

Zur Kenntniss der Spaltungsproducte des Carniferrins.

Von
Paul Balke.

(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Institutes der Universität Leipzig.)
(Der Redaction zugegangen am 11. Juni 1896.)

I. Das Antipepton.

In seinen Arbeiten über Fleischsäure¹⁾ und Phosphorfleischsäure²⁾ zeigte Siegfried, dass das Carniferrin aus Fleischextract beim Erhitzen mit Baryhydrat in Fleischsäure, eine Kohlenhydratgruppe, Bernsteinsäure und Paramilchsäure zerfällt, dass die hierbei erhaltene Fleischsäure die einfache Formel $C_{10}N_3H_{16}O_8$ besitzt und höchst wahrscheinlich identisch ist mit dem Antipepton Kühne's, was Siegfried aus Kühne's Analysenwerthen des Antipeptons und der Fleischsäure, dem Silbersalz und sonstigen Eigenschaften beider Körper schloss. Um nun die Identität von Fleischsäure und Antipepton, vor Allem also den Säurecharacter des Antipeptons zu erweisen, war die Untersuchung weiterer Salze desselben geboten, und ich habe zu diesem Zwecke mehrere pancreatische Fibrinverdauungen ausgeführt. Ich bin dabei im Wesentlichen dem Kühne'schen Verfahren gefolgt und habe gefunden, dass vor Allem das von Kühne³⁾ angegebene Aussalzen der Albumosen in saurer, neutraler und ammoniakalischer Lösung unumgänglich nothwendig ist; zur Entfernung des Ammonsulfats bin ich von den von Kühne angegebenen Vorschriften etwas abgewichen und habe reine Producte des Antipeptons bekommen.

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiolog., physiol. Abthlg., 1894, S. 401.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 361.

³⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIX, S. 2.

deren Analysenwerthe constant sind und zwar denen der Fleischsäure sehr nahe stehen. Ich lasse nunmehr die

Methode zur Darstellung des reinen Antipeptons folgen: 1500 gr. feuchtes, sehr gut ausgewaschenes, mit der Hand möglichst ausgepresstes Fibrin wurden mit 2000 cbcm. Wasser, 9 gr. Soda (0,25 procentige Lösung) und Chloroform in einem Rundkolben durchgeschüttelt, auf 40° C. erwärmt und nachdem die Temperatur längere Zeit constant geblieben war, mit Pancreasferment versetzt. Als Ferment benutzte ich das sehr wirksame Pure Pancreatin von Parke, Davis & Co. in Detroit, Mich., dann Grübler's Pancreas sicc. nach Kühne, und endlich das Pankreatin von E. Merck. Nach 4tägigem Digeriren wurde von dem geringen Bodensatz abfiltrirt, schwach angesäuert, aufgeköcht, nochmals abfiltrirt und bis auf ca. 1 Liter eingedampft, wobei sich besonders nach dem Erkalten viel Tyrosin ausscheidet. «Die hinreichend verdünnte, von Albuminaten und coagulablen Stoffen befreite Verdauungslösung wird zuerst bei nahezu neutraler Reaction in der Siedehitze mit Ammonsulfat gesättigt, nach dem Abkühlen von den Salz- und Albumoseausscheidungen getrennt, wieder erhitzt, nach begonnenem Sieden mit Ammoniak und Ammoncarbonat kräftig alkalisch gemacht, von Neuem in der Hitze mit dem Sulfat gesättigt, nach dem Abkühlen von der zweiten Albumoseausscheidung abfiltrirt, zum dritten Male erhitzt, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist, nochmals mit dem Salz heiss gesättigt und nunmehr mit Essigsäure deutlich angesäuert, worauf eine dritte Albumosefällung hauptsächlich während des Abkühlens erfolgt»¹⁾). Die Masse wird nun nach dem Filtriren auf ca. 1 Liter auf dem Wasserbade eingedampft und nach dem Erkalten das in grosser Menge ausgeschiedene Ammonsulfat abfiltrirt. Man verdünnt dann bis auf ca. 3 Liter, erwärmt auf ca. 30° und trägt festes Barythydrat ein, das sich schnell löst und als BaSO₄ ausfällt. Wenn ein kleiner Ueberschuss von Barythydrat vorhanden ist, was man leicht

¹⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIX. S. 2.

an der Bildung einer dünnen Krystallhaut sieht, filtrirt man ab und fällt im Filtrat den überschüssigen Baryt durch Kohlensäure aus. Man kocht auf, filtrirt das Baryumcarbonat ab und dampft das Filtrat auf dem Wasserbad bis auf ca. 1 Liter ein. Dann fällt man den Baryt des Barytpeptons ganz genau mit Schwefelsäure aus; hat man einen Ueberschuss von Schwefelsäure hinzugefügt, so entfernt man diesen wieder durch Barytwasser; ein minimaler Ueberschuss von Schwefelsäure schadet nichts, während ein grösserer beim weiteren Eindampfen Zersetzung des Antipeptons hervorruft.

