

Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln.

V. Mitteilung.

Zur Frage über die Konstitution des Carnitins.

Von

R. Krimberg.

(Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium der Universität Moskau.)
(Der Redaktion zugegangen am 26. August 1906.)

Nachdem es sich erwiesen hatte, daß das von Wl. Gulewitsch und mir entdeckte Carnitin ein ständiger Bestandteil nicht nur des Liebig'schen Fleischextraktes, sondern auch des lebenden Muskels ist, nahm ich die Aufklärung der chemischen Struktur dieses Körpers in Angriff. Die entsprechenden Versuche sind noch nicht abgeschlossen, und augenblicklich möchte ich nur über jenen Teil der Arbeit berichten, aus welchem mit Sicherheit hervorgeht, daß das Carnitin ein Abkömmling des Trimethylamins ist, resp. daß es die Gruppe des Trimethylamins enthält. Durch diese Tatsache wird das Carnitin in eine nahe Beziehung zu der wichtigen Cholin- resp. Betainreihe gebracht.

Das Ausgangsmaterial für den einen der zwei ausgeführten Versuche bestand zum Teil aus bei 150—151° schmelzendem Carnitingoldchlorid, zum Teil aus analysenreinem Carnitinplatinchlorid.

0,3953 g der bei 110° getrockneten Substanz hatten 13,55 ccm N bei 19° und 747 mm Bar. geliefert.

Gefunden:	Berechnet für $C_{14}H_{32}N_2O_6Cl_6Pt$:
N = 3,84%	3,84%

Das aus beiden Salzen gewonnene Chlorid wurde auf die übliche Weise durch das Phosphorwolframat in die freie Base übergeführt. Die bis zur Trockene eingedampfte Lösung derselben hinterließ einen etwas gefärbten sirupösen Rückstand von freiem Carnitin resp. von dessen Carbonat, welcher bis zum anderen Tag im Vakuum über Schwefelsäure gehalten zum größten Teil unter Bildung von strahligen Drusen sehr feiner nadelförmiger Kryställchen erstarrt war und 0,84 g wog.

Die Substanz wurde im Rohr mit der 10fachen Menge Wasser 6 Stunden bei 150° erhitzt, wonach der Inhalt der Röhre stark nach Trimethylamin roch. Er wurde in einen geräumigen Kolben übergeführt, mit viel Wasser versetzt und der Destillation unterworfen. Dieselbe wurde fortgesetzt, solange das Destillat, das in verdünnte Salzsäure aufgefangen wurde, noch alkalisch reagierte.

Das Destillat wurde bis zur Trockene eingedampft, die überschüssige Salzsäure verjagt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit Goldchlorwasserstoffsäure gefällt. Der citronengelbe Niederschlag wurde abgesaugt und gewaschen. Einmal umkrystallisiert, wurde die Substanz zerrieben, bei 100° getrocknet und analysiert.

0,0948 g Substanz hinterließen nach dem Glühen 0,0466 g Au.

Gefunden:	Berechnet für $N(CH_3) \cdot HCl \cdot AuCl_3$:
Au = 49,16%	49,41%

Das Resultat der Goldbestimmung sowie auch der Geruch der freien Base zeigen, daß die vom Carnitin abgespaltene Substanz ohne Zweifel Trimethylamin war. Das analysierte Goldsalz schmolz bei $235-238^{\circ}$ unter Zersetzung.

