

324. C. Neuberg und H. Pollak:

Über Kohlenhydrat-phosphorsäureester. II. Über Saccharose-schwefelsäure und die Phosphorylierung von Eiweiß.

[Aus der Chem. Abteil. des Tierphysiol. Instituts der Laudw. Hochschule Berlin.]

(Eingegangen am 27. Juni 1910.)

Vor einiger Zeit¹⁾ haben wir eine Methode bekannt gegeben, mit deren Hilfe sich die biologisch bedeutsamen Phosphorsäureverbindungen der Zucker und Aminosäuren synthetisch darstellen lassen. Beschrieben hatten wir bereits die Gewinnung der Saccharose-phosphorsäure, $C_{12}H_{21}O_{10}.O.PO_3H_2$, die in höchst einfacher Weise durch Einwirkung von Phosphoroxchlorid in Chloroformlösung auf Rohrzucker bei Gegenwart von Kalkwasser entsteht:

$$2 C_{12}H_{22}O_{11} + 2 POCl_3 + 5 CaO = 3 CaCl_2 + H_2O + 2 C_{12}H_{21}O_{10}.O.PO_3Ca.$$

Außer der genaueren Beschreibung der chemischen Eigenschaften dieser Verbindung und ihres Verhaltens zu Hefe haben wir ausdrücklich Folgendes bemerkt:

»Die Untersuchung der Saccharosephosphorsäure wird fortgesetzt.

Durch sinngemäße Abänderung der Methode, z. B. Verwendung von Calciumcarbonat u. a. m. an Stelle von Ätzkalk, läßt sich Phosphorsäure in das Molekül auch von reduzierenden Zuckern einführen, ferner in Aminosäuren. Durch Einwirkung von Kaliumpyrophosphat auf alkalische Rohrzuckerlösung ließ sich die Bildung von Kohlenhydratphosphorsäureestern nicht erreichen; dagegen liefert die Reaktion bei Verwendung von Kaliumpyrosulfat Schwefelsäureester, die sich auch durch Sulfurylchlorid bzw. Chlorsulfonsäure (analog der erwähnten Benutzung von Phosphoroxchlorid) herstellen lassen. Das Studium dieser Verbindungen, die wegen mannigfacher Beziehungen zu Substanzen und Vorgängen des tierischen und pflanzlichen Organismus (zu den Nucleinsäuren und Phosphorproteinen, zu den Problemen der Gärung und andererseits zu der Chondroitin-schwefelsäure-Gruppe) ein großes Interesse haben, möchten wir uns vorbehalten.«

In der vor einigen Wochen der philosophischen Fakultät der Berliner Universität eingereichten Dissertation des einen von uns (P.), ist eingehend über die Fortschritte dieser Untersuchung, namentlich über die Glucose-phosphorsäure, die Saccharose-schwefelsäure und die Phosphorylierung von Eiweiß, berichtet.

¹⁾ C. Neuberg und H. Pollak, Über Kohlenhydratphosphorsäureester. I. Über Saccharosephosphorsäure, Biochem. Zeitschr. 23, 515 [1910].

Wir verweisen bezüglich der zahlreichen Einzelheiten auf diese Dissertation und die ausführliche Mitteilung in der Biochemischen Zeitschrift. Im Auszug möchten wir jedoch auch hier über diese Gegenstände berichten, da im letzten Hefte dieser Berichte (S. 1857) K. Langheld die Additionsfähigkeit des Metaphosphorsäureäthylesters, $C_2H_5O.PO_2$, an Leucin und Traubenzucker beschreibt; als Derivate der Äthylphosphorsäure haben die von Langheld skizzierten Verbindungen an sich nichts mit unseren eigentlichen Phosphorsäureestern bezw. Phosphaminsäuren zu tun.

Glucose-phosphorsäure.

Nach den in unserer ersten Mitteilung gemachten Angaben mußte zur Phosphorylierung der Glucose das für die Saccharose angewandte Verfahren insofern geändert werden, als die Umsetzung wegen der leicht angreifbaren Aldehydgruppe nur bei neutraler Reaktion verlaufen darf. An Stelle des Ätzkalks trat Calciumcarbonat.

