

Ueber die Paranucleinsäure aus Casein. I.

Von
E. Salkowski.

(Aus dem chem. Laboratorium des pathol. Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 1. Februar 1901.)

Nach Analogie mit dem Nuclein hat man vielfach stillschweigend angenommen, dass das Paranuclein oder Pseudonuclein des Caseins eine Verbindung von Eiweiss mit einer Paranucleinsäure sei, indessen ist es bisher nicht gelungen, diese hypothetische Paranucleinsäure darzustellen, wenn auch die Reactionen, welche A. Wildenow¹⁾ mit einem aus dem Paranuclein dargestellten Niederschlag erhalten hat, und die ich in Gemeinschaft mit M. Hahn²⁾ wenigstens zum Theil bestätigen konnte, auf die Existenz einer Paranucleinsäure hinzudeuten scheinen.

Nach Analogie mit dem Nuclein würde naturgemäss der Versuch, die Paranucleinsäure darzustellen, von dem Paranuclein auszugehen haben, und zwar hätte man — wiederum nach Analogie mit dem Nuclein — das Paranuclein mit Alkalien zu behandeln. Dieser Versuch ist von vornherein fast aussichtslos, weil sich aus dem Paranuclein beim Behandeln mit Alkalien äusserst leicht Orthophosphorsäure abspaltet. Wie M. Hahn und ich (l. c. S. 47) nachgewiesen haben, geschieht dieses schon bei einstündigem Erhitzen einer Lösung von Paranuclein in 2^o oiger Natronlauge im Wasserbad, ja, die phosphorhaltigen Verdauungslösungen aus Casein werden, wie ich schon im

1) Zur Kenntniss der peptischen Verdauung des Caseins. Inaug.-Dissert. Bern 1893.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 59, S. 225. l. c. S. 247.

Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1893, Nr. 23, mittheilte, selbst beim Kochen mit Baryumcarbonat, dem man doch gewiss nur eine sehr schwache Alkaliwirkung zuschreiben kann, ihres Phosphorgehalts beraubt. Dieser Weg ist also ungangbar.

Dagegen schien sich ein anderer Weg nach meinen Beobachtungen über die Verdauung des Caseins der Kuhmilch durch Pepsinsalzsäure zu eröffnen. Während die alte Lehre über die Einwirkung der Pepsinsalzsäure auf Casein dahin ging, dass dasselbe hierbei in einen unlöslichen phosphorhaltigen Antheil, das Paranuclein, und in phosphorfreie Albumose gespalten wird oder mit anderen Worten, dass der gesammte Phosphor des Caseins in dem unlöslich ausgeschiedenen Paranuclein enthalten sei, konnte ich zeigen, dass bei der Verdauung regelmässig der bei Weitem grösste Theil des Phosphors in Lösung geht, nur ein kleiner Theil im ungelösten Rückstand enthalten ist, ja, dass sich unter besonders günstigen Umständen das Casein völlig mit seinem ganzen Phosphorgehalt löst, ohne dass dabei Orthophosphorsäure abgespalten wird.¹⁾ Die Vermuthung, dass diese Verdauungslösungen Paranucleinsäure enthalten möchten, lag nahe.

Man konnte nun zunächst daran denken, durch schwache Pepsinverdauung Paranuclein darzustellen und dieses dann einer energischen Verdauung zu unterwerfen, um so von vornherein stark phosphorhaltige Lösungen zu erhalten, in welchen dann die Paranucleinsäure zu suchen war, indessen stellen einerseits die physikalischen Eigenschaften des Paranucleins einer Darstellung im grösseren Maassstab erhebliche Schwierigkeiten entgegen, andererseits ist dasselbe, einmal dargestellt und gereinigt, sehr schwer verdaulich. Ich habe es deshalb vorgezogen, von der Verdauungslösung des Caseins selbst auszugehen, obwohl die Aussichten für die Darstellung der Säure wegen der grösseren Quantität der begleitenden Albumosen offenbar ungünstiger waren.

Es wurden Versuche mit verschiedenen Metallsalzen ge-

¹⁾ Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1893. Nr. 23 und 28, sowie die oben citirte Arbeit von M. Hahn und mir, ferner Pflüger's Archiv. Bd. 63. S. 405.

macht, in der Hoffnung, dass sich eines finden werde, welches die Paranucleinsäure ausfällt. Als Resultat dieser Versuche ergab sich, dass diese Eigenschaft unter bestimmten Bedingungen den Ferrisalzen zukommt. Eine aus dem Casein durch 2—3 tägige Verdauung erhaltene genau neutrale Lösung bleibt bei Zusatz einer nicht zu concentrirten Lösung von Eisenammonalaun unverändert oder zeigt nur eine geringe Trübung. Erhitzt man dann aber zum Sieden oder einige Zeit auf dem Wasserbad, so scheidet sich ein phosphorhaltiger Eisenniederschlag aus. Die Aehnlichkeit mit der Phosphorfleischsäure von Siegfried liegt dabei auf der Hand. Auch andere Ferrisalze verhalten sich ähnlich, z. B. Eisenchlorid, aber nicht alle: so erhält man z. B. bei Anwendung von Ferrum oxydat. saccharat. der Pharmac. German. III keinen Niederschlag. Der Niederschlag hat nur bei einem gewissen, nicht zu geringen Eisenzusatz filtrirbare Form, bei einem zu geringen Zusatz entsteht nur eine stark trübe Flüssigkeit, deren Filtration bald gänzlich stockt.

Es ergab sich nun also die Aufgabe, die passenden Mengenverhältnisse zwischen Caseinverdauungslösung und Ferriammonsulfat zu ermitteln, und zwar ging mein Bestreben dahin, sämmtlichen organischen Phosphor auszufällen und den Niederschlag in einer gut filtrirbaren Form zu erhalten. Dieses ist nach meinen Versuchen mit Bestimmtheit zu erreichen, wenn man auf die neutralisirte Verdauungslösung¹⁾ aus 30 g lufttrocknem Casein, deren Volumen mindestens 1 Liter²⁾ betragen muss, 200 ccm. einer 5^oigen Lösung von Ferriammonsulfat verwendet (10 g des Salzes von der Formel $(\text{SO}_4)_2\text{FeNH}_4 + 12 \text{H}_2\text{O}$). Das Filtrat ist alsdann stets so gut wie P-frei, dagegen enthält es Eisen, dessen Quantität nicht genauer bestimmt ist. Zum Belege dienen folgende Zahlen:

1. Filtrat und Waschwasser eines derartigen Niederschlages = 2000 ccm. — 100 ccm. in der Platinschale auf ein geringes Volumen eingedampft, dann mit 25 g Salpetermischung geschmolzen etc. Phosphor

1) Betreffs der Herstellung derselben siehe weiter unten.

2) Ist das Volumen geringer, so besteht die Gefahr, dass Albumosen mitgefällt werden, etwas grössere Verdünnung schadet nichts.

nach der Molybdänmethode bestimmt. Es wurde erhalten $0,0015 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, also für die ganze Quantität $0,030 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0084 \text{ P}$.

