

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 wird<sup>1)</sup>. 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

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chem. N. F. 18, 288 (1878).

dem Wasserbade verdunstet, dann mit Alkohol extrahirt und nach Abdestilliren des Alkohols der Rückstand, sei es direct, sei es nach vorherigem Ansäuern ausgeäthert, so ging in den Aether nichts über — ein Zeichen, dass das Resacetophenon nur im gebundenen Zustande im Harne vorhanden war. Nach mehrfachen Versuchen, die Paarlinge des Resacetophenons aus dem Harne zu isoliren, hat uns folgendes Verfahren zum Ziele geführt:

Der Harn mit Resacetophenon gefütterter Hunde wird mit kohlen-saurem Kali ganz schwach alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit viel absolutem Alkohol ausgekocht. Aus dem heissen, alkoholischen Filtrate krystallisiren beim Erkalten die Kalisalze der beiden Paarlinge. Die Krystalle werden abfiltrirt und der Alkohol auf die Hälfte bis zwei Drittel abdestillirt, worauf beim ruhigen Stehen in der Kälte sich von neuem Krystalle abscheiden. Sie werden abfiltrirt, mit absolutem Alkohol gewaschen und zwischen Fliesspapier getrocknet. Die auf diese Weise durch Verfütterung von 50—100 g Resacetophenon gesammelten Kalisalze werden in möglichst wenig heissem Wasser gelöst und filtrirt, worauf sich beim Erkalten das Kalisalz der Resacetophenonschwefelsäure in nur schwach gefärbten Nadeln abscheidet. Durch ein- bis zweimaliges Umkrystallisiren, event. unter Zusatz von Thierkohle, werden die Krystalle vollkommen weiss erhalten. Das lufttrockene Salz enthält kein Krystallwasser. Durch Eisenchlorid wird es, ähnlich wie das Resacetophenon roth gefärbt. Mit Chlorbaryum giebt die Lösung des Salzes keine Trübung. Schon durch gelindes Erwärmen mit Salzsäure wird es in Resacetophenon und Schwefelsäure gespalten. Die Analysen des Salzes ergaben mit der Formel:  $C_6H_3(COCH_3)(OH)(OSO_3K)$  gut übereinstimmende Zahlen.

Analyse: Ber. Procente: K 14.42,  $SO_3$  29.62.

Gef. » » 14.32, » 29.66.

Das Filtrat von dem ausgefällten Baryumsalz wurde zur Trockne verdunstet und mit absolutem Alkohol ausgezogen; sodann der nach dem Verdunsten hinterbliebene krystallinische Rückstand aus wenig heissem Wasser umkrystallisirt. Die erhaltenen schneeweissen Krystalle, im Exsiccator getrocknet, schmolzen bei  $142^0$  und zeigten alle Reactionen des reinen Resacetophenons.

Die vom resacetophenonschwefelsauren Kalium abfiltrirte Mutterlauge wurde auf dem Wasserbade concentrirt, ohne dass beim Erkalten eine weitere Krystallisation erfolgte. Da auch nach Zusatz von Salzsäure keine Krystalle ausfielen, so wurde die jetzt saure Lösung mit kohlen-saurem Kupfer im Ueberschusse geschüttelt, gelinde erwärmt und filtrirt. Aus dem warmen Filtrate krystallisirte beim Erkalten in blauschwarzen Nadeln ein Kupfersalz aus, das alle Eigenschaften eines Glycuronates hatte. Das Salz reducirte in alkalischer Lösung das

Kupfer erst nach Kochen mit Salzsäure und enthielt weder Stickstoff noch Schwefel. Das auskrystallisirte Kupfersalz wurde filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und noch 2mal aus heissem Wasser umkrystallisirt. Unter dem Mikroskope sehen die Krystalle vollkommen homogen aus. Die Elementaranalyse ergab jedoch keine scharf stimmenden Zahlen. Das lufttrockene Salz enthält Krystallwasser und verlor in zwei Bestimmungen bei  $105^{\circ}$  getrocknet 16.2 und 16.9 pCt. an Gewicht. Die Analyse des bei  $105^{\circ}$  getrockneten Kupfersalzes ergab:

Procente: C 43.85, H 4.13, Cu 15.15.

Die erhaltenen Zahlen entsprechen annähernd der Formel des resacetophenonglycuronsauren Kupfers  $C_{14}H_{14}O_9Cu$ , welche 43.18 pCt. C, 3.59 pCt. H und 16.1 pCt. Cu verlangt. Der Wasserverlust beim Trocknen entspricht annähernd 4 Molekülen Krystallwasser. Nach der Formel  $C_{14}H_{14}O_9Cu + 4H_2O$  sollte der Gewichtsverlust beim Trocknen 15.6 pCt. betragen.

