

# Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.

Unter Bethheiligung von **J. Barbieri** und **E. Bosshard** ausgeführt

von

**E. Schulze**<sup>1)</sup>.

(Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. September 1884.)

Die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säuren und durch Alkalien erhalten werden, sind schon von verschiedenen Forschern untersucht worden. Es kann nicht unsere Absicht sein, an dieser Stelle einen Ueberblick über die betreffenden Untersuchungen zu geben; aber wir müssen doch zwei derselben erwähnen, auf welche im Folgenden öfters Bezug genommen werden muss — die umfassenden Arbeiten nämlich, welche von Hlasiwetz und Habermann<sup>2)</sup> und von Schützenberger<sup>3)</sup> ausgeführt wurden. Die zuerst genannten Forscher zersetzten die Eiweisssubstanzen durch Erhitzen mit Salzsäure und Zinn-

1) Referat von E. Schulze.

2) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 169, S. 150, sowie auch Journal für praktische Chemie [2], Bd. 7, S. 397.

3) Die ausführlichste Abhandlung Schützenberger's findet sich in den Annales de chimie et de physique, 5. Serie, Bd. 16, S. 289. Andere Publikationen sind von ihm erfolgt in dem Bulletin de la Société chimique de Paris, N. S. Bd. 23, S. 161 und 216; Bd. 24, S. 2 und 145; Bd. 25, S. 147; einzelne Mittheilungen finden sich auch in den Comptes rendus. Diese Arbeiten sind wiedergegeben in dem Chemischen Centralblatt 1875, S. 614, 631, 648, 681 und 696; 1876 S. 280; 1877 S. 181.

chlorür; sie zeigten, dass Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin und Tyrosin die wesentlichen Bestandtheile des dabei erhaltenen Amidosäurengemenges sind. Die daraus abgeleitete Schlussfolgerung, dass nur diese vier Amidosäuren bei jener Zersetzung entstehen, konnte freilich insofern nicht als eine ganz sichere hingestellt werden, als es möglich ist, dass bei der durch wiederholtes Umkrystallisiren bewirkten Reinigung jener Produkte andere nur in geringer Menge vorhandene Amidosäuren in die Mutterlaugen übergangen und sich so der Beobachtung entzogen. Schützenberger zerlegte die Eiweissstoffe durch mehrtägiges Erhitzen mit Barytwasser in einem luftdicht verschlossenen Gefäss. Dabei erhält man nach seinen Angaben ausser Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin und Leucin auch noch Homologe des letzteren (Amidobuttersäure, Amidovaleriansäure u. s. w.), sowie Körper, welche sich von den Leucinen in der Zusammensetzung dadurch unterscheiden, dass sie wasserstoffärmer sind. Schützenberger bezeichnet diese letzteren Substanzen als Leuceine und hält es für wahrscheinlich, dass sie Amidosäuren der Acrylsäurereihe seien. In geringer Menge endlich traten noch zwei von Schützenberger als Glutaminsäure und Tyro-leucin bezeichnete Körper unter den Produkten der Zersetzung auf<sup>1)</sup>.

Was nun die Gründe betrifft, durch welche der Verfasser veranlasst wurde, sich mit diesem Gegenstande näher zu beschäftigen, so waren es an Keimpflanzen gemachte Beobachtungen, welche die erste Anregung dazu gaben. In einer Arbeit, welche der Verfasser in Verbindung mit J. Barbieri

1) Schützenberger hat für die Abscheidung der Asparaginsäure, Glutaminsäure, und Glutaminsäure die Fällbarkeit derselben durch salpetersaures Quecksilberoxyd benutzt; die Glieder der Leucinreihe und die Leuceine hat er durch fraktionirte Krystallisation aus verdünntem Wein-geist zu trennen gesucht. Die so gewonnenen Produkte, welche sämmtlich der Elementaranalyse unterworfen wurden, erklärt er theils für chemisch einfache Substanzen, theils für Gemenge (oder lockere Verbindungen im Aequivalentverhältnisse); welche Gemengtheile darin vorhanden waren, sucht er aus den Ergebnissen der Elementaranalyse abzuleiten.



ausführte<sup>1)</sup>, wurde nachgewiesen, dass in Lupinenkeimlingen eine Phenylamidopropionsäure enthalten ist. Da dieselbe höchstwahrscheinlich während der Keimung durch Zerfall von Eiweissstoffen entsteht, so erschien es wünschenswerth zu prüfen, ob sie sich auch unter den Produkten vorfindet, welche bei der Zersetzung von Eiweissstoffen durch Säuren oder durch Barytwasser entstehen. Man hätte ja allerdings meinen können, dass diese Frage schon entschieden sei; denn keiner von denjenigen Forschern, welche sich früher mit Untersuchung des bei der Eiweisszersetzung entstehenden Stoffgemenges beschäftigt haben, erwähnt das Vorhandensein eines derartigen Körpers. Da aber die Zergliederung jenes Gemenges beträchtliche Schwierigkeiten darbietet und da insbesondere Bestandtheile, welche darin nur in geringer Menge enthalten sind, sich leicht der Beobachtung entziehen können, so erschien es sehr wohl möglich, dass in demselben Phenylamidopropionsäure zwar vorhanden, aber früher übersehen worden sei. Eine solche Annahme konnte um so weniger für unwahrscheinlich erklärt werden, als auch einige schon länger bekannte Thatsachen dafür sprachen, dass in jenem Stoffgemenge eine zu den Monosubstitutionsprodukten des Benzols gehörende Amidosäure sich vorfindet — worauf F. Tiemann<sup>2)</sup> schon vor einigen Jahren aufmerksam gemacht hat.

Nachdem der Nachweis der Phenylamidopropionsäure geglückt war<sup>3)</sup>, drängte sich noch die Frage auf, ob das Amidosäurengemenge, welches bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Barytwasser entsteht, von dem bei Einwirkung von Säuren gebildeten wirklich eine so beträchtliche Verschiedenheit zeigt, wie nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen angenommen werden müsste. Um diese Frage, deren Entscheidung für die Erkenntniss der Constitution der Eiweiss-

1) Berliner Berichte, Bd. 14, S. 1785, sowie Journal für praktische Chemie, [2], Bd. 27, S. 337.

2) Berliner Berichte, Bd. 13, S. 385.

3) Eine kurze Mittheilung darüber ist schon in den Berliner Berichten Bd. 16, S. 1711 erfolgt.

körper ohne Zweifel von Wichtigkeit ist, einer Lösung näher zu bringen, haben wir die gleiche Eiweisssubstanz, sowohl durch Salzsäure, als auch durch Barytwasser zerlegt und die dabei erhaltenen Amidosäuren-Gemenge möglichst eingehend untersucht. Eine vollständige Zergliederung dieser Gemenge ist uns freilich nicht gelungen und es will uns auch fast scheinen, als ob die verfügbaren Mittel dafür nicht hinreichen; wir haben also die obige Frage nicht völlig zu lösen vermocht. Immerhin können wohl die dabei gewonnenen Resultate einiges Interesse beanspruchen.

Das Ausgangsmaterial für unsere Untersuchungen bildeten hauptsächlich zwei vegetabilische Eiweisssubstanzen, dargestellt aus den Kürbiskernen und aus den Samen der gelben Lupine; doch wurde für einige Versuche auch Casein verwendet. Die Eiweisssubstanz der Kürbiskerne ist vor einigen Jahren von J. Barbieri<sup>1)</sup>, später von G. Grübler<sup>2)</sup> untersucht worden; dem Letzteren gelang es sie in den krystallinischen Zustand überzuführen. Die Eiweisssubstanz der Lupinen ist bekanntlich von Ritthausen, welcher sie zuerst untersuchte, mit dem Namen Conglutin belegt worden<sup>3)</sup>; wir wollen diese Bezeichnung im Folgenden beibehalten. Beide Substanzen sind nach der von Hoppe-Seyler gegebenen Eintheilung der Eiweisssubstanzen zu den Globulinen zu rechnen.

Bei der Darstellung des Conglutins befolgten wir im Wesentlichen die von Ritthausen gegebene Vorschrift<sup>4)</sup>. Die fein gepulverten Lupinensamen wurden mit kalihaltigem Wasser extrahirt, die durch Abhebern vom Ungelösten ge-

<sup>1)</sup> Journal für praktische Chemie, [2], Bd. 18, S. 102.

<sup>2)</sup> Ebendasselbst, Bd. 23, S. 97.

<sup>3)</sup> Nach den neuesten Untersuchungen Ritthausen's (Journal für praktische Chemie, [2], Bd. 26, S. 422) ist die aus Lupinensamen darstellbare Eiweisssubstanz ein Gemenge von Conglutin mit etwas Legumin; für die Zwecke, welche wir bei dieser Untersuchung verfolgten, ist dieser Umstand nicht von Belang.

