

siedendem Alkohol die Schwefelbase entziehen, welche in gelben, seidenglänzenden Nadeln vom Schmp. 198° anschießt.

0.1698 g Sbst.: 0.3190 g CO<sub>2</sub>, 0.0931 g H<sub>2</sub>O. — 0.2099 g Sbst.: 36.8 ccm N (24°, 762 mm). — 0.2092 g Sbst.: 0.3498 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>S. Ber. C 51.43, H 5.71, N 20.00, S 22.86.

Gef. » 51.25, » 6.13, » 19.87, » 23.00.

Der Körper krystallisirt aus Wasser und Alkohol, besitzt brennenden Geschmack, ist nicht in Aether, Benzol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, dagegen in Wasser, Alkohol und Alkalien löslich. In alkoholischer Lösung erzeugt Sublimat eine krystallinische, weisse Fällung. In wässriger Lösung giebt Bleiacetat einen hellgelben, in Alkohol löslichen, krystallinischen Niederschlag.

Als Mercaptan lässt sich der Körper leicht oxydiren zum entsprechenden Disulfid, d. i.

4.6-Dimethylpyrimidyl-2-disulfid, [C<sub>4</sub>HN<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S]<sub>2</sub>,

wenn man ihn in alkoholischer Lösung mit Jodtinctur versetzt; das Disulfid fällt sofort aus und krystallisirt aus Alkohol in seidenglänzenden, weissen Nadeln vom Schmp. 162—163°.

0.1423 g Sbst.: 0.2695 g CO<sub>2</sub>, 0.0674 g H<sub>2</sub>O. — 0.1129 g Sbst.: 20.2 ccm N (24°, 762 mm). — 0.1399 g Sbst.: 0.2374 g BaSO<sub>4</sub>.

C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub>. Ber. C 51.80, H 5.03, N 20.15, S 23.02.

Gef. » 51.66, » 5.30, » 20.28, » 23.34.

Der Körper ist leicht löslich in Säuren, Alkohol, Schwefelkohlenstoff, Aether, Benzol, nicht in Alkali und liefert ein krystallisiertes Chlorhydrat und Chloroplatinat.

## 596. Carl Neuberg: Ueber Kohlehydratgruppen im Albumin aus Eigelb.

[Aus dem chemischen Laborat. des patholog. Instit. d. Univ. Berlin.]

(Eingegangen am 25. November 1901.)

Ueber die Natur des aus Eigelb-Albumin abspaltbaren Zuckers liegen Untersuchungen von P. Mayer<sup>1)</sup> und F. Blumenthal<sup>2)</sup> vor, die aus diesem Eiweisskörper Phenylglucosazon darstellten, ohne das diesem mehrdeutigen Product zu Grunde liegende Kohlehydrat charakterisiren zu können.

Mit Hülfe der Methode, die ich jüngst mit H. Wolff<sup>3)</sup> beschrieben habe, lässt sich zeigen, dass ein Theil des Zuckers als

<sup>1)</sup> Paul Mayer, Deutsche medicin. Wochenschrift 1899 No. 6.

<sup>2)</sup> F. Blumenthal und P. Mayer, diese Berichte 32, 274 [1899].

<sup>3)</sup> C. Neuberg und H. Wolff, diese Berichte 34, 3840 [1901].

Chitosamin-liefernde Gruppe vorhanden ist. Ausserdem konnte noch die Anwesenheit einer zweiten Substanz aus der Kohlehydratreihe beobachtet werden, die im Hinblick auf die von F. Hofmeister und seinen Schülern angenommene Existenz eines »zweiten Kohlehydrat-Complexes« in einzelnen Albuminen Beachtung verdient.

Das Ausgangsmaterial wurde nach den Angaben von Grübler dargestellt, denen auch P. Mayer (l. c.) gefolgt war. Dasselbe giebt selbst bei mehrstündigem Kochen mit Wasser an dieses keine reducirende Substanz ab. Durch zweimaliges Lösen in verdünntem Alkali, Wiederausfällen mit Essigsäure und darauffolgendes Auskochen bei schwach essigsaurer Reaction mit mehrfach erneuerten Wassermengen wurde es von etwa anhaftendem Ovomucoïd befreit.