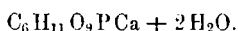
In einer Lösung von 180 g reinem Traubenzucker in 3–4 l Wasser wurden 500 g gefälltes Calciumcarbonat fein verteilt. Dieser gut in einer Kältemischung gekühlten Suspension wurden allmählich unter ständigem Schütteln auf der Maschine (Flasche mit Bunsen-Ventil!) kleine Mengen mit Chloroform gemischten Phosphoroxychlorids hinzugefügt. Es traten im ganzen 154 g Phosphoroxychlorid, gelöst in etwa 500 ccm Chloroform, in Reaktion.

Ein Zeichen, daß das in der Mischung befindliche Phosphoroxychlorid verbraucht war, ergab sich in dem Aufhören der Kohlensäure-Entwicklung. Es ist wegen der Empfindlichkeit der Glucosephosphorsäure für dauernd neutrale Reaktion Sorge zu tragen; die Mischung darf zu keiner Zeit Kongopapier bläuen. Das Schütteln nahm jedesmal 8–10 Stunden in Anspruch, weil sich das in Chloroform gelöste Oxychlorid mit wäßriger Calciumcarbonat-Suspension wesentlich langsamer umsetzt, als mit Ätzkalklösung. In Fällen, in denen die Flüssigkeit sofort nach Beendigung des Schüttelns auf das Filter gebracht worden war, bestand am andern Morgen saure Reaktion, da sich in dem durchs Filter gegangenen Chloroform noch unzersetztes Phosphoroxychlorid befunden hatte. Deswegen darf die Mischung erst nach 12–24-stündigem Stehen über dem Calciumcarbonat-Schlamm filtriert werden.

Der Rückstand, der sich aus übrig gebliebenem Calciumcarbonat und Calciumphosphat zusammensetzt, muß mehrfach sorgfältig mit kaltem Wasser ausgewaschen werden. Das Filtrat wurde im Vakuum zwischen 35° und 40° eingeeengt; hierbei schieden sich noch Calciumcarbonat und stets auch Phosphat ab. Die gesamte Flüssigkeitsmenge wurde auf ungefähr 1 l gebracht, klar filtriert und in die vierfache Menge Alkohol eingetroppt, wobei das Calciumsalz des Glucosephosphorsäureesters ausfiel. Die Lösung des glucosephosphorsäuren Cal-

ciums und des Calciumchlorids weiter einzuengen, war nicht angängig, weil sich in stärkerer Konzentration beim Eintropfen in Alkohol größere Mengen des Calciumchlorids mit ausschieden und der ausfallenden Substanz eine schmierige bis ölige Konsistenz gaben. Um das Calciumglucosphat vom mitgerissenen Calciumchlorid zu reinigen, haben wir den Niederschlag auf der Nutsche abgesaugt, im Vakuum-exsiccator über Schwefelsäure von Alkohol befreit, in Wasser gelöst und wiederum mit Alkohol gefällt. Dieses Verfahren muß 4—5-mal bis zum Verschwinden der Chlor-Reaktion wiederholt werden. Die Analysen der gereinigten Substanz ergaben folgende Werte:

0.3559 g Sbst.: 0.2792 g CO₂, 0.1315 g H₂O. — 0.2125 g Sbst.: 0.1660 g CO₂, 0.0841 g H₂O. — 0.2469 g Sbst.: 0.0950 g Asche. — 0.3246 g Sbst.: 0.0537 g CaO, 0.1092 g Mg₂P₂O₇. — 0.4153 g Sbst.: 0.0692 g CaO, 0.1399 g Mg₂P₂O₇.



Ber. Ca₂P₂O₇ 38.02, Ca 11.97, P 9.28, C 21.55, H 4.49.
Gef. » 38.47, » 11.83, 11.92, » 9.35, 9.41, » 21.40, 21.31, » 4.13, 4.42.

Eine direkte Wasserbestimmung war unmöglich, da das Wasser erst bei Temperaturen entweicht, wo die Substanz bereits unter Bräunung Phosphorsäure abspaltet.

