

# Ueber das Auftreten acetylrter Verbindungen nach Darreichung von Aldehyden.

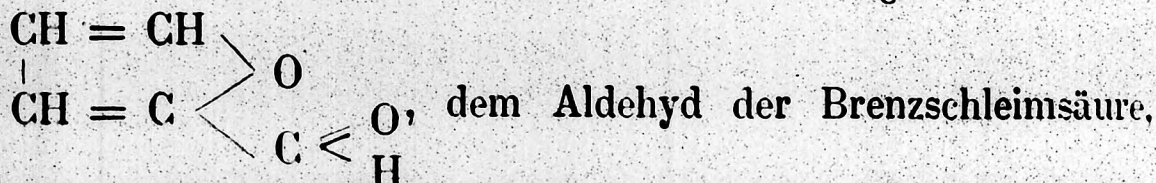
Von

**Dr. Rudolf Cohn.**

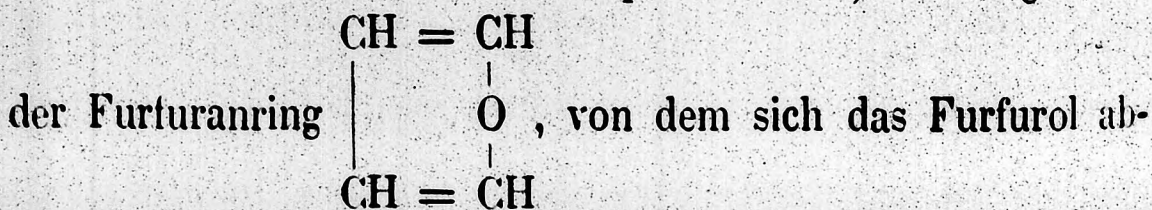
**Habilitationsschrift.**

(Aus dem Universitätslaboratorium für medic. Chemie u. Pharmakologie zu Königsberg i. Pr.)  
(Der Redaction zugegangen am 23. Juli 1892.)

Vor mehreren Jahren haben Herr Prof. Jaffe und ich über Versuche berichtet, die wir mit Fütterung von Furfurol,



bei Kaninchen, Hunden und Hühnern angestellt hatten, wobei wir zu folgendem Resultate gelangt waren<sup>1)</sup>: Das Furfurol, welches chemisch sehr grosse Analogieen mit dem Benzaldehyd zeigt, verhält sich auch im Thierkörper diesem sehr ähnlich. Es wird zunächst zu der ihm zugehörigen Brenzschleimsäure oxydirt, die zum Theil als solche, zum grössten Theil jedoch mit Glycocoll gepaart, analog der Hippursäure, als Pyromykursäure ausgeschieden wird, bei Hunden in grossen Mengen noch in Verbindung mit Harnstoff als pyromykursaurer Harnstoff. Auch bei Vögeln erwies sich das Verhalten entsprechend dem der Benzoësäure, insofern als es mit Ornithin gepaart als Furfurornithursäure den Thierkörper verlässt<sup>2)</sup>. Es zeigte also



<sup>1)</sup> M. Jaffe u. Rud. Cohn. Ueber das Verhalten des Furfurols im thierischen Organismus, Berl. Ber., Bd. XX, S. 2311.

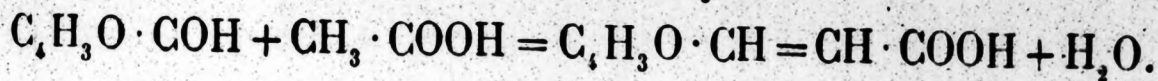
<sup>2)</sup> M. Jaffe u. Rud. Cohn, Ueber das Verhalten des Furfurols im Stoffwechsel der Hühner, Berl. Ber., Bd. XXI, S. 3461.

leitet, dieselbe Beständigkeit und dieselben Umsetzungen im Thierkörper, wie der Benzolring.

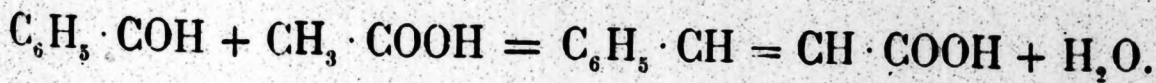
Das gleiche Verhalten zeigten bei späteren Untersuchungen die Derivate des Thiophens<sup>1)</sup>,  $\begin{array}{c} \text{CH} = \text{CH} \\ | \\ \text{CH} = \text{CH} \end{array} > \text{S}$ , während das Pyrrol,  $\begin{array}{c} \text{CH} = \text{CH} \\ | \\ \text{CH} = \text{CH} \end{array} > \text{NH}$ , und seine Derivate leichter einer Zerstörung im Thierkörper anheimzufallen scheinen<sup>2)</sup>.

Wir hatten damals aber noch eine Synthese des Furfurols bei Hunden und Kaninchen entdeckt, die ganz ohne Analogie dastand und äusserst merkwürdig war. Das Furfurol tritt nämlich mit Essigsäure unter Wasserverlust zusammen zu der Furfuracrylsäure, einer ungesättigten Verbindung von der Zusammensetzung  $\text{C}_4\text{H}_3\text{O} \cdot \text{CH} = \text{CH} \cdot \text{COOH}$ , die sich noch mit Glycocoll unter Wasseraustritt zu der Furfuracrylursäure paart.

Der Vorgang, dem diese Synthese ihre Entstehung verdankt, ist so aufzufassen, dass das Furfurol als solches mit Essigsäure in Action tritt, wobei der O der Aldehydgruppe und 2 H der  $\text{CH}_2$ -Gruppe als Wasser austreten unter Zusammentritt der Reste zur Furfuracrylsäure.



Auch ausserhalb des Thierkörpers lässt sich diese Verbindung bekanntlich leicht herstellen durch mehrstündiges Kochen von Furfurol mit essigsauerm Natron und Essigsäureanhydrid u. zw. entspricht sie der zur Benzolreihe gehörigen Zimmtsäure, die nach der Perkin'schen Synthese durch Kochen von Benzaldehyd mit essigsauerm Natron und Essigsäureanhydrid dargestellt werden kann.



<sup>1)</sup> M. Jaffe u. H. Levy, Ueber die Glycocollverbindung der  $\alpha$ -Thiophensäure ( $\alpha$ -Thiophenursäure) und ihre Entstehung im Thierkörper, Berl. Ber., Bd. XXI, S. 3458; H. Levy, Ueber das Verhalten einiger Thiophenderivate etc., Dissert. inaug., Königsberg 1889.

<sup>2)</sup> Jacob Ginzberg, Ueber das Verhalten des Pyrrols und einiger seiner Derivate im thierischen Organismus, Dissert. inaug., Königsberg 1890.

Diese Acrylsäuresynthese war uns noch aus dem Grunde von besonderem Interesse, weil man an einen Zusammenhang derselben mit der Harnsäurebildung im Organismus denken konnte, denn die Harnsäure wird jetzt als Derivat der Acrylsäure, als Diureid einer Trioxyacrylsäure, aufgefasst. Wir hatten deshalb vermuthet, dass bei Vögeln, bei denen ja die Harnsäure das Hauptendproduct der N-Umsetzung bildet, noch leichter eine Acrylsäuresynthese sich würde nachweisen lassen und hatten daher auch an Hühner Furfurol verfüttert. Indessen war uns der Nachweis der Furfuracrylsäure bei ihnen nicht gelungen, vielmehr traten als einzige Umwandlungsproducte Brenzschleimsäure und Furfurornithursäure auf.

Die Bildung der Furfuracrylsäure erschien uns als eine so auffallende, dass wir nun weitere Untersuchungen darüber anstellten, ob ihr Auftreten nach Furfurolfütterung nur ein Unicum sei, oder ob auch andere, in den Thierkörper eingeführte Stoffe diese Synthese mit Essigsäure eingingen. Als solche wählten wir eine Reihe von Aldehyden, da diese uns am meisten Aussicht auf Erfolg zu versprechen schienen.

### I. Benzaldehyd.

Sehr nahe lag zunächst ein Versuch mit gewöhnlichem Benzaldehyd, der ja zu Benzoësäure oxydirt und mit Glycocoll gepaart als Hippursäure den Thierkörper verlässt. Es bestand daher die Aufgabe, neben diesen Hauptumwandlungsproducten geringe Mengen etwa vorhandener Zimmtsäure, die nach Analogie der Furfuracrylsäuresynthese entstehen musste und die bisher vielleicht hätte übersehen sein können, nachzuweisen. Dieser Nachweis ist bekanntlich mit grossen Schwierigkeiten verbunden, denn erstens liegen die Schmelzpunkte der Benzoësäure ( $121^{\circ}$ ) und der Zimmtsäure ( $133^{\circ}$ ) sehr nahe zusammen, und zweitens sind auch ihre Löslichkeitsverhältnisse sehr ähnliche, speciell in Wasser sind beide sehr schwer löslich; ausserdem giebt es nur sehr wenig charakteristische Zimmtsäurereactionen. Zum qualitativen Nachweis der Zimmtsäure, auch neben grossen Mengen Benzoësäure, ist am geeignetsten ihre Reaction mit übermangansaurem Kali: Beim vorsichtigen

Versetzen ihrer Lösung mit  $\text{KMnO}_4$  tritt deutlicher Geruch nach Benzaldehyd, in den sie dabei übergeht, auf, eine Reaction, die die Benzoësäure natürlich nicht geben kann.

Wir begannen mit der Darreichung von Benzaldehyd bei Kaninchen. 7 Kaninchen erhielten im Laufe von 7 Tagen 39,2 gr. Benzaldehyd in Dosen von je 1,4 gr. 2mal täglich subcutan. Sie vertrugen ihn sehr schlecht, starben nach je 2—4 Tagen unter den Erscheinungen von Entkräftung, Lähmung, Tremor, Durchfall, Nephritis, eins auch mit Hämoglobinurie. Auch die gleichzeitige Darreichung von  $\text{Natr. carbon.}$  oder  $\text{Natr. acet.}$  in täglichen Dosen von 2 gr. änderte an dem Verlaufe wenig oder nichts. Die immer frisch eingedampften Urine wurden in der Weise verarbeitet, dass sie mit kochendem Alkohol extrahirt, die vereinigten alkohol. Auszüge abgedampft, die Rückstände in wenig Wasser aufgenommen, mit der genügenden Menge verd. Schwefelsäure versetzt und dann mit grossen Portionen Aether mehrfach ausgeschüttelt wurden. Man erhielt beim Abdestilliren der Aetherauszüge auf ca. 300 ccm. zunächst eine krystallinische Abscheidung von 4,3 gr. Hippursäure, der Aether wurde dann ganz abdestillirt, der Rückstand mit Wasser übergossen, nach einer Stunde die ausgeschiedenen Krystalle abfiltrirt (7—8 gr. Benzoësäure); aus der schwefels. Lösung hatten sich ferner noch ausgeschieden und gingen nicht in den Aether über 16 gr. Krystalle (Hippursäure), schliesslich wurde noch das Filtrat davon mit Essigäther extrahirt und daraus noch eine geringe Menge Krystalle gewonnen, die nach dem Umkrystallisiren bei  $188\text{—}189^\circ$  schmolzen (Hippursäure).

Um die Gegenwart von Zimmtsäure resp. einer Zimmtsäure-Glycocolloverbindung in diesen einzelnen Portionen nachzuweisen, wurden folgende Versuche angestellt:

1. Die 7—8 gr. Benzoësäure wurden umkrystallisirt, die Krystalle sehen wie Benzoësäure aus, geben nicht die Zimmtsäurereaction (unter Zimmtsäurereaction ist hier und in Folgendem immer die Reaction mit  $\text{KMnO}_4$  zu verstehen); ihre Mutterlauge gibt schwache Zimmtsäurereaction; sie wird mit Aether extrahirt, die wässrige Lösung gibt keine Reaction mehr; die äther. Auszüge werden abdestillirt, beim Verdunsten

der letzten 30 ccm. an der Luft scheiden sich zunächst hippursäureähnliche Nadeln aus, die bei  $187^{\circ}$  schmelzen, also Hippursäure sind, und keine Zimmtsäurereaction geben. Der Aetherrückstand giebt noch schwache Reaction. Er wird mittels  $\text{CaCO}_3$  in's Kalksalz verwandelt, dessen concentrirte Lösung durch Fällung mit  $\text{AgNO}_3$  in's Silbersalz.