<sup>4)</sup> Ritthausen: Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte, etc., S. 189.



trennten Extrakte vorsichtig mit Essigsäure (bei späterer Darstellung mit verdünnter Salzsäure) versetzt, bis das Conglutin sich in Form eines flockigen Niederschlages ausschied. Derselbe wurde durch Decantiren mit Wasser ausgewaschen, darauf in sehr verdünnter Kalilauge gelöst und aus der durch ein Seihtuch filtrirten Lösung durch Säure wieder ausgefällt, der so erhaltene Niederschlag successive mit Wasser, verdünntem Weingeist, starkem Weingeist und Aether ausgewaschen, schliesslich im Trockenschrank bei gelinder Wärme getrocknet.

Nicht die Gesamtmenge des für unsere Versuche verwendeten Conglutins wurde von uns selbst dargestellt; ein Quantum von 700 gr. (gleichfalls nach Ritthausen's Methode dargestellt) bezogen wir von G. Grübler in Leipzig.

Die Eiweisssubstanz der Kürbissamen stellten wir in folgender Weise dar: Die grob zerkleinerten Kürbissamen wurden mit Petroläther macerirt; während in letzterem das Fett sich löste, fielen die Proteinkörner, welche neben dem Fett den Hauptbestandtheil der Kerne bilden, zum grössten Theile aus den Zellen heraus und sammelten sich am Boden des Extraktionsgefässes als weisse pulverige Schicht an, natürlich gemengt mit den Samenschalen. Von letztern lassen sie sich ziemlich vollständig trennen, wenn man sie mittelst des Petroläthers durch ein Sieb hindurchspült. Die so erhaltene Masse wurde durch nochmaliges Behandeln mit Petroläther, zuletzt mit gewöhnlichem Aether von Fett befreit, sodann mit sehr verdünnter Kalilauge behandelt. Der geklärten und vom Bodensatz abgeheberten Lösung fügten wir Essigsäure in kleinen Antheilen zu; die Eiweisssubstanz schied sich in Form eines flockigen Niederschlages aus. Derselbe wurde zuerst durch Decantation mit Wasser ausgewaschen, sodann successive mit verdünntem Weingeist, starkem Weingeist und Aether behandelt, schliesslich bei gelinder Wärme getrocknet.

Das Kürbisglobulin unterwarfen wir nur der Zersetzung mittelst Salzsäure; vom Conglutin haben wir eine Portion durch Salzsäure, eine andere durch Barytwasser zersetzt.

In Betreff der in dieser Arbeit mitgetheilten Elementar-Analysen<sup>1)</sup> ist Folgendes im Voraus zu bemerken: für die C- und H-Bestimmung wurden die Substanzen mit Kupferoxyd unter Vorlegung von metallischem Kupfer oder metallischem Silber verbrannt. Alle Verbrennungen wurden im Sauerstoffstromen vollendet.

Die Stickstoffbestimmungen wurden sämmtlich nach der Kjeldahl'schen Methode<sup>2)</sup> ausgeführt. Dem günstigen Urtheile, welches über dies Verfahren von anderer Seite gefällt worden ist, können auch wir beistimmen. Controlversuche mit Asparagin und Asparaginsäure lieferten folgende Zahlen:

	N-Gehalt	
	berechnet:	gefunden:
Asparagin ( $C^4H^8N^2O^3 + aq$ ) . . .	18,670%	18,650%
do. . . . .	18,67 «	18,53 «
Asparaginsäure ( $C^4H^7NO^4$ ) . . .	10,53 «	10,43 «

Dass die Methode speciell zur Bestimmung des Stickstoffgehalts der Amidosäuren höchst geeignet ist, dürfte auch wohl aus den in dieser Abhandlung später mitgetheilten Versuchsergebnissen zu schliessen sein.

Bei Ausführung der betreffenden Bestimmungen wurde das Ammoniak aus der bei Behandlung der Amidosäuren mit Schwefelsäure u. s. w. erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit durch Destillation mit Natronlauge ausgetrieben und in verdünnter Schwefelsäure von bekannter Stärke aufgefangen, letztere sodann mit Barytwasser zurücktitriert. Bei Mittheilung der Resultate haben wir im Folgenden stets die Cubiccentimeter Barytwasser angegeben, welche den durch das Ammoniak neutralisirten Schwefelsäure-Mengen entsprechen. Es kamen im Laufe der Untersuchung drei verschiedene Barytlösungen zur Verwendung; dieselben sind mit a, b und c bezeichnet und hatten folgende Titer:

Barytwasser a:	1 ccm.	= 0,003998	gr. N
«	b: 1 «	= 0,003922	« «
«	c: 1 «	= 0,004055	« «

1) Dieselben wurden theils von J. Barbieri, theils von E. Bossard ausgeführt.

2) Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 22, S. 366.



Alle für die Elementar-Analysen verwendeten Substanzproben sind, falls nicht etwas anderes bemerkt worden ist, im Luftbade bei 100° ausgetrocknet worden.

### I. Zersetzung der aus Kürbissamen dargestellten Eiweiss- substanz durch Salzsäure.

Wir führten die Zersetzung nach den von Hlasiwetz und Habermann gegebenen Vorschriften aus<sup>1)</sup>; 100 Gewichtstheile Eiweisssubstanz wurden mit 75 Gewichtstheilen Zinnchlorür, 200 Volumtheilen concentr. Salzsäure und 200 Volumtheilen Wasser drei bis vier Tage lang am Rückflusskühler erhitzt<sup>2)</sup>. Nach dem Erkalten verdünnten wir die Flüssigkeit mit Wasser, fällten das Zinn durch Schwefelwasserstoff aus und dunsteten die vom Schwefelzinn ablaufende Lösung bis zum Syrup ein. Denjenigen Theil der Salzsäure, welcher nicht schon während des Eindampfens entwichen war, entfernten wir im ersten Versuche ausschliesslich durch Eintragen von feuchtem Silberoxyd in die zuvor durch Wasser verdünnte Flüssigkeit; in den späteren Versuchen, in denen grössere Eiweissquantitäten verarbeitet wurden, führten wir den grössten Theil der nach dem Eindünsten noch in der Flüssigkeit vorhandenen Salzsäure in die Bleiverbindung über<sup>3)</sup>; die vom Chlorblei abfiltrirte Lösung behandelten wir mit Schwefelwasserstoff und trugen dann so lange Silberoxyd in dieselbe ein, bis die Salzsäure bis auf einen geringen Rest entfernt war<sup>4)</sup>.

1) Nach J. Horbaczewski (Chem. Centralblatt 1879, S. 778) kann man die Zinnchlorürmenge sehr verringern, ohne dass die Resultate sich ändern.

2) Das Erhitzen wurde in den ersten Versuchen in einem Glaskolben, später in einem innen emaillirten eisernen Gefässe ausgeführt. Das letztere hatte die Form eines tiefen Kesselchens. Es war mit einem dicht schliessenden Deckel versehen; in demselben befand sich ein Tubulus, in welchem das eine Ende eines Liebig'schen Kühlers eingefügt wurde.

3) Durch Zusatz von Bleiacetat oder durch Eintragen von Bleioxydhydrat.

4) Die bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure erhaltene Flüssigkeit enthält auch Chlorammonium. Trägt man Silberoxyd in

Die Resultate unseres ersten Versuchs, für welchen nur 120 gr. Eiweisssubstanz verwendet wurden, haben wir schon in einer früheren Abhandlung<sup>1)</sup> mitgetheilt; wir rekapituliren dieselben aber an dieser Stelle, weil sie eine Ergänzung zu den später ausgeführten Arbeiten bilden — weil die betreffenden Mittheilungen ferner Aufschlüsse über den Gang geben, welchen wir bei Zerlegung des Amidosäuregemenges einhielten (welcher Gang übrigens den von Hlasiwetz und Habermann gegebenen bewährten Vorschriften entspricht<sup>2)</sup>).

Nachdem die Zersetzungsflüssigkeit durch Silberoxyd von der Salzsäure befreit worden war, dunsteten wir dieselbe stark ein; beim Erkalten krystallisirte Tyrosin zum allergrössten Theile<sup>3)</sup> aus (leicht zu erkennen an seinem Aussehen und an seinen Reaktionen).

Die davon abfiltrirte Flüssigkeit dunsteten wir ein, bis auf der Oberfläche eine Haut sich bildete; sie lieferte nun beim Erkalten in reichlicher Menge eine Ausscheidung, welche hauptsächlich aus Leucin bestand<sup>4)</sup>. Die übrig bleibende Mutterlauge wurde mit Kupferoxydhydrat gesättigt und sodann nach und nach mit Bleiessig zersetzt; es entstand ein Niederschlag, welcher, wie die nähere Untersuchung zeigte, hauptsächlich asparaginsaures Blei enthielt, daneben aber auch etwas glutaminsaures Blei einschloss<sup>5)</sup>. Die davon abgelaufene Flüssigkeit behandelten wir mit Schwefelwasser-

---

Ueberschuss ein, so entsteht in der Flüssigkeit freies Ammoniak; letzteres löst Chlorsilber auf. Es ist daher zweckmässig, Silberoxyd nur so lange zuzusetzen, bis die Flüssigkeit aufhört, sauer zu reagiren.

1) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 20, S. 410.

2) Nur insofern verfahren wir in diesem Falle anders, als wir nicht vor Entfernung der Salzsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit salzsaure Glutaminsäure zur Abscheidung brachten.

3) Eine geringe Menge von Tyrosin findet sich aber noch in den später erfolgenden hauptsächlich aus Leucin bestehenden Krystallisationen — selbst noch in denen, welche man aus letzten Mutterlaugen erhält.

4) Das Rohprodukt schliesst verschiedene Beimengungen ein und weicht in Folge davon in seinem Aussehen vom reinen Leucin beträchtlich ab; es bildet eine krümliche, nicht deutlich krystallinische Masse.

5) Die Identificirung der beiden Säuren geschah durch Untersuchung der Kupfersalze, sowie durch N-Bestimmungen.



stoff und dunsteten sie sodann weiter ein; beim Stehen erfolgte eine der Menge nach nicht sehr beträchtliche Ausscheidung, welche vermuthlich grösstentheils noch aus Leucin bestand. In die davon abfiltrirte Mutterlauge trugen wir in der Hitze Baryumcarbonat im Ueberschuss ein; dann filtrirten wir, dunsteten das Filtrat auf ein geringes Volumen ein und versetzten mit Weingeist; es entstand eine syrupartige Ausscheidung, welche glutaminsaures Baryum enthielt. Sie wurde in Wasser gelöst, das Baryum mittelst Schwefelsäure ausgefällt, die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit bis zum dünnen Syrup eingedunstet; da dieser Syrup auch bei längerem Stehen nur wenig Glutaminsäurekrystalle lieferte (wahrscheinlich deshalb, weil diese Säure durch Beimengungen am Auskrystallisiren verhindert wurde<sup>1)</sup>), so verdünnten wir sie mit Wasser, sättigten die Flüssigkeit mit Kupferoxydhydrat und setzten darauf Silbernitrat zu. Der nach einiger Zeit sich abscheidende Niederschlag lieferte, entsprechend den von Illasiwetz und Habermann gemachten Angaben, bei der Zerlegung durch Schwefelwasserstoff fast reine Glutaminsäure.

Die weingeistige Flüssigkeit, welche von dem durch Weingeist ausgefallten glutaminsauren Baryum abgegossen war, lieferte beim Verdunsten Krusten, welche das Aussehen des Rohleucins besaßen, aber neben Leucin noch andere Amidosäuren einschlossen (wie sich aus den späteren Untersuchungen ergab). Schliesslich blieb eine ziemlich dickflüssige Mutterlauge übrig, welche bei langsamen Verdunsten sich in eine halbfeste, breiartige Masse verwandelte.

In der beschriebenen Weise erhielten wir aus dem Kürbisglobulin Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure und Glutaminsäure. Der Hauptzweck unserer späteren Versuche war die Entschlei-

<sup>1)</sup> Es würde richtiger gewesen sein, die Flüssigkeit vor dem Ausfällen des glutaminsauren Baryums eine Zeitlang mit Barytwasser zu kochen und dadurch das vorhandene Ammoniak auszutreiben (was wir bei einer späteren Darstellung auch gethan haben). Geschieht dies nicht, so fällt höchstwahrscheinlich nach Zusatz von Weingeist auch glutaminsaures Ammonium aus; dieses Salz erschwert dann vermuthlich das Auskrystallisiren der Glutaminsäure.

ding der Frage, ob unter den Zersetzungsprodukten neben den genannten vier Amidosäuren auch Phenylamidopropionsäure vorhanden sei. Fand sie sich vor, so musste bei Oxydation des Amidosäuregemenges Benzoesäure erhalten werden. Dies war in der That der Fall. Als wir eine Probe der letzten leucinhaltigen Krystallisation (welche erst erhalten wurde, nachdem die Glutaminsäure als Baryumsalz durch Weingeist ausgefällt worden war) einige Stunden lang am Rückflusskühler mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure erhitzen (wobei der Geruch des Benzaldehyds auftrat) und die Flüssigkeit sodann erkalten liessen, schied sich aus derselben ein im Aussehen und Verhalten mit Benzoesäure übereinstimmende Substanz aus. Sie krystallisirte in kleinen, in Wasser schwer löslichen Blättchen und Nadeln, schmolz im Capillarröhrchen bei  $121^{\circ}$  <sup>1)</sup> und sublimirte bei stärkerem Erhitzen; beim Eindampfen der wässerigen Lösung trat der eigenthümliche Geruch der Benzoesäure auf.

Das Auftreten dieser Säure in dem beschriebenen Versuch berechtigte zu der Schlussfolgerung, dass in dem bei Zersetzung des Kürbisglobulins entstandenen Stoffgemenge neben den früher genannten vier Amidosäuren noch eine andere, bisher nicht aufgefundene vorhanden sei; denn keine der ersteren gibt bei der Oxydation Benzoesäure <sup>2)</sup>.

Da von vornherein anzunehmen war, dass die Isolirung der Benzoesäure liefernden Substanz nur gelingen konnte, wenn grössere Quantitäten der Eiweisszersetzungserzeugnisse in Arbeit genommen wurden, so war es unsere nächste Aufgabe, solche zu beschaffen. Wir haben daher ein Quantum von ca. 2 kg. der aus den Kürbissamen dargestellten Eiweiss-substanz <sup>3)</sup> der Zersetzung durch Salzsäure unter Zinnchlorür-zusatz unterworfen. Die Zersetzungsfüssigkeit verarbeiteten

1) Den gleichen Schmelzpunkt zeigte bei Anwendung des gleichen Thermometers ein Benzoesäure-Präparat unserer Sammlung.

2) Dass bei der Oxydation des Tyrosins durch Chromsäure-Gemisch keine Benzoesäure entsteht, haben auch wir noch durch einen Versuch constatirt.

3) Die mühsame Darstellung desselben führte J. Barbieri aus.



wir in der früher beschriebenen Weise. Nach Entfernung der Salzsäure krystallisirte zunächst das Tyrosin aus; dann folgten Krystallisationen, welche hauptsächlich aus Leucin bestanden. Wir sammelten diese Krystallisationen, welche wir im Folgenden der Kürze halber als Roh-Leucin bezeichnen wollen, nach einander in drei verschiedenen Portionen auf. Die letzte dieser Portionen bestand hauptsächlich aus denjenigen Ausscheidungen, welche erst nach Entfernung der Glutamin- und Asparaginsäure aus der Flüssigkeit<sup>1)</sup> erhalten wurden.

Proben dieser drei Portionen wurden nun zunächst der Oxydation mittelst Chromsäuremischung unterworfen. Aus der ersten Portion erhielten wir keine Benzoesäure<sup>2)</sup>, wohl aber aus der zweiten, mehr noch aus der dritten Portion.

Obwohl für die Identificirung der Benzoesäure die früher aufgeführten Merkmale wohl schon hinreichen, so haben wir doch nach Gewinnung einer etwas grösseren Quantität der betreffenden Säure es für wünschenswerth gehalten, auch einige Salze derselben zu untersuchen. Das Baryumsalz krystallisirte in Tafeln und Blättern, welche in Wasser ziemlich schwer löslich waren. In dem zuerst über Schwefelsäure, dann bei 100–110° getrockneten Salz wurde der Baryumgehalt bestimmt:

a) 0,5035 gr. Substanz gaben 0,3065 gr. Ba SO<sub>4</sub>

b) 0,3525 gr. Substanz gaben 0,2155 gr. Ba SO<sub>4</sub>

	Berechnet für	Gefunden:	
	(C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> ) <sup>2</sup> Ba	a.	b.
Ba	36,15 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	35,79 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	35,94 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>

Um das Silbersalz darzustellen, wurde eine mit Ammoniak neutralisirte Lösung der Säure mit Silbernitrat versetzt. Es schied sich ein weisser Niederschlag aus, welcher in viel heissem Wasser sich auflöste; die Lösung lieferte beim Erkalten feine

<sup>1)</sup> Diese Säuren wurden als Baryumsalze durch Weingeist aus der zwar stark concentrirten Flüssigkeit ausgefällt.

