

Ueber Oxydation von Eiweiss mit Kaliumpermanganat.

Von

Dr. Richard Bernert (Wien).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge. Nr. 14.)
(Der Redaction zugegangen am 4. October 1898.)

Maly¹⁾ hat bei seinen Untersuchungen über die Oxydation des Eiweiss mit Kaliumpermanganat zwei Körper erhalten, die Oxyprotosulfonsäure und die Peroxyprotosäure, die er als verschieden stark oxydirtes, sonst aber intactes Eiweiss auffasste. Bei der weiteren hydrolytischen Spaltung der Peroxyprotosäure mittelst Aetzbaryts erhielt er nebst anderen, schon bekannten Spaltungsprodukten einen einfach zusammengesetzten Körper, den er laut Analyse als das Barytsalz einer der Glycerinsäure isomeren Verbindung erklärte und als isoglycerinsauren Baryt bezeichnete.

Diese Verbindung, die wegen ihrer von Maly angenommenen Constitution namentlich in chemischer Beziehung grösstes Interesse beansprucht, bildete die Veranlassung zu den folgenden Untersuchungen. Indess gelang es mir nicht, trotz genauen Befolgens der von Maly angegebenen Versuchsanordnung, dieses Salz zu erhalten.

Wenn auch somit das ursprüngliche Ziel nicht erreicht wurde, so ergaben sich doch bei Wiederholung der Maly'schen Versuche mancherlei Thatsachen, die seine Angaben und Schlussfolgerungen zum Theil in verändertem Lichte erscheinen lassen und einer Wiedergabe nicht ganz unwerth sein dürften.

1) R. Maly: Untersuchungen über die Oxydation von Eiweiss mit Kaliumpermanganat, I. u. II. Sitzungsberichte d. k. Akad. d. Wissenschaften in Wien. II. Februarheft 1885, und Sitzungsberichte d. k. Akad. d. Wissenschaften in Wien, 97. Abth. IIb (od. Monatsh. f. Chem., Bd. 6 u. 9).

1. Oxyprotosulfonsäure.

Die ersten Angaben über einen der Oxyprotosulfonsäure ähnlichen Körper finden sich bei Béchamp¹⁾, der bei Oxydation von Eiweiss mit übermangansaurem Kalium in dem klaren Filtrate vom Braunstein eine durch Säure fällbare, in Wasser unlösliche Substanz beobachtete, die bei weiterer intensiver Oxydation sich in eine lösliche Modification verwandelte, welche beim scharfen Erhitzen immer noch einen Geruch nach verbranntem Horn entwickelte.

Von Lossen²⁾ wird Aehnliches über eine durch Säure fällbare Substanz angegeben, deren Eigenschaften er als übereinstimmend mit dem von Schützenberger³⁾ dargestellten Hemiprotein bezeichnet.

Pott⁴⁾ fand bei der Oxydation von Conglutin mit Kaliumpermanganat ebenfalls im Filtrate vom Manganniederschlage einen auf Säurezusatz caseinähnlich ausfallenden Körper mit folgenden Eigenschaften: Er war nur theilweise löslich in warmem Wasser, ebenso in warmer Salz- und Salpetersäure, aus welchen er sich beim Erkalten wieder ausschied. Leicht löste er sich dagegen in warmer Essigsäure, während er in starkem Alkohol unlöslich blieb. Die Lösung gab mit Ferrocyankalium keinen Niederschlag, wie auch keine Millon'sche Reaction: wohl aber fiel die Biuretprobe positiv aus. Der Elementaranalyse nach war er «ein noch wenig oxydirtes Eiweiss, das allerdings in seinen Reactionen ein schon verändertes Verhalten zeigt».

Brücke⁵⁾ beobachtete bei der Oxydation von Hühner-

1) Béchamp, Essai sur les substances albuminoïdes et sur leur transformation en urée. Thèse. Strasbourg 1856.

2) Lossen, Guanidin, ein Oxydationsprodukt des Eiweisses. — Liebig's Annal. f. Ch. u. Ph., 201.

3) Schützenberger, Recherches sur l'albumine et les matières albuminoïdes. — Bull. de la Soc. chim., 23, 24.

4) Pott: «Oxydationsversuche mit übermangansaurem Kalium auf Conglutin». — Journal f. pract. Chem., N. F. 5.

5) E. Brücke, Ueber eine durch Kaliumpermanganat erhaltene stickstoffhaltige Säure. Monatsh. f. Chem., Bd. V.

eiweiss eine durch Essigsäure fällbare stickstoff- und schwefelhaltige Säure, die in Alkalien und starken Säuren löslich war und aus letzteren durch Wasser niedergeschlagen werden konnte. Er wies nach, dass dieser Säure die für Eiweiss charakteristischen Xanthoprotein-, Millon'sche und Adamkiewicz'sche Reactionen fehlten, und dass beim Kochen mit essigsauerm Blei und Alkali kein leicht abspaltbarer Schwefel nachweisbar war. Jedoch war Biuretreaction vorhanden. Ferner wurde sie in schwach saurer oder neutraler Lösung von Metallsalzen gefällt.

O. Löw¹⁾ fand gleichfalls bei der Oxydation von Hühner-eiweiss mit Kaliumpermanganat im Filtrate vom Manganniederschlage einen durch verdünnte Salpetersäure fällbaren Körper, der stickstoffreich war, beim Verbrennen nach verkohltem Horne roch, nicht die Millon'sche, wohl aber die Biuretreaction gab: er enthielt Schwefel, der jedoch nicht durch Kochen mit Kalilauge als Schwefelwasserstoff abgespalten wurde. Löw war der Ansicht, dass ein Gemenge vorliege, da er die Substanz in einen bereits durch Essigsäure fällbaren und in einen erst durch verdünnte Schwefelsäure fällbaren Theil trennen konnte. Nach Zersetzung mit Salzsäure erhielt er eine leucin-ähnliche Ausscheidung, die aber nach dem Metallgehalte ihrer Kupferverbindung als Amidovaleriansäure bezeichnet wurde.

Im Anschluss an die Arbeit Brücke's begann Maly seine Untersuchungen über die Oxyprotosulfonsäure. Er erhielt sie aus Eieralbumin, Serumalbumin, Fibrin, Casein, Conglutin, angeblich mit übereinstimmenden Eigenschaften, so dass er die aus diesen verschiedenen Körpern erhaltenen Oxyprotosulfonsäuren für identisch hielt.

Dem stehen aber gegenüber die etwas abweichenden Angaben von Pott l. c. über die Löslichkeit der von ihm bei der Oxydation von Conglutin gefundenen Substanz in Säuren und die späteren Beobachtungen von Bondzynski und Zoja²⁾. Diese Untersucher konnten zwar bei der Analyse der aus

1) O. Löw, Eiweiss und Oxydation desselben. Journaf. f. pract. Chem., N. F., 31. 32.

2) Bondzynski u. Zoja, Oxydation der Eiweissstoffe mit Kaliumpermanganat. Diese Zeitschr., Bd. XIX.

krystallisirtem Eieralbumin erhaltenen Oxyprotosulfonsäure die Angaben Maly's bestätigen: die Oxydation von Hämoglobin lieferte jedoch bereits Substanzen mit geringen Abweichungen im Verhalten gegen Säuren und im Kohlenstoffgehalt. Bei Casein, das so behandelt wurde, resultirte ferner ein Produkt, das aus zwei Fractionen mit abnehmendem C-, H- und S-Gehalte bestand.

In Folge dessen kann die Identität der aus den einzelnen Eiweisskörpern erhaltenen Oxyprotosulfonsäuren nicht ohne Weiteres angenommen werden.

Darstellung und Verhalten der Oxyprotosulfonsäure.

Zur Darstellung der Oxyprotosulfonsäure wurden nach Angabe von Maly 4 kg. kühliches Hühnereweiss in der Weise oxydirt, dass je 300 gr. in der nöthigen Menge Wasser gelöst und mit einer concentrirten wässerigen Lösung von 170 gr. Kaliumpermanganat unter Umrühren versetzt wurden. Das Gemisch wurde sehr bald dickflüssig und erstarrte nach 1 Stunde zu einer fast schwarzen, gallertigen Masse. Bei diesem Vorgange konnte eine Temperaturerhöhung um 12—16° beobachtet werden, was auch von Löw l. c. angegeben wird. Ausserdem trat nach einiger Zeit Entwicklung von nicht unerheblichen Mengen Ammoniaks auf. Nach 4 Tagen hatte sich eine gelbgefärbte, klare Flüssigkeit über der Gallerte ausgeschieden. Diese wurde abfiltrirt, der Rückstand wiederholt mit warmem Wasser decantirt und schliesslich abgesaugt.

Aus den vereinigten klaren Filtraten wurde die Oxyprotosulfonsäure mit verdünnter Schwefelsäure ausgefällt. Die klare, schwach gelb gefärbte Flüssigkeit wurde abgehoben, der Niederschlag wiederholt decantirt und schliesslich auf dem Filter säurefrei gewaschen.

In feuchtem Zustande ist die Oxyprotosulfonsäure gelblichweiss, voluminös, beim Trocknen schrumpft sie stark zusammen und nimmt eine mehr gelbe Farbe an. Durch Zerreiben, was in trockenem Zustande sehr leicht geht, erhält man ein beinahe weisses, nicht hygroskopisches Pulver.

Wie auch Maly angibt, ist sie fast unlöslich in Wasser; in starken Mineralsäuren löst sie sich in frisch gefälltem Zustande leicht; ebenso in Alkalien und Ammoniak. Aus ihren Lösungen in Alkali wird sie durch Aussalzen mit neutralen Salzen der Mineralsäuren gefällt. Beim Erhitzen auf dem Platinbleche entwickelt sie den typischen Geruch nach verbranntem Horn.

Da von Maly die Oxyprotosulfonsäure als eine einheitliche, dem Eiweiss sehr nahestehende Verbindung aufgefasst wird, so wurde ihr Verhalten gegen Ammonsulfat untersucht, durch welches sie, wie bereits erwähnt, aus schwach alkalischer Lösung gefällt wird.

Frisch dargestellte und säurefrei gewaschene Oxyprotosulfonsäure wurde in Ammoniak unter Vermeidung eines Ueberschusses gelöst, neuerdings mit Schwefelsäure gefällt und gewaschen. Das Auflösen und Fällern wurde noch dreimal wiederholt. Das so gereinigte Produkt wurde nun in Wasser unter vorsichtigem Zusatz von Ammoniak gelöst und sodann zur Bestimmung der Fällungsgrenze mit einer kalt gesättigten Ammonsulfatlösung benutzt.

