

Ein neues Beispiel von β -Oxydation im Tierkörper.

Von

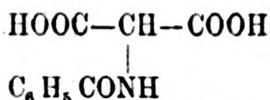
Karl Thomas und Herbert Schotte.

(Aus dem Kaiser Wilhelm- nstitut für Arbeitsphysiologie.)
(Der Redaktion zugegangen am 5. Dezember 1918.)

Im Laufe der Untersuchungen, die im hiesigen Institut während der letzten Jahre angestellt worden waren, die Herkunft des Kreatins aus Arginin experimentell sicherzustellen, waren wir in den Besitz größerer Mengen von γ -Aminobuttersäure und ε -Aminocaprinsäure gekommen. Sie gaben Veranlassung, den Abbau dieser Substanzen im Organismus zu Glykokoll zu studieren, also zur Frage nach der Bildung von Glykokoll aus anderen Aminosäuren weiteres Material beizubringen. Magnus-Levy¹⁾ hat in dieser Absicht benzoylierte α -Aminosäuren verfüttert in der Hoffnung, daß der Tierkörper sie am Alkyl (R) angreifen würde und so Hippursäure im Harn nachzuweisen wäre.



Vergeblich, sie wurden unverändert ausgeschieden. Die dabei möglicherweise als Zwischenprodukt auftretende Benzoyl-Aminomalonsäure



ergab weder in der überlebenden Hundeleber noch bei subkutaner Darreichung im Kaninchen Hippursäure (G. Haas²⁾).

¹⁾ Biochem. Zs. 6, 523, 1907.

²⁾ Biochem. Zs. 76, 84, 1916.

Ebenso erwies sich diesem Autor die Aminomalonsäure als eine für das Atem- und Gefäßzentrum toxische und nicht leicht verbrennliche Substanz. So leicht sie im Reagensglas schon in wässriger Lösung beim Stehen CO_2 abspaltet, so wenig ging sie in der Kaninchenleber beim Durchblutungsversuch noch auch im Gesamtorganismus in Glykokoll über. Ein anschauliches Beispiel, wie sehr der Organismus im intermediären Stoffwechsel seine eigenen Wege geht, d. h. wie wenig Einblick wir bis jetzt noch in den feineren Mechanismus seiner Reaktionen besitzen. Knoop, der schon so viel und so wichtiges Material zum Studium des intermediären Stoffwechsels beigebracht hat, hat auch diese Frage der Glykokollbildung aus einer anderen Aminosäure besprochen¹⁾. Ornithin, Serin und vor allem Glutaminsäure hält er möglicherweise für Muttersubstanzen des Glykokolls. Den experimentellen Beweis für das Serin suchte er am Phenylserin durchzuführen, das er in Hippursäure übergehen sah, ohne daß auch nur als Nebenprodukt Mandelsäure und Phenyllessigsäure aufgetreten ist. Haas²⁾ bestreitet nicht, daß diese Oxyaminosäure nach anderen Gesetzen abgebaut wird, als die sind, die für die α -Aminosäuren gelten, nimmt aber in diesem Fall doch als möglich an, daß das Glykokoll, das hier zur Bildung der isolierten Hippursäure gedient hat, aus anderem Material von unbekannter Herkunft her stammt und nicht aus dem Serinrest des verfütterten Phenylserin hergeleitet werden muß. Diese Ungewißheit fällt weg, wenn man den Abbau nicht an Amino-, sondern an Methylaminosäuren studiert. Aus ihnen entsteht nicht das weiter verbrennliche Glykokoll, bzw. die auch sonst im Harn vorkommende Hippursäure, sondern das den Körper unverändert durchlaufende Sarkosin, bzw. die Methylhippursäure, in der die Herkunft der Benzoesäure nicht zu bezweifeln ist. Auf diesen Weg hat Knoop in der angeführten Arbeit aufmerksam gemacht und ihn an der Methylglutaminsäure zu prüfen in Angriff genommen.

¹⁾ Diese Zeitschr. 89, 151, 1913.

²⁾ B.ochem. Zs. 76, 86, 1913.

