

Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Ochsenieren.

Von
K. Bebeschin.

(Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium der Universität Moskau.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. Mai 1911.)

Unter den Extraktivstoffen der Nieren sind bis jetzt Purinbasen,¹⁾ Harnsäure,²⁾ Harnstoff,³⁾ Kreatin,⁴⁾ Leucin,²⁾ Taurin,¹⁾ Cystin,¹⁾ Glykogen⁵⁾ und Inosit⁶⁾ bekannt.

Die vorliegende Untersuchung wurde zur Aufklärung der Frage über die mittels der von Gulewitsch und Krimberg⁷⁾ ausgearbeiteten Methode isolierbaren Stoffe der Nieren unternommen.

Die Untersuchung wurde auf folgende Weise ausgeführt. Es war eine ziemlich große Menge, ungefähr 20 kg, der frischen Ochsenieren genommen. Die von dem Fettgewebe sorgfältig abpräparierten Nieren wurden in der Fleischhackmaschine zerkleinert und viermal mit je etwa 5 l Wasser im Laufe von einer $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt. Die vereinigten Auszüge wurden durch Marly kolliert, eingedampft und zuerst mit Bleizucker,⁸⁾ dann

¹⁾ Cloëta, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. XCIX, S. 298.

²⁾ O. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie, 7. Aufl., S. 638.

³⁾ P. Picard, Compt. rend., Bd. LXXXVII, S. 993.

⁴⁾ Kühne, Lehrbuch d. physiol. Chemie, 1868, S. 463.

⁵⁾ M. Abeles, Zentralbl. f. d. med. Wiss., 1876, S. 84.

⁶⁾ Cloëta, a. a. O.; Külz, Sitzungsber. d. Ges. zur Beförd. d. ges. Naturw. zu Marburg, 1876, Nr. 4.

⁷⁾ Hoppe-Seylers Handbuch der chem. Anal., 8. Aufl., S. 758.

⁸⁾ Zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes der von dem Bleizucker-niederschlage abfiltrierten Flüssigkeit wurden zwei neue Portionen der Nieren zu 482 g genommen. Die I. Portion wurde mit Wasser ausgekocht, die II. Portion damit auf dem Wasserbade digeriert. Der Stickstoffgehalt des Bleifiltrates der I. Portion bildete 0,20%, der II. Portion

mit Bleiessig gefällt. Der zweite Bleiniederschlag wurde mit Wasser sorgfältig ausgewaschen und dann mit heißem Wasser mehrere Male ausgezogen. Der dabei unlöslich gebliebene Teil des Niederschlages wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat auf dem Wasserbade bis zum kleinen Volumen eingengt. Am anderen Tage schied sich in ziemlich großer Menge ein krystallinischer Niederschlag aus. Der Niederschlag wurde aus heißem Wasser zweimal umkrystallisiert, wobei prachtvolle Krystalle erhalten waren. Mit dieser reinen Substanz wurden die von Scherer, Seidel und Gallois zum Nachweis des Inosits empfohlenen Reaktionen ausgeführt, die alle positiv ausfielen, was dafür spricht, daß die in Frage kommende Substanz Inositkrystalle darstellt. Inosit war auf diese Weise von Cloëta im Jahre 1856 gefunden und analysiert. Dieser Autor schied aber den Inosit aus der Lösung durch das Hinzufügen von 4 Volumen Alkohol: im gegebenen Falle konnte ich das Inosit direkt aus Wasser auskrystallisieren.

