

## 372. Hugo Schrötter: Ueber Aether der Eiweisskörper.

[Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Graz.]

(Eingegangen am 27. Juli.)

Wiewohl zahlreiche Angaben über Zersetzungsproducte und Reactionen der Albuminate in der Literatur vorliegen, ist es scheinbar noch nicht gelungen, reine und gut charakterisirte Eiweisskörper selbst darzustellen, und gingen sämtliche Forscher, die sich mit diesem Gegenstand beschäftigten, von wahrscheinlichen Gemengen aus, die weder krystallisirt noch aschenfrei waren. Auf die Herstellung eines solchen chemisch und physikalisch gut charakterisirten Eiweisskörpers resp. eines Derivates desselben, das noch das unversehrte Eiweissmolekül enthält, war nun mein Augenmerk gerichtet. Vorgreifend will ich gleich jetzt erwähnen, dass es mir in der That gelungen ist, verhältnissmässig gut charakterisirte, alkohol-lösliche, aschefreie und auch eigenthümlicher Weise schwefelfreie Benzoësäureäther der Albumosen darzustellen und theilweise zu untersuchen.

Da ich der eintretenden Ferien halber gezwungen bin, meine diesbezüglichen Untersuchungen zu unterbrechen, so erlaube ich mir nachfolgende noch ganz unfertige Resultate kurz mitzutheilen und hoffe im nächsten Semester bald ausführlicher an anderer Stelle über diesen Gegenstand berichten zu können.

Bis jetzt war mein Ausgangsmaterial ausschliesslich das sogenannte Pepton von F. Witte, das nach den Untersuchungen von Kühne und Chittenden, Neumeister u. a. eigentlich ein Gemenge der verschiedenen Albumosen darstellt<sup>1)</sup>. Bei meinen letzten Versuchen wurden aus der schwach essigsauren Lösung des Witte'schen Präparates die Albumosen durch eine concentrirte Lösung von schwefelsaurem Ammonium gefällt und das so erhaltene Albumosengemenge weiter verarbeitet.

Von J. Baum<sup>2)</sup>, E. Baumann<sup>3)</sup>, E. Baumann u. Udránszky<sup>4)</sup>, und in neuester Zeit von Skraup<sup>5)</sup> wurde eine Methode ausgearbeitet, nach welcher man ohne Erwärmen hydroxylhaltige Körper und Amine

---

<sup>1)</sup> Ich erwähne, dass ich bei der Darstellung nachstehend beschriebener Aether mich derzeit noch nicht auf die ziemlich zeitraubende und umständliche Trennung der verschiedenen Albumosen nach Kühne und Chittenden [Zeitschr. für Biologie II (N. F.) 11] eingelassen habe, sondern immer von dem Witte'schen Präparat ausgegangen bin.

<sup>2)</sup> Zeitschr. für phys. Chemie IX, 465.

<sup>3)</sup> Diese Berichte XIX, 3218.

<sup>4)</sup> Diese Berichte XXI, 2744.

<sup>5)</sup> Monatshefte für Chemie 1889, Juniheft.

leicht und in verhältnissmässig kurzer Zeit in Benzoëssäureäther überführen kann. Die Methode besteht in Kürze darin, dass man eine Lösung des entsprechenden Körpers in der berechneten Menge Natronlauge mit Benzoylchlorid so lange schüttelt, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden ist. Nach den Erfahrungen, die Skraup (l. c.) bei einer grossen Anzahl von hydroxylhaltigen Körpern, die auf diese Weise benzoylirt wurden, gemacht hat, bildet sich ein Gemenge der verschiedenen hoch benzoylirten Aether und häuft sich das höchst benzoylirte Product desto mehr an, je öfter das Reactionsproduct neuerdings wieder mit Natronlauge und Benzoylchlorid behandelt wird. Bei einer solchen Art der Esterificirung war nun nach meiner Ansicht eine Spaltung des Eiweissmoleküls sehr unwahrscheinlich.