60 g von diesem staubfeinen Material wurden mit 60 ccm rauchender Bromwasserstoffsäure ( $D = 1.49$ ) übergossen und damit 2 Stunden in der Kälte geschüttelt, wobei das Albumin zu einer gallertartigen Masse geseht. Man verdünnt dann mit 300 ccm Wasser und erhitzt  $1\frac{3}{4}$  Stunden am Rückflusskühler zu gelindem Sieden. Durch Knochenkohle lässt sich die dunkle Flüssigkeit entfärben und liefert ein klares, schwach gelb gefärbtes Filtrat, das, mit Natronlauge und Fehling'scher Lösung erwärmt, trotz der Biuretfärbung Reduction erkennen lässt.

Man bestimmt in einer Probe der Flüssigkeit alkalimetrisch die freie Bromwasserstoffsäure und trägt  $\frac{4}{5}$  der berechneten Menge reinen Bleioxyds unter kräftigem Umschütteln in die Hauptmenge ein. Nach zweistündigem Stehen saugt man vom Bromblei ab und engt das Filtrat im Vacuum unterhalb  $40^{\circ}$  bis zur möglichst vollständigen Vertreibung des überschüssigen Bromwasserstoffs, schliesslich unter Zusatz von etwas Wasser, ein. Der restirende, braun gefärbte Syrup wird mit 150 ccm Alkohol von 96 pCt. ausgekocht, der Rückstand mit etwas warmem Wasser durchfeuchtet, wieder mit heissem Alkohol extrahirt und dieser Behandlung ca. viermal unterworfen, bis keine reducirende Substanz mehr in Lösung geht. Die vereinigten alkoholischen Auszüge lassen beim Stehen einen Niederschlag fallen, der zum Theil aus Bleibromid besteht. Beim Erwärmen bleibt Letzteres zurück und wird abfiltrirt; die alkoholische Lösung wird zum Syrup verdampft. Letzterer wird in 40 ccm Salpetersäure ( $D = 1.2$ ) gelöst und auf dem Wasserbade bis zur Entwicklung rother Dämpfe erhitzt. Man lässt abkühlen und engt nach Zusatz von weiteren 20 ccm derselben Salpetersäure unter dauerndem Rühren auf ein geringes Volumen ein; dann wird zur Entfernung der überschüssigen Salpetersäure nochmals mit 100 ccm Wasser verdünnt, wieder eingedampft und schliesslich in 100 ccm Wasser gelöst. Man erhält so ein Gemisch von Dicarbonsäuren, das man auf folgendem Wege in einheitliche Derivate überführt.

Zunächst entfärbt man in der Siedehitze mit Knochenkohle und entfernt die Reste von Bromwasserstoffsäure durch vorsichtigen Zusatz von Silbernitrat. Das Filtrat von Bromsilber wird mit Ammoniak genau neutralisirt und mit einigen Tropfen sehr verdünnter Essigsäure angesäuert. Man versetzt nun tropfenweise mit Calciumacetatlösung, wodurch etwa gebildete Oxalsäure<sup>1)</sup> ausgefällt wird, neutralisirt wieder möglichst genau mit Ammoniak und versetzt in der Siedehitze solange mit concentrirter Bleiacetatlösung, als noch ein Niederschlag entsteht. Das beim Erkalten sich zusammenballende Bleisalz wird nach einiger Zeit abgesaugt und gründlich mit kaltem Wasser gewaschen. Die Bleifällung wird dann mit 120 ccm Wasser angerieben und mit Schwefelwasserstoff bis zum völligen Absetzen des Schwefelbleis zerlegt. Das Filtrat von Letzterem ist eine wasserklare Flüssigkeit, die zunächst zur Entfernung von gelöstem Schwefelwasserstoff aufgekocht und dann auf dem Wasserbade eingeeengt wird.

Behandelt man dieselbe nun in der früher angegebenen Weise mit Cinchonin und dampft die Lösung des gebildeten Cinchoninsalzes ein, so resultirt ein Syrup, der wegen der beigemengten Verunreinigungen nicht mehr in der Wärme, aber nach einiger Zeit in der Kälte erstarrt. Nach 24 Stunden rührt man mit 5 ccm Wasser an, saugt ab und wäscht mit etwas kaltem Wasser nach.