Das Filtrat von dem Bleiniederschlage samt den Waschwässern wurde vom Blei mit Schwefelwasserstoff befreit und auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedampft. Das eingengte Filtrat wurde mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure unter Vermeidung eines größeren Überschusses derselben gefällt. Es wurde ein Niederschlag erhalten, welcher am anderen Tage abgesaugt und mit Wasser sorgfältig ausgewaschen wurde. Darauf wurde der Niederschlag durch Verreiben mit Baryt von Phosphorwolframsäure befreit, der Barytüberschuß mit Kohlensäure entfernt, die Flüssigkeit gekocht. Das mit Salpetersäure neutralisierte Filtrat wurde mit 20%iger Silbernitratlösung gefällt. Der dabei erhaltene Niederschlag wurde abfiltriert und zu der Flüssigkeit noch weiter eine Silbernitratlösung zugefügt, bis schließlich ein Tropfen der Flüssigkeit auf dem Uhrglase mit einer Barytlösung zusammengebracht sofort einen bräunlichen Niederschlag

0.19% des Nierengewichtes. Somit ist der Stickstoffgehalt des Nierenextraktes 2mal kleiner als der des Fleischextraktes, wo Skworzow (Diese Zeitschrift. Bd. LXVIII, S. 33) 0.43% für Rindfleisch und 0.38% resp. 0.42% N für Kalbfleisch gefunden hat.

gegeben hat. Als dieser Punkt erreicht war, wurde zu der Flüssigkeit eine warme, gesättigte Barytlösung gebracht, so lange noch ein Niederschlag entstand — I. Silberbarytniederschlag, welcher gleich abgesaugt, mit Wasser gut ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Die von Schwefelsilber befreite Flüssigkeit wurde mit verdünnter Schwefelsäure zur Entfernung von Barytspuren bearbeitet. Aus der entsprechenden Fraktion des Fleischextraktes wurde von Gulewitsch und Amiradžibi¹⁾ Carnosin ausgeschieden. Der aus dem Nierenextrakte erhaltene I. Silberbarytniederschlag war so gering, daß nur seine optischen Eigenschaften geprüft werden konnten, wobei sich die erhaltene Substanz als linksdrehend erwies, während das Carnosin rechtsdrehend ist. Ebenso gering erwies sich auch der nach dem Vertreiben von Ammoniak erhaltene II. Silberbarytniederschlag,²⁾ worin Methylguanidin enthalten sein konnte.

Das Filtrat von dem II. Silberbarytniederschlage wurde mit Schwefelwasserstoff gesättigt, dann mit Schwefelsäure neutralisiert und schließlich eingeeengt, wobei die entstehende alkalische Reaktion mit Salpetersäure neutralisiert wurde. Dann wurde die Lösung mit dem Reaktiv von Kraut (einer Lösung von Wismutjodid in Natriumjodid), so lange noch ein Niederschlag entstand, gefällt. Der am anderen Tage abgesaugte und mit Wasser ausgewaschene Niederschlag war mit frisch gefälltem Bleioxydhydrat zur Entfernung von Jod und Wismut verrieben. Das erhaltene Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff gesättigt und die alkalisch reagierende Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingeeengt, wobei sich eine krystallinische Substanz ausschied. Die etwa 10 g wiegenden Krystalle wurden abgesaugt. Der größere Teil derselben ging in die Lösung nach der Zufügung von Alkohol. Die alkoholische Lösung krystallisierte weder selbständig, noch nach dem Zusetzen von Äther, auch bei längerem Stehen nicht. Dann wurden Alkohol und Äther abgedampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Nach zwei Tagen krystallisierte die Lösung im Vakuumexsikkator.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 565.

²⁾ Vgl. Gulewitsch, Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 471—475.

tor. Der Niederschlag wurde aus Wasser umkrystallisiert; die Reaktion der Lösung von der gereinigten Substanz war jetzt neutral.

I. 0,6520 g der lufttrockenen Substanz verloren beim Trocknen im Vakuumexsikkator 0,0904 g.

Gefunden:	Berechnet für
I.	$C_5H_{11}NO_2 \cdot H_2O$:
H_2O 13,87%	13,33%

Der etwas zu hoch erhaltene Wassergehalt kann durch die hygroskopischen Eigenschaften der Substanz erklärt werden.

