

**180. Erich Schmidt und Karl Braunsdorf: Zur Kenntnis  
der natürlichen Eiweißstoffe, I. Mitteilung: Verhalten von  
Chlordioxyd gegenüber organischen Verbindungen.**

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 24. März 1922.)

Glykosamin, das in gewissem Sinne einen Übergang von den Kohlenhydraten zu den Amino-säuren darstellt, setzt sich als salzaures Salz mit Chlordioxyd nicht um<sup>1</sup>). Es lag daher nahe, Amino-säuren in ihrem Verhalten gegenüber Chlordioxyd mittels der früher beschriebenen Methode zu prüfen<sup>2</sup>). Nach dieser wird eine quantitativ ermittelte Chlordioxyd-Menge längere Zeit der Einwirkung von Amino-säuren ausgesetzt. Die durch den hydrolytischen Abbau der Eiweißstoffe bekannten Amino-säuren lassen sich in einerseits gegenüber Chlordioxyd beständige und andererseits von Chlordioxyd angreifbare Amino-säuren einteilen.

Zu denjenigen Amino-säuren, die sich mit Chlordioxyd nicht umsetzen, gehören Glykokoll, Phenyl-amino-essigsäure, Hippursäure, Betain, Kreatin, Alanin, Phenyl-alanin, Valin, Leucin, Asparaginsäure, Asparagin, Glutaminsäure und Serin. Das gleiche Verhalten gegenüber Chlordioxyd zeigen ferner Oxy-prolin<sup>3</sup>) und Taurin, sowie die von zuvor genannten Amino-säuren sich ableitenden Peptide, wie Glycyl-glycin, Leucyl-glycin und Triglycin.

Die Beständigkeit des Chlordioxyds beschränkt sich aber nicht nur auf die erwähnten Amino-säuren, sondern auch auf Verbindungen mit denjenigen Atomgruppen, die für genannte Amino-säuren charakteristisch sind.

So erwiesen sich die aliphatisch gebundene Aminogruppe und ihre Alkyl-Substitutionsprodukte, die Amido- und Imido-Gruppe, die Hydroxylgruppe in Alkoholen, sowie Oxy-säuren, die freie und veresterte Carboxylgruppe ein- und mehrbasischer Säuren, die Nitrilgruppe, die Methylengruppe, die den Aufbau homologer Reihen bedingt, und endlich Ringsysteme, wie Benzol, Naphthalin, Cyclohexan, sowie die Salze des Pyridins, Chinolins und Piperidins gegenüber Chlordioxyd indifferent.

<sup>1)</sup> E. Schmidt und E. Graumann, B. 54, 1871 [1921].

<sup>2)</sup> B. 54, 1863 ff. [1921].

<sup>3)</sup> Vergl. S. 1533, Anm. 2.

In keinem Falle wurde ein Chlordioxyd-Verbrauch außerhalb der analytisch zulässigen Fehlergrenzen beobachtet, so daß die Beständigkeit der genannten Amino-säuren und der sich aus ihnen aufbauenden Peptide bzw. Polypeptide weitgehend bestätigt wird. Im Gegensatz zu den genannten Amino-säuren setzen sich Tyrosin, 3.4-Dioxyphenyl-alanin, Tryptophan, Histidin sowie Cystin mit Chlordioxyd um. Der Grund hierfür ist, abgesehen vom Cystin, der Phenol-Charakter und die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung, Eigenschaften, die diese Amino-säuren auszeichnen.

Die Unbeständigkeit des Cystins gegenüber Chlordioxyd ist auf die Atomgruppierung  $\{C-S-S-C\}$  zurückzuführen, wie sich aus der Umsetzung von Diäthyldisulfid mit Chlordioxyd ergibt. Überhaupt sind Kohlenstoff-Schwefelverbindungen wie Mercaptane und Thio-harnstoff für Chlordioxyd angreifbar.

Der Eintritt der Hydroxyl- oder Amino-Gruppe in den Benzolkern macht diesen der Umsetzung mit Chlordioxyd zugänglich, wie durch das Verhalten von Benzol, Phenyl-alanin einerseits und Phenol, Tyrosin andererseits erläutert wird.

Daß ungesättigte Kohlenstoffverbindungen mit Chlordioxyd reagieren, ist von E. Fürst<sup>1)</sup> erkannt worden, der als Einwirkungsprodukt von Chlordioxyd auf Äthylen Monochlor-essigsäure erhielt.

