

Weitere Untersuchungen über die Herkunft des Kreatins.

III. Mitteilung.¹⁾

Von

Karl Thomas und M. G. H. Goerret.²⁾

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Arbeitsphysiologie, Berlin.)
(Der Redaktion zugegangen am 20. September 1918.)

Versuche, in denen ϵ -Guanidocaprinsäure³⁾ an Kaninchen verfüttert wurde, sowie solche⁴⁾, in denen überlebende Muskeln von Hunden mit Blut durchspült wurden, dem Arginin sowie γ -Guanidobuttersäure zugesetzt worden war, haben den Abbau dieser Substanzen zu Kreatin nicht darzutun vermocht. Eine kleine Vermehrung der kolorimetrisch gemessenen Kreatinmenge scheint dabei aufgetreten zu sein, eine Beweiskraft darf ihr nicht beigelegt werden, da der Kreatingehalt des Durchblutungspräparates nicht gleichmäßig genug war⁵⁾; von ihm hat aber die Berechnung auszugehen. Außerdem stand die Zunahme an Kreatin in gar keinem Verhältnis zu der großen Menge vermeintlicher Muttersubstanz, die dem durchströmenden Blut zugesetzt worden war. Neben anderen Möglichkeiten konnte der vermutete Abbau zum Kreatin deshalb unterblieben sein, weil hierzu nicht nur die β -Oxydation, sondern auch eine Methylierung erforderlich ist. Unterbleibt letztere, so entsteht γ -Guanidobuttersäure, von der bekannt⁶⁾ ist, daß sie durch ein arginase-

¹⁾ I. Mitteilung, Diese Zeitschr., Bd. 88, S. 465 (1913); II. Mitteilung, Bd. 92, S. 163 (1914).

²⁾ Gefallen als Kampfflieger bei Reims, 3. 5. 17.

³⁾ I. c., II. Mitteilung.

⁴⁾ Noch nicht veröffentlichte eigene Versuche.

⁵⁾ Diese Befürchtung hat bereits Riesser ausgesprochen. Diese Zeitschr., Bd. 86, S. 433 (1913).

⁶⁾ I. c., I. Mitteilung.

ähnliches Ferment der Leber in Harnstoff und Aminosäure gespalten wird; da beide weitere Zersetzungen im Tierkörper erleiden, brauchen keine Abbauprodukte der Guanidobuttersäure mehr aufzufinden sein. Es ist denkbar, daß der oxydative Abbau erst einsetzt, nachdem die Methylierung des Guanidinkerns erfolgt ist. Die Methylierung von verfütterter Guanidoessigsäure erfolgt nur sehr unvollständig¹⁾. Es lag daher nahe, dem Organismus entgegenzukommen und ihm die methylierte Säure zum oxydativen Abbau zu reichen. Es genügt unserer Ansicht nicht, gleichzeitig nur solche Substanzen zu geben, die möglicherweise eine Methylierung erleichtern, wie es Thompson²⁾ bei seinen Arginstudien tut; es scheint uns notwendig zu sein, sich der Mühe zu unterziehen, die Methylprodukte außerhalb des Körpers herzustellen. Solche Kreatinhomologe hat Gansser³⁾ systematisch hergestellt. Nach unseren heutigen Kenntnissen können nur die mit einer geraden C-Zahl in der Fettsäure als Vorstufe in Betracht kommen, in erster Linie also die γ -Methylguanidobuttersäure. Sie ist von Gansser nur mit sehr schlechter Ausbeute erhalten worden. Leichter und wegen des Ausgangsmaterials — Cyklohexanon — besonders in der nötigen großen Menge zugänglich mußte die ϵ -Methylguanidocaprönsäure sein; sie ist bisher noch unbekannt, wir haben sie eigens für diese Versuche nach dem Verfahren von E. Fischer über die Toluolsulfonverbindung der Aminosäure hergestellt. Sie veranlaßte aber keine Vermehrung des Harnkreatins beim Kaninchen, weder bei oraler noch bei subkutaner Darreichung. Deshalb wurde auch noch die γ -Methylguanidobuttersäure geprüft. Die Darstellung der γ -Methylaminobuttersäure erfolgte nicht nach dem Verfahren von Gansser durch Einwirkung von Methylamin auf γ -Chlorbuttersäureäthylester, sondern entsprechend dem bei der Caprönsäure ausgearbeiteten Verfahren über die Toluolsulfonverbindung der Aminosäure. Dieser Weg gestattet mit größeren Mengen zu arbeiten

¹⁾ 4,5—15,3%. Jaffe, Diese Zeitschr., Bd. 48, S. 430 (1906); Dorner, Bd. 52, S. 225 (1907).