0,1553 gr. gaben 0,0703 Ag = 45,3%.

Zimmts. Silber verl. 42,3% Ag.

Benzoës. Silber verl. 47,1% Ag.

Es könnte sich danach also um ein Gemenge von benzoësaurem und zimmtsäurem Silber gehandelt haben.

2. 1 gr. der Benzoësäurekrystalle wird aus 350 ccm. Wasser umkrystallisirt in der Annahme, dass die schwerer lösliche Zimmtsäure sich in verhältnissmässig grösserer Menge ausscheiden würde und dann leichter nachgewiesen werden könnte. Es schieden sich nur wenige Krystalle ab, die ebensovienig wie die Mutterlauge Zimmtsäurereaction gaben.

3. Je 2 gr. der in den Aether übergegangenen und der abfiltrirten Hippursäure wurden durch 4stündiges Kochen mit starkem Barytwasser zersetzt, die nach dem Ansäuern durch Aether extrahirten Krystalle gaben in keinem Falle die Zimmtsäurereaction, die Hippursäure war also jedenfalls frei von einer Zimmtsäure-Glycocollverbindung.

Es ist nach diesen Versuchen, speciell nach dem Auftreten der schwachen Zimmtsäurereaction und der Analyse des Silbersalzes, nicht ausgeschlossen, dass der Benzoësäure geringe Mengen von Zimmtsäure beigemengt waren, indessen konnte ihr Nachweis nicht mit Sicherheit geführt werden.

Zu dem gleichen Resultate führte ein Versuch bei einem Hunde, der innerlich in täglichen Gaben bis zu 10 gr., auf 3 Portionen vertheilt, bei Brod- und Milchfütterung, bei der sich die Bildung der Furfuracrylursäure am ergiebigsten erwiesen hatte, 65,8 gr. Benzaldehyd erhielt. Die Mutterlauge der umkrystallisirten Benzoësäure gab zwar deutliche Zimmtsäurereaction, es gelang aber nicht, die Spuren, um die es sich nur handeln konnte, zu isoliren, man erhielt bei allen Versuchen immer nur Krystalle von reiner Benzoësäure. Auch

in den grossen Massen Hippursäure konnte durch den Spaltungsversuch keine Zimmtsäure nachgewiesen werden.

Dieses negative Resultat konnte nun vielleicht dadurch bedingt sein, dass die eventuell gebildete Zimmtsäure im Thierkörper vor ihrer Ausscheidung wieder zerstört wird, wenigstens wird angegeben, dass in den Organismus eingeführte Zimmtsäure vollständig in Benzoësäure resp. Hippursäure übergeführt wird<sup>1)</sup>. Um diese Angabe auf ihre Richtigkeit zu prüfen, machten wir einen Versuch mit Zimmtsäurefütterung bei Kaninchen.

15 gr. Zimmtsäure werden als Na-Salz 2 Kaninchen im Verlauf einer Woche subcutan injicirt, der Harn in gewohnter Weise verarbeitet. Er gibt schon frisch mit  $\text{KMnO}_4$  den Geruch nach Benzaldehyd. Aus den ätherischen Auszügen erhält man zunächst beim Concentriren 1,3 gr. Krystalle, die keine Zimmtsäurereaction geben. Sie werden aus Wasser mit Thierkohle umkrystallisirt, es scheidet sich 1 gr. aus, die Krystalle sehen aus wie Hippursäure, schmelzen bei  $188\text{--}189^\circ$ , sind wohl reine Hippursäure.

Nach dem Ausschütteln mit Aether werden aus der schwefelsauren Lösung 5,3 gr. Krystalle abfiltrirt, die auch nicht die Zimmtsäurereaction geben. Es wird davon 1 gr. mit  $\text{Ba(OH)}_2$  zersetzt, der nach dem Ansäuern in Aether lösliche Antheil gibt schwache Zimmtsäurereaction, schmilzt nach dem Umkrystallisiren bei  $127\text{--}128^\circ$ , also zwischen Benzoësäure und Zimmtsäure. Die übrigen 4,2 gr. werden umkrystallisirt, schmelzen bei  $190\text{--}192^\circ$ , nach nochmaligem Umkrystallisiren bei  $190\text{--}193^\circ$ . Aus ihrer Mutterlauge wurden Krystalle erhalten, die bei  $188\text{--}191^\circ$  schmelzen. Der etwas höhere Schmelzpunkt, sowie die schwache Zimmtsäurereaction des Spaltungsproductes deuten darauf hin, dass der Hippursäure möglicherweise etwas Zimmtsäure-Glycocoll beigemengt ist, doch gelang nicht ihre Isolirung.

Nach dem Abfiltriren der 5,3 gr. Hippursäurekrystalle wird die Hälfte des schwefelsauren Filtrates noch stark mit

<sup>1)</sup> Annalen, Bd. 44, S. 344 (cit. nach Beilstein).

HCl versetzt und 4 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann 3mal mit Aether extrahirt. Der Rückstand einer kleinen Portion wird krystallinisch und gibt starke Zimmtsäurereaction. Der gesammte Rückstand wird 2mal aus Wasser umkrystallisirt, man erhält 0,1 gr., die nicht scharf bei 90—100° schmelzen; es sind unterm Mikroskop lange dicke Nadeln und unregelmässige Blättchen. Es wird davon ein Silbersalz gemacht.

0,0488 gr. gaben 0,0206 Ag = 45,9%.

Es handelt sich also höchstwahrscheinlich um ein Gemenge von Benzoësäure und Zimmtsäure, das durch Spaltung aus einem Gemenge von Hippursäure und Zimmtsäure-Glycocoll erhalten wurde.

Die zweite Hälfte des schwefelsauren Filtrates wurde mit Essigäther ausgeschüttelt, man erhält daraus nur einige Krystalle, die nach dem Umkrystallisiren bei 190° schmelzen.

Aus den zuerst erhaltenen Aetherauszügen wurde nach dem Abfiltriren der 1,3 gr. Hippursäure der Aether vollständig verdunstet, der bald krystallinisch erstarrende Rückstand gab starke Zimmtsäurereaction. Er wurde zur Reinigung in verd. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gelöst, 3mal mit Aether extrahirt, wieder mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des letzten Aetherrestes an der Luft schied sich zunächst etwas Hippursäure ab, der Aether wird davon abgegossen und ganz verdunsten gelassen; der krystallinische Rückstand schmilzt nach dem Umkrystallisiren bei 134°; es sind 0,2 gr., die nochmals umkrystallisirt bei 135—136° schmelzen; sie werden durch Fällung ihres Ammoniaksalzes mit AgNO<sub>3</sub> in's Silbersalz übergeführt.

0,1065 gr. gaben 0,0448 Ag = 42,1%.

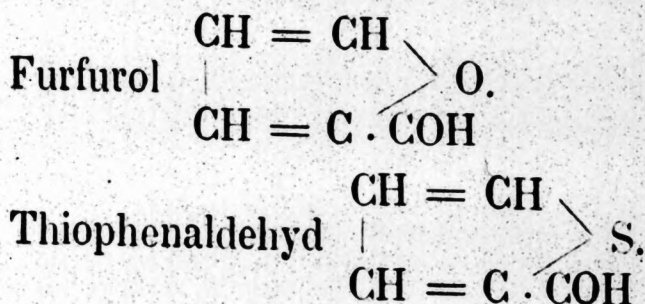
Zimmtsäures Silber verlangt Ag = 42,3%.

Es liegt hier also reine Zimmtsäure vor. Aus diesem Versuche lässt sich schliessen, dass nur ein sehr kleiner Antheil der verabreichten Zimmtsäure unverändert und ungepaart in den Urin übergeht, der bei Weitem grösste wird in Hippursäure übergeführt, der höchstwahrscheinlich eine geringe Menge einer Zimmtsäure-Glycocollverbindung beigemischt ist. Danach scheint in der That die Möglichkeit

nicht ausgeschlossen, dass nach Fütterung mit Benzaldehyd ein, wenn auch geringer, Theil in Zimmtsäure übergeführt wird, der dann wieder einer secundären Umwandlung in Benzoësäure anheimfällt.

## II. Thiophenaldehyd.

Als nächsten Aldehyd wählten wir den Thiophenaldehyd, der sich von dem Furfurol nur durch das Vorhandensein eines S an Stelle des O unterscheidet und von dem man daher ein ganz analoges Verhalten erwarten durfte.



Von Thiophenaldehyd standen uns wegen seines hohen Preises — 100 gr. sollten 1000 Mark kosten — nicht grössere Mengen zur Verfügung. Es gelang uns nach längerer Arbeit, etwas über 20 gr. rein darzustellen, die wir an Kaninchen und einen Hund verfütterten.

Zunächst erhielten 3 Kaninchen an 2 Tagen im Ganzen 5,9 gr. in einer Emulsion mittels Schlundsonde in den Magen. Ein Kaninchen starb danach unter lähmungsartigen Erscheinungen, bei der Section fanden sich massenhaft Hämorrhagieen in der Magenschleimhaut.

Die gesammelten Urine wurden wie oben verarbeitet, man erhielt daraus etwa 3 gr. einer Substanz, deren Schmelzpunkt (171°), Löslichkeitsverhältnisse und Krystallform, ferner Analyse des Kalksalzes sie als reine Thiophenursäure erwiesen. Ungepaarte Thiophensäure wurde nicht gefunden, ebenso keine Spur einer Acrylsäureverbindung.

Darauf gaben wir einem Hunde bei Brod- und Milch-nahrung an 4 Tagen je 3 gr. Thiophenaldehyd subcutan. Die Urine wurden wieder eingedampft, mit Alkohol extrahirt, die vereinigten Alkoholauszüge abgedampft, mit Wasser aufgenommen, mit verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und mit Aether aus-



geschüttelt. Nach einmaligem Schütteln schied sich in der sauren wässerigen Lösung eine Menge nadelförmiger Krystalle ab, die sich erst nach 11maligem Ausschütteln mit immer erneuten grossen Portionen Aethers in diesem vollständig gelöst hatten. Beim Abdestilliren auf etwa  $\frac{1}{2}$  Liter schieden sich zunächst Krystalle ab, im Ganzen 3 gr.; beim weiteren Eindampfen auf etwa 100 cbcm. und ebenso beim Versetzen des letzten Aetherrückstandes mit Wasser erhält man zusammen fernere 3 gr. Krystalle. Letztere schmelzen bei  $170^{\circ}$ , sind also jedenfalls Thiophenursäure, was auch die Analyse des Ba-Salzes, das feine, rosettenförmig an einander gelagerte Nadeln bildet, und eine S-Bestimmung ergibt:

0,2743 gr. des Ba-Salzes, bei  $105^{\circ}$  getrocknet, gaben 0,2566; Verlust =  $6,4\%$   $\text{H}_2\text{O}$ .

0,2566 gaben 0,1178  $\text{BaSO}_4$  = 0,06926 Ba =  $26,9\%$ .

Thiophenursaurer Baryt  $(\text{C}_7\text{H}_6\text{SNO}_3)_2\text{Ba} + 2\text{H}_2\text{O}$  verl.  $\text{H}_2\text{O}$  =  $6,7\%$ ; das wasserfreie Salz verl. Ba =  $27,1\%$ .

Zur S-Bestimmung wurde die Substanz mit rauchender  $\text{HNO}_3$  im zugeschmolzenen Rohre allmähig bis  $360^{\circ}$  erhitzt.

0,2059 gr. gaben 0,2491  $\text{BaSO}_4$  = 0,03421 S =  $16,6\%$ ; verl. S =  $17,3\%$ .

Die 3 gr., die sich zuerst aus dem Aether abgeschieden hatten, schmolzen schon bei  $134^{\circ}$ . Sie wurden in Alkohol gelöst, mit Thierkohle entfärbt und mit Benzol versetzt, es scheiden sich zarte, farblose Nadeln ab, die bei  $136^{\circ}$  schmelzen. Da es sich nach ihrem ganzen Verhalten um eine Harnstoffverbindung zu handeln schien, so wurden zum Beweise dessen 0,48 gr. in Wasser gelöst, worin sie sich in der Kälte schwer lösen, mit  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  alkalisch gemacht, der Barytüberschuss durch  $\text{CO}_2$  entfernt, das Filtrat zur Trockne verdampft, mit Alkohol absol. verrieben mehrere Stunden stehen gelassen, darauf der Alkohol abfiltrirt und zur Gewinnung des Harnstoffes eingedampft, das Barytsalz in Wasser gelöst und mit Alkohol und Aether gefällt.

