

**33. Wilhelm Wislicenus und Max Kieseewetter:
Ueber Homologe des Oxalessigesters.**

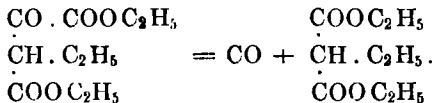
[Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Würzburg.]

(Eingegangen am 31. Januar.)

Die hier zu beschreibenden Versuche wurden zu dem Zwecke ausgeführt, das Verhalten der Homologen des Oxalessigesters (Oxalpropionsäure-¹⁾ und Oxalbuttersäure-Ester²⁾ mit dem des Oxalessigesters selbst zu vergleichen.

I. Kohlenoxydspaltung.

Dass der Metbyloxalessigester (Oxalpropionsäureester) bei der Destillation unter gewöhnlichem Luftdruck glatt Kohlenoxyd abspaltet, ist bereits früher erwähnt worden³⁾. Hinzuzufügen wäre noch die Beobachtung, dass auch der Oxalbuttersäureester in gleicher Weise zerfällt:



Der erhaltene Aethylmalousäureester wurde durch Verseifung⁴⁾ in die Aethylmalonsäure (Schmp. 110°)⁴⁾ übergeführt.

II. Einwirkung von Ammoniak.

Die Einwirkung von Ammoniak und Aminen auf den Oxalessigester ist bereits genauer untersucht worden⁵⁾. Das Ammoniak addirt sich zunächst an den Ester, worauf unter Abspaltung von Alkohol eine Condensation zweier Moleküle erfolgt. Anders verhalten sich die Homologen. Ein Additionsproduct lässt sich nicht erhalten, wenigstens entsteht kein Niederschlag, wenn man trocknes Ammoniakgas in die kalte ätherische Lösung des Oxalpropionsäureesters einleitet. Erwärmt man ein solches Gemisch, so scheiden sich gelbe krystallinische Substanzen ab. Zu deren Darstellung hat es sich am vortheilhaftesten erwiesen, den Ester mit soviel ammoniakgesättigtem Alkohol im Rohr auf 110° zu erhitzen, dass auf 1 Mol. Ester 3 Mol. Ammoniak kommen. Die rothgelbe Lösung scheidet beim Erkalten gelbe Krystalle ab, die durch Umkrystallisiren aus Alkohol gereinigt werden können.

¹⁾ Ann. d. Chem. 246, 329.

²⁾ Ann. d. Chem. 246, 337.

³⁾ Diese Berichte 27, 796.

⁴⁾ J. Wislicenus und Urech, Ann. d. Chem. 165, 93.

⁵⁾ W. Wislicenus und W. Beckh, diese Berichte 28, 789. Ann. d. Chem. 295, 339.

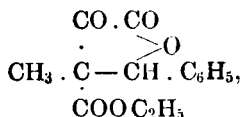
III. Condensation mit Benzaldehyd.

Die Condensation von Benzaldehyd mit Oxalessigester findet nach W. Wislicenus und A. Jensen¹⁾ unter Austritt von Alkohol statt, und das Product ist nicht etwa, wie zuerst vermuthet wurde, der Halbestere einer α -Oxalzimmtsäure (Formel I), sondern ein Lacton, »Ketophenylparaconsäureester« (Formel II),



Es ist aus den Formeln sofort ersichtlich, dass aus Methyloxalessigester nur ein Product der zweiten Art,

(»Ketophenylhomoparaconsäureester«)



entstehen kann. Umgekehrt ist die Constatirung einer solchen eine weitere Stütze für die Richtigkeit der Formulirung der Condensation von Benzaldehyd mit Oxalessigester.

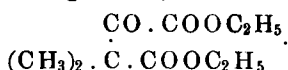
Es ist nun zwar nicht gelungen, die obige Verbindung in chemisch reinem Zustande darzustellen, da sie ölig und nicht destillirbar ist, doch ist durch die Zersetzung mit verdünnter Schwefelsäure ihre Existenz höchst wahrscheinlich gemacht worden.