²⁾ Journ. of Phys., Bd. 51, S. 347 (1917). C. C. 18 I, S. 558.

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. 61, S. 16 (1909).

und ist so trotz der scheinbar längeren Reaktionsfolge einfacher und gibt weit bessere Ausbeuten. Auch γ -Methylguanidobuttersäure führte im Tierversuch zu keiner Vermehrung der Kreatinausscheidung.

Im Versuchsteil werden einige weitere Substanzen neu beschrieben, die mit der Fragestellung dieser Mitteilung in keinem Zusammenhang stehen. Ihre Darstellung erfolgte, um sie so kennen zu lernen, daß sie im Harn gegebenenfalls aufgefunden werden können. Die Harne aufzuarbeiten, muß einer späteren Zeit vorbehalten bleiben. Bei einem anderen hier nicht angeführten Versuch ist dies bereits geschehen: es wurde nur ein Teil der ϵ -Methylguanidocaprönsäure unverändert zurückgewonnen, andere Abbauprodukte konnten nicht aufgefunden werden; es waren damals aber nur einige Gramm der Säure verfüttert worden. Erst die Aufarbeitung der Harne aus den weiter unten angeführten Versuchen wird uns hoffentlich ersehen lassen, wie die verfütterten Kreatinhomologen abgebaut worden sind. Für die dieser Mitteilung zugrunde gelegte Fragestellung genügt die Feststellung, daß beide Säuren jedenfalls nicht in Kreatin übergehen.

Versuchsteil.

I. Die ϵ -Methylaminocaprönsäure und ihre Abkömmlinge.

Da die Aminosäure aus Cyklohexanon über ihr Laktam¹⁾ zugänglich ist, wurde zuerst vergeblich versucht, dieses zu methylieren und so zur Methylaminocaprönsäure zu gelangen. Erst der Weg über die Toluolsulfoverbindung führte zum Ziel, der zwar umständlicher ist, dafür aber die Einführung nur einer Methylgruppe gewährleistet.

a) Toluolsulfonyl- ϵ -amino-n-caprönsäure

$$\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{SO}_2 \cdot \text{NH} (\text{CH}_2)_5 \cdot \text{COOH}.$$

26,2 g nicht ganz chlorhydratfreies ϵ -Leucin gelöst in 300 ccm $\frac{2}{1}$ -n-Natronlauge werden mit 55 g des Sulfochlorids geschüttelt. Nach 3 Stunden ist nahezu alles gelöst, es wird

¹⁾ Ad. Baeyer, Liebigs Ann. d. Chem., Bd. 278, S. 102; Wallach, desgl., Bd. 312, S. 187; v. Braun, Chem. Ber., Bd. 40, S. 1839.

filtriert und mit 35 ccm konzentrierter Salzsäure kongosauer gemacht. Ausbeute nach einigem Stehen in der Kälte 60,5 g (ber. 57,0 g); Schmelzpunkt 104—106°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Wasser ändert sich der Schmelzpunkt nicht. Die Ausbeute entspricht der Theorie: aus 200 g Leucin wurden 432 g (ber. 435 g) der Toluolsulf Verbindung erhalten. Sie kristallisiert in feinen langen Nadeln, ist in kaltem Wasser schwer, leichter in heißem, ziemlich leicht in Alkohol löslich.

Zur Analyse wurde im Vakuum über P_2O_5 bei 80° getrocknet. 0,4298 g verbrauchen nach Kjeldahl 15,05 ccm $n/10$ -Säure, 20,820 mg¹⁾ geben 16,015 mg $BaSO_4$; 20,390 mg geben 41,110 mg CO_2 und 13,165 mg H_2O .

Für $C_{13}H_{19}O_4NH$.	Ber.: C 54,70%	Gef.: 54,98%
M.-G. 285,2	H 6,71%	7,22%
	N 4,92%	4,90%
	S 11,24%	10,57%

b) Toluolsulfonyl- ε -methylamino-*n*-capronsäure
 $CH_3 \cdot C_6H_4 \cdot SO_2 \cdot N(CH_3)(CH_2)_5COOH$.

Die Methylierung kann mit Jodmethyl, besser mit Dimethylsulfat geschehen. In beiden Fällen ist das Reaktionsprodukt zuerst ölig und wird erst nach einmaligem Umfällen fest. Ausbeute quantitativ.