Die N-Bestimmung nach Kjeldahl — an 50 ccm. ausgeführt — ergab für das ganze Filtrat 2,494 g N. Von dieser Zahl ist der N-Gehalt des angewendeten Ferriammonsulfates = 0,290 g abzuziehen = 2,204 als den Albumosen angehörig. Daraus ergibt sich P:N im Filtrat 1:262,1) während im Casein P:N = 1:18,47 ist, wenn man nach Hammarsten den P-Gehalt = 0,85^o%, den N-Gehalt 15,7^o% setzt.

2. Filtrat und Waschwasser eines anderen Präparates = 2000 ccm. Die P-Bestimmung in 200 ccm. ergab nur $0,001 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, also für die ganze Quantität $0,01 = 0,0028 \text{ P}$, d. h. fast Null.

3. In einem dritten Filtrat wurden $0,1132 \text{ Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ bestimmt 0,0321 P.

4. In einem vierten Filtrat war die Quantität von MgNH_4PO_4 so gering, dass die quantitative Bestimmung nicht lohnte.

Diese Zahlen zeigen, dass es unter Innehaltung bestimmter Versuchsbedingungen gelingt, den organischen Phosphor bis auf bedeutungslose Reste auszufällen, indessen lässt sich nicht verkennen, dass diesen Angaben doch eine gewisse Unsicherheit anhaftet, welche in der Beschaffenheit des angewendeten Caseins und der Wirksamkeit des Pepsinpräparates begründet ist. Wenn auch für mich diese Unsicherheit in Fortfall kam, da ich stets dasselbe Casein und dasselbe Pepsin anwendete, und auch sonst die Bedingungen möglichst gleichmässig einhielt, schien es mir doch wünschenswerth, einen objectiveren Anhalt für die Quantität des Eisens zu gewinnen. Als solcher ergab sich die spezifische Drehung der betreffenden Lösung. Dieses Hilfsmittel ist darum sehr bequem, weil dabei nichts von der zu fällenden Lösung verloren geht. Da die Concentrationsverhältnisse nicht sehr in Betracht kommen, jedenfalls eine grössere Verdünnung nichts schadet, so kann man das Polarisationsröhrchen zum Zweck der Fällung einerseits mit der zu untersuchenden Lösung ausspülen, andererseits nach der Beobachtung mit Wasser nach-

1) Auf die Frage, ob die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl für das Casein und die Caseinalbumosen richtige Werthe gibt oder nicht vielmehr, wie ich annehme, etwas zu niedrige gegenüber der Bestimmung nach Dumas, welche der Angabe von Hammarsten für den N-Gehalt des Caseins zu Grunde liegt, möchte ich hier nicht eingehen, da die Differenzen jedenfalls nur wenig in Betracht kämen.

spülen und alle für sich gesammelten Flüssigkeiten für die Fällung mit Ferriammonsulfat mit der Hauptquantität der Lösung vereinigen. Die Beobachtungen wurden mit einem kleinen für Traubenzucker graduirten Halbschattenapparat bei Gasglühlicht ausgeführt, welcher unter Anwendung einer 20 cm. langen Röhre Zuckerprocente angibt. Zu den Bestimmungen wurde eine 10 cm. lange Röhre angewendet. Die Verdauungslösungen aus Casein, welche auf die weiter unten angegebene Weise dargestellt waren, drehten nun, auf das Volumen von 1 Liter gebracht, constant 2,15—2,2 Theilstriche nach links. Da zur Ausfällung des organischen Phosphors aus einer solchen Lösung 200 ccm. einer 5%igen Lösung von Ferriammonsulfat erforderlich waren, so ergibt sich daraus die Regel, dass man das Volumen der erforderlichen 5%igen Ferriammonsulfatlösung erhält, wenn man die scheinbaren Zuckerprocentemit 93 multiplicirt (dies ergibt 199,85—204,6 ccm.). Die Richtigkeit dieser Berechnung wurde durch Fällung verschiedener Caseinverdauungslösungen, welche von einer nicht bekannten Caseinquantität herstammten, bestätigt. Bei den Versuchen wurde die betreffende Lösung stets soweit verdünnt, dass sie zwischen 1,5 und 2,2 drehten: concentrirtere Lösungen wurden nicht angewendet, weil dabei die Gefahr der Mitfällung von Albumosen besteht: ob die Mengenverhältnisse sich auch für verdünntere Lösungen bewähren, habe ich nicht untersucht. Nach diesen Vorbemerkungen gehe ich zur Beschreibung der Darstellung des Eisenniederschlages über.

30 g lufttrockenes Casein¹⁾ wurden in einer Glasstöpsel- flasche von etwa 3 Liter Inhalt mit 2 Liter eines künstlichen Magensaftes übergossen, welcher folgendermaassen hergestellt ist: Man befreit 5 g käufliches Pepsin (von Finzelberg in Andernach a. Rh.) durch Verreiben mit Wasser und Auswaschen auf dem Filter von dem beigemischtem Milchzucker, spült den Rückstand nach Durchstossung des Filters mit salz-

¹⁾ Das Casein war dasselbe, welches ich schon in meiner Arbeit, Pflüger's Archiv, Bd. 63, S. 405, angewandt habe. Dasselbe enthielt damals 10,83% Wasser, 0,35% Fett, 1,45% Asche. Da der Wassergehalt sich noch ebenso hoch (10,85%) erwies, ist es nicht aufs Neue analysirt.

säurehaltigem Wasser (990 ccm. Wasser, 10 ccm. Salzsäure — 1,124 D) in einen Kolben, fügt soviel desselben salzsäurehaltigen Wassers hinzu, dass das Volumen etwa $\frac{3}{4}$ Liter beträgt, und lässt unter vielfachem Schütteln bis zum nächsten Tage stehen. Man filtrirt, wäscht mit salzsäurehaltigem Wasser nach und füllt mit demselben bis auf 2 Liter auf. — Unter häufigem Umschütteln lässt man die Flasche 48 Stunden im Thermostaten bei 40° stehen, filtrirt von dem ausgeschiedenen Paranuclein ab, wäscht nach und dampft Filtrat + Waschwasser unter Ab sättigung des grössten Theils der Salzsäure mit verdünnter Natronlauge oder Natriumcarbonat auf dem Wasserbad ungefähr auf die Hälfte ein. Die Reaction der Lösung muss schwach sauer sein, unter keinen Umständen alkalisch, da sich bei alkalischer Reaction beim Abdampfen sehr leicht Orthophosphorsäure abspaltet. Beim Eindampfen scheidet sich eine minimale Quantität von Eiweissflöckchen ab (äusserst leicht löslich in verdünnter Natronlauge), von welchen abfiltrirt wird. Das Filtrat wird neutralisirt, einige Zeit stehen gelassen und, falls sich Calciumphosphat abscheidet, filtrirt. Der Sicherheit wegen prüft man auch noch eine Probe mit NH_3 und CaCl_2 auf Phosphorsäure: entsteht dadurch ein Niederschlag, so wird die ganze Flüssigkeit mit den genannten Reagentien versetzt, im anderen Falle ist dieses unnöthig. Die möglichst genau neutrale Lösung, deren Volumen mindestens 1 Liter betragen muss, versetzt man mit 200 ccm. 5%iger Lösung von Ferriammonsulfat — sie muss dabei klar oder fast klar bleiben — und erhitzt nun bis zum Sieden oder einige Zeit auf dem Wasserbad: es scheidet sich sehr bald unter Auftreten ziemlich stark saurer Reaction ein feinflockiger Niederschlag ab, der sich allmählich zusammenballt. Der Niederschlag wird abfiltrirt oder mit der Nutsche abgesogen — das Filtrat ist eisenhaltig und ganz klar — und so lange mit Wasser von Zimmertemperatur oder warmem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser, mit HCl und BaCl_2 geprüft, absolut klar bleibt, dann mit Alkohol absolutus und Aether entwässert — dabei zugleich etwaige Spuren von Fett entfernt — und in der Reibeschale trocken gerieben.