<sup>2)</sup> Während der Oxydation machte sich zwar der Geruch des Benzaldehyds bemerklich; aus der Flüssigkeit krystallisirte aber nach dem Erkalten keine Benzoesäure aus; es war vermuthlich nur eine sehr geringe Menge davon entstanden.

lange Blättchen, welche im Aussehen mit benzoesaurem Silber vollkommen übereinstimmten. Eine Silberbestimmung gab folgendes Resultate:

0,2150 gr. zuerst über Schwefelsäure, dann im Luftbade in gelinder Wärme getrocknete Substanz gaben 0,1015 gr. = 47,21% Ag (die Theorie verlangt 47,16% Ag<sup>1</sup>).

Mit Eisenchlorid gab die neutralisirte Lösung der Säure einen röthlichen Niederschlag.

Diese Versuchsergebnisse bestätigen noch die aus den früher mitgetheilten Beobachtungen abgeleitete Schlussfolgerung, dass die bei der Oxydation des Amidosäurengemenges erhaltene Substanz Benzoessäure war.

Wie früher erwähnt wurde, lieferte die dritte Portion des Rohleucins die relativ grösste Benzoessäuremenge; diese Portion war es also, in der wir vorzugsweise nach Phenylamidopropionsäure zu suchen hatten. Ueber den Weg, welchen wir dabei einschlugen, ist Folgendes zu bemerken: Bei Untersuchung der aus Lupinenkeimlingen abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure hatten wir gefunden, dass dieselbe ein durch Schwerlöslichkeit ausgezeichnetes Kupfersalz gibt. Dasselbe scheidet sich sofort aus, wenn man eine heisse, wässrige Lösung der Säure mit Kupferoxydhydrat sättigt oder derselben Kupferacetat zufügt. Durch Uebertührung in diese Verbindung konnten wir die genannte Säure von der neben ihr in den Lupinenkeimlingen vorkommenden Amidovaleriansäure trennen. Es war zu versuchen, ob sie sich nicht in gleicher Weise auch vom Leucin trennen liess. Allerdings verhält sich reines Leucin gegen Kupferoxydhydrat und Kupferacetat fast ebenso, wie es oben für die Phenylamidopropionsäure angegeben worden ist; sättigt man aber eine unreine, noch andere Amidosäuren etc. enthaltende Leucinlösung mit Kupferoxydhydrat oder setzt ihr Kupferacetat zu,

<sup>1</sup>) Nach Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 6, S. 35 schliesst das beim Glühen von benzoesaurem Silber zurückbleibende Silber häufig Kohle ein. Das im obigen Versuch erhaltene metallische Silber löste sich jedoch in Salpetersäure ohne Hinterlassung eines kohligen Rückstandes.



so erfolgt die Ausscheidung des Leucinkupfers langsam, häufig erst beim Eindampfen, aus stark verunreinigten Lösungen auch wohl gar nicht<sup>1)</sup>). Die Ausscheidung der Kupferverbindung der Phenylamidopropionsäure schien durch Beimengungen weniger stark beeinflusst zu werden als diejenige des Leucinkupfers. Man durfte daher hoffen, dass bei fraktionirter Ausfällung einer sowohl Leucin wie Phenylamidopropionsäure enthaltenden Lösung die letztere vorzugsweise in die ersten Fraktionen des Niederschlags eingehen und sich so nach und nach vom Leucin trennen lassen werde.

Ein solches Resultat konnte insbesondere dann erwartet werden, wenn in der betreffenden Lösung auch noch geringe Mengen anderer Substanzen sich vorfanden, deren Gegenwart die Ausscheidung des Leucinkupfers verlangsamte.

Dies im Vorigen skizzirte Verfahren brachten wir in folgender Weise zur Ausführung: Die dritte Portion des Rohleucins wurde, nachdem sie unter möglichster Vermeidung von Verlusten durch einmaliges Umkrystallisiren aus Wasser gereinigt worden war<sup>2)</sup>, in heissem Wasser gelöst; in die Lösung wurde so viel Kupferoxydhydrat eingetragen,

1) Das Verhalten der Kupferverbindungen der Amidosäuren ist früher schon von Hofmeister (Annalen der Chemie, Bd. 189, S. 6) beschrieben worden. Diese Kupferverbindungen scheinen sich bis zu einem gewissen Grade gegenseitig in Lösung halten zu können.

Wenn man die Mutterlauge, welche bei Verarbeitung des aus den Eiweisssubstanzen gewonnenen Stoffgemenges nach dem Auskrystallisiren des Tyrosins und eines Theils des Leucins übrig bleibt, mit Kupferoxydhydrat sättigt, so scheidet sich gar nichts aus. Erst in dem Masse, als man die darin enthaltenen Produkte von einander trennt, werden dieselben fällbar durch Kupferoxydhydrat.

Die Ausfällung des Leucins durch Kupferacetat wird durch Beimengungen länger verhindert, als die Ausfällung durch (in die Lösung eingetragenes) Kupferoxydhydrat.

2) Die von der ersten Ausscheidung abfiltrirte Mutterlauge wurde weiter eingedunstet, das beim Stehen sich Ausscheidende wieder gewonnen, die Mutterlauge weiter verarbeitet. Die verschiedenen, nach einander erhaltenen Ausscheidungen wurden auf Zeugfiltern abfiltrirt, mit verdünntem Weingeist gewaschen, mit Hilfe einer kleinen Presse zwischen Fliesspapier stark abgepresst, dann vereinigt. Sie bildeten eine nur noch

dass sie fast damit gesättigt war. Schon in der Wärme, reichlicher beim Erkalten, schieden sich Kupferverbindungen aus, welche abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und sodann mittelst Schwefelwasserstoff zerlegt wurden. Nachdem constatirt worden war, dass die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Amidosäurenlösung mit Kupferacetat einen reichlichen Niederschlag gab<sup>1)</sup>, unterwarfen wir sie einer fractionirten Fällung mit dem genannten Reagens; jeder der so erhaltenen Niederschläge wurde für sich abfiltrirt und sodann mittelst Schwefelwasserstoff zerlegt. Die in der erwähnten Lösung vorhandene Substanz wurde auf solche Weise in vier Portionen zerlegt, von denen wir zunächst die beiden ersten (aus den zuerst erhaltenen Kupferniederschlägen stammend) weiter verarbeiteten. Portion II wurde in Wasser gelöst und die Lösung nur mit so viel Kupferacetat versetzt, dass ungefähr  $\frac{1}{3}$  der gelösten Substanz ausgefällt wurde. Der Niederschlag wurde zerlegt, die daraus gewonnene Amidosäure mit Portion I vereinigt. Das Gemenge unterwarfen wir nun einer wiederholten fraktionirten Fällung mit Kupferacetat in der Weise, dass stets die zuerst erhaltenen Niederschläge weiter verarbeitet wurden.

So gelang es schliesslich, natürlich unter starker Verringerung des in Arbeit genommenen Materials, eine Substanz zu gewinnen, welche in ihren Eigenschaften mit der aus Lupinenkeimlingen abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure übereinstimmte.

Ehe wir die zur Identificirung derselben ausgeführten Versuche beschreiben, wollen wir über das zu ihrer Abscheidung aus dem Rohleucin benutzte Verfahren noch einige Bemerkungen machen. Ohne Zweifel lässt dieses Verfahren viel zu wünschen übrig. Es bedingt, wie jede andere auf dem Prinzip der fraktionirten Fällung beruhende Methode,

schwach gelb gefärbte, leicht zerreibliche Masse, welche dem unbewaffneten Auge als unkrystallinisch erschien.

1) Wäre dies nicht der Fall gewesen, so würden wir die Substanz in Wasser gelöst und durch Eintragen von Kupferoxydhydrat noch einmal ausgefällt haben.



grossen Substanzverlust und scheint nicht immer sicher zum Ziel zu führen — wenigstens haben wir nach demselben in einigen später zu beschreibenden Fällen aus dem bei Zersetzung der Eiweissstoffe erhaltenen Stoffgemenge die Phenylamidopropionsäure nicht zu isoliren vermocht. Vermuthlich ist ein gutes Resultat nur dann zu erzielen, wenn das in Arbeit genommene Material nicht zu arm an Phenylamidopropionsäure ist.

Versuche, welche behufs Auffindung eines besseren Verfahrens unternommen wurden, zeigten, dass die Phenylamidopropionsäure durch salpetersaures Quecksilberoxyd fällbar ist. Da reines Leucin mit letzterem Reagens keinen Niederschlag gibt, so schien darin ein Mittel zur Trennung der beiden Amidosäuren gefunden zu sein. Es zeigte sich aber, dass die Ausfällung der Phenylamidopropionsäure durch das Vorhandensein von Leucin erschwert wird. In einer Lösung, welche neben der ersteren Amidosäure viel Leucin enthält, bringt salpetersaures Quecksilberoxyd zunächst gar keinen Niederschlag hervor; erst nach Verlauf einiger Zeit beginnt ein solcher sich langsam auszuschcheiden. Es war daher zu erwarten, dass man die Phenylamidopropionsäure durch Ausfällen mit dem genannten Reagens nur würde gewinnen können, wenn man den Niederschlag erst nach längerem Stehen abfiltrirt, und dass die Ausscheidung unter Umständen eine unvollständige sein werde.

