

38. Ferdinand Blumenthal und Paul Mayer: Ueber die Abspaltung von Zucker aus Albumin.

[Aus der 1. medicinischen Klinik und dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.]

(Eingegangen am 2. Februar.)

Der Eine von uns hat vor einem Jahr mitgetheilt¹⁾, dass sich aus Hühnereiweiss nach Spaltung mit Salzsäure ein Kohlenhydrat gewinnen lässt, dessen Osazon bei den verschiedenen Präparaten zwischen 194—204° schmilzt. Da dieses Osazon sowohl mikroskopisch als auch durch seine Unlöslichkeit in heissem Wasser, sowie durch seine Schwerlöslichkeit in kaltem abs. Alkohol den Osazonen der Hexosen glich, und auch der Schmelzpunkt mit diesen übereinstimmte (für *r*- und *l*-Galactosazon 193—195°, für *i*-Galactosazon 206°, für Glukosazon gegen 205°), so war die Abspaltung einer Hexose aus Albumin sehr wahrscheinlich gemacht. Später erschien eine Arbeit von Eichholz²⁾, der gleichfalls aus Hühnereiweiss ein Osazon vom Schmp. 204° erhalten hatte. Darauf theilte Seemann³⁾ mit, dass er ebenfalls aus Hühneralbumin, dem nach seinen eigenen Angaben aber möglicherweise noch Mucoïd angehaftet hat, ein Osazon habe darstellen können, das bei 192—193° schmolz. Ausserdem gelang es ihm, einen Benzoylester zu gewinnen, dessen Analyse für ein Gemisch von Tetra- und Penta-Benzoylglukosamin sprach. Fast gleichzeitig erschien eine vorläufige Mittheilung von G. Weiss⁴⁾, der aus Hühnereiweiss ein Gummi gewonnen hatte, aus dem er eine Methylpentose darstellen konnte, deren Osazon bei 179—181° schmolz und das durch Elementaranalyse als das Osazon einer Methylpentose identifizirt wurde.

Im Verlauf weiterer Untersuchungen gelang es uns, auch aus dem Albumin des Eigelbs einen Zucker zu gewinnen, über den wir ebenso, wie über den aus Hühnereiweiss, hier berichten wollen.

Die Darstellung der Eiweisspräparate, von denen wir bei unseren Untersuchungen ausgingen, geschah in folgender Weise:

Von frischen Eiern wurde das Eiweiss mit dem 10-bis 20-fachen Volumen Wasser versetzt, durch Coliren von allen nicht flüssigen Bestandtheilen befreit und unter Zusatz von wenig Essigsäure über Nacht stehen gelassen. Dann wurde die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit in einen Kolben gegossen und im Koch'schen

¹⁾ F. Blumenthal, Gesellschaft der Charité-Aerzte. Sitzung vom 10. Februar 1898, Charité-Annalen Bd. 23, S. 181—188.

²⁾ Eichholz, Journal of Physiology, 26. July 1898.

³⁾ Seemann, Archiv für Verdauungskrankheiten, October 1898.

⁴⁾ G. Weiss, Centralblatt für Physiologie, October 1898.

Dampfkochtopf 1 Stunde erhitzt. Nun wurde durch ein feines Sieb filtrirt und der Niederschlag mit Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde in 1—2-prozentiger Natronlauge möglichst in Lösung gebracht. Die Lösung wurde abgegossen, mit Essigsäure gefällt, filtrirt und der Rückstand mit Wasser von gewöhnlicher Temperatur in einer Reibschale verrieben und nochmals filtrirt. Der Rückstand wurde dann mit Wasser zum Sieden erhitzt und filtrirt. Dies wurde so lange fortgesetzt, bis das eingedampfte Filtrat Fehling'sche Lösung nicht mehr reducirt¹⁾). Nun wurde das Präparat mit Alkohol und Aether behandelt und pulverisirt. Nachdem wir nunmehr eine Probe mit Wasser erwärmt und uns überzeugt hatten, dass die Lösung keine Reductionsprobe gab, wurde das Präparat zu weiterer Untersuchung benutzt.