Die im Destillationskolben hinterbliebene Flüssigkeit reagierte deutlich alkalisch. Sie wurde stark eingeeengt und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt und gewaschen, und danach aus ihm auf die übliche Weise die freie Base gewonnen. Zur Lösung derselben wurde unter der Kontrolle von rotem Kongopapier ein kleiner Überschuß von Salzsäure hinzugefügt, die Flüssigkeit stark eingeeengt und mit Goldchlorwasserstoffsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde umkrystallisiert, wobei sich die für das Carnitingoldchlorid charakteristischen Krystalle, nämlich hellgelbe feine Nadelchen und viel dunklere orangefarbene Prismen ausschieden. Der Schmelzpunkt der trockenen Substanz lag zwar ein wenig niedriger, als es für das Carnitingoldchlorid üblich ist, nämlich schon bei 148° , die mikroskopische Untersuchung¹⁾ der Krystalle

¹⁾ Diese mikroskopische Untersuchung wurde von Herrn Professor Wl. Gulewitsch liebenswürdigerweise ausgeführt.

aber zeigte deren volle Identität mit den Krystallen der Goldverbindung des Carnitins. Das Filtrat von dem Carnitinphosphorwolframat wurde von der überschüssigen Phosphorwolframsäure befreit und bis zur Trockene eingedampft, wonach eine kleine Menge stark gefärbten Sirups hinterblieb, die zu weiteren Operationen nicht ausreichte.

Es hatte sich also erwiesen, daß beim Erhitzen mit Wasser bis 150° die Spaltung des Carnitins nicht bis zum Ende gegangen war. Deswegen wurde ein zweiter Versuch veranstaltet, wobei die Lösung des Carnitins mit Ätzbaryt in Einschmelzröhren erhitzt wurde, was eine vollständige Spaltung der Base zur Folge hatte.

Das in diesem Versuch angewandte Carnitin war in Form der Sublimatverbindung gereinigt worden. Es waren im ganzen 24,9 g Carnitinquecksilberchlorid von der Zusammensetzung $C_7H_{15}NO_3 \cdot 2 HgCl_2$ und vom Schmelzpunkt $196-197^{\circ}$ gesammelt worden.¹⁾ Ein Teil der Substanz war bei 100° getrocknet und darin der Quecksilbergehalt bestimmt worden.

0,2799 g der Substanz hatten 0,1605 g Hg, als HgS ausgeschieden, geliefert.

Gefunden:	Berechnet für $C_7H_{15}NO_3 \cdot 2 HgCl_2$:
Hg = 57,33%	56,90%

Die Sublimatverbindung wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat mit Soda neutralisiert, eingeeengt und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit viel Wasser gewaschen, und aus ihm die freie Base ausgeschieden. Die Lösung derselben wurde bis 60 ccm eingeeengt, in der Absicht, eine ca. 10%ige Lösung des Carnitins zu erhalten, da nach der Theorie aus 24,9 g Carnitinquecksilberchlorid von der oben angeführten Zusammensetzung 5,7 g freies Carnitin gewonnen werden sollten, und mit 12 g krystallinischem Barythydrat in Einschlußröhren 6 Stunden bei 150° erhitzt. Die Spitzen der Röhren wurden in einem Gummischlauch, dessen anderes Ende in 100 ccm titrierte ungefähr normale Salzsäure eingetaucht war, abgebrochen, wobei einige

¹⁾ Über die Quecksilberverbindungen, sowie über einige andere Salze des Carnitins wird später berichtet werden.

Gasblasen in die Säure übergangen. Der Inhalt der Röhren, welcher ebenfalls wie beim ersten Versuch stark nach Trimethylamin roch, wurde auf die schon oben beschriebene Weise der Destillation unterworfen.

Das Destillat, welches durch die titrierte Salzsäure aufgefangen worden war, wurde bis zu 1 l aufgefüllt. Von der Flüssigkeit wurden zwei Proben zu je 25,0 ccm entnommen und titriert. Es ergab sich, daß in je 25,0 ccm der titrierten Flüssigkeit durchschnittlich 5,18 $\frac{1}{10}$ -norm. Salzsäure von einem basischen Körper, welcher sich später als Trimethylamin erwies, gebunden waren. Im ganzen waren also durch die vorgelegte Salzsäure 0,2909 g Stickstoff aufgefangen worden. Aus dem Rest des titrierten Destillats wurde die Salzsäure verjagt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, und ein Teil der Lösung mit Goldchlorwasserstoffsäure gefällt. Der ziemlich reichliche citronengelbe Niederschlag wurde abgesaugt, gewaschen und aus heißem Wasser umkrystallisiert. Die Substanz wurde bei 100° getrocknet und ihr Goldgehalt bestimmt.