Nach Krystallisation aus heissem Wasser unter Zusatz von etwas Knochenkohle erhält man farblose Nadeln, die nach Analyse und physikalischen Constanten mit norisozuckersaurem Cinchonin identisch sind. Ausbeute ca. 1.4 g. Schmp. 207°.

$$[\alpha]_D = +176^\circ (c = 1.1; \alpha = 1^\circ 36').$$

0.1730 g Subst. (bei 110° getrocknet): 0.4191 g CO<sub>2</sub>. 0.1072 g H<sub>2</sub>O. —  
0.1906 g Subst.: 11.9 ccm N (18°, 752 mm).

C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>(C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> Ber. C 66.17, H 6.77, N 7.02.

Gef. » 66.05, » 6.89, » 7.13.

Damit ist der Beweis für die Gegenwart einer Chitosaminliefernden Gruppe erbracht<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Die Entstehung von Oxalsäure konnte nicht regelmässig beobachtet werden.

<sup>2)</sup> Die Hydrolyse des Eigelb-Albumins wurde mit Bromwasserstoffsäure ausgeführt, da Chitosamin-Bromhydrat in Alkohol relativ leicht löslich ist. Alle Bemühungen, dieses Salz aus dem verdampften Alkoholextract der Spaltungsproducte durch Impfung direct zur Krystallisation anzuregen, blieben erfolglos. Auch die Versuche, es in der im letzten Heft dieser Berichte von H. Wolff und mir beschriebenen Weise als Imidazol-Derivat zu isoliren, führten nur zu gelblichen Oelen. Die Vermuthung, dass die Gegenwart der Thiocarbamidverbindungen von Aminosäuren die Krystallisation verhindere, erwies sich als berechtigt, da das mit Thiocarbanil erhaltene Oel nach Be-

In den Mutterlauge des Cinchonin-norisosacharats befindet sich eine leichter lösliche, isomere Verbindung. Zu deren Gewinnung verdampft man die Flüssigkeit auf dem Wasserbade zum Syrup, kocht diesen mit 50 ccm absolutem Alkohol aus, entfärbt den Auszug mit Knochenkohle und concentrirt von neuem, anfangs auf dem Wasserbade und dann im Vacuumexsiccator.

Nach einiger Zeit scheiden sich vom Rande her Krystalle aus, und nach öfterem Durchreiben erhält man in 2—3 Tagen einen von Syrup durchtränkten Krystallbrei, der auf Thon abgepresst und durch Krystallisation aus wenig heissem Wasser gereinigt wird.

Farblose Nadelchen, die (erst im Vacuum und dann kurze Zeit bei 90° getrocknet) sich bei 190° bräunen und über 230° zersetzen, ohne zu schmelzen; die procentuale Zusammensetzung der Substanz ist die gleiche wie die des norisozuckersauren Cinchonins:

0.1433 g Sbst. (in der angegebenen Weise getrocknet): 0.3484 g CO<sub>2</sub>  
0.0878 g H<sub>2</sub>O. — 0.1796 g Sbst. (in der angegebenen Weise getrocknet)  
11.1 ccm N (19°, 760 mm).

C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>8</sub>(C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>. Ber. C 66.17, H 6.77, N 7.00.  
Gef. » 66.30, » 6.81, » 7.13.

Die Verschiedenheit beider Verbindungen ergibt sich, abgesehen von der Schmelzpunktdifferenz, aus der grösseren Löslichkeit des zweiten Körpers und aus dem optischen Drehungsvermögen, das für die zweite Substanz geringer ist, nämlich:

$$[\alpha]_D = +150^\circ \quad (c = 1.5; \alpha = +2^\circ 15').$$

Zur Charakterisierung der neuen Verbindung wurden die Cinchoninsalze mehrerer Tetraoxy-adipinsäuren dargestellt, von denen das der *d*-Zuckersäure<sup>1)</sup> so grosse Aehnlichkeit mit dem aus Eigelb-Albumin zeigt, dass die Identität beider sehr wahrscheinlich ist.

handlung mit Salzsäure das zuerst von O. Aschan beschriebene Leucinphenylthio-hydantoin liefert.