14,3 g Toluolsulfonyl- ε -leucin (1,0) werden gelöst in 15 ccm 33%iger Natronlauge (1,2) mit 7,5 g Dimethylsulfat (2,5) geschüttelt. Nach Zugabe des letzten Teils des Methylsulfats und kurzem weiteren Schütteln erstarrt plötzlich die ganze Masse zu einem Kristallbrei von zarten Nadeln; mit 100 ccm Wasser wieder in Lösung gebracht, wird noch $\frac{1}{2}$ Stunde weiter geschüttelt, dann auf dem Wasserbade gelinde erwärmt, kurz aufgeköcht und mit Schwefelsäure kongosauer gemacht. Das ausfallende weiße Öl wird auch über Nacht im Eisschrank nicht fest. Es wird deshalb in starker Kaliumkarbonatlösung aufgenommen und daraus mit Salzsäure wieder gefällt; dabei erstarrt es sofort. Ausbeute 14,5 g. Schmelzp. 55—59°. Nach einmaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser unter Zugabe einiger Tropfen Alkohol Schmelzp. 53°; weiteres Kristallisieren

¹⁾ Die Mikroanalysen verdanke ich Herrn Dr. H. Weil, München.

aus wenig heißem Essigester unter Zusatz von Petroläther bis zur beginnenden Trübung ändert den Schmelzpunkt nicht, weiße zarte Nadeln; löslich in heißem Wasser, wenig löslich in kaltem Wasser, sehr leicht löslich in Alkohol. Essigester, nicht löslich in Äther, Petroläther.

Zur Analyse wurde im Vakuum über P_2O_5 bei 55° getrocknet. 20,510 mg geben 16,875 mg $BaSO_4$; 40,210 mg geben 2,00 ccm N bei 712 mm und 18° ; 0,1630 g verbrauchen nach Kjeldahl 5,20 ccm $n/10$ -Säure; 20,195 mg geben 41,830 mg CO_2 und 13,175 mg H_2O .

Für $C_{14}H_{21}O_4NS$.

M.-G. 299,2.

Ber.: C 56,14%	Gef.: 56,49%
H 7,08%	7,30%
N 4,68%	5,35% (Dumas); 4,47% (Kjeldahl)
S 10,72%	11,30.

Die gleiche Substanz wird aus Methylleucin (s. unten) und Toluolsulfochlorid nach Schotten-Baumann erhalten, im ganzen bekamen wir in 6 Portionen aus 440 g Toluolsulfoleucin durch Behandeln mit Dimethylsulfat 450 g der methylierten Verbindung.

c) ε -Methylamino-n-capronsäure



Die Abspaltung der Toluolsulfosäure erfolgte mit konzentrierter Salzsäure unter nicht unerheblichen Verlusten durch Sprung von Einschmelzröhren; die Arbeit von E. Fischer¹⁾, wonach sich die Abspaltung bequem mit Jodwasserstoffsäure durchführen läßt, erschien erst, als die Darstellung des ε -Methylleucins beendet war.

Je 8 g Toluolsulfonyl-methylleucin wurden mit 32 ccm Salzsäure (D 1,19) 22 Stunden im Einschmelzrohr auf 100° erhitzt. Der Röhreninhalt wurde mit Wasser verdünnt und mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag in üblicher Weise in Aceton gelöst und mit Baryt zerlegt. Die von Baryt befreite Lösung wurde im Vakuum eingeeengt und scharf getrocknet. Der Rückstand kristallisierte dann nach einigem Stehen und erwies sich als ziemlich reines ε -Methylleucin.

Es hält hartnäckig ungefähr $1\frac{1}{2}$ Mol Wasser zurück und schmilzt in diesem Zustande unscharf bei 67° ; auch im Va-

¹⁾ B. B., Bd. 48, S. 93 (1915).

kuum über P_2O_5 bei Zimmertemperatur wird das Kristallwasser nicht vollständig abgegeben, erst bei 55° wird ein wasserfreies Präparat erhalten, das jetzt auch aus alkoholischer Lösung mit Äther kristallinisch und nicht mehr ölig fällt. Ein auf diese Weise zweimal gereinigtes Präparat zeigt den Schmelzpt. 132° .

0,1748 g verbrauchen nach Kjeldahl 11,90 ccm n_{10} -Säure,
17,245 mg Substanz = 36,435 mg CO_2 und 15,910 mg H_2O .

Für $C_7H_{15}O_2N$.	Ber.: C 57,88%	Gef.: 57,62%
M.-G. 145,1	H 10,42%	10,32%
	N 9,65%	9,53%

Insgesamt wurden aus 450 g der Toluolsulfonylverbindung 116 g Methylleucin und 21 g als Guanidoverbindung (s. unten) erhalten = 50% der Theorie.