Nach dem Eindampfen des Alkohols bleiben lange, spitze Nadeln zurück, die sich in wenig Alkohol absol. trübe lösen.

die Trübung, die wie fein vertheilter S aussieht, setzt sich nach 24 Stunden zu Boden, das klare, eingeeengte Filtrat wird mit Benzol versetzt; es scheiden sich über 1 cm. lange, farblose, zarte Nadeln ab, die bei  $132^{\circ}$  schmelzen, mit  $\text{HNO}_3$  die charakteristischen Krystalle des salpetersauren Harnstoffes geben, beim Erhitzen im trockenen Röhrchen  $\text{NH}_3$  entwickeln, der Rückstand gibt Biuretreaction; es ist also Harnstoff.

Das Barytsalz bildet kleine Nadeln; nach 2maligem Umkrystallisiren wird davon eine Ba-Bestimmung gemacht.

0,3983 gr., bei  $105^{\circ}$  getrocknet, gaben 0,3717; Verhüst =  $0,0266 = 6,7\%$   $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{BaSO}_4 = 0,1704$ ;  $\text{Ba} = 0,1002 = 26,9\%$  des wasserfreien Salzes.

Verl.:  $\text{H}_2\text{O} = 6,7\%$ ;  $\text{Ba} = 27,1\%$ .

Schliesslich wurde die Harnstoffverbindung nochmals aus Alkohol und Benzol umkrystallisirt, bildet zarte, asbestglänzende Nadeln, die bei  $136^{\circ}$  schmelzen. Es wird davon eine N-Bestimmung nach Dumas gemacht.

0,1382 gr., bei  $100^{\circ}$  getr., gaben N = 20,6 ccm. bei  $t = 22^{\circ}$  und  $\text{Ba} = 769,5$  mm. N =  $17,1\%$ . Verl. N =  $17,1\%$ .

Ungepaarte Thiophensäure wurde nicht gefunden und ebensowenig die gesuchte Acrylsäureverbindung. Auch hier konnte man daran denken, dass dieselbe zwar gebildet, aber im Organismus wieder in Thiophensäure zurückverwandelt wird. Diese Vermuthung erhält eine gewisse Stütze durch folgenden Versuch:

Aus 5 gr. Thiophenalddehyd wurde durch 8 stündiges Kochen am Rückflusskühler mit Essigsäureanhydrid und essigsaurem Natron in dem Verhältniss, wie es bei der Zimmtsäuresynthese vorgeschrieben ist, Thienylacrylsäure dargestellt. Wir erhielten nach einmaligem Umkrystallisiren 0,27 gr. lange, brüchige, farblose Nadeln, die bei  $144-145^{\circ}$  schmelzen. Sie werden als Na-Salz einem Kaninchen subcutan injicirt und der Urin der nächsten beiden Tage verarbeitet. Aus dem mit Wasser versetzten Aetherrückstand erhielten wir nach einmaligem Umkrystallisiren 0,05 gr. hippursäureähnliche Nadeln, die bei  $171-172^{\circ}$  schmelzen und mit rauchender  $\text{HNO}_3$  sich nicht roth färben (Reaction auf Thienylacrylsäure), also Thio-

phenursäure sind. Auch hier wird demnach die Acrylsäureverbindung vom Organismus in die beständigere Thiophensäure zurückverwandelt, so dass sich also dieser Vorgang bei den Acrylsäureverbindungen der Benzoësäure, Brenzschleimsäure und Thiophensäure in ganz gleicher Weise vollzieht.

### III. Aldehyd, Paraldehyd, Chloralhydrat und Vanillin.

Nachdem diese Versuche, weitere Beispiele für die Acrylsäuresynthese zu gewinnen, fehlgeschlagen waren, prüften wir noch das Verhalten von dem gewöhnlichen Aldehyd, Paraldehyd, Chloralhydrat und Vanillin, dem Methyläther des Protocatechualdehyds. Ich kann mich über diese Aldehyde sehr kurz fassen. Die ersten drei wurden in Dosen bis zu 10 gr. täglich auf 3 Portionen vertheilt an einen grossen Hund verfüttert und zwar in den Gesamtmengen von 47 resp. 48 resp. 84 gr., und scheinen bis auf die Bildung von Urochloral-säure nach Chloralhydrat vollständig im Organismus zerstört zu werden, wenigstens gelang es uns nicht, davon ableitbare Producte aus den Urinen zu gewinnen.

Das Vanillin, das wir einem Kaninchen in Dosen von 0,5—1,5 gr. innerlich bis zur Gesamtdosis von 8,5 gr. gaben, wonach es starb, wurde entsprechend den Untersuchungen von Preusse<sup>1)</sup> in Vanillinsäure übergeführt, ein kleiner Theil geht unverändert durch den Thierkörper hindurch. Auf die von Preusse gefundenen Aetherschwefelsäuren haben wir nicht weiter unser Augenmerk gerichtet und eine Acrylsäureverbindung gelang es uns nicht nachzuweisen.

### IV. Nitrobenzaldehyde.

Ich habe früher erwähnt, dass der Nachweis kleiner Mengen Zimmtsäure neben grossen Mengen Benzoësäure und ihre Isolirung daraus sehr grosse Schwierigkeiten darbietet, die es uns nicht gelang zu überwinden. Ich dachte nun daran, mir diese Aufgabe dadurch zu erleichtern, dass ich statt des

<sup>1)</sup> C. Preusse, Ueber das Verhalten des Vanillins im Thierkörper. Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 4, S. 209.

gewöhnlichen Benzaldehyds einen substituirten wählte, und zwar erschienen mir als sehr geeignet hierzu die 3 isomeren Nitrobenzaldehyde, da die Nitrobenzoësäuren durchschnittlich einen um etwa 40° niedrigeren Schmelzpunkt zeigen, als die entsprechenden Zimmtsäuren, so dass man hoffen durfte, eventuell vorhandene Nitrozimmtsäure leichter nachweisen zu können.

#### a) Metanitrobenzaldehyd.

Zunächst wählte ich zu meinen Versuchen den m.-Nitrobenzaldehyd als den am leichtesten zugänglichen. Fütterungsversuche mit den Nitrobenzaldehyden sind vor einigen Jahren von Sieber und Smirnow aus dem Nencki'schen Laboratorium veröffentlicht worden<sup>1)</sup>, die bei Hunden zu dem bemerkenswerthen Resultate kommen, dass sich die Aldehyde der 3 Reihen ganz verschieden verhalten, indem der p.-Nitrobenzaldehyd nur p.-nitrohippursäuren Harnstoff gab, der m.-Nitrobenzaldehyd nur m.-Nitrohippursäure, und der o.-Nitrobenzaldehyd ganz ungepaart den Thierkörper verlässt. Um dies gleich vorweg zu nehmen, so konnte ich ihre Angaben zunächst in Bezug auf den m.-Nitrobenzaldehyd nicht bestätigen.

Ich gab einem grossen Hunde täglich 2mal je 1,5 gr. in Kapseln innerlich bis zur Gesammtmenge von 20 gr. Der Urin zeigte nie etwas Besonderes und wurde in der gewöhnlichen Weise verarbeitet. Die in Wasser gelösten und mit verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzten Rückstände der alkoholischen Auszüge wurden 6mal mit grossen Portionen Aether extrahirt. Aus den vereinigten Aetherauszügen schied sich schon nach mehrstündigem Stehen eine Menge Krystalle ab, 2 $\frac{1}{2}$  gr., die davon abfiltrirten Auszüge wurden auf etwa 200 ccm. abdestillirt, es schieden sich 5 $\frac{1}{2}$  gr. ab, aus der schwefelsauren Lösung scheiden sich nach dem Ausschütteln mit Aether noch eine Menge Krystalle ab, die abfiltrirt und, ohne ausgewaschen zu werden, auf einer Thonplatte abgesogen werden, es bleiben 7 $\frac{1}{2}$  gr. zurück. Nach dem Abdestilliren des letzten Aethers bleibt ein Oel, das auf

<sup>1)</sup> N. Sieber u. A. Smirnow, Ueber das Verhalten der 3 isomeren Nitrobenzaldehyde im Thierkörper, Monatshefte f. Chemie etc., Bd. VIII, 1887.

Zusatz von Wasser krystallinisch erstarrt; nach dem Absaugen der abfiltrirten Krystalle auf einer Thonplatte blieben 2,8 gr. fast farbloser Krystalle, die sich als m.-Nitrohippursäure erwiesen. Die ersten 3 Abscheidungen, im Ganzen  $15\frac{1}{2}$  gr., waren in ihren Eigenschaften unter einander identisch, aber verschieden von der m.-Nitrohippursäure. Ihr Schmelzpunkt lag zunächst bei  $151^\circ$ , während die m.-Nitrohippursäure bei  $165^\circ$  schmolz. Sie wurden mehrmals aus Alkohol und Benzol umkrystallisirt, bilden fast farblose, mikroskopisch lange, dicke, fächerförmig angeordnete Prismen, die in reinem Zustande bei  $155^\circ$  schmelzen. 1 gr. der aus den Aetherausügen erhaltenen, mehrmals umkrystallisirten Krystalle wird in Wasser gelöst, heiss mit  $\text{BaCO}_3$  neutralisirt, das Filtrat eingedampft, der Rückstand mit absol. Alkohol verrieben, das Filtrat und der Wasch-alkohol zur Trockne verdampft; es bleiben 0,2 gr. Nadeln, die in Wasser leicht löslich sind, mit  $\text{HNO}_3$  und  $\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$  die charakteristischen Krystalle der entsprechenden Harnstoffverbindungen geben, beim Erhitzen  $\text{NH}_3$  entwickeln, der Rückstand gibt die Biuretreaction und nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol und Benzol schmelzen sie bei  $127^\circ$ . Es ist also Harnstoff.

Das in Alkohol unlösliche Ba-Salz wird aus Wasser umkrystallisirt und  $\text{H}_2\text{O}$ - und Ba-Gehalt bestimmt:

0,5998 gr., bei  $110^\circ$  getr., gaben 0,5811 gr. Verlust = 0,0187 = 3,12%  $\text{H}_2\text{O}$ .

0,5811 gr. gaben 0,2298  $\text{BaSO}_4$  = 0,1351 Ba = 23,25%.

m.-nitrohippurs. Baryt  $(\text{C}_9\text{H}_7(\text{NO}_2)\text{NO}_3)_2\text{Ba} + \text{H}_2\text{O}$  verl.  $\text{H}_2\text{O}$  = 2,99%;  
das wasserfreie Salz verl. Ba = 23,49%.

Das Hauptumwandlungsproduct, das die Fütterung mit m.-Nitrobenzaldehyd ergab, ist also m.-nitrohippursaurer Harnstoff, nur ein geringer Antheil m.-Nitrohippursäure. Dass Sieber und Smirnow die Harnstoffverbindung nicht fanden, liegt wahrscheinlich an ihrer Methode, sie schüttelten nicht mit Aether aus, sondern säuerten die Rückstände der alkohol. Auszüge an und filtrirten die ausgeschiedenen Krystalle ab. In wässriger Lösung ist aber die Harnstoffverbindung nicht beständig, wie mir ein Versuch ergab, bei dem ich 0,8 gr.

aus wenig Wasser umkrystallisirte; es schieden sich 0,6 gr. hippursäureähnliche Nadeln ab, die bei 165—167° schmolzen, also m.-Nitrohippursäure sind, während aus dem Filtrat sich 0,13 gr. fast reiner Harnstoff gewinnen liess.

Jedenfalls besteht danach der tiefgreifende Unterschied, den Sieber und Smirnow für die 3 Reihen constatirten, nicht.