Die Ausbeuten an Calciumsalz der Glucosephosphorsäure sind im Vergleich mit denen bei der Saccharosephosphorsäure erheblich geringer. Es liegt dies daran, daß die Phosphorylierung bei Gegenwart von Calciumcarbonat an sich schlechter verläuft, als bei Anwesenheit von Ätzkalk. Hinzu kommt, daß beim Einengen selbst bei 40° aus der gepaarten Phosphorsäure dauernd Calciumphosphat wieder abgespalten wird, und schließlich hält die große Menge des entstandenen Chlorcalciums bei der Fällung mit Alkohol einen Teil des Calciumglucosphates in Lösung.

Das Calciumsalz des Glucosephosphorsäureesters ist ein weißes, luftbeständiges Pulver, das in Wasser löslich ist. Die Lösung des reinen Salzes gibt weder mit Bleizucker noch mit Bleiessig einen Niederschlag, wohl aber mit Bleiessig und Ammoniak.

An welcher Stelle die Phosphorsäure in das Traubenzucker-Molekül eingetreten ist, läßt sich vorläufig ebensowenig wie bei der Saccharose-Verbindung angeben; nur der Glucosid-Typus läßt sich ausschließen, da die Verbindung glatt Fehlingsche Lösung reduziert.

Ebenso wie die Saccharosephosphorsäure gibt die Glucosephosphorsäure mit Magnesiamixtur und mit Ammoniummolybdat keine Reaktion, sondern es ist nötig, durch vorangehendes Kochen mit Mineralsäuren die Substanz zu spalten. Die Zerlegung tritt bei der Glucosephosphorsäure leichter ein. Während saccharosephosphorsaures Calcium gegen siedendes Wasser beständig ist und erst bei

160° unter Druck etwa zur Hälfte verseift wird, genügte es bei dem Calciumglucophosphat, mit Wasser im Einschlußrohr 4 Stunden lang im Dampfbade (auf 100°) zu erhitzen, um 87 % der Verbindung zu spalten.

Es wurden 0.2154 g Substanz in 10 ccm Wasser gelöst und der beschriebenen Behandlung im Schießrohr unterworfen. Alsdann wurde die Flüssigkeit mit Barytwasser versetzt und sofort abfiltriert. Aus der Lösung des Niederschlages in verdünnter Salpetersäure wurde die Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat gefällt und in bekannter Weise in Magnesiumpyrophosphat übergeführt.

Gewogen wurden 0.0597 g $Mg_2P_2O_7$; da 0.2154 g des Salzes 0.0684 g $Mg_2P_2O_7$ geben könnten, sind also 87.4 % der in organischer Bindung vorhandenen Phosphorsäure abgespalten worden.

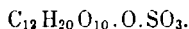
Das Filtrat der im Einschlußrohr erhitzten Lösung des Glucosephosphorsäureesters wurde mit Schwefelsäure vom Baryt befreit, die Säure mit Soda neutralisiert und alsdann wieder mit einem Tropfen Milchsäure angesäuert, damit wir eine Gärungsprobe vornehmen konnten. Gleichzeitig wurde etwa 0.1 g des Esters mit Hefe, zur Kontrolle ein Röhrchen mit Wasser und Hefe und ein zweites mit Traubenzucker und Hefe angesetzt. Die Kontrollproben verliefen einwandfrei; der unverseifte Ester gar nicht, während der verseifte Kohlensäure lieferte. Es ergibt sich also einmal, daß bei der Verseifung von Calciumglucophosphat durch siedendes Wasser Traubenzucker zurückgebildet wird, und dann auch hier die Tatsache, daß die Einführung von Phosphorsäure in den Traubenzucker die Gärfähigkeit aufhebt. Daß nicht etwa die Anwesenheit von Calciumionen die Hefe in ihrer Wirkung behindert, ergibt sich aus der früher beschriebenen Versuchsanordnung, die bei den Gärungsproben des Saccharosephosphorsäureesters getroffen wurde.

Saccharose-schwefelsäure.

