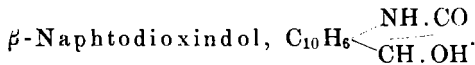


heissem Eisessig, in welchem es schwerlöslich ist, in hellgelben Nadelchen, welche über 300° schmelzen. Mit concentrirter Schwefelsäure entsteht eine intensiv violette Färbung

$C_{18}H_{11}N_3$. Ber. N 15.6. Gef. 15.88.



β -Naphtisatin wird in heissem Eisessig aufgelöst und unter Erwärmen so lange mit Zinkstaub versetzt, bis vollständige Entfärbung eingetreten ist. Man filtrirt die noch heisse Lösung in ein theilweise mit kaltem Wasser gefülltes Kölbchen und erreicht so eine sofortige Ausscheidung des gebildeten Naphtodioxindols im Filtrat. Durch Umkrystallisiren aus Alkohol, welchem man etwas schweflige Säure oder einige Tropfen Natriumbisulfidlösung zugesetzt hat, lässt sich das Rohproduct leicht reinigen.

β -Naphtodioxindol krystallisirt in farblosen oder schwach bräunlichen Kryställchen vom Schmp. 216°. Die Verbindung ist löslich in heissem Alkohol und Eisessig, kaum löslich in Wasser und Chloroform. Die Lösungen oxydiren sich durch den Luftsauerstoff leicht unter Rückbildung von Naphtisatin.

$C_{12}H_9NO_2$. Ber. N 7. Gef. N 7.07.

Die Untersuchung wurde im Herbst 1896 ausgeführt.

Genf, Universitätslaboratorium.

44. Thomas B. Osborne: Die chemische Natur der Diastase.

(Eingegangen am 7. Februar.)

In zwei Abhandlungen, diese Berichte 30, 2289 und Zeitschrift für physiologische Chemie 24, 173, theilt A. Wróblewski die Resultate einer Untersuchung mit, die ihn zu Schlüssen führen, etwas abweichend von denen, zu welchen ich auf Grund einer ausgedehnten Untersuchung¹⁾, die im Wesentlichen dieselbe Frage behandelte, gekommen war. Unsere Ansichten gehen hauptsächlich insofern auseinander, als ich die diastatische Wirkung so innig mit dem coagulirbaren Eiweiss, Leukosin²⁾, verbunden fand, dass die amylolytische Wirkung mit

¹⁾ Reports Conn. Agricultural Experiment Station, 1894, 193; 1895, 233. Journ. Amer. Chem. Soc. 17, 587; 18, 536.

²⁾ Das Albumin, welches ich im Weizen, Roggen und in der Gerste gefunden und unter dem Namen »Leukosin« beschrieben habe.

Amer. Chem. Journ. 15, 408. Reports Conn. Agricult. Exper. Station 1893, 179; 1894, 149, 167. Journ. Amer. Chem. Soc. 16, 429, 524, 539. Griessmayer. Die Proteide der Getreidearten etc. Heidelberg 1897, 87, 134, 149, 178.

grosser Wahrscheinlichkeit als eine Function des Eiweisses erschien; da es mir indessen nicht gelang, das Albumin in uncoagulirtem und somit activem Zustande von der Proteose zu trennen, so betrachtete ich die Identität der Diastase mit dem Albumin nicht als endgültig bewiesen. Wróblewski andererseits schreibt die stärkeumwandelnde Kraft einer Proteose zu und bezeichnet demnach meine Diastasepräparate, da sie alle eine grosse Menge Albumin enthalten, als unrein. Sieht man sich aber die von Wróblewski angegebenen Daten, die Eigenschaften und Wirksamkeit seiner Diastase an, so erscheint es unmöglich, dass irgend eines seiner Präparate reiner war als die meinigen.

Erkennen wir die Wróblewski'sche Methode zur Bestimmung¹⁾ der amylytischen Kraft an, so war sein wirksamstes Präparat nach 8-stündiger Digestion bei 40° nur fähig, die 65-fache Menge seines Gewichtes an Maltose aus löslicher Stärke zu bilden, während mein stärkstes Präparat die mehr als 2000-fache Menge seines Gewichtes an Maltose innerhalb einer Stunde bei 20° erzeugte und nach Verlauf eines Zeitraumes von 6 Monaten, wobei es die Hälfte seiner diastatischen Wirkung²⁾ verloren hatte, noch die 10000-fache Menge an Maltose innerhalb 17 Stunden bei 20° lieferte.

Obwohl Wróblewski sein obiges Präparat als unrein bezeichnet, so sagt er doch: »dass alle bis jetzt erhaltenen Diastase-Präparate kaum reiner als diejenigen, welche ich ursprünglich (S. 181) erhalten und analysirt habe, sein konnten«.