Um dieses Verfahren auf seine Brauchbarkeit zu prüfen, verwendeten wir — da uns kein anderes Material zur Verfügung stand — die bei Verarbeitung der dritten Portion des Rohleucins auf Phenylamidopropionsäure übrig gebliebenen Substanzen, welche neben Leucin noch etwas Phenylamidopropionsäure enthalten mussten. Wir lösten dieselben in Wasser, fügten der Lösung salpetersaures Quecksilberoxyd zu, filtrirten den dadurch hervorgebrachten Niederschlag nach mehrlägigem Stehen ab und zersetzten ihn durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit wurde nach Zusatz von etwas Ammoniak im Wasserbade zur Trockene verdunstet, der Rückstand mit kaltem

Alkohol extrahirt. Das ungelöst Gebliebene schien Phenylamidopropionsäure, daneben aber auch Leucin zu enthalten und war ohne Zweifel ein Gemenge verschiedener Substanzen. Wir lösten es in Wasser, sättigten die Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es schied sich eine Kupferverbindung ab, welche abfiltrirt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde; der vom Schwefelkupfer abfiltrirten Lösung fügten wir Kupferacetat zu, filtrirten den so erhaltenen Niederschlag wieder ab, zersetzten ihn durch Schwefelwasserstoff und führten die so erhaltene Amidosäure schliesslich zur Reinigung noch mehrmals in das Kupfersalz über. Die daraus wieder abgeschiedene Amidosäure, welche in kleinen Blättchen krystallisirte und beim Erhitzen im Proberohr das weiter unten geschilderte Verhalten der Phenylamidopropionsäure zeigte, wurde zu einer Elementaranalyse verwendet; es wurde ein Gehalt von 63,40% C und 7,52% H gefunden<sup>1)</sup>. Dies entspricht der Annahme, dass die analysirte Substanz ein Gemenge von 80 Theilen Phenylamidopropionsäure und 20 Theilen Leucin war<sup>2)</sup>.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen darf man wohl schliessen, dass es leicht ist, nach dem angegebenen Verfahren (durch Ausfällung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd u. s. w.) aus dem Rohleucin Präparate zu gewinnen, welche reich an Phenylamidopropionsäure sind; zur Trennung dieser Säure von den anderen in den Quecksilberniederschlag eingegangenen Amidosäuren<sup>3)</sup> müsste dann wohl wieder die fraktionirte Fällung mit Kupferacetat angewendet werden. Es dürfte sich vielleicht empfehlen, die durch Ueberführung in das Kupfersalz schon gereinigte Säure zur Trennung vom Leucin schliesslich noch einmal durch salpetersaures Queck-

1) 0,1886 gr. Substanz gaben 0,4384 gr. CO<sup>2</sup> und 0,1277 gr. H<sup>2</sup>O. Die Substanz enthielt eine geringe Aschenmenge (0,8%), welche in Abzug gebracht worden ist.

2) Ein solches Gemenge enthält 63,3% C und 7,3% H.

3) In den Quecksilberniederschlag müssen u. A. auch die geringen (der Abscheidung entgangenen) Mengen von Asparaginsäure und Glutaminsäure eingehen, welche sich in dem in Arbeit genommenen Material etwa noch vorfinden, sowie auch Reste des Tyrosins.



silberoxyd auszufällen (da anzunehmen ist, dass in diesem Falle das Leucin entweder gar nicht oder doch nur in sehr geringem Betrage in den Niederschlag eingehen wird). Vermuthlich lässt sich für die Gewinnung der Säure die von uns später gemachte Beobachtung verwerthen, dass beim Zutropfeln von Natriumcarbonat zu einer mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzten Lösung, welche Phenylamidopropionsäure und Leucin nebeneinander enthält, anfangs vorzugsweise die Quecksilberverbindung der ersteren Amidosäure niederfällt. Wir behalten uns vor, in dieser Richtung noch weitere Versuche anzustellen.

Nach dieser Abschweifung kehren wir zurück zur Mittheilung der Resultate, welche wir bei der näheren Untersuchung der nach der früher beschriebenen Methode (durch fraktionirte Fällung mittelst Kupferacetat) aus dem Rohleucins abgeschiedenen für Phenylamidopropionsäure zu erklärenden Substanz erhielten. Sie krystallisirte ebenso wie die aus Lupinenkeimlingen gewonnene Phenylamidopropionsäure, aus concentrirten, noch warmen wässerigen Lösungen in kleinen, glänzenden Blättchen, welche kein Krystallwasser enthielten; bei der Ausscheidung aus verdünnter Lösung bildeten sich feine, mattweisse, büschelförmig vereinigte Nadeln. Die Krystalle lösten sich ziemlich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, wenig im Weingeiste. Die Lösung gab mit Millon'schem Reagens keine Färbung. Für die Analyse benutzten wir zwei verschiedene Präparate, welche aus zwei nacheinander erhaltenen Fraktionen des Kupferniederschlags abgeschieden worden waren. Dabei wurden folgende Zahlen erhalten:

1. 0,2049 gr. Substanz gaben 0,4894 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,1315 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. 0,2056 gr. Substanz gaben 0,4895 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,1315 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .

	Berechnet für	Gefunden:	
	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$	1.	2.
C	65,45%	65,15%	64,93%
H	6,67 %	7,13 %	7,11 %
N	8,45 %	—	—
O	19,45 %	—	—
	100,00%		

Wie man sieht, differiren die bei der Analyse der beiden Präparate gefundenen Zahlen unter sich nur wenig und liegen den der Formel  $C^9H^{11}NO^2$  entsprechenden Werthen sehr nahe. Da der Kohlenstoff etwas zu niedrig, der Wasserstoff etwas zu hoch gefunden wurde, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass die analysirten Präparate noch eine ganz geringe Leucinmenge enthielten.

Wurde der heissen, wässerigen Lösung der Amidosäure eine Kupferacetatsolution zugefügt, so schied sich sofort in blauschwarzen Krystallschuppen eine im Aussehen mit dem Kupfersalz der Phenylamidopropionsäure übereinstimmende Kupferverbindung aus. Dieselbe enthielt ebenso wie das erstere kein Krystallwasser. Die Kupferbestimmung führten wir, um die in der Verbindung vorhandene Amidosäure wieder gewinnen zu können, in folgender Weise aus: Das Kupfersalz wurde in Wasser aufgerührt und mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt<sup>1)</sup>, das Schwefelkupfer abfiltrirt, nach dem Trocknen unter Hinzufügung der Filterasche mittelst Salpetersäure oxydirt, das Kupfer sodann durch Natronlauge ausgefällt und in der gewöhnlichen Weise bestimmt. Wir erhielten folgende Zahlen:

1. 0,757 gr. Substanz (über Schwefels. getrocknet) gaben 0,1515 gr. CuO  
 2. 0,577 gr. Substanz id. gaben 0,1145 gr. CuO

	Berechnet für	Gefunden:	
	2 (C <sup>9</sup> H <sup>10</sup> NO <sub>2</sub> )Cu	1.	2.
Cu	16,20%	15,9%	15,8%

Ein anderes Präparat des Kupfersalzes wurde für eine C- und H-Bestimmung verwendet. Dabei wurden folgende Zahlen erhalten: 0,2150 gr. Substanz gaben 0,4305 gr. CO<sup>2</sup> und 0,1080 gr. H<sup>2</sup>O.

	Berechnet für	Gefunden:
	2 (C <sup>9</sup> H <sup>10</sup> NO <sub>2</sub> )Cu	
C	55,18%	54,60%
H	5,11 %	5,58 %

1) Wenn man das Kupfersalz der Amidosäure in Wasser aufrührt und Schwefelwasserstoff einleitet, so erhält man eine braune Flüssigkeit, aus welcher sich das Schwefelkupfer nicht abfiltriren lässt: erst beim Eindampfen der Flüssigkeit (schneller nach dem Zusatz von etwas Essigsäure) scheidet sich das Schwefelkupfer ab. Die Kupfersalze anderer Amidosäuren verhalten sich ebenso.



Vielleicht schloss dieses Präparat noch etwas Leucinkupfer ein<sup>1)</sup>.