Der Vorgang hierbei war der jetzt gebräuchliche,¹⁾ so dass eine nähere Beschreibung desselben wohl überflüssig erscheint, wie auch von der Mittheilung ausführlicher Versuchsprotokolle Abstand genommen werden kann.

Dabei ergab sich, dass die erste Trübung auftrat bei einem Salzgehalte, der 2,8 cem. gesättigter Ammonsulfatlösung in 10 cem. Gesamttlüssigkeit entspricht, also hier die untere Fällungsgrenze liegt, während die obere bei 4,2 cem. gefunden wurde, d. h. die Oxyprotosulfonsäure erfordert 4,2 cem. gesättigter Ammonsulfatlösung in 10 cem. Gesamtlösung zur Ausfällung der ersten Fraction.

Da im Filtrate von der mit 5 cem. Ammonsulfatlösung versetzten Probe auf Zusatz von Salzlösung noch Fällung auftrat, so wurde in 50 cem. der ursprünglichen Lösung mit gleichem Volumen Ammonsulfat die erste Fraction ausgefällt, abfiltrirt und das Filtrat sodann in gleicher Weise untersucht.

Zum Entstehen einer Fällung war hier auf 2 cem. Filtrat ein Zusatz von 3,8 cem. Ammonsulfatlösung erforderlich, vollständig wurde die Ausfällung bei 5,4 cem. Salzlösung (Gesamtvolumen stets = 10 cem.).

Es entspricht daher die untere Fällungsgrenze einem Zusatze von 4,8 cem. Ammonsulfatlösung auf 10 cem. Ge-

1) Vergl. E. P. Pick. Diese Zeitschrift. Bd. XXIV.

samtvolumen, die obere einem Zusatz von 6,4 ccm. Die zweite Fraction der Oxyprot-sulfonsäure fällt also aus einer schwach ammoniakalischen Lösung bei einem Salzgehalte, der ungefähr einer $\frac{2}{3}$ -Sättigung mit Ammonsulfat entspricht.

Zum Vergleiche mögen einige Fällungsgrenzen angeführt werden, wie sie von Pick¹⁾ für die Albumosen im Witte'schen Pepton und von Umber²⁾ für die in der Verdauungsflüssigkeit von krystallisirtem Eieralbumin, krystallisirtem Serumalbumin und Serumglobulin gefunden wurden.

	Witte-Pepton	Serum- albumin	Eier- albumin	Serum- globulin	Oxyprot- sulfonsäure
Primäre Albumosen u. I. Fraction der Oxyprot- sulfonsäure	2,6—4,4	4,2—4,6	3,6—4,6	3,8—4,6	2,8—4,2
Secundäre Albumose A u. II. Fraction der Oxyprot- sulfonsäure	5,4—6,2	5,4—6,2	5,6—6,0	5,6—7,2	4,8—6,4
Secundäre Albumose B	7,2—9,5	7,2—8,0	7,0—7,8	7,8—8,6	—

Beim Vergleichen der Fällungsgrenzen dieser Albumosen mit denen der beiden Fractionen der Oxyprot-sulfonsäure ergibt sich eine beachtenswerthe, im Hinblick auf die ganz ungleiche Löslichkeit in Wasser nicht erwartete Übereinstimmung. Es entspricht in ihrem Verhalten gegen Salzlösung die erste Fraction der Oxyprot-sulfonsäure den primären, die zweite mehr den secundären Albumosen (A).

1) Pick. Untersuchungen über die Proteinstoffe. Ein neues Verfahren zur Trennung von Albumosen und Peptonen. Diese Zeitschr., Bd. XXIV.

2) Umber. Spaltung von krystallisirtem Eier- und Serumalbumin durch Pepsinverdauung. Diese Zeitschr., Bd. XXV.

Beide Fractionen sind weisse flockige Niederschläge, die getrocknet sich leicht zu einem fast weissen Pulver verreiben lassen. Sie sind in Wasser sehr leicht löslich und durch Alkohol nicht daraus fällbar: wohl aber geben sie mit Essigsäure einen Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst bis auf einen kleinen Theil, welcher in schweren Flocken zu Boden sinkt. Beim Abkühlen tritt wieder dichte Abscheidung auf. Salpetersäure, sowie Ferrocyankalium und Essigsäure erzeugen dichte Niederschläge, die sich beim Erwärmen lösen, beim Abkühlen wieder erscheinen. Die Reaction mit α -Naphthol und concentrirter Schwefelsäure ist sehr intensiv, während die Xanthoproteinsäurereaction, sowie die von Millon und Adamkiewicz fehlen. Ebenso bildet sich beim Kochen mit Lauge und Bleiacetat kein Schwefelblei.

In Betreff der Quantität beider Fractionen ist zu bemerken, dass der bei Weitem grösste Antheil auf die erste fällt, während die Menge der zweiten im Verhältniss zur ersten als eine nur sehr geringe bezeichnet werden muss.

Der in heisser Essigsäure unlösliche Rückstand wurde soweit als möglich noch in seinem Verhalten gegen verschiedene Reagentien untersucht, doch war seine Menge sehr gering.

Er verbrannte auf dem Platinbleche mit dem für Eiweiss charakteristischem Geruche; Millon'sche und Xanthoproteinsäurereaction fielen negativ aus. Er erwies sich als unlöslich in Säuren, auch beim Erwärmen, löste sich dagegen leicht in Ammoniak und Alkalien. Locker gebundener Schwefel konnte durch Kochen der mit etwas essigsäurem Blei versetzten alkalischen Lösung nicht nachgewiesen werden.

Die Unlöslichkeit in Säuren spricht gegen eine Albumosennatur, während die Löslichkeit in Ammoniak wieder einen histonartigen Körper ausschliesst.

Aus dem Mitgetheilten ergibt sich, dass Maly's Oxyprot-sulfonsäure kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von mindestens zwei, wengleich einander nahestehenden Substanzen darstellt.

Es liegt die Frage nahe, ob das Auftreten von zwei Oxyprot-sulfonsäuren nicht daraus zu erklären ist, dass das rohe Eiweiss selbst ein Gemenge von mindestens drei Eiweiss-

körpern, Albumin, Globulin und Mucoid, darstellt. Es konnte sich aber auch um das Auftreten von zwei aus einander entstehenden Oxydationsstufen handeln. Um Anhaltspunkte zur Beurtheilung der zweiten Möglichkeit zu gewinnen, wurde Oxyprotosulfonsäure aus reinem einheitlichen Eiweiss — aus krystallisirtem Serumalbumin — dargestellt und der Fractionirung unterworfen.

Das krystallisirte Serumalbumin wurde nach dem Gürber'schen Verfahren gewonnen, mehrmals umkrystallisirt und mit Kaliumpermanganat oxydirt. Die erhaltene Oxyprotosulfonsäure wurde wiederholt gelöst, gefällt und schliesslich in schwach ammoniakalischer Lösung auf ihre Fällungsgrenzen untersucht.

Die untere Fällungsgrenze ergab sich nach dieser Versuchsreihe bei 3,4 ccm. Ammonsulfatlösung; die entstandene Trübung verstärkt sich allmählich, bis von 5,2 ccm. an die Fällung anscheinend gleichbleibt. In den Filtraten der Proben zeigte sich auf Zusatz von 0,2—0,4 ccm. Ammonsulfat überhaupt keine Trübung, während bei stärkerem Zusatz erst von 6,2 ccm. an die Filtrate klar blieben.

Eine zweite Fraction konnte in diesem Falle nicht aufgefunden werden. Durch diesen Befund erhält die Vermuthung, dass aus einem einheitlichen Eiweisskörper nur eine Oxyprotosulfonsäure entsteht, eine gewisse Stütze.

Spaltung der Oxyprotosulfonsäure mit Salzsäure. Um Aufschluss über die Spaltungsprodukte der Oxyprotosulfonsäure zu erhalten, wurde die Zersetzung der Fraction I mit Salzsäure vorgenommen.

Ein Theil der erhaltenen Substanz wurde in einem mit Steigrohr versehenen Kolben mit concentrirter Salzsäure auf dem Wasserbade bis zum Verschwinden der Biuretreaction erhitzt, was ungefähr 8 Stunden erforderte. Die braune Flüssigkeit, in der sich ein flockiger schwärzlicher Niederschlag in geringer Menge ausgeschieden hatte, wurde mittelst Durchleitens von heissen Wasserdämpfen so weit als möglich von Salzsäure befreit.

Der flockige Niederschlag zeigte die Beschaffenheit der Melanoidinsäure Schmiedeberg's¹⁾ und konnte auch nach

1) Schmiedeberg, Elementarformeln einiger Eiweisskörper und Melanine. Arch. f. exp. Path., Bd. 39.

dem von diesem Autor angegebenen Verfahren in die beschriebene Kupferverbindung übergeführt werden.

Nach dem Abfiltriren der Melanoidinsäure wurde aus der klaren Flüssigkeit das noch vorhandene Chlor mit essigsäurem Silber entfernt. Der Silberniederschlag wurde auf etwa vorhandene Glutaminsäure untersucht, jedoch ohne Erfolg.

Das vom Silber befreite Filtrat schied eingeengt beim Erkalten eine braunefärbte Masse aus, die mikroskopisch Leucinkugeln erkennen liess. Durch Behandeln mit verdünntem und mit ammoniakalischem Alkohol konnte aus derselben reines Leucin gewonnen werden.

Eine Probe der von dieser braunen, meist aus Leucin bestehenden Ausscheidung getrennten Flüssigkeit gab, mit Kupfercarbonat erwärmt, eine dunkelblaue Lösung, was auf die Anwesenheit weiterer Amidosäuren hinwies. Da jedoch beim Einengen nur ein nicht krystallisirender Syrup zurückblieb, wurde das ganze Filtrat vorerst mit Quecksilberacetat gefällt. Der Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, mittelst Luftdurchleitens der Schwefelwasserstoff vertrieben und das Filtrat neuerlich mit Kupfercarbonat gekocht. Die blaue Lösung zeigte nach dem Einengen, wenn auch nur in geringer Menge, die typischen hellblauen Garben von feinsten Nadelchen, die für das asparaginsaure Kupfer charakteristisch sind. Durch Behandeln mit Alkohol konnte es von der Mutterlauge getrennt und aus wenig kochendem Wasser umkrystallisirt werden.

Das Filtrat vom Quecksilberacetatniederschlage wurde mit salpetersäurem Quecksilber gefällt und dieser Niederschlag in gleicher Weise behandelt. Die blaue Kupferlösung schied beim Einengen blaugrüne krystallinische Massen aus. Trotz wiederholter Behandlung der letzteren mit Alkohol und Versuchen sie umzukrystallisiren, konnte nicht mit Sicherheit glutaminsaures Kupfer in seiner typischen Krystallform nachgewiesen werden.

