

112. M. Siegfried: Ueber Phosphorfleischsäure.

(Eingegangen am 14. März.)

In den Extractivstoffen der Muskeln findet sich eine phosphorhaltige Substanz, die Phosphorfleischsäure, welche beim Erwärmen mit Barytwasser neben Baryumphosphat das Barytsalz der Fleischsäure, $C_{10}H_{15}N_3O_5$, die identisch mit dem Antipepton ist, liefert ¹⁾. Die Abscheidung der Phosphorfleischsäure aus dem Gemenge der Extractivstoffe geschieht in Gestalt einer Eisenverbindung, welche in Wasser unlöslich, in Alkalien ausserordentlich leicht und vollständig löslich ist.

Diese Eisenverbindung, welche unter dem Namen Carniferrin von den Höchster Farbwerken dargestellt wird und, nachdem seine Resorbirbarkeit durch Thierversuche nachgewiesen ist ²⁾, therapeutisch gegen Chlorose u. s. w. Verwendung findet, wird von derselben Zusammensetzung bei constanter Ausbeute aus den Muskelextracten gewonnen. Hr. Dr. M. Ide hat die Methode der quantitativen Bestimmung der Phosphorfleischsäure als Carniferrin mit bestem Erfolge ausgearbeitet.

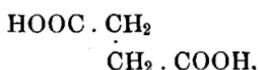
Aus den Resultaten der zahlreichen Analysen des Carniferrins verschiedener Darstellungen hebe ich erstens hervor, dass der Phosphor zum Stickstoff in genauem Verhältniss von 1:3 steht, d. h. dass auf ein Molekül Fleischsäure ein Atom Phosphor kommt, zweitens dass der Kohlenstoff zum Stickstoff im Verhältniss 4.2 steht, während das Verhältniss in der Fleischsäure 2.9 ist. Schon die bei der Analyse erhaltenen Werthe also deuten darauf hin, dass in der Phosphorfleischsäure ausser der Phosphorsäure, welche wahrscheinlich nicht als dreibasische Phosphorsäure vorhanden ist, und der Fleischsäure noch ein stickstofffreier oder stickstoffarmer Complex existirt.

Zur Aufsuchung dieses Complexes wurden zunächst die Mutterlaugen grosser Mengen Fleischsäure geprüft. Durch die überaus dankenswerthe Freigebigkeit der Kemmerich-Gesellschaft war ich in den Stand gesetzt, über 50 kg Fleischextract zur Darstellung der Fleischsäure zu verwenden. Das aus 40 kg Fleischextract erhaltene Carniferrin wurde mit Barythydrat zersetzt und aus der barytalkalischen Lösung nach der früher beschriebenen Methode (loc. cit.) die Fleischsäure rein dargestellt. Die alkoholischen Mutterlaugen derselben wurden abdestillirt und der Rückstand zwei Monate in Extractionsapparaten mit Aether extrahirt, bis bei erneuter Extraction der Aether nichts mehr löste. Die durch Aether ausgezogenen Körper waren Paramilchsäure und Bernsteinsäure. Aus dem Gemische der

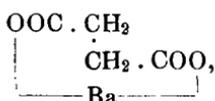
¹⁾ Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abthlg. 1894, 401.

²⁾ ibid. 455.

Säuren habe ich etwa 30 g reine Bernsteinsäure erhalten. Früher bei Verarbeitung kleinerer Mengen Carniferrin hielt ich die erhaltene krystallisirte Säure für eine andere, isomere Säure, weil ich sie aus einem leicht löslichen Barytsalze gewonnen und gereinigt hatte, während das Barytsalz der Bernsteinsäure durchweg als unlöslich bezw. sehr schwer löslich angegeben wird. Eingehende vergleichende Versuche mit gewöhnlicher Bernsteinsäure ergaben die völlige Identität beider Säuren. Auch die gewöhnliche Bernsteinsäure bildet ein leicht lösliches Barytsalz, welches erst beim Erhitzen allmählich in das unlösliche übergeht. Besitzt die Bernsteinsäure die Formel:



so wird dem Barytsalz die Formel $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \cdot \text{COO} \\ | \\ \text{CH}_2 \cdot \text{COO} \end{array} > \text{Ba}$ zukommen. Vielleicht hat das lösliche Barytsalz die labile Form:



welche beim Erhitzen in die stabile übergeht. Wie schon Hantzsch und Bischoff gefunden haben, ist die hypothetische labile Form der

Bernsteinsäure: $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \cdot \text{COOH} \\ | \\ \text{CH}_2 \cdot \text{COOH} \end{array}$ sehr unbeständig. So erhält man durch Zersetzung des unlöslichen Barytsalzes der Bernsteinsäure mit Schwefelsäure und Ausäthern eine Säure, welche in der Kälte wieder ein leicht lösliches Barytsalz liefert.

Zur Erklärung der beiden Barytsalze der Bernsteinsäure ist auch die Annahme verschiedener Moleculargrößen derselben zulässig.