Das barytfreie Filtrat wird nun auf dem Wasserbad bis zum dünnen Syrup eingedampft, wobei sich eine dünne Haut bildet; beim Eindampfen entweicht Ammoniak, von der Zersetzung des Ammonsulfats herrührend, in grossen Mengen. Der dünne Syrup wird nun erkalten gelassen und mit absolutem Alkohol versetzt, bis eine stets entstehende Trübung beim Umrühren nicht mehr verschwindet. Man saugt den Niederschlag ab und lässt die Lösung unter gutem Umrühren in absoluten Alkohol fliessen. Wenn man die Concentration der Lösung richtig getroffen hat, so fällt das Antipepton in schneeweissen Flocken aus, die man absitzen lässt. Man hebt die überstehende Flüssigkeit ab, saugt das Antipepton ab, wäscht es zuerst mit Alkohol, hierauf mit Aether und bringt es dann möglichst schnell vom Trichter auf eine Schale in den Exsiccator über Schwefelsäure.

Zusammensetzung des Antipeptons.

Die Analysen des Antipeptons wurden an drei verschiedenen Präparaten, welche durch Fibrinverdauung mittels dreier verschiedener Pankreasfermente dargestellt worden waren, gemacht. Die über H_2SO_4 im Vacuum getrocknete Substanz, welche aber noch Alkohol und etwas Ammoniak enthält, wurde bei ca. $90-95^\circ C.$ zur Analyse getrocknet.

1. a) 0,1582 gr. Substanz gaben 0,0908 gr. H_2O , 0,2698 gr. CO_2 und 0,0012 gr. Asche.
- b) 0,1787 gr. aschefreie Substanz (nach Kjeldahl) erforderten 19,9 cbcm. H_2SO_4 0,1 Normal.
- c) 1,6508 gr. aschefreie Substanz gaben 0,0914 gr. $BaSO_4$.

II. a) 0,1875 gr. Substanz gaben 0,1120 gr. H_2O , 0,3188 gr. CO_2 und 0,0041 gr. Asche.

b) 0,1467 gr. aschefreie Substanz erforderten 16,4 cbcm. H_2SO_4 0,1 Normal (Kjeldahl).

c) 0,2071 gr. aschefreie Substanz erforderten 23,20 cbcm. H_2SO_4 0,1 Normal (Kjeldahl).

III. 2,6752 gr. aschefreie Substanz gaben 0,1056 gr. $BaSO_4$.

IV. 0,1568 gr. Substanz gaben 0,0924 gr. H_2O , 0,2612 gr. CO_2 und 0,0027 gr. Asche.

| | ° C. | ° H. | ° N. | ° S. | ° Asche. | Bemerkungen. |
|--|----------|------|-------|------|-------------|---|
| Präparat I. | a) 46,86 | 6,43 | — | — | 0,76 | Verdauung mit Pure Pan- kreatine von Parke, Davis & Co. |
| | b) — | — | 15,59 | — | — | |
| | c) — | — | — | 0,76 | — | |
| Präparat II. | a) 46,37 | 6,64 | — | — | 2,18 | Verdauung mit Grübler's Pancreas sicc. nach Kühne ¹⁾ . |
| | b) — | — | 15,66 | — | — | |
| | c) — | — | 15,68 | — | — | |
| Präparat III. | — | — | — | 0,54 | — | |
| Präparat IV. | 46,23 | 6,66 | — | — | 1,72 | Verdauung mit Pancreatin von Merck. |
| Berechnet für $C_{10}H_{15}N_3O_5$ | 46,69 | 5,84 | 16,33 | — | — | |
| Fibrinanti- pepton Kühne's ²⁾ | 47,30 | 6,73 | 16,83 | 0,73 | 5,25 | Mit Aether mehr gereinigt. Mit Phosphorwolframsäure gereinigt. |
| | 47,68 | 7,03 | 16,68 | — | 10,02 | |
| | 46,59 | 6,69 | 18,28 | 0,67 | 3,67 | |

Wie man sieht, stimmen die Analysenwerthe der verschiedenen Antipeptonpräparate ziemlich gut überein, zumal wenn man die recht unangenehmen Eigenschaften der schwer zu reinigenden, amorphen, beim Trocknen sich leicht zersetzenden, äusserst hygroskopischen Substanz in Betracht zieht; die Verwendung dreier verschiedener Verdauungsfermente hat keinen wesentlichen Unterschied in der Zusammensetzung der Antipeptonpräparate hervorgerufen. Die zuletzt veröffentlichten Analysenwerthe Kühne's von Antipeptonpräparaten fügen sich leidlich gut in obige Tabelle ein; der Aschegehalt der Kühne-

¹⁾ Dieses Antipeptonpräparat nebst Analyse verdanke ich Herrn Ghodschajew aus dem hiesigen Institut.

²⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXII, S. 452.