90 g Rohrzucker wurden zusammen mit 80 g Ätzkali und 400 ccm Wasser gelöst und auf dem Wasserbade auf eine Temperatur von 60—70° gebracht. In diese Lösung wurden nach und nach in kleineren Portionen 64 g feingepulvertes Kaliumpyrosulfat gebracht. Das Eintragen dauert 8 Stdn., und vor jedem neuen Zusatz ist durch reichliches Schütteln für möglichste Lösung Sorge zu tragen. Man überläßt zum Schluß das Gemisch 12 Stdn. sich selbst, neutralisiert genau mit Essigsäure und fällt mit einer konzentrierten Lösung von Bariumacetat alle anorganische Schwefelsäure aus. Der massige Bariumsulfat-Niederschlag muß sehr gut ausgewaschen und die infolgedessen stark verdünnte Flüssigkeit zunächst im Vakuum eingeeengt werden. Bleiessig erzeugt nunmehr auf Zusatz von Ammoniak eine

reichliche Fällung, die abfiltriert und bis zur neutralen Reaktion ausgewaschen wird. Der Bleiniederschlag wird dann mit Wasser angerieben und mit Schwefelwasserstoff bei Gegenwart von Bariumcarbonat vollständig zerlegt. Die filtrierte Lösung wurde im Vakuum eingeeengt, abermals klar filtriert und in Alkohol eingetropt. Der entstandene weißeflockige Niederschlag wurde zur Entfernung anhaftenden Rohrzuckers, der ja auch durch Bleiessig und Ammoniak gefällt wird, mehrfach in Wasser gelöst und wieder mit Alkohol niedergeschlagen. Das erhaltene Barium-saccharosulfat stellt ein durchaus luftbeständiges weißes Pulver dar, das leicht in Wasser löslich ist. Die wäßrige Lösung gab allein mit Bleiessig und Ammoniak eine Fällung. Die Substanz reduziert Fehlingsche Lösung nicht, wohl aber nach dem Kochen mit Mineralsäuren.

0.1365 g Sbst.: 0.0573 g Asche. — 0.3417 g Sbst.: 0.3207 g CO₂, 0.1137 g H₂O. — 0.2611 g Sbst.: 0.2461 g CO₂, 0.0879 g H₂O. — 0.1756 g Sbst. (nach dem Aufschließen) 0.0728 g BaSO₄ (Ba-Best.), 0.0727 g BaSO₄ (S-Best.).



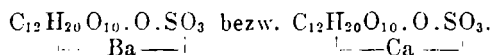
—Ba—

Ber. BaSO₄ 41.83, Ba 24.55, S 5.73, C 25.85, H 3.59.

Gef. » 41.97, » 24.40, » 5.69, » 25.59, 25.71, » 3.72, 3.76.

Die Ausbeute betrug etwa 15 g.

Das Salz wird, wie das analoge Calciumsalz, wohl am besten als Halbsaccharat aufgefaßt von der wahrscheinlichen Formel:



Eine solche Zusammensetzung, d. h. Salzbildung gleichzeitig an einem alkoholischen Hydroxyl und an der eigentlichen sauren Gruppe, ist vielfach beobachtet, beispielsweise bei den komplexen Salzen der Weinsäure, der Chondroitin-schwefelsäure¹⁾, beim Isoserin²⁾, bei der α -Oxy- β -aminobuttersäure³⁾, bei der α - und β -2-Amino-glucoheptonsäure⁴⁾, bei der Cysteinsäure⁵⁾ u. a.

In den Saccharosulfaten haftet die Schwefelsäure sehr fest. Zu ihrem Nachweise ist Schmelzen mit Soda und Salpeter erforderlich oder mehrmaliges Eindampfen mit Königswasser bis fast zur Trockne. Hydrolyse tritt auch beim Kochen mit Salzsäure allein ein, doch scheiden sich hierbei Huminstoffe aus, und zwar in dunklen Flocken,

¹⁾ O. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Path. **28**, 355 [1891].

²⁾ E. Fischer und H. Lencis, diese Berichte **35**, 3787 [1902].

³⁾ C. Neuberg, Biochem. Ztschr. **1**, 282 [1906].

⁴⁾ C. Neuberg und H. Wolff, diese Berichte **35**, 4012 [1902] und **36**, 618 [1903].

⁵⁾ E. Friedmann, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 1 [1903].

welche die Erkennung des ausgefallenen Bariumsulfats erschweren. Auf Zusatz von Salpetersäure bleibt die Lösung dagegen farblos.

Das Bariumsaccharosulfat dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts:

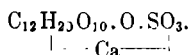
$$[\alpha]_D^{29} = + 26.09^\circ.$$

($\alpha = + 2.31^\circ$; $l = 2$; in 10.2117 g Lösung waren 0.4426 g Substanz.)