Bei Untersuchung der aus Lupinenkeimlingen abgetrennten Phenylamidopropionsäure fanden wir, dass dieselbe bei der trockenen Destillation ein charakteristisches Verhalten zeigt. Erhitzt man eine kleine Menge in einem Proberohr, so zerfällt sie, während ein geringer Theil unzersetzt sublimirt, unter Abspaltung von Wasser und Kohlensäure in einen gelben geschmolzenen, beim Erkalten krystallinisch erstarrenden Rückstand und einem flüchtigen Körper, welcher sich im oberen Theil des Röhrchens in farblosen Tropfen absetzt; letztere werden nach dem Erkalten krystallinisch und besitzen einen eigenthümlichen, nicht unangenehmen Geruch<sup>2)</sup>. Erhitzt man eine grössere Menge in einem kleinen Retörtchen, so schmilzt die Masse unter lebhaftem Aufschäumen und Entwicklung weisser Dämpfe zu einer gelbbraunen Flüssigkeit, welche nach dem Erkalten krystallinisch erstarrt; das in die Vorlage übergegangene flüchtige Produkt wird nach dem Erkalten zu einer halbfesten Masse. Die letztere löst sich in Salzsäure unter Kohlensäureentwicklung (unter Hinterlassung eines geringen Rückstandes); fügt man zur Lösung Platinchlorid, so scheidet sich ein hellgelber Niederschlag aus, welcher das Platindoppelsalz einer Base  $C_8H_{11}N$  ist; wahrscheinlich ist diese Base identisch mit Phenyläthylamin<sup>3)</sup>. Das Platindoppelsalz löst sich wenig in Weingeist, ziemlich leicht in kochendem Wasser; beim Erkalten scheiden sich aus dieser Lösung orange-gelbe glänzende Krystallblättchen aus. Der beim Erhitzen der Amido-

1) Leucinkupfer enthält 42,17% C und 7,61% H (Gmelin: Chemie, Supplementband, S. 1246). Ein Gemenge von 97 Theilen phenylamidopropionsaurem Kupfer und 3 Theilen Leucinkupfer würde 54,6% C und 5,20% H enthalten.

2) Derselbe tritt jedoch erst nach dem Erkalten deutlich hervor (während der Verflüchtigung riecht das betreffende Produkt mehr ammoniakalisch).

3) Erlenmeyer und Lipp haben nachgewiesen, dass die von ihnen synthetisch dargestellte Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure bei der trockenen Destillation Phenyläthylamin liefert.

säure hinterbleibende, krystallinisch erstarrende Rückstand schliesst einen Körper ein, welcher als Phenyllactimid ( $= C_9H_9NO$ ) zu bezeichnen ist; derselbe löst sich in kochendem Weingeist und krystallisirt daraus beim Erkalten in feinen Nadeln.

Die gleichen Produkte lieferte die in oben beschriebener Weise aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen gewonnene Amidosäure. Beim Erhitzen im Proberohr zeigte sie das gleiche Verhalten, wie es oben für die Phenylamidopropionsäure aus Lupinenkeimlingen beschrieben worden ist. Um etwas grössere Mengen der Zersetzungsprodukte zu erhalten, benutzten wir, da unser Vorrath an reiner Substanz nur gering war, hauptsächlich Präparate, welche noch mit etwas Leucin gemengt waren; das Vorhandensein dieses Körpers erschwerte jedoch die Gewinnung der oben beschriebenen Produkte nur wenig<sup>1)</sup>. Der in die Vorlage übergegangene flüchtige Körper löste sich in verdünnter Salzsäure unter Kohlensäureentwicklung (unter Hinterlassung eines geringen Rückstandes); aus der Lösung schied sich auf Zusatz von Platinchlorid ein Platindoppelsalz aus, welches mehrmals aus Wasser umkrystallisirt wurde; dasselbe stimmte sowohl in seinem Verhalten gegen Lösungsmittel als auch in seinem Aussehen mit dem aus der früher untersuchten Phenylamidopropionsäure gewonnenen überein. Die Analyse gab folgende Zahlen:

1. 0,2207 gr. Substanz (zuerst über Schwefelsäure, dann kurze Zeit im Luftbade getrocknet) gaben 0,2405 gr.  $CO_2$  und 0,0815 gr.  $H_2O$ .
2. 0,2250 gr. Substanz gaben beim Glühen 0,0672 gr. Platin.
3. 0,1382 gr. Substanz gaben beim Glühen 0,0410 gr. Platin.

	Berechnet für $2(C^8H^{11}N, HCl)PtCl_4$	Gefunden:		
		1.	2.	3.
C	29,47 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	29,68 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	—	—
H	3,68 «	4,10 «	—	—
N	4,30 «	—	—	—
Pt	29,86 « <sup>2)</sup>	—	29,87 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	29,67 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Cl	32,69 «	—	—	—
	<u>100,00<sup>0</sup>/<sub>0</sub></u>			

<sup>1)</sup> Im mittleren Theile des Retörtchens setzte sich ein leucin-  
haltiges Sublimat an.

<sup>2)</sup> Pt = 194,5.



Das salzsaure Salz der Base, erhalten durch Zerlegung des Platindoppelsalzes mittelst Schwefelwasserstoff, krystallisirte in Blättern. Der beim Erhitzen der Amidosäure hinterbliebene Rückstand löste sich in kochendem Weingeist; aus der Lösung schieden sich beim Erkalten feine Nadeln aus, welche nach dem Abfiltriren und Trocknen eine weisse verfilzte Masse bildeten<sup>1)</sup>. Sie schmolzen bei ca. 280° und sublimirten bei starker Steigerung der Temperatur<sup>2)</sup>. Sie lösten sich nicht oder doch nur wenig in Wasser, Kalilauge, verdünnter Salzsäure, und verdünnter Schwefelsäure, leicht in heissem Eisessig und in kochender concentrirter Salpetersäure (die Lösung lieferte beim Erkalten eine Ausscheidung von feinen Nadeln). Genau das gleiche Verhalten zeigte das aus der Phenylamidopropionsäure (aus Lupinenkeimlingen) dargestellte Phenylactimid.

Als die Amidosäure mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure erhitzt wurde, trat der Geruch des Benzaldehyds auf; nach dem Erkalten krystallisirte aus der Flüssigkeit ein Körper aus, welcher im Aussehen und Verhalten mit Benzoesäure übereinstimmte (der Schmelzpunkt der durch Umkrystallisiren gereinigten Substanz lag bei 120,5°).

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse berechtigen zu der Schlussfolgerung, dass die aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen in der beschriebenen Weise dargestellte Amidosäure identisch mit der aus Lupinenkeimlingen abgetrennten Phenylamidopropionsäure ist.

Für letzteren Körper haben wir in einer früheren Abhandlung<sup>3)</sup> Identität mit der von E. Erlenmeyer und A. Lipp<sup>4)</sup> synthetisch dargestellten Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure (Phenylalanin) für sehr wahrscheinlich erklärt; die gleiche Anschauung haben die eben genannten Forscher ausgesprochen<sup>5)</sup>. Diese Ansicht basirt hauptsächlich

1) In Lösung bleibt eine braune leicht lösliche Substanz.

2) Bei raschem Erhitzen trat Styrolgeruch auf.

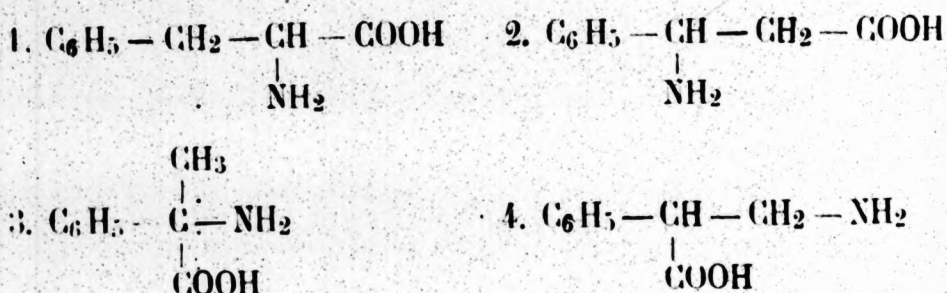
3) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 27, S. 348.

4) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 15, S. 1006; ausführlicher in Annalen der Chemie, Bd. 219, S. 194.

