

asymmetrischen Kohlenstoffatom durch Uranylнитrat und Ammoniak constatirt. Hierbei wäre nach P. Walden (l. c.) eine bedeutende Erhöhung des Drehvermögens zu erwarten. Die verwendete Ammoniakflüssigkeit war  $\frac{2}{1}$  n. Vom Uranylнитrat waren 40 g in 100 ccm Wasser gelöst. 0.130 g der *l*-Malaminsäure und 1 ccm Ammoniak und  $1\frac{1}{2}$  ccm Uranylнитratlösung geben bei  $l = 2$  und  $c = 0.65$  ein  $\alpha_D = -5.25^\circ$  oder  $[\alpha]_D = -403.8^\circ$ . Es findet also eine starke Vergrößerung der optischen Activität statt, da  $[\alpha]_D$  für die gleiche Menge Säure und Ammoniak nur  $-30.8^\circ$  beträgt.

Zur endgiltigen Festlegung der Structurformel der  $\beta$ -Malaminsäure war es von Werth, ihr Molekulargewicht zu kennen. Zu dem Behufe wurde die Leitfähigkeitszunahme<sup>1)</sup> des neutralen Natriumsalzes der Säure bestimmt. Diese Zunahme beträgt:

$$\mu_{1024} - \mu_{32} = 76.54 - 67.12 = 9.42.$$

Die Säure ist also einbasisch, und es ist somit das kleinstmögliche Molekulargewicht (133) anzunehmen.

Aus diesen Darlegungen geht hervor, dass bei der Einwirkung von Ammoniak auf Halogenbernsteinsäuren Malaminsäuren entstehen, unter Beibehaltung der optischen Activität, wenn von optisch-activem Material ausgegangen wird. Es tritt also eine Wanderung des einen Carboxylsauerstoffs zum asymmetrischen Kohlenstoffatom hin ein.

Riga, Polytechnicum, den 18. Juni 1902.

#### 402. A. Bach und R. Chodat: Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle.

##### II. Ueber Peroxydbildung in der lebenden Zelle<sup>2)</sup>.

(Eingegangen am 18. Juni 1902.)

Nach der von uns vertretenen Theorie wird der Sauerstoff, welcher zur Verbrennung von schwer oxydirbaren Bestandtheilen der Zelle erforderlich ist, unter intermediärer Bildung von Peroxyden activirt. Diese Peroxydbildung kann nur durch die Vermittelung von leicht oxydirbaren Verbindungen zu Stande kommen, und es ist a priori zu erwarten, dass die lebende Zelle für Peroxydbildung besonders geeignete Stoffe producirt. Solche Peroxydbilder scheinen die sogenannten Oxydationsfermente oder Oxydasen zu sein.

<sup>1)</sup> Ostwald, Zeitschr. für phys. Chem. 1, 74, 97 [1887]; daselbst 2, 840, 901 [1888].

<sup>2)</sup> I. Mittheilung: diese Berichte 35, 1275 [1902].

Auf die Peroxydfunctio n der Oxydasen wurde von Bach<sup>1)</sup> bereits vor fünf Jahren hingewiesen. Kastle und Loevenhart<sup>2)</sup> äusserten sich neuerdings in demselben Sinne. Das Studium der »Pseudokatalyse« führte Engler und Wöhler<sup>3)</sup> ebenfalls zu der Ansicht, dass Oxydasen peroxydartige Verbindungen sind.

Behufs näherer Charakterisirung der bei der Einwirkung von molekularem Sauerstoff auf Oxydationsfermente entstehenden Peroxyde stellten wir Versuche an, die jedoch bisher noch keine befriedigende Resultate lieferten. Eine gelegentlich dieser Versuche gemachte Beobachtung lenkte unsere Aufmerksamkeit auf einen anderen Weg und führte schliesslich zu einer Methode, welche die Peroxydbildung in lebenden Pflanzen mit ziemlicher Sicherheit nachzuweisen gestattet.

