

Unter Berücksichtigung der vorliegenden Erwägungen dürfte es demnach kaum möglich sein, aus gewissen lokomotorischen Störungen bei Taubstummen auf die Function der Bogengänge als statischen Sinnes Rückschlüsse zu machen, und ich kann bezüglich dieses Punktes die von Hensen geäußerten Bedenken nur theilen.

---

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock.

### **Zur quantitativen Bestimmung des Glycocolis durch Ueberführung in Hippursäure.**

Von

**Max Gonnermann.**

---

Im Verlaufe einer Untersuchung, welche Herr Professor O. Nasse über die Antipeptone des Albumins und Glutins in der letzten Zeit anstellte, machte sich das Bedürfniss geltend, den Glycocoligehalt der verschiedenen Spaltungsproducte des Glutins genau zu bestimmen. Der Ausarbeitung einer Methode glaubte man überhoben zu sein, als die Arbeit von Charles S. Fischer<sup>1)</sup> erschien. Immerhin konnte eine Controle des von Fischer angewendeten Verfahrens nicht umgangen werden, auch schienen von vornherein einige Operationen einer Aenderung bedürftig. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Nasse habe ich mich dieser Arbeit unterzogen und theile nun in Kürze die Ergebnisse derselben mit.

Das Verfahren von Fischer gründet sich auf die Beobachtung Baum's<sup>2)</sup>, dass Glycocoli in stark alkalischer Lösung durch

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie XIX. S. 164. 1894.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie IX. S. 465. 1885.

Benzoylchlorid leicht in Hippursäure überzuführen ist; die Ausführung ist folgende:

Gelatine (50 gr) wird durch Salzsäure zersetzt, das Reactionsproduct mit Bleioxyd digerirt, bis es alkalisch ist, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit. Die auf 50 ccm eingedampfte Flüssigkeit wird in der siebenfachen Menge 10% Natronlauge gelöst und unter Schütteln allmählich mit Benzoylchlorid versetzt. Dann werden durch starke Salzsäure die Hippursäure und die Benzoësäure frei gemacht und durch Essigäther ausgezogen. Die nach vollständiger Entfernung des Essigäthers zurückbleibende syrupöse Masse wird in reinem Chloroform gelöst. Nach 24stündigem Stehen soll die Hippursäure als feines Pulver ausgeschieden sein, das schliesslich auf einem Filter gesammelt wird.

Fischer erhielt auf diese Weise im Durchschnitt aus 50 gr Gelatine 4,5 gr Hippursäure, auf 100 gr Gelatine berechnet 3,78 gr Glycocolle.

Um den Werth dieser Methode zu prüfen, begann ich mit reinem Glycocolle, löste 0,5 gr in wenig Wasser, fügte 5 ccm 10% Natronlauge und allmählich 8 ccm Benzoylchlorid zu. Die abgekühlte, noch stark alkalisch reagirende Flüssigkeit, versetzte ich mit starker Salzsäure und schüttelte mit Essigäther aus. Der Rückstand aus dem Essigäther-Auszug löste sich, wie Fischer angegeben, leicht in Chloroform, allein auch nach mehrtägigem Stehen schied sich aus dieser Lösung Nichts aus. Ich versuchte nun die Trennung der Hippursäure von der Benzoësäure durch Benzol, indem ich nach Verjagen des Chloroforms das Säuregemisch mit 30 gr reinen Benzols schüttelte. Die ungelöst zurückbleibende Hippursäure entsprach 0,479 gr Glycocolle.

Da sich möglicher Weise aus dem Lösungsverhältniss der beiden in Frage kommenden Säuren in Benzol Vortheile ziehen liessen, so mischte ich 0,5 gr Hippursäure mit Benzoësäure und behandelte dieses Gemisch in einem Extractionsapparat mit Rückflusskühler fünf Stunden lang mit Benzol. Nach Beendigung des Versuches zeigte sich das Filter vollkommen leer; aus dem Benzol schied sich beim Erkalten die Hippursäure vollkommen wieder aus und war so quantitativ wieder zu gewinnen. Leider liessen sich, wie sich bald zeigte, diese Erfahrungen bei dem Reactionsgemisch aus Glutin nicht verwerthen.