5) A. a. O., S. 197, Anmerkung.

auf der Wahrnehmung, dass beide Amidosäuren bei der trockenen Destillation die gleichen Zersetzungsprodukte (Kohlensäure, Phenyllactimid und eine Base  $C^8H^{11}N$  geben<sup>1)</sup>. Doch stimmen die beiden Körper in ihren Eigenschaften nicht vollständig überein; die Verschiedenheiten, welche wir nach dem Erscheinen der ausführlichen Abhandlung über das Phenylalanin genauer angeben können, als es uns früher möglich war, bestehen in Folgendem: Unsere Amidosäure krystallisiert aus concentrirten, noch warmen wässerigen Lösungen in glänzenden Blättchen, aus verdünnten Lösungen mit Krystallwasser in feinen weissen Nadeln, das Phenylalanin dagegen aus heissem Wasser beim Erkalten in kurzen sternförmig verwachsenen Prismen, aus wässerigem Alkohol in glänzenden Blättchen. Beim Erhitzen im Capillarröhrchen zersetzt sich nach nach den von Erlenmeyer und Lipp ausgeführten Versuchen das Phenylalanin bei  $263-265^\circ$ , unsere Amidosäure bei  $275-280^\circ$ . Das Kupfersalz unserer Amidosäure ist wasserfrei, während die Kupferverbindung

1) Zu der gleichen Schlussfolgerung führt jedoch auch die folgende Betrachtung: Nach der Theorie kann es vier Phenylamidopropionsäuren (darunter zwei Amidohydrozimmtsäuren und zwei Amidohydratropasäuren) geben, deren Constitution man durch folgende Formeln ausdrücken kann:



Nun sind vier solche Säuren synthetisch dargestellt worden, nämlich die Amidohydrozimmtsäure von E. Posen (Annalen der Chemie, Bd. 195, S. 143) die Amidohydratropasäure von Fittig und Wurster (ebendasselbst, S. 158) die  $\alpha$ -Amidohydratropasäure von F. Tiemann und K. Köhler (Berliner Berichte, Bd. 14, S. 1981) und die Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure von E. Erlenmeyer und A. Lipp. Nur die letztere gleicht unserer Amidosäure; die drei zuerst genannten Körper differiren in ihren Eigenschaften so sehr von derselben, dass sie mit Sicherheit für verschieden erklärt werden können.



des Phenylalanins zwei Moleküle Krystallwasser enthält (welche jedoch schon beim Trocknen über Schwefelsäure entweichen).

Eine Erklärung für diese Verschiedenheiten, welche freilich kaum als schwerwiegende bezeichnet werden können<sup>1)</sup>, liefert vielleicht die von uns gemachte Beobachtung, dass unsere Amidosäure optisch wirksam ist (während wir für die synthetisch dargestellte Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure wohl optische Unwirksamkeit annehmen dürfen, wenn auch von Erlenmeyer und Lipp keine Angaben darüber gemacht worden sind). Die betreffenden Versuche, für welche ein Soleil-Ventzke'scher Polarisationsapparat verwendet wurde, lieferten folgende Resultate<sup>2)</sup>:

1. Eine wässrige Lösung, welche in 100 ccm. 2,0 gr. Substanz enthielt, drehte im 200 mm. langen Rohr bei 16° C. 4,0° nach links.
2. Eine in 100 ccm. 2,4 gr. Substanz enthaltende Lösung drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 5,0° nach links.

Daraus berechnet sich  $\alpha_D = -35,3$ . Die Genauigkeit dieser Bestimmungen wird ohne Zweifel dadurch beeinträchtigt, dass die für die Versuche verwendeten Lösungen eine relativ geringe Substanzmenge enthielten; concentrirtere Lösungen liessen sich aber wegen der Schwerlöslichkeit der Säure mit Wasser allein nicht bereiten. Als wir solche Lösungen mit Hülfe von Ammoniakflüssigkeit herstellten und im Polari-

1) Man hat schon öfter die Beobachtung gemacht, dass aus den Organismen ausgeschiedene chemische Verbindungen mit den künstlich dargestellten Verbindungen gleicher Art in Bezug auf manche Eigenschaften nicht ganz übereinstimmen; zur Erklärung dieser Erscheinung nimmt man in der Regel an, dass dem ersteren geringe, durch Umkrystallisiren u. s. w. nicht zu entfernende Unreinigkeiten anhaften. Dass auch in vorliegendem Falle derartige Einflüsse geltend gemacht haben können, ist zuzugeben; es ist möglich, dass unsere, aus einem Gemenge von Amidosäuren u. s. w. abgeschiedene Phenylamidopropionsäure weniger rein war, als die synthetisch dargestellte Säure.

2) Für die obigen Versuche wurde ein aus Lupinenkeimlingen gewonnenen Präparat von Phenylamidopropionsäure verwendet. Ein Versuch mit der aus den Zersetzungsprodukten des Kürbisglobulins abgeschiedenen Phenylamidopropionsäure liefert ein nur sehr wenig abweichendes Resultat. Wir führen dasselbe nicht mit auf weil das betreffende Präparat wahrscheinlich nicht völlig frei von Leucin war.

sationsapparat untersuchten, zeigte sich, dass dieselben schwächer drehten als die Lösungen in reinem Wasser und dass mit steigendem Ammoniakgehalt das Drehungsvermögen sich verringerte. So drehte z. B. eine mit wenig Ammoniak hergestellte Lösung, welche in 20 ccm. 0,865 gr. Phenylamidopropionsäure enthielt,  $5\frac{1}{2}^{\circ}$  nach links, eine weit mehr Ammoniak enthaltende Lösung von 1,2 gr. Substanz in 20 ccm. nur  $3,4^{\circ}$  nach links. Als aus der letzteren Lösung durch Eindampfen das Ammoniak ausgetrieben, der Rückstand in reinem Wasser gelöst, die Lösung auf 50 ccm. verdünnt und dann untersucht wurde, so zeigte sich, dass dieselbe  $5^{\circ}$  nach links drehte; es war demnach durch Entfernung des Ammoniaks das Drehungsvermögen fast auf das vierfache gesteigert worden. Eine Auflösung der Phenylamidopropionsäure in Salzsäure zeigte, wie schon in einer früheren Abhandlung<sup>1)</sup> mitgeteilt worden ist, gar kein Drehungsvermögen.

Unsere Amidosäure ist demnach als eine optisch wirksame Modifikation der Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure anzusehen, welche auch in den übrigen Eigenschaften einige Verschiedenheiten von der synthetisch dargestellten Säure zeigt<sup>2)</sup>.

Da das Tyrosin nach den schönen Untersuchungen von Erlenmeyer und Lipp als Hydroxyphenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure anzusehen ist, so könnte man vielleicht die Frage aufwerfen, ob die unter den Zersetzungsprodukten des Kürbisglobulins von uns aufgefundene Phenylamidopropionsäure während der Zersetzung jener Eiweisssubstanz durch Salzsäure aus dem Tyrosin durch Reduktion sich gebildet haben könne. Man wird gewiss geneigt sein, diese Frage von vorn-

1) Journal für praktische Chemie [2], Bd. 27, S. 343.

2) Man könnte annehmen, dass unsere Amidosäure mit der synthetisch dargestellten Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure zwar structur-identisch aber im Sinne der Le Bel- und vant'Hoff'schen Hypothese von ihr verschieden sei, falls man letzterer Hypothese zustimmt.

Es ist hier noch auf eine Verschiedenheit aufmerksam zu machen, welche bei den aus den beiden Amidosäuren dargestellten Zersetzungsprodukten sich findet. Das von Erlenmeyer und Lipp untersuchte Phenyllactimid schmolz bei  $290\text{--}291^{\circ}$ , das aus unserer Amidosäure dargestellte Phenyllactimid (nach wiederholtem Umkrystallisiren) bei ca.  $280^{\circ}$ .



herein in negativem Sinne zu beantworten; denn es sind unseres Wissens keine Beispiele dafür bekannt, dass durch Erhitzen mit Salzsäure und Zinnchlorür derartige Reduktionen sich bewerkstelligen lassen. Da aber nach H. und E. Salkowski<sup>1)</sup> bei der Fäulniss des Tyrosins Hydrozimmtsäure sich bildet und demnach anzunehmen ist, dass unter Einwirkung der Fäulnissfermente (wahrscheinlich durch nascerenden Wasserstoff) die im Tyrosin am Benzolkern befindliche Hydroxyl-Gruppe reducirt werden kann, so haben wir es doch für angezeigt gehalten, die obige Frage einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen. Ein Quantum von 7,9 gr. Tyrosin (dargestellt aus dem Kürbisglobulin) wurde mit einem grossen Ueberschuss von Salzsäure und Zinnchlorür circa 100 Stunden lang am Rückflusskühler erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit, hierauf eingedunstet; den Rückstand lösten wir im Wasser, und neutralisirten die Flüssigkeit mit Ammoniak. Es erfolgte eine reichliche Auscheidung von Tyrosin, welches abfiltrirt und mit viel kaltem Wasser gewaschen wurde. Aus der Mutterlauge liess sich durch Eindunsten noch eine geringe Menge des gleichen Körpers gewinnen. Im Ganzen wurden so 6,9 gr. Tyrosin (= 87 % der für den Versuch verwendeten Menge) wieder erhalten. Die vom Tyrosin abfiltrirte Flüssigkeit wurde mit etwas Schwefelsäure versetzt und sodann mittelst feuchten Silberoxyds von der Salzsäure befreit. Das Filtrat vom Chlorsilber behandelten wir zunächst mit Schwefelwasserstoff, schafften sodann die Schwefelsäure durch Zusatz von Barythydrat fort und dunsteten die Flüssigkeit ein. Es blieb ein der Menge nach nicht beträchtlicher Rückstand, welcher noch etwas Tyrosin einschloss; eine der Phenylamidopropionsäure gleichende Substanz vermochten wir darin nicht aufzufinden. Nach dem Abfiltriren des Tyrosins gab die Flüssigkeit mit Kupferacetat nur schwache Blaufärbung.