0,1838 g Substanz hinterließen nach dem Glühen 0,0915 g Gold.

Gefunden:	Berechnet für $C_3H_{10}NAuCl_4$:
Au = 49,78%	49,41%

Das Resultat der Goldbestimmung zeigt also, daß man das Trimethylamingoldchlorid in den Händen gehabt hat. Die Substanz schmolz bei 236—238° zu einer blutroten Flüssigkeit, welche sich bei weiterem Erhitzen schnell zersetzte.

Die Flüssigkeit, welche nach beendeter Destillation im Destillierkolben geblieben war, wurde durch Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit, der Niederschlag abgesaugt und gewaschen, das Filtrat eingeengt. In der bis zu 500 ccm aufgefüllten Flüssigkeit wurde die Menge des enthaltenen Stickstoffs nach dem Kjeldahlschen Verfahren bestimmt. Zwei Proben der Flüssigkeit von je 10,0 ccm ergaben dabei genau die gleiche Menge Ammoniak, welche nämlich 1,87 ccm $\frac{1}{10}$ -norm. Schwefelsäure gebunden hatte. In 500 ccm der Flüssigkeit waren also 0,1315 g Stickstoff enthalten. Oben wurde schon erwähnt, daß beim Destillieren der Flüssigkeit 0,2909 g Stickstoff in Form des Trimethylamins durch die vorgelegte Salzsäure aufgefangen

worden waren, welche zusammen mit dem soeben bestimmten, im Destillierkolben gebliebenen 0,4224 g Stickstoff ausmachen. Diese Menge Stickstoff gehört dem Carnitin, welches im Anfange des Versuches aus der Sublimatverbindung ausgeschieden und durch Phosphorwolframsäure niedergeschlagen war, an, während die Menge des Stickstoffs, welche in den 24,9 g der in die Arbeit genommenen Sublimatverbindung enthalten war, nach der Formel $C_7H_{15}NO_3 \cdot 2HgCl_2$ berechnet 0,4973 g ausmachen sollte. Die Differenz beträgt also 0,0749 g Stickstoff, welcher zum Teil bei der Arbeit, z. B. beim Überführen des Inhalts der Einschmelzröhren in den Destillierkolben, verloren gegangen, zum Teil dagegen in dem Filtrat von dem Phosphorwolframsäureniederschlage zurückgeblieben sein konnte.

Die nach der zweiten Kjeldahlbestimmung verbliebene Flüssigkeit reagierte alkalisch. Sie wurde mit Schwefelsäure neutralisiert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, sorgfältig gewaschen und daraus auf die übliche Weise die freie Base resp. ihr kohlensaures Salz gewonnen. Ungefähr der dritte Teil der stark eingeeengten Lösung der Base wurde in der schon oben angegebenen Weise mit Salzsäure versetzt und mit Goldchlorwasserstoffsäure gefällt. Der hellgelbe Niederschlag wurde aus heißem Wasser umkrystallisiert. Die erhaltenen kleinen Kryställchen erschienen unter dem Mikroskop als kurze vierkantige, teilweise in Drusen gruppierte Prismen. Die Substanz wurde bei 100° getrocknet und ihr Goldgehalt bestimmt.

0.1915 g Substanz lieferten 0,0948 g Au als Au_2S_3 ausgeschieden.