So sind die Präparate hergestellt, welche zu den Analysen

dienten: will man den Niederschlag weiter behandeln, so fällt natürlich die Alkoholätherbehandlung fort.

Es ist mir nicht gelungen, die Eisenverbindung vollständig von Schwefelsäure zu befreien: auch wenn das Waschwasser nicht die geringste Reaction mehr mit HCl und BaCl₂ gab, war doch in der salzsauren Lösung einer nicht zu kleinen Probe des Niederschlages Schwefelsäure nachweisbar. Vermuthlich rührt dieses von einer Beimischung von basisch schwefelsaurem Eisenoxyd her. Mitunter trat auch bei lange fortgesetztem Waschen, namentlich wenn das Wasser etwas zu heiss war, Dissociation ein und das Filtrat wurde trüb. Unter diesen Umständen ist es erklärlich, dass die Analysen keine vollständig übereinstimmenden Zahlen ergeben, immerhin weisen sie darauf hin, dass eine chemische Verbindung vorliegt.

Analytische Belege.

Bezüglich der Ausführung der Analysen bemerke ich Folgendes: Die Substanz wurde stets bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet. C und H wurden mit Bleichroamat und vorgelegtem metallischem Kupfer, N theils nach Dumas, theils nach Kjeldahl bestimmt. Die Bestimmung des Phosphors und Eisens geschah in derselben Quantität. Die Substanz wurde in einer Platinschale mit dem 30fachen Gewicht Salpetermischung (3 Theile KNO₃, 1 Theil Na₂CO₃) geschmolzen und einige Zeit im Schmelzen gehalten. Die wässrige Lösung der Schmelze wurde durch ein kleines aschefreies Filter filtrirt (Schleicher und Schüll Nr. 590, 9 Cm.), gut ausgewaschen, der lebhaft roth gefärbte Niederschlag wurde mit dem Filter verbrannt, der Rückstand als Eisenoxyd gewogen. In der Lösung wurde die Phosphorsäure in der üblichen Weise nach vorgängiger Fällung mit Molybdänlösung als Mg₂P₂O₇ bestimmt. Die C-, H- und N-Bestimmungen sind von Dr. G. Schrader, damaligen Assistenten, ausgeführt, dem ich für seine freundliche Unterstützung bestens danke, die P- und F-Bestimmungen theils von demselben, theils von mir.

Präparat I.

1. 0,2307 g gaben 0,2642 CO₂ = 31,24% C und 0,0883 H₂O = 4,25% H.
2. 0,1903 g gaben 0,2197 CO₂ = 31,47% C und 0,0758 H₂O = 4,43% H.
3. 0,2300 g gaben 13,0 ccm. N bei 20° C. und 728,0 mm. B. = 9,74% N.
4. 0,3927 g gaben 0,1349 Fe₂O₃ = 24,04% Fe.
5. 0,4828 g gaben 0,0412 Mg₂PO₇ = 2,38% P.

Diesem Präparat scheint etwas Eisenoxyd beigemischt gewesen zu sein.

Präparat II.

1. 0,2260 g erforderte nach Kjeldahl 6.1 ccm. Viertelnormal-säure = 9.40% N.
2. 0.2704 g erforderten 7.5 ccm. Viertelnormal-säure = 9.56% N.
3. 0,2478 g gaben 0.0302 $Mg_2P_2O_7$ = 2.61% P und 0.0792 Fe_2O_3 = 22.38% Fe.
4. 0.2550 g gaben 0.0828 Fe_2O_3 = 22.51% Fe.
Die zugehörige P-Bestimmung ging verloren.

Präparat III.

1. 0.1937 g gaben 0.2281 CO_2 = 32.50% C und 0.0784 H_2O = 4.50% H.
2. 0.2252 g gaben 0.2615 CO_2 = 31.66% C und 0.0925 H_2O = 4.56% H.
3. 0.2270 g gaben 0.2674 CO_2 = 32.13% C und 0.0918 H_2O = 4.49% H.
4. 0.1943 g gaben 16.0 ccm. N bei 17° C. und 762,5 mm. B. = 9.58% N.
5. 0.2346 g gaben 21.2 ccm. N bei 22.5° C. und 758.0 mm. B. = 10.16% N.
6. 0.3956 g gaben 0.0385 $Mg_2P_2O_7$ = 2.71% P.
Die zugehörige Eisenbestimmung ging dadurch verloren, dass das Eisenoxyd beharrlich durch das Filter ging.
7. 0.3539 g gaben 0.0327 $Mg_2P_2O_7$ = 2.58% P und 0.0966 Fe_2O_3 = 19.11% Fe.

Zusammenstellung der Analysen-Resultate.

Nummer des Präparates	C	H	N	P	Fe
I	31.24	4.25	9.74	2.38	24.04 (?)
	31.47	4.43	—	—	—
II	—	—	9.40	2.61	22.51
	—	—	9.71	—	22.38
III	32.50	4.50	9.58	2.71	19.11
	32.66	4.56	10.16	2.58	—
	32.13	4.49	—	—	—

Im Mittel berechnet sich folgende Zusammensetzung in Procenten: 1)

C 31.90 H 4.43 N 9.72 P 2.55 Fe 21.87.

1) Die Berechnung ist in der Weise ausgeführt, dass zuerst die Mittelzahlen für jedes einzelne Präparat berechnet, dann diese Zahlen addirt und durch die Anzahl der addirten Werthe dividirt wurden.

Bezüglich der Eigenschaften der Eisenverbindung habe ich Folgendes zu bemerken:

1. Die Eisenverbindung löst sich in nicht zu stark verdünnter Salzsäure und fällt beim Neutralisiren der Lösung bis zur schwach saueren Reaction wieder aus: sie löst sich auch in Essigsäure. In stark verdünnter Salzsäure, etwa in der Concentration 2% HCl, ist sie fast ganz unlöslich.