Eine Methylgruppe läßt sich leicht in die NH_2 -Gruppe einführen nach der Methode von Hinsberg¹⁾, indem man das Sulfamid mit Dimethylsulfat in alkalischer Lösung behandelt. So wurden die für die Kreatinstudien benötigten Methylguanidosäuren hergestellt. Es lag nahe, dann gleich diese Abkömmlinge einer Sulfosäure zu verfüttern, anstatt daraus erst wieder die Benzoylprodukte herzustellen, zumal die Sulfosäuren und ihre Amide wahrscheinlich unverändert den Organismus durchlaufen. Viele sind allerdings bisher nicht geprüft. *p*-Sulfaminbenzoesäure verunreinigte früher das Saccharin, ihr Schicksal wurde deshalb von Salkowski²⁾ studiert, sie geht unverändert in den Harn über. Bei Fütterung von Benzolsulfosäure an Hund und Kaninchen gibt das alkoholische Harnextrakt bei der Kalischmelze reichlich Phenol (Salkowski³⁾); durch diesen Befund wird allerdings eine Paarung mit Glykoll nicht ausgeschlossen. Derselbe Autor hat bei Fütterung von Äthylsulfosäure⁴⁾ deren Baryumsalz aus dem Harn der Kaninchen herausholen können. Die Isaethionsäure⁵⁾ gibt zu reichlicher Schwefelsäurebildung Anlaß, ein kleiner Teil geht vielleicht auch unverändert in den Harn über (Isolierung eines zur Analyse nicht ausreichenden Baryumsalzes), Äthyldisulfosäure⁶⁾ wird unverändert ausgeschieden. Zu der Unangreifbarkeit der Sulfosäuren im Organismus paßt, daß viele Substanzen ihre pharmakologische Wirksamkeit verlieren, wenn in ihr Molekül die Gruppe SO_3H eingeführt wird, eine in der Arzneimittelsynthese vielfach erhärtete Tatsache.

Als Zwischenprodukte für die Synthese der Methylamino- bzw. Methylguanidosäuren waren wir im Besitz der entsprechenden Toluolsulfoprodukte. Es wäre das Bequemste gewesen, wenn diese zum Fütterungsversuch hätten verwandt werden können. Um dieses zu prüfen, wurde das Toluolsulfo-

1) Ann. 265, 178, 1891.

2) Virch. Arch. 105, 46, 1886.

3) Pflüg. Arch. 4, 91, 1871.

4) Virch. Arch. 65, 315, 1876.

5) Ebenda 321.

6) Ebenda 324.

sarkosin an Kaninchen verfüttert. Es durchlief zum größten Teile unverändert den Organismus, ein kleiner Teil erlitt aber die von den Benzolhomologen her bekannte Oxydation der Methylgruppe zu Carboxyl, trotzdem schon eine Carboxylgruppe im Molekül anwesend war.



Das Auftreten dieser Dicarbonsäure von ganz anderer Löslichkeit mußte die Aufarbeitung des Harns unnötigerweise erschweren. Deshalb wurden die Benzolsulfoprodukte eigens hergestellt und zuerst das Sarkosinderivat

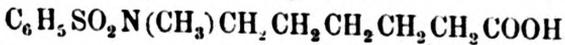


verfüttert. Es geht unverändert in den Harn über und läßt sich verhältnismäßig vollständig aus ihm wieder gewinnen.