schen Präparate ist etwas hoch, obwohl dieselben mehrfach mit Alkohol ausgekocht worden waren. Meine Präparate enthielten z. Th. noch geringe Spuren von Tyrosin, da einzelne Millon'sche Reaction gaben; um diese Präparate ganz rein zu haben, ist es nöthig, dieselben mit Alkohol auszukochen, in wenig Wasser zu lösen und nochmals in der bekannten Weise mit absolutem Alkohol zu fällen. Bei dem von Kühne in seiner letzten Abhandlung «Erfahrungen über Albumosen und Peptone» angegebenen Verfahren, das Ammonsulfat durch Behandlung mit Alkohol u. s. w. zu entfernen, sind durch die grössere Zahl von Operationen Verluste bei der Darstellung des Antipeptons unvermeidlich; überdies bleibt die Behandlung mit Baryt doch nicht erspart. Es dürfte daher der im Obigen von mir dargelegten Methode der Antipeptondarstellung, die ja in allen ihren Grundzügen auf den Kühne'schen Vorschriften beruht, aber unter Ausserachtlassung von Phosphorwolframsäurefällung, von der Entfernung des Ammonsulfats mit Alkohol, schneller zum Ziele führt und ascheärmere Produkte liefert, der Vorzug zu geben sein. Ist nun einerseits die einheitliche und constante Zusammensetzung des Antipeptons durch die oben zusammengestellten Analysenwerthe erwiesen, so zeigt sich andererseits die völlige Gleichheit der Zusammensetzung von Antipepton und Fleischsäure. Der geringe Schwefelgehalt des Antipeptons, welchen Hammarsten in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie¹⁾ als Unterschied von Fleischsäure und Antipepton erwähnt, kann nur als Verunreinigung aufgefasst werden, denn für einen Schwefelgehalt von 0,5% würde sich ein Molekulargewicht von 6400 berechnen. Dagegen spricht auf der einen Seite der chemische Charakter des Antipeptons, nämlich seine leichte Diffundirbarkeit, seine Nichtfällbarkeit durch Ammonsulfat, Paal's Molekulargewichtsbestimmungen²⁾, auf der anderen Seite der physiologische Charakter des Antipeptons, da ja Ellinger³⁾ nachgewiesen hat, dass das Antipepton zwar eiweissersparend bei der Er-

¹⁾ 3. Auflage, S. 329.

²⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges., 1894, Bd 29, S. 1827.

³⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXXIII, Heft 2.

nahrung wirkt, nicht aber im Stande ist, den Verlust von Eiweiss im Thierkörper zu verhindern, also dem Eiweiss und eiweissähnlichen Körpern, wie den Albumosen, schon ferne stehen muss. Ueberdies äussert sich ja auch Kühne selbst über den Schwefelgehalt, bezw. die Schwefelreaction, welche die Peptone beim Erhitzen mit concentrirter bleihaltiger Natronlauge geben, folgendermaassen¹⁾: «Wahrscheinlich bleibt
«jedoch, dass die Reaction den Peptonen selber nicht zu-
«komme und von Verunreinigung mit einer schwefelhaltigen,
«leicht abspaltbaren Substanz herrühre, deren Entfernung
«noch dem Zufall unterliegt».

Salze des Antipeptons.

Von den Salzen des Antipeptons habe ich die, auch für die Fleischsäure am meisten charakteristischen, dargestellt, nämlich das Zink-, Baryt- und Silbersalz.

Das Zinkantipepton, $(C_{10}N_3O_8H_{14})_2Zn$, wurde erhalten durch Kochen des vorher zur Entfernung von Ammoniak längere Zeit auf $90^\circ C$. erhitzten Antipeptons in wässriger Lösung mit chemisch reinem Zinkoxyd. Nach mehrstündigem Kochen wurde die wässrige Lösung, welche ganz schwach alkalisch reagirte, von dem ungelösten Zinkoxyd abfiltrirt, bis zur geeigneten Concentration eingeeengt und dann tropfenweise unter Umrühren in absoluten Alkohol gegossen, wobei sich das Zinksalz in schneeweissen Flocken ausscheidet. Nach dem Absaugen wird das Zinkantipepton zuerst im Exsiccator über Schwefelsäure, dann zur Analyse bei 95° bis zum constanten Gewicht getrocknet.

0,4432 gr. Substanz gaben 0,0614 gr. ZnO .

Gefunden: 11,08% Zn . Berechnet: 11,26% Zn .

Das Barytantipepton, $(C_{10}H_{14}N_3O_8)_2Ba$, wurde dargestellt durch Kochen von Antipepton mit Barytwasser; da das Antipepton immer noch, von seiner Darstellung her, etwas Ammoniak enthält, muss so lang gekocht werden, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist. Der überschüssige Baryt wird durch Einleiten von Kohlensäure ent-

¹⁾ Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXII, S. 451.

fernt und die vom Baryumcarbonat abfiltrirte wässrige Lösung des Barytanti-peptons durch Eingiessen in absoluten Alkohol gefällt. Das Barytanti-pepton stellt ein weisses Pulver dar, welches zur Analyse bei 95° getrocknet wurde. Die wässrige Lösung des Barytanti-peptons reagirt alkalisch.

0,3310 gr. Substanz gaben 0,1190 gr. Ba SO₄.

Gefunden: 21,21 % Ba. Berechnet: 21,44 % Ba.

Das Silberanti-pepton, C₁₀H₁₃N₃O₅Ag₂ + 2H₂O, erhielt ich, indem ich zu einer mässig concentrirten Lösung von Ammoniakanti-pepton Silbernitrat goss und das Gemisch gut durchschüttelte; es scheidet sich ein gelblichweisser, flockiger Niederschlag aus, der beim Hinzufügen von Alkohol noch vermehrt wird. Der Niederschlag wird durch Absitzenlassen und Dekantiren mit absolutem Alkohol vom Silbernitrat befreit und schliesslich durch Waschen mit Aether getrocknet. Das Silberanti-pepton wurde zur Analyse bei 90° getrocknet.

0,5786 gr. Substanz gaben 0,2464 gr. Silber.