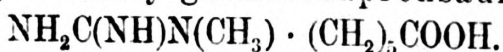
ϵ -Methylleucin ist sehr hygroskopisch, es löst sich spielend in kaltem Wasser und Alkohol, wenig in Aceton, Essigester, auch in der Wärme, nicht in Äther, Petroläther, Benzol. Beim Einengen einer mit Salzsäure versetzten Lösung in der Kälte bleibt ein nicht kristallisierender Sirup zurück, seine Salze mit Mineralsäuren sind in Alkohol sehr leicht löslich, auch mit Chromsäure, Ferrocyanwasserstoff, Überchlorsäure, Pikrinsäure wird keine Fällung, auch nicht in alkoholischer Lösung, erhalten; dagegen auch in starker Verdünnung mit Phosphorwolframsäure bei Gegenwart von Mineralsäure. Die schwach salzsaure Lösung liefert mit (25 Gew.-Proz.) Wismutkaliumjodidlösung tiefrote schiefe Tafeln und Prismen, ebenso wie die δ -Methylaminovaleriansäure. Gegen beide Reagentien verhält es sich ganz gleich seinem nächst niederen Homologen, der δ -Methylaminovaleriansäure¹⁾. Mit Metallen wurden keine Salze erhalten; auch Gansser versuchte vergeblich ein Kupfersalz der γ -Methylaminobuttersäure²⁾ zu gewinnen.

Zur Charakterisierung geeignet ist die Toluolsulfoverbindung, die sich mit guter Ausbeute nach Schotten-Baumann darstellen läßt.

¹⁾ E. Fischer-Bergmann, Liebigs Ann., Bd. 398, S. 96 (1913).

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 61, S. 57.

d) ϵ -Methylguanidocaprone



22,3 g Methylleucin und 12,9 g Cyanamid werden in 100 ccm Wasser klar gelöst und mit einigen Tropfen Ammoniak versetzt. Nach 3tägigem Stehen bei Zimmertemperatur hat sich eine reichliche kristallinische Ausscheidung gebildet, die nach weiteren 4 Tagen abgesaugt und mit Alkohol bis zum Verschwinden des Dicyandiamids ausgekocht wurde. Ausbeute an Rohprodukt 17,0 g mit 21,97% N (ber. 22,45%); freiwillig kristallisierten aus der Mutterlauge während der nächsten drei Monate nur noch 0,14 g, während durch Einengen und Reinigen des Rückstandes mit Alkohol noch 5,02 g mit 22,24% N erhalten wurden, insgesamt also an Rohprodukt 22 g statt 27 g = 81% der Theorie. Das Rohprodukt läßt sich durch Kristallisieren schwer reinigen, da es in heißem Wasser nicht erheblich leichter löslich ist wie in kaltem, sehr leicht übersättigte Lösungen gibt und nur langsam zur Kristallisation zu bringen ist. Durch Fällen einer konzentrierten Lösung des Chlorids mit der berechneten Menge Alkali und mehrfachem Umlösen des Produktes in heißem Wasser und Einengen der Lösung wurde schließlich reine Methylguanidocaprone erhalten.

Zur Analyse wurde im Vakuum über P_2O_5 bei 100° getrocknet.

0,0843 g Substanz verbrauchen nach Kjeldahl 13,50 ccm $\frac{n}{10}$ -Säure. 21,135 mg Substanz geben 39,310 mg CO_2 und 17,485 mg H_2O .

Für $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_3$. Ber.:		C 51,3 %	Gef.: 50,72%
	H	9,1 %	9,26%
	N	22,45%	22,42%

Sie kristallisiert in mikrokristallinen, verfilzten Spießchen, zersetzt sich je nach der Art des Erhitzens, ohne vorher zu schmelzen, bei ungefähr 285° , ist in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln unlöslich, in siedendem Alkohol ein wenig löslich; 1 Teil löst sich in 69 Teilen Wasser von 20° , in 25,8 Teilen bei Siedetemperatur.

Zur Darstellung des Chlorhydrats wird die Guanidosäure in der berechneten Menge Salzsäure gelöst, die Lösung auf dem Wasserbad zur Trockne eingengt, der Sirup erstarrt beim Erkalten zu einer strahlig-kristallinischen Masse;

nachdem die letzten Spuren Wasser über Kaliumhydroxyd im Vakuum entfernt sind, wird das Chlorhydrat in wenig absolutem Alkohol gelöst, wenn nötig filtriert, eingeengt bis zur Trockne und nochmals mit Alkohol aufgenommen, die alkoholische Lösung mit trockenem Äther bis zur beginnenden Trübung versetzt. Über Calciumchlorid scheidet sich dann das Chlorhydrat in langen feinen Nadeln aus.

Zur Analyse wurde im Vakuum über P_2O_5 und KOH bei 55° getrocknet.

0,2416 g Substanz geben 0,1555 g AgCl und verbrauchen nach Kjeldahl 32,35 ccm $n/_{10}$ -Säure.