Dieser Versuch wurde noch aus einem anderen Grunde unternommen. Es wäre nicht unmöglich gewesen, daß das in Äther lösliche Benzolsulfosarkosin mit Glykokoll gepaart und so vom Organismus in eine wahrscheinlich weniger lipidlösliche Verbindung verarbeitet worden wäre, ähnlich wie die lipidlösliche Benzoesäure in die darin weniger lösliche Hippursäure übergeführt wird. Wenn auch die jeweiligen Natriumsalze lipidlöslich sind, so muß bei der im Organismus herrschenden neutralen Reaktion zwar mit ihrem Vorkommen im Blut, aber auch mit ihrer Dissoziation gerechnet werden, es wäre also für den Tierkörper von Wert, ein Derivat herzustellen, wo auch die freie Säure wenig lipidlöslich ist. In unserem Falle wäre dann die Benzolsulfonverbindung eines Dipeptids entstanden und damit zum ersten Male präparativ die Synthese eines solchen im Organismus verfolgt worden. Die Annahme hat sich jedoch als falsch erwiesen, das Benzolsulfosarkosin wird nicht mit Glykokoll gepaart, sondern erscheint unverändert und quantitativ im Harn. Warum und wann der Organismus die Paarung mit Glykokoll vornimmt, in den feineren Mechanismus dieser Reaktion haben wir noch keinen Einblick, obgleich wir scheinbar eine große Reihe von Körpern kennen, die vom Tierkörper mit Glykokoll „entgiftet“ werden. Sieht man die kupplungsfähigen Substanzen aber

durch, so findet man, daß fast nur Kernkarbonsäuren dazu gehören, außer ihnen allein die Phenyllessigsäure und die Phenyl- und Furoylacrylsäure, die Paarung mit Glykokoll in Wirklichkeit also bisher auf ganz wenige Fälle beschränkt geblieben ist.

Benzolsulfomethylaminocaprinsäure



könnte durch zweimalige β -Oxydation in das Sarkosinderivat übergehen. Die β -Oxydation als Gesetz ist zuerst von Knoop für die Phenylfettsäuren $\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ festgestellt worden und seither bei mannigfacher Änderung des aliphatischen Restes sinngemäß von ihm und vielen anderen geprüft und bestätigt worden. Daß es auch für rein aliphatische Fettsäuren (und ihre Substituenten) gilt, zeigten Embden und Mitarbeiter durch Verfolgung einer Methylketonbildung in der überlebenden Leber, am schlagendsten aber Blum und Koppel¹⁾ durch Isolierung von Methylpropylketon aus dem Harn eines Hundes, dem sie subkutan Diäthyllessigsäure beigebracht hatten. Hier war die Oxydation selbst bei Anwesenheit eines tertiären Kohlenstoffatoms am β -Kohlenstoffatom erfolgt. Daß auch eine ω -Aminosäure dem Gesetz von der β -Oxydation gehorcht, dafür steht der experimentelle Beweis noch aus. Über das Schicksal von Lysin und Ornithin wissen wir nichts, die einzige ω -Aminosäure, die außerdem im Organismus vorkommt, ist das β -Alanin, das als Carnosin von Gulewitsch unter den Extraktivstoffen des Muskelfleisches nachgewiesen ist und sich in Histidin und β -Alanin spalten läßt. Ob Carnosin als Histidylalanin oder Alanyl-Histidin zu formulieren ist, steht noch dahin und ebenso die Herkunft des Alanins, sowohl ein Herleiten aus Ornithin, bzw. Lysin durch Oxydation, ist denkbar, wie seine Bildung aus Asparaginsäure durch Abspaltung von CO_2 .

Der Versuch ergab nun, daß die Benzolsulfomethylaminocaprinsäure allerdings auch dem Gesetz der β -Oxydation gehorcht, aber nur bis zur Buttersäure abgebaut wird und zu

¹⁾ Chem. Ber. 44, 3576, 1911.

44 % als solche aus dem Harn der Kaninchen dargestellt werden konnte, dementsprechend durchläuft auch die γ -Benzolsulfomethylaminobuttersäure quantitativ unverändert den Organismus, auch wenn ganz kleine Dosen gefüttert werden, so daß der Tierkörper vollauf genügend Zeit zu einer zweiten β -Oxydation gehabt hätte.

Damit ist eine weitere Methode gegeben, den Mechanismus der β -Oxydation zu studieren. Durch Einführung von Oxy- und Keto-Gruppen oder von Doppelbindungen läßt sich vielleicht doch ein weiterer Abbau bis zum Sarkosinabkömmling erzwingen. Wir haben noch 4 Kohlenstoffatome in der „Seitenkette“. Es läßt sich vielleicht damit herausbringen, welche Substituenten das erste und zweite Kohlenstoffatom haben muß, damit dann das dritte, und vierte abgespalten werden kann. Doch vorerst begeben wir uns damit auf das Gebiet müßiger Spekulationen!