Ich gehe nun zur Beschreibung meiner Versuche über. Das auf früher erwähnte Weise dargestellte Albumosengemenge wurde behufs Reinigung wiederholt in schwach essigsauerm Wasser gelöst und mit starkem Alkohol gefällt, abgesaugt und abgepresst. Er resultirte schliesslich ein weisses Pulver, das gegen 130° weich wird, sich bräunt und beim höheren Erhitzen sich zersetzt. Beim Erhitzen im Trockenschrank auf 120° giebt es sehr langsam das anhaftende Wasser ab. Die bis zur Gewichtsconstanz getrocknete Substanz giebt im Mittel verschiedener Analysen folgende Zahlen:

C 48.75    H 6.8    N 15.6    S 2.72 pCt.    Asche 1.6 pCt.

auf aschefreie Substanz berechnet

C 49.45    H 6.9    N 15.89    S 2.76 » <sup>1)</sup>.

Die gefällten Albumosen aus 50 g Pepton werden noch feucht in der berechneten Menge 10 procentiger Natronlauge gelöst und mit 50 g Benzoylchlorid so lange geschüttelt, als noch der Geruch nach dem Säurechlorid wahrzunehmen ist. Es ist bei der Reaction darauf zu achten, dass die Mischung immer alkalisch reagirt, und eventuell noch Alkali zuzufügen. Im Gegensatz zu anderen Benzoylirungen (vergl. Skraup l. c.) vollzieht sich die Reaction bei den Albumosen recht rasch und unter lebhafter Wärmeentwicklung, weshalb zweckmässig im Anfang mit kaltem Wasser zu kühlen ist.

Es scheidet sich beim Schütteln sehr bald ein weisser Körper ab, der, wenn die Reaction stark alkalisch ist, an den Wänden des Glases klebt. Ist die Reaction vollendet, so neutralisirt man zweckmässig genau mit Essigsäure, da dadurch der Niederschlag mehr

---

<sup>1)</sup> Kühne und Chittenden (l. c.) erhalten aus ihren verschiedenen, aus Witte's Pepton dargestellten Albumosen im Mittel

C = 50.35 — 51.5; H = 6.68 — 6.95; N = 17.3 — 17.01; S = 0.85 — 1.2;

Asche = 0.2 — 2.61.

Wie ersichtlich, weichen meine Zahlen von denen von Kühne und Chittenden bis auf den Schwefel- und etwa noch den Stickstoffgehalt wenig ab.

pulverig wird. Derselbe wird hierauf abgesaugt und mit grossen Mengen Wassers gut ausgewaschen und dann mit wenig starkem Alkohol längere Zeit bei mässiger Wärme digerirt, wodurch schwefelhaltige Körper in Lösung gehen, die vorläufig noch nicht näher untersucht wurden. Der weisse Niederschlag wurde nun nochmals in der berechneten Menge 10procentiger Natronlauge aufgenommen, worin er sich theilweise löste, und mit 150 g Benzoylchlorid geschüttelt, bis kein Geruch nach Säurechlorid mehr wahrnehmbar war, und diese Operation mit derselben Menge Chlorid und Natronlauge wiederholt, hierauf mit Essigsäure versetzt, bis die Reaction nur mehr sehr schwach alkalisch war, dann abfiltrirt und mit viel Wasser gut ausgewaschen und schliesslich auf Thonplatten getrocknet. Das so erhaltene leichte weisse Pulver wurde nun mit 60procentigem Alkohol so lange ausgekocht, als noch etwas in Lösung ging, und die alkoholische Lösung von der nicht unbeträchtlichen Menge ungelösten Pulvers, das wahrscheinlich aus wenig benzoylirten Producten neben unveränderter Albumose besteht, schwefelhaltig ist und nicht näher untersucht wurde, abfiltrirt. Beim Erkalten der weingeistigen Lösung schied sich ein weisser Körper A mikrokrySTALLINISCH ab, von dem abfiltrirt wurde. Betreffs seiner Eigenschaften ist zu bemerken, dass der Körper A weiss, krySTALLINISCH, schwefelfrei, unlöslich in Wasser, schwer löslich in absolutem und kaltem wässrigen, leichter in heissem Weingeist ist, beim Erkalten wieder herausfällt, und sehr deutlich die Biuretreaction giebt. Er hat keinen scharfen Schmelzpunkt ( $208-215^{\circ}$  unter Zersetzung). Seine Analyse ergab im Mittel von 5 verschiedenen Darstellungen folgende Zahlen: C = 59.75; H = 5.9; N = 11.85. Die vollständige Abwesenheit von Schwefel wurde bei A und B durch je eine Schwefelbestimmung nach Carius festgestellt.

