

Zur Kenntniss der brenzcatechinähnlichen Substanz der Nebennieren.

II. Mittheilung.

Von

Dr. Otto v. Fürth,

Assistenten des Instituts.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge. Nr. 12.)

(Der Redaction zugegangen am 3. August 1898.)

Die im Folgenden mitgetheilten Beobachtungen bilden die Fortsetzung von Untersuchungen über die Natur der brenzcatechinähnlichen und blutdrucksteigernden Substanz in den Nebennieren, die ich vor Jahresfrist in dieser Zeitschrift veröffentlicht habe. Ausgehend von der Beobachtung Herrn Professor Hofmeister's, dass die eisengrünende Substanz durch Reduction der sauren Lösung an Haltbarkeit auffällig gewinnt, habe ich die Versuche zur Reindarstellung der Substanz weitergeführt und glaube jetzt einen näheren Einblick in ihre chemische Natur gewonnen zu haben.

Indem ich bezüglich der älteren Litteratur über diesen Gegenstand auf meine erwähnte Publication verweise, möchte ich hier nur auf einige einschlägige, neuerdings erschienene Arbeiten näher eingehen.

Die eine dieser Arbeiten, welche einen namhaften Fortschritt auf diesem Gebiete bedeutet, rührt von Abel und Crawford¹⁾ her. Ihr Grundgedanke war die Isolirung der blutdrucksteigernden Substanz als Benzoylverbindung. Aus der ab-

1) On the Bloodpressure-raising constituent of the Suprarenal Capsule. By John Abel and Alfred Crawford. From the John Hopkins Hospital Bulletin 76, July, 1897.

getrennten Marksubstanz von Schafsnebenieren wurde nach vorhergehender Extraction mit Aether die eisengrüne Substanz mit schwefelsäurehaltigem Wasser ausgezogen, die Extractionsflüssigkeit durch Alkohol von Eiweiss befreit und eingedampft, der Rückstand nach dem Verfahren von Schotten und Baumann benzoylirt, der entstandene Niederschlag mit Wasser gewaschen und zuerst in Alkohol, dann in Aether, dann wieder in Alkohol aufgenommen, endlich mit Thierkohle gekocht. Nach Abdunsten des Alkohols blieb ein theilweise krystallinisches, noch mit anderen Benzoylverbindungen verunreinigtes Produkt zurück. Dasselbe war unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien, löslich in Alkohol, Aether, Eisessig und concentrirter Schwefelsäure. Das Filtrat der Benzoylfällung enthielt keine blutdrucksteigernde Substanz mehr. Zur Verseifung der Benzoylverbindung erwies sich, neben der Zersetzung mit concentrirter Schwefelsäure oder mit Natriumalkoholat, ein Verfahren als zweckmässig, das darin bestand, die Verbindung in kochendem Eisessig gelöst mit dem gleichen Volumen kochender 25%iger Schwefelsäure 10 Minuten lang zu erhitzen. Nach Entfernung der Benzoessäure aus der verdünnten Lösung durch Aether, der Essigsäure durch Eindampfen, der Schwefelsäure durch Bleicarbonat und nach Erschöpfung mit Aether, Aceton und absolutem Alkohol blieb ein Rückstand zurück, dessen Lösung die Eisenreaction und Rothfärbung mit Alkali gab und ammoniakalische Silberlösung reducirte. Bei Zusatz von Alkali färbte sich die Flüssigkeit dunkelcarminroth, es kam zur Abscheidung dunkelrother Flocken, und es trat ein coniin-, dann ein pyridinähnlicher Geruch auf. Die coniinartige Substanz wurde durch Aether, der Niederschlag durch Filtration nach Zusatz von Schwefelsäure entfernt. Das strohgelbe Filtrat wurde im Vacuum eingedunstet und der Rückstand in schwachem Alkohol aufgenommen: die Lösung enthielt etwas Natriumsulfat und hinterliess beim Eindunsten einen strohgelben Rückstand, der Ansätze zur Krystallisation zeigte und sich physiologisch sehr wirksam erwies. Die Substanz war leicht löslich in Wasser und 50%igem Alkohol, fast unlöslich in absolutem Alkohol, ganz unlöslich in Aether, Aceton, Ligroin und Chloro-

form; sie reagirte sauer, gab mit Jod keine Rothfärbung, mit Alkalien eine bräunliche Färbung, reducirte ammoniakalische Silberlösung, jedoch nicht Fehling'sche Lösung. Eisenchlorid gab nicht mehr wie vor Entfernung der coniinartigen Substanz Grünfärbung, sondern ein dunkles Braun, welches auf Zusatz von Alkali in ein tiefes Roth überging. Bei der Destillation des Productes mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom wurde Pyrrol durch die Fichtenspahnreaction nachgewiesen; es fand sich ferner Trimethylamin, Benzaldehyd und Benzoesäure. Der Nachweis von Pyridin gelang nicht. Der Umstand, dass Amine und Pyrrol auftraten, veranlasste die Autoren zur Vermuthung, dass die Substanz zu den Pyridinbasen gehöre. Wie später ausgeführt werden soll, wird diese Vermuthung durch meine Untersuchungen bestätigt. Ebensowenig, wie es mir gelungen war, vermochten Abel und Crawford durch Kochen mit Salzsäure Brenzcatechin abzuspalten und die einschlägigen Angaben Mühlmann's zu bestätigen.

Kurz vor dem Erscheinen der Arbeit von Abel und Crawford veröffentlichte Moore¹⁾ eine hierhergehörige Mittheilung. Er beobachtete, dass absoluter Alkohol sowohl bei kurzdauernder Einwirkung in der Hitze, als auch bei langdauernder Einwirkung bei Zimmertemperatur die brenzcatechinähnliche Substanz derart verändert, dass ihre physiologische Wirksamkeit verloren geht, während die Eisenreaction noch erhalten bleibt. Moore folgert daraus, dass entweder eine Beziehung zwischen dem Chromogen und der physiologisch aktiven Substanz gar nicht bestehe, oder aber, was er für wahrscheinlicher hält, dass die Blutdruckwirkung einer Gruppe im Molekül eigenthümlich ist, welche zerstört werden kann, ohne dass die chromogene Gruppe darunter leidet. — Moore unternahm ferner eine Analyse von Krukenberg, die dieser mit einem zweifellos unreinen, durch Zersetzung einer Fällung mit basischem Blei mittelst Oxalsäure gewonnenen Präparate ausgeführt

1) On the Chromogen and on the active physiological Substance of the suprarenal Gland by B. Moore. From the Physiol. Laboratory of University College London. Journ. of Physiology, Bd. XXI. 1897.

hatte, ohne eine Formel aus seinen Zahlen abzuleiten, einer kritischen Prüfung und fand, dass Krukenberg's Zahlen einer Zusammensetzung $C_5H_{14}NO_4$ ¹⁾ annähernd entsprechen. In dieser Formel } ist das Verhältniss zwischen Kohlenstoff und Stickstoff dasselbe wie im Pyridin. Dieser Umstand brachte Moore auf die Vermuthung, die wirksame Substanz könne ein Pyridinderivat sein, und als er nun etwas Nebennierenextract vorsichtig mit Kali schmolz, trat wirklich der Pyridingeruch auf: da Pyridin auch aus Eiweisskörpern erhalten wird, zieht der Autor aus seinem Befunde keinen bestimmten Schluss, hält es aber immerhin für wahrscheinlich, dass Nebennierenextract ein Pyridinderivat enthalte: er verweist darauf, dass Pyridin selbst nach Lauder-Brunton zwar blutdruckherabsetzend wirke: dagegen wirkt intravenös gegeben, sowohl Nicotin, das neben einem Pyridinkern einen Piperidinring enthält, als auch, wie Moore und kurz vor ihm Tunicliffe²⁾ fand, das Piperidin stark blutdrucksteigernd: das Piperidin verliert, analog wie die Nebennierensubstanz, durch Oxydation seine physiologische Wirksamkeit. So gelangt also der Autor zur Vermuthung, die blutdrucksteigernde Substanz sei ein Pyridinderivat, das einen ganz oder theilweise reducirten Kern enthält.

Weiterhin hat Metzger³⁾ unter Gürber's Leitung den Versuch gemacht, die blutdrucksteigernde Substanz aus Nebennieren rein darzustellen. Zu diesem Zwecke extrahirte er Nebennieren mit verdünnter Weinsäurelösung und dampfte die Extracte mit Bimsstein zur Trockne ein. Der Rückstand wurde tagelang mit Aether im Soxhlet extrahirt. Die gewonnene ätherlösliche Substanz gab keine deutliche Eisenreaction, dabei setzte sich an der Wand des Aetherkölbchens eine weisse Masse an, die in Wasser und heissem Alkohol löslich war, mit Eisenchlorid Grünfärbung, mit Goldchlorid in saurer Lösung Reduction gab und sich physiologisch sehr wirksam erwies. Aus der alkoho-

1) Die Formel $C_5H_{14}NO_4$ ist unmöglich; sie sollte richtiger $C_5H_{13}NO_4$ oder $C_5H_{15}NO_4$ lauten.

2) Tunicliffe, Centralblatt für Physiologie, 8. März 1897.