Methyloxalessigester wurde mit der äquivalenten Menge Benzaldehyd vermischt und das Gemenge in der Kälte mit trockenem Chlorwasserstoffgas gesättigt. Nach längerem Stehen unter Druck wurde die bräunliche Flüssigkeit im Vacuum neben Kali von Chlorwasserstoff befreit, in Aether gelöst und mit Soda vorsichtig ausgeschüttelt. Unverbundener Benzaldehyd und Methyloxalessigester wurden hierauf durch Destillation im Vacuum entfernt, wobei etwa ein Fünftel der angewendeten Menge wieder erhalten wurde. Der Destillationsrückstand stellte ein dunkel gefärbtes Oel dar, das nicht weiter gereinigt werden konnte und deshalb durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt wurde. Es löst sich unter Entwicklung von Kohlendioxyd und Benzaldehydgeruch auf. Der Benzaldehyd wurde durch Ausäthern und Waschen mit Sodalösung isolirt. In der sauren Flüssigkeit blieb Propionylameisensäure zurück. Beide Spaltungsproducte wurden durch die Eigenschaften und die Analyse ihrer wohlbekannteren Phenylhydrazone nachgewiesen.

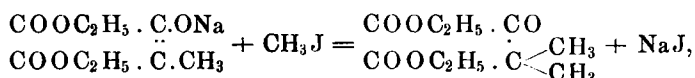
¹⁾ Diese Berichte 25, 3448; 26, 2144.

Der Zerfall des Oeles in Kohlendioxyd (Alkohol), Benzaldehyd und Propionylameisensäure beweist, dass es in der That ein Condensationsproduct aus Benzaldehyd und Methyloxalessigester war, welch' letzterer bei der Zersetzung der sogenannten »Ketonspaltung« anheimgefallen ist.

IV. Dimethyloxalessigester (Oxalisobuttersäureester),



Die directe Synthese dieses Esters aus Oxalester und Isobuttersäureester ist, wie früher nachgewiesen worden ist, unausführbar¹⁾. Auch der andere Weg, die Einwirkung von Jodmethyl auf die Natriumverbindung von Methyloxalessigester:



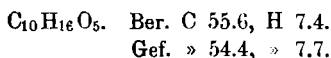
war wenig aussichtsvoll, nachdem bereits früher nachgewiesen worden war, dass der Oxalessigester der Substitution seiner Wasserstoffatome einen starken Widerstand entgegensetzt²⁾. Trotzdem wurde er beschritten, theils, weil dies zur Zeit die einzige Möglichkeit ist, um Dimethyloxalessigester zu bereiten, theils, weil es für die Auffassung der Reaction selbst von Bedeutung war, nachzuweisen, dass es im Vergleich zum Acetessigester lediglich schwieriger, aber nicht unmöglich ist, Alkylgruppen in den Oxalessigester einzuführen. Wenn auch die Versuche wegen der schlechten Ausbeute etwas unvollkommen erscheinen mögen, so haben sie doch ein beweiskräftiges Resultat gehabt. Nach vielfachen Abänderungen wurde nachstehendes Verfahren benutzt, um eine kleine Menge des Esters zu erhalten.

Oxalester wurde mit trockenem Natriumäthylat und Aether zusammengebracht und Propionsäureester hinzugefügt, wie es bei der Synthese des Methyloxalessigesters beschrieben ist. Nach eintägigem Stehen wurde zu der Reactionsflüssigkeit ein grosser Ueberschuss von

¹⁾ Ann. d. Chem. 246, 339. Es mag bei dieser Gelegenheit hervorgehoben werden, dass das Zusammenbringen von käuflichem Isobuttersäureester mit etwas Oxalester und Natriumäthylat eine treffliche Reinigungsmethode für Isobuttersäureester und damit auch für die Isobuttersäure ist, die sonst meist etwas Buttersäure zu enthalten scheint. Der Ester der letzteren verbindet sich mit Oxalester, der Isobuttersäureester wird frei von dieser Verunreinigung wieder gewonnen und zeigt dann einen etwas höheren Siedepunkt, als in der Literatur angegeben ist (110—111°). (Vergl. a. a. O.)

²⁾ W. Wislicenus und E. Arnold, Ann. d. Chem. 246, 336.