Das Filtrat vom salpetersäuren Quecksilberniederschlage ergab mit Phosphorwolframsäure einen reichlichen Niederschlag. Es waren somit die basischen Spaltungsprodukte der

Eiweisskörper vorhanden. Siegfried¹⁾ vermochte bereits bei der Spaltung der Oxyprotosulfonsäure mit Salzsäure sowohl Lysin als auch die salzsaure Verbindung einer Base von der Zusammensetzung $C_{11}H_{20}N_6O_6, 2 HCl$ nachzuweisen.

Beachtenswerth ist das Fehlen des Tyrosins, welches sich sonst bei der angegebenen Behandlung der Spaltungsprodukte mit Leichtigkeit in der vom Chlor befreiten Flüssigkeit, viel leichter als Leucin und Asparaginsäure, auffinden lässt. Damit steht auch das Fehlen der Millon'schen Reaction in Uebereinstimmung. Der Tyrosin liefernde aromatische Complex des Eiweisses erfährt sonach schon in dem ersten Stadium der Oxydation, bei Bildung der Oxyprotosulfonsäure; eine tiefgreifende Veränderung.

2. Produkte im Filtrate von der Oxyprotosulfonsäure.

a) Albumosen und Peptone.

Geht man von Maly's Vorstellung aus, dass die Oxydation von Eiweiss zu Oxyprotosulfon- und Peroxyprotosäure sich ohne Spaltung des Moleküls vollzieht, so kann man nicht auf das Auftreten irgend erheblicher Mengen von Nebenprodukten rechnen. Der Versuch lehrt aber das Gegentheil. Die Mutterlauge, aus denen die Oxyprotosulfonsäure zur Abscheidung gebracht wird, enthalten stets sehr erhebliche Mengen von Produkten, die sich ihren Eigenschaften nach den Albumosen und Peptonen anschliessen und somit als Spaltungsprodukte des Eiweisses angesehen werden müssen.

Die oxydative Spaltung des Eiweisses in alkalischer Lösung hat in dieser Richtung nichts voraus vor der Spaltung durch Säuren oder Verdauungsfermente. Von Anfang an entstehen neben den der ursprünglichen Substanz näher stehenden, leicht fällbaren und ausgesprochen colloidalen Produkten (primären Spaltungsprodukten) solche, welche durch das Zurück-

¹⁾ Siegfried. Zur Kenntniss der Spaltungsprodukte der Eiweisskörper. Ber. d. deutschen chem. Gesellschaft. XXIV.

treten der colloidalen Eigenschaften auf einfacheren Bau und geringeres Molekulargewicht schliessen lassen.¹⁾

Nach dem Ausfällen der Oxyprotosulfonsäure wurden die Filtrate, deren Menge ungefähr gegen 100 Liter betrug, mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und bis auf 4—5 Liter eingengt. Nachdem sich durch Stehen im Kühlschranks der grösste Theil des gebildeten schwefelsauren Kaliums ausgeschieden hatte, wurde die Flüssigkeit von dem Krystallbrei abgesaugt.

Um nun etwaige durch Salz fällbare Produkte abzuscheiden, wurde die fractionirte Fällung mit Ammonsulfat vorgenommen.

Das braungelbe Filtrat, mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, schied eine dunkelbraune, flockige Masse ab, die an den Wänden und dem Glasstabe haften blieb = Fraction A.

Das Filtrat davon wurde mit gepulvertem Ammonsulfat bis zur Sättigung versetzt und einige Stunden im Sandbade bei 30—40° stehen gelassen. Der dadurch entstandene flockige Niederschlag war von demselben Aussehen und der gleichen Beschaffenheit wie der früher erhaltene = Fraction B.

Da in der von dieser Fraction getrennten Flüssigkeit auf Säurezusatz noch ein Niederschlag entstand, wurde sie mit salzgesättigter $\frac{1}{10}$ Normal-Schwefelsäure versetzt, bis in einer filtrirten Probe auf weitere Zugabe von Säure keine Trübung mehr sich zeigte. Auch dieser Niederschlag = Fraction C bot das gleiche Aussehen wie die früheren.

Durch wiederholtes Lösen in Wasser und Fällen mit Ammonsulfat wurden A und B gereinigt.

Bei genauer fractionirter Fällung mit Ammonsulfat zeigte es sich aber, dass die beiden Fractionen A und B nicht einheitlich waren. Denn wurde die wässrige Lösung von A mit genau gleichem Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt: so gab das Filtrat von dem gebildeten Niederschlag A 1 auf weiteren Salzzusatz noch Fällung, die zunahm, bis

¹⁾ F. Goldschmidt, Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Dissertation. Strassburg 1898.

die Flüssigkeit bis zu zwei Dritteln mit Salz gesättigt war A 2.

Ebenso liessen sich aus der wässrigen Lösung von B zwei Fractionen fällen, von denen die erste schon bei einem Sättigungsgrade von zwei Dritteln ausfiel = B 1, die zweite erst bei vollkommener Salzsättigung = B 2.

Es wurden nun nach der früher angegebenen Methode die Fällungsgrenzen der einzelnen Fractionen bestimmt.

Durch Auflösen von 2 gr. der lufttrockenen und zwischen Filtrirpapier abgepressten Fraction A 1 in 40 gr. Wasser wurde eine ungefähr 5%ige, schwach alkalische Lösung hergestellt und mit steigenden Mengen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt.

Tabelle A.

5%ige Lösung der Fraction A1	Wasser	Salz	Salzfällung	Verhalten des Filtrates gegen 0,2—0,4 ccm. Ammonsulfat	
ccm.	ccm.	ccm.			
2	5	3	—	—	
2	4,8	3,2	leichte Opalescenz	—) Untere Fällungsgrenze
2	4,6	3,4	Opalescenz	—	
2	4,4	3,6	Trübung	Opalescenz	
2	4,2	3,8	"	—	
2	4,0	4,0	"	Trübung	
2	3,8	4,2	"	"	
2	3,6	4,4	Fällung	"	
2	3,4	4,6	"	"	
2	3,2	4,8	"	Opalescenz	
2	3,0	5,0	"	klar) Obere Fällungsgrenze
2	2,8	5,2	"	"	
2	2,6	5,4	"	"	

Als Fällungsgrenze wurden somit ermittelt 3,2 ccm. für die untere, und 5,0 ccm. für die obere. Es sind also auf 10 Gesamtvolumen 5,0 Volumina Salzlösung zur Ausfällung erforderlich.

In gleicher Weise wurden 5%ige Lösungen von A 2 und B 1 bei schwach alkalischer Reaction geprüft.

Tabelle B.

5%ige Lösung der Fraction A2 ccm.	Wasser ccm.	Salz ccm.	Salzfällung	Verhalten des Filtrates gegen 0,2—0,4 ccm. Ammonsulfat	
2	3,8	4,2	—	—	} Untere Fällungsgrenze.
2	3,6	4,4	leichte Opalescenz	—	
2	3,4	4,6	>	—	
2	3,2	4,8	Opalescenz	Trübung	
2	3,0	5,0	>	>	
2	2,8	5,2	Trübung	>	
2	2,6	5,4	>	>	
2	2,4	5,6	Fällung	>	
2	2,2	5,8	>	>	
2	2,0	6,0	>	Opalescenz	
2	1,8	6,2	>	>	
2	1,6	6,4	>	leichte Opalescenz	
2	1,4	6,6	>	klar	

Tabelle C.

5%ige Lösung der Fraction B1 ccm.	Wasser ccm.	Salz ccm.	Salzfällung	Verhalten des Filtrates gegen 0,2—0,4 ccm. Ammonsulfat	
2	3,2	4,8	—	—	} Untere Fällungsgrenze.
2	3,0	5,0	leichte Opalescenz	—	
2	2,8	5,2	Opalescenz	Trübung	
2	2,6	5,4	>	>	
2	2,4	5,6	Trübung	>	
2	2,2	5,8	starke Trübung	>	
2	2,0	6,0	>	Opalescenz	} Obere Fällungsgrenze.
2	1,8	6,2	>	leichte Opalescenz	
2	1,6	6,4	>	klar	

Die Fällung der Fraction A2 beginnt bereits auf Zusatz von 4,4 ccm. Ammonsulfatlösung mit einer leichten Opalescenz, die von 5,6 ccm. an zum Niederschlag wird. Ausgefällt ist sie bei Zusatz von 6,6 ccm. Salzlösung. Die Fraction B1 beginnt zu fallen bei 5 ccm. und ist ausgefällt bei 6,4 ccm.

Zur Abscheidung dieser beiden Fractionen ist daher ein Zusatz von 6.5 Volumina gesättigter Ammonsulfatlösung nöthig. Wegen des übereinstimmenden Verhaltens bei der oberen Grenze der Salzfallung sind sie als identisch anzusehen.

Von einer 5%igen Lösung der ursprünglich erhaltenen Fraction B wurden 40 ccm. mit 60 ccm. gesättigter Ammonsulfatlösung zur Ausfällung von B1 versetzt und sodann mit je 2 ccm. des Filtrates die Proben angestellt.

Tabelle D.

gesättigtes Filtrat der Fraction B ccm.	Wasser ccm.	Salz ccm.	Salzfallung	Verhalten des Filtrates gegen Sättigung mit gepulvertem Ammonsulfat	
2	4.0	4.0	—	—	
2	3.8	4.2	—	—	
2	3.6	4.4	—	—	
2	3.4	4.6	—	—	
2	3.2	4.8	—	—	
2	3.0	5.0	lichte Opalescenz	—	f Untere Fällungsgrenze.
2	2.8	5.2	»	—	
2	2.6	5.4	Opalescenz	Trübung	
2	2.4	5.6	Trübung		
2	2.2	5.8	»		
2	1.8	6.0	»		
2	1.6	6.2	»	Opalescenz	
2	1.4	6.4	»	klar	f Obere Fällungsgrenze.

Der Beginn der Trübung zeigt sich bei 5 ccm. (also bereits bei einem Salzgehalte von 6.2 ccm. Ammonsulfatlösung in 10 Gesamtlüssigkeit). Im Filtrate bei 6.4 ccm. entsteht auf Sättigung mit Ammonsulfat keine Trübung mehr. Es folgt demnach, dass durch Sättigung mit Salz die Fraction B2 vollkommen abgeschieden werden kann.

Die durch salzgesättigte Säure fällbare Fraction C wurde nicht weiter in dieser Hinsicht untersucht.