Gefunden: 42,59 % Ag. Berechnet: 42,61 % Ag.

Ein von Siegfried dargestelltes Silbersalz von Anti-pepton, welches aus Drüsenpepton dargestellt war, lieferte 43,17 % Ag.

Die Salze des Anti-peptons lassen es also auch ohne jeden Zweifel, dass in dem Anti-pepton eine einbasische Säure, C₁₀N₃O₅H₁₃, vorliegt, die auch in ihren Salzen vollständig mit der Fleischsäure übereinstimmt. Wenn es sich darum handelt, Anti-pepton als solches nachzuweisen, dürfte sich die Darstellung des Zinksalzes sehr empfehlen, welches leicht und schnell analysenrein gewonnen werden kann.

Eigenschaften und Reactionen des Anti-peptons.

Die Eigenschaften und Reactionen des Anti-peptons sind in den Abhandlungen Kühne's bereits hinreichend erörtert. Ich kann dieselben durchweg bestätigen und will dieselben nur der Vollständigkeit halber an dieser Stelle wiederholen. Das Anti-pepton ist sehr leicht löslich in Wasser und sehr hygroscopisch; in Alkohol ist das Anti-pepton schwer löslich. Beim Trocknen bläht sich das Anti-pepton auf und hat einen etwas leimartigen Geruch. Die Lösungen des Anti-peptons

haben einen fleischextractartigen Geruch. Ausserdem gibt das Antipepton nachstehende Reactionen :

1. Sublimat gibt eine schwache gelblich-weiße Trübung.
2. Bleiessig gibt keinen Niederschlag.
3. Essigsäure und Ferrocyankalium geben keine Trübung.
4. Durch Pikrinsäure entsteht eine Trübung, die beim Erhitzen verschwindet, beim Erkalten wieder auftritt.
5. Tannin erzeugt Fällung.
6. Phosphorwolframsäure desgl.
7. Antipepton gibt die Biuretreaction.
8. Millon's Reagens gibt zuerst Niederschlag; beim Erhitzen wird die Farbe schmutzig gelb bis bräunlich.

Sämmtliche Eigenschaften und Reactionen des Antipeptons hat Siegfried auch an der Fleischsäure beobachtet.

Durch die vorstehende Untersuchung dürfte die Behauptung Siegfried's, dass Antipepton identisch mit der Fleischsäure und mithin eine einbasische Säure von der Zusammensetzung $C_{10}N_3O_8H_{18}$ sei, vollständig erwiesen sein.

II. Oxydation der Fleischsäure.

Da die empirische Formel der Fleischsäure und ihr Verhalten zu Salzsäure¹⁾ darauf hindeutet, dass dieselbe wahrscheinlich eine ungesättigte Säure ist, so war es nach den Untersuchungen Fittig's und seiner Schüler über ungesättigte Säuren zu vermuthen, dass man vielleicht durch die Oxydation einen gewissen Einblick in die Constitution der Fleischsäure bekommen würde.

Ich habe als Oxydationsmittel nicht Kaliumpermanganat, sondern Baryumpermanganat (chem. rein von E. Merck) benutzt, da man auf diese Weise das Oxydationsproduct ascheärmer bekommt, als bei Anwendung von Kaliumpermanganat. Ich habe die Oxydation mehrere Male durchgeführt und bei den verschiedenen Oxydationen ein Produkt von constanter Zusammensetzung bekommen, wie aus den unten folgenden Analysen ersichtlich ist. Zuerst wurde 1 Aequivalent Fleischsäure mit 1 Aequivalent Permanganat, hierauf 1 Aequivalent Fleischsäure mit 2 Aequivalent Permanganat zur Oxydation

¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol.; physiolog. Abthlg., 1894.

genommen. Das resultirende Product ist bei beiden Oxydationen identisch, sowohl in Bezug auf seine Zusammensetzung als in seinen Salzen.

Methode der Oxydation.

40 gr. Fleischsäure (Trockengewicht 30 gr.) wurden in $\frac{1}{2}$ Liter Wasser gelöst, mit Aetzbaryt versetzt und gekocht; der überschüssige Baryt wurde durch Kohlensäure ausgefällt und nach dem Aufkochen abfiltrirt. Die Lösung des so erhaltenen fleischsauren Baryts wird nun auf ca. 1500 cbcm. verdünnt und tropfenweise unter Eiskühlung mit einer gutgekühlten Lösung von 23 gr. Bariumpermanganat (Trockengewicht 22 gr.) versetzt. Die Temperatur stieg während der ganzen Oxydation nie über 5° C. Wenn alles Permanganat zugesetzt ist, tritt vollkommene Entfärbung ein. Man filtrirt nun vom Braunsteinniederschlag ab und fällt nach dem Einengen des Filtrats bis auf ungefähr $\frac{1}{2}$ Liter den Baryt genau mit Schwefelsäure aus. Das Filtrat vom Baryumsulfat wird bis zum dünnen Syrup eingedampft und dann in gleicher Weise wie die Fleischsäure durch Eintropfenlassen in absoluten Alkohol in weissen Flocken gefällt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Alkohol und Aether gewaschen und dann im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

Die Zusammensetzung der Oxyfleischsäure.

