

Benzhydryläther des Thymols,  
 $\text{CH}_3$   
 $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CH} \cdot \text{O} \left( \begin{array}{c} \cdot \\ \text{C}_6\text{H}_5 \\ | \\ \text{C}_3\text{H}_7 \end{array} \right)$ , aus Diphenyl-diazomethan und Thymol. Derbe Prismen. Schmp.  $87^{\circ}$ . Leicht löslich in Benzol und heißem Alkohol. Ausbeute 30%.

0.1136 g Sbst.: 0.3626 g  $\text{CO}_2$ , 0.0795 g  $\text{H}_2\text{O}$ .  
 $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}$ . Ber. C 87.29, H 7.65. Gef. C 87.08, H 7.83.

Benzhydryläther des  $\beta$ -Naphthols,  $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CH} \cdot \text{O} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_7$ , aus Diphenyl-diazomethan und  $\beta$ -Naphthol. Derbe, glasglänzende Nadeln, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol-Alkohol den konstanten Schmp.  $106^{\circ}$  zeigten; leicht löslich in Benzol und heißem Alkohol. Ausbeute 80%.

0.1402 g Sbst.: 0.4570 g  $\text{CO}_2$ , 0.0776 g  $\text{H}_2\text{O}$ .  
 $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}$ . Ber. C 89.03, H 5.80. Gef. C 88.92, H 6.19.

Der Benzhydryläther des  $\alpha$ -Naphthols fiel als Öl an. Ausbeute 45%.

### 399. F. Gottwalt Fischer: Zur Kenntnis der Succino-Dehydrase<sup>1)</sup>.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayr. Akademie d. Wissenschaften zu München.]  
 (Eingegangen am 31. August 1927.)

Es ist durch T. Thunberg<sup>2)</sup> 1909 bekannt geworden, daß Muskelfaser, welche durch Auswaschen ihre Eigenatmung verloren hat, nach Zusatz von Bernsteinsäure erneut Sauerstoff verbraucht. Wie F. Battelli und L. Stern<sup>3)</sup> kurz danach feststellten, erfolgt jedoch kein tiefgehender Abbau der Säure, da nicht die entsprechende Menge Kohlendioxyd gebildet wird, und aus der Reaktionslösung Äpfelsäure isoliert werden kann.

Größere Bedeutung gewannen diese Befunde vier Jahre später, als H. Einbeck<sup>4)</sup> in Muskelsubstanz Bernsteinsäure und weiterhin Fumarsäure auffand. Er nahm die Fumarsäure als primäres Produkt der Bernsteinsäure-Oxydation an, da er zeigen konnte, daß sie dabei entsteht, und daß weiterhin aus ihr unter der Einwirkung eines zweiten Fermentes, der Fumarase, durch Wasser-Anlagerung an die Doppelbindung Äpfelsäure gebildet wird<sup>5)</sup>. T. Thunberg machte im Jahre 1918 die Beobachtung, daß ausgewaschenes Muskelgewebe auf Zusatz von Natriumsuccinat die Fähigkeit erlangt, Methylenblau zu entfärben<sup>6)</sup>. Er schloß daraus auf eine Veränderung der zugefügten Bernsteinsäure durch eine spezifisch eingestellte Dehydrase,

<sup>1)</sup> Vorgetragen in der Münchener Chemischen Gesellschaft am 21. Juli 1927.

<sup>2)</sup> T. Thunberg, Skand. Archiv Physiol. **22**, 430 [1909].

<sup>3)</sup> F. Battelli und L. Stern, Biochem. Ztschr. **30**, 172 [1910].

<sup>4)</sup> H. Einbeck, Ztschr. physiol. Chem. **87**, 145; **90**, 301 [1914].

<sup>5)</sup> H. Einbeck, Biochem. Ztschr. **95**, 296 [1919].

<sup>6)</sup> T. Thunberg, Skand. Archiv Physiol. **35**, 163 [1917—1918].

die im Sinne der Wielandschen Dehydrierungs-Theorie Bernsteinsäure in Fumarsäure verwandelt, und untersuchte mit seiner Schule in einer umfassenden Reihe von Arbeiten<sup>7)</sup> die Eigenschaften dieses und anderer Fermente des oxydativen Abbaues. Die Methylenblau-Methode wurde zur empfindlichen Meßmethode ausgearbeitet, so daß sie z. B. in exakter Weise Auskunft über das Vorkommen, die Spezifität, die optimalen Arbeitsbedingungen und andere Eigenschaften der Succino-Dehydrase zu geben vermochte. Es gelang auch, das Ferment in schwach alkalischem Medium aus der Muskelfaser zu extrahieren und in Pseudo-Lösung zu erhalten.