Die völlig ausgeätherten Mutterlaugen der Fleischsäure wurden fractionirt mit Alkohol gefällt. Aber selbst die letzten Fällungen besaßen fast denselben Stickstoffgehalt wie die Fleischsäure. Ein letzter heller Syrup von 5 g gab in sehr geringen Mengen eine Benzoylverbindung, die identisch mit einer bei der Spaltung der Fleischsäure mit Salzsäure erhaltenen ist.

In der bei der Zersetzung des Carniferrins erhaltenen baryt-alkalischen Lösung waren also nur Fleischsäure, Bernsteinsäure, Paramilchsäure und Spuren von Zersetzungsproducten der Fleischsäure vorhanden.

Hingegen gelang es auf folgende Weise, den stickstofffreien Bestandtheil der Phosphorfleischsäure zu finden.

Carniferrin wurde mit einer Lösung von Natriumcarbonat auf dem Wasserbade erwärmt. Nach einer halben Stunde wurde filtrirt, der Rückstand von Neuem mit Sodalösung erwärmt und dies 3 bis

4 mal wiederholt. Die vereinigten Filtrate wurden mit Essigsäure neutralisirt, auf dem Wasserbade eingeengt und mit Barytwasser versetzt. Es entstand ein feiner, schwer filtrirbarer Niederschlag, der centrifugirt und häufig mit 50 proc. Alkohol, dem einige Tropfen Essigsäure zugesetzt waren, auf der Centrifuge ausgewaschen wurde. Die schliesslich mit absolutem Alkohol und darauf mit Aether ausgewaschene Barytverbindung gab bei der Analyse folgende Zahlen:

C = 25.50 pCt., H = 2.88 pCt., N = 6.13 pCt.,

Ba = 35.48 pCt., P = 1.35 pCt.

Das Verhältniss von C:N war also 4.15, mit demjenigen im Carniferrin 4.2 sehr gut übereinstimmend.

Wurde diese Barytverbindung tagelang auf dem Wasserbade mit stark verdünnter Essigsäure erhitzt, so ging der grösste Theil in Lösung, während ein kleiner Theil sich zu einer dunklen unlöslichen Masse zusammenballte, welche bei der Analyse ergab für N = 6.05 pCt., P = 1.05 pCt., Ba = 35.69 pCt.

Es hatte sich also jedenfalls eine höhermoleculare Verbindung von derselben Zusammensetzung gebildet.

Durch Behandlung mit Barythydrat wurde ferner Fleischsäure gewonnen, welche durch Reactionen und ihr Silbersalz nachgewiesen wurde¹⁾.

Die die Barytverbindung bildende Substanz ist als Phosphorfleischsäure anzusehen, aus welcher theilweise der Phosphor durch die Einwirkung des Natriumcarbonates abgespalten ist.

Aus 9 g dieser Barytverbindung wurde durch halbstündiges Kochen mit Barytwasser 0.135 g Paramilchsäure abgespalten. Ferner lieferte dieselbe (5 g) beim Erhitzen mit starker Schwefelsäure 0.72 g (auf Milchsäure berechnete) ätherlösliche Säure, welche nicht die Reactionen der Lävulinsäure zeigte, ferner einen Zucker, der Fehling'sche Lösung stark reducirte, ein Osazon, eine Benzoylverbindung bildete und die Furfurolreaction gab. Letztere lieferte auch die Barytverbindung selbst.

Die genaue Bestimmung dieses Zuckers wird mir erst möglich sein, wenn ich grössere Mengen der Barytverbindung hergestellt habe.

¹⁾ Hr. Prof. H. Huppert verweist mich in liebenswürdiger Weise brieflich auf seine Mittheilung in Liebig's Annalen v. J. 1863, aus welcher hervorgeht, dass Schwefelammonium, für sich nicht völlig auf dem Wasserbade eingedampft, die Reactionen der Thioschwefelsäure giebt. In der oben citirten Abhandlung habe ich die Bildung von Thioschwefelsäure aus Schwefelammon bei Gegenwart von Fleischsäure als eine Reaction für diese angeführt unter Hervorhebung, dass nur frisch dargestelltes Schwefelammon zu verwenden sei (S. 412 u. 413 loc. cit.). Ich mache nochmals darauf aufmerksam, dass bei dieser Reaction auf Fleischsäure nur frisches, farbloses, von Polysulfiden freies Schwefelammonium zu benutzen ist.

Thatsache ist, dass die Phosphorfleischsäure in Phosphorsäure, Fleischsäure und ein Kohlehydrat gespalten wird. Sie steht also zu den Nucleinen in naher Beziehung, welche, wie zuerst Kossel nachgewiesen hat, ebenfalls Kohlehydratgruppen enthalten.

Die Phosphorfleischsäure ist dadurch ausgezeichnet, dass sie bei der Einwirkung von Barythydrat bei 50° Antipepton, die Fleischsäure, liefert. Solche nucleinartigen Körper, welche Pepton, nicht Eiweiss enthalten, wird man vortheilhaft von den Nucleinen trennen. Ich möchte für sie den Namen Nucleone vorschlagen und, Kossel's Nomenclatur folgend, eigentliche Nucleone und Paranucleone unterscheiden. Zu letzteren würde die Phosphorfleischsäure, das Muskel-Nucleon, gehören.