Zur Analyse wurden Präparate verschiedener Darstellung verwendet, welche im Vacuum über Schwefelsäure bis zu constantem Gewicht getrocknet waren; ein Trocknen bei 105° C. war nicht angängig, da sich bei dieser Temperatur die Substanz bräunte.

- I. a) 0,2162 gr. Substanz gaben 0,1312 gr. H_2O und 0,3726 gr. CO_2 .
 b) 0,2836 » » » 0,1670 » » » 0,4850 » »
 c) 0,2336 » » » 33,4 cbcm. N bei 755 mm. b und 22° C. (Dumas).
- II. a) 0,1756 gr. Substanz gaben 0,1016 gr. H_2O und 0,3064 gr. CO_2 .
 b) 0,1672 » » » 0,0970 » » » 0,2902 » »
 c) 0,1728 » » » 25,4 cbcm. N bei 20° und 753 mm. (Dumas).
- III. a) 0,1940 gr. Substanz gaben 0,1138 gr. H_2O und 0,3334 gr. CO_2 .
 b) 0,1706 » » » 24,4 cbcm. N bei 756,8 mm. und 21° .

| | | % C. | % H. | % N. | Bemerkungen. |
|--|------|-------|------|-------|---|
| Präparat I. | a) . | 47,00 | 6,74 | — | Oxydation von 1 Aequivalent Fleischsäure mit 1 Aequivalent Baryumpermanganat. |
| | b) . | 46,64 | 6,54 | — | |
| | c) . | — | — | 16,50 | |
| Präparat II. | a) . | 47,31 | 6,43 | — | Präparat Nr. 1, umgefällt in Al- kohol. |
| | b) . | 47,33 | 6,45 | — | |
| | c) . | — | — | 16,66 | |
| Präparat III. | a) . | 46,87 | 6,52 | — | Oxydation von 1 Aequivalent Fleischsäure mit 2 Aequivalent Baryumpermanganat. |
| | b) . | — | — | 16,21 | |
| Berechnet für (C ₃₀ H ₄₁ N ₉ O ₁₅) . . | | 46,48 | 5,35 | 16,42 | |

Wie man sieht, stimmen die Analysenwerthe des Oxydationsproductes der Fleischsäure, das ich Oxyfleischsäure nenne, untereinander hinlänglich gut überein; die Präparate von Oxyfleischsäure, welche durch Oxydation von 1 Aequivalent Fleischsäure mit 1 Aequivalent Baryumpermanganat, bzw. mit 2 Aequivalent Baryumpermanganat erhalten sind, differiren nur minimal und sind als identisch zu erachten. Ausserdem weicht aber auch die Oxyfleischsäure in ihrer procentischen Zusammensetzung durchaus nicht von der Fleischsäure ab; die Analysenwerthe der Oxyfleischsäure stimmen mit dem für Fleischsäure, C₁₀H₁₅N₃O₅, berechneten überein¹⁾. Der Unterschied zwischen Fleischsäure und Oxyfleischsäure besteht nun wesentlich darin, dass man, wie sich aus den unten folgenden Salzen der Oxyfleischsäuren ergibt, das Molekulargewicht der Oxyfleischsäure als dreimal so gross annehmen muss, wie das der Fleischsäure, der Oxyfleischsäure also die Formel (C₁₀H₁₅N₃O₅)₃ minus 4 H = C₃₀H₄₁N₉O₁₅ und ein Molekulargewicht 3 × 257 minus 4 H = 767 zukommt. In der That ergab auch eine nach der Beckmann'schen Gefrierpunktmethode ausgeführte Molekulargewichts-Bestimmung der Oxyfleischsäure (1,0444 gr. Substanz gaben in 20,62 gr. Wasser als Lösungs-

¹⁾ Die Werthe für Wasserstoff findet man in der so sehr hygroskopischen Fleischsäure und Oxyfleischsäure immer etwas zu hoch. Betreffs der geringeren Anzahl von Wasserstoffatomen in der Oxyfleischsäure siehe weiter unten.

mittel eine Gefrierpunktserniedrigung von $0,140^{\circ}$) die Grösse des Molekulargewichts der Oxyfleischsäure zu 683; diese Zahl weicht zwar von dem berechneten Molekulargewicht ziemlich bedeutend ab; bekanntlich liefert jedoch die Molekulargewichtsbestimmung bei so hochmolekularen Körpern nicht mehr so exacte Resultate.

Salze der Oxyfleischsäure.

Von den Salzen der Oxyfleischsäure habe ich das Baryum-, Zink- und Silbersalz dargestellt; leider war mir in Folge Mangels an Material eine Darstellung der Salze von verschiedenen Oxydationen nicht möglich.

Das Zinksalz der Oxyfleischsäure, $C_{30}H_{39}N_9O_{15}Zn$, wurde durch Kochen einer wässerigen Lösung von Oxyfleischsäure (Oxydation II) mit chemisch reinem Zinkoxyd erhalten. Die wässerige Lösung des oxyfleischauren Zinkes wurde eingedampft und gab eine crystallinische, gelblichweisse Masse.

0,3342 gr. Substanz (bei 95° getrocknet) gaben 0,0334 gr. ZnO .

Gefunden: 7,99% Zn . Berechnet: 7,83% Zn .