Zum endgültigen Beweis der Dehydrase-Natur des Fermentes fehlte jedoch der Nachweis, daß die Entfärbung von Methylenblau mit einer Dehydrierung der Bernsteinsäure parallel geht, die zu den gleichen Produkten führt, wie beim Wasserstoff-Entzug durch Sauerstoff. Dadurch erst erhält die vielangewandte Farbstoff-Methode ihre volle Berechtigung.

Dieser Nachweis hat sich im Laufe folgender Untersuchung erbringen lassen: Aus verschiedenen Ansätzen, in welchen sehr gründlich ausgewaschene, phosphat-gepufferte Muskulatur unter Sauerstoff-Abschluß auf Natriumsuccinat-Lösung und die äquivalente Menge Methylenblau einwirkte, ließen sich die erwartete Fumarsäure und Äpfelsäure<sup>8)</sup> isolieren. Diese Reaktionsprodukte werden allerdings vom Leuko-Methylenblau, welches auf der Faser sehr fest haftet, hartnäckig zurückgehalten. Man muß daher zu ihrer Gewinnung den Leuko-Farbstoff nach Zerstörung des Fermentes sich an der Luft zum Blau wieder oxydieren lassen, und die Muskelfaser wiederholt auskochen. Dann gelingt es, die Fumarsäure in einer Menge zu gewinnen, die 30 % der zugesetzten Bernsteinsäure entspricht. Bei der Dehydrierung der Bernsteinsäure mit Sauerstoff entstehen, wie durch sorgfältige Aufarbeitung eines größeren Ansatzes festgestellt wurde, die Säuren im ungefähr gleichen Verhältnis: 25 % Fumarsäure und 75 % Äpfelsäure. H. Einbeck<sup>5)</sup> hatte ebenfalls 25 % Fumarsäure gefunden. Die beiden Säuren befinden sich nämlich unter der Einwirkung der Fumarase bei diesem Prozentsatz im Gleichgewicht, wie in besonderen nachprüfenden Versuchen festgestellt wurde. Mit Muskelfaser unter Sauerstoff-Abschluß verwandelt sich zugesetzte Fumarsäure zu 70 % in *l*-Äpfelsäure, und zugesetzte *l*-Äpfelsäure zu 23 % in Fumarsäure. H. D. Dakin<sup>6)</sup> hat auf Grund polarimetrischer Messung 50–60 % Äpfelsäure gefunden, F. Battelli und L. Stern<sup>9)</sup> fanden 35 % Fumarsäure.

Die Fumarase-Wirkung ist in den Phosphat-Extrakten nach E. Ohlsson<sup>10)</sup> ebenfalls nachzuweisen.

Bei einem ungenügend sterilisierten Ansatz wurde durch Bakterien-Wirkung Hydrierung der Fumarsäure zu Bernsteinsäure bewirkt, unter korrelativem Abbau eines Teiles der Fumarsäure zu Essigsäure und Kohlendioxyd.

Aus den mitgeteilten Ergebnissen kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß die Umwandlung der Bernsteinsäure zu Fumarsäure sowohl mit Sauer-

<sup>7)</sup> Literatur-Angaben siehe: Oppenheimer, Fermente, Bd. II, S. 1707 ff. (Leipzig 1926).

<sup>8)</sup> Es entsteht *l*-Äpfelsäure, wie H. D. Dakin, Journ. biol. Chem. **52**, 183 [1923], nachgewiesen hat.

<sup>9)</sup> F. Battelli und L. Stern, Compt. rend. Société Physique Histoire natur. Genève **38**, 49 [1921]. <sup>10)</sup> E. Ohlsson, Skand. Archiv Physiol. **41**, 77 [1921].

stoff als mit Methylenblau durch das gleiche Ferment, durch die Succino-Dehydrase, bewirkt wird.

