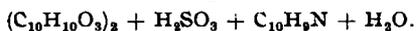


der in kleiner Menge eine Substanz auszog, die mit Naphthylamin-Hydrochlorid reagierte⁶⁾. Hiernach konnte in einer Menge von 25 mg ein Naphthylamin-Salz erhalten werden, welches zeigte, daß auch hier eine dimere Form des Coniferylaldehyds entstanden war. Luft-trocken hatte das Salz die Zusammensetzung:



Ber. C 60.10, H 5.57, S 5.34. Gef. C 60.00, H 5.76, S 5.50.

134. Emil Abderhalden und Alfred Bahn: Nachweis von *d*- α -Amino-valeriansäure (Nor-valin) neben *d*- α -Amino-isovaleriansäure (Valin) unter den Spaltprodukten des Globins auf Grund der verschiedenen Aminierungs-Geschwindigkeiten der dazugehörigen α -Bromverbindungen¹⁾.

[Aus d. Physiolog. Institut d. Universität Halle a. S.]

(Eingegangen am 1. März 1930.)

Bei der Hydrolyse einer ganzen Reihe von Proteinen konnten bei der Aufarbeitung der nach dem Verfahren von Emil Fischer erhaltenen Ester-Fractionen nach erfolgter Verseifung Krystall-Fractionen abgetrennt werden, deren Analysenwerte auf Amino-valeriansäure hindeuten, jedoch ließ vor allen Dingen das Drehungsvermögen der gewonnenen Substanzen ein Gemisch von isomeren Verbindungen vermuten. Eine reiche Erfahrung auf dem Gebiete der Aufarbeitung von aus Eiweißkörpern gewonnenen Amino-säure-Gemischen hat gezeigt, daß man in der Beurteilung der Auffindung neuer Eiweiß-Bausteine nicht vorsichtig genug sein kann. Die Amino-säuren neigen zur Bildung von Mischkrystallen. Mehrfach gelang es, durch wiederholte fraktionierte Krystallisation scheinbar als einheitlich erwiesene Krystall-Fractionen schließlich doch noch als ein Gemisch bereits bekannter Amino-säuren zu erkennen. Oft muß eine endgültige Entscheidung, ob ein neues Spaltprodukt aus Eiweiß gewonnen ist, deshalb offen bleiben, weil das isolierte Material nicht zur Darstellung von Derivaten und sonstigen Eingriffen ausreicht und infolgedessen die Identifizierung mit der entsprechenden synthetisch dargestellten Verbindung nicht durchgeführt werden kann.

Wir sahen uns deshalb nach Methoden um, die es ermöglichen, isomere Amino-säuren so scharf zu charakterisieren, daß eine Identifizierung der einen oder anderen Form auch dann möglich ist, wenn nur wenig Substanz zur Verfügung steht. Nun ist bekannt, daß die Aminierungs-Geschwindigkeiten von α -Brom-*n*-valeriansäure und α -Brom-*i*-valeriansäure so weit auseinanderliegen, daß mit Hilfe ihrer Bestimmung erkannt werden kann, welche Halogen-fettsäure vorliegt. In Abbildung 1 ist ohne

⁶⁾ Diese Substanz scheint ausschließlich zu entstehen, wenn Luft längere Zeit durchgeleitet wird; vergl. einen ähnlichen, schon früher ausgeführten Versuch (B. 56, 300 [1923]). Wahrscheinlich hat man hier durch Umlagerung von der α -Form entstandenen β -Coniferylaldehyd vor sich.