Ueber die diastatische Wirkung seiner reineren Präparate hat er jedoch keine Angaben gemacht. Alles was wir über die Eigenschaften des Diastase-Präparates gefunden haben, von dem Wróblewski angiebt, es frei von dem Kohlenhydrat, das allen seinen anderen Präparaten beigemischt war, erhalten zu haben, ist Folgendes³⁾: »Die in kleiner Menge erhaltene Flüssigkeit wirkte stark verzuckernd auf die lösliche Stärke und gab Protein-Reactionen, und zwar Millon'sche und Xanthoprotein-Reaction; die Biuretreaction war undeutlich wegen der graulichen Farbe der Lösung. Die Darstellung dieses Protein-Stoffes ist, wie wir sehen, mit sehr grossen Schwierigkeiten verbunden, und es ist mir deshalb bis jetzt nicht gelungen, ein ganz reines, wirksames Präparat zu erhalten«.

¹⁾ Kjeldahl (Meddelelser fra Cralsberg Laboratoriet 2. Heft 1879) zeigte, dass die Stärkeumwandlung nur dann proportional der diastatischen Kraft ist, wenn das Kupperreductionsvermögen der Umwandlungsprodukte einer Maltosemenge entspricht, die 30—45 pCt. des umwandelbaren Kohlenhydrats nicht übersteigt.

²⁾ J. R. Green, action of light on diastase. Trans. Royal Soc., Vol. 188, (1897) 167—190.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 206.

Er giebt¹⁾ auch ein allgemeines Verzeichniss der Eigenschaften der Diastase, welche indessen nicht an dem einen »reinen« Präparate ermittelt zu sein scheinen. Da diese Eigenschaften nur solche sind, wie sie auch an einer Mischung von wasserlöslichen Eiweisskörpern des Malzes erhalten werden, so bedürfen sie bei der weiteren Betrachtung keinerlei Erwähnung.

Der Hauptgrund, auf welchen Wróblewski augenscheinlich seine Ansicht von der Unreinheit meiner Präparate gründet, scheint mir die Coagulationsfähigkeit meiner Präparate bei einer Temperatur von 50–60° zu sein.

Wenn Wróblewski's Präparate mehr, als kleine Mengen Diastase enthalten hätten (seine Präparate waren auf Grund seiner Angaben nur wenig wirksamer als das Malz, aus welchem sie bereitet waren), so würden ihre Lösungen beim Erhitzen gleichfalls coagulirt sein. Ich habe wiederholt beobachtet, dass verdünnte Lösungen von Malzalbumin, sowie von fast allen anderen, coagulirbaren, pflanzlichen Proteiden beim Erhitzen nicht coaguliren, und dass es daher nothwendig ist, verhältnissmässig concentrirte Lösungen anzuwenden, wenn die Anwesenheit von Albumin mit Sicherheit festgestellt werden soll. Da ich im Verlaufe meiner Untersuchungen nahezu 200 g roher, trockner Diastase zur Verfügung hatte, welche im Stande waren, die 700–1000-fache Menge ihres Gewichtes an Stärke in Maltose umzuwandeln und zwar während einer Stunde bei 20°, so hatte ich hinreichend Gelegenheit, den Coagulationspunkt meiner Diastaselösungen, als auch den Gehalt an Albumin quantitativ zu bestimmen.

Wir können daher mit Sicherheit annehmen, bevor Wróblewski uns nicht maassgebende Beweise für das Gegentheil erbringt, dass er aus dem Grunde kein Coagulum erhielt, weil seine vermeintliche Diastase thatsächlich nur Spuren des Enzyms enthielt.

Wróblewski's zweiter Einwand gegen meine Diastase ist der, dass dieselbe gemäss ihrer Darstellungsweise das Kohlenhydrat Arabin enthalten soll.

Schon vor einigen Jahren erhielt ich bei der Untersuchung der Proteide aus dem Gerstenkorn als Nebenproduct eine beträchtliche Menge verschiedener Präparate eines Kohlenhydrates, welches ich bisher nicht weiter untersucht habe, als dass ich die meisten der von Wróblewski für sein aus Malz erhaltenes Kohlenhydrat angegebenen Reactionen wiederholt habe; und da meine Präparate mit den seinigen in den meisten der Reactionen übereinstimmen, zweifle ich nicht, dass sie identisch²⁾ sind.

¹⁾ l. c. 203. ²⁾ l. c. 213.

³⁾ Wróblewski bezeichnet sein Präparat als löslich in Wasser, giebt aber keine Temperatur an. Mein Präparat war sehr wenig löslich in Wasser von 20°, löste sich aber in heissem Wasser leicht und blieb dann auch in der Kälte gelöst.