Zu einem ganz anderen Resultate führten die Versuche, die ich mit m.-Nitrobenzaldehyd bei Kaninchen anstellte und zu deren Beschreibung ich nunmehr übergehe. Ich gab den Aldehyd innerlich in Dosen zu 1 gr., die ich in 3—5 cbcm. Alkohol löste, mittels Schlundsonde in den schon vorher mit etwas Wasser gefüllten Magen eingoss und mit grösseren Mengen Wassers nachspülte. Die Kaninchen vertrugen ihn sehr schlecht, gingen im Durchschnitt nach Verabreichung von 4—5 gr., u. zw. jeden Uebertag 1 gr., zu Grunde. Die Urine wurden in der gewöhnlichen Weise verarbeitet. Als die sauren Aetherauszüge nach Verabreichung von im Ganzen 20 gr. auf etwa 100—200 cbcm. abdestillirt wurden, schied sich zunächst eine Substanz krystallinisch aus, die ganz andere Eigenschaften als die der erwarteten Nitrohippursäure zeigte und zu deren näherer Beschreibung ich weiter unten übergehen werde. Es waren im Ganzen 2 gr. Die ätherische Mutterlauge wird ganz abdestillirt, der Rückstand mit viel Wasser übergossen und durchgeschüttelt, es scheiden sich 5,2 gr. Krystalle ab, die nach dem Umkrystallisiren bei 140° schmelzen und vollständig sublimiren, also m.-Nitrobenzoesäure sind, die bei 141° schmelzen soll. Die erste Mutterlauge von den 5,2 gr. wird mit Aether extrahirt, man erhält daraus 1 gr., die nach einmaligem Umkrystallisiren bei 165° schmelzen und danach, wie nach der Analyse des Silbersalzes sich als m.-Nitrohippursäure erwiesen.

1. 0,1323 gr. (durch Fällung des  $\text{NH}_3$ -Salzes mittels  $\text{AgNO}_3$  dargestellt, bildet unterm Mikroskop dichte Büschel feiner, langer, geschwungener Nadeln) gaben 0,0427 Ag = 32,3%.

2. 0,0452 gr. gaben 0,0146 Ag = 32,3%.

Nitrohippursäures Silber verl. Ag = 32,6%.

Die Ausscheidungsverhältnisse der 3 Substanzen waren in allen Versuchen ziemlich dieselben, speciell wurden von der zuerst aus dem Aether auskrystallisirten immer nur ca. 10% des verfütterten Nitrobenzaldehyds gewonnen. Einige Male kam es vor, dass sich aus dem Aether nichts ausschied; man konnte die Substanz dann leicht gewinnen, wenn man den Aether ganz abdestillirte, den Rückstand mit Wasser übergossen 24 Stunden stehen liess, die dann ausgeschiedenen Krystalle abfiltrirte und die darin mitenthaltene Nitrobenzoesäure durch mehrmaliges vorsichtiges Abspülen mit Aether entfernte. Es blieb dann die in Rede stehende Substanz zurück.

Die äusseren Eigenschaften derselben waren folgende: Sie war sehr schwer löslich in Aether, leicht in kochendem Alkohol, in kochendem Wasser löste sie sich sehr schwer auf und schied sich fast ganz daraus wieder ab. Von 0,5 gr. der reinen Substanz, die ich in 75 ccm. Wasser nach längerem Kochen auflöste, schieden sich beim Erkalten über 0,45 wieder aus; es entspricht das einer Löslichkeit von etwa 1 : 1500—2000 kalten Wassers. Am besten konnte sie umkrystallisirt werden aus verd. Alkohol oder aus viel heissem Wasser. Sie schied sich daraus in mikroskopisch feinen, langen, stark gebogenen und baumförmig verästelten Nadeln aus, die in ganz reinem Zustande, nach etwa 10maligem Umkrystallisiren, bei 248° unter Gasentwicklung schmolzen. Die Krystalle sublimiren.

Die Analysen ergaben Werthe, die mit der Formel  $C_9H_9NO_3$  übereinstimmen.

1. 0,1601 gr. (bei 105° getr.) gaben

$$0,0790 H_2O = 0,008777 H = 5,48\%, \text{ und}$$

$$0,3578 CO_2 = 0,09757 C = 60,9\%.$$

2. 0,1836 gr. gaben

$$0,0869 H_2O = 0,00959 H = 5,2\%, \text{ und}$$

$$0,4062 CO_2 = 0,1108 C = 60,35\%.$$

3. 0,1726 gr. (nach Kjeldahl) lieferten  $NH_3$  entspr. 3,8 ccm.  $\frac{1}{4}$ -Normal-lauge = 0,0133 N = 7,7%.

	$C_9H_9NO_3$ verl.:	Gefunden:
C	= 60,3%	60,9 und 60,35%
H	= 5,03%	5,48 und 5,2%
N	= 7,8%	7,7%

Von Salzen wurden ein Silber- und ein Ca-Salz dargestellt:

a) Silbersalz.

Dasselbe wurde aus dem  $\text{NH}_3$ -Salz durch Fällung mittels  $\text{AgNO}_3$  dargestellt. Der zunächst amorphe Niederschlag löst sich in heissem Wasser schwer, beim Abkühlen scheiden sich feine und grobe Nadeln aus; aus sehr verd. Lösung scheiden sich mikroskopisch lange Nadeln aus, die sich rosettenförmig lagern.

0,3227 gr., bei  $105^\circ$  getr., gaben 0,1223 Ag = 37,9%.

$\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3\text{Ag}$  verl. Ag = 37,8%.

b) Calciumsalz.

0,5 gr. der reinen Substanz wurden in heissem Wasser gelöst, mit Kalkmilch versetzt, filtrirt,  $\text{CO}_2$  durchgeleitet, aufgeköcht und das Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft, nochmals filtrirt und auf 5 ccm. eingeeengt; es scheiden sich feine Nadeln und dicke grosse Prismen aus.

0,4402 gr. (lufttrocken) gaben bei  $110^\circ$  bis zur Gewichtskonstanz getrocknet 0,3844 gr. Verlust = 0,0558 = 12,8%  $\text{H}_2\text{O}$ .

$(\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3)_2\text{Ca} + 3\text{H}_2\text{O}$  verl.  $\text{H}_2\text{O}$  = 12%.

0,3844 gr. gaben 0,0934  $\text{CaCO}_3$  = 0,03736 Ca = 9,7%.

Nach starkem Glühen 0,0567 CaO = 0,0405 Ca = 10,5%.

$(\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3)_2\text{Ca}$  verl. Ca = 10,1%.

Um die Constitution der Substanz zu erfahren, liess ich 1 gr. der reinen Säure mit conc. HCl 5 Stunden auf dem Sandbade am Rückflusskühler kochen. Nach dem Abkühlen schieden sich Krystalle ab, grosse, breite, rechteckige Blättchen und Tafeln, die abfiltrirt, nicht ausgewaschen, auf einer Thonplatte abgesogen werden und exsiccator-trocken 0,95 gr. wiegen. Das salzsaure Filtrat davon riecht deutlich nach Essigsäure; es wird mit Wasser stark verdünnt und abdestillirt, das Destillat mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  neutralisirt, auf geringes Volumen eingedampft, beim Kochen mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und etwas Alkohol entwickelt sich deutlicher Geruch nach Essigäther. Es ist damit das Vorhandensein der Acetylgruppe in der Substanz nach-



gewiesen. Die ausgeschiedenen Krystalle lösen sich leicht in Wasser, geben nach mehrmaligem Abdampfen mit Wasser noch einen dicken Niederschlag von  $\text{AgCl}$  auf Zusatz von  $\text{AgNO}_3$ , stellen also eine salzsaure Verbindung dar. Ihre Lösung wird mit  $\text{NH}_3$  alkalisch gemacht, wobei sich zunächst ein Niederschlag bildet, der sich wieder auflöst, dann mit Essigsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach dem Abdestilliren bleiben 0,6 gr. fast farbloser Krystalle, die aus heissem Wasser umkrystallisirt sich in farblosen, zierlichen, büschelförmig angeordneten Nadeln ausscheiden, die bei  $174\text{--}175^\circ$  schmelzen, sublimiren und süß schmecken. Alle diese Eigenschaften stimmen genau überein mit denen der m.-Amidobenzoësäure. Aus der Mutterlauge wird mittels  $\text{BaCO}_3$  ein Ba-Salz dargestellt, das aus der conc. wässerigen Lösung mittels Alkohol und Aether in über Centimeter langen, drusenförmig gruppirten Nadeln gefällt wird.

0,2051 gr., bei  $105\text{--}110^\circ$  getr., gaben 0,1826. Verlust = 0,0225 = 10,9%  $\text{H}_2\text{O}$ .

0,1826 gr. gaben 0,1016  $\text{BaSO}_4$  = 0,05974 Ba = 32,7%.

$(\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2)_2\text{Ba} + 3\text{H}_2\text{O}$  verl.  $\text{H}_2\text{O}$  = 11,6%.

Ba (des wasserfreien Salzes) = 33,5%.

Ein Silbersalz wurde aus 0,2 gr. der reinen Substanz durch Fällung ihres  $\text{NH}_3$ -Salzes mit  $\text{AgNO}_3$  dargestellt, das sich nach dem Umkrystallisiren in Nadeln ausscheidet.

0,2381 gr., bei  $110^\circ$  getr., wobei es sich etwas dunkel färbt, verlor 0,0158 = 6,6%  $\text{H}_2\text{O}$ .

0,2223 gaben 0,0982 Ag = 44,2%.

$\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2\text{Ag} + \text{H}_2\text{O}$  verl.  $\text{H}_2\text{O}$  = 6,8%.

Ag (des wasserfreien Salzes) = 44,3%.

Derselbe Wassergehalt ergab sich auch aus einer vorher gemachten Analyse des nur exsiccatorgetrocknenen Salzes.

0,1554 gr. gaben 0,0643 Ag = 41,4%.

$\text{C}_7\text{H}_6\text{NO}_2\text{Ag} + \text{H}_2\text{O}$  verl. Ag = 41,2%.

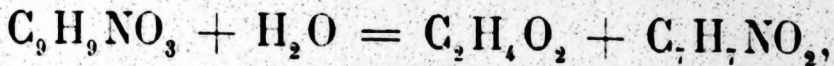
Schliesslich wurde noch eine N-Bestimmung nach Kjeldahl gemacht.

0,1403 gr. gaben  $\text{NH}_3$  entspr. 4 chem.  $\frac{1}{4}$ -Normalnatronlauge = 0,0140 N = 9,97%.

$\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$  verl. N = 10,22%.

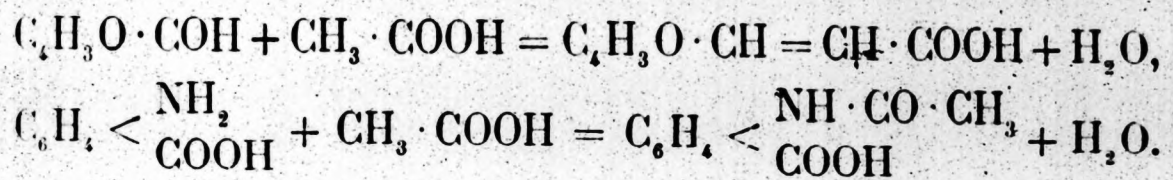
Nach der Analyse der Salze, der N-Bestimmung und allen Eigenschaften handelt es sich bei der abgespaltenen Substanz um m.-Amidobenzoësäure.

Der Spaltungsversuch hat also ergeben, dass die nach Fütterung mit m.-Nitrobenzaldehyd im Urin der Kaninchen auftretende schwer lösliche Substanz zerfällt in Essigsäure und m.-Amidobenzoësäure unter Wasseraufnahme:



also aufzufassen ist als m.-Acetylamidobenzoësäure, mit deren Eigenschaften die ihrigen auch vollkommen übereinstimmen, nur fand ich ihren Schmelzpunkt nach vielfachem Umkrystallisiren erst bei  $248^\circ$  constant, während er bisher zu  $240^\circ$  angegeben wurde.