Beim Behandeln des frisch ausgepressten, stark oxydasehaltigen Saftes von *Lathraea squamaria* mit einem reinen Luftstrom unter tropfenweisem Zusatz von 1-proc. Barytwasser erhielten wir einen Barytniederschlag, welcher nach Auswaschen und Zersetzen mit verdünnter Säure die bekannte Hydroperoxydreaction mit Titanschwefelsäure nicht zeigte, dagegen Jodkaliumstärkepapier sofort und sehr intensiv bläute. Die erhaltene Lösung ergab mit dem Gries'schen Reagens keine Reaction auf salpetrige Säure. Die sofortige Jodausscheidung aus Jodkalium konnte daher nur von einem acylirten Hydroperoxyde herrühren<sup>4)</sup>. Ein ähnlicher Versuch wurde zum Vergleich mit *Lathraea*-Saft, welcher beim Aufbewahren die Eigenschaft, Guajactinctur zu bläuen (Reaction auf Oxydase), verloren hatte, ausgeführt. Das Ergebniss war vollkommen negativ: der angesäuerte Barytniederschlag erzeugte auf Jodkaliumstärkepapier nicht die mindeste Färbung. Die Peroxydbildung war daher durch die Anwesenheit von Oxydase bedingt. War diese Schlussfolgerung berechtigt, so dürfte auch die frische, oxydasehaltige Pflanze direct Jod aus Jodkalium ausscheiden. In der That, als wir mit einem scharf abgeschnittenen Stengel von frischer *Lathraea* Jodkaliumstärkepapier berührten, erhielten wir sofort auf Letzterem einen tiefblauen Abdruck des Schnittes. Das Versuchsobject war salpetrigsäurefrei, und die Jodausscheidung konnte nur durch die Anwesenheit eines Peroxyds erklärt werden. Beim Nachschlagen der betreffenden Literatur fanden wir eine kurze, von Wurster<sup>5)</sup> herrührende und völlig unbeachtet gebliebene Angabe, nach welcher »Pflanzen, die stark oxydirend auf das Tetrapapier (mit Tetramethylparaphenylendiamin getränktes Papier) wirken, ebenfalls auf Jodstärkepapier

<sup>1)</sup> Compt. rend. **124**, 954 [1897].

<sup>2)</sup> Amer. Chem. Journ. **26**, 539 [1901].

<sup>3)</sup> Zeitschrift für anorgan. Chem. **29**, 1 [1902].

<sup>4)</sup> Vergl. Baeyer und Villiger, diese Berichte **33**, 858 und 1569 [1900].

<sup>5)</sup> Diese Berichte **21**, 1526 [1888].

reagiren.« Da für die in dem Pflanzensaft sich abspielenden Oxydationsvorgänge die Jodstärkereaction viel charakteristischer und eindeutiger ist, als die Guajacreaction, so schien es uns wünschenswerth, die Bedingungen des Zustandekommens der Ersteren näher kennen zu lernen.

Die angestellten Versuche ergaben manche interessante Resultate. In erster Linie fiel uns der vollkommene Parallelismus der Guajacreaction und der Jodstärkereaction auf. Pflanzen, welche Guajactinctur sofort bläuen, geben auch ausnahmslos die Jodstärkereaction. Je stärker die eine Färbereaction ist, desto intensiver gestaltet sich auch die andere. Nur bei sehr langsam wirkenden Oxydasen, d. h. bei solchen, welche Guajactinctur nur ganz allmählich färben, kann die Jodausscheidung mit Sicherheit nicht festgestellt werden. Wie die Untersuchung von zahlreichen Abdrücken von Pflanzenschnitten auf Jodkaliumstärkepapier und Guajacpapier ergab, ist in beiden Fällen das oxydierende Princip in denselben, stets peripherischen Zellschichten localisirt.