¹⁾ Ausgeführt mit Mitteln der Deutschen Gemeinschaft zur Erhaltung und Förderung der Forschung.

weiteres zu erkennen, daß die Aminierung der α -Brom-*n*-valeriansäure (B) außerordentlich viel rascher verläuft als diejenige der α -Brom-*i*-valeriansäure (A). Zum Vergleich ist in der Abbildung der zeitliche Verlauf der Aminierung der α -Brom-*i*-capronsäure (D) eingetragen. Man erkennt,

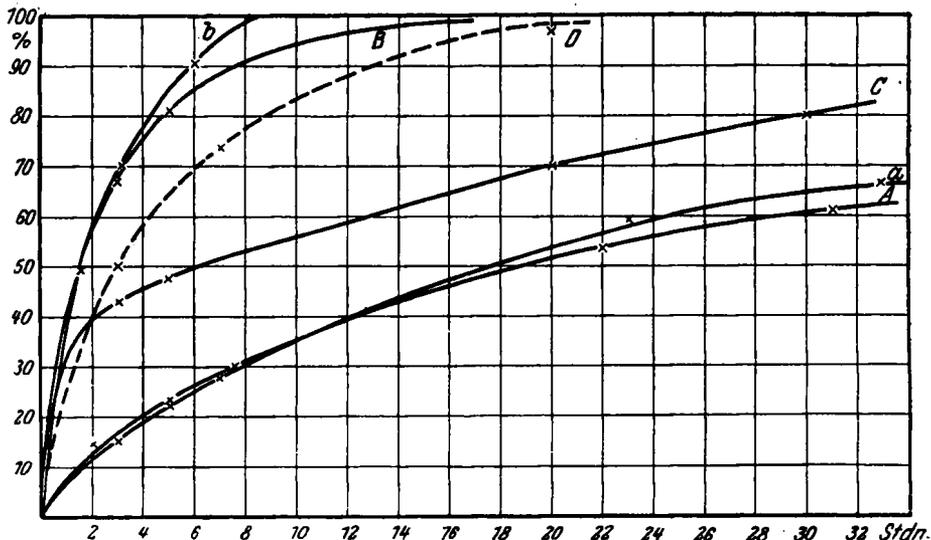


Fig. 1. Aminierungs-Verlauf bei 37°.

- a: Verlauf der Aminierung bei der *d,l*- α -Brom-*i*-valeriansäure (synthet.).
 b: " " " " *d,l*- α -Brom-*n*-valeriansäure (synthet.).
 A: " " " " α -Brom-*i*-valeriansäure
 (aus Krystall-Fraktion A).
 B: " " " " α -Brom-*n*-valeriansäure
 (aus Krystall-Fraktion B).
 C: " " " " einem Gemisch isomerer α -Brom-valeriansäuren
 (aus Krystall-Fraktion C).
 D: " " " " der *d,l*- α -Brom-*i*-capronsäure.

daß die Aminierungs-Geschwindigkeit bei dieser Halogen-fettsäure ganz erheblich viel größer ist als bei der α -Brom-*i*-valeriansäure, jedoch etwas geringer als bei der α -Brom-*n*-valeriansäure. Der Weg zur Identifizierung von Nor-valin neben Valin war nun ein gegebener. Zunächst mußten die in Frage kommenden Krystall-Fraktionen soweit als möglich in ihre einzelnen Anteile aufgelöst werden. Es gelang so, aus der sogenannten Leucin-Fraktion, die bei der Hydrolyse von Globin (dargestellt aus Hämoglobin) gewonnen worden war, durch wiederholte fraktionierte Krystallisation neben Leucin und Valin eine Verbindung abzutrennen, die folgende Analysenwerte ergab:

0.0899 g Sbst. verbrauchten 7.96 ccm n_{10} -H₂SO₄. — 0.0935 g Sbst. verbrauchten 8.05 ccm n_{10} -H₂SO₄.

C₅H₁₁NO₂ (Mol.-Gew. 117.1). Ber. N 11.96. Gef. N 12.3, 12.1.

Sie krystallisierte in glänzenden Nadeln und zeigte beim Erhitzen im zugeschmolzenen Röhrchen den Schmp. $300-303^{\circ}$ (korrig.).