Die so erhaltenen Fällungsgrenzen der ersten drei Fractionen sind annähernd die gleichen, wie sie Umber l. c. für die Verdauungsprodukte des krystallisirten Eieralbumins gefunden hat, und zeigen auch gegen die von Pick l. c. für das Witte-Pepton bestimmten nur geringe Abweichungen. Sie sollen

Reagens	Primäre Albumose	Secundäre Albumose A	Secundäre Albumose B	Secundäre Albumose C	Pepton A	Pepton B
Alkohol 96% (bei schwach saurer R.)	keine Trübung	keine Trübung	schwache Opalescenz	Opalescenz, die auch beim Erhitzen bleibt	fällt im Ueberschuss	keine Trübung
Salpetersäure in der Kälte	eine Trübung, die bei Sättigung mit Kochsalz auftritt und beim Erhitzen sich löst	Trübung erst bei Sättigung mit Kochsalz	schwache Trübung bei Sättigung mit Kochsalz	sehr schwache Trübung nach Kochsalzsättigung	keine Trübung	keine Trübung
Gleiches Volumen conc. Kochsalzlösung u. dann Essigsäure	eine beim Erhitzen lösliche Trübung	eine beim Erhitzen lösliche Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung
Aussalzen mit Kochsalz in neutraler Lösung	eine Trübung, die sich auf Essigsäure vermehrt	schwache Trübung	schwache Trübung	sehr schwache Trübung	keine Trübung	keine Trübung
Verdünnte Kupfervitriollösung	geringe Fällung	geringe Fällung	Trübung	äußerst schwache Trübung	keine Trübung	keine Trübung
Ferrocyankalium und Essigsäure	Trübung, die beim Erhitzen sich löst, beim Abkühlen wiederkehrt	Trübung, die beim Erhitzen sich löst, beim Abkühlen wiederkehrt	Trübung, die beim Erhitzen sich löst, beim Abkühlen wiederkehrt	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung
Pikrinsäure im Ueberschuss	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung
Metaphosphorsäure	schwache Trübung	Fällung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung

Reagens	Primäre Albumose	Secundäre Albumose A	Secundäre Albumose B	Secundäre Albumose C	Pepton A	Pepton B
Trichloressigsäure	dichter Niederschlag	dichter Niederschlag	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung	keine Trübung
Gerbsäure	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung, die beim Erhitzen sich sehr leicht löst u. beim Abkühlen wiederkehrt	Fällung, die beim Erhitzen sich sehr leicht löst u. beim Abkühlen wiederkehrt
Jodquecksilberkalium u. Salzsäure	Fällung	Fällung	Fällung	Fällung	ganz schwache Trübung, die sich beim Erwärmen löst	keine Trübung
Millon'sche Reaction	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
Xanthoproteinsäure- Reaction	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
Adamkiewicz'sche Reaction	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
Molisch's Reaction	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
Biuretreaction mit Kupfersulfat	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
Biuretreaction mit Nickelsulfat	gelbe Färbung	gelbe Färbung	gelbe Färbung	gelbe Färbung	gelbe Färbung	schwach gelbe Färbung
Leicht abspaltbarer Schwefel (Kochen mit Bleiacetat und Lauge)	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ

auch im Folgenden vorläufig in gleicher Weise bezeichnet werden und zwar:

Die Fraction A 1, als der Protalbumose entsprechend, als primäre Albumose,

A 2 und B 1 als secundäre Albumose A,	
B 2	B,
C	C.

Zur Isolirung der Peptone wurde ein Theil des Filtrates von der secundären Albumose C, in welchem sich auch, dem intensiven Geruche nach, freie Fettsäuren befanden, stark eingeengt, vom auskrystallisirten Ammonsulfat abgesaugt und letzteres noch mit stark ammoniakalischem Alkohol extrahirt. Die beiden vereinigten und eingeengten Filtrate wurden unter Zusatz von Ammoniak mit Alkohol (96^o/_o) gefällt, um das Ammonsulfat möglichst zu entfernen, was einige Male, nachdem die abgesaugte Flüssigkeit immer wieder zur Trockne eingedampft worden war, wiederholt werden musste. Die letzten alkoholischen Auszüge wurden auf dem Wasserbade eingeengt und aus dem zurückgebliebenen Syrup das Pepton A gefällt. Nach dem Eindampfen des Filtrates zur Trockne blieb das Pepton B, das in Alkohol löslich ist, zurück.

Beide Peptone stellen braungefärbte, krümelige Massen dar, welche erst nach langem Trocknen sich zu einem gelben Pulver verreiben liessen, das jedoch wegen seiner hygroskopischen Eigenschaft sehr bald wieder zusammenbackte.

Auf Seite 286 und 287 ist das Verhalten dieser Albumosen und Peptone gegen verschiedene Reagentien in tabellarischer Zusammenstellung ersichtlich gemacht.

Beide Peptone geben mit Bromwasser einen gelben, geringfügigen Niederschlag, jedoch keinen violett gefärbten Körper.

Eine weitere Prüfung der Peptone in Bezug auf ihr Verhalten gegen einige Alkaloidreagentien ergab folgende Resultate:

Jodjodkalium erzeugte nur beim Pepton A, und auch da erst auf Zusatz von Ammonsulfat, einen Niederschlag. Kaliumquecksilberjodid und Salzsäure bewirkten gleichfalls nur beim Pepton A eine ganz schwache, beim Erwärmen verschwindende Trübung. Kaliumwismuthjodid erzeugte überhaupt keine Trübung in den Peptonlösungen.

Bei allen diesen Albumosen und Peptonen konnte weder mit Millon's Reagens die Oxyphenylgruppe noch der leicht abspaltbare Schwefel nachgewiesen werden. Dagegen fiel bei allen, mit Ausnahme des Peptons B, die Prüfung auf die Kohlehydratgruppe mit der Molisch'schen Reaction positiv aus.

Auffallend ist, dass Pikrinsäure bei keiner der Albumosen eine Fällung erzeugt, während sie doch als ein sehr empfindliches Reagens auf Basen und auch aromatische Kohlenwasserstoffe gilt.

Bei der Kalischmelze der Oxyprotsulfonsäure konnten, wie auch Maly anführt, kein Skatol oder Indol, sondern nur Pyrrol, und nach dem Ansäuern der Schmelze freie Fettsäuren nachgewiesen werden. Das gleiche Verhalten boten auch die Albumosen und Peptone, jedoch mit dem Unterschiede, dass dabei ein Geruch auftritt, der an Pyridin erinnerte. Pyrrolreactionen fehlten.

Wie aus dem Mitgetheilten hervorgeht, stehen die beobachteten Albumosen und Peptone den analogen, durch Verdauung erhaltenen Produkten sehr nahe. Was sie jedoch sicher von diesen unterscheidet, ist das Fehlen der Skatol- oder Indolbildung beim Schmelzen mit Kali, die Abwesenheit der Millon'schen, Xanthoprotein- und Adamkiewicz'schen Reaction, sowie das Ausbleiben von Schwefelbleibildung beim Kochen mit Alkali und essigsauerm Blei.

In dieser Richtung erscheinen sie in ihrem Aufbau in gleichem Sinne verändert wie die Oxyprotsulfonsäure selbst.

b) Fettsäuren.

Da bereits Guckelberger¹⁾ bei der Zersetzung des Eiweisses und Caseins mit Braunstein und Schwefelsäure die Anwesenheit von Fettsäuren, wie Essigsäure und deren Homologen bis zur Capronsäure hinauf, erwiesen hatte, so war deren Auftreten auch bei der Einwirkung von Kaliumpermanganat nicht unwahrscheinlich. Es wurde daher ein Theil des Filtrates von der Albumose C zur Gewinnung derselben in folgender Weise behandelt:

Nach starkem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure wurde Wasserdampfdestillation durchgeführt, solange das Destillat noch sauer reagirte. Dieses wurde sodann mit kohlen-sauerm Natron alkalisch gemacht und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde fein ver-

¹⁾ Guckelberger. Ann. d. Pharm. 64.

rieben, mit Alkohol übergossen, nun unter guter Eiskühlung mit Salzsäuregas bis zur Sättigung behandelt und einige Zeit stehen gelassen, damit eine möglichst quantitative Ausbeute der gebildeten Ester erzielt werde. Das Reaktionsgemisch, vom gebildeten Kochsalz abfiltrirt, wurde zuerst mit concentrirter Sodalösung geschüttelt und sodann noch mit soviel Soda in Substanz versetzt, bis blaues Lackmuspapier nicht mehr geröthet wurde.

Um den Alkohol möglichst zu entfernen, wurde es noch mit einer gesättigten Chloreciumlösung geschüttelt. Da jedoch auch dadurch eine Trennung der Ester von der wässerigen Flüssigkeit wegen ihrer geringen Menge auf gewöhnliche Weise im Schütteltrichter nicht vorgenommen werden konnte, so mussten sie mit Aether ausgeschüttelt werden. Nach dem Abdestilliren des letzteren wurden sie in einem kleinen, mit Lebel-Henninger'schem Aufsätze versehenen Kölbchen fractionirt.

Die erste bei constantem Siedepunkte zwischen 77 und 78° übergehende Fraction erwies sich als Essigsäureäthylester. Bei 98° ging Propionsäureäthylester, bei ungefähr 115° Buttersäureäthylester über. Es war aber bereits die Menge dieses letzten Produktes eine sehr geringe, so dass nicht entschieden werden konnte, ob der Ester der Iso- oder normalen Buttersäure überging, denn der gefundene Siedepunkt liegt zwischen denen der beiden isomeren Verbindungen (110 und 120°). In dem sehr geringen Rückstand im Destillationskölbchen war, wenigstens dem typischen Geruche nach, Valeriansäureäthylester, wahrscheinlich aber auch eine Spur von Estern der nächst höheren homologen Säuren vorhanden.

In quantitativer Beziehung wäre zu bemerken, dass Essigsäureäthylester bei Weitem in grösster Menge vorhanden war, Propionsäureester ungefähr die Hälfte, während nur eine geringe Ausbeute von Buttersäureester erhalten wurde.

Durch die Isolirung dieser Säuren in Form der Ester kann die Angabe von Löw, dass bei der Oxydation von Eiweiss nie die nächst höheren Homologen der Essigsäure gefunden werden, als widerlegt betrachtet werden.

c) Basische Körper.

Die von den Fettsäuren befreite Flüssigkeit wurde nach der Wasserdampfdestillation auf ein kleines Volumen eingeeengt, um das Ammonsulfat durch Ausrystallisiren möglichst zu entfernen, und sodann von demselben abgesaugt.

Nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure wurde sie mit Phosphorwolframsäure versetzt. Der Niederschlag, der zuerst durch Decantation und schliesslich auf dem Filter mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen worden war, wurde mit Aetzbaryt verrieben und auf dem Wasserbade so lange erwärmt, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden war. Nach dem Abfiltriren des Barytniederschlages wurde der gelöste Aetzbaryt mit Kohlensäure entfernt.