Indessen ist die Umsetzung von Chlordioxyd mit ungesättigten Kohlenstoffverbindungen hinsichtlich ihrer Allgemeinheit einzuschränken. Während nämlich z. B. Oleinsäure als ungesättigte Verbindung mit Chlordioxyd reagiert, unterbleibt der Angriff des Chlordioxyds auf  $\alpha$ -Crotonsäure, Fumar-, Maleinsäure, Maleinsäure-anhydrid und  $\beta$ -Nitro-anethol, Verbindungen, die am ungesättigten Kohlenstoffatom eine Carboxyl- oder eine Nitro-Gruppe tragen.

Über die Einwirkung von Chlordioxyd auf natürliche Eiweißstoffe, für die sich nach diesem Verfahren eine neue Möglichkeit der Spaltung ergeben hat, werden wir später berichten, teilen aber schon jetzt über die Verwendung von Chlordioxyd in der Histologie einiges mit.

Die mikroskopische Untersuchung vieler tierischer Gewebe wird durch vorhandene braune oder schwarze Farbstoffe, sogenannte Melanine, erschwert bzw. unmöglich gemacht. Es ist wahrscheinlich, daß die Melanine aus Verbindungen, wie z. B. Tyrosin, 3.4-Dioxyphenyl-alanin und Tryptophan hervorgehen, die

<sup>1)</sup> A. 206, 78 ff. [1881].

unter dem Einfluß von Oxydasen dunkel gefärbte Pigmente liefern. Die letztgenannte Amino-säure geht leicht in dunkle Farbstoffe<sup>1)</sup> über, und die Bildung des Sepia-Schwarzes<sup>2)</sup>, des Sekretes der Tintenfische, führt man auf die Umwandlung des Tyrosins zurück. Ferner ist für den Melanismus der Schmetterlinge<sup>3)</sup> die fermentative Oxydation des Tyrosins, sowie von dem Dioxypyhenylalanin nahestehenden Verbindungen wahrscheinlich, die gleichfalls als Ursache der dunklen Pigmentierung der Haut beim Menschen und den höheren Tieren<sup>4)</sup> angenommen werden.

Wie die Amino-säuren Tyrosin, Dioxypyhenylalanin, Tryptophan, so werden auch ihre farbigen Umwandlungsprodukte von Chlordioxyd angegriffen. Pigmentierte undurchsichtige Gewebe werden daher nach der Behandlung mit Chlordioxyd, das zweckmäßig in essigsaurer Lösung<sup>5)</sup> angewandt wird, in überraschender Weise aufgehellt und der mikroskopischen Beobachtung zugänglich gemacht, ohne daß die Strukturen der Gewebe auch nur im mindesten verändert werden. Infolgedessen gleicht das anatomische Bild der mit Chlordioxyd-Essigsäure behandelten Gewebe, abgesehen vom gelösten Pigment, in allen Einzelheiten dem des ursprünglichen Materials, so daß Chlordioxyd-Essigsäure bereits ein unentbehrliches Reagens<sup>6)</sup> für die mikroskopische Technik geworden ist.

Am hiesigen zoologischen Universitätsinstitut hat Hr. Dr. Paul Schulze, dem wir auch an dieser Stelle für die fruchtbare Zusammenarbeit herzlichst danken, die Einwirkung von Chlordioxyd-Essigsäure auf tierische Gewebe histologisch untersucht und in

<sup>1)</sup> E. Abderhalden, H. 78, 159 [1912]; 85, 92 [1913].

<sup>2)</sup> v. Fürth und Schneider, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 241 [1902].

<sup>3)</sup> L. Brecher, Arch. f. Entwicklungsmechanik 43, 154 [1918]. — K. Hasebroek, Biol. Zentralblatt 41, 367 [1921]; Fermentforschung 5, 1 ff. [1921].

<sup>4)</sup> Br. Bloch, Arch. f. Dermat. u. Syphilis 124, 197 [1917].

<sup>5)</sup> E. Schmidt und F. Duysen, B. 54, 3241 ff. [1921].