2. Die Eisenverbindung ist leicht löslich in schwacher Natriumcarbonatlösung, etwa von 1–2% Na_2CO_3 . Die Lösung färbt sich mit Schwefelammon grün, nach einiger Zeit scheidet sich Schwefeleisen ab. Die alkalische Lösung hält sich mitunter tagelang, selbst wochenlang unverändert, in anderen Fällen scheidet sich schon nach einigen Stunden ein Niederschlag aus, der wenigstens zum Theil aus Eisenhydroxyd besteht, in jedem Fall sehr schnell beim Erhitzen. Auch in schwacher Natronlauge ist die Eisenverbindung, namentlich in feuchtem Zustand, löslich: bei Zusatz von stärkerer Natronlauge zu dieser Lösung scheidet sich ein Niederschlag aus, welcher zum grössten Theil aus Eisenhydroxyd besteht. Die Abscheidung wird durch Erwärmen befördert. Das Filtrat, welches mitunter noch Eisen enthält, bleibt bei Zusatz von BaCl_2 klar, trübt sich jedoch beim Erhitzen zum Sieden und scheidet momentan einen ziemlich voluminösen, flockigen Niederschlag aus. Derselbe löst sich, abfiltrirt und ausgewaschen, in Salpetersäure. Die Lösung gibt mit Molybdänlösung bei leichtem Erwärmen zuerst eine weisse Trübung, dann reichlichen gelben Niederschlag von Ammoniumphosphormolybdat. Auf die Natur dieses Barytniederschlages komme ich weiter unten noch zurück; hier sei nur bemerkt, dass die Bildung desselben eine äusserst bequeme Reaction auf Paranuclensäure darstellt, deren ich mich vielfach zur Orientirung über das Vorhandensein oder Fehlen der Säure bei meiner Arbeit bedient habe. Bei der grossen Zersetzlichkeit der Säure unter bestimmten Verhältnissen hat sich die Möglichkeit, sich jederzeit über ihre Gegenwart orientiren zu können, als sehr angenehm erwiesen.

Auch in stärkerer Natronlauge, etwa 2% iger (Halbnormal-lauge) ist die Eisenverbindung leicht löslich: beim Erhitzen scheidet

sich gleichfalls ein röthlicher Niederschlag aus, der grösstentheils aus Eisenhydroxyd besteht. Der organische, mit dem Eisen verbundene, phosphorhaltige Atomcomplex, der der Kürze halber Paranucleinsäure genannt werden mag, wird jedoch dabei bis zu einem gewissen Grade zersetzt; das Filtrat gibt mit BaCl_2 sofort einen flockigen Niederschlag, welcher das oben angegebene Verhalten zu Salpetersäure und Molybdänlösung zeigt.

3. Sehr eigenthümlich ist das Verhalten der Eisenverbindung zu Ammoniak, welches ich genauer untersucht habe, weil ich Anfangs bei der grossen Empfindlichkeit der Paranucleinsäure gegen Natronlauge Ammoniak zur Isolirung der Säure aus der Eisenverbindung benützt habe. Aus dem Folgenden wird hervorgehen, warum ich diesen Weg wieder verlassen habe.

Suspendirt man die Eisenverbindung in Wasser und setzt allmählich Ammoniak hinzu, so löst sie sich mit Leichtigkeit zu einer klaren, tief braunrothen Flüssigkeit. Diese lässt sich, ohne eine Veränderung zu erfahren, zum Sieden erhitzen und eindampfen: beim Eindampfen auf dem Wasserbad zur Trockne bleibt ein braunroth gefärbter, durchsichtiger Rückstand, welcher sich in glänzenden Lamellen von der Porzellanschale ablöst. Das Produkt ist in Wasser unlöslich, löst sich dagegen mit grosser Leichtigkeit wieder in ammoniakhaltigem Wasser auf. Die Lösung färbt sich mit Schwefelammon grün, gibt jedoch keine Ausscheidung von Schwefeleisen: das Eisen ist also bis zu einem gewissen Grade organisch gebunden oder maskirt.

Erhitzt man die ammoniakalische Lösung nicht, sondern lässt sie nach einiger Verdünnung tagelang stehen, so trübt sie sich, es scheidet sich ein anscheinend aus Eisenhydroxyd bestehender Niederschlag aus, das Filtrat ist klar, jedoch meistens trotz stark alkalischer Reaction etwas eisenhaltig. Versetzt man es mit Barytwasser und erhitzt zum Sieden, so scheidet sich der oben beschriebene Barytniederschlag aus, es enthält also Paranucleinsäure. Die Umsetzung ist aber eine ganz unvollständige, wie sich leicht durch Behandlung des ausgewaschenen Eisenniederschlages mit verdünnter Natronlauge und Behandeln des Filtrats mit BaCl_2 oder Barytwasser nachweisen lässt.

Dieses ist der Grund, warum ich die Behandlung des Eisenniederschlags mit Ammoniak zum Zweck der Darstellung der Paranucleinsäure wieder aufgegeben habe. Uebrigens ist, beiläufig bemerkt, auch die Umsetzung mit Natronlauge, wenn man sich hinsichtlich der Concentration derselben in den Grenzen hält, welche durch die Zersetzlichkeit der Paranucleinsäure geboten sind, nicht ganz vollständig. Der gut gewaschene Eisenniederschlag enthält noch phosphorhaltige organische Substanz. Löst man ihn in Salpetersäure in der Siedehitze, so gibt die erkaltete Lösung mit Molybdänlösung Phosphorsäure-reaction. Getrocknet und geglüht hinterlässt der Niederschlag ein Gemisch von Eisenoxyd und metallisch glänzendem Eisenoxyduloxyd. Ausserdem enthält der Glührückstand auch reichlich Phosphorsäure.

Gleichzeitig mit der chemischen Untersuchung der Eisenverbindung hat mich die Frage beschäftigt, ob dieselbe der Resorption vom Magendarmkanal aus leicht zugänglich ist, was nach der Löslichkeit in Alkalien nicht unwahrscheinlich war. Die Versuche wurden an Kaninchen angestellt. Als Indicator der Resorption diente mir der Eisengehalt der Leber. Durch Kontrollversuche an normalen Thieren bei derselben oder sehr ähnlichen Fütterung und solchen, die ähnliche Eisenverbindungen erhielten, war die Frage der Resorbirbarkeit und des Umfanges derselben leicht zu entscheiden. Die Versuche wurden im Allgemeinen so eingerichtet, dass die Thiere zuerst des Morgens nur wenig feingehacktes Futter mit der Eisenverbindung gemischt erhielten, und erst wenn sie die Mischung verzehrt hatten, ihr gewöhnliches Futter. Dadurch war die vollständige oder annähernd vollständige Aufnahme der Eisenverbindung garantirt. Die Fütterungsversuche dauerten regelmässig 10 Tage; nach Ablauf des 10. Tages wurde das Thier durch Halsschnitt getödtet, die Leber herausgenommen, ausbluten gelassen, die grossen Gefässe und die Gallenblase entfernt — dabei ist ein geringer Verlust an Lebersubstanz unvermeidlich — dann die Leber abgospült, auf Filtrirpapier abgedrückt und gewogen, alsdann fein zerhackt.

