

Acetylchlorid und von Essigsäure erhalten. Schöne, prismatische Krystalle, in heissem Alkohol ziemlich leicht, in kaltem löslich; Schmelzpunkt 134°.

Monacetat  $C_{14}H_{12}(OH)(C_2H_3O_2)$ . Aus Bittermandelöl-Hydrobenzoïn mit Essigsäure erhalten. Lange, in Alkohol leicht lösliche Nadeln; Schmelzpunkt 84°.

Bibenzoat  $C_{14}H_{12}(C_7H_5O_2)_2$ . Aus Stilbenbromid mit benzoësaurem Silber, aus Hydrobenzoïn mit Benzoylchlorid erhalten. Kleine, in heissem Alkohol sehr schwer lösliche, in heisser Essigsäure leichter lösliche Nadeln; Schmelzpunkt 246—247°.

durch Essigsäureanhydrid und durch Acetylchlorid, aus Bittermandelöl-Isohydrobenzoïn mit Essigsäureanhydrid erhalten. Krystallisirt in Blättern oder gut ausgebildeten Prismen, die beide rhombisch zu sein scheinen. Die Blätter schmelzen constant bei 117—118°, die Prismen das erste Mal bei 117—118°, beim zweiten oder dritten Mal dagegen bei 105 bis 106°. Durch Umkrystallisiren aus den Blättern gewonnene, prismatische Krystalle zeigen dasselbe Verhalten, beim zweiten Mal schmelzen sie bei 105—106°.

Monacetat  $C_{14}H_{12}(OH)(C_2H_3O_2)$  aus Stilbenbromid mit essigsauerm Kali oder essigsauerm Silber erhalten. Kurze, dicke Nadeln, in Alkohol leicht löslich; Schmelzpunkt 87—88°.

Bibenzoat  $C_{14}H_{12}(C_7H_5O_2)_2$ . Aus Stilbenbromid mit benzoësaurem Silber erhalten, nicht durch Benzoylchlorid darstellbar. Spröde, weisse Nadeln in heissem Alkohol leicht löslich, Schmelzpunkt 153 bis 154°.

#### 489. J. Piccard: Ueber Protamin, Guanin und Sarkin, als Bestandtheile des Lachssperma.

(Eingegangen am 12. Decbr; verl. in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Am Anfang dieses Jahres hat F. Miescher (Verhandl. der naturforsch. Ges. in Basel) eine bemerkenswerthe histochemische Untersuchung der Spermatozoën einiger Wirbelthiere publicirt, aus welcher derjenige Theil, welcher sich auf eine von ihm entdeckte organische Basis, das Protamin, bezieht, auszugsweise in diesen Berichten (VII, No. 6 pag. 376 und Berichtigung No. 8 S. 666) erschienen ist.

Da einerseits eine weitere Verfolgung dieses Gegenstandes in

rein physiologischer Richtung Hr. Miescher näher lag, und andererseits einige von ihm berührte Punkte ihm noch einer genaueren Prüfung von chemischer Seite zu bedürfen schienen, hat er mich gebeten diese Arbeit zu übernehmen. In fast allen Punkten stimmen nun meine Resultate mit den seinigen überein; in einem aber weichen sie etwas ab, so dass eine Berichtigung seiner Angaben noch vor Jahreschluss ihm erwünscht ist.

Hr. Miescher giebt nämlich an, dass der Salzsäureauszug des gereinigten Lachssperma, nach der Fällung des Protamins mit Platinchlorid, keine andere Basis mehr enthalte, weil er auf die gewöhnlichen Mittel wie Phosphormolybdänsäure und Jodquecksilberkalium nicht reagirt. Er giebt ferner an, dass bei langsamer Verdunstung das salzsaure und das salpetersaure Protamin in Krystallen des orthorhombischen Systems ( $oP$ ,  $\infty P$ ) erhalten werden können, und endlich dass ein Protaminsalz nach wiederholtem Eindampfen mit conc. Salzsäure einen festen, weissen Rückstand hinterlasse, welcher mit Salpetersäure und Natron die bekannte Xanthinreaction zeige, was auf eine Verwandtschaft des Protamins mit den Körpern dieser Gruppe hinweisen würde.

