

sächlich Bromkalium enthaltend, läuft in lange Tröge, wo sie durch den elektrischen Strom zersetzt wird, um dann als alkalische Bromlösung zum Auslaugen neuer Mengen Erz verwendet zu werden.

Gil Edge Mine.

Fergus County Montana, U. St. A.

496. Rudolph Cohn: Zur Kenntniss des bei der Pancreasverdauung entstehenden Leucins.

[Aus dem Universitätslaboratorium für Pharmakologie und med. Chemie zu Königsberg i. Pr.]

(Eingegangen am 1. October; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

Bei Gelegenheit einer Untersuchung, die sich mit den durch die Einwirkung des Pancreas auf Fibrin entstehenden Verdauungsproducten beschäftigen sollte, machte ich die Beobachtung, dass die Eigenschaften des dabei erhaltenen Leucins in manchen, wie ich glaube, wesentlichen Punkten von denjenigen, wie sie gewöhnlich für das Pancreasverdauungsleucin angegeben werden, abwichen. Ich unterwarf daher das dabei gewonnene Leucin einer genaueren Untersuchung, über deren Resultate ich im Folgenden berichten will.

3 Kilo gut ausgewaschenes und fest ausgepresstes Blutfibrin wurden, in 10 L Wasser vertheilt, mit 3 Rindspancreas unter genügendem Thymolzusatz, um Fäulniss hintanzuhalten, bei schwach alkalischer Reaction 3×24 Stunden bei 40° der Verdauung unterworfen. Fäulniss war nicht im geringsten eingetreten. Die Verarbeitung auf Leucin geschah nach der alten Kühne'schen, nur unwesentlich modificirten Methode. Nach Entfernung des Eiweiss durch Aufkochen und Essigsäurezusatz wurde das Filtrat eingeeengt, das ausgeschiedene Tyrosin, 36 g, abfiltrirt, das Filtrat noch weiter eingedampft, die nach längerem Stehen abgeschiedene Masse, im Trockengewicht von 80 g, welche viel harzige Substanzen, Spuren Tyrosin, dagegen zum grössten Theil Leucin enthielt, das jedoch nur mit grossen Verlusten daraus rein zu isoliren war, abfiltrirt und das nun erhaltene Filtrat mit etwa dem vierfachen Volumen Alkohol versetzt. Nach mehreren Tagen hat sich ein zähflüssiger, massiger, hauptsächlich aus Peptonen und Leucin bestehender Bodensatz gebildet, von dem die überstehende Flüssigkeit klar abgegossen werden konnte; dieselbe wurde auf etwa $\frac{1}{2}$ L abdestillirt. Schon beim Destilliren schieden sich massenhaft nur schwach gelblich gefärbte Krystalle ab, die Abscheidung ist nach mehrtägigem Stehen als vollendet anzusehen. Die Krystalle werden nun abfiltrirt, mit verdünntem, dann starkem Alkohol ausgewaschen; sie wiegen 40 g. Das Filtrat wird noch weiter eingeeengt

und wieder mit dem vierfachen Volumen Alkohol versetzt, nach mehreren Tagen ist die zweite Abscheidung beendet, eine dicke, an den Wänden des Gefässes haftende krystallinische Kruste. Die davon klar [abgeglichene Flüssigkeit wurde wiederum eingengt und mit Alkohol versetzt u. s. w., diese Procedur im Ganzen 4 Mal vorgenommen, so dass ich 4 verschiedene Krystallisationen erhielt, die sich als identisch erwiesen, im Ganzen einige 70 g. Indessen ist die Ausbeute eine viel grössere, z. B. konnte ich aus den zuerst erhaltenen 80 g noch 20—30 g desselben Körpers ziemlich rein gewinnen.

Am reinsten waren die ersten beiden Krystallisationen, während die späteren stark mit Pepton verunreinigt waren.

Die Krystalle der ersten Abscheidung schmolzen in dem ursprünglichen Zustande bei 268° , während Pancreasleucin bei 170° schmelzen soll. Dass es sich trotzdem hier um Leucin handelte, ergab sich sowohl aus dem allgemeinen Verhalten, als aus den ausgeführten Analysen. Die Krystalle lösten sich leicht in Wasser, schwer in Alkohol und gaben ein wolkiges Sublimat unter Entwicklung von Geruch nach Amylamin.

Zur weiteren Reinigung erwies es sich am geeignetsten, sie zunächst aus heissem Wasser unter Thierkohlezusatz umzukrystallisiren; aus der auf geringeres Volumen eingedampften Lösung scheiden sich krystallinische Krusten ab, aus dem Filtrat auf Alkoholzusatz ebenfalls Krystalle, und zwar kuglige Aggregate von kleinen, unregelmässigen Nadeln. Nach mehrmaligem Umkrystallisiren scheidet sich die Substanz aus 50procentigem Alkohol schneeweiss, asbestglänzend aus; sie besteht unter dem Mikroskop aus grossen, dünnen, nicht regelmässig sechseckigen, übereinandergeschobenen Tafeln, die im zugeschmolzenen Röhrchen scharf bei $275-276^{\circ}$ unter Gasentwicklung schmelzen. Erhitzt man sie im offenen Röhrchen ganz langsam, so verflüchtigen sie sich schon bei ca. 230° , ohne zu schmelzen.

