

70. Fr. Kutscher und Martin Schenck:
Die Oxydation von Eiweissstoffen mit Calciumpermanganat.
(Die Oxydation von Leim.)

(II. Mittheilung.)

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.]

(Eingegangen am 10. Januar 1905.)

Vor einiger Zeit haben wir in diesen Berichten¹⁾ über eine Substanz berichtet, die wir bei der Oxydation des Leims mit Calciumpermanganat erhielten, aber aus Mangel an Material nicht genau bestimmen konnten. Die Analysen näherten sich in ihren Werthen dem Oxaluramid. Bei weiteren Versuchen, die Oxydationsproducte des Leims aufzuteilen, haben wir denselben Körper in grösserer Menge dargestellt und ihn als Oxamid identificiren können. Unser Verfahren, die einzelnen Oxydationsproducte zu trennen, änderten wir entsprechend den von uns schon mitgetheilten Erfahrungen. Wir gingen wie folgt vor:

Je 60 g beste deutsche Handelsgelatine wurden in einem Liter Wasser gelöst, auf dem Sandbade zum Sieden erhitzt und der siedenden Flüssigkeit allmählich 300 g Calciumpermanganat, das in 2 L Wasser gelöst war, zugefügt. War die Reaktionsflüssigkeit farblos, so wurde vom Manganschläm abgeseugt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade stark eingeengt und 24 bis 48 Stunden zur Krystallisation am kühlen Ort aufgestellt. Nach dieser Zeit wurden die ausgeschiedenen Krystallmassen, die wir als die »Fraction der schwer löslichen Kalkverbindungen« bezeichnen wollen, abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. Das so erhaltene Filtrat wollen wir späterhin als »Filtrat« bezeichnen.

Auftheilung der »Fraction der schwer löslichen Kalkverbindungen«.

Die einzelnen, hier in Betracht kommenden Fractionen, die aus verschiedenen Oxydationsversuchen stammten, wurden entweder getrennt oder vereinigt folgender Behandlung unterworfen. Sie wurden in heissem Wasser gelöst. In die siedende Lösung trugen wir festes Ammoniumcarbonat ein, bis sich das ausfallende Calciumcarbonat nicht mehr vermehrte. Ein starker Ueberschuss an Ammoniumcarbonat ist zu vermeiden, da sich dieses Reagens gegen eines der in dieser Fraction steckenden Oxydationsproducte nicht ganz indifferent verhält. Vom Calciumcarbonat wurde siedend heiss abfiltrirt und das Filtrat auf dem Wasserbade eingeengt. Aus der eingeengten Flüssigkeit scheidet sich in Folge seiner geringen Löslichkeit nach dem Erkalten fast quantitativ

¹⁾ Diese Berichte 37, 2928 (1904).

das eine der Oxydationsproducte, das sich als »Oxamid« erwies. aus. Es lässt sich leicht durch Entfärben mit Thierkohle rein erhalten und ist überhaupt dasjenige Oxydationsproduct, dessen Darstellung die geringste Schwierigkeit bereitet. Die Mutterlauge vom Oxamid schien beim Leim nur noch »Oxaminsaures Ammonium« zu enthalten, das in langen Nadeln beim Einengen aus derselben auskrystallisirte. Wir lassen die einschlägigen Analysen folgen. Die dabei verwandten Präparate entstammten verschiedenen Versuchen:

0.2301 g Sbst.: 0.2311 g CO₂, 0.0950 g H₂O. — 0.1417 g Sbst.: 39.7 ccm N (17°, 738.0 mm). — 0.1817 g Sbst.: 0.1832 g CO₂, 0.0767 g H₂O. — 0.1516 g Sbst.: 40.9 ccm N (13.5°, 745.1 mm). — 0.1783 g Sbst.: 0.1800 g CO₂, 0.0751 g H₂O.

C₂H₄N₂O₂. Ber. C 27.2, H 4.6, N 31.9.
Gef. » 27.4, 27.5, 27.5, » 4.6, 4.7, 4.7, » 32.0, 31.5.

Ein Theil der fraglichen Substanz wurde sublimirt, das Sublimat aus Wasser umkrystallisirt und der Analyse unterworfen. Es ergaben sich folgende Daten:

0.1815 g Sbst.: 0.1808 g CO₂, 0.0766 g H₂O. — 0.1420 g Sbst.: 40.2 ccm N (14.5°, 717.4 mm).

C₂H₄N₂O₂. Ber. C 27.2, H 4.6, N 31.9.
Gef. » 27.2, » 4.7, » 31.7.

Wir haben weiter nach den Angaben von Dessaignes¹⁾ die Quecksilberverbindung dargestellt und analysirt.

0.2105 g Sbst.: 27.4 ccm N (12.5°, 738.7 mm). — 0.2174 g Sbst.: 28.1 ccm N (12.5°, 728.7 mm). — 0.3478 g Sbst.: 0.2057 g HgS.

(C₂H₄N₂O₂)₂HgO²⁾. Ber. N 14.3, Hg 51.0.
Gef. » 14.9, 14.8, » 51.0.