Für $C_8H_{17}O_2N_3 \cdot HCl$.	Ber.: N 18,79%	Gef.: 18,75%
M.-G. 223,6	Cl 15,85%	15,92%

Das reine trockene Salz beginnt im zugeschmolzenen Röhrchen bei ungefähr 85° weich zu werden und schmilzt bei 105° ;¹⁾ es löst sich spielend in kaltem Wasser und Alkohol, fällt bei Gegenwart von Feuchtigkeit mit Äther ölig, mit Gold- und Platinchlorid gibt es keine schwerlösliche Verbindung.

Völlig analog wurde das Nitrat der Methylguanidocapronsäure erhalten. Schmelzp. unscharf $80-85^\circ$.

Zur Analyse wurde im Vakuum über P_2O_5 und KOH bei 55° getrocknet.

20,230 mg Substanz geben 27,935 mg CO_2 und 13,115 mg H_2O :
40,200 mg Substanz geben 8,15 mg N bei 712 mm und $18,5^\circ$.

Für $C_8H_{17}O_2N_3 \cdot HNO_3$.	Ber.: C 38,37%	Gef.: 37,66%
	H 7,25%	7,25%
	N 22,40%	21,75%

Zur Identifizierung eignet sich das saure oxalsaure Salz. Zu seiner Darstellung werden äquimolekulare Mengen Methylguanidocapronsäure und kristallisierte Oxalsäure in dem andert-halb-fachen Gewicht Wasser heiß gelöst. Beim Abkühlen kristallisiert das Salz in feinen Spießeln, bei langsamer Abscheidung in derben zusammenhängenden Krusten sofort analysenrein, frei von Kristallwasser, aus. Schmelzp. $167-168^\circ$ (unkorr.) unter Zersetzung; merklich löslich in kaltem Alkohol, nicht in

¹⁾ Auch das Chlorhydrat der Methylguanidobuttersäure schmilzt unscharf zwischen $117-126^\circ$; Gansser, Diese Zeitschr., Bd. 61, S. 62.

Äther, sehr leicht löslich in heißem Wasser; bei 21° lösen 100 g Wasser 2,747 g; die wässrige Lösung reagiert sauer, das Salz verhält sich wie eine zweibasische Säure.

Zur Analyse wurde bei 100° im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.
 0,1106 g verbrauchen nach Kjeldahl 11,20 ccm n/10-Säure
 0,0966 » » » » 10,35 » »
 0,1534 » » zur Neutralisation (Phenolphthalein) 11,10 ccm
 n/10-Natronlauge.

Für C₈H₁₇O₂N₈ · C₂H₂O₄. Ber.: N 15,16% Gef.: 15,06% 15,00%
 M.G. 277,2 M.G. 276,4.

e) ε-Methylureidocapronsäure NH₂CON(CH₃)(CH₂)₅COOH.

4,28 g Methylaminocapronsäure wurden in 3 ccm 37% iger Salzsäure gelöst und mit 2,5 g Kaliumcyanat gelöst in 10 ccm Wasser versetzt; ein sofort entstehender Niederschlag¹⁾ vermehrte sich durch 5stündiges Stehen in der Kälte nicht, er wurde entfernt, durch Fällen mit Alkohol wurden aus dem Filtrat 1,50 g Kaliumchlorid und ein N-reiches, in Nadeln aus heißem Wasser kristallisierendes bei 320° noch unverändertes Nebenprodukt entfernt; die alkoholisch-wässrige Lösung wurde im Vakuum eingedampft. Aus dem sirupösen Rückstand schieden sich allmählich Kristalle ab. Ausbeute 1,05 g; durch einmaliges Umkristallisieren aus 10 ccm heißem Wasser 0,77 g.

Zur Analyse wurde im Vakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet.

0,0790 g Substanz werden neutralisiert durch 4,12 ccm n/10-Kalilauge ber. 4,19 ccm und verbrauchen nach Kjeldahl 8,25 ccm; 0,1247 g Substanz verbrauchen nach Kjeldahl 13,00 ccm n/10-Säure; 20,350 mg Substanz geben 38,015 mg CO₂ und 16,500 mg H₂O.

Für C₈H₁₆O₃N₂. Ber.: C 51,06% Gef.: 50,94%
 H 8,51% 9,07%
 N 14,89% 14,62%, 14,59%.