Von dem Brei wurden 3 Portionen in Platinschalen abgewogen, zwei Portionen von annähernd je 10 g (in Versuch 2 weniger) dienten zur Eisenbestimmung, die dritte, von ca. 2-4 g, zur Bestimmung des Trockenrückstandes. Die beiden ersten Portionen wurden in absoluten Alkohol gebracht, der sich in breiten Glasstöpsel-Cylindern befand: es gelang mit Hilfe des Gummiwischers ohne Schwierigkeit, auch die letzten Reste des an der Platinschale hängenden Leberbreies mit absolutem Alkohol in das Glas zu bringen.¹⁾ Die Quantität des im Ganzen angewendeten Alkohols betrug etwa 150 cem. Waren so die Vorbereitungen getroffen, so konnte die Veraschung beliebig aufgeschoben werden: mindestens blieb der Leberbrei 2 Tage unter Alkohol, meistens länger. Ich wählte dieses anscheinend unständliche Verfahren, weil es sich in Vorversuchen gezeigt hatte, dass die Veraschung der Leber ein sehr gutes, langdauerndes Trocknen erfordert, dieses nach der Behandlung mit Alkohol und Aether fast ganz fortfallen kann.

Zur Veraschung wurde zunächst der coagulirte Leberbrei auf einem nicht angefeuchteten aschefreien Filter gesammelt, die am Glase hängenden Reste mit Alkohol auf das Filter gespült, dann der Filterinhalt mit Aether gewaschen. Die gesammelten alkoholisch-ätherischen Auszüge wurden verdunstet und in der Platinschale verbrannt. Nach dem Erkalten wurde das Filter sammt dem Leberbrei in dieselbe Platinschale gebracht, nach einigem Stehenlassen an der Luft bei gelinder Wärme getrocknet, dann verkohlt. Die erkaltete Kohle wurde mit dem Achatpistill verrieben, die anhängenden Reste mit aschefreiem Filtrirpapier abgewischt und in die Schale gebracht, dann stärker geglüht. Die Kohle verbrennt auch bei stundenlangem Glühen nicht vollständig (nur in 2 Fällen gelang dieses annähernd). Es wurden daher stets schliesslich zur vollständigen Veraschung 7-8 g Salpetermischung in die Schale gebracht, mit Hilfe eines Glasstabes gut durchgemischt (der Glasstab mit etwas

¹⁾ Will man ganz sicher gehen, so kann man die Veraschung in derselben Platinschale ausführen, welche man zum Abwägen benutzt hat; das ist in einigen Fällen geschehen, war aber nicht immer angängig und ist auch nicht nöthig.

Filtrirpapier abgewischt) und geschmolzen. Die Schmelze wurde in Wasser gelöst, die Lösung filtrirt. Das Filtrat erwies sich stets vollkommen eisenfrei, es brauchte daher nicht berücksichtigt zu werden. Das sorgfältig gewaschene Filter mit Inhalt wurde getrocknet und dann in derselben Platinschale verascht.¹⁾ Der Rückstand löste sich stets leicht und vollständig in Salzsäure beim Erwärmen, mitunter unter Zurücklassung von Spuren von Filterkohle und sandigen Substanzen. Um diese zurückzuhalten und etwa vorhandene Kieselsäure zur Abscheidung zu bringen, wurde in jedem Fall die salzsaure Lösung auf dem Wasserbad verdampft, einige Zeit bei 110–120° getrocknet, nach dem Erkalten aufs Neue in Salzsäure gelöst, die Lösung verdünnt, filtrirt und nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit 1 cem. concentrirter Lösung von Natriumphosphat (Na_2HPO_4) versetzt, mit NH_3 alkalisirt, dann mit Essigsäure angesäuert, die gelatinöse Ausscheidung von Ferriphosphat am nächsten Tage abfiltrirt, gewaschen, getrocknet, gegläht, gewogen. — Das Filtrat vom Ferriphosphat erwies sich beim Stehenlassen nach Zusatz von Ammoniak und Schwefelammon stets absolut eisenfrei.

Sämmtliche Versuche wurden gleichmässig ausgeführt; Abweichungen fanden nur in Bezug auf die Ernährung statt. Ich führe die einzelnen Versuche in der chronologischen Reihenfolge mit den Analysenzahlen kurz an.

Versuch 1.

Körpergewicht, nur am Ende des Versuches (bei Beginn des 11. Tages) bestimmt, 730 g. Das Thier hatte ein Gemisch von verschiedenen Kohlsorten, Mohrrüben, Kohlrüben, Kartoffeln, Hafer, Brod und Heu erhalten, jedoch augenscheinlich nicht in genügender Quantität, da es am Ende des Versuches etwas mager erschien. Dies gilt auch für den Versuch 2. In den späteren Versuchen wurde auf diesen Punkt besser geachtet und das Gewicht auch zu Beginn des Versuches festgestellt. Mit der Nahrung erhielt das Thier pro Tag 0.25 g der Eisenverbindung ca. 0.055 Eisen. Lebergewicht 26.5 g.

1) Will man eine andere Platinschale anwenden, so thut man gut, in der selbstverständlich vollkommen mit Wasser gereinigten Schmelzschale etwas Salzsäure zu erwärmen und diese Salzsäure zur Lösung des Eisenoxyds zu benutzen, da die Salzsäure nicht selten aus der Schmelzschale noch etwas Eisen aufnimmt.

1. Trockenbestimmung 2.5348 g gaben 0.6662 Rückstand = 26.28 %;
2. Eisenbestimmung 10.138 g gaben 0.0071 FePO_4 .

Versuch 2.

Dieselbe Ernährung. Körpergewicht am Ende des Versuches 620 g.
Pro Tag 0.25 der Eisenverbindung. Gewicht der Leber 19.5 g.

1. Trockenbestimmung 2.1492 g gaben 0.5546 Trockenrückstand 25.81 %;
2. Eisenbestimmung: a) 8.225 g gaben 0.0066 FePO_4 ,
b) 7.2162 g gaben 0.0056 FePO_4 .

Versuch 3.

Normales Thier ohne besondere Vorfütterung. Körpergewicht 750 g. Gewicht der Leber 33.5 g.

1. 3.8386 g gaben 1.0164 Trockenrückstand = 26.48 %;
2. a) 10.1256 g gaben 0.0025 FePO_4 ,
b) 10.4397 g gaben 0.0023 FePO_4 .

Versuch 4.

Normales Thier ohne besondere Vorfütterung. Körpergewicht 1370 g. Lebergewicht 42.5.

1. 4.1933 g gaben 1.0757 Trockenrückstand = 25.65 %;
2. 10.1401 g gaben 0.0022 FePO_4 , die zweite Eisenbestimmung ging verloren.

Versuch 5.

Normales Thier ohne besondere Vorfütterung. Körpergewicht 1350 g. Lebergewicht 63 g.

1. 4.5492 g gaben 1.2366 Trockenrückstand = 27.18 %;
2. a) 10.5240 g gaben 0.0017 FePO_4 ,
b) 10.7562 g gaben 0.0016 FePO_4 .

Versuch 6.

Körpergewicht im Beginn des Versuches 1050, am Ende 1060 g.
Ernährung wie bei 1 und 2, jedoch für reichliche Ernährung gesorgt.
Mit der Nahrung erhielt das Thier 10 Tage lang pro Tag 0.5 g Eisenatmidalbumosat durch Fällung von Atmidalbumose mit Eisenchlorid dargestellt. Eisengehalt 4.15 % = 0.021 Eisen. Lebergewicht 53 g.

1. 2.4968 g gaben 0.6536 Trockenrückstand = 26.18 %;
2. a) 10.1050 g gaben 0.0026 FePO_4 ,
b) 10.2184 g gaben 0.0027 FePO_4 .