Diese Schlußfolgerung steht im Gegensatz zu einer von A. Bach und D. Michlin<sup>11)</sup> unlängst veröffentlichten Arbeit, auf die nur kurz eingegangen werden kann. Bach und Michlin zweifeln an der Existenz einer Succino-Dehydrase aus folgenden Gründen: In gleichen Zeiten wird durch die gleiche Menge Muskelsubstanz etwa 300-mal mehr Sauerstoff übertragen als Methylenblau entfärbt. Daraus schließen die Autoren auf das Vorhandensein zweier verschiedener Enzyme. Dem ist zu entgegnen, daß im Sauerstoff-Versuch die Konzentration des einen Reaktions-Teilnehmers, des Sauerstoffs, konstant bleibt: sie entspricht der Löslichkeit des Gases im Reaktionsgemisch. Die Reaktion führt zum unschädlichen Produkt Wasser. Im Methylenblau-Versuch dagegen nimmt die Konzentration des Acceptors ständig ab. Die Reaktion führt zum Leuko-Methylenblau, welches sich auf die Muskelfaser niederschlägt und die wirksame Ferment-Oberfläche blockiert. Wie durch einige Versuche festgestellt wurde, kann man durch Erzeugung von Leuko-Methylenblau auf der Muskelfaser deren Wirksamkeit außerordentlich stark schwächen, die Reaktion mit Bernsteinsäure fast völlig unterbinden.

Zweitens führen Bach und Michlin Thunbergs Befund an, daß die Sauerstoff-Reaktion durch Blausäure vergiftet wird, die Methylenblau-Reaktion dagegen nicht. Diese Verhältnisse bedürfen einer genauen Nachprüfung. Sollte sich der Unterschied bestätigen lassen, so besagt das nichts gegen eine für beide Reaktionen identische, blausäure-unempfindliche Succino-Dehydrase, die den Wasserstoff aktiviert. Um den Sauerstoff als Acceptor betätigen zu lassen, wäre dann ein weiteres, blausäure-empfindliches Enzym notwendig. Die Feststellung Bachs und Michlins, die als weiteren Grund gegen eine Succino-Dehydrase angeführt wird, daß ihre Muskelpräparate in Gegenwart von Pufferlösungen Methylenblau entfärben, gleich ob mit oder ohne Bernsteinsäure-Zusatz, steht in Widerspruch mit den zahlreichen Arbeiten Thunbergs. Sie ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Muskelpräparate dieser Autoren ungenügend ausgewaschen waren, wie aus den experimentellen Daten hervorgeht.

Nach Feststellung der Gleichheit des Reaktionsverlaufes im Methylenblau- und Sauerstoff-Versuch ergibt sich als zweite Frage, ob bei der Sauerstoff-Reaktion außer der Succino-Dehydrase ein weiterer Katalysator notwendig ist. Zu ihrer Beantwortung wäre die Wirkungsweise der Succino-Dehydrase-Lösung von hohem Interesse gewesen, da sie das Ferment in reinerem Zustande enthält, losgelöst von anderen Ferment-Systemen der Zelle. Der nach E. Ohlsson<sup>10)</sup> hergestellte Extrakt koaguliert jedoch, wie der Autor schon angibt, sofort beim Schütteln. Es sind im Laufe dieser Untersuchung zahlreiche Versuche ausgeführt worden, durch Veränderung der Wasserstoff-Ionen-Konzentration, der Puffer-Konzentration und durch Zusatz von viscositäts-erhöhenden Mitteln, wie Gummi arabicum, die Schüttel-Empfindlichkeit des Extraktes zu verringern, doch vergebens. Sofort flockt die Lösung beim Schütteln aus, ohne daß nennenswerte Sauerstoff-Aufnahme erfolgen würde. Auch beim Durchperlen von Sauerstoff bilden sich alsbald weiße Fäden. Auf diesem Wege gelingt es daher nicht, festzustellen, ob die durch Phosphat ausgezogene Succino-Dehydrase Sauerstoff überhaupt nicht mehr als Wasserstoff-Acceptor zu verwenden vermag, oder ob nur das Ausflocken sie daran hindert. Zur Beantwortung der Frage werden daher indirekte Wege, wie zum Beispiel die genaue Untersuchung der Blausäure-Wirkung<sup>12)</sup>, eingeschlagen werden müssen.

<sup>11)</sup> A. Bach und D. Michlin, B. **60**, 827 [1927].

<sup>12)</sup> siehe darüber: Thunberg, l. c.<sup>2)</sup> und A. v. Szent-Györgyi, Biochem. Ztschr. **150**, 195 [1924].