Die Jodausscheidung findet nicht direct aus Jodkalium, sondern aus Jodwasserstoffsäure statt. Ist dabei der Säuregrad des Pflanzensaftes für die Zersetzung des Jodkaliums hinreichend, wie bei jungen Kartoffelknollen oder bei frischer *Lathraea*, so färbt sich das Jodstärkepapier direct; im entgegengesetzten Falle ist es nöthig, das Papier nach dem Berühren mit dem Schnitt mit verdünnter Essigsäure zu bestreichen. Erhitzen der Versuchsobjecte auf ca. 80° vernichtet sowohl die Jodstärkereaction, wie die Guajacreaction. Beide Reactionen werden öfters beim Verwelken der Pflanzen allmählich bis zum Verschwinden abgeschwächt; die Jodstärkereaction verschwindet dabei zuerst und meistens sehr schnell. Dasselbe gilt auch für den ausgepressten Saft. Schon nach einigen Minuten verliert der Saft der activesten Pflanzen die Fähigkeit, Jod aus Jodkalium auszuschleiden. Auf Guajactinctur wirkt der ausgepresste Saft ebenfalls viel schwächer als die ursprüngliche Pflanze ein. Um so auffallender ist die ausserordentliche Beständigkeit der sogenannten Peroxydase. *Lathraeasaft*, welcher zehn Tage in einem unbedeckten Becherglase ohne Antisepticumzusatz stehen blieb und allein Guajactinctur nicht mehr bläute, gab mit derselben auf Zusatz einer Spur Hydroperoxyds eine sehr starke Blaufärbung. Nach Aufkochen des Saftes blieb die Reaction aus. Die Peroxydase scheint demnach viel beständiger, als die Oxydase zu sein. So weit sich unsere bisherige Erfahrung erstreckt, ist die Oxydase stets von Peroxydase begleitet. Die lebende Zelle enthält daher gleichzeitig peroxydbildende und peroxyderregende Verbindungen.

Unter den von uns bisher untersuchten Pflanzen ergaben folgende Familien in mehr oder weniger ausgeprägter Weise die Jodstärkereaction:

Liliaceae, Colchicaceae, Commelynaceae, Araceae, Scitaminaceae, Gramineae, Cyperaceae, Piperaceae, Papaveraceae, Tiliaceae, Berberidaceae, Umbelliferae, Araliaceae, Caprifoliaceae, Oleaceae, Labiatae, Verbenaceae, Hydrophyllaceae, Convolvulaceae, Scrophulariaceae, Plantaginaceae, Myoporaceae, Dipsaceae, Compositae. Für Vorlesungsversuche sind die leicht zugänglichen *Sylphium* und *Philodendron* besonders geeignet.

Durch obige Versuche ist mit voller Sicherheit festgestellt, dass im Pflanzensaft peroxyartige Verbindungen vorkommen bezw. entstehen, welche gegen Jodkalium sich wie acylierte Hydroperoxyde verhalten. Ist aber damit die Peroxybildung auch in der lebenden Zelle nachgewiesen? Von Pfeffer<sup>1)</sup> wurde die Ansicht ausgesprochen, dass die im Pflanzensaft beobachteten, auf Sauerstoffactivirung beruhenden Oxydationsvorgänge eine postmortale Erscheinung seien, und dass activirter Sauerstoff in der lebenden Zelle nie vorkomme. Dass Peroxybildung auch während des Lebens der Zelle stattfindet, wurde durch folgende Versuche dargethan:

Als Versuchsobjecte wurden von uns junge oxydaserreiche Kartoffelknollen, als Reagens reine Jodkaliumlösungen gewählt. Dünnschnitte, welche den peripherischen Zellschichten von frischen Kartoffelknollen entnommen waren, wurden behufs Entfernung des von den zerstörten Zellen herstammenden Saftes in Detmer's physiologischer Salzlösung oder in Wasser ausgewaschen, auf einen Objectträger gebracht und unter dem Mikroskop mit Jodkaliumlösung behandelt. Nach einiger Zeit nahmen die im Innern der Zellen befindlichen Stärkekörner die für Jodstärke charakteristische Färbung an. Die Zellen behielten dabei ihr normales Aussehen und auf Zusatz von hypertonen Salzlösungen plasmolysirten sowohl die stärkehaltigen, wie die stärkefreien Zellen in ganz normaler Weise. Da Plasmolyse als eines der sichersten Kennzeichen des Lebens anzusehen ist, so ist damit die Peroxybildung auch in der lebenden Zelle nachgewiesen.