II. 0,1676 g der im Vakuum getrockneten Substanz gaben 0,1452 g H_2O und 0,3160 g CO_2 .

III. Aus 0,1392 g Substanz wurden 15,65 ccm N bei 19° und 753 mm Bar. erhalten.

Gefunden:		Berechnet für
II.	III.	$C_5H_{11}NO_2$:
C 51,43%	—	51,24%
H 9,70%	—	9,47%
N —	12,74%	11,96%
O —	—	27,33%

Die Resultate der Analyse lassen somit die Vermutung aussprechen, daß die von mir aus den Nieren isolierte Substanz noch nicht vollkommen gereinigtes Betain ist.

Zur weiteren Reinigung und Identifizierung der Substanz wurden einige Salze derselben dargestellt. Die alkoholische Lösung der Substanz wurde mit einer heißgesättigten alkoholischen Sublimatlösung gefällt. Es wurde anfangs ein harziger, bei weiterem Hinzufügen des Reaktivs ein krystallinischer Niederschlag erhalten, welcher abgesaugt und einige Male mit Alkohol ausgewaschen wurde. Beim Umkrystallisieren des schneeweißen Niederschlages aus Wasser blieb ein Teil desselben ungelöst und nahm eine rötliche Färbung an. Das sich nach dem Erkalten der heiß filtrierten Lösung ausgeschiedene, schneeweiße krystallinische Pulver veränderte seine Farbe beim neuen Umkrystallisieren nicht. Die bei der ersten Auflösung in heißem Wasser eingetretene Zersetzung ist offenbar durch eine teilweise Spaltung des Sublimats in Quecksilberoxyd und Salz-

säure zu erklären, wobei ein Molekül der Salzsäure mit Betain das Chlorid bildet, wie es die Resultate der Analyse zeigen. Die Sublimatverbindung schmilzt bei 246—250°, je nach der Schnelligkeit der Erhitzung. Die Substanz wurde bei 100° getrocknet und analysiert.

IV. 0,7165 g Substanz gaben 0,5640 g HgS.

V. 0,5741 „ „ „ „ „ „ „ 0,6048 „ AgCl.

Gefunden:

IV.	V.
Hg 67,84%	—
Cl —	26,06%

Berechnet für

$C_5H_{12}NO_2Cl \cdot 6HgCl_2$:
67,49%
25,93%.

Husemann und Marmé¹⁾ erhielten bei anderen Bedingungen und zwar beim Füllen des salzsauren Betains mit einer alkoholischen Sublimatlösung in Gegenwart von Äther eine Verbindung von der Zusammensetzung $(C_5H_{12}NO_2Cl)_2HgCl_2$.

Der andere Teil der Lösung des von mir isolierten freien Betains war mit der Goldchloridlösung gefällt. Der erhaltene Niederschlag war zweimal aus heißem Wasser umkrystallisiert und zeigte den Schmelzpunkt von 204—212° je nach der Schnelligkeit der Erhitzung. Willstätter²⁾ gibt für Betaingoldchlorid den Schmelzpunkt 200—209° an. Die Substanz wurde bei 105° getrocknet und analysiert.

VI. 0,1646 g Substanz gaben nach dem Glühen 0,0696 g Au.

VII. 0,2972 „ „ „ „ „ „ „ 0,1261 „ „

Gefunden:

VI.	VII.
Au 42,28%	42,43%

Berechnet für

$C_5H_{12}NO_2AuCl_4$:
43,13%.

Der zu kleine Goldgehalt der Verbindung findet seine Erklärung in der obengenannten Arbeit von Willstätter, welcher gezeigt hat, daß bei bestimmten Krystallisationsbedingungen des Betainchloraurats Verbindungen mit einem geringeren Goldgehalt (42,29%—42,55% Au) erhalten werden. Bei anderen Krystallisationsbedingungen erhielt Willstätter Betainchloraurate sogar mit dem Goldgehalt von 41,34%—40,60%, was er durch den Krystallwassergehalt der Verbindungen erklärt:

¹⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., Spl. III, S. 249.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXV, S. 2702.

der Formel $C_5H_{12}NO_2AuCl_4 \cdot 2 H_2O$ entspricht der Goldgehalt von 39,98%. Das von Willstätter in Gegenwart von etwas Goldchlorid aus Wasser umkrystallisierte Chloraurat zeigte einen höheren Goldgehalt. Solche Erhöhung des Goldgehaltes trat auch bei meinem Goldsalz auf, nachdem 0,65 g desselben aus 13 ccm heißem Wasser unter Zusatz von 0,016 g Goldchlorid umkrystallisiert wurden.