3) Ludw. Metzger, Zur Kenntniss der wirksamen Substanzen der Nebennieren. Inaugural-Dissertation, Würzburg 1897.

lischen Lösung schieden sich beim Eindunsten im Vacuum kugelförmige Krystallgruppen ab, die, wie Metzger meint, einerseits grosse Aehnlichkeit mit Leucinkugeln zeigten, aber niemals, wie das beim Leucin der Fall ist, Zwillingkugeln bildeten». Nach dem Erschöpfen mit Aether wurde mit Alkohol extrahirt und die eingeeengte Lösung in die 50fache Menge Aether gegossen. Die so erhaltene harzige, gelbe Masse enthielt Stickstoff und Schwefel, erwies sich als unlöslich in kaltem, löslich in heissem absoluten Alkohol, aus dem sie beim Erkalten wieder ausfiel. Die wässerige Lösung gab schöne Eisenreaction, reducirte Goldchlorid und war physiologisch sehr wirksam. Sowohl Eisenreaction als physiologische Activität gingen nach mehrtägigem Stehen an der Luft verloren. Nach öfterem Eindampfen blieb eine fettige, in Wasser und Aether unlösliche Masse zurück. Metzger weist, ebenso wie ich und Abel, auf die Unrichtigkeit der Angabe Mühlmann's hin, dass durch Salzsäure aus Nebennierenextracten Brenzcatechin abgespalten werde.

Er berichtet ferner über die sehr interessante Beobachtung Gürber's, dass sich die Trockensubstanz von Nebennierenextracten beim Erhitzen auf 140° unter Entwicklung bleischwäzender, übelriechender Gase derart verändert, dass sie nicht mehr blutdrucksteigernd, sondern umgekehrt blutdruckerniedrigend wirkt. Das so erhaltene, sehr giftige Produkt erwies sich, zum Unterschiede von der blutdrucksteigernden Substanz, löslich in kaltem absoluten Alkohol und gab ausser einer schwachen Schmutziggrünfärbung mit Eisenchlorid keine der Reactionen der blutdrucksteigernden Substanz mehr.

Endlich wäre noch zu erwähnen, dass Raciowsky im Berliner pharmakologischen Institut die Reindarstellung der eisengrünenden Substanz aus Nebennieren versucht und sich, ebenso wie ich es seiner Zeit gethan habe, zu diesem Zwecke der Fällung mit ammoniakalischem Blei bedient hat. Da mir die Untersuchung nur aus einem Zeitungsbericht über einen in der Hufeland'schen Gesellschaft in Berlin gehaltenen Vortrag¹⁾

¹⁾ Berliner klinische Wochenschrift, Juni 1898.

bekannt geworden ist, bin ich nicht in der Lage, Näheres darüber mitzutheilen.

1. Versuche zur Isolirung.

Nach zahlreichen Versuchen, die eisengrünende, blutdrucksteigernde Substanz in intactem Zustande zu isoliren, erwies sich mir folgendes Verfahren als das zweckmässigste:

Die frischen, sauber präparirten Nebennieren¹⁾ werden zerkleinert und bei Zimmertemperatur mit 5%iger Zinksulfatlösung wiederholt extrahirt. Bei scharfem Abpressen genügt zweimalige Erneuerung der Extractionsflüssigkeit, vorausgesetzt, dass jede Portion 12—24 Stunden mit den Nebennieren in Berührung bleibt. Das colirte Extract wird am Wasserbade eingeengt, von den gebildeten Eiweissgerinnseln abfiltrirt und das dunkelbraune Filtrat nun mit einem Ueberschuss von Ammoniak versetzt, wobei ein gelbbraun gefärbter Niederschlag entsteht; eventuell wird noch weiter Zinksulfat und sodann Ammoniak zugesetzt, solange der entstehende Niederschlag noch stark gefärbt erscheint. Der Niederschlag wird durch Decantation mit Wasser, dann auf dem Filter mit Wasser und Alkohol gründlich gewaschen, wobei viel eisengrünende Substanz in die Waschflüssigkeit übergeht, sodann in 95%igem Alkohol suspendirt und durch Zusatz von Schwefelsäure bis zur bleibend sauren Reaction zersetzt. Das massenhaft ausgeschiedene Zinksulfat wird abfiltrirt, das saure Filtrat durch kurzdauerndes Kochen mit Zinkstaub reducirt, wobei die braune Färbung schnell in eine weingelbe übergeht; sodann wird mit Zinkoxyd neutralisirt und heiss filtrirt. Das Filtrat wird mit viel Alkohol und dem halben Volumen Aether versetzt und zur vollständigen Abscheidung des Zinksulfats und anderer etwa beigemengter Salze einen Tag im Eisschranke belassen. Dann wird filtrirt, eingedampft und der firnissartige Rückstand in gewünschter Concentration in Wasser gelöst.

¹⁾ Während ich meine früheren Untersuchungen mit Schweinsnebennieren ausgeführt habe, arbeitete ich bei den folgenden Versuchen ausschliesslich mit Rindsnebennieren.

Das Verfahren kann in der Weise modificirt werden, dass die Reduction mit Zinkstaub vor der Fällung mit Ammoniak erfolgt: in diesem Falle wird mit Zinkoxyd neutralisirt, heiss filtrirt¹⁾ und das zinkhaltige Filtrat mit Ammoniak zersetzt.

Die Ausbeute, welche dieses Verfahren liefert, wird durch den Umstand beeinträchtigt, dass einerseits die Fällung der eisengrünenden Substanz als Zinkverbindung eine nichts weniger als vollständige ist, dass andererseits ein Theil des Niederschlages beim Auswaschen wieder in Lösung geht: ich vermochte aus 200 Rindsnebennieren nur etwa 0,5 gr. der brenzcatechin-ähnlichen Substanz zu gewinnen.

Dort, wo es sich um Darstellung dieser Letzteren zu physiologischen Zwecken handelt und wo man auf die vollständige Entfernung des Inosits verzichten will, kann man sich mit Nutzen einer anderen Methode bedienen, welche auf der vollständigen Fällbarkeit der eisengrünenden Substanz durch ammoniakalisches Blei beruht. Man verfährt zu diesem Zwecke folgendermassen: Die Nebennieren werden mit Zinksulfatlösung extrahirt, doch empfiehlt es sich hier, dieselbe weniger stark, von etwa 10% Gehalt, zu wählen. Die eingeeengte und von Eiweiss befreite Extractionsflüssigkeit wird mit einem Ueberschuss von neutralem Bleiacetat gefällt: aus dem Filtrate wird durch ammoniakalisches Blei die eisengrünende Substanz niedergeschlagen. Der Niederschlag wird gewaschen, sodann in 95%igem Alkohol suspendirt und durch einen Ueberschuss von Schwefelsäure zersetzt. Das schwefelsaure Blei wird abfiltrirt, die saure Lösung durch kurzdauerndes Kochen mit Zinkstaub reducirt, mit Zinkoxyd neutralisirt, das Filtrat mit so viel Alkohol versetzt, dass es beim Erkalten nicht zur Abscheidung dunkler Flocken kommt, sodann das halbe

1) Die nach Neutralisation der Reductionsflüssigkeit mit Zinkoxyd erhaltenen Filtrate von charakteristischem Geruche zeigten ein sehr auffallendes Verhalten; beim Erkalten ging die weingelbe Farbe in ein schönes Violetthroth über, um bei neuerlichem Erhitzen wieder zu verschwinden. Auf Zusatz von Alkohol zu der erkalteten Flüssigkeit entstanden violette Flocken, die sich in Wasser und verdünnter Säure leicht lösten. Wurde die alkoholische Flüssigkeit dagegen aufgeköcht, so ging nur ein Theil der Flocken in Lösung, während sich eine dunkelbraune zähflüssige Schicht am Boden des Gefässes absetzte. Dabei ging viel eisengrünende Substanz in ein wasserunlösliches Umwandlungsprodukt über. Die Unkenntniss letzterer Thatsache hat mir in manchen meiner Versuche, bei denen ich die mit Zinkoxyd, Zinkcarbonat oder Baryumcarbonat neutralisirten Reductionsflüssigkeiten zur Trockne dampfte und die Rückstände mit starkem Alkohol ausköchete, sehr grosse Verluste verursacht.

Volumen Aether zugefügt, einen Tag im Eisschranke stehen gelassen, filtrirt und endlich eingedampft.

Die Eigenschaften der so isolirten Substanz stimmen im Allgemeinen mit jenen überein, welche ich in meiner ersten Mittheilung als für die brenzcatechinähnliche Substanz charakteristisch angeführt habe. Ein Unterschied besteht nur im Verhalten gegen Eisenchlorid und in ihrer Hältbarkeit. Eisenchlorid bewirkt bei saurer Reaction eine smaragdgrüne Färbung, welche bei vorsichtigem Zusatz von Alkali der Reihe nach in Blaugrün, Stahlblau, Amethystblau und schliesslich in ein prachtvolles Carminroth übergeht; durch allmählichen Zusatz von Säure kann man jetzt die gesammte Farbenfolge in umgekehrter Reihenfolge produciren und dieses Spiel beliebig oft wiederholen. Bei der nach dem alten Verfahren dargestellten Substanz konnte zwar der allmähliche Uebergang von Grün in Roth beobachtet werden: die Umkehr von Roth in Grün gelang jedoch nicht, offenbar weil die Substanz bei alkalischer Reaction in Gegenwart von Eisenchlorid bereits eine tiefgehende Veränderung erfahren hatte: überdies wurden die schönen blauen Zwischentöne nicht beobachtet, die sich mit dem nach dem Reduktionsverfahren dargestellten Präparate in bequemster Weise demonstriren lassen, wenn man die angesäuerte und mit wenig Eisenchlorid versetzte Lösung vorsichtig mit verdünntem Ammoniumcarbonat schichtet: man erhält so die schöne Erscheinung einer Reihe von Ringen in der oben angegebenen Farbenfolge. Die weit grössere Haltbarkeit geht schon aus dem Angeführten hervor. Die Substanz konnte bei saurer und neutraler Reaction eingedampft, ja sogar mit schwächeren Alkalien kurze Zeit gekocht werden, ohne ihre charakteristischen Eigenschaften einzubüssen.