Dieser merkwürdige Vorgang der Anlagerung der Acetylgruppe an eine in den Thierkörper eingeführte Substanz ist ganz analog der Bildung der Furfuracrylsäure aus Furfurol und Essigsäure, nur ist die Stelle der Anlagerung bei beiden eine verschiedene, bei der Furfuracrylsäure ist es die Aldehydgruppe, bei der Acetylamidobenzoësäure die Amidgruppe:



Was die Entstehung der Acetylamidobenzoësäure im Thierkörper aus dem Nitrobenzaldehyd anlangt, so ist dieselbe wohl so zu denken, dass zunächst die aus dem Nitrobenzaldehyd entstandene Nitrobenzoësäure in dem langen Kaninchendarm zu Amidobenzoësäure reducirt wird, als solche der Resorption anheimfällt und dann irgendwo in den Organen mit dem Atomcomplex der Essigsäure zusammentrifft, mit dem sie sich dann zur Acetylamidobenzoësäure vereinigt. Damit stünde im Einklang, dass beim Hunde, dessen kurzer Darm nicht die Gelegenheit zur Reduction der Nitro- in die Amidogruppe bietet, diese Synthese nicht eintritt, wenigstens gelang es mir nicht, in dem schon oben erwähnten Versuche mit m.-Nitrobenzaldehyd beim Hunde die Acetylamidobenzoësäure nachzuweisen und auch Sieber und Smirnow erwähnen nichts

von dem Vorhandensein einer solchen Substanz, die sich ja nach ihren Eigenschaften sehr leicht hätte auffinden lassen müssen.

Ich hegte nun die Vermuthung, dass nach Einführung fertiger m.-Amidobenzoësäure die Bildung der Acetylamidobenzoësäure noch leichter sich vollziehen würde. Schon Salkowski<sup>1)</sup> hat Hunde und Kaninchen mit m.-Amidobenzoësäure gefüttert und danach eine Säure gefunden, die sich als Uramidobenzoësäure erwies. Indessen fielen seine N-Bestimmungen zu niedrig aus, was sehr wohl von einer Beimengung der Acetylamidobenzoësäure herrühren konnte. Zur Entscheidung dieser Frage gab ich daher 2 Kaninchen an 4 auf einander folgenden Tagen je 2 gr. der m.-Amidobenzoësäure (von Kahlbaum bezogen, schmolz nach dem Umkrystallisiren bei 173°) als Na-Salz innerlich in viel Wasser gelöst, im Ganzen also 16 gr. Aus den sauren Aetherausügen schieden sich beim Abdestilliren auf etwa 200 ccm. 0,7 gr. Krystalle aus, aus der schwefelsauren Lösung noch 3,3 gr., die dieselbe Substanz darstellen. Sie war äusserst schwer löslich in Wasser, krystallisirte aus viel Wasser in baumförmig verzweigten, oder rosettenförmig angeordneten, schmalen, meist 4seitigen Prismen, die sich aus einzelnen kürzeren Abschnitten zusammensetzten, jedenfalls ganz anders, als die m.-Acetylamidobenzoësäure. Ihr Schmelzpunkt liegt höher, bei 265°, und ihre N-Analysen ergaben Werthe, die mit den für Uramidobenzoësäure berechneten übereinstimmen.

1. 0,2048 gr., bei 105° getr., gaben 0,1864. Verlust = 0,0184 = 8,9% H<sub>2</sub>O.  
0,1856 gr. gaben NH<sub>3</sub> entsprechend 7,9 chem.  $\frac{1}{4}$ -Normalnatronlauge  
= 0,02765 N = 14,9%.

2. 0,2003 gr. gaben bei 105° 0,1829. Verlust = 0,0174 = 8,7% H<sub>2</sub>O.  
0,1796 gr. gaben NH<sub>3</sub> entsprechend 7,7 chem.  $\frac{1}{4}$ -Normallauge =  
0,02695 N = 15,0%.

Uramidobenzoësäure  $C_6H_4 \begin{matrix} NH \cdot CO \cdot NH_2 \\ COOH \end{matrix} + H_2O$  verl. H<sub>2</sub>O = 9,1%

N (der wasserfreien Säure) = 15,5%.

<sup>1)</sup> E. Salkowski, Weitere Beiträge zur Kenntniss der Harnstoffbildung. Das Verhalten der Amidobenzoësäure im Thierkörper, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 7, S. 93.

Acetylamidobenzoësäure konnte ich daneben nicht nachweisen, auch in dem letzten Aetherrückstand nicht, der noch 0,9 gr. unreiner Uramidobenzoësäure ergab. Auf die ausserdem gebildete Amidohippursäure resp. daneben vorhandene Amidobenzoësäure habe ich nicht weiter Rücksicht genommen.

Einen Versuch mit Amidobenzaldehyd, der als Aldehyd vielleicht eher die Synthese mit Essigsäure eingehen dürfte, als die Säure, habe ich noch nicht anstellen können, da derselbe im Handel nicht erhältlich ist und mir die Reindarstellung desselben bisher nicht gelungen ist. Versuche in der Richtung beabsichtige ich noch fortzusetzen und werde dann gegebenen Falles darüber berichten.

### b) Orthonitrobenzaldehyd.

In der Annahme, dass auch der o.- und der p.-Nitrobenzaldehyd sich bei Kaninchen ähnlich dem m.-Nitrobenzaldehyd verhalten würden, und um auf diese Weise zugleich eine Bestätigung der mitgetheilten Synthese zu erhalten, gedachte ich nun Fütterung mit diesen beiden Aldehyden vorzunehmen, will aber gleich von vornherein mittheilen, dass sich beide durch ein ganz anderes Verhalten auszeichneten.

Ich gehe zunächst zur Beschreibung der Fütterung mit Orthonitrobenzaldehyd über.

3 Kaninchen erhielten innerhalb 5 Tagen  $10\frac{1}{2}$  gr. desselben (von Kahlbaum bezogen) in Dosen zu 1 gr., u. zw. im Durchschnitt jeden Uebertag je 1 gr., in wenig Alkohol gelöst und mit viel Wasser nachgespült in den Magen gegossen. Die Thiere kamen zwar sehr herunter, erholten sich aber nach Beendigung der Fütterung wieder. Die Urine zeigten bis auf geringe Reduction, die von etwas gährungsfähigem Zucker herrührte, ohne dass weder Rechts- noch Linksdrehung sicher nachgewiesen werden konnte, nichts Besonderes. Beim Ansäuern der in wenig Wasser gelösten Rückstände der vereinigten alkoholischen Auszüge des immer frisch eingedampften Urins mit verd.  $H_2SO_4$  schied sich nichts aus. Sie wurden 5mal mit grossen Portionen Aether extrahirt. Die Auszüge

zeigten prachtvolle dunkelgrüne, im durchfallenden Lichte gelbe Fluorescenz. Nach dem Abdestilliren derselben bis auf 150 cbem. schied sich bis zum nächsten Tage nichts aus, ebensowenig bei weiterem Abdestilliren. Der Aether wurde jetzt gänzlich verjagt, der letzte Rest wurde freiwillig im Becherglas an der Luft verdunstet und steht dann 24 Stunden im luftleeren Exsiccator über  $H_2SO_4$  und Paraffin. Der Rückstand bleibt dünnflüssig, es scheidet sich nichts Krystallinisches daraus ab, auch nicht, als er mit Wasser übergossen noch 2mal 24 Stunden stehen blieb. Er wurde darauf in der Kälte mittels Kalkmilch in's Kalksalz verwandelt, wobei nur ein sehr geringer Antheil des Harzes sich nicht löste. Der überschüssige Kalk wurde durch  $CO_2$  entfernt und das noch schwach alkalische Filtrat bis auf etwa 5 cbem. eingedampft. Das Kalksalz krystallisirte nicht aus, fiel auf Zusatz von Alkohol und Aether in amorphen Flocken aus. Es wurde mit überschüssiger starker  $HCl$  versetzt, worauf zuerst ein Oel ausfiel, das nach kurzer Zeit krystallinisch erstarrte; es wurde noch einige Zeit mit der  $HCl$  verrieben, dann abfiltrirt und ohne ausgewaschen zu werden auf einer Thonplatte abgesogen und getrocknet. Die Krystalle wiegen 1 gr. Aus ihrer Mutterlauge erhält man durch Ausschütteln mit Aether nur noch Spuren. Die Krystalle lösen sich leicht in kochendem Wasser, scheiden sich beim Abkühlen in etwa 1 cm. langen, prismatischen Nadeln aus, die nach nochmaligem Umkrystallisiren bei  $147-149^\circ$  schmelzen, sublimiren und intensiv süß schmecken. Orthonitrobenzoësäure soll bei  $147^\circ$  schmelzen und obige Eigenschaften zeigen.

Von einem Theil wird ein Ag-Salz gemacht durch Versetzen des  $NH_3$ -Salzes mit  $AgNO_3$ . Es schied sich zunächst aus der Lösung nichts aus, erst nach 8tägigem Stehen im luftverdünnten Exsiccator erhielt ich Krystalle, dicke prismatische Nadeln, deren Mutterlauge beim Ansäuern sofort zu einem Krystallbrei der freien Säure erstarrt. Es scheint danach das Silbersalz leichter löslich zu sein, als die Säure.

0,1240 gr. gaben 0,0482 Ag = 38,9%.

Nitrobenzoësäures Silber verl. Ag = 39,4%.

Ich erhielt also zunächst nach der Fütterung mit 10 $\frac{1}{2}$  gr. Orthonitrobenzaldehyd nur etwas über 1 gr. Nitrobenzoësäure, daneben keine Spur einer gepaarten Verbindung. Nun hätte vielleicht die Nitrogruppe reducirt sein können, so dass diese neue Verbindung aus der schwefelsauren Lösung nicht in den Aether überging. Ich machte daher diese mit  $K_2CO_3$  alkalisch — 3 Aetherauszüge dieser alkal. Lösung hinterliessen nur eine minimale Menge einer harzartigen Substanz —, säuerte dann mit Essigsäure an und schüttelte wiederum mehrmals mit Aether aus. Die Auszüge hinterlassen eine noch viel Essigsäure enthaltende Flüssigkeit, aus der dieselbe durch mehrmaliges Abdampfen mit Wasser vollständig verjagt wurde. Es blieb zuletzt ein krystallinisch erstarrender Rückstand, der sich nach einmaligem Umkrystallisiren als einige dgr. reinen Harnstoffs erwies.

Es sind also in der That von dem eingeführten Orthonitrobenzaldehyd ca. 90% im Thierkörper zerstört worden. Es bildet dies eine Analogie zu dem Verhalten vieler Orthoverbindungen ausserhalb des Organismus oxydirenden Einflüssen gegenüber, wobei dieselben leicht vollständig zerstört werden, während die Verbindungen der Meta- und Parareihe sich denselben gegenüber viel resistenter erweisen.

### c) Paranitrobenzaldehyd.

Am meisten Interesse gewährten die Versuche mit dem p.-Nitrobenzaldehyd, zu deren Beschreibung ich mich nunmehr wende. Der Aldehyd wurde von mir nach der Richter'schen Vorschrift<sup>1)</sup> dargestellt durch Einwirkung von Chromylchlorid auf p.-Nitrotoluol in einer Lösung von  $CS_2$ . Ich erhielt den p.-Nitrobenzaldehyd nach einmaligem Umkrystallisiren aus viel heissem Wasser in zolllangen, spröden Nadeln, die bei 106—110° schmelzen.

Da sich der Aldehyd sowohl in Wasser, als auch in wenig Alkohol nur schwer löst, konnte ich ihn nicht in Lösung in den Magen der Versuchsthiere einführen, sondern musste mich dazu einer Suspension in viel Wasser bedienen. Die

<sup>1)</sup> Berl. Ber., Bd. XIX, S. 1061.

Kaninchen erhielten ihn in Dosen von je 1 gr., jeden Uebertag 1mal, und vertrugen ihn verhältnissmässig gut, magerten zwar sehr ab, erholten sich aber nach dem Aufhören der Fütterung wieder; allerdings gingen einige Thiere noch mehrere Wochen darauf unter allmäliger Entkräftung zu Grunde.