Im Laufe dieser Arbeit wurden anschließend an die Nachprüfung des Fumarsäure-Äpfelsäure-Gleichgewichtes auch einige Versuche über die wasser-anlagernde Fähigkeit der Muskelfaser ausgeführt.

E. Friedmann und C. Maase<sup>13)</sup> geben an, daß Crotonsäure in Gegenwart von Leberbrei zu einem geringen Bruchteil in *l*- $\beta$ -Oxy-buttersäure übergeht, und H. D. Dakin<sup>8)</sup> isolierte nach Bebrütung von Glutaconsäure mit Muskel und Behandlung mit Acetylchlorid wenig  $\beta$ -Aceto-glutarsäure-anhydrid.

Aconitsäure, die deshalb gewählt wurde, weil sie durch Wasser-Anlagerung Citronensäure liefert hätte, die in Gegenwart von Muskelsubstanz schnell oxydiert wird (Thunberg, Battelli und Stern) blieb jedoch unverändert. Auch bei der Oleinsäure und ihrer *trans*-Form, der Elaidinsäure, waren mit frischer, unausgewaschener Muskulatur keine Anzeichen einer Wasser-Anlagerung zur *t*-Oxy-stearinsäure festzustellen.

### Beschreibung der Versuche.

Die verwendete Muskelsubstanz stammte meistens aus Pferdeherzen, die 1 Stde. nach der Schlachtung von Fett und Sehnen befreit, in Streifen zerschnitten, 3-mal durch eine Fleischhackmaschine getrieben wurden. Die zerkleinerte Faser wurde dann in großen Filterstutzen mit der 20-fachen Gewichtsmenge destillierten Wassers einige Minuten umgerührt und nach dem Absitzen vom Waschwasser durch Dekantieren getrennt. Das Waschen wurde noch 5-mal wiederholt, wobei zuletzt die Muskelfaser abzentrifugiert wurde. Ihr Gewicht hatte durch Wasser-Aufnahme um ungefähr 5 % zugenommen. In etwa  $\frac{3}{4}$  Stdn. konnte so bequem 1 kg einer nicht mehr atmenden Muskelfaser erhalten werden, die sich auf Zusatz von Natriumsuccinat als sehr wirksam erwies. Alle Ansätze wurden durch Zugabe von einigen Tropfen Toluol steril gehalten.

### Umsetzung von Natrium-succinat mit Methylenblau.

In einem Rundkolben wurden 300 g Muskel mit der Lösung von 2.72 g (=  $\frac{1}{100}$  Mol.) Natrium-succinat in 200 ccm  $m_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Puffer vermischt. Durch sofortiges, anhaltendes Evakuieren wurde die Mischung vom gelösten Sauerstoff befreit und unter Vakuum im Thermostaten bei 45° aufbewahrt, nachdem man durch einen Tropftrichter die Hälfte der Lösung von 3.75 g Methylenblau medicinale Merck ( $\frac{1}{100}$  Mol.) hatte zufließen lassen. Nach 1 Stde., als fast völlige Entfärbung eingetreten war, wurde die zweite Hälfte zugegeben. Nach weiteren 4 Stdn. war die Muskelsubstanz nur noch schwach kobaltblau gefärbt.

Der evakuierte Kolben wurde auf dem Wasserbade erhitzt, um die Muskelfaser unwirksam zu machen, dann mit Stickstoff das entstandene Kohlendioxyd in Barytlauge übergetrieben (0.036 g CO<sub>2</sub>) und der Kolbeninhalt durch kurzes Erwärmen auf dem siedenden Wasserbade koaguliert. Die Koagulation erfolgt in diesem Medium fast ebenso gut, wie nach Zusatz von Schwefelsäure. Die Fleischmasse wurde über Filterleinen abgenutscht und noch 8-mal mit 500 ccm dest. Wasser ausgekocht. Zur völligen Rückgewinnung der organischen Substanz erwies es sich als notwendig, durch längeres Umrühren der Muskelfaser das darauf festhaftende Leuko-Methylenblau durch den Luft-Sauerstoff sich oxydieren zu lassen, da sonst durch den Leuko-Farbstoff auch das Substrat zurückgehalten wird.