Versuchsteil.

I. p-Toluolsulfosarkosin.



Es wurde aus Glykokoll (Kahlbaum), p-Toluolsulfochlorid und folgende Methylierung mit Dimethylsulfat nach den Angaben von E. Fischer und M. Bergmann (Ann. 398, 117, 1913) hergestellt mit einer Ausbeute von 75 % d. Th. auf die angewandte Menge Glykokoll berechnet; nach geringem Sintern bei 147°C. schmilzt die Säure bei 150°C., Analyse ergab ihre Reinheit. Einem Kaninchen von 2 kg, das mit Roggenkleie bereits einige Tage vorher gefüttert worden war, wurden insgesamt 5,5 g, die in Soda gelöst waren, innerhalb von 3 Tagen eingegossen. Der Harn von 4 Tagen wurde bei sodaalkalischer Reaktion eingengt und nach dem Abkühlen mit Salzsäure kongosauer gemacht. Die ölige Fällung wird durch Einrühren von gebrannter Kieselgur von dieser aufgenommen, abgesaugt, der Filtrückstand getrocknet. Filtrat und Rückstand werden dann im Soxhlet mit Äther ausgezogen. Nach 3 Tagen wird die Vorlage gewechselt und nochmals 3 Tage lang mit Äther ausgezogen.

a) In den ersten Ätherauszügen hatten sich an der Kolbenwand 0,2 g braune Kristalle abgesetzt; bei 228°C. begannen sie zu erweichen und verkohlten bei höherem Erhitzen bis auf 250°C. Aus 30 ccm heißem Wasser ohne Zusatz von Tierkohle umkristallisiert wurden 0,2 g hellbraune Tafeln erhalten, die bei 255°C. noch unzersetzt bleiben.

Die Analyse der bei 100°C. im Vakuum über P_2O_5 getrockneten Substanz ergab:

- | | | |
|------------------------|-----------------------|-------------------|
| 1. 20,225 mgr Substanz | 33,185 mgr CO_2 und | 8,045 mg H_2O ; |
| 2. 31,450 „ | 24,715 „ $BaSO_4$ | |
| 3. 34,420 „ | 6 ccm N_2 | 720 mm 15° |

für $C_{10}H_{11}O_6NS$
MG 273,1

Ber.: 43,93% C 4,06% H 5,13% N 11,74% S
Gef.: 44,76% C 4,15% H 5,22% N 10,79% S

Die Substanz löst sich in wässriger Sodalösung unter Gasentbindung, reagiert gegen Phenolphthalein sowie gegen Methylrot sauer und verbraucht 2 Äquivalente Alkali zur Neutralisation. 37,64 mg verbrauchen (Phenolphthalein) 2,49 ccm $n/_{10}$ NaOH ber. 2,76 ccm. Danach dürfte es nicht mehr zweifelhaft sein, daß die Säure noch nicht ganz reine Benzol-1-karbonsäure-4-sulfonylsarkosin $HOOC-C_6H_4 \cdot SO_2N(CH_3)CH_2COOH$ ist. Die Oxydation von Alkyl in Benzolhomologen zu Carboxyl ist eine vielfach beobachtete Reaktion (Zusammenstellung von A. Heffter. Asher-Spiro, IV, 233, 1905). Auffallend ist nur, daß der Tierkörper sich noch der Mühe unterzogen hat, obwohl die Substanz bereits ein freies Carboxyl besitzt. Auch bei Vorhandensein mehrerer seitenständiger Alkyle oxydiert er sonst nur eines. Mesitylen (1-, 3-, 5-Trimethylbenzol) geht in Mesitylensäure ($C_6H_3 \cdot (CH_3)_2COOH$ oder deren Glykokollverbindung über (L. v. Nencki), Pseudocumol (1-, 2-, 4-Trimethylbenzol) wird als p-Xylylsäure ($COOH \cdot CH_3 \cdot CH_3 = 1:3:4$) ausgeschieden (Jacobsen), p-Cymol (1-Methyl-4-Propylbenzol) als Cuminsäure $C_6H_4(C_3H_7)COOH$ (Nencki und Ziegler, Jacobsen). Diese Oxydation der Methylgruppe findet nicht mehr statt bei o-, m-, p-Toluolsäure ($CH_3C_6H_4COOH$ Kraut¹⁾).