Die Urine wurden in der früher beschriebenen Weise verarbeitet. Die in wenig Wasser aufgenommenen Rückstände der alkoholischen Auszüge erstarrten auf Zusatz der genügenden Menge verd.  $H_2SO_4$  zu einem Krystallbrei, der sich nach 6maligem Ausschütteln mit sehr grossen Portionen Aethers in diesem vollständig löste. Um etwaige verschiedene, darin enthaltene Substanzen von einander zu trennen, wurde der Aether fractionirt abdestillirt. Bei einer Fütterungsreihe mit 21 gr. p.-Nitrobenzaldehyd erhielt ich auf diese Weise folgende Portionen: Beim Abdestilliren auf etwa 500 ccm. schieden sich Krystalle ab, die nach reichlichem Auswaschen mit Aether 6,9 gr. wogen, bei weiterem Abdestilliren auf etwa 150 ccm. wieder 6,9 gr., auf 50 ccm. noch 2 gr., schliesslich wurde der letzte Aether abdestillirt, der Rückstand mit Wasser übergossen mehrere Tage stehen gelassen, die mit Harz vermengten Krystalle abfiltrirt, sie gaben nach einmaligem Umkrystallisiren noch 1 gr.; das erste Filtrat derselben wurde nochmals mit Aether extrahirt, ich erhielt daraus etwas gewöhnliche Hippursäure. Die ersten 4 Abscheidungen erwiesen sich als identisch und bildeten fast quantitativ das Umwandlungsproduct des p.-Nitrobenzaldehyds, zu dessen Beschreibung ich jetzt übergehe:

Die Substanz war mässig schwer löslich in Aether, leicht in kochendem Alkohol, löste sich enorm schwer in kochendem Wasser auf, aus dem sie nach mehrmaligem Umkrystallisiren in reinem Zustande in farblosen Krystallen gewonnen wurde, die unter dem Mikroskop bei etwa 600facher Vergrösserung kugelige Aggregate von einem dichten Gewirr äusserst feiner Nadeln bildeten, die an den Rändern nach allen Seiten in korkzieher-, peitschen- oder schleifenförmigen Krümmungen ausstrahlten. Diese Form änderte sich nach oftmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser nicht mehr und war so charakteristisch, dass

man an ihr das Vorhandensein der Substanz immer sofort erkennen konnte. Für die Reinheit der Substanz bürgte der constante Schmelzpunkt  $252-254^{\circ}$ , den auch nach mehrmaligem Umkrystallisiren die aus der Mutterlauge zurückgewonnenen Krystalle zeigten, ebenso die aus einem 3mal umkrystallisirten Kalksalz durch Ausfällung mit Essigsäure und nochmaliges Umkrystallisiren dargestellten, die gleichfalls die oben beschriebene Form darboten. In diesem ganz reinen Zustande bildet die Substanz ein lockeres, sehr leichtes Krystallpulver von kalkähnlichem Aussehen, das beim Zerreiben gewissermassen elektrische Eigenschaften zeigte, indem es weit aus der Schale spritzte und an dem Reiber haften blieb wie Eisenfeilspähne am Magneten. Die Substanz sublimirt nur zum Theil, unter Entwicklung starken Geruches nach Essigsäure, so dass also schon hierdurch die Anwesenheit der Acetylgruppe in ihr mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Sie ist eine Säure, die sich in  $\text{NH}_3$  sehr leicht löst und durch Säuren daraus als dicke Gallerte ausgefällt wird. In diesem frisch gefällten Zustande geht sie sehr leicht in Aether über.

Die Analysen, die ich von der oft umkrystallisirten und dann bei  $105-110^{\circ}$  getrockneten Substanz machte, wobei sie kein  $\text{H}_2\text{O}$  verlor, ergaben folgende Werthe:

1. 0,1576 gr. gaben 11,4 ccm. N bei  $t = 9^{\circ}$  und  $\text{Ba} = 753$  mm.

$$\text{N} = 0,01358424 = 8,6\%.$$

2. 0,1403 gr. gaben 9,5 ccm. N bei  $t = 5^{\circ}$  und  $\text{Ba} = 767$  mm.

$$\text{N} = 0,0117306 = 8,4\%.$$

3. 0,1473 gr. gaben 11 ccm. N bei  $t = 12^{\circ}$  und  $\text{Ba} = 751$  mm.

$$\text{N} = 0,0129008 = 8,7\%.$$

4. 0,1800 gr. gaben 0,0665  $\text{H}_2\text{O} = 0,00741$  H, und

$$0,3647 \text{ CO}_2 = 0,09945 \text{ C.}$$

$$\text{C} = 55,3\%; \text{H} = 4,1\%.$$

5. 0,1885 gr. gaben 0,0717  $\text{H}_2\text{O} = 0,00797$  H, und

$$0,3831 \text{ CO}_2 = 0,1045 \text{ C.}$$

$$\text{C} = 55,4\%; \text{H} = 4,2\%.$$

6. 0,1874 gr. gaben 0,0717  $\text{H}_2\text{O} = 0,007967$  H, und

$$0,3845 \text{ CO}_2 = 0,10486 \text{ C.}$$

$$\text{C} = 55,9\%; \text{H} = 4,3\%.$$

7. 0,1849 gr. gaben 0,0695  $\text{H}_2\text{O} = 0,007722$  H, und

$$0,3771 \text{ CO}_2 = 0,1028 \text{ C.}$$

$$\text{C} = 55,6\%; \text{H} = 4,1\%.$$



Die Analysen ergaben also im Mittel:

$$\begin{aligned} \text{C} &= 55,55 \\ \text{H} &= 4,17 \\ \text{N} &= 8,56. \end{aligned}$$

Daraus lässt sich die Formel berechnen  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$ , welche verlangt:

$$\begin{aligned} \text{C} &= 55,4 \\ \text{H} &= 4,0 \\ \text{N} &= 8,1. \end{aligned}$$

Um einen Einblick in die Constitution der Substanz zu erlangen, machte ich zunächst folgenden Spaltungsversuch:

1 gr. der einmal umkrystallisirten Substanz, Schmelzpunkt  $252^\circ$ , wird mit conc. HCl im zugeschmolzenen Rohre 5 Stunden bei  $150^\circ$  erhitzt. Nach dem Abkühlen haben sich dicke Krystalle abgeschieden, die abfiltrirt werden, 0,35 gr. Sie sind in Wasser äusserst schwer löslich, schmelzen bei  $238-240^\circ$ . Ein Theil davon wird in's Ag-Salz verwandelt durch Fällung des  $\text{NH}_3$ -Salzes mittels  $\text{AgNO}_3$ . Es bildet lange Nadeln.

0,1472 gr. gaben 0,0580 Ag = 39,4%.

Es handelt sich also um p.-nitrobenzoësaures Silber, welches verlangt Ag = 39,4%. p.-Nitrobenzoësäure schmilzt bei  $238^\circ$ .

Das salzsaure Filtrat der ausgeschiedenen Krystalle wird stark mit Wasser verdünnt und die Hälfte abdestillirt. Das Destillat riecht nicht nach Essigsäure, ist nur schwach sauer: es wird mit  $\text{NH}_3$  alkalisch gemacht, auf ein kleines Volumen eingedampft, gibt mit  $\text{AgNO}_3$  einen geringen Niederschlag von AgCl; essigsäures Silber schied sich nicht aus. Der salzsaure Destillationsrückstand wird 3mal mit Wasser auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, es bleibt ein braungefärbter krystallinischer Rückstand, 0,15 gr., der ohne zu schmelzen fast vollständig sublimirt, im Wasser leicht löslich ist, mit KOH gekocht ammoniakalische Dämpfe entwickelt und mit  $\text{AgNO}_3$  einen dicken Niederschlag von AgCl gibt, es handelte sich also um ein salzsaures Salz. Es wird davon ein Pt-Salz gemacht, wobei sich aber nur ein geringer Niederschlag ausscheidet.

0,0041 gr. gaben 0,0018 Pt = 43,9%.

$(\text{NH}_4\text{Cl})_2\text{PtCl}_4$  verl. Pt = 43,8%.

Das Filtrat von dem Platinsalmiak wurde durch  $H_2S$  vom Pt befreit, das Filtrat davon hinterliess nur einen minimalen Rückstand, mit dem ich nichts mehr anfangen konnte. Dieser Spaltungsversuch ergab also ca. 35% Nitrobenzoësäure, eine Spur  $NH_3$ , die aber vielleicht auf eine Verunreinigung oder secundäre Abspaltung bezogen werden dürfte, und eine geringe Menge eines dritten Productes, dessen Natur sich nicht feststellen liess. Etwa die Hälfte schien dabei zerstört zu sein.

In einem zweiten Versuche wurden 0,82 gr., die einmal aus viel heissem Wasser umkrystallisirt waren, mit starkem Barytwasser 5 Stunden am Rückflusskühler gekocht; die Lösung färbt sich etwas gelb dabei. Nach dem Kochen wird die Lösung zum Theil abdestillirt, wobei ganz im Beginn ein stark alkal. Destillat in geringer Menge überging, wahrscheinlich wieder Spuren  $NH_3$ . Der alkal. Destillationsrückstand wird mit Wasser stark verdünnt, der Ueberschuss des  $Ba(OH)_2$  durch  $CO_2$  entfernt und das Filtrat, das in dieser starken Verdünnung schon mit  $HCl$  einen krystallinischen Niederschlag, kleine Blättchen und rhomb. Tafeln, gibt, die wie p.-Nitrobenzoësäure aussehen, auf ca. 50 ccm. eingedampft. Nach dem Ansäuern mit  $HCl$  scheiden sich 0,33 gr. Krystalle ab, die bei  $238^\circ$  schmelzen, also p.-Nitrobenzoësäure sind. Das Filtrat davon wird mit Aether extrahirt, man erhält daraus noch ca. 0,01 Nitrobenzoësäure. Aus der salzsauren Lösung wird der Aether verjagt und der Baryt genau mit  $H_2SO_4$  ausgefällt, das Filtrat davon eingedampft. Der krystallinische Rückstand, der noch mit  $AgNO_3$  starken Niederschlag von  $AgCl$  gibt, in sehr wenig Wasser gelöst, filtrirt und mit Alkohol und Aether versetzt. Es scheidet sich nichts aus. Die weitere Verarbeitung wird aufgegeben.

Um grössere Mengen dieses letzteren Spaltungsproductes zu gewinnen, kochte ich jetzt 2,8 gr. der Substanz mit heiss-gesättigtem Barytwasser 5 Stunden am Rückflusskühler, verdünnte mit viel Wasser, leitete  $CO_2$  durch, dampfte das neutrale Filtrat auf etwa 30 ccm. ein und versetzte mit verd.  $H_2SO_4$ . Aus dem Niederschlage wurde die darin ent-

haltene Nitrobenzoësäure mit  $\text{NH}_3$  ausgezogen und mit  $\text{HCl}$  gefällt. Ich erhielt 0,35 gr.; von einem Theil wird ein Ag-Salz gemacht; dasselbe bildete nach dem Umkrystallisiren mehrere Millimeter lange, feine, breite Blättchen.

0,1191 gr. gaben 0,0468 Ag = 39,3%.

Nitrobenzoësäures Silber verl. Ag = 39,4%.

Die von dem schwefelsauren Baryt und der Nitrobenzoësäure abfiltrirte Flüssigkeit wird mit  $\text{Ba(OH)}_2$  alkalisch gemacht, der überschüssige Baryt durch  $\text{CO}_2$  entfernt und das Filtrat eingedampft. Es reagirt schwach alkalisch, gibt noch Niederschläge mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; es handelt sich also wahrscheinlich um ein Barytsalz einer Amidosäure, die, wie oben beschrieben, auch ein salzsaures Salz gibt. Der Trockenrückstand bildet eine nicht krystallinische lackartige Masse. Sie wird wieder in wenig Wasser gelöst und der Baryt mit ganz verdünnter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  genau ausgefällt, das Filtrat dann wieder zur Trockne verdampft. Es bleibt nur ein sehr geringer, etwas harziger Rückstand, der zu einer weiteren Untersuchung nicht mehr ausreichte.

Auch bei diesen beiden Versuchen war es mir also nicht gelungen, das zweite Spaltungsproduct, das neben der Nitrobenzoësäure auftrat, zu isoliren, es schien sich nach Allem um eine leicht zersetzliche Amidosäure zu handeln.