Gekreuzte dicke Nadeln unter dem Mikroskop, Schmelzp. 163° unter Zersetzung. Leicht löslich in heißem, wenig löslich in kaltem Wasser und in kaltem Alkohol, Methylalkohol, noch weniger in Essigester, Aceton, nicht in Äther, leicht löslich in Ammoniak; die wässrige Lösung schmeckt sauer; charakte-

¹⁾ 0,32 g unlöslich in verdünnter wässriger Säure und Lauge, bei 235° noch unverändert weiß.

ristische Salze mit Metalloxyden konnten nicht erhalten werden. Die Säure fällt nicht mit Phosphorwolframsäure.

II. γ -Methylaminobuttersäure und ihre Abkömmlinge.

Die γ -Aminobuttersäure wurde nach Gabriel¹⁾ dargestellt aus γ -Chlorbutyronitril und Phthalimidkalium. Das γ -Cyanpropylphthalimid wurde stufenweise verseift (Gabriel und Colmann²⁾). Aus dem Chlorhydrat der Aminosäure wurde mit Bleioxyd und Silberkarbonat die freie Säure hergestellt und diese aus 75% igem Alkohol (nach der Vorschrift von Abderhalden³⁾) umkristallisiert.

a) Toluolsulfonyl- γ -Aminobuttersäure $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2 \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$.

1,0g γ -Aminobuttersäure, in 15 ccm $\frac{2}{1}$ -n-Natronlauge gelöst, wird mit 2,85 g Toluolsulfochlorid in 50 ccm Rollflasche 4 Stunden geschüttelt. Die Reaktion ist dann noch alkalisch, das Filtrat wird mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und in der Kälte stehen gelassen. Der Kristallbrei wird abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen. Ausbeute 2,26 g, Schmelzp. 134—135°. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Wasser 2,15 g, Schmelzp. 135°.

20,175 mg gehen 38,130 mg CO_2 und 11,370 mg H_2O ; 20,320 mg und 17,900 mg BaSO_4 ; 0,2482 g verbrauchen 9,45 ccm $\frac{1}{10}$ -N-Säure.

Für $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{N}_3$.	Ber.: C 51,32%	Gef.: 51,54%
M.-G. 257,20	H 5,88%	6,30%
	N 5,47%	5,33%
	S 12,47%	12,09%

Auch größere Mengen lassen sich auf einmal herstellen, wie folgender Versuch zeigt. 51,5 g ($\frac{1}{2}$ Mol) γ -Aminobuttersäure wurden in $\frac{2}{1}$ -n-Natronlauge (im ganzen 550 ccm verbraucht) gelöst und mit in Portionen zugegebenen käuflichen Toluolsulfochlorid (145 g) auf der Maschine geschüttelt, bis das Chlorid vollständig in Lösung gegangen war. Das klare Filtrat wurde mit Salzsäure kongosauer gemacht, die ausfallende Kri-

¹⁾ B. B., Bd. 40, S. 2647, 1907.

²⁾ B. B., Bd. 41, S. 513, 1908.

³⁾ Diese Zeitschr., Bd. 81, S. 299, 1912.

stallmasse den nächsten Tag abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute 125 g (ber. 128,6 g). Die Substanz schmilzt bei 134° zu einer trüben Flüssigkeit, die bei 142 g klar ist. (Zersetzung in Pyrrolidon?). Das Filtrat (1500 ccm) enthielt nur 0,12 g N und wurde verworfen.

b) Toluolsulfonyl- γ -Methylaminobuttersäure
 $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2 \cdot \text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$.

Die Toluolsulfonylaminobuttersäure (125 g) wurde in $\frac{2}{1}$ -n-Natronlauge gelöst und mit Dimethylsulfat geschüttelt; die auf 1 Mol berechnete Menge wird sofort verbraucht; zur Sicherheit wurden im ganzen 550 ccm der Natronlauge und 81 g des Dimethylsulfats zugegeben. Zum Schluß wurde die alkalische Lösung auf dem Wasserbad erwärmt, wodurch ein öliges Produkt (Ester?) sich wieder löste. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsprodukt mit überschüssiger Salzsäure ausgefällt; es erstarrt nach 2 tägigen Stehen im Eisschrank. Hat man erst einmal Impfkristalle, so gelingt es, sofort Kristalle zu erhalten. Sie werden abgesaugt, auf der Nutsche mit kaltem Wasser gewaschen, in Soda gelöst und nochmals gefällt. Ausbeute 130 g also quantitativ²⁾, Schmelzp. 94—96°; Umkristallisieren aus $4\frac{1}{2}$ l Wasser und 600 ccm 90% igem Alkohol ergibt 120 g analysenreine kristallwasserfreie Toluolsulfo-methylaminobuttersäure vom Schmelzp. 96—98°.

Im Vakuum bei 80° über P_2O_5 getrocknet.