Von allen Metallverbindungen der Resacetophenonglycuronsäure, die wir darzustellen versuchten, schien uns das Kupfersalz wegen seiner Krystallisationsfähigkeit für die Isolirung der Säure das geeignetste. Da aber auch dieses Salz nicht ganz rein erhalten wurde, so haben wir aus dem Rest der aus dem Harn erhaltenen Kalisalze, die freie Resacetophenonglycuronsäure darzustellen versucht. Zu dem Zwecke wurden die Kalisalze in möglichst wenig Wasser gelöst, die Lösung auf  $0^{\circ}$  abgekühlt und mit Salzsäure im Ueberschusse versetzt. Beim Stehen auf Eis haben sich in kurzer Zeit feine, weisse Nadeln abgeschieden, die, wie es sich später zeigte, die gesuchte freie Resacetophenonglycuronsäure waren, während die leichter lösliche Resacetophenonätherschwefelsäure in Lösung blieb. Die Krystalle wurden abfiltrirt, mit wenig eiskaltem Wasser nachgewaschen, zwischen Fliesspapier getrocknet und noch einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt. Um sicher ein reines Präparat zu haben, wurde die Substanz noch aus heissem Alkohol umkrystallisirt. Ueber Schwefelsäure getrocknet ergab sie jetzt bei der Verbrennung folgende Zahlen:

Procente: C 48.63, H 5.23.

Die Formel  $C_{14}H_{16}O_9 + H_2O$  verlangt 48.55 pCt. C und 5.20 pCt. H. Leider reichte das reine Material nur für eine Verbrennung aus. Wir konnten nur mit dem Rest constatiren, dass die freie Säure in Wasser leicht, in Alkohol weniger löslich ist. Die Lösung wird durch Eisenchlorid tief roth gefärbt und reducirt alkalisches Kupfer erst nach Erwärmen mit Salzsäure. Im Capillarröhrchen trocken erhitzt, bräunt sie sich unter Gasentwicklung bei circa  $170^{\circ}$ .

Gleich wie von Hunden wird auch von Kaninchen das Resacetophenon als Aetherschwefelsäure und mit Glycuronsäure gepaart, ausgeschieden. Ein grosses Kaninchen hatte vor der Eingabe von Res-

acetophenon in der 24stündigen Harnmenge 0.4722 g Schwefelsäure der Salze und 0.0347 g Aetherschwefelsäure, also im Verhältniss von 13.62 : 1. Nach Eingabe von 4 g Resacetophenon war die Schwefelsäure der Salze = 0.6069 g; die gebundene 0.1387 g, das Verhältniss also wie 4.38 : 1.

Der Kaninchenharn wurde auf gleiche Weise wie der Hundeharn verarbeitet und aus dem Gemenge der erhaltenen Kalisalze das für die Resacetophenonglycuronsäure charakteristische Kupfersalz dargestellt.

Als Aetherschwefelsäure und mit Glycuronsäure gepaart, wird auch das durch Erhitzen von Propionsäure und Phenol mit Chlorzink dargestellte und von mir Propionylphenol oder Paraoxypropionphenon<sup>1)</sup> =  $C_6H_4(OH)(COCH_2CH_3)$  genannte Keton von Hunden und Kaninchen ausgeschieden. Von den Thieren wird das Keton gut vertragen. Ein Hund von 14 g Körpergewicht erhielt täglich mit seinem Futter je 4 g des Ketons, im ganzen innerhalb 4 Wochen 90 g ohne Störung seines Wohlbefindens. In dem eiweissfreien Harn sind die Aetherschwefelsäuren stark vermehrt, so dass sie mehr als die Hälfte der Gesamtschwefelsäure ausmachen. Der Harn zeigte eine schwache Linksdrehung, durchschnittlich um 1—1.5°, und reducirte nach vorherigem Erwärmen mit Salzsäure alkalische Kupferlösung. Die Glycuronsäureverbindung des Propionylphenols wird gleich wie die des Resacetophenons durch basisches Bleiacetat gefällt, doch gelang es uns nicht, daraus die freie Säure rein zu gewinnen. Wurde der Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat von Schwefelblei auf dem Wasserbade verdunstet, so hinterblieb ein Syrup, aus dem nichts krystallisiren wollte, aus welchem aber durch Aufkochen mit Salzsäure und Extraction mit Aether das Propionylphenol leicht isolirt werden konnte. Die aus dem Aetherextracte erhaltenen Krystalle schmolzen im Kapillarröhrchen bei 147° (Schmelzpunkt des reinen Propionylphenols), und die wässrige Lösung der Krystalle, mit einem Tropfen stark verdünnter Eisenchloridlösung versetzt, gab die für das Keton charakteristische amethystblaue Färbung. In grossen Mengen kann das Keton aus dem Harne erhalten werden, wenn derselbe auf ein kleines Volum verdunstet und hierauf mit  $\frac{1}{3}$  seines Volumens reiner Salzsäure 5—10 Minuten gekocht und hernach mit Aether extrahirt wird. Das aus dem Aetherextract erhaltene Propionylphenol schmolz bei 147° und gab bei der Verbrennung 71.72 pCt. C und 6.63 pCt. H. Die Formel  $C_6H_4(OH)(COCH_2CH_3)$  verlangt 72.00 pCt. C und 6.68 pCt. H.