Gewogene Mengen der Substanz wurden mit titrirter alkoholischer Kalilauge verseift und mit Salzsäure zurücktitrirt. Es waren 51.0 bis 51.6 pCt. Benzoyl abgespalten. Im Mittel berechnet sich daher 51.3 pCt. abgespaltenes Benzoyl <sup>1)</sup>.

Die weingeistige Mutterlauge von A wird in Vacuo grösstentheils abdestillirt, wobei sich ein gelber Körper abscheidet, der im Destillationsgefäss fest und pulverig ist, an der Luft aber zerfliesst. Der-

---

<sup>1)</sup> Ich habe, um bei ähnlichen Verbindungen diese Methode zu prüfen, analog das Glycerinbenzoat, das ich der Freundlichkeit des Hrn. Prof. Skraup verdanke, behandelt und dabei ganz gut stimmende Zahlen erhalten. Nur ist bei der Titration der Eiweisskörper Lackmus als Indicator nicht zu verwenden und habe ich Phenolphthalein benutzt. Jedoch glaube ich, dass die so erhaltenen Resultate trotzdem nicht genau sind, da das Aetzkali wahrscheinlich auch den Eiweisskörper angreift, und werde bestrebt sein, die Methode durch eine einwurfsfrei zu ersetzen.

selbe wurde in wenig warmem 95procentigem Alkohol gelöst und die kalte gelbe alkoholische Lösung mit viel Aether gefällt. Es fällt hierbei der Körper B in weissen Flocken, die an der Luft gelb werden und zerfliessen. Sie wurden in wenig Alkohol gelöst und der Alkohol in Vacuo verdunstet, wobei sich der Körper B zuerst als durchsichtige klebrige Masse an den Wandungen ausscheidet, die, wenn der Alkohol ganz verdunstet ist, zu einem hellgelben amorphen Pulver austrocknet. B ist unlöslich in Wasser, leicht löslich in warmem starken Alkohol, ist ebenfalls schwefelfrei und seine Analyse ergab im Mittel folgende Zahlen:

$$C = 54.9; H = 5.5; N = 11.19 \text{ pCt.}$$

Bei der Verseifung mit alkoholischer Kalilauge und Zurücktitriren mit Salzsäure ergab sich ein Gehalt an Benzoyl = 45.5 pCt.

Ich muss hierbei erwähnen, dass, als ich direct das Witte'sche Präparat benzoylirte und das erste Reactionsproduct nicht mit Alkohol auszog, dem Körper B ein schwefelhaltiger kohlenstoffreicherer Körper beigemischt war, wodurch ich bei der Analyse wesentlich andere Zahlen erhielt. B zeigt ebenfalls sehr deutlich die Biuretreaction, ist also jedenfalls noch ein Derivat eines Eiweisskörpers.

Die ätherisch-alkoholische Mutterlauge von B wird nun in gelinder Wärme eingeeengt. Der syrupöse Rückstand schied nach längerem Stehen einen dicken Brei feiner Nadeln ab. Derselbe wurde auf Thonteller gestrichen und die zurückbleibenden weissen Krystallnadeln zweimal aus starkem Alkohol umkrystallisirt. Der Syrup wurde bisher nicht weiter untersucht.