Bei näherer Untersuchung der angeblichen Krystalle von salzsaurem und salpetersaurem Protamin habe ich jedoch stets gefunden, dass sie lediglich aus Sarkin- und Guaninsalzen bestehen. Auf der andern Seite habe ich beobachtet, dass reines salzsaures Protamin mit Salzsäure eingedampft, einen zähen, hygroscopischen, amorphen Rückstand hinterlässt, welcher die Xanthinreaction nicht zeigt. Es folgt daraus, dass genannte Körper nicht als Derivate des Protamin anzusehen sind, sondern dass sie neben demselben im Lachssperma praeexistirend enthalten sind. Die Mitfällung einer geringen Menge davon mit Platinchlorid, würde die von Miescher am salzsauren Protamin beobachtete Krystallbildung und die so empfindliche Xanthinreaction erklären. Dass ferner nach Miescher's Darstellungsmethode mittelst Quecksilbernitrat die Gesamtmasse des Guanin-Sarkin als leicht krystallisirbare Salze im salpetersauren Protamin enthalten sein muss, ist selbstverständlich.

Zu meiner Untersuchung habe ich mich sowohl des vollkommen reinen, reifen Secretes, sog. Lachsmilch, wie es allerdings etwas umständlich durch Auspressen am Thiere selbst gewonnen werden kann, als auch der weniger reifen ganzen Testikel bedient. Das durch wiederholtes Auskochen mit absolutem Alkohol von Fett, Lecithin und Cholesterin gereinigte Material, wurde mit kalter 1procentiger Salzsäure fein zerrieben und mehrere Male nach einander je 6 Stunden lang extrahirt. Im ersten Auszug war, neben geringen Mengen von unorganischen Salzen, nichts anderes als Protamin nachzuweisen. Auch

der zweite Auszug stellt eine fast reine Lösung dieser Basis dar<sup>1)</sup>. Aber im dritten und noch mehr in den folgenden nimmt die ausgezeichnete Ferrocyankaliumreaction ab, und dafür giebt eine ammoniakalische Silberlösung den bekannten dickgelatinösen Niederschlag der Xanthinbasen. Zur vollständigen Extraction des Rückstandes, welcher neben etwas Eiweisstoffen wesentlich aus Nuclein besteht, muss man warme und etwas stärkere Säure anwenden. Die ersten Extracte können zweckmässig mit Platinchlorid auf Protamin verarbeitet werden; die letzteren geben nach dem Abdampfen zu einem kleinen Volum eine krystallinische Ausscheidung, welche alle Eigenschaften der Xanthinkörper zeigt.

Behufs Trennung der drei Basen, Guanin, Sarkin und Xanthin, wurde die wässrige Lösung der gereinigten Krystalle in überschüssige, concentrirte Ammonflüssigkeit eingetragen, in welcher der erst genannte Körper allein unlöslich ist. Der weisse Niederschlag erwies sich bei der Analyse in der That als ein Guanin, in welchem noch eine geringe Menge Sarkin den Stickstoffgehalt etwas herabdrückt.

	Gefunden.	Berechnet.
C	39.42	39.73
H	4.11	3.31
N	45.13	46.35
O	11.04	10.61
Asche	0.30	—

In der ammoniakalischen Flüssigkeit bildeten sich nach Reduction zu einem kleinen Volum und Zusatz von etwas Essigsäure harte, kugelige Krystallanhäufungen, welche sich als ein mit Guanin stark verunreinigtes Sarkin erwiesen. Gefunden 42.84 pCt. N, berechnet 41.18.

Um zu entscheiden ob auch Xanthin vorhanden sei, was übrigens nach dem viel niedrigeren Stickstoffgehalt desselben (36.84 pCt.) kaum mehr zu erwarten war, wurde nach Neubauer das Sarkin in ammoniakalischer Lösung mit Silbernitrat gefällt, der kleisterartige Niederschlag behufs besserer Filtration, durch heftiges Schütteln zertheilt und in heisser Salpetersäure von 1.1 sp. Gew. aufgelöst. Beim Erkalten schied sich alles wieder aus, so dass nach 4 Stunden das Filtrat mit Ammoniak übersättigt, kaum eine Trübung gab: es ist somit kein Xanthin, oder jedenfalls nur wenig davon vorhanden.

Was das Mengenverhältniss der beiden Basen Guanin und Sarkin betrifft, so schätze ich es approximativ gleich, und zwar zusammen

<sup>1)</sup> Dieser Umstand hat offenbar Miescher veranlasst, die Anwesenheit anderer Basen für völlig ausgeschlossen zu halten, und die — von ihm übrigens nur in geringen Mengen erhaltenen — Krystalle als selbstverständlich dem Protamin und seinen Zersetzungsprodukten zugehörig zu betrachten.

auf 5 pCt. in unreifem und 6—8 pCt. in reifem, gereinigten Samen. Auf eine genauere quantitative Bestimmung habe ich es so wenig abgesehen, als auf die Auffindung einer neuen Methode zur scharfen Trennung dieser Körper. So viel steht fest, dass die Zusammensetzung des Lachssperma, wie sie Miescher (Seite 37 seiner Originalabh.) angiebt, in der Weise revidirt werden muss, dass diese 5—8 pCt. Guanin-Sarkin zum Theil auf das Nuclein, zum Theil auf die Eiweissstoffe, welche letztere durch Verlust bestimmt worden waren, vertheilt werden müssen.