Versuch 7.

Anfangsgewicht 1020. Endgewicht 950 g. Ernährung und Eisenzufuhr wie bei 5. Lebergewicht 41 g.

1. 2.6972 g gaben 0.6478 Trockenrückstand = 23.47 %;
2. a) 13.3464 g gaben 0.0036 FePO_4 ,
b) 13.4746 g gaben 0.0035 FePO_4 .

Versuch 8.

Anfangsgewicht 1250, Endgewicht 1370 g. Das Thier erhielt pro Tag 0.1 g paranucleinsaures Eisen = 0.022 g Eisen. Lebergewicht 78 g.

1. 4.1402 g gaben 1.1490 Trockenrückstand = 27.93% ;

2. a) 11.8114 g gaben 0.0042 FePO_4 .

b) 12.1726 g 0.0055

Versuch 9.

Anfangsgewicht 1450, Endgewicht 1410 g. Pro Tag 0.1 g paranucleinsaures Eisen. Lebergewicht 79.5 g.

1. 4.1818 g gaben 1.2318 Trockenrückstand = 29.45% ;

2. a) 10.7722 g gaben 0.0033 FePO_4 .

b) 10.2902 g 0.0036

Versuch 10.

Anfangsgewicht 1950, Endgewicht 2105 g. Pro Tag 0.90 Ferratin (Käufliches Präparat in Originalpackung. Der Eisengehalt des lufttrockenen Präparates betrug 7.11% = 0.064 Eisen. Lebergewicht 91 g.

1. Trockenbestimmung aus Verschen versäunt:

2. a) 11.0984 g gaben 0.0032 FePO_4 .

b) 9.1044 g 0.0029

Versuch 11.

Anfangsgewicht 1820, Endgewicht 1770 g. Dieselbe Quantität Ferratin. Lebergewicht 40 g (!)

1. 4.3072 g gaben 1.1866 Trockenrückstand = 27.55% ;

2. a) 8.9942 g gaben 0.0036 FePO_4 .

b) 9.1044 g 0.0032

Versuch 12.

Anfangsgewicht 2500, Endgewicht 2520 g. Fütterung pro Tag 50 g Hafer, 100 Weisskohl, 100 Mohrrüben, Lebergewicht 74.7 g. Die Leber ist sehr glycogenreich.

1. 2.6428 g gaben 0.8102 Trockenrückstand = 30.73% ;

2. a) 10.2064 g gaben 0.0030 FePO_4 .

c) 10.5570 g 0.0033

Versuch 13.

Anfangsgewicht 2490, Endgewicht 2460 g. Fütterung dieselbe wie bei Nr. 12. Lebergewicht 81.3.

1. 3.3664 g gaben 0.9696 Trockenrückstand = 28.8% ;

2. 10.4364 g 0.0032 FePO_4 .

In nachfolgender Tabelle sind die erhaltenen Resultate übersichtlich zusammengestellt.

Nummer des Versuchs- thieres	Angewendetes Eisenpräparat	Körper- gewicht am Ende des Ver- suches in g	Gewicht der Leber	100 g Leber enthalten Eisen in mg	100 g Leber- Trocken- substanz enthalten Eisen in mg	Die ganze Leber enthält Eisen in mg	1 Kilo Thier enthält in der Leber Eisen in mg	Bemerkungen
3	0	750	33.5	8.66	32.72	2.90	3.87	Ohne Vorfütterung
4		1370	42.5	8.05	31.36	3.42	2.50	
5		1350	63	5.74	21.15	3.62	2.68	
12		2520	74.7	11.28	36.60	8.44	3.33	
13		2460	81.3	11.37	39.48	9.24	3.76	
1	0,25 paranucle. Eisen 0,055 Eisen p. d.	730	26.5	26.03	98.82	6.88	9.43	10 Tage sehr reichlich gefüttert.
2		620	19.5	29.30	113.47	5.71	9.21	
8	0,1 paranucle. Eisen 0,022 Eisen p. d.	1370	78	15.00	53.00	11.68	8.51	
9		1440	79.5	11.60	39.36	9.22	6.54	
6	0,5 Eisenatmidalbum. = 0,021 Eisen p. d.	1060	53	9.62	36.68	5.02	4.81	
7		950	41	9.92	41.78	4.02	4.23	
10	0,90 Ferratin 0,064 Eisen p. d.	2105	91	11.25	nicht bestimmt	10.24	4.86	
11		1770	40	13.90	50.56	5.56	3.14	

Die Berechnung der Mittelzahlen ergibt für den Gehalt an Eisen in mg

Eisen- präparat	100 g frische Leber enthalten	100 g Trocken- substanz der Leber enthalten	1 Kilo Thier enthält in der Leber	
0	Mittel aus den drei ersten Versuchen.	7.48	28.43	3.02
	Mittel aus allen (5) Versuchen.	9.02	32.26	3.23
Para- nuclein- saurer Eisen.	Mittel aus den beiden ersten Versuchen.	27.66	106.15	9.32
	Mittel aus allen 5 Versuchen.	20.48	76.38	8.421)
Eisenatmid- albumose.	—	9.77	39.23	4.53
Ferratin.	—	12.58	—	4.00

1) In einer vorläufigen Mittheil., Centralbl. f. d. med. W., 1900, Nr. 51, lautet diese Zahl 9.05 in Folge eines leider überschenen Rechenfehlers.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass durch 10tägige Fütterung mit paranucleinsaurem Eisen der Eisengehalt der Leber ansehnlich, im Maximum etwa auf das dreifache gesteigert wird und erheblich mehr, als durch die anderen angewendeten Eisenverbindungen.

Darstellung der Paranucleinsäure.

Zur Darstellung der Säure aus der Eisenverbindung wurde in Anbetracht der Empfindlichkeit der Säure gegen Alkali zuerst versucht, die Eisenverbindung durch Salzsäure zu zersetzen und durch Alkohol zu fällen.

Der aus 30 g Casein resultirende gut ausgewaschene feuchte Eisenniederschlag wurde in 35 ccm. Salzsäure von 1,124 D gelöst und filtrirt. Das Volumen der Lösung betrug 80 ccm. Sie wurde in 320 ccm. absoluten Alkohol gegossen, die Mischung blieb vollkommen klar, nach Zusatz von 500 ccm. Aether entstand indessen ein reichlicher flockiger Niederschlag, derselbe wurde abfiltrirt und gut mit Alkohol absolutus gewaschen, dann mit Aether behandelt und in Form eines weissen, nicht hygroskopischen Pulvers erhalten, das sich äusserst leicht und ganz klar mit stark saurer Reaction in Wasser löste.