Ich erhielt dies Kohlenhydrat durch Sättigen der Kochsalzauszüge von Gerstenmehl mit Ammonsulfat, Behandeln des erhaltenen Niederschlages mit kalter verdünnter Salzlösung und dann mit kalter 0.2-procentiger Potaschelösung, bis jede Spur des Eiweisskörpers entfernt war; endlich wusch ich den Rückstand mit kaltem Wasser und absolutem Alkohol und trocknete ihn über Schwefelsäure.

Die Thatsache, dass das Kohlenhydrat nach der Fällung durch Ammonsulfat fast völlig unlöslich in kaltem Wasser ist, erklärt, weswegen meine Diastasepräparate keine bemerkbare Beimengung von diesem oder irgend einem anderen Kohlenhydrate enthielten. Thatsächlich konnten in jenen Präparaten, welche ausgesprochene diastatische Wirkung zeigten, keine anderen Substanzen als Eiweisskörper nachgewiesen werden; sie gaben die charakteristischen Eiweissreactionen, wie reine Proteide, besonders die Biuretreaction, welche letztere durch die Anwesenheit von Kohlenhydraten verdeckt wird.

Dass die analysirten Präparate hauptsächlich, wenn nicht ganz, aus Eiweiss bestanden, wird durch die folgenden Zahlen bewiesen. Wenn die Abweichungen in der Zusammensetzung nicht proportional sind den Aenderungen der diastatischen Wirkung, so erklärt sich dies aus der Thatsache, dass alle diese Präparate aus wechselnden Mengen Albumin und Proteose bestanden, welche Eiweisskörper, wie gezeigt, im Wesentlichen dieselbe Zusammensetzung haben.

Präparat	Asche	Aschefrei					diastatische Kraft ¹⁾
		C	H	N	S	O	
No. 1	2.29	52.55	6.48	16.41		24.56	300
» 3	0.82	52.34	6.73	15.91		25.02	444
» 9	0.78	53.19	6.71	16.74	1.38	21.98	250
» 12	0.59	52.80	6.96	16.09	1.45	22.70	740
» 15	0.66	52.50	6.72	16.10	1.90	22.78	2000.

Schliesslich möchte ich darauf hinweisen, dass meine Untersuchungen gezeigt haben, dass von den in Wasser löslichen Eiweisskörpern wenigstens zwei in Alkohol von 50 — 60 pCt. löslich sind, der eine ein Albumin, der andere eine Proteose, und dass die Niederschläge, welche beim Hinzufügen von 60-procentigem Alkohol zu einer Lösung von Malzextract in 50-procentigem Alkohol erhalten werden, fast die ganze Diastase des Extractes enthalten. Beim Behandeln mit Alkohol wird ein Theil des Proteides coagulirt. Dass eine Proteose so leicht durch verdünnten Alkohol coagulirt werden sollte, widerspricht unserer bisherigen Kenntniss von dem Verhalten solcher Körper gegen Alkohol. Denn eine der bestbekanntesten Methoden zur

¹⁾ Diese Zahlen geben die Menge Maltose an, welche durch 1 Theil Diastase während 1 Stunde bei 20° aus löslicher Stärke gebildet ist.

Trennung der Proteose von anderen Proteïden ist die Coagulation der letzteren durch Alkohol, wobei die Proteose unverändert bleibt.

Von diesem coagulirten Proteïde sagt Wróblewski: »Da diese unlöslichen Reste aus einer Proteïnsubstanz bestanden, so werden die Niederschläge immer ärmer und ärmer an der Proteïnsubstanz. Auch die von Anderen gemachten Beobachtungen weisen darauf hin, dass die diastatisch wirksame Substanz durch die Wirkung von Alkohol allmählich an der Löslichkeit einbüsst.«

Dass Diastase thatsächlich Albumin sei, habe ich niemals als sicher bewiesen betrachtet, obwohl die Abhandlung von Wróblewski dies vermuthen lässt. Am Schlusse meiner ersten Mittheilung über Diastase finde ich: »Diese Thatsachen sprechen deutlich dafür, dass das Albumin die diastatische Substanz ist; aber es giebt einige Beobachtungen, welche schwer damit in Einklang zu bringen sind, und welche nicht übersehen werden dürfen. Obwohl im Allgemeinen die diastatische Wirkung meiner Präparate um so stärker war, je grösser der Gehalt an coagulirbarem Eiweiss war, habe ich doch niemals eine zahlenmässige Beziehung zwischen beiden feststellen können. In keinem Falle habe ich jedoch irgend eine diastatische Wirkung feststellen können in Lösungen, welche frei von Albumin waren. Ferner würde sich aus der Wirkung meines Präparates 15 für Malz eine viel grössere diastatische Kraft, als dieses thatsächlich zeigt, ergeben, wenn das coagulirbare Albumin und das Enzym identisch sind.«