Theilt man eine Portion frischer zerkleinerter Nebennieren in zwei Hälften, versetzt die eine derselben mit Wasser, die andere mit Zinksulfatlösung und kocht nun beide auf, so ergibt sich, dass das wässerige Extract nur relativ wenig eisengrüne Substanz enthält, und dass diese die nicht modificirte Eisenreaction gibt, während der Zinksulfatauszug die Eisenreaction viel stärker und in der für das Reduktionsprodukt charakteristischen Weise gibt. Diese Beobachtung spricht für die Annahme, dass die reducirte Verbindung die präformirte

ist und erst durch secundäre oxydative Einflüsse, bei denen vielleicht das oxydative Ferment eine Rolle spielt, in die andere Form übergeht, dass somit die Reduction die ursprüngliche Modification wieder herzustellen vermag.

Durch eine Reihe im hiesigen pharmakologischen Institute in Gemeinschaft mit Herrn Privatdocent Dr. Gerhardt ausgeführter Blutdruckversuche wurde ein nach der Zinkmethode dargestelltes Präparat auf seine physiologische Wirksamkeit geprüft. Dasselbe erwies sich als ausserordentlich intensiv. Dosen von $\frac{1}{40}$ mgr., intravenös beigebracht, trieben den Blutdruck noch kräftig in die Höhe. Bei einem Kaninchen, dessen Blutdruck zu Beginn des Versuches 114 mm. betrug, stieg derselbe nach intravenöser Injection von 0,00005 gr. auf 184 mm., um nach kurzer Zeit wieder zur Norm zurückzukehren: eine folgende Injection von 0,000025 gr. trieb ihn auf 166 mm. empor. Bei demselben Thiere wurde durch Einathmung von Amylnitrit der Druck auf 80 mm. herabgesetzt: Injection von 0,00005 gr. bewirkte trotz fortgesetzter Amylnitrit-einathmung sofortigen Anstieg auf 166 mm.: nach weiterer Herabsetzung des Blutdrucks auf 60 mm. wurde er durch eine Dosis von 0,000025 gr. auf 114 mm. erhöht. Bei Anwendung grösserer Dosen waren die absoluten Werthe, welche der Blutdruck erreichte, noch grösser: so stieg bei einem Kaninchen nach Injection von 0,0002 gr. der Druck von 120 auf 180 mm., um nach einigen Minuten bis zu 110 mm. abzusinken; nunmehrige Injection von 0,0005 gr. trieb den Druck bis auf 190 mm. empor; derselbe sank darauf bis zu 88 mm. herab. Während bei sehr kleinen Dosen die Curve einen regelmässigen Verlauf zeigte und nach Abklingen der Wirkung nicht unter die Norm sank, war dies bei grösseren Dosen der Fall. Die Curve zeigte auf der Höhe der Wirkung starke Unregelmässigkeiten unter mächtigem Hervortreten von Vaguspulsen. Bei dem letzterwähnten Versuche stieg nach beiderseitiger Vagusdurchschneidung der Druck von 88 mm. auf 122 mm. an; nunmehr bewirkten aufeinanderfolgende Injectionen von 0,0001, 0,0002 und 0,00005 Anstiege auf 178, 178 und 164 mm. Aehnlich wie es Gottlieb seiner Zeit beobachtet hat, konnte bei

einem Kaninchen, dessen Blutdruck durch Chloroformwirkung auf 24 mm. abgesunken war und dessen Herz nur mehr ganz schwach pulsirte, durch intravenöse Injection von 0,0004 gr. bei gleichzeitiger Einleitung künstlicher Athmung der Druck binnen 35 Secunden auf 130 mm., also um 106 mm. in die Höhe getrieben werden. Die Dauer der Wirkung einer einzelnen Injection hing von der Menge der injicirten Substanz ab, überschritt aber niemals die Dauer weniger Minuten. Dagegen gelang es, durch sehr langsames Einfliessenlassen einer stark verdünnten Lösung aus einer Bürette in die Jugularvene den Druck lange Zeit auf der Höhe zu erhalten. Bei einem Kaninchen, dessen Blutdruck zu Beginn des Versuches 104 mm. betrug, wurde eine Dosis von 0,005 gr., in 100 ccm. physiologischer Kochsalzlösung gelöst, im Laufe von einer Stunde injicirt; der Druck wurde so im Laufe von 45 Minuten auf der Höhe von 144—146 mm. bei ausserordentlich regelmässiger Herzaction gehalten, dann begann der Druck langsam abzusinken; nach Ablauf einer Stunde betrug er aber immer noch 130 mm. Nach Sistirung der Injection nahm der Druck den Anfangswerth von 104 mm. wieder an. Dieselbe Dosis von 0,005 gr., einem Kaninchen auf einmal injicirt, bewirkte einen mächtigen Anstieg des Druckes und sodann plötzlichen Tod: bei subcutaner Application dieses Quantums war an der Blutdruckcurve gar kein Effect zu bemerken. Bei einem Kaninchen wurde durch intravenöse Infusion einer verdünnten Kaliumchloridlösung der Blutdruck nahezu bis zur Abscisse herabgesetzt, wobei das Herz nur mehr seltene, ganz schwache Contractionen ausführte; die Injection einer grossen Dosis des Präparats trieb ihn momentan bis hoch über die Norm empor, und nunmehr gelang es, durch langsame Infusion einer stark verdünnten Lösung aus einer Bürette den Druck mehr als 20 Minuten über der Norm zu erhalten. Sobald aber die Infusion auch nur für kurze Zeit unterbrochen wurde, sank der Druck alsbald zu gefahrdrohender Tiefe ab, um bei neuerlicher Infusion wieder prompt anzusteigen. Als schliesslich die Infusion sistirt wurde, starb das Thier innerhalb weniger Augenblicke.

II. Benzoylirungsversuche.

Da die Eisenreaction der blutdrucksteigernden Substanz auf die Anwesenheit von zwei Hydroxylgruppen an einem ringförmigen Kerne hinweist, habe ich sie zu benzoyliren versucht.

Ein solcher Versuch war bereits von Fränkl ausgeführt worden; er löste sein Sphygmogenin in Pyridin, schüttelte mit Benzoylchlorid und erhielt so einen den Gefässwänden anhaftenden, in Aether, Alkohol und Aceton löslichen Syrup, über dessen Eigenschaften Nichts mitgetheilt wird.

Die Eingangs erwähnten Untersuchungen von Abel und Crawford, deren Ergebnisse sich in vielen Punkten mit den meinigen decken, gelangten erst zu einer Zeit zu meiner Kenntniss, als nachstehende Versuche bereits im Gange waren.

Da die Empfindlichkeit der eisengrünenden Substanz gegen Alkali die Anwendbarkeit des Schotten-Baumann'schen Verfahrens mit Benutzung starker Natronlauge fraglich erscheinen liess, bediente ich mich anfänglich einer von Bamberger¹⁾ herrührenden Modification dieser Methode, welche darin besteht, dass die Natronlauge durch Natriumcarbonat ersetzt wird.

100 frische Rindsnebennieren wurden zerkleinert wiederholt mit Wasser extrahirt; die colirte und filtrirte Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure (25 ccm. 20^o/oige Schwefelsäure: 500 ccm. Flüssigkeit) und mit Zinkstaub versetzt und 2 Stunden am Sandbade erhitzt, sodann mit kohlen-saurem Zink neutralisirt und heiss filtrirt. Das weingelbe Filtrat färbte sich beim Erkalten violettroth; dasselbe wurde eingedampft, der Rückstand mit heissem Alkohol extrahirt. Die alkoholische Lösung hinterliess beim Eindampfen einen rothbraunen Syrup, in dem es nach mehrtägigem Stehen zur Abscheidung zahlreicher farbloser Krystalle kam. Dieselben wurden durch wiederholte Behandlung mit Methylalkohol, welcher sie ungelöst liess, abgetrennt; die alkoholische Lösung wurde nun bei gelinder Wärme eingedunstet, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit 10 ccm. einer 15^o/oigen Sodalösung versetzt. Dabei entstand, genau wie es auch Abel beobachtet hat, ein reichlicher grobflockiger, brauner Niederschlag, während ein starker, an Coniin erinnernder Geruch sich bemerkbar

1) Meyer und Jakobson, Lehrbuch der organ. Chemie. 2. Bd. 2. Abth. p. 546.

machte: 1) der Niederschlag wurde abfiltrirt und das rothbraun gefärbte Filtrat mit 5 ccm. reinen Benzoylchlorids $\frac{1}{4}$ Stunde lang geschüttelt; es kam zur Abscheidung schwach gefärbter Flocken, die sich gut absetzten und durch Filtration abtrennen liessen. Das Filtrat wurde mit soviel Natronlauge versetzt, dass der Gehalt 10% betrug; dann wurde neuerdings mit Benzoylchlorid bis zum Verschwinden des stechenden Geruchs geschüttelt, wobei es wiederum zur Bildung eines Niederschlags kam. Wurde dieser nunmehr abfiltrirt, das Filtrat mit Salzsäure neutralisirt und zur Entfernung der Benzoesäure mit Aether ausgeschüttelt, so gab die so erhaltene gelbe Lösung weder eine Reaction mit Eisenchlorid noch mit ammoniakalischer Silberlösung mehr.

Da sich sonach die im ersten Versuche angewandte Alkalimenge als unzureichend erwiesen hatte, wurden in anderen Versuchen weit grössere Mengen Natriumcarbonat zur Anwendung gebracht (z. B. 100 ccm. einer 30%igen Sodalösung zur Verarbeitung des aus 100 Rindsnebennieren gewonnenen Rohproduktes).