Eine 5-proz. Lösung der Verbindung in 20-proz. Salzsäure ergab $\alpha = +1.14^{\circ}$, mithin $[\alpha]_D^{20} = +22.8^{\circ}$. *d*-Nor-valin zeigt $[\alpha]_D^{20} = +23^{\circ}$.

Wir führten sowohl das abgetrennte Valin als die isolierte, nach allen ihren Eigenschaften mit Nor-valin identische Verbindung mittels Nitrosylbromids in die entsprechenden Brom-fettsäuren über. Der Versuch, diese bzw. ihre Ester durch ihren Siedepunkt zu charakterisieren, ergab,

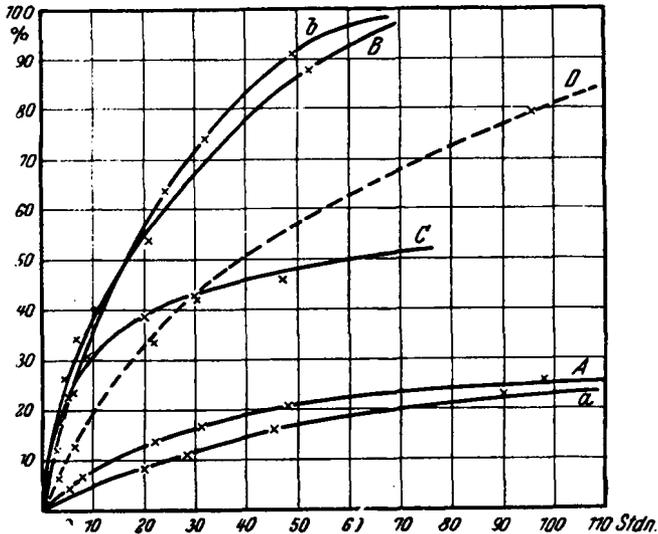


Fig. 2. Aminierungs-Verlauf bei Zimmer-Temp. (18°).

- a: Verlauf der Aminierung bei der *d*, *l*- α -Brom-*i*-valeriansäure (synthet.).
 b: " " " " " " *d*, *l*- α -Brom-*n*-valeriansäure (synthet.).
 A: " " " " " " α -Brom-*i*-valeriansäure
 (aus Krystall-Fraktion A).
 B: " " " " " " α -Brom-*n*-valeriansäure
 (aus Krystall-Fraktion B).
 C: " " " " " " einem Gemisch isomerer α -Brom-valeriansäuren
 (aus Krystall-Fraktion C).
 D: " " " " " " der *d*, *l*- α -Brom-*i*-capronsäure.

daß dieser bei beiden Verbindungen zu nahe beieinander liegt, als daß die Möglichkeit bestünde, ein Gemisch beider Bromverbindungen durch fraktionierte Destillation zu trennen. Auf die beiden Brom-fettsäuren ließen wir einerseits bei 37° und andererseits bei 18° 25-proz. wäßriges Ammoniak einwirken. Wir verfolgten dann in bestimmten Zeitabständen die Abspaltung des Broms. Wir erhielten so die in Abbildung 1 und 2 eingezeichneten Werte. Zum Vergleich verwandelten wir die entsprechenden synthetisch dargestellten Brom-fettsäuren unter genau denselben Bedingungen in die entsprechenden Amino-säuren und verfolgten auch hier den zeitlichen Verlauf der Abspaltung des Halogens. Man erkennt aus Abbildung 1 und 2 ohne weiteres, daß die von uns aus dem Eiweißkörper Globin gewonnene

Amino-valeriansäure identisch mit Nor-valin ist. Damit ist der Beweis erbracht, daß Nor-valin ein Baustein des genannten Proteins ist.