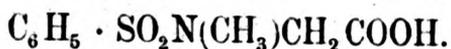
¹⁾ A. Heffter a. a. O. S. 254.

b) Die vereinigten ätherischen Auszüge wurden filtriert. Im Filtrat der Äther verjagt. Der Rückstand wurde nur teilweise fest; da die verfütterte Sarkosinverbindung in kochendem Wasser leicht löslich ist, wurde der Rückstand mit 200 ccm kochendem Wasser aufgenommen, mit viel Tierkohle behandelt, filtriert, der Rückstand nochmals mit 100 ccm Wasser ausgekocht. Es fielen in der Kälte 3,9 g schwach rötliche Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 147–148°C., die die Mischprobe mit Toluolsulfosarkosin ohne Erniedrigung des Schmelzpunktes bestanden und bei der Analyse darauf stimmende Zahlen geben.

1. 0,2538 g Substanz 14,21 mg N. Gef.: 5,59% N. Ber.: 5,86%
2. 0,2707 „ „ 15,19 „ „ 5,61% „
3. 0,1587 „ verbrauchen (Phenolphthalein) 6,77 ccm $\frac{1}{10}$ -Lauge.
Ber.: 6,53 ccm.

Aus der Mutterlauge wurde noch 0,5 g Toluolsulfosarkosin vom Schmelzpunkt 137°C. erhalten. Nach Eingabe von β -Toluolsulfosarkosin per os wurden also 80% unverändert im Harn wiedergefunden und 4% als Benzol-carbonsäure 4-sulfosarkosin.

II. Benzolsulfosarkosin.

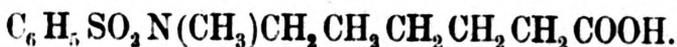


Aus 11 g Sarkosinchlorhydrat und 20 g Benzolsulfoclorid bei Gegenwart von 175 ccm $\frac{2}{1}$ N-Natronlauge wurden 17 g des Sulfamids vom Schmelzpunkt 179°C. erhalten. Die Verbindung ist bereits durch T. Johnson und Mc. Collum¹⁾ bekannt, die sie durch Verseifen des Acetonitrils erhalten haben. 16 g der Säure wurden als Natriumsalz im Laufe von 4 Tagen an 2 Kaninchen mit der Schlundsonde gegeben. Der unter Äther aufgesammelte Harn wurde wie oben verarbeitet, aber die nacheinander gewonnenen ätherischen Auszüge getrennt verarbeitet, um nicht zu übersehen, wenn anfangs andere Substanzen in sie übergingen, als an den letzten Tagen. Dies war aber nicht der Fall. Die

¹⁾ Amer. Chem. Journ. 35, 54, 1906.

insgesamt in 7 Teilen erhaltenen Kristalle erwiesen sich untereinander gleich und als unverändertes Benzolsulfosarkosin. Die ersten 6 Anteile zeigten den richtigen Schmelzpunkt 179°C . nur der letzte schmolz bereits bei $130\text{--}147^{\circ}\text{C}$., gemischt mit reinem Benzolsulfosarkosin vom Schmelzpunkt 179°C . bei $140\text{--}170^{\circ}\text{C}$. Insgesamt wurden 13 g oder 81% zurückerhalten; eine Paarung mit Glykokoll findet im Organismus des Kaninchens nicht statt.