<sup>1)</sup> Wiener Monatsschr. f. Chem. 1889 und A. Goldzweig und A. Kaiser, Journ. f. prakt. Chem. N. F. 43, 86 (1891).

Auch bei Pflanzenfressern werden die Aetherschwefelsäuren nach Fütterung mit Propionylphenol stark vermehrt. Ein Kaninchen, das vor der Fütterung in der 24 stündigen Harnmenge 0.2133 g Schwefelsäure der Salze und 0.016 g Aetherschwefelsäure, also im Verhältniss wie 13:1 enthielt, hatte am folgenden Tage nach Eingabe von 2 g des Ketons in der 24 stündigen Harnmenge 0.3387 g Schwefelsäure der Salze und 0.1252 g Aetherschwefelsäuren, also im Verhältniss von 2.7:1. Durch Kochen des Harns mit Salzsäure und Extraction mit Aether haben wir auch hieraus das reine Propionylphenol erhalten.

Mit dem Gallacetophenon =  $C_6H_2(OH)^1(OH)^2(OH)^3(COCH_3)^4$  hat schon früher Hr. Dr. Rekowski<sup>1)</sup> Versuche angestellt und constatirt, dass auch dieses Keton von Hunden und Kaninchen theilweise als Aetherschwefelsäure, theilweise mit Glycuronsäure gepaart, ausgeschieden wird. Von Hunden wurde das Gallacetophenon in Dosen von 2—4 g pro Tag gut vertragen. Pyrogallolcarbonsäure konnte in dem Harn nicht nachgewiesen werden; obgleich die Isolirung der Säure durch Extraction des angesäuerten Harnrückstandes mit Aether oder Essigäther leicht gelingen müsste.

Aus unseren Versuchen geht also hervor, dass, sobald ein aromatisches Keton freie Hydroxyle enthält, wodurch die Möglichkeit einer Paarung mit Schwefelsäure oder Glycuronsäure gegeben ist, eine Oxydation der in ihm enthaltenen Seitenkette im Thierkörper nicht mehr stattfindet. Das Acetophenon wird zu Benzoësäure oxydirt. Resacetophenon und die andern Oxyketone werden nicht oxydirt, sondern als Paarlinge der beiden genannten Verbindungen ausgeschieden. Gleich wie die Oxyketone werden voraussichtlich auch ihre Ester vom Thierkörper ausgeschieden. Ist noch ein Hydroxyk frei, wie z. B. in dem Paeonol (Methylresacetophenon), dann findet nur einfache Paarung mit Schwefelsäure und Glycuronsäure statt. Sind alle Hydroxyle durch Alkyle ersetzt, so dürfte eine Hydroxylierung im Benzolkern der Paarung mit der Schwefelsäure resp. Glycuronsäure vorausgehen. Directe Hydroxylierung aromatischer Verbindungen im Thierkörper, wie z. B. des Benzols und anderer aromatischer Kohlenwasserstoffe, ist schon lange bekannt. Am *o*-Oxy-carbanil habe ich diese Hydroxylierung im Thierkörper gezeigt<sup>2)</sup>, und so auf physiologischem Wege bewiesen, dass diesem Körper

nicht die Lactim-  $\left( C_6H_4 \begin{array}{c} \diagup N \\ \diagdown O \end{array} = C(OH) \right)$ , sondern die Lactamformel  $\left( C_6H_4 \begin{array}{c} \diagup NH \\ \diagdown O \end{array} > CO \right)$  zukommt.

<sup>1)</sup> Therapeutische Monatshefte 1891, Septemberheft.

<sup>2)</sup> Wiener Monatshefte Jahrg. 1890.