Unerwarteter Weise enthielt die Substanz Eisen in merklicher Menge und auch Chlor. Es liegt natürlich sehr nahe, an eine Verunreinigung mit Eisenchlorid zu denken, indessen ist die Sachlage doch nicht so einfach. Versetzt man die wässrige Lösung mit Silbernitrat, so bleibt sie, abgesehen von einer minimalen Opalescenz, klar: auch Zusatz von Essigsäure ändert nichts daran. Setzt man jedoch Salpetersäure hinzu, so entsteht eine dichte weisse Trübung, erhitzt man nunmehr zum Sieden, so scheiden sich unter leichter Gelbfärbung der Flüssigkeit dicke weisse Klumpen von Chlorsilber aus. Ebenso bekommt man sofort Chlorsilber, wenn man die Lösung der Substanz in verdünnter Salpetersäure mit Silbernitrat versetzt. Es mag dahingestellt bleiben, ob die Salzsäure nur eine Verunreinigung ist oder ob es sich um eine chemische Verbindung handelt.

Der Umstand, dass die Lösung der Substanz mit Silbernitrat keinen Niederschlag gibt, auch nicht nach Zusatz von Essigsäure, beweist nicht unmittelbar, dass es sich um eine chemische Verbindung handelt, denn auch Albumoselösungen, welche Chlornatrium enthalten, geben, mit Essigsäure angesäuert, mit Silberlösung allein oft keinen Niederschlag, sondern erst nach dem Erhitzen mit Salpetersäure. Für das Bestehen einer chemischen Verbindung spricht allerdings, dass die Quantität der Salzsäure anscheinend recht beträchtlich ist, sowie folgende Beobachtung: Löst man Paranucleinsäure (die Darstellung siehe weiter unten) in Wasser, theilt die Lösung in zwei gleiche Hälften und säuert die eine Hälfte mit einigen Tropfen Salzsäure an, die andere nicht, so wird die nicht angesäuerte Probe durch Zusatz des mehrfachen Volumens Alkohol absolutus sofort gefällt, die salzsäurehaltige dagegen nicht, sondern erst nach Zusatz des gleichen Volumens Aether. Der abfiltrirte, mit Alkohol absolutus, dann mit Aether gewaschene Niederschlag verhält sich hinsichtlich seines Chlorgehaltes ganz so, wie die in Rede stehende, aus der Eisenverbindung durch Salzsäure, Alkohol und Aether erhaltene Fällung.

Da die Zersetzung mit Salzsäure sich somit als unbrauchbar, die Zersetzung mit Ammoniak als unsicher erwiesen hatte, musste ich dazu zurückkehren, die Eisenverbindung durch Natronlauge umzusetzen. Dieses Verfahren macht insofern Schwierigkeiten, als die Umsetzung der Eisenverbindung bei zu schwacher Einwirkung sehr unvollständig ist, also grosse Verluste bedingt, bei zu starker Einwirkung dagegen die Spaltung eines Theils der Paranucleinsäure oder selbst vollständige Spaltung zu befürchten ist. Glücklicher Weise lässt sich leicht erkennen, ob eine solche Spaltung stattgefunden hat. In diesem Falle gibt nämlich das Filtrat des Gemisches von Natronlauge und Eisenniederschlag bei Zusatz von BaCl_2 eine Trübung resp. Niederschlag, es muss also bei dieser Prüfung ganz klar bleiben. Ich bin schliesslich bei folgenden Verhältnissen stehen geblieben.

Der feuchte Eisenniederschlag aus 30 g Casein wird mit 100 ccm. Wasser in der Reibschale zu einer ganz gleichmässigen Suspension verrieben, bei Zimmertemperatur mit

80—90 ccm. Halbnormallauge durchgerührt,¹⁾ wobei vollständige Lösung eintritt. Die Lösung wird erhitzt, bis die Umsetzung eingetreten ist, was sich an der Bildung eines im Wesentlichen aus Eisenhydroxyd bestehenden Niederschlages zu erkennen gibt, und nun möglichst schnell filtrirt (resp. abgutscht) und zwar in einen Filtrirkolben, welcher etwa $\frac{3}{4}$ der zur Sättigung der Natronlauge erforderlichen Quantität Essigsäure enthält, oder auch die ganze Quantität, ein- oder zweimal nachgewaschen. Von der sauer reagirenden, etwas gelblichen Flüssigkeit, in welcher eine Zersetzung der Paranucleinsäure nicht mehr zu befürchten ist, wird eine Probe abgenommen und mit Barytwasser alkalisirt: sie muss dabei klar bleiben. Wird sie flockig trüb, so ist die Operation misslungen und die Darstellung muss verworfen werden, doch kam dieses, nachdem die obigen Einzelheiten einmal ausgearbeitet waren und genau innegehalten wurden, nicht mehr vor. Das sauer reagirende Filtrat fällt man nunmehr mit Kupferacetat (ca. 5%ige Lösung), solange noch ein Niederschlag entsteht, lässt den Niederschlag absitzen, und wäscht ihn einige Mal durch Decantiren,²⁾ zersetzt durch Einleiten von H_2S , erhitzt auf dem Wasserbad zum Absetzen des CuS , filtrirt, treibt aus dem klaren Filtrat H_2S durch einen Luftstrom aus und dampft dasselbe bis auf etwa 60 ccm. ein. Das Abdampfen kann unbedenklich auf dem Wasserbad geschehen, Vacuum ist nicht erforderlich.

Man lässt nun bis zum nächsten Tage stehen, filtrirt von einer geringen Trübung ab und fällt durch Eingiessen in das mehrfache Volumen Alkohol absolutus, entwässert durch Alkohol und Aether.

Man erhält so die Substanz als feines, weisses Pulver, das sich sehr leicht mit ausgesprochen saurer Reaction in kaltem

1) Ursprünglich wurden nur 50 ccm. Halbnormallauge angewendet, dann, da hierbei die Lösung nicht vollständig erfolgte, noch 5—6 ccm. 15%ige Natronlauge hinzugesetzt. — Vielleicht ist auch die Umsetzung mit Natriumcarbonat vorthellhaft.

2) Beim Waschen auf dem Filter backt der Niederschlag zusammen und muss dann zur Zersetzung mit H_2S in der Reibschale durchgerieben werden.

Wasser löst. Die heisse Lösung scheidet beim Erkalten einen flockigen Niederschlag aus, der sich beim Erwärmen wieder löst.

Sehr eigenthümlich ist das Verhalten der Substanz beim Eindampfen der Lösung auf dem Wasserbad zur Trockne, das ich zunächst anwendete, um die im Filtrate vom Schwefelkupfer vorhandene gelöste Substanz erst einmal zu Gesicht zu bekommen. Sie hinterbleibt dabei als spröde, hornartige, gelblich resp. bräunlich gefärbte Masse, welche beim Uebergiessen mit Wasser glasig aufquillt, ganz besonders dann, wenn man das Wasser in die noch heisse Schale giesst, sehr ähnlich dem Ovomuroid. Wie bei diesem löst sich die glasig gequollene Masse erst beim Erhitzen mit Wasser zum Sieden und nur allmählich. Dabei bleibt ein kleiner Rest ungelöst. Diesen kann man, insoweit es sich um das Filtrat vom Schwefelkupfer handelt, leicht als zum Theil aus Paranuclin bestehend erweisen. Es zeigte sich aber bald, dass, wenn man das Filtrat zur Trockne dampft und den Rückstand mit Wasser zum Sieden erhitzt, wiederum ein kleiner Theil ungelöst bleibt und so fort. Diese Erscheinung machte mich Anfangs zweifelhaft, ob die erhaltene Substanz einheitlicher Natur sei. Man könnte annehmen, dass es sich um ein Gemisch von 2 Substanzen handelt, von denen die eine sich sehr langsam und nur bei wiederholtem Eindampfen abscheidet. Das ist indessen wenig wahrscheinlich, viel wahrscheinlicher, dass es zwei physikalisch verschiedene Formen der Substanz gibt und dass die hornartige Form, wie sie der Kürze halber genannt werden mag, einmal gebildet, nicht völlig wieder in die lösliche überführbar ist. In dieser Deutung werde ich dadurch bestärkt, dass ganz dieselbe Erscheinung auch beim Ovomuroid zu beobachten ist; auch bei diesem ist die hornartige Form durch Kochen mit Wasser nicht völlig in die lösliche überzuführen, es bleibt immer ein Rest ungelöst. Eine völlige Entscheidung habe ich über diesen Punkt noch nicht herbeiführen können, sie würde dadurch zu treffen sein, dass man die Lösung immer wieder aufs Neue eindampft; geht dann schliesslich fast nichts mehr in die wässerige Lösung über, so ist die Richtigkeit der Erklärung dargethan.