Das Baryumsalz der Oxyfleischsäure, $C_{30}H_{39}N_9O_{15}Ba$, wurde durch Kochen der Oxyfleischsäure (Oxydation II) mit Barytwasser erhalten. Nachdem der überschüssige Baryt durch Kohlensäure ausgefällt war, wurde die stark alkalisch reagirende Lösung von oxyfleischaurem Baryt eingedampft und so ein gelblich-weisses, krystallinisches Pulver erhalten.

0,2800 gr. Substanz (bei 95° getrocknet) gaben 0,0686 gr. $BaSO_4$.

Gefunden: 14,46% Ba . Berechnet: 15,18% Ba .

Das Silbersalz der Oxyfleischsäure, $C_{30}H_{39}N_9O_{15}Ag_3 + 2H_2O$, wurde dargestellt, indem zu einer mässig concentrirten Lösung von oxyfleischaurem (Oxydation I) Ammoniak eine Lösung von Silbernitrat gefügt wurde, wodurch ein flockiger Niederschlag entsteht. Dieses Silbersalz wurde zuerst mit Alkohol, dann mit Aether gewaschen, dann im Vacuum über Schwefelsäure, zur Analyse bei 95° getrocknet.

0,2120 gr. Substanz gaben 0,0608 gr. Ag .

Gefunden: 28,68% Ag . Berechnet: 28,82% Ag .

In welcher Weise nun die Fleischsäure zur Oxyfleischsäure umgewandelt worden ist, lässt sich noch nicht recht

erklären; ich will nur darauf hinweisen, dass die entsprechenden Salze der Fleischsäure die Formeln $(C_{10}H_{14}N_2O_6)_2Zn$, $(C_{10}H_{14}N_2O_6)_2Ba$ und $C_{10}H_{14}N_2O_6Ag_2 + 2H_2O$ sind. Vergleicht man diese Salze mit denen der Oxyfleischsäure, so zeigt sich, dass die Oxyfleischsäure aus 3 Molekülen Fleischsäure unter Verlust von 4 Wasserstoffatomen entstanden ist, und dass sie nur drei durch Ag, zwei durch Ba, Zn vertretbare Wasserstoffatome besitzt, während drei Moleküle Fleischsäure sechs durch Ag und drei durch Ba, Zn vertretbare Wasserstoffatome enthalten. Weitere Schlüsse aus den bei der Oxydation der Fleischsäure gefundenen Thatsachen zu ziehen, ist verfrüht, solange man nicht noch irgendwelchen anderen Einblick in die Constitution der Fleischsäure gewinnt.

Eigenschaften und Reactionen der Oxyfleischsäure.

Die Oxyfleischsäure stellt ein schneeweisses hygroskopisches Pulver dar, das in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich, in Aether unlöslich ist. Die Oxyfleischsäure färbt blaues Lakmuspapier roth, bildet mit Basen Salze, treibt aus den Carbonaten die Kohlensäure aus und ist, wie sich aus oben angeführten Salzen ergeben hat, eine zweibasische Säure. In ihren Reactionen stimmt die Oxyfleischsäure mit der Fleischsäure überein mit der Ausnahme, dass Oxyfleischsäure durch Ammonsulfat gefällt wird, ein Umstand, der sich durch das hohe Molekulargewicht leicht erklärt. Mit Pikrinsäure, Phosphorwolframsäure und Tannin gibt die Oxyfleischsäure Fällungen, Bleiessig, Essigsäure und Ferrocyankalium fällen die Oxyfleischsäure nicht. Die Oxyfleischsäure gibt die Biuretreaction, nicht aber Millon's Reaction.

Analoge Oxydationsversuche wie mit der Fleischsäure aus Carniferrin sind mit dem Antipepton begonnen worden.

III. Ueber Orylsäure, ein Spaltungsproduct des Milchcarniferrins.

In der oben erwähnten Arbeit Siegfried's¹⁾ über Phosphorfleischsäure wird auch über die Darstellung des Carniferrins

¹⁾ L. c.

aus Milch berichtet; dasselbe hat die gleiche procentische Zusammensetzung wie das Carniferrin aus Fleischextract und liefert beim Erhitzen mit Barythydrat neben Gährungsmilchsäure und Bernsteinsäure eine Säure, welche ihrem Aussehen und Verhalten nach der Fleischsäure sehr nahe steht und die ich als Orylsäure ($\acute{\omicron}\rho\acute{\omicron}\varsigma$ = Molken) bezeichnen will.

Zur Darstellung der Orylsäure wurde Kuhmilch nach Entfernung des Caseïns und der coagulirbaren Eiweisskörper in gleicher Weise wie eiweissfreie Muskelextracte mit Chlorcalcium und Ammoniak von den Phosphaten befreit und dann behufs Ausfällung des Carniferrins in der Hitze mit Eisenchlorid versetzt. Das Carniferrin wurde dann durch Zersetzung mit Barythydrat in analoger Weise wie das Carniferrin aus Fleischextract auf Fleischsäure verarbeitet und man erhält so ein Product, welches in seinem äusseren Aussehen ganz und gar der Fleischsäure gleicht. Ich will hier nicht zu erwähnen unterlassen, dass man aus dem Carniferrin denselben Körper erhalten kann, wenn man in etwas anderer Weise verfährt. Man verrührt das Carniferrin in einer Schale auf dem Wasserbade mit verdünntem Ammoniak; nach ca. $\frac{1}{2}$ Stunde wird die ganze Masse fest und gallertartig, um nach ca. 2—3 Stunden sich wieder zu verflüssigen. Man filtrirt alsdann das Eisenhydroxid ab und versetzt das Filtrat mit Barythydrat im Ueberschuss. Man kocht dann so lang, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist und entfernt hierauf den Baryt mit Schwefelsäure. Das barytfreie Filtrat wird nun eingedampft und in gewöhnlicher Weise mit Alkohol gefällt. Die eben angeführte Methode der Carniferrinzersetzung ist jedoch nicht so bequem, wie die direkte Zersetzung mit Baryt und es dürfte daher die letztere unbedingt vorzuziehen sein.