Wir haben außer den reinen Brom-fettsäuren auch ein Gemisch von solchen der Aminierung unterworfen. Das Ergebnis des Versuchs ist in Abbildung 1 und 2 in Kurve C dargestellt. Man erkennt aus ihrem Verlauf, daß in dem untersuchten Gemisch etwa 45% α -Brom-*n*-valeriansäure und 55% α -Brom-*i*-valeriansäure enthalten waren. Innerhalb der ersten 3 Stdn. waren bei 37° etwa 45% des Bromkörper-Gemisches aminiert worden. Von diesem Zeitpunkt an verlief dann die Aminierung sehr langsam. Bei Vorhandensein von optisch-aktiven Halogen-fettsäuren läßt sich der Verlauf der Aminierung auch mittels Verfolgung des Drehungsvermögens ihrer ammoniakalischen Lösung feststellen. Ferner kann man auch so vorgehen, wie an einem Beispiel im experimentellen Teil gezeigt ist, daß man bei Vorhandensein eines Gemisches der beiden isomeren Halogen-fettsäuren, die bei 37° sich vollziehende Aminierung nach kurzer Zeit unterbricht, ansäuert und mittels Äthers die noch vorhandene Halogen-fettsäure auszieht. In der wäßrigen Lösung bleibt das Aminierungsprodukt. Es besteht in der Hauptsache aus Nor-valin. Die ausgeätherte Brom-fettsäure besteht im wesentlichen aus α -Brom-*i*-valeriansäure. Diese kann man wiederum in Ammoniak auflösen und nach einiger Zeit die Aminierung wiederum unterbrechen, um nach erfolgtem Ansäuern mittels Äthers die noch vorhandene Brom-fettsäure vom Aminierungsprodukt zu trennen. Mittels dieses Verfahrens kann man, wenn man die Zeitverhältnisse entsprechend wählt, auch bei Vorliegen von Gemischen von Valin und Nor-valin bzw. der diesen beiden Amino-säuren entsprechenden Halogen-fettsäuren, in denen die eine oder andere Verbindung stark überwiegt, den Nachweis der Anwesenheit beider führen. Es ist nur notwendig, die Aminierung nach ganz kurzer Zeit zu unterbrechen. Ist bereits Aminierung in ausreichendem Umfang erfolgt, dann liegt Nor-valin vor. Handelt es sich um das Aufspüren von geringen Mengen von Valin, dann wird das Ausäthern aus der angesäuerten Aminierungs-Flüssigkeit mehrfach wiederholt. Die nach längerer Aminierungszeit verbleibende Brom-fettsäure liefert dann ohne Zweifel bei fortgesetzter Aminierung reines Valin.

Leider läßt sich das erwähnte Verfahren nicht ohne weiteres auf andere Fälle übertragen. So ist z. B. die Aminierungs-Geschwindigkeit von α -Brom-capronsäure und α -Brom-*i*-butyl-essigsäure nicht ausreichend verschieden, um die Anwesenheit der einen oder anderen Verbindung mit Sicherheit feststellen zu können.

Beschreibung der Versuche.

Verfolgung des zeitlichen Verlaufs der Aminierung:

A. der synthetisch dargestellten *d, l*- α -Brom-*n*-valeriansäure und der *d, l*- α -Brom-*i*-valeriansäure.

a) Aminierungsverlauf bei 37°: Die Brom-fettsäuren wurden in einem Überschuß von 25-proz. wäßrigem Ammoniak (auf 1 g Sbst. 5–8 ccm Ammoniak) gelöst. Die Lösung wurde dann bei Bruttemperatur aufbewahrt. In besonderen Versuchen stellten wir fest, daß eine Steigerung des Überschlusses an Ammoniak über die angegebene Menge hinaus keinen wesentlichen Einfluß auf die Aminierungs-Geschwindigkeit hat. Den Gang der Aminierung verfolgten wir dadurch, daß wir von Zeit zu Zeit Proben entnahmen und

in diesen das abgespaltene Brom nach Volhard bestimmten. Zu jeder Titration verwendeten wir 1 ccm der ammoniakalischen Lösung.