Die vereinigten Filtrate werden (nach Zusatz von Schwefelsäure, um das Schäumen zu verhindern) im Vakuum auf 50 ccm eingeengt (im Vakuum-

<sup>13)</sup> E. Friedmann und C. Maase, Biochem. Ztschr. 55, 450 [1913].

Destillat war keine flüchtige organische Säure nachzuweisen) und der dunkelblaue, dickflüssige Rückstand im Apparat mit Äther extrahiert.

Bei einigen Extraktionen störte eine starke Schaumbildung. In solchen Fällen mußte die gerade kongosaure, wäßrige Lösung zur Trockne eingedampft und der Rückstand, in welchem die schaumbildenden Eiweißstoffe größtenteils verblieben, erneut mit Wasser ausgezogen werden.

Die Äther-Extraktion wurde nach 1 Stde., zum zweiten Male nach 4 Std. unterbrochen. Aus dem ersten Extrakt wurden, außer sehr wenig Fumarsäure, 0.120 g Bernsteinsäure vom Schmp. 181–182° erhalten, der zweite (0.410 g) bestand fast ausschließlich aus Fumarsäure. Die Extraktion wurde nun weitere 24 Std. ausgeführt, wobei 0.570 g einer Rohsäure gewonnen wurden, die im Exsiccator teilweise krystallin erstarrte. Beim Aufnehmen mit wenig Wasser verblieb eine weitere kleine Menge Fumarsäure, die, mit der ersten Portion vereinigt und aus Wasser mehrfach umgelöst (unter 1-maliger Zugabe von Tierkohle), 0.390 g reiner Säure ergab. Diese schmolz im geschlossenen Röhrchen bei 283° unter den charakteristischen Erscheinungen.

3.576 mg Sbst.: 5.40 mg CO<sub>2</sub>, 1.14 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 41.37, H 3.47. Gef. C 41.18, H 3.57.

Die zerfließliche Säure war *l*-Äpfelsäure. Zu ihrer Identifizierung wurde sie in ätherischer Lösung mit Diazo-methan verestert und aus dem Ester mit Hydrazin-Hydrat das Dihydrazid hergestellt<sup>14)</sup>. Schmp. 177° (nach dem Umlösen aus Alkohol). Daraus wurde mit Benzaldehyd eine Dibenzylidenverbindung vom Schmp. 163° erhalten<sup>14)</sup>.

Beim beschriebenen Versuch wurden aus 1.18 g Bernsteinsäure im ganzen 0.390 g Fumarsäure (33%), 0.520 g *l*-Äpfelsäure (38%) und 0.036 g CO<sub>2</sub> erhalten. Zurückgewonnen 0.120 g Bernsteinsäure.

Ein gleicher Ansatz, bei welchem die ganze Menge Methylenblau sofort zugegeben wurde, war nach 4½ Std. entfärbt. Erhalten: 0.340 g Fumarsäure, 0.017 g CO<sub>2</sub>, 0.070 g Bernsteinsäure.

In einem Kontrollversuch mit einem anderen Teil der gleichen Muskelsubstanz und unter sonst gleichen Bedingungen, jedoch ohne Natriumsuccinat-Zusatz, war nach 30 Std. keine Entfärbung eingetreten.

Aus einem zweiten Kontrollversuche, dem kein Methylenblau zugesetzt war, konnte nach 8-stdg. Dauer nur Bernsteinsäure, keine Fumarsäure erhalten werden.

#### Hemmung der Ferment-Wirkung durch Leuko-Methylenblau.

100 g Muskel in 100 ccm  $m/_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> +  $1/_{100}$  Mol. Natriumsuccinat +  $1/_{300}$  Mol. Methylenblau bei 45°. Nach ungefähr 70 Min. trat fast völlige Entfärbung ein. Nachdem durch Zusatz von  $1/_{300}$  Mol. Natriumsuccinat die ursprüngliche Substrat-Konzentration hergestellt war, wurde nochmals  $1/_{300}$  Mol. Methylenblau zugegeben. Jetzt wurde aber nach 200 Min. noch keine Entfärbung erreicht.