Wiederholte Male bediente ich mich auch des ursprünglichen Schotten-Baumann'schen Verfahrens, wobei ich die Menge der angewandten Natronlauge und des Benzoylchlorids in jenem Verhältnisse zur Anwendung brachte, wie es von Skraup²⁾ zur Benzoylirung mehrwerthiger Phenole empfohlen worden ist: so z. B. wurde 0,5 gr. des Rohprodukts, das durch ein dem obigen analoges Verfahren hergestellt worden war, in 20 ccm. Wasser gelöst, die Lösung mit 20 ccm. einer 10%igen Natronlauge und 2 ccm. Benzoylchlorid versetzt und die Mischung bis zum Verschwinden des stechenden Geruchs etwa $\frac{1}{2}$ Stunde lang geschüttelt. Bei Anwendung von Natronlauge in der genannten Concentration kam es nicht zur Bildung eines Niederschlags beim Zusatze des Alkali: wohl aber trat, während die Flüssigkeit eine dunkelbraune Färbung annahm, der charakteristische coniinartige Geruch auf. ²⁾

Behufs weiterer Reinigung des so erhaltenen Benzoylproduktes wurden die Niederschläge mit Wasser gewaschen: da dieselben Neigung zeigten, auf dem Filter zu einer öligen Masse zu zerfliessen, erwies es sich zweckmässiger, das Auswaschen durch Decantation im Spitzglase vorzunehmen. Das

1) Monatshefte für Chemie. Bd. 10, 389.

2) Ich habe die coniinartige Substanz nicht näher untersucht, da Abel sich die weitere Bearbeitung derselben vorbehalten hat.

Öl erstarrte beim Stehen im Eisschranke unter Wasser zu einer gelblichen, wachsartigen Masse. Dieselbe erwies sich ziemlich leicht löslich in Alkohol und Aether, sehr leicht löslich in Aceton, Chloroform, Benzol und Eisessig, kaum löslich in Petroläther. Beim langsamen Eindunsten der kalt bereiteten Lösungen hinterblieb stets ein gelbrother Syrup, der auch bei langdauerndem Stehen im Vacuum über Schwefelsäure keine Neigung zur Krystallisation zeigte: ebenso wurde die Substanz in Form eines Syrups erhalten durch Fällung der alkoholischen Lösung mit Wasser, sowie beim langsamen Abdunsten des Alkohols aus einer wässerig alkoholischen Lösung. Petroläther schied dieselbe aus alkoholischer Lösung in Form eines durchsichtigen röthlich-gelben Oeles ab.

Ein weiterer Versuch, zu einem reineren Präparate zu gelangen, bestand darin, dass eines der in vorangeführter Art dargestellten Präparate in starker Natronlauge gelöst und neuerlich mit Benzoylchlorid geschüttelt wurde, um die während der vorhergehenden Manipulationen etwa abgespaltenen Benzoylgruppen zu ersetzen. Es kam zur Abscheidung einer öligen Masse; diese wurde mit Wasser gewaschen, in Alkohol bei Zimmertemperatur gelöst und die Lösung durch Zusatz von Wasser gefällt. Der Syrup, der sich nach längerem Stehen klar abgesetzt hatte, wurde nun neuerdings in Alkohol gelöst und die Lösung ins Vacuum über Schwefelsäure gestellt. Es blieb eine gelbe Masse von Paraffinconsistenz zurück, welche auch nach monatelangem Stehen keine Spur von Krystallisation zeigte.

Der Versuch, das Benzoylprodukt in krystallinischer Form zu erhalten, blieb stets erfolglos. Sobald man die in irgend einer Art erhaltenen Lösungen längere Zeit erhitzte, insbesondere aber wenn man dieselben eindampfte, fand sich der zurückgebliebene Syrup durchsetzt von zahlreichen Krystallen, die sich als Benzoesäure erwiesen.

Zur Verseifung der Benzoylverbindungen bediente ich mich wie Abel der Einwirkung von Schwefelsäure. Wurde das Benzoylprodukt unter strenger Kühlung in concentrirter Schwefelsäure gelöst, so gab das von Benzoesäure befreite und

genau neutralisirte Produkt keine Eisenreaction mehr, wohl aber auffallender Weise auf Zusatz von Natronlauge, Ammoniak oder Ammoniumcarbonat eine schöne rosenrothe Färbung und Reduction von ammoniakalischer Silberlösung. Wurde die Spaltung des Benzoylprodukts nach Abel mit kochender 25%iger Schwefelsäure in Eisessiglösung vorgenommen, so resultirte nach entsprechender Reinigung ein Produkt, das die Reactionen der ursprünglichen Substanz, doch nicht in charakteristischer Reinheit, zeigte. Eisenchlorid gab nach Zusatz von Ammoniumcarbonat bis zur alkalischen Reaction eine intensiv rothbraune Färbung; vorsichtiges Ansäuern mit verdünnter Essigsäure bewirkte Umschlag in Olivenbraun; neuerlicher Zusatz von Alkali liess die intensive rothbraune Färbung wieder hervortreten. Auch hier war auf Zusatz von Ammoniak, Ammoniumcarbonat oder Natronlauge eine schöne rosenrothe Färbung zu beobachten. Ammoniakalische Silberlösung wurde beim Kochen augenblicklich reducirt. Eine Prüfung der physiologischen Wirksamkeit habe ich nicht vorgenommen.

III. Acetyilirungsversuche.

Da die geringe Haltbarkeit und ölige Consistenz der dargestellten Benzoylverbindungen mir weitere Versuche, dieselben in analysenfähiger Form zu erhalten, wenig aussichtsvoll erscheinen liessen, bemühte ich mich, dies auf einem anderen Wege zu erreichen. Einen solchen glaube ich in der Anwendung des Acetyilirungsverfahrens gefunden zu haben. Diese Methode in Combination mit dem von Professor Hofmeister aufgefundenen Reductionsverfahren legte ich meinen weiteren Versuchen zu Grunde. Ich habe im Ganzen 11 Präparate auf diesem Wege dargestellt und zur Feststellung der Eigenschaften und der Zusammensetzung der brenzcatechinähnlichen Substanz benutzt.

Präparat I.

200 frische Rindsnebennieren wurden mit Wasser extrahirt: die filtrirte Extractionsflüssigkeit wurde mit verdünnter Schwefelsäure und Zinkstaub erhitzt, mit Zinkoxyd neutralisirt, filtrirt, eingedampft; der Rückstand wurde mit heissem Alkohol

extrahirt und dieser durch Eindampfen vertrieben. Das so erhaltene syrupöse Rohprodukt im Gewicht von etwa 8 gr. wurde mit der gleichen Gewichtsmenge feingepulverten, entwässerten Natriumacetats und mit 50 ccm. Essigsäureanhydrid über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen; sodann wurde das Gemenge in einem Kölbchen unter Rückfluss über freier Flamme 20 Minuten in lebhaftem Kochen erhalten. Die so erhaltene klare, rothbraune Lösung erstarrte beim Erkalten in Folge reichlicher Abscheidung von Natriumacetatkrystallen. Dieselben wurden durch Zusatz des vierfachen Volumens Wasser in Lösung gebracht. Sodann wurde die dunkelrothbraune saure Lösung im Scheidetrichter mit Chloroform ausgeschüttelt; die wässerige Schicht entfärbte sich schnell, während das Chloroform den rothbraunen Farbstoff mit grosser Intensität in sich aufnahm; dreimaliges Ausschütteln mit Chloroform genügte, um die wässerige Schicht bis auf einen Stich ins Gelbe zu entfärben. Die abgetrennten und vereinigten Chloroformextracte wurden nunmehr durch wiederholtes und andauerndes Ausschütteln mit viel Wasser gereinigt und schliesslich bei 40° eingedunstet. Als Rückstand blieb eine rothbraune syrupöse Substanz von eigenthümlichem Geruch. Dieselbe zeigte folgendes Verhalten.

Sie war leicht löslich in absolutem Alkohol, Essigäther, Chloroform und Eisessig, schwerer in Aether, kaum löslich in Wasser, Benzol und Petroläther; aus ihrer Lösung in Alkohol, Chloroform oder Essigäther wurde sie durch Zusatz von Petroläther, aus der essigsauen Lösung durch Neutralisation mit Ammoniumcarbonat gefällt.

Eine alkoholische Lösung gab mit Eisenchlorid keine Färbung. Wurde eine Lösung in Chloroform mit etwas verdünntem Ammoniak versetzt und aufgeköcht, so bemerkte man eine Entfärbung der Chloroformschicht; während die wässerige Schicht eine gelbe Färbung annahm; wurde die letztere nunmehr abgehoben und mit verdünntem Eisenchlorid versetzt, so entstand eine prachtvolle carminrothe Färbung, welche auf vorsichtigen Zusatz von verdünnter Essigsäure den für die reducirte Substanz charakteristischen Uebergang in Grün mit

blauen Zwischentönen in schönster und reinsten Weise zeigte, ein Beweis, dass es gelungen war, die eisengrüne Substanz mit unveränderten Eigenschaften durch Verseifung aus ihrer Acetylverbindung wiederzugewinnen. Die Verseifung gelang auch, wenn eine Probe der Substanz ohne vorhergehende Lösung mit Ammoniak oder Ammoniumcarbonat gekocht wurde.

Eine Verseifung ohne Anwendung höherer Temperaturen erzielte ich in der Weise, dass ich etwas von der Substanz in Essigsäure löste und die Lösung durch Zusatz von Ammoniumcarbonat schwach alkalisch machte. Es entstand ein dunkelgefärbter Niederschlag, der sich in der gelben Flüssigkeit leicht absetzte. Bei längerem Stehen färbte sich die Letztere von der Oberfläche her dunkelrothbraun. Es wurde am nächsten Tage filtrirt, das Filtrat mit Essigsäure schwach angesäuert, sodann eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen. Die Lösung gab die Eisenreaction in schönster Weise und reducirte ammoniakalische Silberlösung kräftig: Natronlauge bewirkte eine röthliche Färbung, die beim Kochen stärker hervortrat: alkoholische Quecksilberchloridlösung gab keine Rothfärbung, dagegen einen reichlichen Niederschlag: mit Platinchlorid wurde keine Färbung erhalten.