Das Vorkommen von so bedeutenden Quantitäten jenes seltenen Körpers in einem leicht zu beschaffenden Material, möchte für Physiologen und Chemiker von einigem praktischen Interesse sein,

Was das Protamin selbst betrifft, kann ich in fast allen Punkten die Angaben Miescher's bestätigen, und will hier nur Weniges beifügen.

Zur Vorarbeitung ist es sehr zu empfehlen nur vollkommen reifes Secret vom Monat December zu verwenden, indem unreife Organe, abgesehen von ihrem geringeren Protamingehalt, eine leimartige Substanz enthalten, welche, theilweise durch Platinchlorid fällbar, der salzsauerem Protaminlösung eine emulsive Beschaffenheit ertheilt und das Absetzen des Platinsulfids ungemein erschwert. Dann fand ich es sehr zweckmässig, um gleich einen reinen, pulverigen Niederschlag zu erhalten, stets die Protamin- in die Platinlösung tropfenweise zu giessen. Verfährt man umgekehrt, so bekommt das Doppelsalz in Folge von grossen Mengen, mechanisch eingeschlossenen, unveränderten salzsauerem Protamins, eine solche harzig-pflasterartige Beschaffenheit, dass man nachher nicht weiss, wie man es weiter verarbeiten soll. Wenn man es nach wochenlangem Stehen über Schwefelsäure soweit getrocknet hat, um es zerreiben zu können, so nimmt es beim Benetzen mit Wasser gleich dieselbe Beschaffenheit wieder an. Wenn man es dagegen mit einer Platinchloridlösung benetzt, bleibt es immer körnig. Um ein Basischwerden des Salzes zu verhüten, habe ich es stets mit verdünntem Platinchlorid ausgewaschen und letzteres schliesslich mit absolutem Alkohol verdrängt.

Von den 5 analysirten Präparaten Miescher's verdienen nach meiner Ansicht die zwei letzteren, wo die Fällung in der angegebenen Weise stattgefunden hatte, am meisten Vertrauen. Mit denselben stimmt auch folgende Analyse eines nach einer anderen Methode bereiteten Präparates (siehe unten) so weit überein, dass man daraus entnehmen kann, es hier mit einem individualisirten Stoff zu thun zu haben. Freilich führen sie alle drei, weniger zur Formel  $C_9 H_{20} N_5 O_2$  welche Miescher auf Grund seiner drei ersten Analysen für die or-

ganische Substanz annehmen zu müssen glaubte, als viel mehr annähernd zur Formel  $\text{PtCl}_4 + 2 (\text{HCl} \cdot \text{C}_8 \text{H}_{16} \text{N}_{4\frac{1}{2}} \text{O}_2)$

Gefunden.

Pt	24.64
Cl	26.45
N	15.03
C	22.80 und 22.78
H	4.15 und 4.40
O	6.93.

Zur vorstehenden Analyse ist zu bemerken, dass auf eine etwaige Cyanbildung beim Glühen mit Aetzkalk zur Chlorbestimmung keine Rücksicht genommen worden ist. Aus dem hohen Wasserstoffgehalt geht hervor, dass man es hier mit einer sehr gesättigten Verbindung zu thun hat.

Was das salpetersaure Protamin anbelangt, so kann man es, nachdem ein gleichzeitiges Vorkommen von Guanin und Sarkin nachgewiesen ist, nicht mehr nach Miescher's Angabe durch Extraction des Samens mit Salpetersäure, Fällern mit Quecksilbernitrat und Zersetzen mit Schwefelwasserstoff erhalten. Man geht am besten vom salzsauren Salze aus, welches durch 2malige Fällung des Platindoppelsalzes leicht rein zu beschaffen ist, indem man es mit Silbernitrat versetzt und die Lösung vom überschüssigen Silber durch Schwefelwasserstoff befreit. Im Vacuum eingedampft, scheidet es sich bei einem gewissen Grade der Concentration aus der sauren Flüssigkeit in Form von grossen, schweren Tropfen aus, welche nach längerem Stehen in der Kälte eine butterartige Consistenz annehmen. Schliesslich trocknet es zu einer festen krystallödischen Masse ein. Ob nicht unter günstigen Umständen die Protaminsalze, von welchen ich eine Anzahl darzustellen versucht habe, wirkliche Krystalle geben können, bleibt vor der Hand eine offene Frage.