Die weitere Bearbeitung hielt sich genau an die Methode, nach welcher Kossel¹⁾ und Hedin²⁾ die Isolirung der Basen durchführten.

Die alkalisch reagirende Flüssigkeit wurde zunächst mit Quecksilberchlorid bis zur sauren Reaction versetzt. Der entstandene Niederschlag ergab nach dem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff einen braunen Syrup, aus dem sich Nadeln und ganz wenige farblose, rhombische Krystalle, ähnlich den von Kossel beschriebenen Histidinkrystallen, abschieden.

Das Filtrat von diesem Niederschlage wurde vom Quecksilber befreit. Dann wurde mit salpetersaurem Silber daraus das Chlor entfernt und nach weiterem Zusatz von Silbersalz mit Aetzbaryt die Argininsilberverbindung gefällt. Nach dem Zersetzen dieses Niederschlages mit Schwefelwasserstoff schieden sich aus dem bräunlichen Syrup zuerst flockige Massen ab, die sich unter dem Mikroskope als ein Aggregat von feinsten Nadeln erwiesen und auf dem Platinbleche mit dem Geruche nach verkohltem Horne ohne Asche verbrannten. Bei weiterem Einengen traten weisse, aus mikroskopisch kleinen Nadeln bestehende Aggregate auf, die gleichfalls ohne Aschenrückstand verbrannten.

Im Filtrate vom Silberniederschlage endlich wurde mit Schwefelsäure der gelöste Baryt ausgefällt und bei saurer Reaction Schwefelwasserstoff eingeleitet, um die letzten Spuren Silbers zu beseitigen. Nach dem Erwärmen zur Vertreibung des Schwefelwasserstoffes wurde mit Barytwasser die überschüssige Schwefelsäure entfernt und schliesslich ein kleiner Ueberschuss von Baryt mit Schwefelsäure genau ausgefällt. Nach dem Einengen schied sich eine geringe Menge nadelförmiger Krystalle aus, welche mit dem für Eiweiss typischen Geruche auf dem Platinbleche ohne Aschenrückstand verbrannten. Der Darstellungsweise nach kann ein mit Lysin identischer Körper vermuthet werden.

Es treten sonach die basischen Spaltungsprodukte, die vermuthlich identisch sind mit den seitens Drechsel, Schulze, Hedin, Kossel etc. beschriebenen, als Nebenprodukte bei der Permanganatoxydation auf, ein Beweis, wie tiefgreifend einerseits die spaltende Wirkung dieses Oxydations-

1) Kossel. Diese Zeitschr. Bd. XXII u. XXV.

2) Hedin. Diese Zeitschr. Bd. XXI.

processes ist, wie grossen Widerstand andererseits die basischen Eiweissderivate demselben entgegensetzen.

3. Bemerkungen über den oxydativen Abbau des Eiweisses mit Kaliumpermanganat.

Betreffs der Art und Weise, wie die Oxydation vor sich geht, hat Maly sehr bestimmte Vorstellungen entwickelt.

Er schliesst aus seinen Analysen, dass die Oxyprotosulfonsäure kein Spaltungsprodukt, sondern ein Oxydationsprodukt ist, das sich von der Muttersubstanz wesentlich nur durch den Mehrgehalt an Sauerstoff unterscheidet, und sucht wahrscheinlich zu machen, dass dabei die Oxydation des leicht abspaltbaren Schwefels zu einer Sulfonsäuregruppe eine wichtige Rolle spiele. Er glaubt ferner aus verschiedenen Eiweissstoffen, wie Fibrin, Casein, Kleber, Conglutin, die gleiche Oxyprotosulfonsäure erhalten zu haben.

Diese Behauptungen haben bereits durch Bondzynski und Zoja l. c. eine grossentheils zutreffende Kritik erfahren. Zwar konnten diese bei Oxydation von krystallisirtem Eieralbumin eine Oxyprotosulfonsäure darstellen, die in ihrer Zusammensetzung der Maly'schen Vorstellung — wonach sie ein einfaches Oxydationsprodukt der Muttersubstanz vorstellt — entspricht, und erklären demgemäss diesen Theil von Maly's Ausführungen für nicht unwahrscheinlich: sie nehmen jedoch gegen dessen übrige theoretische Ausführungen als zu weitgehend Stellung. In letzterer Beziehung kann ich mich ihnen anschliessen. Aber auch in Betreff des ersten Punktes, wonach die Oxyprotosulfonsäure kein Spaltungsprodukt des Eiweisses sein, sondern noch das ganze Molekül enthalten soll, lassen sich Bedenken äussern.

Vorerst verdient hervorgehoben zu werden, dass die Permanganatwirkung eine Combination von Alkali und Oxydationswirkung darstellt. Die Flüssigkeit nimmt, sobald sich das Permanganat löst, eine intensiv alkalische Reaction an und es kommt zur Bildung einer Gallerte nach Art des bekannten Lieberkühn'schen Albuminats. Später wird diese

Gallerte dünnflüssig wie Lieberkühn'sches Albuminat, dem man nicht rechtzeitig das Alkali wieder entzieht. Alkaliwirkung führt stets zu weitgehender Spaltung des Eiweissmoleküles, zur Bildung von Albumosen und Peptonen, zur Abspaltung von Ammoniak, dessen Entwicklung auch bei Permanganatbehandlung zu beobachten ist. Es ist daher von vornherein nicht verständlich, wie die unter ähnlichen Verhältnissen gewonnene Oxyprotosulfonsäure dem ungespaltenen Eiweissmolekül entsprechen sollte.

In der That zeigen die vorstehenden Versuche, dass die spaltende Wirkung der Permanganatbehandlung nicht gering anzuschlagen ist. Nicht bloss wurden neben der Oxyprotosulfonsäure reichliche Mengen von Albumosen und Peptonen gefunden, sondern es liess sich sogar zeigen, dass die Spaltung bis zur Bildung von Fettsäuren und basischen Substanzen vorgeschritten war. Es ist nicht anzunehmen, dass das Eiweissmolekül einer solchen spaltenden Wirkung gegenüber seine Integrität bewahrt und nicht jenen Zerfall erfahren sollte, den es sonst unter gleichen Verhältnissen unter dem Einfluss von Alkali erleidet. Kühne¹⁾ und Schmiedeberg²⁾ haben die Einwirkung siedenden Alkalis auf Eiweiss untersucht und bei relativ geringer Dauer des Versuches sehr eingreifend gefunden. Erfolgt auch bei dem Versuch nach Maly die Alkalieinwirkung bei Zimmertemperatur, so ist doch zu beachten, dass sie viel länger dauert. Genauere Versuche liegen über diesen Punkt nicht vor, doch ist anzunehmen, dass sich die Alkalien ähnlich den Säuren verhalten, bezüglich deren F. Goldschmidt gezeigt hat, dass jede Veränderung des Eiweisses, sobald sie zur Acidalbuminatbildung führt, bereits mit einer Abspaltung grösserer Molekülcomplexe vom Charakter der Albumosen einhergeht.

Diesen Ueberlegungen stehen die analytischen Daten von Maly, Bondzynski und Zoja gegenüber, welche annähernd das gleiche Verhältniss von C:N in der Oxyprotosulfonsäure

1) Ber. d. d. chem. Ges. VIII. 209.

2) Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie 39, 58.

wie in der Muttersubstanz ergeben. Aber wie schon die beiden letztgenannten Autoren hervorheben, ist diese einzige Thatsache nicht ganz beweiskräftig, da bei der Grösse des Eiweissmoleküles das Verhältniss von C : N stets nur grobe Veränderungen zum Ausdruck bringen kann.

Ohne einer Entscheidung dieser Frage vorzugreifen, möchte ich nur darauf aufmerksam machen, dass der ganze Verlauf der Permanganatwirkung die grösste Aehnlichkeit mit analogen, durch Fermente, Säuren und Alkalien eingeleiteten Spaltungsprocessen aufweist, so dass es bei unvoreingenommener Betrachtung einer anderen Deutung als in diesen Fällen gar nicht bedarf.

Bei diesen Spaltungsvorgängen sieht man stets zunächst eine Anzahl immer noch complicirter, aber die Eigenschaften von Proteinstoffen tragender Complexe (Albumosen) sich bilden, die secundär einem weiteren Zerfall in die elementaren Componenten des Eiweisses, wie Amidosäuren und Protaminbasen (eventuell auch aromatische Gruppen), unterliegen. Diese Aufspaltung des gewaltigen Eiweissmoleküls erfolgt aber nirgends mit einem Schlage, sondern es bleibt stets ein grösserer oder geringerer Theil desselben zurück, der nur sehr langsam weiter zerfällt und daher vielfach als ein beständigerer, weniger leicht angreifbarer Complex des Eiweissmoleküls durch specielle Bezeichnungen, wie Hemiprotein (Schützenberger) und Anti-albumid (Kühne), unterschieden worden ist. Die Summe des leichter spaltbaren Antheils hat man dann auch unter einem Namen, z. B. Hemialbumin etc., zusammengefasst, von der Vorstellung geleitet, dass bei Eiweisspaltung zunächst zwei grosse Complexe entstehen, von denen der eine, der dem Hemiprotein entsprechende, relativ beständig ist, der andere jedoch sofort weiter zerfällt. Die vorliegenden Thatsachen nöthigen aber durchaus nicht zur Annahme eines solchen präformirten und zum Zerfall besonders geneigten Hemialbumins, da sich der ganze Vorgang auch erklären lässt, wenn man annimmt, dass oberflächlich und locker gebundene Albumosegruppen sich naturgemäss zuerst ablösen, bis ein widerstandsfähigerer Complex zurückbleibt, dessen Zusammensetzung von der der abgetrennten Gruppen aber nicht principiell verschieden zu sein braucht.

So sieht man auch bei der Permanganatwirkung frühzeitig sich Albumosengruppen ablösen, die bei fortgesetzter Oxydation weiter zur Entstehung von Fettsäuren, Basen, Ammoniak und Kohlensäure verändert werden, während ein relativ widerstandsfähiger Complex als Oxyprotosulfonsäure (beziehentlich ein Gemenge solcher sauren Körper) zurückbleibt, der auch bei weiterer intensiver Oxydation als Peroxyprotosäure einer definitiven Aufspaltung durch Permanganat widersteht. Dass dieser Antheil, als «Oxyprotosulfonsäure» und «Peroxyprotosäure» analysirt, sich abgesehen vom Sauerstoff- resp. Wassergehalte nicht zu weit von der Muttersubstanz entfernt, kann nicht befremden, da er selbst qualitativ dieselben Elementargruppen enthält wie der ursprüngliche Körper und die abgespaltenen Albumosen-complexe selbst, die quantitativen Differenzen aber nur bei sehr grossen Verschiedenheiten in den rohen Analysenzahlen hervorzutreten brauchen.