Bisher war durch die Spaltungsversuche also nur das Vorhandensein der Nitrobenzoësäure in der Substanz sicher nachgewiesen. Ich schlug nun einen anderen Weg ein, indem ich den Versuch machte, ein Reductionsproduct darzustellen, um aus diesem dann Schlüsse auf die Constitution des Körpers machen zu können. Zu diesem Zwecke bediente ich mich einer von Claisen und Thompson speciell für die Umwandlung von Nitrosäuren angegebenen Methode<sup>1)</sup>.

2 gr. der noch nicht ganz reinen Substanz vom Schmelzpunkt  $247^\circ$  wurden in Barytwasser in der Wärme bis zur schwach alkal. Reaction gelöst, dann die für die Umwandlung einer Nitrogruppe berechnete Menge Eisenvitriol (ca. 25 gr.)

<sup>1)</sup> Lassar-Cohn, Arbeitsmethoden, S. 263.

in Wasser gelöst noch warm zugefügt, Barytwasser bis zur schwach alkal. Reaction zugesetzt und auf dem Wasserbade 1 Stunden erwärmt. Darauf wurde filtrirt und das Filtrat nach Entfernung des sehr geringen Ueberschusses von Baryt durch  $\text{CO}_2$  bis ca. 30 cbcm. eingedampft, mit Essigsäure angesäuert, mehrmals mit Aether extrahirt und die Auszüge abdestillirt. Der krystallinische Rückstand ist schwach gelbbraun gefärbt, wiegt 1,6 gr., wird aus kochendem Wasser, worin sich ein Theil leicht, ein anderer, sehr schwer zu lösen scheint, unter Entfärbung mit etwas Thierkohle, umkrystallisirt. Bei schneller Abkühlung scheiden sich 0,5 gr. kleine Nadeln und Blättchen aus. Sie werden nochmals aus Wasser umkrystallisirt, lösen sich sehr schwer darin auf und scheiden sich in zarten, fast 1 cm. langen Nadeln aus. Nach nochmaligem Umkrystallisiren schmelzen sie bei  $251^\circ$ , sublimiren in wolkigen Flocken mit Hinterlassung eines geringen Rückstandes und entwickeln dabei starken Geruch nach Essigsäure. Sie sind noch gelblich gefärbt, wiegen jetzt 0,23 gr. In ihren Eigenschaften stimmt die Substanz genau überein mit p.-Acetylamidobenzoësäure, was durch eine N-Bestimmung nach Kjeldahl und einen Spaltungsversuch bestätigt wurde.

0,1996 gr. (bei  $105^\circ$  getr.) gaben  $\text{NH}_3$  entsprechend 4,6 cbcm.  $\frac{1}{4}$ -Normalnatronlauge = 0,1610 N = 8,06 %.

Acetylamidobenzoësäure verl. N = 7,8 %.

Der nach dieser Bestimmung noch verbleibende Rest der Substanz, ca. 0,01—0,02, wird mit HCl in einem Reagensglas 20 Minuten gekocht, beim Abkühlen scheiden sich Krystalle ab u. zw. dicke, kurze, 4- und 6eckige Säulen und Tafeln; nach Uebersättigung mit  $\text{NH}_3$  und Ansäuerung mit Essigsäure wird mit Aether extrahirt, der nach dem Verdunsten schwach gelblich gefärbte Krystalle zurücklässt, die bei  $186$ — $187^\circ$  schmelzen. p.-Amidobenzoësäure schmilzt bei  $186^\circ$ .

Die vereinigten Mutterlaugen der hiermit nachgewiesenen p.-Acetylamidobenzoësäure, die noch eine leichter lösliche Verbindung zu enthalten schienen, werden kalt mit Kalkmilch versetzt,  $\text{CO}_2$  durchgeleitet, aufgeköcht, das neutrale Filtrat

auf ein kleines Volumen eingedampft, mit Essigsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach dem Abdestilliren bleiben 0,5 gr. Krystalle, die nach zweimaligem Umkrystallisiren aus wenig Wasser in langen, zarten, spröden Nadeln sich ausscheiden, bei  $185-186^{\circ}$  schmelzen, und deren Mutterlaugen den für p.-Amidobenzoësäure charakteristischen Niederschlag mit essigsauerm Blei geben.

N-Bestimmung nach Kjeldahl.

0,0897 gr. (bei  $105^{\circ}$  getr.) gaben  $\text{NH}_3$  entsprechend 3 cbcm.  $\frac{1}{4}$ -Normalnatronlauge = 0,0105 N = 10,2%.

Amidobenzoësäure verl. N = 10,2%.

Danach zerfällt also die Substanz bei der Reduction zweifellos in anscheinend gleiche Theile p.-Acetylamidobenzoësäure und p.-Amidobenzoësäure.

Schliesslich machte ich nochmals einen Spaltungsversuch, indem ich 1,5 gr. der Substanz mit starker Salzsäure 4 Stunden am Rückflusskühler kochte; die Lösung färbte sich dabei dunkelbraun und schied nach dem Abkühlen eine Menge braunschwarz gefärbter Krystalle ab. Nach starker Verdünnung mit Wasser wurde von diesen, die 0,67 gr. wogen und sich wiederum als p.-Nitrobenzoësäure erwiesen, abfiltrirt und das hellgelbe Filtrat auf dem Wasserbade 3 mal mit Wasser zur Entfernung der HCl zur Trockne verdampft. Es bleiben jetzt Krystalle zurück, die 0,8 gr. wiegen, in Wasser ziemlich leicht löslich sind, zum Theil sublimiren, mit KOH eine Spur  $\text{NH}_3$  entwickeln und mit  $\text{AgNO}_3$  einen dicken Niederschlag von AgCl geben, also ein salzsaures Salz darstellen. Sie werden in Wasser gelöst, mit Thierkohle entfärbt, der Trockenrückstand wiegt noch fast 0,5 gr. Er wird jetzt in wenig Wasser gelöst, von einer Spur Nitrobenzoësäure abfiltrirt, mit  $\text{NH}_3$  alkalisch gemacht, mit Essigsäure angesäuert und mit Aether extrahirt: aus diesem erhält man nach dem Abdestilliren Krystalle, die sich an der Luft etwas kirschroth färben, vollständig sublimiren und bei  $187^{\circ}$  schmelzen. Aus wenig Wasser umkrystallisirt bilden sie farblose, stark verfilzte Nadeln, aus sehr verdünnter Lösung haarfeine, über 1 cm. lange, stark

gekrümmte, spröde Nadeln, die in diesem reinen Zustande bei 191—192° schmelzen. Sie sind in heissem Wasser leicht, in kaltem ziemlich schwer löslich. Ihre Mutterlauge gibt mit essigsauerm Blei den für p.-Amidobenzoësäure charakteristischen Niederschlag.

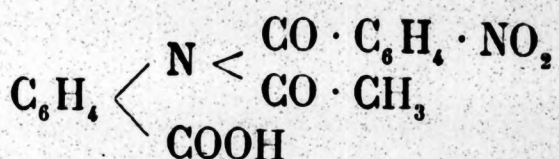
N-Bestimmung nach Kjeldahl.

0,1450 gr. (bei 105° getr.) gaben NH<sub>3</sub> entsprechend 4,3 cbem. 1/4-Normalnatronlauge = 0,01505 N = 10,4%.

Amidobenzoësäure verl. N = 10,2%.

Bei dieser Spaltung zérfiel also die Substanz in annähernd gleiche Theile p.-Nitrobenzoësäure und p.-Amidobenzoësäure. Auf die Essigsäure, die sich gleichfalls abgespalten haben musste, wurde nicht weiter Rücksicht genommen.

Fasse ich die Resultate, die das Studium der nach Fütterung mit p.-Nitrobenzaldehyd aus dem Kaninchenharn gewonnenen Substanz mir ergeben hat, zusammen, so führen sie für dieselbe zu der Formel:

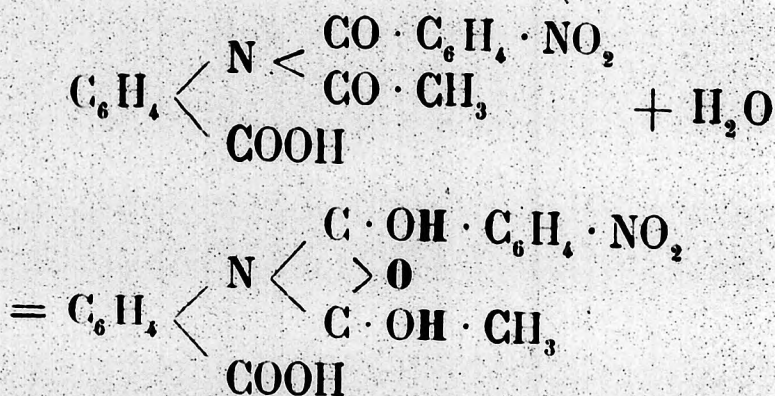


d. h. Acetyl-p.-Nitrobenzoyl-p.-Amidobenzoësäure. Bei der Spaltung durch Kochen mit HCl muss dieselbe in Nitrobenzoësäure, Amidobenzoësäure und Essigsäure zerfallen, während sie bei der Reduction Amidbenzoylacetylamidobenzoësäure gibt, die dann secundär in Amidobenzoësäure und Acetylamidobenzoësäure zerfällt.

Die Summenformel dieser Verbindung ergibt allerdings nur C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, während sich aus den Analysen die Formel C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> berechnen liess. Die Differenz ist also H<sub>2</sub>O. Da die Substanz bei 105—110° kein Wasser verlor, so hatte ich sie zunächst für wasserfrei angesehen und auch alle Analysen von der bei 105° getrockneten Substanz gemacht. Um daher zu entscheiden, ob dieselbe bei höherer Temperatur Wasser verliert, erhitzte ich ca. 0,5 gr. bei 105°. Nach 6 Tagen hatte sie schon 10,6% verloren, ohne constant geworden zu sein, während C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> + H<sub>2</sub>O 5,2% H<sub>2</sub>O verlangt.

Es stellte sich dabei heraus, dass die Substanz bei 150° etwas flüchtig ist, denn eine geringe Menge derselben hatte sich, auf einem Uhrschälchen der Temperatur von 150° ausgesetzt, nach 5 Stunden bereits vollständig verflüchtigt. Es liess sich also auf diese Art nicht entscheiden, ob die Substanz Krystallwasser enthält.

Danach bliebe mir also nichts weiter übrig, als anzunehmen, dass das eine Molecül  $H_2O$  in irgend einer Weise fest gebunden in dem Molecül steckt, und zwar könnte man sich die Bindung in folgender, allerdings etwas gezwungener Weise denken:



Es stünden damit in gewissem Einklang die Resultate, die ich bei der Analyse des Silber- und des Kalksalzes erhielt.

Das Silbersalz wurde dargestellt durch Fällung des  $NH_3$ -Salzes mit  $AgNO_3$ . Es schied sich zuerst als dicke Gallerte aus, die mikroskopisch aus feinsten Nadelchen bestand; nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, in dem es sich sehr schwer löste, krystallisirte es in langen, schmalen Blättchen, die sich rosettenförmig anordneten.

1. 0,0763 gr. (bei 105° getr., wobei es an Gewicht nicht abnahm) gaben 0,0296 Ag = 38,7%.
2. 0,1692 gr. (6 Stunden bei 130° getr., wobei es nur 0,0009 abgenommen hatte) gaben 0,0649 Ag = 38,3%.
3. 0,1292 gr. (bei 105° getr.) gaben 0,0493 Ag = 38,2%.

Das Kalksalz wurde gewonnen durch Lösen der Substanz in viel heissem Wasser, Versetzen mit Kalkmilch bis zur schwach alkalischen Reaction, Einleiten von  $CO_2$ , Aufkochen; das Filtrat wurde auf kleines Volumen eingedampft, mit Thierkohle entfärbt und weiter eingedampft; es erstarrt dabei zu einem Krystallbrei, der aus feinen Nadeln besteht. Dieselben wurden

noch 2mal aus Wasser umkrystallisirt. Das Salz verlor nach 14tägigem Stehen im Exsiccator das Krystallwasser bis auf einen ganz geringen Rest, wurde schliesslich bei  $110^{\circ}$  getrocknet.