Auch durch 15-stündiges Erwärmen der aus alkoholischer Lösung erhaltenen syrupösen Substanz auf ungefähr 45° gelang es, eine vollständige Verseifung des Acetylprodukts zu erzielen, welcher Versuch mir, nebenbei erwähnt, bei Wiederholung mit anderen Präparaten oft misslang. Ich versuchte auf diesem Wege, die ursprüngliche Substanz in reinem Zustande wieder zu gewinnen: ich erhielt einen in Chloroform unlöslichen, in Wasser dagegen leicht löslichen Körper: die wässrige Lösung wurde eingedampft, der Rückstand in wenig heissem absoluten Alkohol gelöst und die röthbraune alkoholische Lösung im Spitzglase durch Zusatz von Aether gefällt. Der aus schwach gefärbten Flocken bestehende Niederschlag setzte sich leicht ab, wurde durch wiederholte Decantation mit einem Gemenge gleicher Theile absoluten Alkohols und Aethers gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute aus der Hauptmenge des Acetylprodukts betrug nur 0,2 gr.

Die so erhaltene Substanz bildete ein dunkelbraunes, sprödes, in Wasser sowie in Alkohol lösliches Pulver. Die wässrige Lösung derselben reagierte neutral, gab schöne Eisenreaction und reducirte ammoniakalisches Silbernitrat augenblicklich; der Zusatz von Ammoniak für sich bewirkte das Auftreten einer prachtvollen carminrothen Färbung. Jodquecksilberkalium veranlasste auch nach Zusatz von Salzsäure keine Fällung.

Herr Professor Gottlieb in Heidelberg war so freundlich, das Präparat auf seine physiologische Wirksamkeit zu prüfen. 0,3—0,5 ccm. einer 0,5%igen Lösung entsprechend einer Dosis von 0,0015—0,0025 gr. bewirkten bei 2 Kaninchen intravenös injicirt eine starke Blutdrucksteigerung. Die kleinste etwa noch wirksame Dosis betrug 0,0005 gr. Ich möchte darauf hinweisen, dass ein nach der Zinkmethode dargestelltes Präparat, wie oben erwähnt, sich weit kräftiger wirksam erwies, insofern dasselbe, noch in Dosen von 0,00005 gr. eine anscheinliche Blutdrucksteigerung veranlasste.

Den Rest des durch Verseifung erhaltenen Präparates benutzte ich zu dem Versuche einer neuerlichen Acetylirung. Das Acetylprodukt wurde mit Chloroform aufgenommen, die Chloroformlösung durch Schütteln mit Wasser gewaschen, endlich mit Petroläther gefällt; der zunächst syrupöse Niederschlag nahm nach kurzer Zeit beim Stehen unter Lichtzutritt eine trockene Beschaffenheit an und bildete zerrieben ein leichtes, bräunlichgelbes Pulver.

Präparat II.

Aus 200 Rindsnebennieren wurde in analoger Weise, wie im vorigen Versuche, das Acetylprodukt dargestellt und aus seiner Chloroformlösung durch Fällung mit Petroläther als braungelbe zerreibliche Masse gewonnen. Das Präparat wurde über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur getrocknet, da bereits beim Erwärmen auf 40° Zersetzung zu befürchten war. Die Ausbeute betrug 0,7 gr. Die Analyse des Präparats ergab:

C = 57,42% H = 6,03% N = 5,11%

5,20

(Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl ausgeführt.)

Präparat III.

200 Rindsnebennieren wurden analog wie früher auf das Acetylprodukt verarbeitet; die Ausbeute betrug diesmal aus unbekanntem Gründen nur 0,23 gr. Das Präparat diente zu einem Verseifungsversuch mit sehr verdünntem Alkali ohne Anwendung höherer Temperatur. Es wurde zu diesem Zwecke in 10 ccm. $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge gelöst; die Lösung erfolgte leicht und vollständig; nunmehr wurde mit $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure genau neutralisirt; es fiel ein dunkel gefärbter Niederschlag aus. Derselbe wurde abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und in heissem Alkohol gelöst; der nach Vertreibung des Alkohols zurückbleibende Rückstand zeigte folgendes Verhalten:

Die Substanz war ziemlich leicht löslich in Wasser und Alkohol, noch viel leichter jedoch in Säure und Alkali. Sie gab schöne Eisenreaction; Ammoniak bewirkte eine intensive rothbraune Färbung; ammoniakalische Silberlösung wurde bereits in der Kälte reducirt.

Die Verseifung war sonach gelungen. Im Filtrate des Neutralisationspräcipitats konnte gleichfalls eisengrünende Substanz nachgewiesen werden, was sich ohne Weiteres aus der Löslichkeit derselben im Wasser erklärt. Nur sehr concentrirte alkalische oder saure Lösungen können eben durch Neutralisation gefällt werden, und die Fällung ist niemals eine vollständige.

Präparat IV.

Bei diesem Versuche bemühte ich mich, die Fällbarkeit des Acetylprodukts aus saurer Lösung durch Neutralisation zum Zwecke der Reindarstellung desselben zu verwerthen. Die Gewinnung des Rohproduktes modificirte ich derart, dass ich vor der Reduction die in der wässerigen Extractionsflüssigkeit reichlich vorhandenen Eiweisskörper durch Fällung mit Zinksulfat und Aufkochen beseitigte. Die Acetylierung wurde in der gewöhnlichen Art vorgenommen, nunmehr aber das rohe, Essigsäure enthaltende Reactionsprodukt mit Natronlauge neutralisirt, wobei ein reichlicher, grobflockiger, brauner Niederschlag ausfiel. Derselbe wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, wobei

ein Theil desselben wieder in Lösung ging, sodann wieder in Alkohol gelöst, der Alkohol vertrieben und der Rückstand nunmehr einer neuerlichen Acetylierung durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid bei Gegenwart von Natriumacetat unterzogen. Die weitere Behandlung war die gewöhnliche. Die durch Fällung mit Petroläther endlich erzielte Ausbeute betrug, entsprechend einem Ausgangsmaterial von 300 Rindsnebennieren, nur 0,5 gr. Die Analyse des über Schwefelsäure getrockneten Präparats ergab folgende Werthe:

$$C = 51,52\% \quad H = 5,79\% \quad N = 5,19\%.$$

Herr Professor Gottlieb, der das Präparat zu untersuchen die Güte hatte, fand, dass eine Lösung desselben in $\frac{1}{20}$ Normalnatronlauge selbst in Dosen von 0,008—0,01 physiologisch ganz unwirksam war. Bei einem Verseifungsversuche erhielt ich ein Produkt, das die Eisenreaction nur noch wenig intensiv und mit sehr unreinen Farben gab. Die eingreifenden Manipulationen scheinen demnach eine Veränderung der Substanz herbeigeführt zu haben.

Präparat V.

Aus einer grösseren Nebennierenfraction wurde, analog wie bei Präparat I, das Acetylprodukt hergestellt. Da der Gedanke nahe lag, dass vielleicht eine durch Oxydation während der Bereitung entstandene Beimengung die Krystallisation störe, versuchte ich, das Acetylprodukt einer neuerlichen Reduction zu unterziehen. Es wurde dasselbe zu diesem Zwecke in Eisessig gelöst und unter Zusatz von Zinkstaub $\frac{1}{2}$ Stunde lang erhitzt. Die dunkelrothbraune Flüssigkeit entfärbte sich dabei schnell und wurde schliesslich hell orange gelb; es wurde nun filtrirt, mit Chloroform ausgeschüttelt, mit Wasser sorgfältig gewaschen, endlich mit Petroläther gefällt.

Die so erhaltene goldgelbe, syrupöse Substanz zeigte folgendes Verhalten: Verdünntes Ammoniak, sowie $\frac{1}{20}$ Normalnatronlauge lösten sie leicht. Die Lösungen gaben die Eisenreaction mit schönen Farben; dabei fiel es auf, dass, sobald die alkalische Flüssigkeit mit Essigsäure neutralisirt wurde, ein dunkler Niederschlag ausfiel, der die Grünfärbung verdeckte;

vermuthlich rührte derselbe davon her, dass ein Theil des Acetylprodukts unverseift in die alkalische Lösung übergegangen war und nun bei Neutralisation ausfiel. Der zeitliche Verlauf des Verseifungsvorganges konnte in folgender Weise zur Anschauung gebracht werden: Wurde eine essigsaure Lösung des Produktes mit Eisenchlorid versetzt und nun Ammoniumcarbonat bis zu alkalischer Reaction zugesetzt, so trat zunächst keine Färbung ein; wurde aber nunmehr erwärmt, so färbte sich zunächst der Schaum, bald aber die ganze Flüssigkeit prachtvoll carminroth. Wurde eine ammoniakalische Lösung mit Silbernitrat versetzt, so trat schon in der Kälte augenblicklich Reduction ein.

Präparat VI.

300 Rindsnebennieren wurden mit verdünnter Zinksulfatlösung wiederholt extrahirt: die vereinigten Extracte wurden eingedampft: die Eiweisscoagula abfiltrirt, das Filtrat bis zur Syrupeconsistenz eingedampft. Der Rückstand erstarrte beim Erkalten zu einer wachsartigen braungelben Masse: dieselbe wurde in einem Kolben unter Rückfluss mit 80%igem Alkohol extrahirt: dabei fiel es auf, dass sich am Boden des Gefässes eine zähflüssige dunkle Schicht bildete, die sich mit dem Alkohol nicht mischte. Die Extraction wurde unter oftmaligem Wechsel des Alkohols so lange fortgesetzt, als dieser noch eisengrünende Substanz aufnahm. Das gesammte alkoholische Extract wurde mit $\frac{1}{10}$ Volumen Aether versetzt, der entstandene Niederschlag am nächsten Tage abfiltrirt, das Filtrat eingedampft und der so erhaltene rothbraune Syrup der Acetylirung mit nachfolgender Reduction in der im vorigen Versuche angegebenen Art unterzogen. Die Chloroformlösung von rothgelber Farbe mit grünlicher Fluorescenz wurde mit Petroläther gefällt, der Niederschlag wieder in Chloroform gelöst und abermals mit Petroläther gefällt, die Substanz endlich in absolutem Alkohol gelöst, ins Vacuum über Schwefelsäure gestellt; es blieb ein rothgelber Firnis ohne Spur von Krystallisation zurück. Derselbe wurde nunmehr wieder in Alkohol gelöst und Wasser zugefügt. Beim langsamen Abdunsten des Alkohols schied sich die in Wasser unlösliche Substanz in braungelben Körnern

ohne deutliche krystallinische Structur ab. Sie wurde noch einmal in Alkohol gelöst: derselbe hinterliess einen Firnis von spröder Beschaffenheit. Die Ausbeute der durch langdauerndes Stehen über Schwefelsäure getrockneten Substanz betrug nur 0.2 gr. Eine Analyse ergab:

$$C = 57,72\% \quad H = 5,88\%.$$

Präparat VIII.