Auch die Kupferverbindung stellten wir dar; die Zahlen derselben waren bei der Analyse folgende:

0.2561 g Sbst.: 0.1350 g CuO. — 0.1950 g Sbst.: 25.2 ccm N (12°, 735.1 mm).

4C₂H₄N₂O₂ + 5CuO. Ber. Cu 42.4, N 15.0.
Gef. » 42.1, » 15.0.

Wir haben unser Präparat schliesslich noch längere Zeit mit starkem Ammoniak gekocht. Es ging dabei wie synthetisches Oxamid in oxaminsaures Ammonium über. Daneben bildete sich in geringer Menge oxalsaures Ammonium. Die vorstehenden Daten lassen keinen Zweifel darüber, dass der von uns isolirte Körper »Oxamid« war.

¹⁾ Ann. d. Chem. 82, 233.

²⁾ In den viel gebrauchten Handbüchern von Beilstein und Ladenburg ist fälschlich die Formel C₂H₄N₂O₂.HgO für Oxamidquecksilberoxyd angegeben. Wir gestatten uns, darauf aufmerksam zu machen.

In einem Versuche haben wir die Mutterlauge vom Oxamid näher untersucht. Wir liessen sie vollkommen auskrystallisiren und analysirten die bei 100° getrockneten Krystallmassen. Die Zahlen stimmten gut zu oxaminsaurem Ammonium.

0.2608 g Sbst.: 0.1649 g CO₂, 0.1036 g H₂O.

C₂H₆N₂O₃. Ber. C 22.6, H 5.7.

Gef. » 22.4, » 5.8.

Um die Bildung des Oxamids, das sich in unseren verschiedenen Versuchen im Durchschnitt zu 1 - 1.5 pCt. der angewandten Gelatine nachweisen liess, näher zu erklären, müssen wir auf eine ausgezeichnete ältere Arbeit von O. Loew¹⁾ zurückgreifen. Die Arbeit Loew's ist durch die gleichen Gesichtspunkte beeinflusst, die auch unsere Untersuchungen veranlasst haben; allerdings sind die Schlussfolgerungen, zu denen Loew kommt, wesentlich andere als die unserigen. Ohne uns dabei zunächst aufhalten zu wollen, heben wir hervor, dass Loew als Erster das Oxamid bei der Oxydation von Eieralbumin mit Kaliumpermanganat dargestellt und eine Erklärung für die Bildung desselben gegeben hat. Nach ihm entsteht das Oxamid erst secundär aus Blausäure, die sich ebenfalls bei der Oxydation von Eiweissstoffen mit Permanganat entwickelt. Nun kennen wir zur Zeit einige Atomcomplexe im Eiweiss, die in der That bei der Oxydation mit Permanganaten Blausäure entwickeln. Es sind dies das Lysin²⁾ und Histidin³⁾. Wir müssten also schliesslich in diesen Körpern die Muttersubstanzen des Oxamids suchen. Doch sind diese Verhältnisse experimentell näher zu untersuchen, und es ist namentlich erst einmal festzustellen, ob bei unserer Versuchsanordnung wirklich aus Blausäure Oxamid hervorgeht. Sollte dies nicht der Fall sein, dann würde die Bildung von Oxamid, die sich bisher beim Eieralbumin, Pseudomucin, Casein und Leim hat nachweisen lassen, der Ansicht Schiff's, nach der die Biuretreaction des Eiweisses z. Th. von freien .CO.NH₂-Gruppen abhängig ist, eine starke Stütze verleihen. Jedenfalls ist die Bildung beträchtlicher Mengen dieses einfachen Körpers, der selbst, wie bekannt, die Biuretreaction giebt, nicht ohne Interesse.

Wie bereits oben ausgeführt, haben wir in dieser Fraction nur Oxaminsäure nachweisen können. Es schien am einfachsten, dieselbe von dem im Leim reichlich präformirt vorhandenen Glykocoll herzuleiten. Diese Annahme, die wir bereits in unserer früheren Mittheilung gemacht hatten, findet eine Bestätigung in den Arbeiten Otori's⁴⁾.

¹⁾ Journ. für prakt. Chem. [N. F.] 31, 129.

²⁾ Diese Berichte 35, 3401 [1902].

³⁾ Zeitschr. für phys. Chem. 37, 248.

⁴⁾ Zeitschr. für phys. Chem. 43, 86.

Otori erhielt aus dem Pseudomucin, das bei hydrolytischer Spaltung nur sehr wenig Glykocoll giebt, überhaupt keine Oxaminsäure, aus Casein, das reicher an Glykocoll ist, gewann er analysirbare Mengen Oxaminsäure, während wir aus dem an Glykocoll reichen Leim beträchtliche Massen Oxaminsäure darstellen konnten. Die Ausbeute an Oxaminsäure zeigte sich in diesen Versuchen also abhängig vom Glykocoll.