0,1581 g geben 0,3066 g CO_2 und 0,0910 g H_2O ; 0,6062 g verbrauchen 22,05 ccm $\frac{1}{10}$ -N-Schwefelsäure. 0,2055 g = 0,1786 g BaSO_4 .

Für $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{NS}$.	Ber.: C 53,10 %	Gef.: 52,90 %
M.-G. 271,24	H 6,33 %	6,44 %
	N 5,16 %	5,09 %
	S 11,82 %	11,93 %

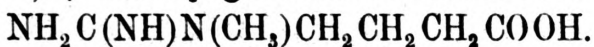
Sie ist leicht löslich in warmem Äthylalkohol, in Essigester, Aceton, nicht löslich in Petroläther, wenig löslich in kaltem Wasser, ziemlich in heißem Wasser.

¹⁾ In der Mutterlauge (1250 ccm) waren nur 0,11 g N enthalten.

²⁾ Aus der Mutterlauge wurden 10 g der nicht methylierten Säure vom Schmelzp. 134—135 zurückgehalten.

c) γ -Methylaminobuttersäure $\text{NH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$.

Die Abspaltung der Toluolsulfosäure erfolgte der Billigkeit halber mit Salzsäure, obgleich Jodwasserstoffsäure nach Fischer milder und rascher wirkt. Zu dem Zweck wurden in zwei Ansätzen 188 g reiner Toluolsulfonyl-methylaminobuttersäure vom Schmelzp. 96—98 mit dem achtfachen Volumen 20% iger Salzsäure im Ölbad 45 Stunden im Sieden gehalten; aus der klaren Lösung wurde die Toluolsulfosäure durch vieltägige Extraktion mit Äther im Soxhlet entfernt; darauf durch wiederholtes Einengen im Vakuum und Wiederaufnehmen mit Wasser ein großer Teil der überschüssigen Salzsäure, der Rest durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Bleikarbonat, Schwefelwasserstoff, Silberkarbonat und wieder Schwefelwasserstoff weggebracht. Die leicht gelb gefärbte Lösung wurde auf dem Wasserbad, zum Schluß im Vakuum über Schwefelsäure zur Trockne eingengt. Dabei ging durch einen Unfall ungefähr ein Sechstel verloren. Der Sirup konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden, auch nicht nachdem Impfkristalle erhalten worden waren; deshalb wurde er 3 Monate später in verdünnter Schwefelsäure gelöst und mit PWS ausgefällt; hierzu wurden 400 g (1000 ccm) gebraucht. Im Filtrat (2280 ccm) blieben nur 223 mg N, es wurde verworfen. Der PWS-Niederschlag in üblicher Weise unter Zuhilfenahme von Aceton mit alkalifreiem Baryt zerlegt, wobei im Baryumniederschlag (1020 g feucht) 121 mg N zu Verlust gingen, ergab nach Entfernung des überschüssigen Baryts mit Kohlensäure eine kaum gefärbte Lösung, durch deren Eindampfen die gesuchte Methylaminobuttersäure (37 g) erhalten wurde, trocken und kristallisiert bei ihrer großen Anziehungskraft für Wasser allerdings erst mit einiger Schwierigkeit. Dieser unerquicklichen Eigenschaft wegen wurde sie auch nicht analysiert, sondern sofort auf die Guanidosäure weiterverarbeitet.

d) γ -Methylguanidobuttersäure.

35 g Aminosäure wurden in 30 ccm Wasser gelöst und mit einer Lösung von 36,6 g frisch dargestelltem Cyanamid

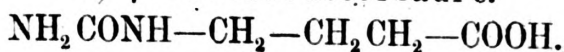
vermischt; nach Zugabe einiger Tropfen Ammoniak blieb die Lösung bei Zimmertemperatur stehen. Schon nach wenigen Stunden trübt sie sich, den nächsten Morgen ist sie fast ganz durchwachsen von derben Kristallen. Da diese nach 5 Tagen nicht mehr deutlich zunehmen, wird abgesaugt und aus dem Filtrerrückstand Dicyandiamid durch Auskochen mit Alkohol entfernt (Silbernitratprobe); so wurden 38,8 g noch nicht ganz reine Guanidosäure erhalten, die folgende Analysenwerte ergaben:

1. 0,1386 g = 25,75 ccm N-Säure; 2. 0,1656 g = 0,2686 g CO₂ und 0,1208 g H₂O.

Gef.: C 44,26% H 8,16% N 26,01%
Ber.: 45,22% 8,23% 26,45%.

Die Ausbeute betrug also annähernd 80% und die Substanz war rein genug zur Verfütterung.

e) γ -Ureidobuttersäure.