Auf Zusatz von so viel kalter Salzsäure zu der Bariumverbindung, daß gerade die freie Säure entsteht, erhält man eine Flüssigkeit, die bald Fehlingsche Lösung reduziert. Daraus ist zu entnehmen, daß die freie Saccharoseschwefelsäure gespalten wird.

Ganz entsprechend der beschriebenen Darstellung des Bariumsalzes erhält man das Calcium-saccharosulfat, wenn man die Zerlegung der rohen Bleiverbindung der Rohrzucker-schwefelsäure in Gegenwart von kohlenurem Calcium (statt von BaCO_3) vor sich gehen läßt. Das Calciumsalz bildet ebenfalls ein luftbeständiges, weißes Pulver und zeigt sehr ähnliche Eigenschaften.

0.1881 g Sbst.: 0.2130 g CO_2 , 0.0725 g H_2O . — 0.1616 g Sbst.: 0.1821 g CO_2 , 0.0669 g H_2O . — 0.1560 g Sbst.: 0.0472 g Asche. — 0.3903 g Sbst.: 0.0464 g CaO , 0.1957 g BaSO_4 . — 0.2176 g Sbst.: 0.1089 g BaSO_4 .



Ber. CaSO_4 29.56, Ca 8.69, S 6.95, C 31.31, H 4.35.

Gef. » 30.05, » 8.50, » 6.88, 6.87, » 30.88, 30.73, » 4.22, 4.59.

Das Calciumsalz entwickelt mit Hefe nur wenig Kohlensäure; nach vorangegangener Spaltung tritt starke Gärung ein. Hierüber ausführlich siehe Biochem. Ztschr. 26, Heft 5 und 6 [1910].

Phosphorylierung von Eiweiß.

•Die natürlich vorkommenden Verbindungen von Kohlenhydraten mit Phosphorsäure sind unzweifelhaft als Ester aufzufassen. Dagegen liegen über die Bindungsart des Phosphors in den Phosphorproteinen bisher keine entscheidenden Angaben vor. Sicher ist, daß der Phosphor in diesen Verbindungen als ein Derivat der Phosphorsäure enthalten ist, denn die Totalhydrolyse durch Säuren oder Alkalien liefert gewöhnliche H_3PO_4 , und zu dem gleichen Ergebnis führt die Einwirkung von Verdauungsenzymen. Da es sich unzweifelhaft nicht um phosphorsaure Salze, um Eiweißphosphate, handelt, kommen vornehmlich zwei Möglichkeiten in Betracht.

1. Entweder ist die Phosphorsäure esterartig mit Hydroxylgruppen bestimmter Eiweißbausteine verknüpft. Solche liegen im Tyrosin, dann in den eigentlichen Oxy-aminosäuren, wie Serin, Oxy-pyrolidin-carbonsäure und Diamino-trioxy-dodecan-

säure, vor. Oder 2. Die Phosphorsäure tritt mit Amino- bzw. Iminogruppen des Eiweißes zu säureamidähnlichen Verbindungen, zu Substitutionsprodukten der Phosphaminsäure $\text{NH}_2\text{PO}(\text{OH})_2$ bzw. des Phosphamids, $\text{O:P}(\text{NH}_2)_3$ etc. zusammen.

Sowohl hinsichtlich der Auffassung der natürlichen Phosphorproteine wie in mancher anderen Richtung bietet eine künstliche Verknüpfung von Phosphorsäure mit Aminosäuren bzw. mit Eiweißstoffen ein Interesse.

Es gestaltet sich jedoch die Einführung anorganischer Säurereste, speziell von Phosphorsäure, hier schwieriger als bei den Zuckern.

Behandelt man die Lösungen einfacher Aminosäuren¹⁾, z. B. von Glykokoll, Alanin, Leucin, Tyrosin, Serin, Asparaginsäure oder von Diaminopropionsäure mit Phosphoroxychlorid bei Gegenwart von ätzenden oder kohlensauren Alkalien oder Erdalkalien, so läßt sich auch hier mit Leichtigkeit die Entstehung einer organischen Phosphorsäure-Verbindung dartun; denn entfernt man die anorganischen Phosphate mit Magnesiummischung, so findet sich in der Lösung noch reichlich Phosphor, der erst nach der Veraschung nachweisbar wird.