VIII. 0,2312 g der bei 105° getrockneten Substanz gaben nach dem Glühen 0,0988 g = 42,73% Au.

Zur Darstellung des Chlorids wurde zu der wässerigen Lösung des freien Betains Salzsäure bis zu der Reaktion auf Kongo hinzugefügt, die Lösung im Vakuumexsikkator eingedampft und über Schwefelsäure und neben Kaliumhydrat getrocknet. Das erhaltene Salz wurde zweimal aus Wasser umkrystallisiert, in Vakuumexsikkator getrocknet und analysiert.

IX. Aus 0,1861 g Substanz wurden 13,8 ccm N bei 13° und 763 mm Bar. erhalten.

Gefunden:

IX.

N 8,76%

Berechnet für

$C_5H_{12}NO_2Cl$:

9,12%.

Eine geringe Quantität dieses Chlorids wurde zur Darstellung des Pikrats genommen. Die Substanz wurde in wenig Wasser gelöst und zu der Lösung eine gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung zugefügt. Bald schieden sich schöne Krystalle in Form von kleinen blaßgelben Nadelchen aus, die abgesaugt und mit wenig Wasser gewaschen wurden. Im Vakuumexsikkator getrocknet, zeigten sie Schmelzpunkt 183°. Denselben Schmelzpunkt und dasselbe Aussehen hatte das Pikrat, welches ich aus dem Kahlbaumschen Betainchlorid dargestellt habe. Tonani¹⁾ gibt den Schmelzpunkt des Betainpikrats von 180–181° an.

Die von mir ausgeführte Untersuchung zeigt somit, daß in jener Fraktion des Nierenextraktes, aus der bei der entsprechenden Bearbeitung des Fleischextraktes von Gulewitsch und Krimberg (l. c.) Carnitin isoliert worden war, Betain enthalten ist. Betain ist, wie bekannt, in den Pflanzen verbreitet, während die Angaben über sein Vorkommen im Tierreiche sehr spärlich

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXX, S. 390.

sind. In den Handbüchern findet man, daß Betain von Liebreich¹⁾ aus dem Harn isoliert worden sei. Aus der Abhandlung von Liebreich kann man aber ersehen, daß sich in dem Urin eine sehr kleine Quantität einer Base nachweisen läßt, die ein dem Neurin sehr ähnliches Verhalten zeigt; der Verfasser vermutet, daß dieselbe ein Oxydationsprodukt des Neurins sei, hat aber keine Analyse von diesem unbekanntem Körper ausgeführt. Brieger²⁾ fand Betain in den Miesmuscheln. Kutscher und Ackermann³⁾ erhielten Betain aus Krabbenextrakt. M. Henze⁴⁾ fand Betain bei Cephalopoden, als Bestandteil der Giftdrüsen und in einer bedeutend größeren Menge in frischen Muskeln dieses Tieres. Was das Vorkommen des Betains bei den Säugetieren betrifft, so sind in der Literatur keine diesbezüglichen Angaben zu finden.

Die für das quergestreifte Muskelgewebe charakteristischen Basen: Carnosin, Methylguanidin und Carnitin fehlen somit in den Nieren. Anstatt des Carnitins wurde aus den Nieren ein anderes ihm entsprechendes Derivat des Trimethylamins, Betain, isoliert, das in diesem Falle die Stelle des Oxybetains des Muskelgewebes vertritt und somit nicht nur in den Pflanzen und niederorganisierten Tieren, sondern auch in dem Organismus der Säugetiere, wenigstens als Bestandteil der Ochsenmilch vorhanden ist.

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. II, S. 12.

²⁾ Unters. über Ptomaine, III. Teil, S. 77.

³⁾ Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel, Bd. XIII, S. 610, Bd. XIV, S. 687.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXX, S. 253.