2 g γ -Aminobuttersäure, 8,5 g Harnstoff, 30 g Baryt und 80 ccm Wasser werden 4 Stunden am Rückfluß gekocht, dann wird mit CO₂ gesättigt und unter Durchblasen von Luft so lange weiter gekocht, bis fast alles Ammoniak entfernt ist. Das Filtrat vom Baryumkarbonat wird eingeeengt und mit Eisessig angesäuert. Nach einigem Stehen in der Kälte wird abgesaugt. Ausbeute: 1,48 g, Schmelzp. 160—164°; nach einmaligem Umkristallisieren aus Wasser 1,17 g Schmelzp. 175—176° unter Zersetzung. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Alkohol ändert sich der Schmelzpunkt nicht.

20,380 mg = 30,950 mg CO₂ und 13,595 H₂O; 0,0569 g = 7,7 ccm $\frac{1}{10}$ n-Säure.

Für C₅H₁₀O₃N₂. Ber.: C 41,1% Gef.: 41,42%
M.-G. 146,1 H 6,8% 7,46%
N 19,18% 18,95%.

Aus den Mutterlaugen wird keine weitere Ausbeute an Ureidobuttersäure erhalten.

III. Fütterungsversuche.

Bei ihrem negativen Ergebnis erübrigt sich ihre ausführliche Wiedergabe; es genügt, die tägliche N- und Gesamt-

kreatininausscheidung in Tabellenform anzugeben. Letztere wurde mit dem Autenriethschen Kolorimeter bestimmt, nachdem der Harn mit dem halben Volumen $\frac{2}{1}$ -n-Salzsäure versetzt $\frac{1}{2}$ Stunde auf 118° erhitzt worden war. Die Kaninchen bekamen täglich zu gleicher Zeit gleiche Mengen des ausreichenden Futters zugewogen, sie wurden am Schluß der Versuchsperioden katheterisiert und die Blase nachgespült.

A. ϵ -Methylguanidocapronsäure.

1. Versuch.

Kaninchen 2500 g. Kleie und Wrucken. 0,88 g am 11. und je 0,94 g am 12., 13. und 14. Tag subkutan je 1,88 g am 26. und 28. Tag, je 3,75 g am 30., 32. und 33. Tag per os.

Versuchstag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Harn-N, g	1,28	1,28	1,05	1,05	1,00	1,00	0,87	0,87	0,87	0,87	1,20	1,20	1,01	1,01	0,76
Gesamtkreatinin, mg	160	160	130	130	140	140	121	121	121	121	143	143	119	119	117

Versuchstag	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Harn-N, g	0,76	0,76	0,82	0,82	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,87	0,87	1,10	1,10	1,13
Gesamtkreatinin, mg	117	117	127	127	118	118	118	102	102	102	116	116	117	117	124

Versuchstag	31	32	33	34	35	36	37	38
Harn-N, g	1,13	1,20	1,20	0,83	0,83	0,77	0,77	0,77
Gesamtkreatinin, mg	124	117	117	117	117	113	113	113

2. Versuch.

Kaninchen 2600 g. Gleiche Zufuhr in gleicher Menge an denselben Tagen.

Versuchstag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Harn-N, g	1,19	1,19	1,07	1,07	0,91	0,91	0,93	0,93	0,93	1,24	1,24	1,15	1,15	0,93	0,93
Gesamtkreatinin, mg	129	129	136	136	164	164	156	156	156	135	135	130	130	151	151

Versuchstag	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Harn-N, g	0,93	0,93	0,93	0,90	0,90	0,90	1,13	1,13	1,13	1,03	1,03	1,24	1,24	1,13	1,13
Gesamtkreatinin, mg	151	125	125	132	132	132	139	139	139	115	115	128	128	124	124

2. Versuch (Fortsetzung).

Versuchstag	31	32	33	34	35	36	37						
Harn-N, g	1,32	1,32	1,05	1,05	1,21	1,21	1,21						
Gesamtkreatinin, mg	137	137	123	123	141	141	141						

B. γ -Methylguanidobuttersäure.

Kaninchen. Anfangsgewicht 2900 g. Endgewicht 2300 g. Gelbe Rüben und Kartoffeln. 1,6 g am 4. Tag, je 3,2 g am 5. und 6., 4,6 g am 7. Tag dem Futter beigemischt, je 1,6 g subkutan am 14. und 15. Tag.

Versuchstag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Harn-N, g	0,46	0,72	0,72	0,87	0,77	1,06	1,37	1,47	0,87	0,79	0,69	0,65
Gesamtkreatinin, mg	109	95	119	149	146	155	163	157	110	93	96	97

Versuchstag	13	14	15	16	17				
Harn-N, g	0,69	1,08	0,88	0,63	0,67				
Gesamtkreatinin, mg	103	103	93	74	105				