Allein die Isolierung der Aminosäuren-Phosphorsäure-Verbindungen in völlig reinem Zustande ist bisher nicht geglückt. Unter den Bedingungen, die eine Abscheidung der anorganischen Phosphorsäure ermöglichen, z. B. Ausfällung mit Bariumsalzen, wird auch aus der gepaarten Verbindung Phosphorsäure zu einem Teile wieder abgespalten, und die Trennung von unveränderter Aminosäure und phosphoryliertem Produkt ist bisher nicht in befriedigender Weise gelungen. Dieses Verhalten, insbesondere die lockere Bindung der Phosphorsäure, erinnert weitgehend an die entsprechenden Eigenschaften der durch Ferment-Hydrolyse aus den natürlichen Phosphorproteinen erhaltenen phosphorhaltigen Proteosen. Die phosphorhaltigen Casein-albumosen, deren bestbekanntester Vertreter die Paranucleinsäure von E. Salkowski²⁾ ist, sowie die nahe verwandte natürliche Polypeptid-phosphorsäure von A. Reih³⁾ spalten auch leicht Phosphorsäure ab; die Bindung der Phosphorsäure scheint noch lockerer zu sein, wenn man den Abbau über die Albumosenstufe hinaus ausdehnt, indem bisher phosphorhaltige niedrigere Aminosäuren-Verbindungen bei der Hydrolyse nicht isolierbar gewesen sind.

Dagegen scheint sich mit zunehmender Molekulargröße, z. B. bei den Proteinen selbst, auch die Haftfestigkeit der Phosphorsäure zu erhöhen. Aus diesem Grunde haben sich die erwähnten Schwierigkeiten der Isolierung umgehen lassen, wenn man die Reaktion mit phosphorsäurefreien Eiweißkörpern, z. B. mit Blutglobulin oder Lact-

1) oder deren Ester.

2) Ztschr. f. physiol. Chem. **27**, 297 [1899]; **32**, 245 [1901].

3) Beitr. zur chem., Physiol u. Pathol. **11**, 1 [1908].

albumin vornimmt. Dann erhält man leicht phosphorylierte Produkte, für die man einen ähnlichen Bau annehmen muß, wie für die natürlichen Phosphorproteine zuvor ausgeführt worden ist.

Die Isolierung wird hier durch den Umstand erleichtert, daß man aus mit Phosphoroxchlorid usw. behandelten alkalischen Eiweißlösungen die künstliche Phosphorverbindung durch Ansäuern mit Essigsäure zur Abscheidung bringen kann, wobei natürlich die Alkaliphosphate in Lösung bleiben.

Durch besondere Versuche (s. Biochem. Ztschr. 26, 529 [1910]) haben wir sichergestellt, daß keine Eiweißphosphate, sondern wirkliche organische Phosphorverbindungen vorliegen. Aus einer alkalischen, mit überschüssigem Trikaliumphosphat versetzten Proteinlösung fällt Essigsäure wieder phosphorfreies Eiweiß.

Die künstlichen Phosphoreiweißverbindungen ähneln den natürlichen Phosphorproteinen in der Zusammensetzung und im Verhalten, insofern auch, als sie durch tryptisches Ferment verdaut werden und dabei Phosphorsäure abspalten; durch Pepsin entstehen zunächst, ganz wie bei dem Casein, phosphorhaltige Albumosen.

Vor längerer Zeit hat Bechhold¹⁾ eine Reaktion zwischen Eiereiweiß und Phosphoroxchlorid beobachtet, jedoch ohne Kühlung unter Bedingungen gearbeitet, bei welchen nach seinen Angaben das Eiereiweiß stark verändert wurde.

Benutzt wurden: Lactalbumin sowie Blutglobulin, bei denen die Reaktion in gleicher Weise verlief. Bekanntlich haftet den natürlichen Proteinen häufig Calciumphosphat an. Die angewandten Eiweißkörper waren in üblicher Weise derart gereinigt, daß sie nicht mehr als Spuren von Phosphor enthielten, insbesondere gaben 4.0 g des Lactalbumins nach der Schmelze mit Soda-Salpeter mit Ammoniummolybdat in salpetersaurer Lösung nur eine Gelbfärbung, aber keine Fällung.