Aus 440 Rindsnebennieren wurde analog wie im Versuche VI das Acetylprodukt dargestellt: sodann in Eisessig gelöst, durch Kochen mit Zinkstaub reducirt und, wie gewöhnlich, mit Chloroform und Petroläther weiter behandelt. Das schliesslich erhaltene syrupöse Produkt wurde noch zu weiterer Reinigung mit Wasser durchgéknetet, schliesslich durch monatelanges Stehen über Schwefelsäure getrocknet. Das Präparat gab, in heissem Ammoniumcarbonat gelöst, schöne Eisenreaction mit reinen Farben und blauen Tönen; erfolgte die Lösung dagegen in Natronlauge, so trat zwar die Rothfärbung mit Eisen in alkalischer Lösung wie vordem auf. Bei saurer Reaction dagegen zeigte sich keine neue Grünfärbung, sondern vielmehr ein schmutziges Olivengrün, als Beweis dafür, dass bei der Verseifung die Substanz nicht intact geblieben war. Die Ausbeute betrug diesmal 1,3 gr.

Die Elementaranalyse ergab:

$$C = 53,49\% \quad H = 6,24\% \quad N = 4,80\%$$

Der Rest des Präparates wurde zu einer Methoxyl- und zu einer Acetylbestimmung benutzt.

Die Methoxylbestimmung wurde mit genauer Befolgung des von Zeisel angegebenen Verfahrens ausgeführt und ergab ein ganz negatives Resultat.

Die Acetylbestimmung wurde in folgender Weise vorgenommen: das Acetylprodukt wurde in 95%igem Alkohol gelöst, die Lösung mit einer abgemessenen Menge $\frac{1}{20}$ Normalnatronlauge versetzt und 25 Minuten im Kochen erhalten: es geschah dies in einem Destillationsapparat mit vorgelegter Säure, um während der Verseifung etwa abgespaltenes flüchtiges Alkali gleichzeitig nachweisen und bestimmen zu können; es ergab

sich, dass unter den angegebenen Versuchsbedingungen eine solche Abspaltung nicht stattfindet. Nach erfolgter Verseifung wurde die dunkelbraune Lösung stark mit Wasser verdünnt und die Menge der abgespaltenen Säure durch Titration mit $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure unter Benutzung von Phenolphthalein als Indicator bestimmt. Die Beobachtung des Farbumschlages war durch die Dunkelfärbung der Flüssigkeit allerdings erschwert, immerhin aber insoweit möglich, um grobe Fehler auszuschliessen. 0,3107 des Acetylproductes ergaben 0,2034 Essigsäure. Zur grösseren Sicherheit wurde die titrirte Flüssigkeit nunmehr mit Phosphorsäure angesäuert und im Kjeldahl-Apparate mit vorgelegter Natronlauge und strömendem Wasserdampf destillirt. Die Menge der so gefundenen flüchtigen Säure betrug, als Essigsäure berechnet, 0,2112 gr., die procentische Menge der abgespaltenen Essigsäure, aus der grösseren der beiden Zahlen berechnet, betrug 67,97%.

Präparat VIII.

Aus 100 Nebennieren wurde das Acetylproduct in der gewöhnlichen Weise dargestellt und mit Chloroform und Petroläther weiter behandelt. Die Lösungen zeigten keinerlei Tendenz zur Krystallisation. Das getrocknete Präparat bildete ein lockeres, lichtbraunes Pulver. Proben desselben lösten sich nach kurzdauerndem Kochen vollständig in Ammoniak und Ammoniumcarbonat. Die angesäuerten Lösungen gaben mit Eisenchlorid keine reine Färbung, sondern ein schmutziges Olivengrün, und beim Uebergang in Roth durch allmählichen Zusatz von Alkali fehlten die blauen Zwischentöne. Die Ausbeute betrug 0,26 gr.

Eine Analyse ergab:

$$C = 54,72\% \quad H = 5,88\%.$$

Präparat IX.

600 Rindsnebennieren wurden nach der Zinkmethode verarbeitet, jedoch mit der Abweichung, dass nach Zersetzung des Zinkniederschlages in Alkohol durch Schwefelsäure, Reduction und Beseitigung des Zinksulfats durch Alkohol-Aether zur Neutralisation der überschüssigen Säure Baryumcarbonat statt Zink-

oxyd benutzt wurde. Die Lösung wurde mit Baryumcarbonat eingedampft und der Rückstand mit heissem Wasser extrahirt. Dabei blieb, während ein Theil der eisengrünenden Substanz in Lösung ging, eine dunkel gefärbte Substanz ungelöst. Dieselbe löste sich leicht in stark verdünntem Ammoniak, um beim Neutralisiren der Lösung mit Essigsäure wieder auszufallen. Das Neutralisationspräcipitat löste sich nunmehr bei Zusatz von viel Wasser. Die Lösung gab intensive Eisenreaction, jedoch nicht mit reinen Farben und blauen Zwischentönen, sondern vielmehr schmutziggrün bei saurer, braunroth bei alkalischer Reaction. Beachtet man die hochgradige Löslichkeit der unveränderten eisengrünenden Substanz im Wasser, so muss diese Beobachtung wohl in der Art gedeutet werden, dass beim Eindampfen mit Baryumcarbonat eine Veränderung vor sich gegangen ist unter Bildung eines in Wasser schwerer löslichen Productes, welches die Eisenreaction zwar noch mit grosser Intensität, jedoch mit unreinen Farben gibt. Die weitere Behandlung der so erhaltenen Substanz (Acetylirung etc.) erfolgte wie gewöhnlich. Das schliesslich gewonnene Product bildete ein lichtbraunes, voluminöses Pulver; die Ausbeute betrug 1,4 gr.

Eine Probe der Substanz löste sich in Ammoniumcarbonat in der Kälte nur sehr langsam. Auf Zusatz von Eisenchlorid erfolgte zunächst keine Veränderung; wurde aber nunmehr aufgekocht, so entstand sogleich eine prachtvolle carminrothe Färbung. Beim Ansäuern mit Essigsäure entstand zunächst ein dunkler Niederschlag; wurde dieser abfiltrirt, so erschien das Filtrat rein grün und zeigte nunmehr bei vorsichtigem Zusatz von Alkali den Uebergang in Carminroth durch prachtvolle Purpur- und Amethystfärbungen. Wurde dagegen eine Probe des Pulvers kurze Zeit mit Ammoniumcarbonat auf 40° erwärmt und der ungelöst gebliebene Rückstand abfiltrirt, so gab das Filtrat die Eisenreaction mit den Farben Olivengrün und Braunroth, ohne Bildung eines Niederschlages. Das Gleiche erfolgte, wenn die Substanz in Alkohol gelöst und mit Ammoniak aufgekocht wurde.

Die Analyse ergab:

C = 59,70% H = 5,18% N = 6,06%

Der Versuch einer Acetylbestimmung misslang, da die portionenweise in kochende $\frac{1}{20}$ Normalnatronlauge eingetragene Substanz nur zum Theil in Lösung ging, daneben aber eine schwerlösliche Substanz ausfallen liess.

Präparat X.

420 Rindsnebennieren wurden mit Zinksulfatlösung extrahirt: die Extractionsflüssigkeit wurde eingengt, das coagulirte Eiweiss abfiltrirt: das Filtrat zur Trockne gedampft, der Rückstand mit 25%igem kochenden Alkohol erhitzt, die alkoholische Lösung mit $\frac{1}{10}$ Volumen Aether versetzt und der entstandene Niederschlag am nächsten Tage abfiltrirt. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand in der gewöhnlichen Weise dem Acetylirungsverfahren unterworfen. Das schliesslich durch Petrolätherfällung erhaltene Produkt wurde noch einmal in Chloroform gelöst und mit Petroläther gefällt, endlich während 8 Wochen über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeute bei diesem Versuche war die weitaus grösste, die ich jemals zu erzielen vermochte, und betrug etwa 3 gr.

Ein kleiner Theil der so erhaltenen Substanz diente einem Verseifungsversuche. Bei kurzdauerndem Kochen mit verdünntem Ammoniak ging nur ein Theil in Lösung, während dunkel gefärbte Flocken zurückblieben. Die filtrirte Flüssigkeit gab beim Ansäuern mit Essigsäure einen Niederschlag, der sich in Alkali wieder leicht löslich erwies. Durch genaue Neutralisation wurde eine klare Lösung erhalten, dieselbe zeigte folgendes Verhalten: Eisenchlorid gab Olivenfärbung, Zusatz von Essigsäure bewirkte deutlicheres Hervortreten der Grünfärbung, während gleichzeitig ein reichlicher, dunkel gefärbter Niederschlag entstand: wurde dieser abfiltrirt, so zeigte das Filtrat schöne Grünfärbung, und bei Zusatz von Alkali Umschlag in ein prachtvolles Carminroth. Ammoniak allein bewirkte Dunkelfärbung mit einem Stich ins Roth: Zusatz von Silbernitrat und Aufkochen verursachten Schwarzfärbung unter Abscheidung eines Silberniederschlags. Neutrales Bleiacetat gab keine Fällung, dagegen bewirkte ammoniakalisches Blei-

acetat die Bildung eines reichlichen Niederschlages von gelb-branner Farbe.