Das Albumin aus Eigelb wurde so hergestellt, dass das Eidotter frisch geschlagener Eier zunächst mit Aether wiederholt extrahirt wurde, bis der Aether farblos war. Der Rückstand wurde mit dem 15—20-fachen Volumen Wasser versetzt, der Niederschlag abfiltrirt und das Filter ausgepresst. Dann wurde mit 96-proc. Alkohol extrahirt, vom Alkohol abgepresst und nach mehrmaliger Extraction mit Aether pulverisirt.

Durch diese Darstellungsweise erhielt man ein feines, ganz weisses Pulver, das keine Spur von Traubenzucker oder einer reducirenden Substanz beigemengt enthielt, wie wiederholte Controllversuche ergaben, bei denen eine Quantität des Präparats energisch mit Wasser ausgekocht wurde.

Um Zucker aus diesen Eiweisskörpern abzuspalten, folgten wir im Wesentlichen dem Verfahren, welches E. Salkowski²⁾ zur Gewinnung einer Pentose aus Pankreas und welches dann der Eine³⁾ von uns wiederholt bei seinen Versuchen, aus Nucleoalbuminen und andern Eiweisskörpern Kohlenhydrate abzuspalten, angewendet hatte.

20 g Albumin werden in 480 ccm Wasser, denen 20 ccm 33-prozentige Natronlauge oder gesättigtes Barytwasser zugefügt waren, eingetragen. Dies lässt man unter Umrühren 1—2 Stunden stehen⁴⁾, dann werden 75 ccm Salzsäure vom spec. Gewicht 1.19 zugefügt und 2—3 Stunden auf freiem Feuer gekocht unter Ersetzen der verdunsteten Flüssigkeit. Nach dem Erkalten wird filtrirt und das

¹⁾ Die Prüfung auf Reduction geschah mit Salzsäure und Ferricyankalium.

²⁾ E. Salkowski, Berliner klinische Wochenschrift, No. 17, 1895.

³⁾ F. Blumenthal, Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. 34, H. 1 und 2.

⁴⁾ Das Albumin aus Eigelb wurde direct mit 200 ccm 4—5-prozentiger Salzsäure 2—3 Stdn. gekocht und mit Natriumcarbonat in Substanz neutralisiert.

Filtrat, zweckmässig unter Kühlen mit Eis, mit Natronlauge neutralisiert und sofort mit Essigsäure wieder angesäuert.

Nach 3 — 5 Stunden wird von dem entstandenen Niederschlag abfiltrirt und das Filtrat auf die Hälfte eingedampft. Von den ausgeschiedenen Salzen wird abfiltrirt und das Filtrat, mit 5—8 ccm Phenylhydrazin, in Essigsäure gelöst, 1½ Stunden im Wasserbade erhitzt. Das Osazon aus Eigelb fällt schon beim Erhitzen aus, während das Osazon aus Hühnereiweiss häufig erst beim Abkühlen sich ausschied. Nach dem Erkalten wurde filtrirt und das Osazon mit heissem Wasser, kaltem, absolutem Alkohol, kaltem Aceton und Aether, in denen es so gut wie unlöslich war, gereinigt. Nach Lösen in heissem, 96-prozentigem Alkohol und Eingießen in Wasser erhielten wir schön gelb gefärbte, krystallinische Osazone, die mikroskopisch Balken und vorzugsweise Nadeln, die in Büscheln angeordnet sind, zeigten. Das Osazon aus Hühnereiweiss schmolz zwischen 200 und 205^o); das Osazon aus Eigelb bei 203^o.

