällen beim Anfärben der Baumwolle mit substantiven Farbstoffen zu tun. Es ist ja bekannt, daß z. B. die Farbstoffe der Kongorotgruppe als Salze auf die Faser gehen. Zwar ist die Baumwolle ihrem Hauptbestandteil nach kein Eiweißkörper, sondern ein Kohlehydrat. Aber wir wissen von der Chemie der einfacheren Kohlehydrate her, daß sich die-e gegen Salze ähnlich wie die Aminosäuren und Polypeptide verhalten; es sind eine ganze Reihe von Neutralsalzverbindungen der Glucose, Fructose und Saccharose bekannt.

Jedenfalls bin ich der Ansicht, daß man beim Studium von Vorgängen an Kolloidsubstanzen, z. B. beim Studium der Färbvorgänge, des Beschwerens der Seide, des Gerbprozesses usw., neben den kolloidchemischen Vorgängen wieder mehr und mehr den rein chemischen Tatsachen Beachtung schenken sollte. Modellversuche an chemisch einheitlichen Verbindungen nichtkolloidalen Charakters sind sicherlich oft von großem Werte.

Zum Schluß noch einige Worte über die Konstitution unserer Neutralsalzverbindungen.

Ich habe vor kurzem zu zeigen versucht<sup>9)</sup>, daß die Aminosäuren und Betaine, auch in kristallisiertem Zustande, dipolartige Gebilde der Formeln

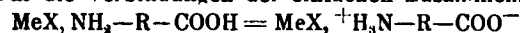


sind. Maßgebend für diese Auffassung war vor allem der Umstand,

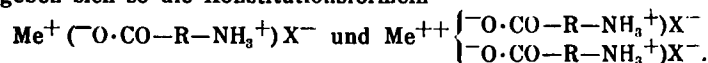
daß nur bei Annahme dieser Dipolformeln die Betaine unseren sterischen Gesetzen gehorchen.

Die Dipolformeln der Aminosäuren legen nun den Gedanken nahe, daß unsere Neutralsalzverbindungen zur Klasse der Doppelsalze gehören, daß sie durch Anlagerung der Salzionen an die beiden Pole der Aminosäuren entstehen.

Für die Verbindungen der einfachen Zusammensetzung



und  $MeX_2, 2NH_3-R-COOH = MeX_2, 2^+H_3N-R-COO^-$  ergeben sich so die Konstitutionsformeln



Werden von einem Salzäquivalent mehrere Aminosäuremoleküle angelagert, so kommen wir zu ganz analogen Formeln. Der Kristallaufbau unserer Salzverbindungen läßt sich mit Hilfe von Ionengittermodellen ebenfalls leicht verstehen. [A. 18.]

## Quantitative Bestimmung der inkrustierenden Bestandteile in der Flachsfaser durch Verzuckerung der Cellulose.

Von Prof. P. P. BUDNIKOFF und Assistent P. W. SOLOTAREFF.

Mitteilung aus dem Chemisch-technischen Laboratorium des Polytechnischen Instituts zu Iwanowo-Wosnessensk.

(Eingeg. 11./1. 1923.)

Auf der Suche nach einem Verfahren, welches eine hochgradige Kotonisierung des Flachsabfalles ermöglicht und ein brauchbares Spinnmaterial für Baumwollspinnerei nach sächsischer Methode liefert, stellten wir im Jahre 1919<sup>1)</sup> eine Reihe von Laboratoriumsversuchen an, um die Frage zu klären, mit welchen Reagensmitteln und unter welchen Bedingungen eine hochgradige Kotonisierung des Flachsabfalles erzielt werden könnte; d. h. inwieweit die Flachsfaser sich von fremden Bestandteilen reinigen läßt.

Die Ergebnisse unserer Arbeiten sind aus folgender Tabelle ersichtlich. 20 g Flachsabfall wurden bearbeitet mit:

- |   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 250 g Wasser in Verlauf 1 Stunde bei 140°.                               | Gewichtsverlust 7,5 % |
| 2. 16,1 g Natriumsulfat gelöst in 250 ccm Wasser in Verlauf 1 Std. b. 140°. | Gewichtsverl. 9,5 %   |
| 3. 3,7 g Ätzalkali gelöst in 250 ccm Wasser                                 | 20,6 %                |
| 4. 12,5 g Natriumthiosulfat gelöst in 250 ccm Wasser                        | 22,55 %               |
| 5. 5,3 g Soda gelöst in 250 ccm Wasser                                      | 26,32 %               |
| 6. 2 g Ätznatron gelöst in 250 ccm Wasser                                   | 28,4 %                |
| 7. 3,9 g Schwefelnatrium gelöst in 250 ccm Wasser                           | 31,17 %               |
| 8. 3 g Naphthen-Sulfonsäuren gelöst in 250 ccm Wasser                       | 12,18 %               |
| 9. 2 g Naphthen-Sulfonsäuren mit Ätznatron gelöst in 250 ccm Wasser         | 32,9 %                |
| 10. 6 g Äthylalkohol mit Ätznatron gelöst in 250 ccm Wasser                 | 32,68 %               |

Was die fabrikmäßige Bearbeitungsweise betrifft, so haben wir folgendes Verfahren ausgearbeitet:

Der Flachsabfall wird in einen Kessel eingebracht und mit einer Lösung von Ätznatron (8% vom Abfallgewicht) und Natriumbisulfid (1½% vom Abfallgewicht bei einer Stärke der Lösung von 38° Bé) übergossen, hierauf der Kessel geschlossen und der Dampf eingelassen.

Nachdem der Kesseldruck bis auf 40 Pf. russ. gestiegen, wird die Lauge in einen zweiten Kessel mit Flachsabfall geleitet, und ein Zusatz von 8% Ätznatron, 1½% Natriumbisulfid und so viel Wasser gegeben, daß der eingebrachte Abfall von der Flüssigkeit bedeckt wird. Nachdem der Kessel in Betrieb gesetzt und der Kesseldruck von 40 Pf. russ. erreicht ist, wird die Lauge wiederum mit einem Zusatz derselben Quantitäten Ätznatron und Natriumbisulfid in einen dritten Kessel geleitet und zum Kochen eines dritten Quantum Flachsabfall verwertet.

<sup>1)</sup> Zur Frage der Kotonisierung des Flachsabfalles. Arbeiten der Kommission der Chem. Fakultät am Polytechn. Inst. zu Iwanowo-Wosnessensk. S. G. Schimansky, P. P. Budnikoff u. Assistent P. W. Solotareff, I. Iwanoff, I. M. Chailoff u. K. S. Smirnoff, Bd. I, II, III, 1919—1921. Auch Berichte des Polytechn. Inst. zu Iwanowo-Wosnessensk Nr. 3, 4, 6.

<sup>6)</sup> H. 3, 58 [1879].

<sup>7)</sup> Bio. Z. 70, 368 [1915].

<sup>8)</sup> Bio. Z. 80, 187 [1917].

<sup>9)</sup> B. 55, 1762 [1922]; B. 55, 1769 (in Gemeinschaft mit G. Haefelin).