#### Umsetzung von Natriumsuccinat mit Sauerstoff (ausgeführt von Karl Frage).

Zur Lösung von 27 g Natriumsuccinat ( $1/_{10}$  Mol.) in 500 ccm  $m/_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> wurden 250 g Muskelsubstanz zugegeben und im Schüttelkolben bei 37° unter Sauerstoff geschüttelt. Nach  $1\frac{1}{4}$  Stde. war die Hauptmenge Sauerstoff schon

<sup>14)</sup> H. Franzen, Ztschr. physiol. Chem. **115**, 30 [1921].

verbraucht, nach 2 Stdn. die Oxydation bei der berechneten Menge Gas (1120 ccm) praktisch zum Stillstand gekommen. Nach Zugabe von 57 ccm 4-n. Schwefelsäure und Erwärmen wurde die gebildete Kohlensäure in Barytlauge übergetrieben (0.097 g CO<sub>2</sub>), dann die durch kurzes Aufkochen koagulierte Fleischfaser abgenutscht und noch 10-mal mit je 500 ccm Wasser ausgekocht. Aus den vereinigten, im Vakuum auf 70 ccm eingeengten Filtraten wurden durch Äther-Extraktion 2.87 g reine Fumarsäure erhalten. (25%).

Die Trennung der Fumar- von der Äpfelsäure durch Zugabe von Silbernitrat zur wäßrigen Lösung der Säuren gelingt nur unvollständig. Es fällt das Silbersalz nur entsprechend 80% der vorhandenen Fumarsäure aus. Daher wurde auch bei diesem Versuch mit Äther fraktioniert ausgezogen und die Extrakte aus Wasser umgelöst, wodurch eine weitgehende Trennung gelingt. Die Äpfelsäure wurde wie beschrieben identifiziert.

#### Fumarsäure-Äpfelsäure-Gleichgewicht.

$\frac{4}{100}$  Mol. Natriumfumarat (4.64 g Säure) in 600 ccm Wasser + 500 ccm  $m/_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 250 g Muskelfaser wurden in einem sorgfältig evakuierten Kolben 21 Stdn. bei 37° belassen. Bei der beschriebenen Aufarbeitung wurden 0.068 g CO<sub>2</sub>, 1.15 g Fumarsäure (25%) und 2.95 g l-Äpfelsäure (55%) erhalten. Auf die zurückgewonnene Menge berechnet: 31% und 69%.

Der gleiche Ansatz mit  $\frac{4}{100}$  Mol. l-Äpfelsäure Merck lieferte 0.037 g CO<sub>2</sub>, 0.87 g Fumarsäure (19%) und 3.52 g Äpfelsäure (65%). Auf die zurückgewonnene Menge berechnet: 23% und 77%.

Bei einem Kontrollversuch ohne Säure-Zusatz wurden nur 0.002 g CO<sub>2</sub> erhalten.

Zwei entsprechende Versuche mit Muskelfaser, die 4 Tage im Eisschrank gestanden hatte, offenbar ohne genügenden Toluol-Zusatz, die jedoch noch unverdorben aussah und roch, lieferten wohl unter der Einwirkung von Fäulnis-Bakterien (höchstwahrscheinlich Leuchtbakterien) Bernsteinsäure und Essigsäure.

250 g Muskel +  $2/_{100}$  Mol. Natriumfumarat in 100 ccm Wasser + 500 ccm  $m/_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. 24 Stdn. im Vakuum bei 37°. Erhalten außer Fumarsäure und Äpfelsäure: 0.071 g CO<sub>2</sub>, 0.510 g Bernsteinsäure und 0.102 g Essigsäure. Die Essigsäure wurde mit Wasserdampf aus dem Äther-Extrakt übergetrieben, mit  $n/_{10}$ -KOH titriert und am Geruch, an der Kakodylreaktion und am charakteristischen Silbersalz erkannt.

Aus dem entsprechenden Ansatz mit Äpfelsäure wurden 0.062 g CO<sub>2</sub>, 0.470 g Bernsteinsäure und 0.156 g Essigsäure erhalten.

#### Versuche zur Spezifität der Fumarase. Citronensäure und Aconitsäure.

$\frac{3}{100}$  Mol. Kaliumcitrat (6.30 g Säure) in 500 ccm  $m/_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 250 g Muskelfaser wurden 20 Stdn. bei 37° im Vakuum belassen. Nach der üblichen Aufarbeitung konnte im ersten Anteil des Äther-Extraktes keine Aconitsäure festgestellt werden. Zurückerhalten 5.9 g Citronensäure.

Aus dem gleichen Ansatz mit  $\frac{3}{100}$  Mol. Aconitsäure (5.22 g) wurden 4.8 g zurückerhalten. Die üblichen Reaktionen auf Citronensäure fielen negativ aus.