<sup>6)</sup> Erfreulicherweise hat sich die Köln-Rottweil Aktiengesellschaft, Berlin NW. 40, Hindersinstr. 8, bereit erklärt, Chlordioxyd-Essigsäure, nach eigenem Verfahren dargestellt, unter dem Namen »Diaphanol« in den Handel zu bringen. Wäßrige Chlordioxyd-Lösungen werden unter dem Namen »Sporal« von der gleichen Gesellschaft hergestellt und dienen als hervorragendes Beizmittel für Saatgut.

der Abhandlung »Ein neues Verfahren zum Bleichen und Erweichen tierischer Hartgebilde«<sup>1)</sup> an zahlreichen Beispielen beschrieben.

Die in vorliegender Arbeit untersuchten Amino-säuren und Peptide sind uns von Hrn. Dr. Hermann Fischer aus der Sammlung Emil Fischers bereitwilligst zur Verfügung gestellt worden. Für dieses liebenswürdige Entgegenkommen sprechen wir Hrn. Dr. Fischer unsern ergebensten Dank aus.

### Beschreibung der Versuche.

Um das

Verhalten von Verbindungen gegenüber Chlordioxyd zu untersuchen, hat sich die früher angegebene Methode<sup>2)</sup> bewährt.

Nur erweist es sich für die maßanalytische Bestimmung von Chlordioxyd als zweckmäßig, die erforderlichen Reagenzien in abgeänderter, nachstehender Reihenfolge in das Titriergefäß einzuführen:

1. 3 ccm 2-n. Schwefelsäure,
2. 1.5 ccm 2-n. wäßrige Jodkalium-Lösung,
3. 2—3 ccm Wasser zum Nachspülen.

Um zu entscheiden, ob sich Substanzen mit Chlordioxyd umsetzen oder nicht, dürfen für die Lagerversuche mit Chlordioxyd nur Verbindungen von großem Reinheitsgrad angewandt werden. Die zu prüfende Verbindung, etwa 0.5 g, ist gegenüber Chlordioxyd beständig, wenn die Differenz zwischen der angewandten und der nach 24, 48 bzw. 72 Stdn. gefundenen Chlordioxyd-Menge nicht mehr als — 2% beträgt. Bei einigen Amino-säuren ist während der Lagerversuche die Anwesenheit einer geringen Menge Chlorwasserstoffsäure — etwa 2 ccm  $n/10$  — erforderlich, um Analysenwerte innerhalb der festgesetzten Fehlergrenze zu erhalten. Während der Dauer der Lagerversuche sind die Titriergefäße im Dunkeln aufzubewahren.

Die nachstehenden Verbindungen sind gegenüber Chlordioxyd beständig.

#### a) Amino-säuren und Derivate.

1. Urethan: 0.5 g; 72 Stdn.

Angew. ccm $n/5$ -ClO <sub>2</sub> . . . . .	10.05	10.10
Gef.      »      »      . . . . .	10.15	
Differenz in %      »      . . . . .		9.95
		— 1.49

<sup>1)</sup> Sitzungsber. d. Gesellsch. naturforschend. Freunde, Heft 8—10, 135 ff. [1921].

<sup>2)</sup> E. Schmidt und E. Graumann, B. 54, 1862 ff. [1921].

	Einwirkungsdauer von ClO <sub>2</sub> in Std.	Differenz von angew. und gef. ClO <sub>2</sub> in %
2. Glykokoll <sup>1)</sup>	72	— 1.05
3. Glykokoll-Hydrochlorid	72	— 1.00
4. Glykokoll-Äthylester-Hydrochlorid	72	— 0.19
5. Amino-acetonitril-Sulfat	24	— 0.96
6. Glycinamid-Hydrochlorid	24	— 0.96
7. Phenyl-amino-essigsäure	72	— 0.19 und — 1.00
8. Hippursäure	72	— 0.97
9. Betain	72	— 0.45
10. Betain-Hydrochlorid	72	— 0.20
11. Kreatin	72	— 1.36
12. Alanin	72	— 1.21
13. Phenyl-alanin (2 ccm $n/10$ -HCl)	72	— 0.18
14. Valin	72	— 0.48
15. Leucin	24	— 1.10
16. Leucin-Hydrochlorid	72	— 0.45
17. Asparaginsäure	72	— 1.41
18. Asparagin (2 ccm $n/10$ -HCl)	24	— 0.46
19. Glutaminsäure	72	— 0.46
20. Serin (2 ccm $n/10$ -HCl)	48	— 1.38
21. Oxy-prolin (2 ccm 2-n. HCl) <sup>2)</sup>	90	— 0.59
22. Taurin	48	— 0.20
23. Glycyl-glycin-Hydrochlorid	72	— 0.29
24. Leucyl-glycin	72	— 0.73
25. Triglycin	72	— 0.44

b) **Amine und Derivate<sup>3)</sup>.**

Tetramethylendiamin-Hydrochlorid, Pentamethylendiamin-Hydrochlorid, 1-Amino-propanol-(2)-Oxalat, Guanidin-Hydrochlorid, Tetramethyl-ammoniumchlorid, Cholin-Hydrochlorid (48 Std.).