Die Hauptmenge des Präparates diente zu einem Fractionirungsversuche, der um so nothwendiger erschien, als die Analysenwerthe der bisher untersuchten Präparate namentlich in den Kohlenstoffzahlen erheblich voneinander differirten. Es war zu erwarten, dass die Anfangs- und die Endfraction bei geeigneter Wahl der Fällungsgrenzen die Hauptmenge der Verunreinigungen enthalten würden, während man hoffen konnte, die Hauptmenge in den Mittelfractionen im Zustande relativer Reinheit zu erhalten.

Ich verfuhr so, dass ich das Präparat in 10 ccm. Chloroform löste und zunächst in 3 Fractionen (A, B und C) theilte; indem ich 10 ccm. Petroläther hinzufügte, den entstandenen Niederschlag (A) absetzen liess, die überstehende Flüssigkeit abgoss, neuerdings 10 ccm. Petroläther zusetzte und den entstandenen Niederschlag (B) wieder abtrennte. Die zuletzt abgegossene Flüssigkeit gab nach dem Eindunsten die Fraction C. Die Menge der so erhaltenen Fractionen war eine sehr ungleiche: A enthielt die Hauptmenge (1,8 gr.), B betrug 0,6 gr. und nur ein geringer Rest entfiel auf C. Die Hauptmenge A wurde nun neuerlich in 10 ccm. Chloroform gelöst und noch einmal fractionirt, indem zunächst 3 ccm., dann 10 ccm. Petroläther zugesetzt und die entstandenen Niederschläge $A\alpha$ und $A\beta$ abgetrennt wurden: der der Fällung entgangene Rest gab nach dem Eindunsten die dritte Unterfraction $A\gamma$. $A\alpha$ betrug (0,6 gr.), $A\beta$ umfasste die Hauptmenge (0,9 gr.), das Gewicht von $A\gamma$ betrug 0,3 gr. Die Präparate wurden im Vacuum über Schwefelsäure im Laufe von 6—8 Wochen zur Gewichtsconstanz getrocknet. Die Analysen ergaben folgende Werthe:

Fraction $A\alpha$:	C = 55,71%	H = 6,55%	—
$A\beta$:	C = 54,17%	H = 5,47%	N = 6,20%
	Acetylbestimmung: Essigsäure = 64,43%		
$A\gamma$:	C = 53,13%	H = 3,96%	—
B:	C = 55,25%	H = 6,58%	N = 5,82%
	Acetylbestimmung: Essigsäure = 69,60%		

C reichte zur Analyse nicht aus.

Präparat XI.

Es lag nahe, die Fällung der eisengrünenden Substanz durch ammoniakalisches Blei, deren ich mich im Beginn meiner Untersuchungen zum Zwecke der Isolirung vorwiegend bedient habe, mit dem Acetylrungs- und Reductionsverfahren zu combiniren. In der Hoffnung, auf diesem Wege zu einem reineren Präparate für die Analyse zu gelangen, unternahm ich eine Reihe von Versuchen unter Aufwand grosser Mengen Ausgangsmaterials; da die Versuche nicht zum gewünschten Ziele führten, übergehe ich die genauere Beschreibung derselben und begnüge mich, einen derselben zur Veranschaulichung des Verfahrens anzuführen.

200 Rindsnebennieren wurden mit Zinksulfat extrahirt. Die eingeeengte und von ausgeschiedenem Eiweiss abfiltrirte Extractionsflüssigkeit wurde mit einem Ueberschuss von Bleiacetat versetzt und der entstandene Niederschlag abfiltrirt. Auf weiteren Zusatz von viel Ammoniak fiel ein gelbbrauner, grobflockiger Niederschlag aus; derselbe wurde mit Wasser sorgfältig ausgewaschen, sodann in 95%igem Alkohol suspendirt und durch Zusatz von Schwefelsäure bis zur bleibend sauren Reaction zersetzt. Vom gebildeten schwefelsauren Blei wurde abfiltrirt, das saure Filtrat durch Kochen mit Zinkstaub reducirt, mit Zinkoxyd neutralisirt und heiss filtrirt, mit $\frac{1}{4}$ Volumen Aether versetzt, von dem entstandenen Salzniederschlag nach eintägigem Stehen im Eisschranke abfiltrirt und das zinkfreie Filtrat eingedampft. Der firnisartige Rückstand wurde nunmehr in gewöhnlicher Weise der Acetylrung unterzogen; die Chloroformlösung des Acetylproductes hinterliess beim Eindunsten einen von zierlichen Krystallrosetten durchsetzten Syrup. Bei längerem Stehen unter Petroläther nahm die Menge der Krystalle noch zu. Die Trennung des Syrups von den Krystallen gelang durch Behandlung mit kochendem Ammoniumcarbonat, dabei löste sich der Syrup zu einer braunrothen Flüssigkeit, welche die Eisenreaction mit grosser Intensität und reinen Farben gab; die Scherer'sche Inositreaction fiel negativ aus. Das nach wiederholter Extraction mit heissem Ammoniumcarbonat

zurückgebliebene, schwach gefärbte Krystallpulver bestand theils aus doppeltbrechenden Plättchen mit schiefen Winkeln und unregelmässiger Begrenzung, theils aus kurzen zu Rosetten angeordneten Nadeln. Dasselbe erwies sich in kochender Natronlauge vollständig mit gelber Farbe löslich, die Lösung wurde neutralisirt, eingedampft und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung gab keine Eisenreaction, wohl aber die Scherer'sche Inositreaction sehr schön und intensiv. Die Trennung des Inosits von der eisengrünenden Substanz, welche mir schon seiner Zeit bei der Verarbeitung der Bleiniederschläge grosse Schwierigkeiten bereitet hatte, war also auch hier, trotz der Behandlung mit Alkohol und Aether, nicht ausreichend gelungen. Das Acetylprodukt des Inosits war in Chloroform gelöst und aus der Lösung durch Petroläther gefällt worden, und erst die Verseifung mit Ammoniumcarbonat vermochte den unerwünschten Begleiter zu entfernen. Es muss jedoch hervorgehoben werden, dass die Verunreinigung des Acetylprodukts durch Inosit nur bei der Fällung mit ammoniakalischem Blei zu besorgen ist, da er bei dieser sehr vollständig aus seinen Lösungen niedergeschlagen wird. Ich habe bei der Darstellung des Acetylproduktes nach der Zinkmethode immer sorgfältig auf sein Vorkommen geachtet, konnte aber niemals eine Spur davon in meinen Präparaten nachweisen.

IV. Chemische Natur der brenzcatechinähnlichen Substanz.

Aus den mitgetheilten Analysen geht hervor, dass die nach verschiedenen Methoden möglichst rein dargestellte acetylrte Verbindung einen Gehalt von mehr als 5% Stickstoff aufweist. Aus dem Umstande, dass selbst bei stundenlangem Kochen mit verdünntem Alkali kein Stickstoff abgespalten wird, ergibt sich, dass derselbe unmöglich in einer CONH_2 -Bindung vorhanden sein kann.

Der vollkommen negative Ausfall der Hofmann'schen Isocyanür-Reaction, sowie das Misslingen der Versuche, die Substanz durch Behandlung mit salpetriger Säure in eine Diazo-

verbindung und diese durch Phenylendiamin u. dergl. in einen Farbstoff überzuführen, spricht gegen das Vorhandensein einer NH_2 -Gruppe.

Zur Prüfung der zuerst von Moore, dann von Abel geäußerten Vermuthung, dass es sich um ein Pyridinderivat handelt, unterwarf ich sowohl die Substanz als solche, als auch mehrere acetylrte Präparate theils der einfachen trockenen Destillation, theils der Destillation mit Zinkstaub im Wasserstoffstrome. Zu letzterem Zwecke mischte ich die Substanz mit Zinkstaub, der vorher im Wasserstoffstrome ausgeglüht worden war, und liess die Destillationsprodukte über eine Schicht von Bimssteinzink streichen. Im kälteren Theil des Rohres schlugen sich Tropfen eines gelben Oeles nieder, während die flüchtigeren Produkte in Wasser eingeleitet wurden: dieses nahm viel Pyrrol auf, das durch die Fichtenspahnreaction nachgewiesen werden konnte. Das Oel wurde in Alkohol gelöst; die gelbe, stark alkalische Lösung von charakteristischem Geruch enthielt gleichfalls viel Pyrrol: dieselbe wurde mit Salzsäure oder Schwefelsäure neutralisirt und unter wiederholtem Zusatz von Wasser so lange erhitzt, als noch der charakteristische Geruch bemerkbar war: dabei färbte sich die Flüssigkeit rosenroth und es kam zur Abscheidung von in Wasser und Alkohol unlöslichen Flocken (Pyrrolroth). Wurde die filtrirte geruchlose Flüssigkeit nunmehr mit Natronlauge alkalisch gemacht, so trat schon in der Kälte, stärker aber noch beim Erwärmen, ein intensiver, höchst charakteristischer Pyridingeruch auf. Die Flüssigkeit gab mit Jodquecksilberkalium und mit Phosphorwolframsäure unter Zusatz von Salzsäure reichliche Fällungen, ebenso mit Jodjodkalium und Quecksilberchlorid; mit Platinchlorid konnte ich nur in einem Falle bei grösserer Concentration einen gelben körnigen Niederschlag beobachten. Pikrinsäure gab keine Fällung. ¹⁾

¹⁾ Das gleiche Verhalten bei der Zinkstaubdestillation ergab ein in Wasser unlösliches Umwandlungsprodukt der eisengrünenden Substanz, das durch Extraction des zinkhaltigen Reductionsprodukts mit starkem, kochendem Alkohol entstanden war.