N-Bestimmung nach Kjeldahl. 0.1836 g (bei 105° getrocknet) gab Ammoniak entsprechend 13.7 ccm $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge. Stickstoff = 10.4 pCt. Leucin verlangt Stickstoff = 10.7 pCt.

Von Salzen stellte ich das Kupfersalz dar. 1.5 g der reinen Substanz wurden in 400 ccm Wasser gelöst, in die heisse Lösung frisch gefälltes Kupferoxydhydrat eingetragen, das sich mit dunkelblauer Farbe löst; als ein Ueberschuss ungelöst blieb, sich auch ein Theil des Salzes auszuschcheiden begann, wurde heiss filtrirt und das Filtrat auf etwa 30 ccm eingedampft. Es scheiden sich krystallinische Krusten von blassblauer Farbe ab, unter dem Mikroskop kuglige Aggregate von feinen Nadeln und schmalen Blättchen. Das Salz ist krystallwasserfrei.

Analyse des bei 105° getrockneten Salzes: Gefunden Kupfer = 19.4 pCt. Leucinkupfer, $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$, verlangt Kupfer = 19.5 pCt.

Es handelt sich nach Allem also zweifellos um ein Leucin.

Ich will hier gleich erwähnen, dass ich, das Kupfersalz betreffend, folgende Beobachtung machte: als ich zu einer Lösung von Leucin in Natronlauge Kupfersulfat bis zu dunkelblauer Färbung zufügte, bemerkte ich nach einigen Tagen die Abscheidung grosser Krystallwarzen, die aus mikroskopischen Krystallbüscheln bestanden, welche mikroskopisch äusserst lange, fächer- und garbenförmig angeordnete Nadeln bildeten. Ich versuchte darauf, dieses Kupfersalz in grösseren Mengen darzustellen; es wollte aber in den ersten Versuchen, als ich beliebige Mengen Natronlauge in starkem Ueberschuss und soviel Kupfersulfat zufügte, bis sich etwas Kupferoxydhydrat ausschied, aus der schnell filtrirten Lösung nichts auskrystallisiren, die Bedingungen waren anscheinend verschieden. Schliesslich gelangte ich zum Ziele, als ich zu einer ziemlich stark verdünnten, etwa 3 procentigen Leucinlösung die berechnete moleculare Menge Natronlauge und dann Kupfersulfatlösung zusetzte. Man muss auch einen Kupferüberschuss vermeiden, weil die Lösung sonst wieder hellblau wird und sich dann nichts ausscheidet. Hat man die Bedingungen richtig eingehalten, was bei bekannten Leucinmengen natürlich sehr leicht ist, so scheidet sich in ganz kurzer Zeit ein Krystallpulver aus, das aus blauen, kugligen Aggregaten feiner Nadeln besteht. Sie sind äusserst schwer in kaltem Wasser löslich und lassen sich sehr gut auswaschen; auch in heissem Wasser lösen sie sich schwer. Das Filtrat von der ersten Abscheidung des Kupfersalzes ergab nach mehrtägigem rubigem Stehen eine zweite Krystallisation, kleine Warzen, die aus den zuerst beobachteten langen Nadeln bestanden, zu deren Ausbildung eine langsame Abscheidung aus verdünnterer Lösung nöthig zu sein scheint. Jedenfalls ist wohl diese Darstellung des Kupfersalzes eine viel bequemere, als die mit frisch gefälltem Kupferoxydhydrat. Ob sie sich zur quantitativen Abscheidung des Leucins aus seinen Lösungen eignet, woran man bei der enormen Schwerlöslichkeit des Salzes denken könnte, ist mir nach einigen Versuchen, die ich angestellt, fraglich, da in Lösungen mit unbekanntem Leucingehalt sich die richtigen Bedingungen für die Abscheidung des Salzes schwer werden treffen lassen, indessen dürfte es sich doch vielleicht verlohnen, weitere Versuche in der Richtung anzustellen.

Die Analyse dieses Kupfersalzes ergab für normales Leucinkupfer gut stimmende Werthe; es ist ebenfalls wasserfrei.

Uebrigens gelingt es auch mittels desselben Verfahrens Glycocollkupfer darzustellen, es scheint sogar hier ein Ueberschuss von Alkali weniger zu schaden. Das Glycocollkupfer scheidet sich dabei als dickes Magma sternförmig verzweigter Nadeln aus. Bei der leichteren Löslichkeit desselben muss man concentrirtere Lösungen anwenden.