Zusammensetzung der Orylsäure.

Dieselbe ergibt sich aus folgenden Analysen, welche an Präparaten verschiedener Darstellungen gemacht worden sind. Die Orylsäure wurde zur Analyse bei 100° C. getrocknet; die Analysen sind stets auf aschefreie Substanz berechnet.

- I. a) 0,2082 gr. Substanz gaben 0,1190 gr. H_2O , 0,3758 gr. CO_2 und 0,0064 gr. Asche.
 b) 0,2028 gr. Substanz gaben 0,1154 gr. H_2O , 0,3642 gr. CO_2 und 0,0068 gr. Asche.
 c) 0,2262 gr. Substanz gaben 0,1320 gr. H_2O , 0,4048 gr. CO_2 und 0,0072 gr. Asche.
 d) 0,2577 gr. Substanz (aschefrei) erforderten 24,7 ccm. H_2SO_4 0,1 normal (Kjeldahl).
 e) 0,2457 gr. Substanz (aschefrei) erforderten 23,4 ccm. H_2SO_4 0,1 normal (Kjeldahl).
- II. a) 0,2132 gr. Substanz gaben 0,1156 gr. H_2O , 0,3832 gr. CO_2 und 0,0078 gr. Asche.
 b) 0,2768 gr. aschefreie Substanz erforderten 26,2 ccm. H_2SO_4 0,1 normal (Kjeldahl).
- III. 0,2284 gr. Substanz gaben 0,1386 gr. H_2O , 0,4158 gr. CO_2 und 0,0064 gr. Asche.
- IV. a) 0,2208 gr. Substanz gaben 0,1318 gr. H_2O , 0,4092 gr. CO_2 und 0,0030 gr. Asche.
 b) 0,1159 gr. Substanz (aschefrei) erforderten 11,1 ccm. H_2SO_4 0,1 normal (Kjeldahl).
- V. 0,1032 gr. Substanz gaben 0,0613 gr. H_2O , 0,1832 gr. CO_2 und 0,0041 gr. Asche.

| | | % C. | % H. | % N. | Bemerkungen. |
|--------------------------------|------|-------|------|-------|--|
| Präparat I. | a) . | 50,78 | 6,55 | — | Dieses Präparat wurde erhalten durch Zersetzen des Milcheisens mit Ammoniak und nachherige Behandlung mit $Ba(OH)_2$. |
| | b) . | 50,68 | 6,54 | — | |
| | c) . | 50,41 | 6,70 | — | |
| | d) . | — | — | 13,42 | |
| | e) . | — | — | 13,33 | |
| Präparat II. | a) . | 50,88 | 6,25 | — | Darstellung wie Präparat I. |
| | b) . | — | — | 13,29 | |
| Präparat III | | 51,08 | 6,94 | — | Diese Präparate wurden durch directe Zersetzung des Milcheisens mit $Ba(OH)_2$ erhalten. |
| Präparat IV. | a) . | 51,24 | 6,72 | — | |
| | b) . | — | — | 13,41 | |
| Präparat V | | 50,42 | 6,87 | — | |
| Berechnet für | | | | | |
| $C_{18}H_{28}N_4O_8$ | | 50,47 | 6,54 | 13,09 | |

Wie aus der Tabelle ersichtlich, führen die erhaltenen Analysenwerthe der Orylsäure zu der Formel $C_{18}H_{28}N_4O_8$; dass bei den Präparaten III und IV der Werth für den Kohlen-

stoff etwas höher ist, scheint daher zu rühren, dass bei der Darstellung dieser Präparate mit $\text{Ba}(\text{OH})_2$ gekocht wurde und hierdurch wahrscheinlich eine geringe Zersetzung eingetreten ist; wenigstens erhielt ich bei einem Präparat, bei dessen Darstellung ich mehrere Stunden lang mit Barythydrat kochte, einen Kohlenstoffwerth von 51,47%. Man darf daher bei Darstellung der Orylsäure beim Zersetzen des Carniferrins Barythydrat keinen allzugrossen Ueberschuss des Letzteren anwenden und nicht allzulang kochen.

Eigenschaften und Reactionen der Orylsäure.