»Denn es ist nicht wahrscheinlich, dass die isolirte Diastase wirksamer ist, als jene im Samen.« Es ist möglich, »dass die active Diastase eine Verbindung von Albumin mit irgend einem anderen Körper, vermuthlich der Proteose, ist, welche beim Erhitzen zerfällt, unter Abgabe von coagulirtem Eiweiss, und dass neben diesem gebundenen Albumin noch freies Albumin vorhanden ist, welches keine diastatische Wirkung zeigt, welches aber gleichzeitig coagulirt wird. Wir haben aber keinen directen Beweis für die Richtigkeit dieser Ansicht.«

»Im Hinblick auf diese Resultate ist es höchst wahrscheinlich, dass die Diastase ein wahres Proteïd ist; wenn wir bedenken, wie ausserordentlich geringe Mengen vom Präparat No. 15 erforderlich sind, um grosse Mengen an Maltose zu erzeugen, so ist es kaum glaublich, dass diese Wirkung durch eine Substanz hervorgebracht wird, welche höchstens zu 3 — 4 pCt. dem Proteïde anhaftet. Wenn dies dennoch der Fall wäre, so müsste es auffallen, dass das Enzym der einen, durch Präparat No. 15 repräsentirten Fraction, in so viel grösserer Menge anhaften sollte, als irgend einer der anderen zahlreichen Fractionen. Wenn demnach Diastase als ein besonderer Eiweisskörper anzusehen ist, so ist sie zweifellos entweder ein Albumin, eine Verbindung von Albumin mit einer Proteose oder eine Proteose. Wir haben nun gesehen, dass jene fractionirten Fällungen,

welche hauptsächlich oder ganz aus Proteose bestanden, keine oder geringe diastatische Wirkungen zeigten, dass die amylolytische Kraft am schärfsten in den Fractionen hervortrat, welche am meisten Albumin, und am schwächsten in jenen, welche nur wenig Albumin enthielten, obwohl nicht in genauer Uebereinstimmung mit dem Gehalte an Albumin.«

Für das richtige Verständniss meiner Schlussfolgerungen muss ich den Leser auf meine schon citirten Abhandlungen »über die Malzproteide« und »die chemische Natur der Diastase« verweisen, in welchen vollständige Analysen von mehr als 30 fractionirten Fällungen der Proteide des Malzes, sowie Angaben über ihre Reactionen und diastatische Wirkung mitgetheilt sind.

New Haven, U. S. A. 28. Januar 1898.

45. Richard Möhlau und Leopold Kahl: Ueber die Producte der Einwirkung von Formaldehyd auf Gallussäure.

[Mittheilung aus dem Laboratorium für Farbenchemie und Färbereitechnik der Technischen Hochschule zu Dresden.]
(Eingegangen am 5. Februar; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. E. Täuber.)

Im Jahre 1872 untersuchte A. Baeyer¹⁾ gelegentlich seiner Arbeiten über die Verbindung der Aldehyde mit Phenolen auch die Einwirkung von Formaldehyd in der Form des Methylendiacetats auf Gallussäure. Er erhielt unter wechselnden Bedingungen ausser einer amorphen Substanz zwei krystallisirte Körper, welchen er die empirischen Formeln $C_{16}H_{12}O_{10}$ und $C_{16}H_{14}O_{11}$ zuschrieb.

19 Jahre später, als der Formaldehyd ein technisches Product geworden war, nahm Kleeberg²⁾ diese Untersuchung wieder auf. Der von ihm gewonnenen amorphen Säure gab er auf Grund der Analysen eines krystallinischen Phenylhydrazinsalzes und eines Ammonsalzes die Zusammensetzung $C_{16}H_{12}O_{10}$.

Angeregt durch die Entdeckung der Tricarbonensäuren des Aurins und seiner Homologen durch Sandmeyer stellte N. Caro³⁾ im Jahre darauf (1891) die Methylendigallussäure, $C_{15}H_{12}O_{10}$, dar.

Diese Säure haben wir von einem anderen Gesichtspunkte aus eingehender studirt und gefunden, dass die Einwirkung von Formaldehyd auf Gallussäure zu vier verschiedenen Methylendigallussäuren führt.

¹⁾ Diese Berichte 5, 1096.

²⁾ Ann. d. Chem. 263, 285.

³⁾ Diese Berichte 25, 946.