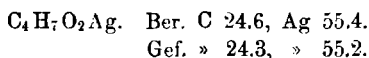
Jodmethyl hinzugefügt. Nach mehreren Wochen zeigte sich, dass der grösste Theil des Natrium-Methyloxalessigesters unverändert auskrystallisirt war, mit etwas Jodnatrium vermischt. Die ätherische Lösung wurde dann mit Wasser und kleinen Mengen Natronlauge geschüttelt, bis eine Probe der Aetherlösung keine Eisenchloridreaction mehr gab, die von unverändertem Methyloxalessigester herührte. Dann hinterliess die Aetherlösung eine kleine Menge (wenige Procente der berechneten Menge) eines Oeles, welches, wie die folgenden Versuche zeigen, in der That Dimethyloxalessigester ist. Wegen der geringen Menge war eine vollkommene Reinfractionirung unmöglich. Zur Analyse gelangte ein Präparat, das unter einem Drucke von 20—23 mm bei 130—136° siedete und noch nicht ganz rein war.



Von den übrigen Oxalessigesterabkömmlingen unterscheidet sich dieser Körper durch den Mangel der Eisenchloridreaction und durch seine Beständigkeit bei hoher Temperatur. Er siedet unter gewöhnlichem Drucke zwischen 225° und 230° ganz unzersetzt, spaltet also kein Kohlenoxyd ab.

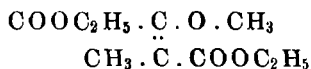
Säurespaltung des Dimethyloxalessigesters.

Dagegen unterliegt er der gewöhnlichen Säurespaltung, wenn man ihn mit alkoholischer Natronlauge erhitzt. Bei einem solchen, mit 3 g Substanz angestellten Versuch schied sich oxalsaures Natrium aus der Lösung aus und wurde durch seine bekannten Reactionen nachgewiesen. Die alkoholische Mutterlauge enthielt isobuttersaures Natrium in Lösung. Durch Eindampfen und Destilliren mit verdünnter Schwefelsäure wurde die freie Isobuttersäure gewonnen und in das charakteristische Silbersalz übergeführt, welches wiederholt umkrystallisirt wurde, da die Säure von einer kleinen Menge einer Silbersalze reducirenden Verunreinigung begleitet war.



Anm.: Die Wasserstoffbestimmung ging durch Zerbrechen des Absorptionsrohres verloren.

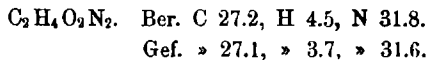
Das Auftreten von Isobuttersäure in beträchtlicher Menge bei dieser Spaltung beweist, dass in der That Dimethyloxalessigester vorlag, und nicht, was wohl möglich gewesen wäre, ein Methyläther des Methyloxyfumarsäureesters:



Einwirkung von Ammoniak und Anilin auf Dimethyloxalessigester.

Wie die Einwirkung dieser Basen auf Oxalessigester und Methyl-oxalessigester eine ganz verschiedene ist¹⁾, so zeigt auch der Dimethyl-oxalessigester seinerseits wieder ein ganz anderes Verhalten. Er wird nach Art der Säurespaltung zerlegt unter Bildung von Oxamid bez. Oxanilid.

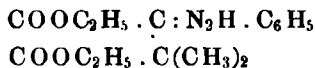
Versetzt man eine abgewogene Menge des Esters mit etwas mehr, als 3 Molekülen Ammoniak in alkoholischer Lösung und erhitzt im Rohr auf 100—110°, so scheidet sich Oxamid ab, das beim Erhitzen ohne zu schmelzen, theilweise sublimirt.



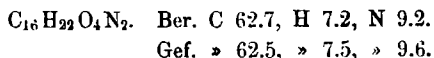
Aus der vom Oxamid abfiltrirten Lösung krystallisirt beim Eindampfen ein bei 125° unscharf schmelzender Körper aus, der wegen seiner geringen Menge nicht weiter gereinigt werden konnte. Da das Isobuttersäureamid bei 128—129° schmilzt, so ist die Identität mit diesem naheliegend.