Gelegentlich dieser Versuche habe ich von Neuem die Lös-

lichkeit der Hippursäure in verschiedenen Flüssigkeiten festgestellt, und zwar durch Lösen von reiner Säure in grossem Ueberschuss in den erwärmten Lösungsmitteln. In je 200 ccm der auf ca. 18 ° C. abgekühlten filtrirten Lösung wurde dann der Trockenrückstand bestimmt.

So ergab sich, dass

1 gr Hippursäure	70 ccm Essigäther,
	165 ccm Wasser,
	400 ccm Aether,
	1000 ccm Chloroform,
	100000 ccm Benzol
	(10000 ccm Benzol siedend)

zur Lösung bedarf.

In gleicher Weise wurde gefunden, dass 1 gr Benzoësäure sich in 12 ccm Benzol

370 ccm Wasser löst.

Die von Fischer vorgeschlagenen und den mitgetheilten Analysen nach von ihm auch mit Erfolg benutzte Methode hatte mich also bereits bei Verwendung von reinem Glycocoll im Stieh gelassen, und bei dem Glutin war das Resultat nicht günstiger. Aber auch die von mir benutzte Trennung der Hippursäure von der Benzoësäure durch Benzol liess sich, wie bereits erwähnt, in dem letzteren Fall nicht anwenden.

Bevor ich jedoch für diese Trennung ein zum Mindesten in meinen Händen geeignetes Verfahren zu finden suchte, lag mir daran, das Glutin überhaupt auf eine andere Weise zu zersetzen. Warum sollte nicht an Stelle der Salzsäure, die ja nie ganz beseitigt werden kann — es geht sehr viel Bleichlorid bei dem langen Auswaschen in Lösung und liefert bei der Zerlegung durch Schwefelwasserstoff wieder viel Salzsäure — Schwefelsäure verwendet werden können? Nach den Erfahrungen des hiesigen Institutes zerlegt 20% Schwefelsäure in der Druckflasche im kochenden Wasserbad innerhalb fünf Tagen die eiweiss- und leimartigen Substanzen vollkommen und völlig gefahrlos.

Von dieser Erfahrung ausgehend behandelte ich 50 gr Gelatine mit 200 ccm 20% Schwefelsäure in der angegebenen Weise, erhitze die bräunliche Flüssigkeit mit 400 ccm Wasser in einer geräumigen Porzellanschale auf dem Wasserbad und neutralisirte sie mit Bleiweiss (ca. 150 gr). Diese Operation dauert 2½ bis 3 Stunden.

Man lässt nun 12 Stunden stehen, giesst die klare Flüssigkeit durch das Saugfilter und wäscht auf demselben den Niederschlag so lange aus, bis eine Probe auf dem Platinblech erhitzt sich nicht mehr bräunt. Die Gesamtflüssigkeit, die höchstens 3 Liter beträgt, wird bis zum Syrup eingedampft, mit 200 ccm 10% Natronlauge und allmählich mit 25 ccm Benzoylchlorid versetzt. Nach dem Erkalten des Reaktionsgemisches werden 60 ccm 30% Schwefelsäure zugegeben. Eine kleine Menge von Bleisulfat scheidet sich nun noch aus. Der syrupöse Rückstand des Essigäther-Auszuges wird in 100 ccm Chloroform, welchem 5 ccm Benzol zugefügt sind, gelöst. Die anfänglich klare, rothgelbe Flüssigkeit trübt sich rasch und lässt allmählich ein weisses Pulver (Hippursäure) ausfallen. Nach 24 Stunden sammelt man das Pulver auf einem Saugfilter und wäscht anfangs mit benzolhaltigem, schliesslich mit reinem Chloroform aus, bis dieses auf dem Uhrglas verdampft keinen tropfigen Rückstand mehr gibt. Das Pulver ist dann weiss und braucht nur noch vollkommen getrocknet zu werden.