Vorläufig scheint die nüchternste Auffassung des ganzen Vorganges, die zu sein, dass das Alkali des Permanganates das eigentlich spaltende Agens darstellt, die Oxydation aber den Spaltungsvorgang begünstigt, indem sie die abgelösten Complexe wegoxydirt. Leider fehlt es an genaueren Untersuchungen über die Produkte, die bei gelinder Alkaliwirkung auf Eiweiss erhalten werden, sodass schwer zu entscheiden ist, in welchem Umfange bei der Permanganatwirkung die Oxydation ausschlaggebend ist. Die zwei Punkte, in denen sie auffällig hervortritt — das Verschwinden der Bleireaction und die Umwandlung der aromatischen Gruppen in der Art, dass sie keine Abspaltung von Tyrosin und Indol oder Skatol gestatten —, hat bereits Maly hervorgehoben. Eine Erörterung darüber, wie man sich diese Umwandlung vorzustellen hat, ob in der Form, wie sie Maly, nicht ohne Scharfsinn, durchführt, oder anders, scheint den gegebenen Thatsachen gegenüber noch verfrüht.

Man könnte erwarten, dass der bei der Permanganatwirkung entstehende widerstandsfähigere Complex — die «Oxyprotosulfonsäure», bezw. die daraus sich bildende «Peroxyprotosäure» — dem Hemiprotein Schützenberger's oder Kühne's

Antialbumid entspricht und demgemäss bei weiterer Spaltung die gleichen Zersetzungsprodukte liefert. Die Beobachtungen Maly's jedoch über die Spaltung der Peroxyprotsäure, die auch im Nachstehenden bestätigt werden, unterstützen diese Auffassung nicht.

4. Spaltung der Peroxyprotsäure mit Aetzbaryt.

Darstellung des peroxyprotsauren Baryts. Die aus 4 kg. Eiweiss durch Oxydation erhaltene Oxyprot-sulfon-säure wurde in verdünnter Kalilauge gelöst und so lange mit einer concentrirten Kaliumpermanganatlösung versetzt, bis eine Entfärbung auch nach längerem Stehen nicht mehr auftrat und verdünnte Schwefelsäure keine Fällung mehr erzeugte, wozu ungefähr ein Zeitraum von 3 Wochen nöthig war. Dabei wurde auf eine stetige stark alkalische Reaction geachtet, da es sich gezeigt hatte, dass selbst nach längerem Stehen keine Entfärbung mehr auftrat, wenn die Reaction nur mehr schwach alkalisch war, dass aber auf neuerlichen Zusatz von Kalilauge die Oxydation sofort weiterging.

Als dieselbe vollendet war, wurde die röthliche Flüssigkeit mit etwas Alkohol entfärbt und vom Braunsteinschlamm mittelst Leinenfilters getrennt. Das klare, wasserhelle Filtrat gab, nachdem die Reaction durch Essigsäure neutral gemacht worden war, mit neutralem basisch essigsauren Blei wie mit Quecksilberacetat Fällungen.

Bei Vorversuchen zeigte es sich, dass nach Ausfällen mit basisch essigsaurem Blei Quecksilberacetat noch einen weiteren Niederschlag erzeugte, wie auch Maly angibt. Aber auch wenn zuerst mit Quecksilberacetat gefällt wurde, erzeugte im Filtrate basisch essigsaures Blei einen dichten Niederschlag. Es werden also von beiden Fällungsmitteln Substanzen von verschiedener Natur abgeschieden, wahrscheinlich durch Bleisalze mehr säureähnliche, durch Quecksilber auch solche vom Charakter der Säureamide.

Dieser Umstand weist darauf hin, dass die Peroxyprot-säure von Maly kein einheitlicher Körper gewesen sein kann, da sie ja aus dem Gemenge beider Niederschläge gewonnen

worden war, wie denn auch die von ihm angeführten Analysenzahlen der aus den Barytverbindungen dargestellten freien Säuren Differenzen von 1% im Kohlenstoff- und von 2% im Stickstoffgehalte zwischen der ersten Bleifraction und der Quecksilberfällung aufweisen. Bei dem Umstand, dass das Ausgangsmaterial, die Oxyprotosulfonsäure, selbst ein Gemenge darstellt, war übrigens die Bildung eines homogenen Oxydationsproduktes kaum zu erwarten.

Es wurde die gesammte Flüssigkeit vorerst mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, der Niederschlag abgesaugt und schliesslich zwischen Filtrirpapier durch einige Tage möglichst gut abgepresst. Das Gewicht desselben betrug in noch etwas feuchtem Zustande 5320 gr. Er wurde mit 4%iger Schwefelsäure zersetzt, das schwefelsaure Blei abgesaugt und gut gewaschen. Das Filtrat wurde durch Aetzbaryt von der Schwefelsäure befreit, der überschüssige Baryt durch Einleiten von Kohlensäure gefällt, die Flüssigkeit sodann einige Zeit gekocht und noch heiss vom ausgeschiedenen schwefelsauren und kohlen-sauren Baryt abfiltrirt. Das klare, kaum gefärbte Filtrat wurde eingeeengt und durch Alkohol der peroxyprotsaure Baryt als ein weisser amorpher Niederschlag gefällt. Seine Menge betrug ungefähr 160 gr. = peroxyprotsaurer Baryt II.

Da das Filtrat aber noch Biuretreaction gab, wurde der Alkohol abdestillirt, der Rückstand eingeeengt, wobei sich Baryumoxalat und Baryumcarbonat abschied, und nochmals mit Alkohol gefällt. Der weisse, körnige Niederschlag zeigte sich unter dem Mikroskope als Gemenge eines amorphen und eines krystallinischen Körpers. Zur Trennung beider wurde, nach dem Verreiben mit wenig Wasser, zuerst mit Alkohol der amorphe Körper, der sich als peroxyprotsaurer Baryt erwies, ausgefällt. Im klaren, farblosen Filtrate entstand auf reichlichen Aetherzusatz eine Trübung, die nach wenigen Tagen sich in einen Krystallbrei langer Nadeln umwandelte, die vielfach in Wawellitform gruppirt waren und durch Aussehen und sonstiges Verhalten mehrfach an die Beschreibung erinnerten, die Maly vom isoglycerinsauren Baryt gibt. Nach dem Umkrystallisiren erwiesen sie sich als essigsaurer Baryt. Die Analyse ergab:

Gefunden:	Berechnet:
C 18.95%	18.82%
H 2.60%	2.35%
Ba 53.44%	53.72%
H ₂ O 6.00	7.16

Eine Probe der Krystalle, mit arseniger Säure erhitzt, entwickelt deutlich Kakodylgeruch, und eine wässrige Lösung derselben gab mit Eisenchlorid eine schön rothe Farbe.

Das Filtrat vom Bleiniederschlag wurde mit essigsaurem Quecksilber gefällt, der Niederschlag abgesaugt und abgepresst. Entgegen den Angaben Maly's war die Menge dieser Fällung eine bedeutend geringere als der durch Blei erhaltenen, denn ihr Gewicht in noch etwas feuchtem Zustande betrug nur 580 gr. ($\frac{1}{9}$ des Bleiniederschlages). Der Niederschlag wurde in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat vom Schwefelquecksilber, durch Erhitzen vom Schwefelwasserstoff befreit, mit Aetzbaryt gekocht, der Baryt dann durch Kohlensäure gefällt. In der eingeeengten klaren Flüssigkeit fällte Alkohol einen gleichfalls weissen und amorphen Niederschlag, den peroxyprotsauren Baryt I.

Beide Präparate des peroxyprotsauren Salzes stellen getrocknet sandige, krümelige und etwas gelblich gefärbte Substanzen dar, die sich leicht zu einem weissen Pulver zerreiben lassen. Eine Probe vom peroxyprotsauren Baryt I wird in Wasser gelöst, mit schwefelsaurem Ammonium versetzt, vom schwefelsauren Baryt abfiltrirt und mit einer gesättigten Ammonsulfatlösung geprüft, die jedoch nicht die feinste Trübung, selbst nach Ansäuern, hervorruft. Die Peroxyprotsäure zeigt somit nicht mehr den Charakter einer Albumose.

Eine barytfrei gemachte wässrige Lösung desselben Präparates wird nach dem Neutralisiren mit kohlensaurem Natron auf ihr Verhalten gegen einige der gebräuchlichsten Fällungsmittel geprüft.

Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure geben dichte Niederschläge, die sich aber auf Salzsäurezusatz bis auf eine feine weisse Trübung wieder auflösen.

Ferrocyankalium, Pikrinsäure, Gerbsäure, Jodwismuthkalium und Jodquecksilberkalium erzeugen keine Fällungen, wohl aber geben solche Nitrat und Acetat des Quecksilbers.

Die Biuretreaction mit Kupfersulfat und Natronlauge ist sehr intensiv: mit Nickelsulfat und Alkali kann nur eine schwach gelbe Farbe erhalten werden.

Die Molisch'sche Probe auf Kohlehydrate fällt ganz negativ aus.

Salpetersaures Silber erzeugt in der vom schwefelsauren Natron befreiten und zum Syrup eingeeengten Flüssigkeit einen sowohl in Salpetersäure als auch in Ammoniak löslichen Niederschlag.

Da der erhaltene peroxyprotsaure Baryt zur weiteren Zersetzung verwendet werden sollte, so wurde keine weitere Prüfung und Untersuchung vorgenommen.

Die Zersetzung der beiden Niederschläge von peroxyprotsaurem Baryt I und II mit Baryt wurde genau nach Angabe von Maly, aber getrennt von einander vorgenommen.

A. Spaltung des peroxyprotsauren Baryts I (aus der Hg-Fällung). Der aus der Quecksilberfällung erhaltene peroxyprotsaure Baryt wurde mit dem gleichen Gewichte Wassers und Aetzbaryts gemengt, und in einer Platinschale durch 24 Stunden auf dem Wasserbade und sodann durch 2 Tage über freier Flamme erhitzt, wobei das verdampfte Wasser stets ersetzt wurde. Nach dem Abfiltriren des zumeist aus schwefelsaurem und oxalsaurem Baryt bestehenden Niederschlages wurde mit Kohlensäure der überschüssige Baryt entfernt. Die Untersuchung des eingeeengten Filtrates ergab als weitaus überwiegendes Spaltungsprodukt Leucin, das durch Krystallisation und Analyse verificirt wurde.