d, l- α -Brom-i-valeriansäure: 6.5 g Sbst. wurden in 40 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Brom-Abspaltung würde ein Verbrauch von 9 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm der Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	1.45	16.1
5	2.0	22.4
7	2.45	27.5
23	5.5	61
33	6.05	67.3
72	8.5	95

1 g *d, l- α -Brom-i-valeriansäure* wurde in 20 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 5.5 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 2 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
1 $\frac{1}{2}$	0.25	4.5
3	0.55	10
6 $\frac{1}{2}$	1.1	20

d, l- α -Brom-n-valeriansäure: 6.5 g Sbst. wurden in 40 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Brom-Abspaltung würde ein Verbrauch von 9 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	7.9	88
5	8.55	96
7	9	100

1 g Sbst. wurde in 8 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 6.9 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
1 $\frac{1}{2}$	3.4	49
3	4.8	70
6	6.3	91
8	6.9	100

b) Aminierungsverlauf bei 18⁰.

d, l- α -Brom-i-valeriansäure: 1 g Sbst. wurde in 8 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 6.9 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
2 $\frac{1}{2}$	0.2	2.9
5	0.35	5
20	0.6	8.7
28	0.75	11
45	1.1	16
90	1.6	23

d, *l*- α -Brom-*n*-valeriansäure: 1 g Sbst. wurde in 8 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 6.9 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	0.8	11.5
6 $\frac{1}{2}$	1.6	23
9	2.1	30
24	4.4	64
32	5.1	74
49	6.3	91

B. der aus *d*-Valin und *d*-Nor-valin, die beide durch Hydrolyse von Globin erhalten worden waren, gewonnenen isomeren Brom-fettsäuren.

Die Hydrolyse des Globins wurde durch 6-stdg. Kochen mit konz. Salzsäure durchgeführt. Das Hydrolysat wurde nach dem bekannten Emil Fischerschen Verfahren aufgearbeitet unter Anwendung der Ester-Methode. Die in Freiheit gesetzten Ester wurden, wie üblich, zunächst bei etwa 15 mm Druck und dann bei etwa 0.1 mm Druck fraktioniert destilliert. Die Hauptaufmerksamkeit wendeten wir jenen Ester-Fractionen zu, die erfahrungsgemäß Leucin- und Valin-ester enthalten. Durch mehrstgd. Kochen der wäßrigen Lösung der Ester wurde Verseifung herbeigeführt. Die wäßrige Lösung der gebildeten Amino-säuren engten wir hierauf ein und gewannen eine ganze Anzahl von Krystall-Fractionen, die wir alle auf ihren Stickstoffgehalt und ihr Drehungsvermögen untersuchten. Leucin konnte leicht abgetrennt werden. Es verblieb dann ein Gemisch, das im wesentlichen aus Amino-säuren der C₅-Reihe bestand. Durch sorgfältiges Fraktionieren²⁾ glückte es, *d*-Valin und, wie oben schon erwähnt, Nor-valin abzutrennen. Jede der beiden Amino-säuren wurde in bekannter Weise mit Nitrosylbromid in die entsprechende α -Brom-fettsäure verwandelt. Diese wurde destilliert (Sdp.₁₂ 118—122°). Die Brom-fettsäuren lösten wir dann in 25-proz. Ammoniak.

a) Aminierungsverlauf bei 37°.

α -Brom-*i*-valeriansäure: 3.8 g Säure wurden in 22 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 9.55 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
2	1.3	13.5
5	2.3	24
7 $\frac{1}{2}$	2.85	30
22	5.1	54
31	5.8	61
48	6.9	72

²⁾ Als Krystall-Fractionen A, B und C bezeichnet.

α -Brom-*n*-valeriansäure: 1.8 g Säure wurden in 15 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 6.6 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
1½	3.15	48
3	4.3	66
5	5.3	80
20	6.3	96

Gemisch von α -Brom-*i*- und -*n*-valeriansäure: 2.85 g des Gemisches wurden in 20 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 7.8 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	3.6	46
5	3.7	47.5
20	5.5	70
30	6.25	80
46	6.9	88.5

b) Aminierungsverlauf bei 18°.