Die Elementaranalyse, die Hr. Carl Neuberg, Assistent von Prof. E. Salkowski, freundlichst ausgeführt hat, ergab:

für das Osazon aus Hühnereiweiss: C 60.31, H 6.04,

für das Osazon aus Eigelb: C 60.79, H 6.52, N 15.78,

für Phenylglukosazon verlangt: C 60.34, H 6.15, N 15.64.

Die Elementaranalyse ergab also, dass es sich in beiden Fällen um das Osazon einer Hexose handelte.

Damit ist die Abspaltung einer Hexose aus Albumin dargethan.

Nach dem Schmelzpunkt der Osazone können von den Hexosen (C₆H₁₂O₆) nur in Frage kommen die Glukose, die Mannose, die Fructose und die Galactose.

Gegen Maunose spricht der Umstand, dass sich mit Phenylhydrazin kein in kaltem Wasser unlösliches Hydrazon bildete; gegen Fructose der Ausfall der Seliwanoff'schen Reaction.

Die Galactose unterscheidet sich von der Glukose unter Anderem dadurch, dass das Osazon der Galactose optisch inaktiv ist, während das Osazon aus Glukose stark links dreht. Eine Lösung des Osazons aus Eigelb zeigte im Decimeterrohr (0.04 g auf 12 ccm Eisessig) 0.4 pCt. Linksdrehung auf Traubenzucker berechnet, sodass die Anwesenheit von Galactose ausgeschlossen ist. Dagegen zeigte das Osazon aus Hühnereiweiss keine sichere Linksdrehung, sodass für dieses die Frage offen bleiben muss, ob Galactose oder Glukose vorliegt.

Es scheint übrigens, als ob es sich bei der Abspaltung von Zucker aus Eiweiss nicht nur um ein Kohlenhydrat handelt, denn

¹⁾ Mitunter wurde der Schmelzpunkt bei anscheinend ganz reinen Präparaten etwas tiefer, bei 195^o, gefunden.

wir erhielten aus beiden Eiweisskörpern noch Osazone, die in heissem Wasser leicht löslich waren. Diese Osazone färbten sich unter Wasser bräunlich und zeigten mikroskopisch Stechpfeilform und feine Nadeln. Diese Osazone konnten bisher noch nicht genügend rein zur Analyse gewonnen werden. Auf jeden Fall konnte festgestellt werden, dass eine gewöhnliche Pentose, wie solche in den Nucleinen nachgewiesen ist, hier nicht vorhanden sein kann, da die Furfurolbildung bei Destillation mit concentrirter Salzsäure nur eine minimale war. Ferner konnte aus Hühnereiweiss durch Kochen mit starker Salzsäure keine Lävulinsäure gewonnen werden.

Nach kurzen Kochen mit 2- bis 5-procentiger Salz- oder Schwefelsäure spaltete sich bereits die reducirende Substanz aus den Albuminen ab; die Lösung, mit Fehling'scher Lösung erwärmt, liess nach kurzer Zeit rothes Kupferoxydul ausfallen. Bei längerer Spaltung mit Säuren oder nach Neutralisation mit Natronlauge liess sich meist nur die Reduction mit Salzsäure und Ferricyankalium nachweisen, vermutlich weil das aus Albumin entstandene Ammoniak das Kupferoxydul in Lösung hielt.

Die Frage der Activität des abgespaltenen Zuckers konnten wir bisher nicht entscheiden. Die Albumosen, Peptone und linksdrehendes Leucin, die neben dem Zucker aus Eiweiss sich bildeten, konnten wir weder durch Phosphorwolframsäure, noch durch Tannin, noch durch Schwermetalle ganz wegschaffen. Mit Phosphorwolframsäure konnten wir dieselbe Beobachtung machen, wie Friedrich Müller¹⁾ mit dem Kohlenhydrat aus Mucin, dass nämlich ein grosser Theil des Zuckers dadurch gefällt wurde.

Eine Gährungsfähigkeit konnten wir bisher niemals constatiren²⁾.