Auch über Schwefelsäure trocknet die Lösung der Säure zu einer hornartigen Masse ein, krystallisirt konnte die Substanz nicht erhalten werden.

Bezüglich der Zusammensetzung der Säure und ihrer Eigenschaften beschränke ich mich vorläufig auf folgende Angaben:

a) Zusammensetzung der direkt aus der wässerigen Lösung mit Alkohol gefällten Substanz, bei 110—115° getrocknet:

1. 0,1803 g gaben, mit Bleichromat im offenen Rohr verbrannt, 0,2840 CO₂ = 42,96% C und 0,1152 H₂O = 7,09% H.

2. 0,1808 g gaben 21,5 ccm. N bei 18° und 750 mm. B = 13,55% N.

3. 0,352 g gaben nach der Molybdänmethode 0,0510 Mg₃P₂O₇ = 4,05% P.

b) Zusammensetzung der aus der hornartigen Modification durch Kochen mit Wasser etc. dargestellten Substanz bei 110—115° getrocknet:

1. 0,1620 g gaben 0,2525 CO₂ = 42,51% C und 0,1017 H₂O = 6,97% H.

2. 0,1680 g gaben 19,6 ccm. N bei 16° und 740 mm. B = 13,25% N.)

3. 0,3569 g gaben 0,0550 Mg₃P₂O₇ = 4,31% P.

Eigenschaften.

1. Die Substanz ist in Wasser löslich, in heissem leichter als in kaltem, die wässerige Lösung reagirt sauer und löst kohlen-sauren Kalk unter Entwicklung von Kohlensäure: sie ist in Alkohol unlöslich, aus der wässerigen Lösung durch Alkohol fällbar, fast unlöslich in Eisessig.

2. Sie ist linksdrehend. Eine ca. 2%ige Lösung drehte im Laurent'schen Halbschattenapparat bei Natriumlicht im 1-Decimeterrohr 55' links. Danach berechnet sich α_D zu -46° . Die Bestimmung ist nur als annähernde zu betrachten.

3. Versetzt man die 1%ige Lösung mit dem gleichen Volumen kaltgesättigtem Barytwasser und erhitzt zum Sieden, so trübt sie sich plötzlich unter Ausscheidung eines reichlichen flockigen Niederschlages, welcher sich stark P-haltig und N-haltig

1) Die Bestimmungen von C, H und N hat Herr Dr. C. Neuberg freundlichst für mich ausgeführt, wofür ich demselben auch an dieser Stelle besten Dank sage.

erweist. Die nähere Untersuchung dieses Barytniederschlags steht noch aus. Zur Reaction gehört ein gewisser Ueberschuss an Baryt: sie kann ausbleiben, wenn man stärkere Lösungen nur mit Barytwasser alkalisirt.

4. Versetzt man die 1%ige Lösung mit etwa dem gleichen Volumen Natronlauge von 1,34 D, und erhitzt einige Minuten zum Sieden oder etwa eine halbe Stunde im Wasserbad, so enthält die Lösung Orthophosphorsäure, durch Ansäuern mit HCl. Alkalisiren mit NH_3 und Zusatz von Magnesiamischung nachweisbar. — Auch der oben erwähnte Barytniederschlag wandelt sich bei längerem Kochen mit Barytwasser allmählich in Baryumphosphat um.

Verhalten der ca. 1%igen Lösung zu Reagentien.

a) Fällungsreactionen:

1. Ferriammonsulfat (5%): bewirkt in der Kälte keine Trübung: beim Erhitzen zum Sieden massiger Niederschlag.

2. Eisenchlorid (3%): keine Trübung, auch nicht beim Erhitzen zum Sieden.

3. Silbernitrat (3%): 0. 1)

4. Quecksilberchlorid (5%): Anfangs eine wieder verschwindende Trübung, erst bei reichlichem Zusatz bleibende Trübung, schliesslich geringer Niederschlag.

5. Kupferacetat (5%): reichlicher Niederschlag.

6. Bleiessig: ebenso.

7. Metaphosphorsäure: 0.

8. Essigsäure + Ferrocyankalium: 0.

9. Tannin: dicker Niederschlag.

10. Phosphorwolframsäure in der mit Salzsäure angesäuerten Lösung: ebenso.

11. Trichloressigsäure: erst bei reichlichem Zusatz geringe Trübung.

12. Gleiches Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung: Niederschlag.

13. Verdünntes (1:3) Eiereiweiss: Trübung.

1) Das Ammonsalz gibt dagegen starke Fällung.

14. Serum: ¹⁾ Trübung, die sich im Ueberschuss von Serum grösstentheils löst, bei geringerem Zusatz bleibende Trübung, beim Stehen allmählich geringer Niederschlag.

15. Witte'sches Pepton: starke, im Ueberschuss zum Theil lösliche, Trübung; beim Stehen Niederschlag.

b) Farbenreactionen:

1. Biuretprobe: positiv.

2. Xanthoproteinprobe: schwach positiv. ²⁾

3. Millon's Reaction: Trübung, die sich beim Erhitzen löst, unter Auftreten gelber, schwach röthlicher Färbung, später geringer, schwach röthlicher Niederschlag.

4. Molisch's Reaction: negativ.

5. Adamkiewicz's Reaction: negativ. ³⁾ Dabei kommt in Betracht, dass sich die Substanz fast gar nicht in Eisessig löst.

Weitere Mittheilungen hoffe ich bald machen zu können. Vor Allem soll an einem grösseren Material die Frage nach der Einheitlichkeit der Substanz geprüft werden, für welche bisher keine bestimmten Beweise vorliegen, und an welchen auch namentlich der Umstand zweifeln lässt, dass die Substanz Spuren von Schwefel enthält.

¹⁾ Hierzu ist ein Transsudat (Ascites) benutzt, da Blutserum gerade nicht zur Verfügung stand.

²⁾ Die Paranucleinsäurelösung war in diesem Falle nicht 1%ig, sondern von unbekannter Concentration.

³⁾ Dieselbe ist mit einer kleinen Probe der Substanz direkt angestellt.