Gefunden:

Au = 49,50%

Berechnet für $C_3H_{10}NAuCl_4$:

49,41%

Der gefundene Goldwert der Substanz stimmt also sehr gut für das Trimethylamingoldchlorid. Beim Erhitzen zersetzte sich aber die Substanz zwischen 282 und 291° (unkorr.), während die beiden früher analysierten Präparate des Trimethylamingoldchlorids bei 235 — 238° unter Zersetzung schmolzen. Jetzt wurde auch der übrige Teil der Lösung der Base in derselben Weise wie der erste mit Salzsäure versetzt und mit Goldchlorwasserstoffsäure ausgefällt. Beim Umkrystallisieren des Nieder-

schlages aus heißem Wasser schieden sich dünne bis zu 1 cm lange, unter dem Mikroskop vierkantige Nadeln aus; ihre Farbe war gelb mit schwachem orangenen Anflug. Ein Teil der Nadeln wurde zerrieben, bei 100° getrocknet, und darin der Stickstoff bestimmt.

0,3160 g Substanz lieferten 10 ccm Stickstoff bei T. = 23° und Bar. = 748 mm.

Gefunden:	Berechnet für $C_3H_{10}NAuCl_4$:
N = 3,48%	3,52%

Die in der Destillationsflüssigkeit zurückgebliebene und durch die Phosphorwolframsäure gefällte Base ist folglich ebenfalls Trimethylamin. Unerwartet erschien aber nur die Tatsache, daß eine so bedeutende Menge Trimethylamin in Anwesenheit von überschüssigem Ätzbaryt nicht überdestilliert war, obwohl die Destillation, wie schon gesagt, erst dann unterbrochen wurde, als rotes Lackmuspapier kein Trimethylamin mehr oder höchstens nur Spuren davon im Destillat nachwies. Ein Luftstrom wurde während des Destillierens durch die Flüssigkeit nicht geleitet.

Das soeben analysierte Präparat von Trimethylamingoldchlorid zersetzte sich beim Erhitzen zwischen 284 und 292° (unkorr.), also ungefähr innerhalb derselben Temperaturgrenzen wie das vorige, während die beiden ersten aus überdestilliertem Trimethylamin dargestellten Golddoppelsalze, deren Goldgehalt ebenfalls bestimmt worden war, schon bei 235–238° schmolzen. Aus diesen Tatsachen folgt, daß verschiedene Präparate von Trimethylamingolddoppelsalz bei verschiedenen Temperaturen schmelzen resp. sich zersetzen können, und daß die Differenz zwischen den Schmelz- resp. Zersetzungstemperaturen verschiedener Präparate zuweilen auffallend groß sein kann. Vor allem aber muß darauf hingewiesen werden, daß für die Identifizierung des Trimethylamingoldchlorids oder für die Prüfung dieses Salzes auf die Reinheit die Bestimmung des Schmelz- resp. des Zersetzungspunktes vollständig nutzlos ist, und daß in diesen Fällen die Analyse der Substanz absolut notwendig ist. Die in der Literatur befindlichen und mir bekannten Angaben, welche sich auf diesen Gegenstand beziehen, sind eben-

falls sehr verschieden, obwohl jeder der verschiedenen Autoren den von ihm gefundenen Schmelz- resp. Zersetzungspunkt des Trimethylamingolddoppelsalzes als den richtigen anzusehen scheint. Nach Zay¹⁾ schmilzt das Trimethylamingoldchlorid bei 220°, nach Bode²⁾ dagegen bei 238°, nach Willstätter³⁾ schmilzt es bei etwa 250° unter Zersetzung und endlich, nach Knorr⁴⁾ besitzt es den Zersetzungspunkt 253°.

Das Filtrat vom zweiten Phosphorwolframsäureniederschlage enthielt eine stickstofffreie Säure, welche in der Form ihres Barytsalzes isoliert werden konnte. Die Untersuchung dieses zweiten Komponenten des Carnitinmoleküls ist noch nicht abgeschlossen.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Prof. Wl. Gulewitsch für die vielseitige Unterstützung und Leitung während dieser Arbeit meinen besten Dank zu sagen.

¹⁾ Gazz. chim. ital., Bd. XIII, S. 420. (Zit. nach Beilsteins Handbuch d. organ. Chem., Bd. I, S. 1120.)

²⁾ Annal. d. Chem., Bd. CCLXVI, S. 299.

³⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXVIII, S. 3288.

⁴⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXII, S. 184.