Was nun das Vorhandensein der Kohlenhydratgruppe im Eiweissmolekül anbetrifft, so hat sich der Eine³⁾ von uns in Uebereinstimmung mit Krawkow⁴⁾ dahin ausgesprochen, dass das Kohlenhydrat kein integrierender Bestandtheil des eigentlichen Albuminmoleküls ist; denn wir konnten, ebenso wie Krawkow, nachweisen, dass nach Abspaltung der Kohlenhydratgruppe immer Reste blieben, welche durch ihre Eigenschaften als Albumine charakterisiert erschienen, jedoch bei erneuter Behandlung mit Säuren kein Kohlenhydrat mehr lieferten. Bei dem in Freiheit setzen der Kohlenhydratgruppe war

¹⁾ Friedrich Müller, Sitzungsberichte der Marburger naturwissenschaftlichen Gesellschaft, 1896, Juli.

²⁾ Gährungsunfähigkeit zeigen bekanntlich von den hier in Frage kommenden Hexosen die β -Glukose und die β -Galactose, sowie die Amidoderivate der Hexosen.

³⁾ Charité-Annalen, I. c.

⁴⁾ Krawkow, Pflüger's Archiv, Bd. 65.

also das Eiweissmolekül nicht zertrümmert worden, wie bei der Fäulniss oder Pankreasverdauung. Es scheint vielmehr, dass das Eiweissmolekül ebenso, wie es eine grosse Fähigkeit hat, mit allen möglichen Substanzen, z. B. mit Säuren und Alkalien, Verbindungen einzugehen, auch mit Kohlenhydraten den Glykosiden analoge Verbindungen zu liefern vermag.

39. L. Gattermann und M. Köbner: Synthese von Oxyaldehyden der Benzolreihe.

(Eingegangen am 2. Februar.)

Wir haben gefunden, dass die im vorigen Jahrgange dieser Berichte, S. 1765, von dem Einen von uns beschriebene Synthese von Oxyaldehyden, welche auf der Einwirkung von Blausäure und Salzsäure auf Phenole bei Gegenwart von Aluminiumchlorid beruht, sich in vielen Fällen noch wesentlich vereinfachen und bezüglich der Ausbeute erheblich verbessern lässt. Es ist nämlich vielfach garnicht erforderlich, Aluminiumchlorid zur Herbeiführung der Synthese zu verwenden, vielmehr lässt sich dieselbe schon durch Anwendung von Chlorzink ermöglichen. Ja in manchen Fällen, wie z. B. beim Resorcin, Orcin und Phloroglucin, verläuft dieselbe so leicht, dass es überhaupt keines Condensationsmittels bedarf. Die neue Methode bietet ferner den Vortheil, dass man als Lösungsmittel Aether verwenden kann, in dem besonders die mehrwertigen Phenole viel leichter löslich sind, als in Benzol, welches man bei der früheren Modification als Solvens anwenden muss. Schliesslich ist es uns jetzt auch gelungen, in mehreren Fällen die primären Reactionsproducte, die salzsäuren Aldimide, welche sich bei der Reaktion, als in Aether unlöslich, in fast reiner Form abscheiden, in krystallisirtem Zustande zu gewinnen und einer näheren Untersuchung zu unterwerfen.

Resorcylaldehyd aus Resorcin.

Der zu allen nachfolgenden Synthesen verwendete Aether war aus dem käuflichen Producte durch mehrfaches Waschen mit Wasser, Trocknen über Chlorecalcium und schliessliche Destillation über Phosphorsäureanhydrid hergestellt worden.

In eine Lösung von 10 g Resorcin in 30 g Aether, die mit 3.5 g = 5 ccm Blausäure versetzt ist und sich in einem mit Rückflusskübler verbundenen Kölbchen befindet, leitet man ohne äussere Kühlung so lange gasförmige Salzsäure ein, bis diese aus der oberen Kühleröffnung unabsorbirt entweicht, wobei sich das salzsäure Aldimid zum Theil als zähe Masse, zum Theil in krystallinischer Form an