7.5 g dieses staubfeinen Lactalbumins wurden in 100 ccm Wasser verteilt und nach und nach mit gerade so viel einer Lösung von 16.8 g Ätzkali in 300 ccm Wasser versetzt, daß bei heftigem Schütteln, event. unter gelindem Erwärmen auf 30°, möglichst rasch alles in Lösung ging. Zu der in einer Kältemischung gut gekühlten Flüssigkeit wurde unter stetem Schütteln allmählich eine Mischung von 16 g Phosphoroxchlorid mit 80 ccm Chloroform²⁾ getropft und dabei gleichzeitig

¹⁾ Ztschr. f. physiol. Chem. 34, 122 [1901].

²⁾ Die eiweißfällende Wirkung des Chloroforms (E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Chem. 31, 329 [1900]) kommt in den alkalischen Lösungen nicht zur Geltung.

der Rest der genannten Lauge, sowie noch 16.8 g Ätzkali in 100 ccm Wasser zugefügt. Die Prozedur erforderte etwa 4—6 Stdn. Dann wurde das Chloroform im Scheidetrichter abgelassen und aus der klar filtrierten Lösung durch Zusatz von Essigsäure bis zur gerade deutlichen sauren Reaktion das phosphorylierte Produkt gefällt. Die Abscheidung kann durch Eintragen von Kochsalz oder von Ammoniumsulfat vervollständigt werden; auch kurzes Erwärmen auf dem Wasserbade ist nützlich.

Die in weißen Flocken abgeschiedene Substanz wird abfiltriert, auf dem Filter mit Wasser bis zum Verschwinden der Reaktionen auf Phosphorsäure und Chlor ausgewaschen und dann mit Alkohol und Äther behandelt. Es resultiert ein weißes Pulver, das nach dem Trocknen schwach gelb erscheint.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 105° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0.4796 g Sbst. ergaben (nach Kjeldahl) 0.0744 g N. — 1.4066 g Sbst. ergaben 0.0634 g $Mg_2P_2O_7$ (= 0.0176 g P). — 0.4971 g Sbst.: (nach Kjeldahl) 0.0783 g N. — 0.1803 g Sbst.: 24.6 ccm N (18°, 757 mm). — 0.1212 g Sbst.: 0.2333 g CO_2 , 0.0774 g H_2O . — 1.5115 g Sbst.: 0.0694 g $Mg_2P_2O_7$ (= 0.0193 g P). — 1.2132 g Sbst.: 0.0688 g $BaSO_4$ (= 0.00945 g S).

Gef. C 52.49, H 7.09, N 15.51, 15.75, 15.69, P 1.25, 1.28, S 0.78.

Die Ausbeute betrug 3.7 g.

Es läßt sich natürlich nicht ohne weiteres behaupten, daß die phosphorylierte Verbindung frei vom Ausgangsmaterial ist. Sie verändert jedoch durch Umfällen aus Kalilauge durch Essigsäure ihre Zusammensetzung nicht. Im Gegensatz zum Lactalbumin hat das phosphorylierte Produkt, wie die natürlichen Nucleoalbumine, deutlich saure Eigenschaften. Beachtenswert ist, daß die Zusammensetzung der des wichtigsten Phosphorproteins, des Caseins (C 52.96, H 7.05, N 15.65, P 0.85, S 0.76 nach Hammarsten), sehr ähnlich ist.

Die Phosphorylierung in wäßriger Lösung hat sich vielfacher Anwendung fähig erwiesen; inzwischen hat Hr. cand. phil. Kretschmer die Galaktose-phosphorsäure und die Fructose-phosphorsäure dargestellt.

325. Georges Karl: Über einige neue Thoriumsälze.

(Eingegangen am 24. Mai 1910.)

1. Thoriumpikrat, $Th(C_6H_2N_3O_7)_4 + 10H_2O$, läßt sich gewinnen, indem eine wäßrige, heiße Thoriumnitratlösung mit pikrinsaurem Ammonium versetzt wird. Das Thoriumpikrat setzt sich sofort als Öl auf dem Boden des Gefäßes ab, wo es mehrmals mit wenig heißem Wasser gewaschen wird. Beim Erkalten erstarrt das Öl als eine gelbe, harte, kristallinische Substanz, die ge-