Ob die Anwendung von Phenyl-*i*-cyanat, das mit Chitosamin nach Stendel (Ztschr. f. physiolog. Chem. 33, 223) eine schwerlösliche Verbindung unbekannter Constitution liefert, eine Trennung des Aminoaldehyds von nabestehenden Körpern, wie Aminosäuren, gestattet, ist unbekannt.

<sup>1)</sup> Das bisher unbekanntes Cinchonin-*d*-saccharat entsteht in üblicher Weise durch Sättigung von wässriger *d*-Zuckersäurelösung mit Cinchonin, Entfernung des überschüssigen Alkaloids durch Ausschütteln mit Essigester und Eindampfen zur Krystallisation. Bei langsamer Abscheidung bildet es kugelige Knollen von ca. 1 ccm Durchmesser, bei schneller Abkühlung feine

Die angewandte Oxydationsmethode gestattet keine Entscheidung darüber, in welcher Form der Zuckersäure liefernde Complex im ursprünglichen Proteinkörper vorhanden ist. Zur Beantwortung dieser Frage wurden 60 g Substanz in der beschriebenen Weise mit Bromwasserstoffsäure hydrolysiert u. s. w., und der resultirende alkoholische Auszug der Spaltungsproducte im Vacuum verdampft. Der Rückstand wurde in 50 ccm Wasser gelöst und mit etwas Natriumacetat und 12 g *p*-Bromphenylhydrazin und der zur Lösung erforderlichen Menge Essigsäure 2 Stunden im lebhaft siedenden Wasserbade erhitzt. Dabei mussten reducirende Zucker ein Osazon, Mono- oder Di-Carbonsäuren der Kohlehydratreihe ein Hydrazid liefern. Als einziges Product der Reaction konnte *p*-Bromphenyl-*d*-glucosazon<sup>1)</sup> isolirt werden, sodass die Frage nach der Muttersubstanz der Zuckersäure unentschieden bleibt.

Sicher ist nur, dass die bei dem Oxydationsverfahren als Cinchoninsalz erhaltene, wahrscheinlich als *d*-Zuckersäure zu betrachtende Säure ein secundäres Spaltungsproduct darstellt; sie ist keinesfalls identisch mit dem noch nicht näher charakterisirten Product, das L. Langstein<sup>2)</sup> aus Serumalbumin erhalten und als eine im Proteinkörper präformirte Kohlehydratsäure angesprochen hat. Die Eigenschaften, die Langstein seiner Substanz zuschreibt, kommen zum Theil Aldehydsäuren<sup>3)</sup> vom Typus der Glucuronsäure oder Aldehydschleimsäure zu, doch zeigen diese die von Langstein vermissten Pentosenreactionen und reduciren Fehling'sche Lösung. Zuckersäure giebt aber, ebenso wenig wie die anderen normalen Mono- oder Di-Carbonsäuren der 6-Kohlenstoffzucker, nicht die Probe von Molisch-Udransky; sie ist beständig gegen verdünnte Salzsäure und entwickelt damit kein Furfurol.

Nadelchen, die sich ohne eigentlichen Schmelzpunkt von 190° an bräunen und langsam zersetzen.

Löslich in Wasser und heissem Alkohol, wenig löslich in Aceton, unlöslich in Benzol, Chloroform, Essigester und Aether.

0.2503 g Sbst. (bei 90° getrocknet): 15.8 ccm N (21°, 748 mm).

$C_6H_{10}O_8(C_{19}H_{22}N_2O)_2$ . Ber. N 7.00. Gef. N 7.06.

$[\alpha]_D = +152^\circ$  ( $c = 1$ ;  $\alpha = +1^\circ 33'$ ).

Chinin-*d*-Saccharat entsteht wie das Cinchoninsalz und ist ihm in Löslichkeitsverhältnissen und Eigenschaften sehr ähnlich. Langgestreckte Nadeln vom Schmp. 174°.

0.2224 g Sbst. (bei 90° getrocknet): 12.8 ccm N (17°, 754 mm).

$C_6H_{10}O_8(C_{20}H_{24}N_2O)_2$ . Ber. N 6.53. Gef. N 6.62.

<sup>1)</sup> Diese Berichte 32, 3387 [1899].

<sup>2)</sup> L. Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Patholog. 1. 267 [1901].

<sup>3)</sup> C. Neuberg, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 31, 564 [1901].