Schliesslich habe ich eine Beobachtung zu erwähnen. Nimmt man zur Extraction des Samens statt kalter, verdünnter Salzsäure eine 4procentige und untersucht deren Wirkung durch kurzes Erwärmen auf dem Wasserbad, so erhält man eine saure Lösung, welche in hohem Grade die Eigenschaft der Wismuth- und Antimonsalze besitzt, beim Giessen in Wasser eine intensiv-milchige Trübung zu erzeugen. Der weisse Niederschlag, welcher aus lauter kleinen öligen Tröpfchen besteht, setzt sich bald zu Boden und vereinigt sich nach und nach zu grösseren Tropfen. Nachdem die darüber stehende Flüssigkeit abgegossen worden war, wurde er vier Mal hintereinander in warmer Salzsäure wieder aufgelöst und durch Giessen in viel Wasser — scheinbar ohne grossen Verlust — wieder erzeugt. Da reines salzsaures Protamin ein solches Verhalten nicht im geringsten

zeigt, lag die Vermuthung des Vorhandenseins einer neuen Basis nahe, die sich jedoch nicht als richtig erwies. Wird nämlich die saure Lösung mit Platinchlorid gefällt, so besteht der gelbe Niederschlag lediglich aus Protamindoppelsalz, dessen Zusammensetzung ich oben angegeben habe, und es bleibt im Filtrat der säureartige Körper, an welchen das Protamin gebunden war. Derselbe ist offenbar aus der Zersetzung des Eiweiss oder des Nuclein unter der Einwirkung der warmen Salzsäure entstanden; wesshalb die Empfehlung Miescher's zur Gewinnung von reinem Nuclein mit kalter verdünnter Säure möglichst rasch zu arbeiten, vollkommen begründet ist.

Basel, 9. December 1874.

#### 490. L. F. Nilson: Ueber Verarbeitung Selenschlamm.

(Eingegangen am 12. December; verl. in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Aus einer soeben unter die Presse gegebenen Arbeit über die Salze der selenigen Säure<sup>1)</sup> entnehme ich diesmal Folgendes über Darstellung von Selen aus Selenschlamm. Um diese Untersuchung auszuführen, habe ich nämlich schon längst eine erhebliche Quantität Selen aus Schlamm von der Faluner Schwefelsäurefabrik nach einer Methode sehr leicht gewonnen, die auch Otto Petterson<sup>2)</sup> benutzt hat; da aber seine Abhandlung nur in schwedischer Sprache veröffentlicht ist, glaube ich im Interesse des chemischen Publikums zu handeln, wenn ich die genannte Methode mittheile.

Dieser Schlamm, der ung. 2.5 pCt. Selen enthält, lässt sich nicht nach der von Böttger<sup>3)</sup> herrührenden und von Otto<sup>4)</sup> empfohlenen Methode verarbeiten. Beim Kochen mit Natriumsulfit wirkt nämlich das im Schlamm vorhandene Bleisulfat auf das gebildete Natriumselenohyposulfit unter Bildung von Selenblei, Natriumsulfat und freier Schwefelsäure zerlegend ein. Kocht man nach Angabe Böttger's bis zur Schwarzfärbung des Schlamms, so lässt sich Selen in der Lösung nicht mehr entdecken; kocht man dagegen nur einen Augenblick, so scheidet Chlorwasserstoffsäure aus der Lösung zwar rothes Selen ab, dessen Menge sich jedoch bei fortgesetzter Erhitzung schnell vermindert, um endlich ganz zu verschwinden; so zeigten Versuche in Proberöhrchen, dass eine Minute schon ausreicht, um alles Selen aus der Lösung wegzuschaffen. Jedenfalls ist es nicht möglich, die genannte Zerlegung zu verhindern, weshalb die Methode ganz un-

<sup>1)</sup> *Researches on the salts of selenious acid in Nova Acta* der Societät der Wissensch. zu Upsala Ser. III. Vol. III.

<sup>2)</sup> *Om selenigrans alunarter etc.* Upsala 1872.

<sup>3)</sup> *Journ. f. prakt. Ch.* XCIV, 439.

<sup>4)</sup> *Lehrb. d. Ch.* I, 634.