Je nach dem Zustande der Versuchsobjecte (Alter, Oxydase- und Wassergehalt, Frische) sind zur Hervorrufung der Blaufärbung der Stärkekörner mehr oder weniger concentrirte Jodkaliumlösungen erforderlich, und die Färbung tritt mehr oder weniger rasch ein. Wendet man schwach hypertone Jodkaliumlösungen an, so beobachtet man gleichzeitige Blaufärbung und Plasmolyse. Bei Versuchsobjecten, welche Guajactinctur nur langsam bläuen, bleibt die Jodstärkereaction häufig aus. Es ist aber möglich, in nahezu allen oxydasehaltigen Versuchsobjecten die Reaction zu erzeugen, wenn man die Wirkung der Oxydase durch Manganosulfatzusatz unterstützt. Bertrand<sup>2)</sup> hat nämlich gefunden, dass Manganosulfat die specifische Wirkung der Oxydase sehr stark beschleunigt. Behandelt man ausgewaschene Kartoffelschnitte mit einem Gemisch gleicher Theile 2 $\frac{1}{2}$ -procentiger Jodkaliumlösung und 2 $\frac{1}{2}$ -procentiger Manganosulfatlösung, so färben sich die Stärkekörner schon nach dem Verlauf von 5—10 Minuten mehr oder weniger intensiv blau. In den meisten Fällen erfolgt dabei auch gleichzeitig Plasmolyse, und beim Durchsuchen der Präparate unter dem Mikroskop ist es leicht, Zellen aufzufinden, welche den Beginn beider Erscheinungen (Färbung und Plasmolyse) in sehr schöner Weise zeigen. Nach erfolgter Plasmolyse wird die Proplasmastructur durch das ausgeschiedene überschüssige Jod öfters fixirt. Der Mitte der Kartoffelknolle entnommene Schnitte zeigen, in ähnlicher Weise behandelt, Plasmolyse, aber nicht die mindeste Blaufärbung der Stärkekörner. Der

<sup>1)</sup> Ber. d. d. Bot. Ges. 7, 82 [1889].

<sup>2)</sup> Compt. rend. 124, 1335 [1897].

Parallelismus der Guajacreaction und der Jodstärkereaction kommt hier wiederum zum Vorschein. Denn, wie bei anderen Pflanzen, ist bei Kartoffelknollen das oxydirende bezw. Oxydation hervorrufende Princip nur in den peripherischen Zellschichten localisirt.

Was die physiologische Deutung der oben vorgelegten Thatsachen betrifft, so hoffen wir dieselbe in einer späteren Mittheilung erörtern zu können.

Genf. Pflanzenchemisches Laborat. des Botanischen Institutes.

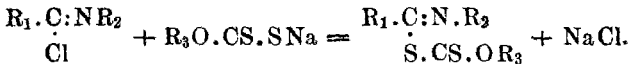
#### 403. L. Tschugaeff: Ueber Imidoxanthide, eine neue Klasse gefärbter organischer Verbindungen<sup>1)</sup>.

[Vorläufige Mittheilung aus dem chemischen Laboratorium des Bakteriologischen Instituts der Universität Moskau.]

(Eingegangen am 30. Juni 1902.)

Lässt man aromatische Imidchloride von der allgemeinen Formel  $R_1.C:N.R_2$  auf Natriumsalze der Xanthogensäure  $R_3O.CS.SNa$  einwirken, so entsteht eine Reihe eigenartiger, intensiv gefärbter, oft sehr krystallisationsfähiger Verbindungen, welche zugleich stickstoff- und schwefelhaltig sind und der Formel  $R_1.C:N.R_2$  entsprechen.

Ihre Bildung findet nach der folgenden Gleichung<sup>2)</sup> statt:



Die Reaction vollzieht sich leicht bei 4—5-stündigem Digeriren der Ingredientien (die Xanthogensalze werden gewöhnlich im Ueberschuss genommen) in Benzollösung auf dem Wasserbade.

Die Benzolschicht wird abgehoben, das Lösungsmittel mit Wasserdampf entfernt und die resultirende tiefrothe Masse in Aether aufgenommen. Die ätherische Lösung, welcher man zweckmässig das gleiche Volumen Alkohol hinzufügt, scheidet bei allmählichem Verdunsten die entsprechende Verbindung in der Regel sofort krystallinisch ab. Sie wird dann noch ein paar Mal aus Aether-Alkohol umkrystallisirt und auf diese Weise vollkommen rein erhalten.

Die neuen Verbindungen, für welche ich den Namen Imidoxanthide vorschlagen möchte, sind in der Regel leicht löslich in Benzol, Toluol, Aether und Chloroform, weniger löslich in Alkohol

<sup>1)</sup> Vorgetragen in der Sitzung der Naturforschergesellschaft zu Moskau im April 1902.