Die Orylsäure bildet in getrocknetem Zustande ein gelblichweisses Pulver, das sich frisch dargestellt leicht in Wasser löst und sehr hygroskopisch ist. Wenn die Orylsäure längere Zeit aufbewahrt wird, ist sie nicht mehr völlig in Wasser löslich, sondern lässt beim Lösen dunkle, huminartige Reste zurück. Aehnlich verhält sich die Orylsäure beim Erhitzen auf $90-100^\circ$ während längerer Zeit; sie verhält sich hierbei ähnlich der Fleischsäure; sie bläht sich auch etwas auf, jedoch nicht so sehr wie die Fleischsäure. Nach dem Erhitzen ist die Orylsäure nur noch theilweise in Wasser löslich; der in Wasser unlösliche Theil löst sich leicht in Ammoniak, nicht jedoch in Säure. Beim Eindampfen von Lösungen der Orylsäure scheidet sich ebenfalls, wie beim Antipepton bezw. der Fleischsäure stets ein geringer Theil einer unlöslichen Substanz ab. In Alkohol ist die Orylsäure nur schwer löslich, in Aether ist sie unlöslich. Die Orylsäure färbt blaues Lakmuspapier stark roth, bildet mit Basen Salze und treibt aus Carbonaten die Kohlensäure aus. Sie ist, wie sich aus den unten folgenden Salzen ergeben wird, eine zweibasische Säure.

Durch Ammonsulfat wird Orylsäure ausgesalzen.

Sublimat erzeugt Fällung.

Bleinessig gibt keinen Niederschlag.

Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure geben Fällung.

Ferrocyankalium und Essigsäure geben keine Fällung.

Biuretreaction: Farbe violett.

Orylsäure gibt die Millon'sche Reaction.

Salze der Orylsäure.

Von den Salzen der Orylsäure wurden das Zink- und Silbersalz rein dargestellt.

Das Zinksalz, $C_{18}H_{26}N_4O_8Zn$, wurde erhalten durch Kochen der wässerigen Lösung der Orylsäure mit Zinkoxyd. Die Lösung des orylsauren Zinks wurde in geeigneter Concentration in Alkohol gefällt.

0,4386 gr. Substanz gaben 0,0720 gr. ZnO .

Gefunden: 13,13 % Zn . Berechnet: 13,32 % Zn .

Das Silbersalz $C_{18}H_{25}N_4O_8Ag_3 + 3H_2O$ wurde dargestellt aus orylsaurem Ammoniak und Silbernitrat. Das Silbersalz ist in Wasser schwer löslich. Die Analysen zweier verschiedener Darstellungen aus demselben Präparat von Orylsäure ergaben:

1. 0,5594 gr. Substanz lieferten 0,2264 gr. Ag .

2. 0,6652 gr. Substanz lieferten 0,2692 gr. Ag .

Gefunden: 1. 40,47 %, 2. 40,47 % Ag . Berechnet: 40,34 % Ag .

Das Präparat von Orylsäure, aus welchem die eben angeführten Salze dargestellt sind, war noch vollständig in Wasser löslich; ich habe versucht, auch Salze von älteren Orylsäurepräparaten, die nur zum Theil in Wasser löslich waren, darzustellen, wobei ich Werthe erhielt, die den obigen zwar nahe kommen, jedoch darauf hindeuten, dass beim längeren Stehen die Orylsäure sich verändert. Ich erhielt auf diese Weise in den Zinksalzen einen Zinkgehalt von 11,75 und 11,28 %, in den Silbersalzen einen Silbergehalt von 38,56 und 38,89 %, in einem Kupfersalz einen Kupfergehalt von 11,72 % (für $C_{18}H_{26}N_4O_8Cu$ ist 13,24 % Cu berechnet). In welcher Weise sich die Orylsäure beim längeren Aufbewahren oder beim Erhitzen verändert, welcher Art dieser in Wasser unlösliche, in Ammoniak leicht lösliche Theil ist, dafür fehlt bis jetzt jeder Anhalt.

Spaltung der Orylsäure.

Die Orylsäure wird durch Salzsäure bei 130° gespalten.

50 gr. Orylsäure wurden mit 250 ccm. 15 procentiger Salzsäure 5 Stunden auf 130° erhitzt. Es gelang mir bis

jetzt, aus dem Reaktionsgemisch nachzuweisen, dass sich bei der Spaltung der Orylsäure eine Amidosäure, das Leucin, bildet. Ich erhielt dasselbe in den bekannten Sphärolithen, welche aus verdünntem Alkohol in seideglänzenden kleinen Schüppchen umkrystallisirt wurden.

0,1484 gr. Substanz (über Schwefelsäure getrocknet) gaben 0,1316 gr. H_2O
0,2976 gr. CO_2 .

| | Gefunden: | Berechnet für Leucin $C_6H_{13}NO_2$: |
|---|-----------|---|
| C | 54,74 % | 54,96 % |
| H | 9,85 » | 9,96 » |

Vorstehende Untersuchung der Orylsäure zeigt, dass dieselbe in einem nahen Zusammenhange mit der Fleischsäure steht. Es ist interessant, dass ähnlich wie in der Fleischsäure und Oxymyofibrin auch in der Orylsäure ein Imidwasserstoffatom wegen des Silbersalzes anzunehmen ist. Die fast gleiche Zusammensetzung von Carniferrin aus Fleisch und Carniferrin aus Milch ist überraschend. Wahrscheinlich ist es, dass man es hier mit einer ganzen Klasse von Eisenverbindungen zu thun hat, den Eisensalzen der Nucleone Siegfried's¹⁾, und dass diese Nucleone bei der Behandlung mit Baryt ganz analoge Spaltungsproducte liefern.

Herrn Dr. Siegfried danke ich auch an dieser Stelle für das rege Interesse, welches er meiner Arbeit stets entgegengebracht hat.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXI, S. 373.