Das reinste Präparat wurde in nachstehender Weise erhalten:

Das erhaltene Roh-Leucin wurde aus ammoniakalischem Alkohol umkrystallisirt, dann, als es bereits nahezu farblos war, in einem Gemisch von drei Vierteln Wasser und einem Viertel Alkohol (95%) unter Erwärmen gelöst, etwas eingeeengt und der Krystallisation überlassen. Nach zwei Tagen traten an der Oberfläche Krystalldrüsen auf, die sich im Verlaufe einiger Tage noch ziemlich vermehrten. Als eine weitere Ausscheidung nicht mehr beobachtet werden konnte, wurden sie abgesaugt, mit Wasser, in dem sie sich sehr schwer löslich zeigten, gewaschen und getrocknet. Sie stellten kleine Drüsen von prismatischen Krystallen dar, die durchschnittlich eine Länge von 1—2 mm. erreichten und gegen das freie Ende hin farblos und glänzend waren. Auf dem Platinbleche verbrannten sie mit dem für Leucin charakteristischen Geruche, bei vorsichtigem Erhitzen sublimirten sie, ohne zu schmelzen.

Sie waren sehr schwer löslich in Wasser und von schwach süßlichem Geschmack. Es erinnert dies Verhalten an das von Nencki bei der Pancreasfäulniss erhaltene Leucin.

Eine Probe, mit Kali geschmolzen, gab deutlich den Geruch nach Pyrrol, das auch durch die Fichtenholzreaction nachgewiesen wurde. Die Schmelze, mit Säure im Ueberschuss versetzt, entwickelte einen Geruch nach Buttersäure und Valeriansäure.

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab 10,99% N (berechnet für Leucin 10,69%).

Wurde das unreine Leucin oder die Mutterlauge desselben der Wasserdampfdestillation unterworfen, so trat im neutralen Destillate Pyridingeruch auf. In einem Falle wurde das Destillat mit Aether ausgeschüttelt; nach dem Verdunsten des letzteren restirten zwei Tropfen einer wasserklaren Flüssigkeit, die den typischen Geruch nach Pyridin boten. Die Fichtenholzreaction auf Pyrrol fiel negativ aus.

Bei Destillation der angesäuerten Flüssigkeiten liessen sich dann auch kleine Mengen von Fettsäuren, wie Essigsäure und Buttersäure, nachweisen.

Das Vorhandensein anderer Amidosäuren, etwa Glutaminsäure oder Asparaginsäure, sowie von Homologen des Leucins wurde trotz dahin gerichteter Versuche nicht beobachtet.

B. Spaltung des peröxyprotsauren Baryts II (aus der Bleifällung). — Dieses Barytsalz wurde in gleicher Weise wie die erste Fraction mit Aetzbaryt zersetzt und hierauf die vom Baryt befreite Flüssigkeit eingeengt.

Auch hier schied sich sofort eine leucinähnliche Substanz (II A) ab, die von der Mutterlauge (II B) getrennt wurde. Sie wurde in Wasser gelöst und aus der gelbgefärbten Flüssigkeit mit Alkohol ein Niederschlag gefällt, der grösstentheils aus Leucin bestand, verunreinigt mit fettsauren Barytsalzen, von welchen er durch wiederholtes Lösen und Fällern mit Alkohol und Aether befreit wurde.

Aus dem ersten alkoholischen Filtrate krystallisirte beim Einengen Leucin in gewöhnlicher Form aus. Dieses wurde ebenfalls, wie vorher,

¹ Nencki. Zur Kenntniss der Leucine. Journ. f. pract. Chem., N. F. 15.

aus zwei Dritteln Wasser und einem Drittel Alkohol umkrystallisirt, wobei sich wieder Anfangs die drusigen Krystalle ausschieden, die mit Alkohol und Aether gewaschen und getrocknet wurden. Bei vorsichtigem Erhitzen sublimirten sie, auf dem Platinbleche hinterliessen sie beim Verbrennen keinen Aschenrückstand und schmeckten schwach süsslich.

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab 11,45 % und 11,46 % N.

Nun erfordert aber Leucin einen Stickstoffgehalt von 10,69 % N; der gefundene lag demnach zu hoch für Leucin, aber auch zu niedrig für Amidovaleriansäure, die 11,96 % N enthält. Er entspricht dagegen der Stickstoffmenge, die Maly bei seinem Leucin fand, nämlich 11,29 %, weshalb er dasselbe als eine Verbindung von Amidovalerian- und Amidocapronsäure beschrieb.

Da aber die erhaltene Substanz in ihrer Krystallform, Löslichkeit und ihrem sonstigem Verhalten sich absolut nicht unterschied von den Krystallen, die aus der Spaltung des peroxyprotsauren Baryts I erhalten wurden, und die auf Grund der Analyse als Leucin angesprochen werden müssen, so lag es nahe, dass doch nur eine anhaftende Verunreinigung mit einer sehr stickstoffreichen Verbindung diese differenten Analysenresultate verursachte.

Da die Kupferverbindungen der reinen Amidosäuren eine sehr constante Zusammensetzung haben und der Procentgehalt an Metall wegen des höheren Atomgewichtes bei den einzelnen Gliedern grössere Differenzen aufweist, so wurde das Kupfersalz dargestellt.

Ein Theil der Krystalle wurde in schwach alkalischem Wasser gelöst und diese Lösung mit Kupfercarbonat gekocht. Alsdann hatten sich blassblaue, äusserst schwer lösliche, blättchenförmige Krystalle gebildet. Sie wurden in einer grossen Quantität Wasser unter Erhitzen gelöst und durch Einengen wieder zur Ausscheidung gebracht. Die Löslichkeit war so gering, dass bei weiterem Einengen in der Mutterlauge kaum Spuren einer gelösten Kupferverbindung zurückblieben. Die Krystalle wurden abgesaugt, zuerst mit verdünntem, dann mit starkem Alkohol und schliesslich mit Aether gewaschen und bei 100° getrocknet.

Zur Kupferbestimmung wurde die Substanz durch Glühen im Platintiegel vollkommen verascht und das restirende Kupferoxyd gewogen.

0,2107 gr. Kupfersalz gaben 0,0292 gr. CuO oder 19,304 % Cu
 0,1561 gr. „ „ „ 0,0383 gr. CuO „ 19,59 % Cu.

Verlangt ist für:

Leucinkupfer	Amidovalerians. Kupfer	Gefunden:
$(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$	$(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$	
Cu 19,62 %	21,46 %	19,44 %

Ein molekulares Gemenge beider Säuren würde als Kupfersalz $(C_6H_{12}NO_2 \cdot C_5H_{10}NO_2)Cu$ 20,50 % Cu beanspruchen.

Auf Grund dieses Ergebnisses kann von einer Verbindung der Amidovalerian- und Capronsäure, wie sie Maly annimmt, nicht wohl die Rede sein. Die vorliegende Substanz ist Leucin, dessen höherer Stickstoffgehalt von einer geringen Menge einer noch anhaftenden stickstoffreichen Verbindung herrührt, die aber, da sie kein Kupfersalz bildete, nicht zu den Homologen der Amidocapronsäure gehören kann. Diese Verunreinigung dürfte auch bei dem von Maly analysirten Leucin vorgelegen haben.

Die von diesem krystallisirten Leucin abfiltrirte Flüssigkeit schied, neuerlich eingeeengt, Leucin in gewöhnlicher Form aus und erstarrte schliesslich nach dem Abkühlen zu einem festen Kuchen, der hauptsächlich aus mikroskopisch kleinen, radiär gestreiften, doppeltbrechenden Leucinkügelchen bestand. Beim Verreiben mit Alkohol und Aether zeigte sich derselbe nur theilweise löslich: der unlösliche Antheil erwies sich nach dem Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol als beinahe aschenfreies Leucin. Der gelöste Antheil wurde zum Syrup eingedampft und mit Wasser destillirt. Das Destillat, das stark nach Benzaldehyd roch, wurde mit Aether ausgeschüttelt. Nachdem der letztere verdunstet war, blieben einige Tropfen einer wasserklaren Flüssigkeit zurück, die einen starken Geruch nach Benzaldehyd hatte, ammoniakalische Silberlösung etwas reducirte, und in der sich schon nach wenigen Stunden Stehens Krystalle von Benzoessäure ausschieden.

Schulze und Barbieri¹⁾ erwiesen das Vorhandensein von Benzaldehyd nach dem Zersetzen des Eiweisses mit Salz-

¹⁾ Schulze u. Barbieri: «Amidosäuren, welche bei der Spaltung mit Salzsäure und Barytwasser entstehen.» Diese Zeitschr., Bd. IX.

säure und Barytwasser in der letzten Mutterlauge der leucin-haltigen Krystallisation und beim Kochen der Phenylamidopropionsäure mit chromsaurem Kali und verdünnter Schwefelsäure.

Hier kann dies Auftreten von Benzaldehyd wohl nicht so erklärt werden, dass bei der Spaltung des als aromatische Gruppe bezeichneten Complexes die Oxydation nicht bis zur Benzoesäure vorgeschritten ist, da Benzoesäurealdehyd bekanntlich sehr leicht in Benzoesäure übergeht. Vielleicht lag hier ursprünglich eine Verbindung von Benzaldehyd oder eines analogen Complexes mit einer Amidosäure vor, ähnlich den von Erlenmeyer jun. (Ber. d. deut. chem. Gesell. 30 u. a. O.) beschriebenen Condensationsprodukten der Amidosäuren mit Benzaldehyd, die hinterher in ihre Componenten gespalten wurde.

Die Mutterlauge (II B) von dem erstausgeschiedenen Leucin wurde, nachdem sich auch nach sehr langem Stehen keine Krystallisation gezeigt hatte, mit Alkohol versetzt, wobei ein syrupöser Niederschlag (II C) ausfiel, der indes bald zu einer krümeligen, harten Masse erstarrte. Aus der abgegossenen alkoholischen Flüssigkeit fällte Aether noch einen weissen Niederschlag (II D), der in Wasser gelöst und zum Syrup eingeeengt wurde. Da dieser, auf dem Platinbleche verbrannt, einen bedeutenden Rückstand von kohlen-saurem Baryt hinterliess, so wurden die vorhandenen Barytverbindungen mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt. Durch Ausschütteln der wässrigen Flüssigkeit mit Aether konnten Benzoesäure, sowie geringe Mengen von Essigsäure und Buttersäure isolirt werden. Im Reste fand sich nur noch etwas Leucin.