#### Oleinsäure und Elaidinsäure.

$\frac{2}{100}$  Mol. ölsaures Kalium (5.64 g Säure) + 100 g unausgewaschene Muskelfaser (nur zerkleinert, 2 Stdn. nach der Schlachtung) + 200 ccm  $m/_{15}$ -Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> wurden im evakuierten Kolben 7 Stdn. bei 37° belassen. Mit Schwefelsäure mineralsauer gemacht, aufgekocht, der ganze Brei 4-mal mit

viel Äther ausgeschüttelt. Dann mit Soda aus der ätherischen Lösung die Säure entzogen (starke Emulsionsbildung), mit Schwefelsäure wieder in Freiheit gesetzt und in wenig Äther aufgenommen. Nach dem Trocknen und Verdampfen des Äthers erhalten 5.19 g Oleinsäure. Das Bleisalz war völlig äther-löslich. Behandlung mit Essigsäure-anhydrid und Bestimmung der Acetylzahl gab keinen Anhaltspunkt für das Vorhandensein von  $\iota$ -Oxy-stearinsäure.

Aus dem gleichen Ansatz mit Elaidinsäure wurden 4.9 g Säure zurück erhalten, die auch keine Oxy-stearinsäure enthielt. (Schmelzpunkt nach dem Umlösen aus Alkohol, Bestimmung der Acetylzahl.)

#### 400. Robert Schwarz und Hartmut Richter: Zur Kenntnis der Kieselsäuren. (IV. Mitteilung.)

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Freiburg i. B.]

(Eingegangen am 28. September 1927.)

In unserer letzten Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir an Hand von Dampfdruck-Isothermen und Röntgenogrammen den Nachweis für die Existenz zweier Hydrate des Siliciumdioxyds von der Zusammensetzung  $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Metakieselsäure) und  $2\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Di-kieselsäure) erbracht. Mit Hilfe der gleichen Untersuchungsmethoden haben wir jetzt weiterhin untersucht, ob noch andere Hydrate existieren, insbesondere, ob die schon von Tschermak<sup>2)</sup> behaupteten und auch von uns in den beiden ersten Mitteilungen beschriebenen Hydrate, nämlich die Granatsäure,  $3\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , und die Trisäure,  $3\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , als einheitliche chemische Individuen aufzufassen seien. Ferner traten wir an die ebenso interessante, wie schwierige Frage heran, ob auch die typischen Kieselsäure-Gallerten ein Siliciumdioxyd-Hydrat enthalten, und schließlich widmeten wir uns dem Studium der Alkalisilicat-Lösungen, um Aufschluß über Art und Zahl der Kieselsäure-Ionen zu erlangen.

##### 1. Zur Frage der Existenz der Granat- und Tri-kieselsäure.

Alkalisilicate von der diesen Hydraten entsprechenden Zusammensetzung existieren nach der Untersuchung von Morey und Bowen<sup>3)</sup> nicht, im Schmelzdiagramm  $\text{Na}_2\text{O} - \text{SiO}_2$  treten lediglich  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  und  $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$  als Verbindungen in Erscheinung. Wenn wir trotzdem bei unseren Untersuchungen Silicat-Schmelzen von der Zusammensetzung  $\text{Na}_4\text{Si}_3\text{O}_8$  und  $\text{Na}_2\text{Si}_3\text{O}_7$  zur Anwendung brachten, so geschah dies aus der Überlegung, daß es sich bei diesen Silikaten möglicherweise um nur bei tieferen Temperaturen existenzfähige Verbindungen handeln könne, die als verdeckte Maxima im Schmelzdiagramm nicht in Erscheinung zu treten vermögen. Schmelzen der genannten Zusammensetzung erstarrten aus dem Schmelzfluß als Gläser und können erst durch tagelanges Erhitzen auf etwa 500° zum Krystallisieren gebracht werden. Der Dünnschliff so entglaster Produkte zeigt die in typischer Weise

<sup>1)</sup> B. 60, 1111 [1927]. — Frühere Mitteilungen: B. 57, 1477 [1924], 58, 73 [1925].

<sup>2)</sup> Ztschr. physikal. Chem. 58, 349 [1905].

<sup>3)</sup> Journ. physical Chem. 28, 1167 [1924].