1. 0,2472 gr., mit  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  ausgefällt, gaben nach starkem Glühen  
0,0366 CaO = 0,02614 Ca.

$$\text{Ca} = 10,6\%$$

2. 0,1685 gr. gaben 0,0580  $\text{CaSO}_4$  = 0,01706 Ca.

$$\text{Ca} = 10,1\%$$

Nun verlangt die Formel  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$ , wenn ich die Säure, da sie nur eine Carboxylgruppe enthält, als einbasisch annehme, für das Silbersalz  $\text{Ag} = 23,8\%$  und für das Calciumsalz  $\text{Ca} = 5,5\%$ , während sie, wenn sie zweibasischer Natur wäre, für das Silbersalz  $\text{Ag} = 38,6\%$  und für das Calciumsalz  $\text{Ca} = 10,4\%$  verlangen würde, womit allerdings das Resultat der obigen Analysen gut übereinstimmen würde. Man müsste dann annehmen, dass das zweite, durch Metall vertretbare H-Atom die eine der beiden HO-Gruppen enthielte. Zwar müsste in diesem Falle das eine Ca-Atom 2 H vertreten, die zu einander in der Parastellung stehen, aber immerhin wäre wohl diese Lösung, wenn auch nicht sehr befriedigend, doch die einzig mögliche.

Nun war es aber auffallend, dass eine Moleculargewichtsbestimmung, die ich nach der Raoult'schen Methode anstellte, nur das halbe Moleculargewicht ergab.

Angewandt wurde 13,5590 synthet. Phenol, 0,1449 gr. Substanz, also Procentgehalt 1,07.

Erstarrungspunkte des reinen Phenols:

$$\left. \begin{array}{l} 0,05 \\ 0,04 \\ 0,03 \end{array} \right\} \text{Mittel } 0,04^{\circ}$$

Erstarrungspunkte der Mischung:

$$\left. \begin{array}{l} 1,58 \\ 1,61 \end{array} \right\} \text{Mittel } 1,595^{\circ}$$

Differenz  $0,445^{\circ}$ .

Daraus berechnet sich nach der Formel  $M = \frac{c \cdot p}{t}$   $M = 182$ .

Die Formel  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$  verl.  $M = 346$ , also annähernd das Doppelte.



Die aus dem Phenol zurückgewonnenen Krystalle zeigten wieder die charakteristische Form und schmolzen bei  $254^{\circ}$ , die Substanz war also unzersetzt wiedererhalten worden.

Dasselbe Resultat ergab eine Moleculargewichtsbestimmung nach der Beckmann'schen Methode:

Angewandt wurden: Alkohol absol. 49,2 gr., Substanz 0,5623 gr.

Siedepunkt des Alkohols lag bei  $1,286^{\circ}$ , Siedepunkt von Alkohol und Substanz bei  $1,356^{\circ}$ .

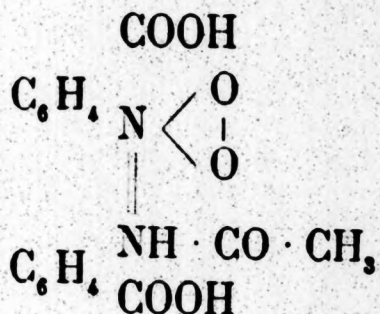
Die Erhöhung betrug also  $0,07^{\circ}$ .

Daraus berechnet sich nach der Formel  $M = 100 \cdot K_s \frac{g}{G(t_1 - t)}$   
 $M = 187$ .

Eine Lösung dieser Widersprüche und eine definitive Aufklärung über die Constitution der Substanz erhielt ich jedoch mit einem Schlage, als ich den Versuch machte, dieselbe auf synthetischem Wege darzustellen. Es gelang mir auf sehr einfache Weise dadurch, dass ich annähernd gleiche Theile p.-Nitrobenzoësäure und p.-Acetylamidobenzoësäure in der genügend grossen Menge heissen Wassers löste, beim langsamen Abkühlen schied sich die in Rede stehende Substanz in reinem Zustande und schönster Ausbildung der Krystalle sofort aus. Beimengungen von freier Nitrobenzoësäure oder Acetylamidobenzoësäure, die an der ganz differenten Gestalt der Krystalle im mikroskopischen Bilde mit Leichtigkeit hätten erkannt werden können, waren nicht nachweisbar, ausserdem fiel auch die neue Verbindung fast quantitativ wieder aus; aus je 1 gr. der Nitrobenzoësäure und Acetylamidobenzoësäure erhielt ich 1,75 gr. der Verbindung, so dass nur 0,25 gr. in den 370 ccm. Wasser, die ich zur Lösung brauchte, zurückgehalten wurden. Es entspricht das ungefähr einer Löslichkeit von 1 : 1500.

Es erscheint mir nach Allem zweifellos, dass wir es hier mit einer chemischen Verbindung gleicher Theile p.-Nitrobenzoësäure und p.-Acetylamidobenzoësäure zu thun haben, welche, da sie ohne Wasseraustritt zu Stande gekommen und eine zweibasische Säure ist, nur derart gedacht werden kann,

dass die beiden Paarlinge mit ihren N-Atomen zusammenhängen, wobei wir natürlich den N als 5werthig annehmen müssen.



In anderer Weise kann ich das Resultat der Analysen mit dem chemischen Verhalten der Substanz nicht in Uebereinstimmung bringen. Gegen den Einwand, es handle sich überhaupt gar nicht um eine chemische Verbindung, sondern um ein einfaches Gemenge der beiden Substanzen, sprechen folgende Thatsachen:

1. Es gelingt auf keine Weise, weder durch vielfaches Umkrystallisiren der Substanz selbst, noch ihrer Salze, den Charakter der Substanz zu ändern, was bei einem blossen Gemenge nicht gut möglich wäre, besonders da der eine Paarling, die Nitrobenzoësäure, sehr viel schwerer löslich ist, als der andere, die Acetylamidobenzoësäure, und auch als die Substanz selbst. Z. B. wurde ein Kalksalz 3 mal umkrystallisirt, die Säure daraus durch Essigsäure frei gemacht und nochmals umkrystallisirt, ich erhielt wiederum die Substanz in ihren charakteristischen Eigenschaften, deren Analyse für obige Formel gut stimmende Werthe ergab.

2. machte ich folgenden Versuch: Ich löste einerseits 0,1 Nitrobenzoësäure zusammen mit 0,2 Acetylamidobenzoësäure in der genügenden Menge heissen Wassers, andererseits 0,2 Nitrobenzoësäure und 0,1 Acetylamidobenzoësäure dergleichen; in beiden Fällen schied sich die Verbindung beider wie sonst aus, aber im ersten Falle reichlich vermengt mit Krystallen der Nitrobenzoësäure, die im mikroskopischen Bild dicke, viereckige Platten bildeten neben den charakteristischen zierlichen Krystallen der Verbindung, im zweiten Falle ganz rein ohne Beimengung, dagegen konnte ich aus dem Filtrat 0,06 gr. reiner Acetylamidobenzoësäure nach einmaligem Um-

krystallisiren des Aetherausuges wieder gewinnen, was wohl, die unvermeidlichen Verluste in Anrechnung gebracht, dem ganzen Ueberschuss entsprechen dürfte. In beiden Fällen hatte sich also die Verbindung gebildet, während die überschüssig zugegesetzten Säuren als solche frei nachgewiesen werden konnten.

3. Handelte es sich blos um ein Gemenge, so musste es gelingen, dasselbe durch fractionirte Fällung in Form eines Salzes in seine Bestandtheile zu zerlegen. Ich benutzte hierzu das Silbersalz.

1,5 gr. der aus dem Kaninchenharn gewonnenen Substanz und 1,75 gr. der synthetisch dargestellten verwandelte ich in das  $\text{NH}_3$ -Salz und fällte es in je 3 Portionen mit titrirter Silberlösung. Die ausgeschiedenen Silbersalze wurden nach gründlichem Auswaschen nochmals aus heissem Wasser umkrystallisirt, schieden sich in allen 6 Fällen übereinstimmend als lange, feine Nadeln aus, die zu kugelförmigen Aggregaten angeordnet waren.

Die Analysen derselben ergaben:

a) Substanz aus dem Kaninchenharn.

Fällung I:	0,3489 gr.	gaben	0,1325 Ag	=	37,98%
» II:	0,3387 »	»	0,1282 »	=	37,85 »
» III:	0,0826 »	»	0,0314 »	=	38,0 »

b) Synthetische Substanz.

Fällung I:	0,3982 gr.	gaben	0,1510 Ag	=	37,7%
» II:	0,2775 »	»	0,1055 »	=	38,0 »
» III:	0,0968 »	»	0,0365 »	=	37,7 »

Die Substanz verlangt Ag = 38,6%.

Weshalb in allen Fällen etwas zu wenig Ag gefunden wurde, so dass die Zahlen auch für Acetylamidobenzoësäure stimmen würden, vermag ich nicht zu sagen, jedenfalls stimmen alle 6 Analysen unter einander überein und dann, was wohl beweisend sein dürfte, liess sich aus den Silbersalzen durch Umsetzung derselben mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und Ansäuern des Filtrates mit Essigsäure stets nur die charakteristische Substanz ohne Spur einer Beimengung von Nitrobenzoësäure oder Acetylamidobenzoësäure wieder gewinnen, desgleichen aus allen

Waschwassern und allen Mutterlaugen der umkrystallisirten Silbersalze.

Es bedarf hiernach wohl keines weiteren Beweises, dass wir es hier mit einer chemischen Verbindung zu thun haben, so merkwürdig und meines Wissens ohne Analogie dastehend dieselbe auch ist, denn z. B. der salpetersaure Harnstoff, den man zum Vergleiche heranziehen könnte, unterscheidet sich dadurch, dass bei seiner Umwandlung in Salze der Harnstoff abgespalten und die Verbindung also zerlegt wird, während unsere Substanz dabei eine ganz beständige zweibasische Säure ist. Dass die Moleculargewichtsbestimmung nur das halbe Gewicht ergab, dürfte wohl durch ein ähnliches Verhalten erklärt werden können, wie es nach den Anschütz'schen Untersuchungen der Diacetyltraubensäuredimethyläther und der Diacetylrechtsweinsäuredimethyläther zeigen<sup>1)</sup>.

Der Vorgang im Thierkörper, dem die Substanz ihre Entstehung verdankt, ist so aufzufassen, dass ein Theil des eingeführten p.-Nitrobenzaldehyds ebenso wie der m.-Nitrobenzaldehyd in die Acetylamidobenzoësäure umgewandelt wird und mit noch vorhandener p.-Nitrobenzoësäure die Paarung eingeht. Das Primäre und Bestimmende ist demnach auch hier die Synthese mit Essigsäure.

Ich habe in der obigen Mittheilung den Nachweis erbracht, dass Synthesen mit Essigsäure im Thierkörper eine grosse Rolle spielen, dass also die Essigsäure bei den Umsetzungen, die sich im Organismus vollziehen, in grösserer Häufigkeit in die Erscheinung tritt und sich gewöhnlich nur wegen ihrer leichten Oxydirbarkeit schwer auffinden lässt. Es steht damit im Einklang, dass unter pathologischen Verhältnissen, bei denen die Oxydationskraft des Organismus eine verminderte ist, z. B. beim diabetes mellitus, leicht Derivate der Essigsäure in den Urin übergehen. Von Synthesen mit Essigsäure ist bisher, so weit mir bekannt, nur eine einzige beobachtet u. zw. als nebensächlicher Befund bei der Bildung der Mercaptursäuren nach Fütterung mit Brombenzol etc., bei

<sup>1)</sup> Richard Anschütz, Annalen, Bd. 247, S. 114, u. Bd. 253, S. 343.

denen neben der eigentlichen Synthese noch eine Anlagerung der Acetylgruppe in einer Seitenkette stattfindet. Schliesslich möchte ich aber noch darauf hinweisen, dass auch die Bildung des Glycocolls vielleicht in einem anderen Lichte erscheinen dürfte. Während man jetzt allgemein annimmt, dass dasselbe einer directen Abspaltung aus Leim resp. Eiweiss seine Entstehung verdankt, dürfte nach den obigen Auseinandersetzungen wohl der Gedanke nicht von der Hand zu weisen sein, dass es sich einfach durch Paarung des überall reichlich vorhandenen  $\text{NH}_2$  mit der ebenfalls leicht auftretenden Essigsäure unter Wasseraustritt bildet.

---