α -Brom-*i*-valeriansäure: 3.8 g Sbst. wurden in 22 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 9.55 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
2	0.35	3.6
5	0.65	6.8
7½	0.75	7.8
22	1.3	13.5
31	1.7	17.8
48	1.9	20
98	2.4	25

α -Brom-*n*-valeriansäure: 1.8 g Sbst. wurden in 15 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 6.6 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
4½	1.8	27
6½	2.3	35
21	3.5	53
52	5.8	88

Gemisch von α -Brom-*i*- und -*n*-valeriansäure: 2.85 g Sbst. wurden in 20 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 7.8 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	1.4	18
5	1.8	23
20	3.0	38.5
30	3.25	42
47	3.6	46

α -Brom-*i*-capronsäure: 3.44 g *d,l*- α -Brom-*i*-capronsäure (Sdp.₁₁ 126°) wurden in 20 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst und bei Brutraum- bzw. Zimmer-Temperatur aminiert. Einer 100-proz. Aminierung würde ein Verbrauch von 8.8 ccm n_{10} -AgNO₃ auf 1 ccm Lösung entsprechen.

a) Aminierungsverlauf bei 37°.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	4.4	50
6 $\frac{1}{2}$	6.4	73
22	8.6	Leucin begann auszufallen; etwa 98

b) Aminierungsverlauf bei 18°.

Zeit in Stdn.	Verbrauch an n_{10} -AgNO ₃ in ccm	% Aminierung
3	0.6	6.8
6 $\frac{1}{2}$	1.05	12
22	2.85	33
30	3.75	42
47	4.8	55
96		Leucin begann auszufallen; etwa 78

C. Trennung eines Gemisches von α -Brom-*i*- und -*n*-valeriansäure: 3 g α -Brom-*n*-valeriansäure und 1 g α -Brom-*i*-valeriansäure wurden in 20 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Die Lösung ließen wir 3 Stdn. bei 37° stehen. Nunmehr wurde mit Salzsäure unter Kühlung angesäuert und hierauf mit Äther extrahiert. Nach Verdampfen der zuvor mittels geglühten Natriumsulfats getrockneten ätherischen Lösung gewannen wir 1.8 g eines gelblich gefärbten Öles. Dieses wurde wieder in 10 ccm 25-proz. Ammoniak gelöst. Nach 3-stdg. Stehen bei 37° wurde die Lösung wieder angesäuert und ausgeäthert. Die ätherische Lösung lieferte dieses Mal 0.7 g eines farblosen Öles. Aus diesem kristallisierte nach kurzer Zeit die α -Brom-*i*-valeriansäure in farblosen Tafeln aus. Der ganze Prozeß wurde wiederholt. Aus der angesäuerten ammoniakalischen Lösung isolierten wir das Aminierungsprodukt jeweilen mittels des Silbersulfat-Barythydrat-Verfahrens.

135. H. Staudinger: Über Isopren und Kautschuk, 20. Mittel.¹⁾: Über die Kolloidnatur von Kautschuk, Guttapercha und Balata.

[Aus d. Chem. Universitäts-Laborat. Freiburg i. B.]

(Eingegangen am 12. März 1930.)

I. Molekulargewicht von Kautschuk, Guttapercha und Balata.

In der vorigen Arbeit¹⁾ wurde das Molekulargewicht von Kautschuk und Balata auf Grund der Beziehungen zwischen der spezifischen Viscosität η_{sp} und dem Molekulargewicht, die sich bei den hemi-kolloiden Abbauprodukten ergeben haben, errechnet unter der Annahme, daß diese Beziehung auch bei Eukolloiden gültig ist. Als spezif. Viscosität wird dabei der Wert η_{r-1} bezeichnet, also die für einen Stoff in

¹⁾ 19. Mitteilung: B. 63, 734 [1930].