Das Filtrat von dem durch Aether erzeugten Niederschlage (II D) wurde zum Syrup eingeeengt und, da auf Zusatz von Schwefelsäure ein stark saurer Geruch nach Fettsäuren auftrat, mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten desselben blieben weisse, nadelförmige Krystalle zurück und eine geringe Menge einer dicklichen, etwas gelb gefärbten Flüssigkeit von stark saurer Reaction und dem Geruch nach freier Essigsäure und Buttersäure. Die Krystalle sublimirten leicht mit charakteristischem Geruche und gaben, mit Methylalkohol und Schwefelsäure erwärmt, den Geruch des Benzoesäuremethylesters. Sie wurden in verdünntem Alkohol gelöst und diese Lösung unter Zusatz von kohlen-saurem Natron eingeeengt. Aus dem nun

gebildeten benzoesauren Natron wurde mit Salzsäure die Benzoensäure in Blättchen gefällt.

Die stark saure Flüssigkeit, die neben der Benzoensäure nach dem Verdunsten des Aethers zurückgeblieben war, schied nach Kochen mit kohlensaurem Baryt beinahe nur essigsaures Salz aus.

Aus dem nicht weiter krystallisirenden Antheile konnten durch Destillation mit Wasserdampf noch Fettsäuren gewonnen werden, die in die Bleisalze übergeführt wurden. Als sich deren Menge für die Isolirung und Analyse der einzelnen Verbindungen ungenügend erwies, wurden sie fein verrieben und behufs Esterificirung in einem mit Rückflusskühler versehenen Kolben mit Alkohol und concentrirter Schwefelsäure durch 3 Stunden im Kochen erhalten. Aus diesem Reactions-gemische konnten die gebildeten Ester, nachdem dasselbe mit Soda neutralisirt und mit einer concentrirten Chlorcalcium-lösung zur Entfernung des Alkohols geschüttelt worden war, mittelst Aethers isolirt werden, was nach zweimaligem Ausschütteln gelang. Die Aetherauszüge wurden in einem mit Lebel-Henninger'schem Aufsatz armirten Kölbchen fractionirt destillirt.

Bei 77,5—78° ging Essigsäureäthylester und bei 98° Propionsäureäthylester über.

Der sehr geringe Rückstand im Kölbchen gab den Geruch nach Buttersäureester, aus dem nach dem Verseifen die freie Säure als eine dickliche, stark saure, farblose Flüssigkeit von dem deutlichen Geruche der Buttersäure gewonnen werden konnte.

Nachdem der durch Alkohol erhaltene Niederschlag (II C) nochmals aus wässriger Lösung mit Alkohol gefällt worden war, schieden sich beim Einengen des alkoholischen Filtrates schöne $\frac{1}{2}$ bis 1 cm. lange Nadeln ab, die in Wawellitform angeordnet waren. Sie wurden von der geringen Mutterlauge getrennt und aus Wasser umkrystallisirt.

Da sie in Form und Aussehen grösste Aehnlichkeit mit dem bereits früher isolirten essigsauren Baryt zeigten, so wurde sofort auf diese Säure geprüft. Die rothe Färbung mit Eisenchlorid und die Kakodyl-bildung beim Erhitzen mit arseniger Säure bestätigten auch die Vermuthung, dass in der That essigsaurer Baryt vorlag.

Da der durch Alkohol erzeugte Niederschlag, in wässriger Lösung mit Kupfercarbonat gekocht, eine dunkelblaue Lösung gab, in welcher Glutaminsäure vermuthet werden musste, so wurde versucht, diese Säure erst als Kupfersalz, dann als Barytverbindung oder in freiem Zustande zur Krystallisation zu bringen, jedoch ohne Erfolg. Schliesslich gelang der Nachweis durch Ueberführung in das charakteristische salzsaure Salz.

Es wurde die dickflüssige Lösung der freien Säure mit concentrirter Salzsäure verdünnt und unter Eiskühlung Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet. Nach wenigen Tagen bereits schieden sich die weissen krustenförmigen Krystallmassen der salzsauren Glutaminsäure ab.

Zur Analyse wurde sie vorher aus Wasser umkrystallisirt. Die Chlorbestimmung ergab: 19,37 % HCl, berechnet für salzsaure Glutaminsäure: 19,33 % HCl.

Bei der nach Kjeldahl ausgeführten Stickstoffbestimmung wurden 9,06 % N gefunden. Berechnet: 9,54 % N.

Ein Theil der erhaltenen salzsauren Glutaminsäure wurde nach Angabe von Hlasiwetz und Habermann¹⁾ mit einer der enthaltenen Salzsäure äquivalenten Menge Brom in einem zugeschmolzenen Rohre einen Tag hindurch bei 100° erhitzt und sodann die wasserhelle Reactionsflüssigkeit eingeengt. Alsbald schieden sich beim Abkühlen die schönen, nadelförmigen Krystalle der bromwasserstoffsäuren Glutaminsäure ab.

Aus der geringen Menge von Mutterlauge der salzsauren Glutaminsäure konnten weder direkt noch nach Ausfällen mit Quecksilberacetat charakteristische Verbindungen isolirt werden.

Maly hat aus seiner Peroxyprotsäure durch Behandlung mit Aetzbaryt erhalten: Ammoniak, Oxalsäure, schwefelige Säure, Isoglycerinsäure, Pyrrol (in Spuren und zwar erst beim Erhitzen in geschlossenem Rohre auf 130—140°), Glutaminsäure, Leucin, Amidovaleriansäure (angeblich in Verbindung mit Leucin), Benzoesäure und Ameisensäure.

Aus dieser Liste ist die Amidovaleriansäure aus oben angeführten Gründen zu streichen. Die Isoglycerinsäure, auf deren Untersuchung eigentlich ausgegangen worden war, konnte trotz aller Bemühungen nicht erhalten werden. Pyrrol konnte, wenn auch nicht direkt bei der Spaltung, so doch mehrmals

1) Hlasiwetz und Habermann, Liebig's Annal. 169.

bei Einwirkung von schmelzendem Kali auf mehr oder weniger gereinigtes Leucin nachgewiesen werden, ein Beweis dafür, dass in dem Peroxyprotsäuregemenge die Bedingungen einer Pyrrolbildung reichlich gegeben sind.

Die Aufzählung Maly's ist dann ferner zu ergänzen durch Essigsäure, Propionsäure; Buttersäure, Benzaldehyd und Pyridin.

Dabei hat der Nachweis von Pyridin einiges Interesse. Bekanntlich hat R. Cohn¹⁾ unter den Zersetzungsprodukten von Eiweiss eine krystallisirende Substanz gefunden (wie Ritthausen²⁾ annimmt, das Leucinimid der älteren Autoren), die bei Zinkstaubdestillation Pyridin gab. Das Auftreten von Pyridin bei der Oxydation von Eiweiss mit Permanganat erscheint im Hinblick auf die oxydative Eiweisspaltung im Thierkörper beachtenswerth.

Weshalb die Auffindung der Isoglycerinsäure nicht geglückt ist, vermag ich nicht zu erklären. Das negative Resultat hat natürlich den so positiven Angaben Maly's gegenüber kein Gewicht. Er hat diese Verbindung bei der Oxydation des Leims ebenfalls vermisst, glaubt aber einem solchen negativen Befunde keinen Werth beilegen zu sollen, denn «bei der eingeschlagenen Behandlung lassen sich die Versuchsbedingungen nicht so scharf einhalten».³⁾

Es möge aber doch hervorgehoben werden, dass Maly's Auffassung, wonach es sich um eine «Isoglycerinsäure» ($\text{CH}[\text{OH}]_2\text{CH}_2\text{COOH}$ oder $\text{CH}_3\cdot\text{C}[\text{OH}]_2\cdot\text{COOH}$) handelt, berechtigten Zweifeln Raum lässt, einerseits im Hinblick auf die relative Beständigkeit seines Präparates, die von der Veränderlichkeit der homologen Glyoxylsäure und der nächst verwandten Trichlorisoglycerinsäure auffallend absticht, andererseits in Anbetracht des fehlenden Lösungsvermögens für Kupferoxyd in alkalischer Lösung, wie es sonst Oxysäuren zukommt.

1) R. Cohn, Auffindung eines Pyridinderivates. Diese Zeitschr. Bd. XXII.

2) Ritthausen, Leucinimid, ein Spaltungsprodukt der Eiweisskörper in Säuren. Ber. d. deutsch. chem. Ges. 29.

3) R. Maly, Monatshefte für Chemie. X. Sitzungsber. d. Kais. Akadem. Math.-naturw. Cl. Bd. XCVIII. Abth. II. Sitzg. vom 17. Januar 1889.

Der vorübergehend sich aufdrängende Gedanke, dass Maly das saure Baryumacetat von Villiers¹⁾ unter der Hand hatte, das in Krystallisirbarkeit und wawellitartiger Beschaffenheit, sowie in der Zusammensetzung den Angaben Maly's nahe kommt, müsste fallen gelassen werden, als sich herausstellte, dass dieses Salz beim Trocknen sowie beim Umkrystallisiren sich leicht in das neutrale Acetat zurückverwandelt.

Die oben angeregte Frage, ob die bei der Permanganat-oxydation als relativ widerstandsfähige Gruppe zurückbleibende «Oxyprotosulfonsäure» resp. «Peroxyprotosäure» dem Antialbumid oder Hemiprotein entspricht, kann nach den vorliegenden Thatsachen mit Nein beantwortet werden.

Der Antialbumidcomplex ist dadurch charakterisirt, dass er bei der Spaltung kein Leucin oder Tyrosin, wohl aber Antipepton — wie man jetzt sagen würde Protaminbasen — liefert. (Ob daneben auch Asparaginsäure und Glutaminsäure auftreten, ist nicht festgestellt.) Da nun die Oxyprotosulfonsäuren und das Peroxyprotosäuregemenge bei der Spaltung reichlich Leucin liefern, eine auffällige Vermehrung der basischen Gruppen aber nicht ersichtlich ist, so kann die Oxyprotosulfonsäure nicht dem Antialbumid entsprechen. Es wird sonach vom Permanganat an dem grossen Eiweissmolekül ein anderer Complex als relativ widerstandsfähig intact gelassen, als von Säuren oder hydrolytischen Fermenten.

Hervorzuheben ist, dass diese relative Widerstandsfähigkeit nicht in der Resistenz der einzelnen Gruppen begründet ist, denn die erhaltenen Spaltungsprodukte sind zum Theil für alkalische Permanganatlösung äusserst leicht angreifbar, z. B. Leucin. Es muss sonach in der Anordnung oder Verknüpfung dieser Gruppen unter einander liegen, warum sie der Wirkung der alkalischen Permanganatlösung so hartnäckig Widerstand leisten. Insofern dürfte sich der Versuch lohnen, das Gemenge der «Peroxyprotosäure» in die einzelnen Componenten zu zerlegen und diese näher zu charakterisiren.

¹⁾ Villiers (Bull. de la Société chim. **30**) und Lescoeur (Compt. rend. **84**, **85**).