III. Benzolsulfo-methylaminocaprinsäure.



1. Darstellung und Eigenschaften.

21 g kristallwasserhaltiges ϵ -Methy lleucin¹⁾ ($\frac{1}{10}$ Mol. = 20,7 g) und 20 g Benzolsulfochlorid werden mit 140 ccm $\frac{1}{1}$ N-Natronlauge, die in 5 Teilen zugegeben wird, $1\frac{1}{2}$ Stunden geschüttelt. Die dann schwach getrübe alkalische Lösung wird filtriert und mit Salzsäure gefällt. Das Öl kristallisierte erst nach einmaligem Umfällen aus Ammoniak. Ein zweiter Ansatz wurde ganz gleich verarbeitet. Darauf die Rohprodukte gemeinsam aus $2\frac{1}{2}$ l Wasser und $\frac{1}{2}$ l 94% igem Alkohol umkristallisiert. Das ausfallende Öl kristallisierte langsam, es wurde nach mehrtägigem Stehen im Eisschrank abgesaugt, mit Eiswasser salzsäurefrei gewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Erhalten wurden 38,4 g, die unscharf bei 54° schmelzen, durch Aufarbeiten der Mutterlauge wurden noch 1,2 g gewonnen, d. s. 70% der Theorie. Dieses Sulfamid zeigt bei weitem nicht die leichte Kristallisierbarkeit wie das Sarkosinderivat. Es ist leicht löslich in allen organischen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Petroläther, kaum löslich auch in heißem Wasser.

Zur Analyse wurde die noch nicht ganz reine Substanz, die in diesem Zustand zum Fütterungsversuch gedient hat, bei 35° im Vakuum über P_2O_5 getrocknet:

- | | | |
|----|--|------------------------------|
| 1. | 0,3018 g Substanz neutralisieren (Phenolphthalein) | 10,15 ccm $\frac{1}{10}$ KOH |
| 2. | 0,3040 g | 10,35 |

¹⁾ Thomas und Goerne H.-S. Bd. 103, 1918.

3. 0,3018 g Substanz 9,55 ccm n_{10} Säure = 13,37 mg N,
 4. 0,3040 g „ 9,60 „ „ = 13,44 „ „
 5. 0,1467 g „ 0,2990 g CO_2 und 0,950 g H_2O
 6. 0,2082 g „ 0,1633 g BaSO_4

Für $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{NS}$ M G 285,2

Ber.: 15,79 % COOH , 4,91 % N, 54,70 % C, 6,71 % H, 11,24 % S

Gef.: 15,14 % 4,53 % 55,61 % 7,25 % 10,77 %

15,33 % 4,42 %

Da beim Fällen der in Alkohol oder Eisessig gelösten Substanz durch Wasser die Kristallisation nur schlecht von statten geht, wurde ein Teil zur weiteren Reinigung noch einmal aus Ameisensäurem Methyl als wasserfreiem Lösungsmittel umkristallisiert und darauf wiederholt mit 300 ccm Petroläther (Sdp. 70–80°) dem 10 ccm Benzol zugesetzt waren, ausgekocht. Beim Abkühlen in Eis wurden so feine weiße Nadeln erhalten, die scharf bei 57° schmolzen.

Zur Analyse wurde im Vakuum bei 35° über KOH getrocknet. Die Kjeldahlmethode versagte bei dieser Substanz.

1. 0,1584 g Substanz 0,3180 g CO_2 und 0,0981 g H_2O

2. 0,2023 g „ 0,1635 g BaSO_4

Gef.: 54,76 % C, 6,93 % H, 11,10 % S

Ber.: 54,70 % C, 6,71 % H, 11,24 % S.

Die wässrige Lösung des Natriumsalzes gibt mit den Salzen der Erdalkalien und Schwermetalle ölige Fällungen, nur das Bleisalz wird fest, bleibt aber amorph.

2. Fütterungsversuch.

3 kleine Kaninchen (1,5 kg, 1,6 kg und 2,0 kg) erhalten in ihr Futter (durchgemahlene Kartoffeln und Mohrrüben) gemischt täglich zusammen 3,0 g des obigen analysierten, aus verdünntem Alkohol kristallisierten Präparates 9 Tage lang; insgesamt also 27 g. Der über Chloroform noch 2 Tage länger gesammelte Harn wird wie bisher verarbeitet. Die Rückstände der Ätherauszüge kristallisierten; auf Ton gestrichen wurden 12,7 g Substanz erhalten, die aus verdünnter Essigsäure und dann aus Benzol umkristallisiert wurden. Aus dem Kieselgurniederschlag wurden schließlich 6,0 g Substanz vom Schmelzpunkt 84–87° C. und 0,9 g vom Schmelzpunkt