Auf diese Weise habe ich drei Versuche ziemlich zu gleicher Zeit ausgeführt. Die ganze Operation verläuft abgesehen von der Zersetzung durch Schwefelsäure schnell, man hat nur geringe Mengen von Flüssigkeiten einzudampfen und entgeht dem lästigen Arbeiten mit Schwefelwasserstoff, — entschiedene Vorzüge gegenüber dem Fischer'schen Verfahren.

Das Ueberraschendste ist jedoch, dass nach der im Vorstehenden beschriebenen Methode eine bedeutend höhere Ausbeute erzielt wird. Es ergaben je 50 gr Gelatine<sup>1)</sup> in

Vers. I 9,175 gr Hippursäure = 7,73 % Glycocoll

„ II 10,021 „ „ = 8,44 % „

„ III 9,927 „ „ = 8,35 % „

während Fischer im Durchschnitt nur 3,78% Glycocoll aus Gelatine erhielt.

Um mich zu überzeugen, dass jenes weisse Pulver, dessen Menge ich bestimmt hatte, auch wirklich Hippursäure sei, führte

---

1) Zu Vers. I war eine käufliche Gelatine von anderer Herkunft verwendet worden als zu den folgenden Versuchen. Uebrigens ist bei Vers. I ein Beobachtungsfehler nicht ganz ausgeschlossen. Jedenfalls darf aus den mitgetheilten Zahlen nicht ohne Weiteres auf einen verschiedenen Glycocollgehalt der käuflichen Gelatine geschlossen werden.

ich dasselbe einerseits in Benzoësäure über und zwar auf Vorschlag des Herrn Prof. Nasse durch Orthophosphorsäure, da von den anderen, zu solchen Spaltungen benutzbaren Säuren nicht unbedeutende Mengen beim Ausschütteln mit Aether in diesen übergehen. Um die Spaltung vollkommen zu erreichen, muss syrupöse Phosphorsäure verwendet und die Erhitzung im kochenden Wasserbad in der Druckflasche längere Zeit fortgesetzt werden. Es wurde auf diese Weise die der angewendeten Hippursäure entsprechende Menge von Benzoësäure wiedererhalten, und da andererseits die als Hippursäure angesehene Substanz bei 186° C. schmolz, so war die Identität mit Hippursäure erwiesen.

Die bedeutend, um mehr als das Doppelte höhere Ausbeute, die bei der hier beschriebenen Modification der Fischer'schen Methode erhalten wird, und ihr somit noch einen weiteren Vorzug verleiht, erklärt sich wohl einfach daraus, dass die Verwendung von Bleioxyd bei Gegenwart von Salzsäure vermieden wird. Schüttelt man nämlich käufliches Bleioxyd (Bleiglätte) mit Salzsäure, die stark verdünnt sein kann, so entwickelt sich Chlor (vielleicht auch Chlortetroxyd). Dem Gemisch zugefügter Jod-Kalium-Stärke-Kleister wird intensiv gebläut, ebenso auch ein mit diesem Reagenz befeuchtetes Papier an der Mündung des Reagenzrohres. Schüttelt man ferner Bleiglätte mit Wasser und etwas Guajactinctur, so entsteht bereits eine schwache Blaufärbung. Schwefelsäure ändert hieran nichts, dagegen wird das Gemisch sofort dunkelblau bei Zusatz von ein paar Tropfen Salzsäure. Dass aber das leicht zersetzbare Glycocoll bei stundenlanger Berührung mit Chlor und mit Sauerstoffatomen vollständig erhalten bleiben sollte, ist wohl kaum anzunehmen. So wird denn auch ganz allgemein vor der gleichzeitigen Verwendung von Bleioxyd und Salzsäure zu warnen sein.

---