Die Entstehung der Paramilchsäure aus dem Muskel-Nucleon durch Hydrolyse erscheint mir sicher. Den einwurfsfreien Nachweis werde ich erst erbringen können, wenn sich nach Darstellung des nöthigen Materials zeigen lässt, dass die Menge der gebildeten Milchsäure von der Dauer und Concentration der Barytlösung abhängig ist. Das Gleiche gilt von der Bernsteinsäure. Nach neueren, bei Salkowski ausgeführten Untersuchungen fehlt diese Säure in den aus frischem Fleisch dargestellten Extracten gänzlich.

Nach halbstündigem Erhitzen der völlig ausgeätherten Lösung von 100 g Fleischextract mit Barythydrat habe ich nach Ansäuern mit Salzsäure durch Ausschütteln mit Aether Paramilchsäure und Bernsteinsäure erhalten.

Die Kenntniss eines neuen Extractivstoffes der Muskeln stellt die für die Physiologie wichtige Frage: Ist dieser Körper ein Nahrungstoff oder Stoffwechselproduct des Muskels, wird er bei der Muskelthätigkeit verbraucht oder gebildet? Eine von mir zur Beantwortung dieser Frage ausgeführte Versuchsreihe hat ergeben, dass die Phosphorfleischsäure, das Muskel-Nucleon, ein Nahrungstoff der Muskeln ist.

Bei Hunden wurden durch Durchschneidung der nervi cruralis und ischiatici die Strecker und Beuger des einen Hinterschenkels gelähmt. Theils wurde die Muskelarbeit durch elektrische Reizung erregt, theils hatten die Thiere nach Verheilung der Wunden einen einstündigen Weg zu machen. In den gleichmässig hergestellten Extracten der müden und nicht angestregten Schenkelmuskeln der frisch getödteten Thiere wurde die Phosphorfleischsäure als Carniferrin nach der von M. Ide ausgearbeiteten Methode bestimmt. In dem Carniferrin wurde zur Controle jedesmal der Stickstoff bestimmt. Ich fand in allen Fällen den Gehalt an Phosphorfleischsäure in den müden Muskeln wesentlich niedriger als in den ruhenden, einmal war das Verhältniss sogar 1 : 3.

Die Thatsache, dass das Muskel-Nucleon bei der Thätigkeit des Muskels verbraucht wird, erklärt die Entstehung der Phosphorsäure bei der Muskelarbeit.

Schon Weyl und Zeitler haben die Vermuthung ausgesprochen, dass die Phosphorsäure vom arbeitenden Muskel aus nucleinartigen Körpern stamme.

Das Muskel-Nucleon ist also ein Energiestoff der Muskeln, der bei der Hydrolyse Kohlehydrat bildet und Fleischsäure. Auch diese wird sicherlich nutzbar gemacht, denn es ist bisher nicht gelungen, dieselbe als solche im Muskel nachzuweisen, sei es, dass sie oxydirt wird und Energie zur Muskelarbeit liefert, sei es, dass sie beim Wachsthum des Muskels Verwendung findet.

Die ausführliche Mittheilung dieser Untersuchung soll demnächst im Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abth., erfolgen.

Leipzig, Chem. Laborat. des physiolog. Instituts, März 1895.

113. Lothar Meyer: Constitution der Fuch sine.

(Eingegangen am 15. März.)

Der im dritten Hefte dieser Berichte S. 215 von Hrn. Hugo Weil ausgesprochene Wunsch, es möge ausser ihm niemand über die Constitution der Farbbasen der Triphenylmethanreihe arbeiten wollen, veranlasst mich zu folgender Mittheilung.

Schon vor mehr als zehn Jahren hat im hiesigen Laboratorium Hr. Dr. Alexander Weigle¹⁾ die Einwirkung von Salzsäure verschiedener Concentration auf Fuchsin photometrisch untersucht und die drei dabei entstehenden Stoffe: blaurothes Fuchsin, farblose Verbindung und gelbrothes saures Salz quantitativ bestimmt. Diese Untersuchung wurde fortgesetzt von den Herren Dr. Richard Theurer²⁾ und Dr. Conrad Haacke³⁾, welche eine ganze Reihe von alkylirten Fuchsinen, die wir der Güte der Badischen Anilin- und Sodafabrik verdanken, in gleicher Weise spectro-photometrisch quantitativ untersuchten.

¹⁾ Inaug.-Diss. Tübingen 1890; Zeitschr. f. physikal. Chemie 1893, 11, 227 und 426. Diese Arbeit wurde schon im Anfange der achtziger Jahre ausgeführt.

²⁾ Inaug.-Diss. Tübingen 1893.

³⁾ Inaug.-Diss. Tübingen 1894. Da beide Arbeiten nahe zusammengehören, der Druck der letzteren aber sich durch äussere Umstände verzögerte, haben wir über die Ergebnisse beider Untersuchungen noch nicht in Zeitschriften berichtet.