Es erscheint also der Nachweis geführt, dass die brenzocatechinähnliche Substanz bei der Zersetzung neben Pyrrol Pyridin liefert.¹⁾

Hiermit erscheint die Vermuthung Moore's bestätigt, für welche er selbst nur eine von Krukenberg an unzuverlässigem Material ausgeführte Analyse und die Beobachtung anführen konnte, dass Nebennierenextract mit Aetzkali Pyridin entwickelt, eine Beobachtung, deren Beweiskraft, wie Abel ausführt, insoferne unzureichend ist, als das Nebennierenextract Proteinstoffe enthalten haben konnte, welche selbst zur Pyridinbildung Anlass gaben.

Eine weitere Stütze findet der Befund darin, dass beim Kochen der eisengrünenden Substanz mit Natronlauge bei Gegenwart von Zinkstaub ein ausgesprochener Piperidingeruch auftritt.

Es fragt sich nun, inwieweit dieser Befund mit meinen sonstigen Ergebnissen übereinstimmt.

Wie bereits seiner Zeit von Fränkl hervorgehoben worden ist, kommt die Eisenreaction in der beschriebenen Art solchen Substanzen zu, die in einem ringförmigen Kerne an zwei unmittelbar benachbarten Kohlenstoffen Hydroxylgruppen tragen. Solchen Verbindungen ist auch die Eigenschaft gemeinsam, leicht durch Oxydation in dunkelgefärbte Produkte überzugehen. Darnach ist zu vermuthen, dass die fragliche Substanz das Derivat eines Dioxypyridins darstellt.

Bei der Schwierigkeit, die Substanz oder das Acetylprodukt in genügender Menge zu erhalten, bei ihrer Unkrystallisirbarkeit und Zersetzlichkeit, die das Trocknen bei höherer Temperatur verbot, ist von der Analyse eine Entscheidung dieser Frage nicht in der gewünschten Schärfe zu erwarten. Die oben einzeln angeführten Analysenzahlen, welche für Kohlenstoff Werthe von 51,52% bis 59,70%, für Stickstoff Werthe von 4,80% bis 6,20% ergeben, scheinen zu-

¹⁾ Das Auftreten eines Destillationsprodukts, das noch die Eisenreaction gab, habe ich bei den mit reinerem Material ausgeführten Versuchen nicht wieder zu beobachten vermocht.

nächst die Ableitung einer Formel geradezu auszuschliessen. Jedenfalls müsste eine aus so weit auseinander gehenden Werthen gezogene Mittelzahl auf schwere Bedenken stossen.

Dennoch lässt sich unter Berücksichtigung aller Umstände ein Urtheil über die muthmassliche Zusammensetzung der Substanz gewinnen.

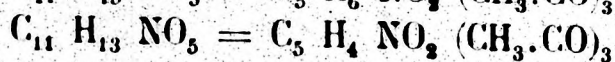
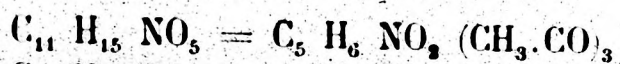
Zunächst ist zu beachten, dass die Analysen sich auf ein Acetylprodukt beziehen, das nachweisbar schon vom Wasser verseift wird, und da der Acetylgehalt (gegen 70% Essigsäure entsprechend) auf die Analysenzahlen einen geradezu massgebenden Einfluss ausübt, so können nur jene Präparate mit einander in Vergleich gebracht werden, in denen der Acetylgehalt bestimmt worden ist. Ferner haben nur jene Zahlen Anspruch auf Berücksichtigung, welche sich auf Präparate beziehen, die bei Verseifung noch die ursprüngliche Substanz mit ihren typischen Eigenschaften ergaben.

Diesen Bedingungen genügen nun die Präparate VII, XA β und XB: ihnen stehen noch die Präparate VIII und XA α so nahe, dass sie mit ihnen als identisch angesehen werden können, und die ich daher mit anführe:

Sonach ergibt sich als Ausdruck der verlässlichsten Analysen:

	VII	XA β	XB	VIII	XA α	Mittel
C	53.49 %	54.17 %	55.24	54.72	55.71	54.72
H	6.24 >	5.47 >	6.58	5.88	6.55	6.14
N	4.80 >	6.20 >	5.82	—	—	5.61
O	—	—	—	—	—	33.59
Abgespal- tene Essig- säure	67.97 >	64.43 >	69.60	—	—	67.33

Sonach kommen auf einen Stickstoff 11,2 Kohlenstoffe, 15,1 Wasserstoff, 5,3 Sauerstoff und 2,75 Acetylene, woraus sich die Formel



d. h. ein triacetylirtes Tetrahydrodioxypyridin (C₅H₉NO₂) oder Dihydrodioxypyridin (C₅H₇NO₂) ergibt.

Die Annahme, dass es sich um ein nicht hydrirtes Dioxypyridin handelt, wird durch die dreifache Acetylierung ausgeschlossen, da ein nicht hydrirtes Dioxypyridin nur zwei Acetyle zu binden vermöchte.

	Berechnet für C ₁₁ H ₁₅ NO ₅	für C ₁₁ H ₁₃ NO ₅	gefunden
C	54,77	55,23	54,66
H	6,22	5,44	6,14
N	5,81	5,86	5,71
O	33,20	33,47	33,59
Essigsäure aus Acetylgruppen	74,69	75,31	67,33

Wie man sieht, führt die Betrachtung der Eigenschaften der Substanz wie die Analyse zu dem gleichen Ergebniss der Annahme eines hydrirten Dioxypyridins.¹⁾

Solche hydrirte Dioxypyridine sind derzeit nicht bekannt, wohl aber drei Dioxypyridine, von denen die Stellung der Hydroxylgruppen nicht ermittelt zu sein scheint. Eines derselben, die Pyrokomenaminsäure²⁾ (Ost) gibt mit Eisenchlorid intensive Violettfärbung, ist leicht löslich in Alkalien, scheint aber keine krystallisirenden Salze zu geben.

Ein anderes von Königs und Geigy³⁾ dargestelltes und analysirtes Dioxypyridin löste sich mit gelber Farbe in Alkalien, gab mit Eisenchlorid eine braunrothe Färbung und bei Destillation

1) Auch die analytischen Resultate, zu denen Krukenberg seiner Zeit für die (nicht acetylrte) Substanz aus Nebennieren gelangte

I	C 40,83	H 9,10	N 9,33
II	—	—	8,80

werden durch diese Auffassung verständlich; diese Zahlen entsprechen annähernd der Formel C₅ H₁₃ NO₄, die sich wesentlich durch ihr Sauerstoffplus von jener eines hydrirten Dioxypyridins unterscheidet. Vermuthlich hat Krukenberg ein durch Oxydation oder Hydratation entstandenes Umwandlungsprodukt der ursprünglichen Substanz, wenn auch nicht in reinem Zustand, vorgelegen.

2) Ost, Journal f. prakt. Chemie, Bd. 27, S. 270.

3) Königs und Geigy, Ueber einige Derivate des Pyridins. Berliner Berichte. XVII, S. 1833.

mit Zinkstaub Pyridin: es gab Fällung mit Phosphorwolframsäure, basisch essigsauerm Blei und Quecksilberchlorid: mit Cadmiumchlorid entstand erst nach längerem Stehen ein Niederschlag. Silbernitrat gab eine Fällung, die sich beim Erwärmen dunkel färbte, Platinchlorid und Goldchlorid gaben keine Niederschläge. Die Substanz war löslich in Wasser und Alkohol, sehr wenig in Aether, kaum in Benzol, Ligroin und Chloroform. Die Aehnlichkeit dieser Reactionen mit jenen unserer Substanz ist unverkennbar.

Die physiologische Wirksamkeit der Nebennierensubstanz erscheint ferner verständlich im Hinblick auf die kürzlich erschienenen Arbeiten von Tunicliffe¹⁾ und Moore und Row,²⁾ welche fanden, dass hydrirte Pyridinderivate, wie Piperidin, Nicotin und Coniin, intravenös gegeben, gleich dem Nebennierenextract kräftig blutdrucksteigernd wirken, während dem Pyridin ein solches Vermögen abgeht.

Demgegenüber soll nicht verhehlt werden, dass die Zusammensetzung einiger analysirter Präparate mit den als wahrscheinlich ermittelten Formeln nicht übereinstimmt. Dieses Bedenken entfällt für das Präparat IV, weil es sich in seinen Eigenschaften bei der Verseifung als wesentlich verändert herausstellte. Für die Präparate II, VI und IX liegen allerdings solche auffällige Beweise von Unreinheit nicht vor. Es kann nur vermuthet werden, dass sie mit einer kohlenstoffreichen Substanz verunreinigt waren. Bei dem Fehlen der Acetylbestimmung jedoch konnten diese Analysen jedenfalls nicht den oben angeführten gleichgestellt werden und konnten daher auch für Berechnung der Formel nicht in Betracht kommen.

Indem ich die Auffassung der blutdrucksteigernden Substanz der Nebenniere als eines hydrirten Dioxypyridins mit der bei einer nicht krystallisirten Substanz gebotenen Reserve zum

1) Tunicliffe, Centralbl. f. Physiol 1897. S. 777.

2) B. Moore and R. Row, A comparison of the physiological action and chemical constitution of Piperidine, Coniine and Nicotine. From the Physiological Laboratory of University College, London. Journ. of Physiol. 1898.

Ausdruck bringe, halte ich meine Aufgabe nicht für erledigt. Chemische und physiologische Ueberlegungen drängen zu einer Weiterführung der Untersuchung, als deren Endziel die synthetische Darstellung hydrirter Dioxypyridine und die Untersuchung ihrer, wie es scheint, hervorragenden physiologischen Eigenschaften erscheint.

Strassburg, im Juli 1898.