Der so erhaltene krystallisirte Körper, C, ist rein weiss, schmilzt noch nicht bei  $230^{\circ}$ , wird aber schon gegen  $190^{\circ}$  braun; er löst sich nicht in Wasser, noch in Alkalicarbonaten und kalter Lauge, leicht in Alkohol.

C, das ich nur bei der Benzoylirung der gereinigten Albumosen erhielt, wurde von mir bisher nur im lufttrocknen Zustande analysirt und gab folgende Zahlen:  $C = 61.6$ ;  $H = 4.25$ ;  $N = 10.87$  pCt. und bei der Titration 61.0 pCt. abgespaltenes Benzoyl. Es ist vollkommen schwefelfrei, giebt aber die Biuretreaction nur sehr schwach.

Schliesslich will ich noch erwähnen, dass sich die Ausbeuten an den beschriebenen Körpern nach den letzten Versuchen im Mittel etwa folgendermaassen stellen. In Alkohol unlöslicher nicht weiter untersuchter Körper 25 pCt.; Körper A 18 pCt.; B 10 pCt.; C 6 pCt.

So wenig abgeschlossen die Untersuchung auch ist, so ergibt sich doch schon aus dem Mitgetheilten das jedenfalls interessante Resultat, dass die isolirten Ester jedenfalls wahre Eiweisskörper sein müssen, da sie die Biuretreaction geben, aber auch vollkommen schwefelfrei sind. Es hat deshalb die Aus-

dehnung der Versuche auf andere Eiweisskörper grosse Bedeutung, und beabsichtige ich ebenso wie die Albumosen auch die Peptone und das Eiweiss selbst in den Kreis meiner diesbezüglichen Untersuchung zu ziehen, wie auch die erhaltenen Körper bezüglich ihrer Spaltungs- und Oxydationsproducte zu untersuchen.

Da aber eine solche Untersuchung in der skizzirten Richtung der Natur der Sache nach lange Zeit in Anspruch nehmen muss, erlaube ich mir an die geehrten Fachgenossen die Bitte zu richten, mir diesen Gegenstand für einige Zeit allein zu überlassen.

### 373. L. Rügheimer: Ueber die neben Dibenzamidodioxytetrol bei der Einwirkung von Natriumäthylat auf Hippursäureester entstehenden Körper.

[Mittheilung aus dem chemischen Universitäts-Laboratorium in Kiel.]

(Eingegangen am 25. Juli.)

#### Benzoyltrioxybenzamidopyrrolin.

Bei der Einwirkung von Natriumäthylat auf Hippursäureester und nachheriger Verarbeitung der entstehenden Producte, so wie es s. Z. angegeben worden ist <sup>1)</sup>, bildet sich neben Dibenzamidodioxytetrol hauptsächlich noch ein zweiter Körper, dem ich die Formel  $C_{27}H_{21}N_3O_6 + 1\frac{1}{2}H_2O$  zuschrieb, und welchen ich auf Grund der Analyse eines Bleisalzes und der Analogie des Processes seiner Bildung mit demjenigen der Einwirkung von Natrium auf Malonsäureester <sup>2)</sup> als Tribenzamidophloroglucin auffasste. Die Ansicht, dass der Körper mit Wasser krystallisire, wurde scheinbar gestützt durch einen Gewichtsverlust, den er beim Erwärmen erlitt. Allerdings trat dabei der Geruch nach Benzoësäure <sup>3)</sup> auf.

Die Auffassung des Körpers als eines Abkömmlings des Phloroglucins hat sich indessen bei der weiteren Untersuchung als unrichtig herausgestellt. Der Gewichtsverlust bei erhöhter Temperatur beruht nämlich nicht, wie früher angenommen wurde, auf einem Weggang von Wasser und kleinen Mengen Benzoësäure, sondern von Benzoësäure ausschliesslich. Man erhält dabei denselben Körper  $C_{11}H_{10}N_2O_3$ ,

<sup>1)</sup> Diese Berichte XXI, 3325.

<sup>2)</sup> Baeyer, diese Berichte XVIII, 3454.

<sup>3)</sup> Diese Berichte XXI, 3330.