Der Schmelzpunkt des von mir gewonnenen Pancreasleucins weicht, wie wir gesehen, erheblich von dem in den gebräuchlichen

Lehr- und Handbüchern angegebenen ab. Beilstein z. B. sagt in der neuesten Auflage seines Handbuches: Actives Leucin, sehr verbreitet im thierischen Organismus, normal in Milz, Pancreas etc. sublimirt bei vorsichtigem Erhitzen, ohne zu schmelzen; bei starkem Erhitzen schmilzt Leucin bei 170° unter Zersetzung. Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der physiol.- und pathol.-chem. Analyse, VI. Auflage 1893: das Leucin ist ein constantes Pancreasverdauungsproduct etc. Vorsichtig auf 170° erhitzt, schmilzt es und sublimirt grösstentheils unzersetzt, beim schnellen Erhitzen über 170° zersetzt es sich. Von älteren Autoren, von denen übrigen die meisten nichts über den Schmelzpunkt angeben, will ich folgende beiden anführen: Radziejewsky (Zeitschr. f. Chemie, 1866, 466) sagt: Leucin aus Organen, und besonders aus Pancreas dargestelltes, sublimirt bei 170° , und nach Hüfner (Journ. f. prakt. Chem. N. F. 1, 6) liegt der Sublimationspunkt des durch Pankreasverdauung aus Fibrin gewonnenen Leucins bei 170° . Es könnte hiernach scheinen, als ob in späteren Angaben Sublimationspunkt und Schmelzpunkt verwechselt seien, indessen kann dies auch nicht der Fall sein, da mein Leucin bei 170° auch nicht sublimirt. Als ich dasselbe über 5 Stunden lang einer Temperatur von 175° aussetzte, zeigte sich in dem kalten Theil des Röhrchens nicht das geringste Sublimat, die Substanz war nur etwas gelb gefärbt und roch etwas nach Amylamin, war aber sonst unverändert.

Der von mir gefundene Schmelzpunkt stimmt ziemlich genau mit dem des inactiven Leucins überein, das bei $210-220^{\circ}$, ohne zu schmelzen, verdampft und im zugeschmolzenen Rohr bei 270° schmelzen soll. Um nun zu entscheiden, ob es vielleicht mit diesem identisch sei, stellte ich 3 Reihen von Versuchen an: I. bestimmte ich die Löslichkeit meines Leucins in Wasser; II. liess ich darauf *Penicillium glaucum* einwirken, und III. untersuchte ich sein Rotationsvermögen.

Ad. I.:

1. Ganz reines Leucin wird in kochendem Wasser gelöst, von dem nach dem Abkühlen und 24 stündigen Stehen bei Zimmertemperatur (ca. $15-16^{\circ}$) Abgeschiedenen abfiltrirt und im Filtrat die gelöste Menge bestimmt. In 4.5322 der Lösung war enthalten 0.1593, also Löslichkeit 3.5 pCt.

2. Ganz reines Leucin wird fein zerrieben, mit einer zur Lösung ungenügenden Menge Wassers übergossen, schwach angewärmt und 2×24 Stunden unter häufigem Umschütteln bei $15-16^{\circ}$ stehen gelassen, darauf im Filtrat die gelöste Menge bestimmt. 3.4326 Lösung enthielten 0.1111 Leucin, Löslichkeit 3.2 pCt.

Inactives Leucin soll sich 1 : 105 lösen, seine Löslichkeit ist also kaum 1 pCt.

Ad. II.:

Inactives Leucin soll durch die Einwirkung von *Penicillium glaucum* zerlegt werden und ein linksdrehendes in der Lösung übrig bleiben. Ich löste 3 g Leucin in 500 g Wasser, setzte als Nährsalz 2.5 g Kal. phosph., 2.5 g Magnes. phosph., 0.25 g dreibas. Calciumphosphat und 5.0 g Ammoniumtartrat zu, das Ganze wurde auf 6 Kolben vertheilt, sterilisirt und mit Reincultur von *Penic. glauc.* geimpft.¹⁾ Der Versuch dauerte 8 Wochen. In allen Kolben hatte sich eine dicke Pilsdecke von reinem *Penic. gl.* entwickelt. Das Filtrat wird eingedampft, der Rückstand 2mal mit ammoniakhaltigem Alkohol heiss extrahirt, die Extracte eingedampft; es wurde daraus keine Spur Leucin wiedergewonnen, dasselbe war also nicht, wie inactives Leucin, gespalten, sondern vollständig zersetzt.