76—79° C. gewonnen; die aus dem Harnfiltrat extrahierte Substanz war damit identisch und reiner und ergab 3,75 g Oktaeder oder Nadeln, die bei 84° C. zu sintern beginnen und bei 86—88° C. schmelzen. Sie sind in Wasser nicht löslich, löslich in Essigester, Alkohol, Eisessig und heißem Benzol, sowie in Sodalösung.

Zur Analyse wurde bei 55° C. im Vakuum über P_2O_5 getrocknet:

1. 0,2204 g Substanz und 0,4168 g CO_2 , 0,1177 g H_2O
2. 0,3416 g „ 12,10 ccm n_{10} Säure = 16,94 mg N
3. a) 0,2232 g „ 0,2013 g $BaSO_4$
- b) 0,2150 g „ 0,1961 g „

Für $C_{11}H_{15}O_4NS$ MG 257,2

Ber.: 5,35% C, 5,89% H, 5,15% N, 12,47% S

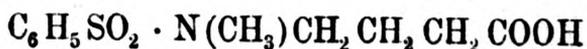
Gef.: 51,57% C, 5,97% H, 4,86% N, 12,39, 12,52% S.

Daß die Substanz in der Tat γ -Benzolsulfo-methylaminobuttersäure $C_6H_5SO_2N(CH_3)CH_2CH_2CH_2COOH$ ist, wurde noch durch deren Synthese bewiesen. Sie zeigte völlig gleiches Verhalten, auch konnte diese Substanz aus dem Capronsäureharn zum Impfen des synthetischen erhaltenen Buttersäuresirups benutzt werden.

Aus dem Ton wurde ein saurer, in Bikarbonat löslicher brauner Sirup wieder herausgeholt, der aber trotz mannigfaltiger Reinigungsverfahren nicht zur Kristallisation zu bringen war.

Nach Eingabe vom Benzolsulfo- ϵ -methylaminocapronsäure wurden also 44% der Theorie als Benzolsulfo-methylaminobuttersäure aus dem Kaninchenharn zurückerhalten.

IV. Benzolsulfomethylaminobuttersäure.



1. Darstellung und Eigenschaften.

- a) γ -Benzosulfoaminobuttersäure $C_6H_5SO_2NH \cdot CH_2CH_2CH_2COOH$.

Ausgangsmaterial für die Bereitung der Aminobuttersäure war das nach Gabriel¹⁾ aus Trimethylenchlorbromid und Cyankali dargestellte Cyan-propyl-phthalimid, dessen Ver-

¹⁾ Chem. Ber. 22, 337, 1889.

seifung¹⁾ mit der Verbesserung von Gabriel und Colmann²⁾ stufenweise mit Schwefelsäure und Salzsäure erfolgte. Die Aminobuttersäure war nach Abderhalden³⁾ aus 75%igem Alkohol umkristallisiert, schmolz nach dem Trocknen bei 193° C., ihre Reinheit war durch die Analyse bestätigt.

26,0 g (25,75 g = $\frac{1}{4}$ Mol.) dieser Aminobuttersäure wurden mit 60 g Benzolsulfochlorid ($1\frac{1}{2}$ Äq.) und 250 ccm $\frac{2}{1}$ N. Natronlauge auf der Maschine geschüttelt. Die Reaktion setzte unter mäßiger Erwärmung ein. Nach 10 Minuten wurden 125 ccm $\frac{2}{1}$ N-Natronlauge zugegeben und $4\frac{1}{2}$ Stunden geschüttelt. Nach Zufügen von weiteren 50 ccm $\frac{2}{1}$ N-NaOH wurden dann noch weitere 3 Stunden andauernd geschüttelt. Die alkalische Lösung wurde filtriert und mit Salzsäure kongosauer gemacht. Geimpft, erstarrte das Öl sofort. Ausbeute an Rohprodukt vom Schmelzpunkt 89—90,5° C., 56 g = 86% d. Th.