c) **Amide und Derivate.**

Acetamid, Chlor-acetamid, Propionamid, Phenyl-acetamid, *symm.* Dimethyl-oxamid, Harnstoff, Biuret, Hydantoin.

d) **Imide.**

Glutarsäure-imid, Phthalimid (24 Std.).

<sup>1)</sup> In der für das Urethan angegebenen Weise sind auch die folgenden Analysenergebnisse ermittelt worden, die ausführlich in der Dissertation des Hrn. Karl Braunsdorf niedergelegt sind.

<sup>2)</sup> Diese Säuremenge, die 1 Mol. entspricht und zur Bildung salzauren Oxy-prolins dient, ist deshalb erforderlich, weil bei Abwesenheit von Mineralsäure Chlordioxyd auf Oxy-prolin einwirkt. Ein ähnliches Verhalten zeigt nach R. Willstätter und F. Ettlinger, A. 326, 106 [1903], das Prolin, das erst in schwefelsaurer Lösung gegenüber Kaliumpermanganat beständig ist. — Das Oxy-prolin wurde uns in dankenswerter Weise von Hrn. Prof. Dr. Hermann Leuchs überlassen.

<sup>3)</sup> Wo nicht besonders vermerkt, betrug die Einwirkungsdauer von Chlordioxyd auf die zu prüfende Substanz 72 Std.

## e) Mehrwertige Alkohole.

Äthylenglykol, Glycerin, Mannit (48 StdN.), Kohlenhydrate (vergl. B. 54, 1865–1871 [1921]), Inosit (48 StdN.).

## f) Ein- und mehrbasische Säuren, Ester.

Gesättigte Säuren: Essigsäure (vergl. B. 54, 3242 [1921]), Mono-chlor-essigsäure (24 StdN.), Stearinsäure, Benzoesäure (24 StdN.), Oxalsäure (24 StdN.), Adipinsäure, Trilaurin, Tristearin.

Ungesättigte Säuren:  $\alpha$ -Crotonsäure (24 StdN.), Maleinsäure (48 StdN.), Malinsäure-anhydrid (24 StdN.), Fumarsäure (48 StdN.).

## g) Oxy-säuren, Ester.

Milchsaures Äthyl (24 StdN.), Weinsäure, Citronensäure, Chinasäure.

## h) Nitrile.

Acetonitril, Benzonitril, Äthylendicyanid.

## i) Cyclische Verbindungen.

Benzol, Naphthalin, Cyclohexan (24 StdN.), Pyridin-Sulfat (24 StdN.), Chinolin-Hydrochlorid (24 StdN.), Piperidin-Hydrochlorid,  $\beta$ -Nitro-anethol (48 StdN.).

Die nachstehenden Verbindungen setzen sich mit Chlordioxyd um. Die Reaktion erfolgt sofort bzw. erst nach einiger Zeit, zuweilen unter Färbung des Reaktionsgemisches. So wird z. B. eine Chlordioxyd-Lösung nach Zusatz von Tyrosin oder Dioxyphenyl-alanin rot gefärbt.

## a) Amino-säuren und Derivate.

1. Tyrosin, *N*-Benzoyl-tyrosin.
2. 3,4-Dioxyphenyl-alanin.
3. Tryptophan.
4. Histidin-Hydrochlorid.
5. Cystin.

## b) Ein- und mehrwertige Phenole.

## c) Ungesättigte Kohlenstoffverbindungen.

z. B. Cyclohexen, Allylalkohol, Anethol, Zimtalkohol, Zimtaldehyd, Oleinsäure, Triolein, Harnsäure, Furfurol, Indol,  $\beta$ -Methyl-indol.

## d) Kohlenstoff-Schwefel-Verbindungen.

1. Mercaptane.
2. Dialkyldisulfide.
3. Verbindungen wie z. B. Thio-harnstoff.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.