Man könnte allerdings nach den Arbeiten von Hofmeister¹⁾ und Halsey²⁾ versucht sein, einen Theil der Oxaminsäure auf synthetische Prozesse zurückzuführen, denn bekanntlich haben Hofmeister und Halsey bei bestimmter Versuchsanordnung aus zahlreichen stickstofffreien und stickstoffhaltigen Substanzen, darunter auch Leim, bei Oxydation mit Permanganaten Oxaminsäure erhalten können. Einer derartigen synthetischen Bildung scheint die von uns gewählte Versuchsanordnung jedoch wenig günstig zu sein, was namentlich die negativen Resultate, die Otori am Pseudomucin erzielte, beweisen.

Verarbeitung des »Filtrates«.

Wir vereinigten die von 250 g lufttrockner Gelatine gewonnenen Filtrate, engten sie zum dünnen Syrup ein und fällten mit heisser, gesättigter, wässriger Pikrinsäurelösung, bis eine Probe nicht mehr mit kalter, gesättigter Pikrinsäurelösung eine Fällung gab. Der körnigkrystallinische, reichliche Niederschlag wurde nach 24 Stunden abgesaugt, mit wenig Wasser und viel Alkohol gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Ausbeute an Pikrat betrug 20.3 g. Analyse und Schmelzpunkt erwiesen es als Guanidin-Pikrat.

0.1413 g Sbst.: 36.6 ccm N (18.5°, 737.3 mm). — 0.2222 g Sbst.: 55.7 ccm N (15°, 740.6 mm).

Guanidinpikrat. Ber. N 29.2. Gef. N 29.4, 29.0.

Der Schmelzpunkt der nicht umkrystallisirten Substanz lag bei 313°. Demnach waren in unseren Versuchen ausser dem Guanidin keine anderen Substanzen, die mit Pikrinsäure schwer lösliche Verbindungen eingehen, entstanden. Das gefundene Guanidin ist zweifellos auf das im Leim präformirte Arginin zurückzuführen. Auch das Guanidin hat Loew³⁾ von der Blausäure, die bei der Oxydation entsteht, ableiten wollen. Es sollte daraus ebenfalls durch synthetische Prozesse hervorgehen. Diese Annahme war berechtigt, so lange man nur Spuren von Guanidin (1 pro Mille) aus dem Eiweiss gewinnen konnte. Nachdem es jetzt mit verbesserten Methoden gelingt, an-

¹⁾ Archiv für experimentelle Pathologie und Therapie 37, 426.

²⁾ Zeitschr. für phys. Chem. 25, 325.

³⁾ l. c.

nähernd die aus dem Arginin berechnete Menge Guanidin darzustellen, ist diese Hypothese wohl endgültig von der Hand zu weisen.

Von grossem Interesse war für uns, festzustellen, ob ausser dem Guanidin sich noch andere Basen bei der Oxydation des Leims bilden. Wir säuerten deshalb das Filtrat vom Guanidinpikrat mit Phosphorsäure stark an, entfernten die Hauptmasse der überschüssigen Pikrinsäure mit Aether und fällten es mit Phosphorwolframsäure. Die reichliche Fällung wurde nach 24 Stunden abgesaugt und in der Kälte vorsichtig mit Baryt zersetzt. Es entwich dabei reichlich Ammoniak, irgend eine organische Base vermochten wir dagegen nicht nachzuweisen. Der ganze Niederschlag hatte jedenfalls nur aus Calcium-, Kalium- und Ammonium-Wolframaten bestanden. Nach Beseitigung dieser anorganischen Basen gab der Rest keine Fällung mit Phosphorwolframsäure. Es ist demnach beim Leim das Guanidin die einzige organische Base, die durch Oxydation mit Calciumpermanganat auftritt. Ob auch die anderen Eiweissstoffe sich in dieser Beziehung ebenso verhalten, ist natürlich noch eine offene Frage.

In einigen Vorversuchen haben wir den nach Entfernung des Oxamids etc. verbleibenden Rest namentlich hinsichtlich biuretgebender Substanz etwas näher untersucht. Es zeigte sich dabei, dass man schliesslich zu einem Syrup gelangte, der weder durch Phosphorwolframsäure, noch durch irgend ein anderes der »Peptone« fällenden Reagentien, abgesehen von Alkohol, niedergeschlagen wurde, aber noch intensive Biuretreaction gab. Wenn wir auch noch nichts Genaueres über diese biuretgebenden, den Rest bildenden Substanzen angeben können, so ist doch zweifellos, dass hier Körper vorliegen müssen, die nur ein kleines Molekül besitzen können.

71. Martin Schenck: Zur Kenntniss des Oxaluramids.

[Aus dem physiologischen Institut der Universität Marburg.]

(Eingegangen am 10. Januar 1905.)

Bei Versuchen, aus Alloxan nach bekannter Methode¹⁾ Oxaluramid durch Blausäure und Ammoniak darzustellen, beobachtete ich, dass die Ausbeute an Oxaluramid abhängig von der zugegebenen Ammoniakmenge war. Die grösste Ausbeute erhielt ich, wenn ich der Alloxanlösung einige ccm 12-proc. Blausäurelösung und danach Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaction der Flüssigkeit zu-

¹⁾ Rosing und Schischkoff, Ann. d. Chem. 106, 255. -- Strecker, l. c. 113, 47.