Zur Analyse wurden 3,0 g aus 8 ccm Essigester umkristallisiert und 2 g reine Säure vom Schmelzpunkt 91—92° erhalten. Die aus der Mutterlage erhaltenen Kristalle begannen bei 84° zu sintern und schmolzen ebenfalls bei 90° C. Wesentliche Verunreinigungen waren also nicht vorhanden. 0,2144 g der bei 55° C. im Vakuum über P_2O_5 getrockneten Substanz ergaben 0,2056 g $BaSO_4$, gefunden 13,48% S, berechnet für $C_{10}H_{13}O_4N S$ (MG 243,2) · S 13,16%.

b) β -Benzolsulfonyl-methylaminobuttersäure.

56 g des obigen Rohprodukts wurden in $2\frac{1}{2}$ Äq. $\frac{2}{1}$ N NaOH (290 ccm) gelöst und mit $1\frac{1}{2}$ Mol. Dimethylsulfat (43,7 g) $1\frac{1}{2}$ Stunden geschüttelt, wobei das Gemisch sich bei Beginn der Reaktion ziemlich erwärmte. Danach noch $2\frac{1}{2}$ Stunden zur Zersetzung überschüssigen Methylsulfats im siedenden Wasserbad gehalten, abgekühlt und mit 100 ccm 25%iger Salzsäure gefällt. Das Öl erstarrte sofort beim Impfen mit der Säure, die aus dem Harn nach Fütterung von

¹⁾ Chem. Ber. 23, 1771, 1890.

²⁾ Ebenda 41, 513, 1908.

³⁾ Diese Zeitschr. 81, 299, 1912).

Benzolsulfonylmethylaminokapronsäure erhalten worden war. Das Rohprodukt (55 g, Schmelzpunkt 80—85°C.) wurde aus 140 ccm thiophenfreiem Benzol umkristallisiert. Erhalten wurden 49,8 g reine Säure vom Schmelzpunkt 84—87°C.

0,2009 g: 0,1865 g BaSO₄. für C₁₁H₁₅O₄NS MG 257,19.

Gef.: 12,75% S

Ber.: 12,47% S.

Diese analysierte Probe diente zum Fütterungsversuch.

2. Fütterungsversuch.

26 g der Säure wurden als Natriumsalz gelöst dem täglichen Futter (Kartoffel, Mohrrüben) von 7 Kaninchen (ungefähr 1,5 kg) zugesetzt. Jedes Tier bekam also im Tag nur 0,52 g Substanz. Es wurde so wenig davon gegeben, damit der Organismus Gelegenheit genug zur weiteren Oxydation haben sollte. Der über Chloroform gesammelte Harn wurde wie früher verarbeitet. Die Ätherextraktion des Harnfiltrates ergab jedoch keine kristallisierenden Substanzen. Diese waren zum größten Teile beim Ansäuern des Harns bereits auskristallisiert und durch Absaugen und Auswaschen mit Eiswasser gewonnen, ein Rest konnte durch Äther dem Kieselgurniederschlag entzogen werden. An Rohprodukt vom Schmelzpunkt 75—80°C. wurden 25,3 g erhalten; sie wurden in heißem Alkohol gelöst, mit reichlich Tierkohle behandelt und durch Zusatz von Wasser wieder ausgefällt; darauf noch zweimal aus Benzol umkristallisiert. Schließlich waren noch 15 g vorhanden, die bei 84°C. zu sintern begannen und bei 87—88°C. schmolzen.

Zur Analyse bei 55°C. im Vakuum über P₂O₅ getrocknet.

1. 0,1564 g Substanz: 0,2955 g CO₂ und 0,0850 g H₂O

2. 0,2031 „ „ 0,1752 „ BaSO₄

Ber.: 51,35% C, 5,89% H, 12,47% S

Gef.: 51,8 % C, 6,0 % H, 11,86% S.

An Kaninchen gefütterte Benzolsulfomethylaminobuttersäure ist also nahezu vollständig aus dem Harn wiedergewonnen worden.