Ad. III.:

Das Leucin erwies sich als optisch activ und zwar zeigte es in wässriger Lösung schwache Linksdrehung; eine 3 procentige Lösung drehte im 2 dm-Rohr im Halbschattenapparat ca. $\frac{1}{2}^{\circ}$ nach links. Dagegen zeigte es in salzsaurer Lösung stärkere Rechtsdrehung: 0.6178 g, in 15 ccm 20 procentiger Salzsäure gelöst, drehten im 2 dm-Rohr $1^{\circ}50'$ nach rechts.

Aus allen diesen Versuchen folgt, dass das Leucin trotz der Uebereinstimmung des Schmelzpunktes mit dem inactiven Leucin nicht identisch ist.

Abgesehen von seinem Schmelzpunkt differirt es auch in seinen Löslichkeitsverhältnissen von dem von anderen Untersuchern beschriebenen Pancreasleucin. Dieses soll sich bei 18° in 46 Th. Wasser lösen, während das in meinen Händen befindliche sich in ca. 30 Th. löste.

Worauf diese Unterschiede beruhen, vermag ich natürlich ohne directen Vergleich mit dem von anderen Autoren dargestellten Leucin nicht zu sagen. Trotz genauester darauf gerichteter Untersuchung konnte ich daneben auch niemals ein zweites Leucin auffinden. Einen Zufall bei der Gewinnung halte ich ebenfalls für ausgeschlossen, da ich sowohl bei einer nochmaligen Darstellung dasselbe Leucin erhielt, als auch ein in dem Institute befindliches älteres Leucin mit dem meinigen identisch war. Für am wahrscheinlichsten muss ich die Möglichkeit ansehen, dass eine besondere Modification vorliegt, besonders, wenn ich eine von M. Nencki (Zur Kenntniss der Leucine. Journ. f. prakt. Chem. N. F: 15, 390—398) gemachte Beobachtung heranziehe. Derselbe erhielt nämlich sowohl bei 14 tägiger Digestion

¹⁾ Hr. Prof. v. Esmarch hatte die Güte, mir die Anstellung des Versuches in seinem Laboratorium zu gestatten, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danke.

von 200 g käuflichen Eiweisses mit 100 g frischem Ochsenpancreas, als auch besonders, wenn er 1500 g Pancreas mit 5 l Wasser 2 mal 24 Stunden bei 40° digerirte, ein Leucin, das von dem gewöhnlichen in mancher Hinsicht abwich. Die Krystalle waren schneeweiss und aschefrei, mikroskopisch concentrisch angeordnete, biegsame Nadeln oder mehr flache rhombische Tafeln, schmeckten schwach, aber deutlich süss, sublimirten bei etwa 210° und lösten sich in 43.6 Th. kalten Wassers. Nach alle diesem können sie mit den meinigen ebenfalls nicht identisch sein, deren Geschmack übrigens nicht süss, sondern eher bitter ist. Ich glaube daher annehmen zu müssen, dass bei der Pancreasverdauung nicht ein einziges Leucin, sondern eine Reihe von solchen entstehen kann.

497. M. Nencki: Ueber das Verhalten der aromatischen Oxyketone im Thierkörper.

(Eingegangen am 6. October; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

Schon vor längerer Zeit habe ich gezeigt, dass Acetophenon im Thierkörper zu Benzoësäure oxydirt und als Hippursäure ausgeschieden wird¹⁾. Seither wurden nach der von mir gefundenen allgemeinen Methode durch Erhitzen von Säuren und Phenolen mit Chlorzink eine ganze Reihe aromatischer Oxyketone dargestellt, und es hat mich interessirt, das Verhalten dieser Oxyketone im Thierkörper kennen zu lernen. Die Versuche, die ich darüber gemeinschaftlich mit Hrn. Dr. Rekowski und Hrn. Dr. Koroltschuk mit Gallacetophenon, Resacetophenon und dem Paroxypropiophenon angestellt habe, haben ergeben, dass alle diese drei Oxyketone im Thierkörper nicht zu den entsprechenden Carbonsäuren oxydirt, sondern als Aetherschwefelsäure und in Verbindung mit Glycuronsäure ausgeschieden werden.

Resacetophenon, $C_6H_3(OH)(OH)(COCH_3)$, wird von mittelgrossen Hunden in Dosen von 2—4 g täglich, auch bei längerer Fütterung, gut vertragen. Der schwach sauer reagirende Harn enthält kein Eiweiss und zeigt nach längerer Fütterung deutliche Linksdrehung. Frischer Harn reducirt alkalische Kupferlösung nicht, wohl aber nach Aufkochen mit Salzsäure. Die Aetherschwefelsäuren sind im Harn stark vermehrt, so dass bei längerer Fütterung ihre Menge grösser ist, als der in Form von Alkalisulfat ausgeschiedenen. Wurde der Resacetophenonharn, der mit Eisenchlorid rothe Färbung zeigt, auf

¹⁾ Journ. f. prakt. Chem. N. F. 18, 288 (1878).