Anilin wirkt, in entsprechender Weise angewendet, erst bei 180—200° ein. Dann erhält man als Spaltungsproduct das bei 245° schmelzende Oxanilid in verhältnissmässig beträchtlicher Menge.

Einwirkung von Phenylhydrazin auf Dimethyloxal- essigester.



Der Ester bildet mit Phenylhydrazin ein Hydrazon, welches weder beim Erhitzen für sich, noch beim Kochen mit Eisessig in ein Pyrazolon übergeht. Gleiche Moleküle Ester und Phenylhydrazin wurden auf dem Wasserbade erhitzt. Beim Erkalten erstarrte die Masse zu gelblich-weissen Krystallen, die aus Alkohol oder Eisessig leicht umkrystallisirt werden konnten. Der Schmelzpunkt lag bei 90—91°. Die Lösung in concentrirter Schwefelsäure wurde durch einen Tropfen Eisenchloridlösung intensiv violett gefärbt.



¹⁾ Vergl. W. Wislicenus und K. Spiro, diese Berichte **22**, 3351; W. Wislicenus und W. Beckh, diese Berichte **28**, 789; Ann. d. Chem. **295**, 339; sowie gegenwärtige Abhandlung weiter oben.

Nach dem Schmelzen in einem auf 200° erhitzten Oelbade wurde der Körper unverändert zurückgewonnen, er scheint also wenig geneigt zu sein, unter Alkoholabspaltung in ein Pyrazolon überzugehen.

Die Existenz des Dimethyloxalessigesters ist somit durch die Versuche zur Genüge bewiesen, wenn er auch zur Zeit ein sehr schwer zugänglicher Körper ist.

34. M. Hahn: Das proteolytische Enzym des Hefepresssaftes.

(Eingegangen am 26. Januar.)

Bereits in seiner zweiten Mittheilung hatte E. Buchner angeführt, dass es mir gelungen sei, in dem nach unserer Methode hergestellten Hefepresssaft ein eiweisslösendes Enzym festzustellen. Man kann sich, wie dort bereits angegeben, in einfacher Weise von der Anwesenheit eines solchen Enzyms überzeugen, wenn man einige Cubikcentimeter Hefepresssaft, mit einigen Tropfen Chloroform oder einem anderen Antisepticum versetzt, auf eine hohe Schicht von starrer Carbolgelatine in einem Reagenzglase giesst. Nach 24 Stunden ist bereits eine deutliche Lösung der Gelatine bemerkbar, nach einigen Tagen ist die ganze Gelatineschicht verflüssigt. Eine Mitwirkung von lebenden Mikroorganismen ist durch das Verfahren ausgeschlossen. Diese Beobachtung ist zwar insofern von Wichtigkeit, als dadurch ein genaueres Studium der Eigenschaften und der Thätigkeit dieses eiweisslösenden Enzyms in einer klaren Lösung ermöglicht wird, sie ist aber insofern nicht überraschend, als einerseits Untersuchungen über die Autodigestion der Hefezellen (Schützenberger, Salkowski) vorlagen, andererseits, wie aus dem Referate H. Will's¹⁾ hervorgeht, den Fachmännern das Auftreten von proteolytischen Enzymen in Hefereinculturen bekannt war.

R. Neumeister führt aber in seiner neuesten Publication²⁾ dagegen an, dass es Dr. Hjort, der unter seiner Leitung arbeitete, nicht gelungen sei, durch feines Zerreiben von kräftig wirksamen Hefezellen mittelst Quarzsand und nachfolgendes Auspressen einen Extract zu erhalten, der irgendwelche peptische Wirkung äusserte.

Zu unseren Versuchen wurde im Allgemeinen dieselbe Presshefe benutzt, wie sie E. Buchner zum Studium der Gährungswirkungen des Hefepresssaftes verwandt hat, und man könnte annehmen, dass auch das proteolytische Enzym nur bei einer bestimmten Beschaffenheit der Hefe, einem besonderen physiologischen Zustande derselben, im Presssaft anzutreffen sei. Hiergegen sprechen aber vor Allem

¹⁾ Centralbl. f. Bakteriologie 1896, Abth. II, S. 92.

²⁾ Diese Berichte 30, 2965.