Es ist demnach sehr unwahrscheinlich, dass die unter den Produkten der Eiweisszersetzung von uns vorgefundene

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 452.

Phenylamidopropionsäure sich aus dem Tyrosin gebildet hat; man wird vielmehr anzunehmen haben, dass sie aus einer im Eiweissmolekül vorhandenen Atomgruppe direkt hervorgegangen ist. Eine Stütze für diese Annahme bildet auch die Thatsache, dass man bei Oxydation der Eiweissstoffe durch Erhitzen mit Braunstein und verdünnter Schwefelsäure oder durch Chromsäuregemisch Benzoesäure erhält<sup>1)</sup>; dass diese Benzoesäure ein Oxydationsprodukt der bei Einwirkung der Säuren auf die Eiweissstoffe entstandenen Phenylamidopropionsäure ist, darf wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden.

Die Ausbeute an Phenylamidopropionsäure, welche wir bei Verarbeitung des Kürbisglobulins erhielten, war nur sehr gering. Da aber die Scheidung der genannten Säure von den übrigen Produkten auf dem von uns eingeschlagenen Wege mit grossem Substanzverlust verbunden ist, so lässt sich aus der Ausbeute kaum ein Schluss auf die im Ganzen vorhanden gewesene Quantität jenes Körpers machen.

Bei der Zersetzung des Kürbisglobulins hatten wir eine beträchtliche Quantität von Rohleucin gewonnen. Es schien uns von Interesse zu versuchen, ob darin ausser Leucin und ausser Phenylamidopropionsäure auch noch Homologe des Leucins nachzuweisen waren.

Wir stellten daher aus dem Rohleucin drei Präparate in folgender Weise dar: Die beiden ersten Portionen des Rohleucins wurden 2mal aus verdünntem ammoniakhaltigem Weingeist auskrystallisirt. Die so erhaltene blätterige Krystallmasse lösten wir in heissem Wasser und sättigten die Lösung unvollständig mit Kupferoxydhydrat. Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, ausgewaschen und

<sup>1)</sup> Nach den Untersuchungen von Guckelberger: *Annalen der Chemie und Pharmacie*, Bd. 64, S. 39. Auch bei der Oxydation von Eiweissstoffen durch übermangansaures Kalium und verdünnte Schwefelsäure tritt nach Städeler (*Journal für praktische Chemie*, Bd. 72, S. 251. sowie nach Tappeiner und nach Pott (mitgetheilt in Ritthausen's «die Eiweisskörper der Getreidearten u. s. w.» S. 225) Benzoesäure auf.



sodann durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Das Filtrat vom Schwefelkupfer verdunsteten wir zur Krystallisation; das so gewonnene Produkt wurde dann noch aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. So erhielten wir ein schönes, aus weissen atlasglänzenden Krystallblättern bestehendes Präparat<sup>1)</sup>, welches vollkommen das Verhalten des Leucins zeigte<sup>2)</sup>. Einige nach Kjeldahl's Methode ausgeführte Stickstoffbestimmungen gaben folgende Resultate:

1. 0,2146 gr. Substanz gaben 0,022788 gr. N (= 5,65 cbcm. Barytwasser a),
2. 0,3096 gr. Substanz gaben 0,032945 gr. N (= 8,4 cbcm. Barytwasser b).

1) Es könnte scheinen, als ob der zur Darstellung eines reinen Leucinpräparates von uns eingeschlagene Weg demjenigen ähnlich wäre, auf welchem wir zur Gewinnung von Phenylamidopropionsäure gelangten. Bei genauerer Prüfung zeigen sich aber bedeutende Unterschiede. Die Phenylamidopropionsäure erhielten wir aus der dritten, die meisten Beimengungen einschliessenden Portion des Rohleucins; diese Portion wurde zunächst unter möglicher Vermeidung von Verlusten (also unter Aufarbeitung der Mutterlaugen) einmal aus Wasser umkrystallisirt, die Lösung sodann mit Kupferoxydhydrat behandelt, das aus dem Kupferniederschlag erhaltene, neben Leucin viel Phenylamidopropionsäure einschliessende Substanzgemenge in der früher beschriebenen Weise für die fraktionirte Fällung mit Kupferacetat verwendet. Bei Darstellung von reinem Leucin dagegen gingen wir aus von den beiden ersten Portionen des Rohleucins, welche jedenfalls nur wenig Phenylamidopropionsäure einschlossen (nur die eine dieser Portionen gab bei der Oxydation etwas Benzoesäure). Dieselben wurden unter Entfernung der Mutterlaugen zweimal aus ammoniakhaltigem Weingeist umkrystallisirt; dadurch wurde ohne Zweifel das Leucin von einem grossen Theil der ihm anhaftenden Unreinigkeit befreit. Aus der so erhaltenen Krystallmasse, welche wohl schon an und für sich ein ziemlich reines Leucin war, wurde dann in der oben beschriebenen Weise die Kupferverbindung dargestellt.

2) Wenn wir hier oder später für eine Substanz angeben, dass dieselbe im Verhalten mit Leucin übereinstimmt, so verstehen wir darunter folgendes: Die Substanz verflüchtigt sich beim Erhitzen im Probierrohr ohne zu schmelzen, und liefert ein weisses, wolliges Sublimat. Sie wird von Wasser schwer benetzt und löst sich ziemlich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser. Setzt man der heissen, wässrigen Lösung Kupferacetat zu, so scheidet sich eine schuppig-krystallinische Kupferverbindung aus; das Gleiche ist der Fall, wenn man in die Lösung Kupferoxydhydrat einträgt.

	Berechnet für $C^6O^{13}NO^2$	Gefunden:	
		1.	2.
N	10,69 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	10,61 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	10,64 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>

Ein zweites Präparat gewannen wir aus der Flüssigkeit, welche von der oben erwähnten Kupferverbindung abfiltrirt war. In dieselbe wurde noch soviel Kupferoxydhydrat eingetragen, dass sie vollständig damit gesättigt war. Dann wurde sie im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand mit warmen Wasser behandelt. Es blieb eine beträchtliche Quantität einer Kupferverbindung zurück. Dieselbe wurde durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die daraus erhaltene Amidosäure, welche gleichfalls das Aussehen des Leucins zeigte, für eine Stickstoffbestimmung verwendet:

0,2188 gr. Substanz gaben 0,022989 gr. N (= 5,8 chem. Barytwasser a).

	Berechnet für $C^6H^{13}NO^2$	Gefunden:	
N	10,69 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	10,51 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	

Obwohl dieses Präparat im Stickstoffgehalt von Leucin nur wenig abwich, so konnte es doch nicht für reines Leucin erklärt werden. Beim Erhitzen im Proberohr sublimirte es nicht vollständig, sondern liess einen Rückstand. Es löste sich leichter in Wasser, als das zuerst beschriebene Präparat; von diesem bedurfte 1 Theil im Mittel 37 Theile Wasser von Zimmertemperatur zur Auflösung; von jenem dagegen löste sich 1 Theil in 26 Theilen Wasser.

Die bei Darstellung dieser beiden Präparate übrig gebliebenen Mutterlaugen lieferten beim Eindunsten einen Rückstand, aus welchem bei der Oxydation durch Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure Benzoesäure erhalten wurde. Man darf dies wohl als einen Beweis dafür ansehen, dass jener Rückstand Phenylamidopropionsäure einschloss. Letztere war bei Gewinnung der Leucinpräparate also in die Mutterlauge übergegangen.

Die blaue Lösung, welche von der zur Darstellung des zweiten Präparates verwendeten Kupferverbindung abgelaufen war, wurde mit einer in entsprechender Weise bei Verarbeitung der dritten Portion des Rohleucins auf Phenylamidopropionsäure (m. vgl. w. o.) erhaltenen blauen Flüssigkeit



vereinigt, dann im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand mit warmem Wasser behandelt. Es blieb nur wenig Substanz ungelöst. In die filtrirte blaue Lösung, welche den am leichtesten löslichen Antheil der aus dem Rohleucin erhaltenen Kupferverbindungen einschloss<sup>1)</sup> leiteten wir Schwefelwasserstoff ein, brachten das Filtrat vom Schwefelkupfer zur Krystallisation und reinigten das so erhaltene, anfangs nur undeutlich krystallinische Produkt durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus verdünntem Weingeist; es verwandelte sich dabei in glänzende Blättchen vom Aussehen und Verhalten des Leucins. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,3192 gr. Substanz gaben 0,03398 gr. N (= 8,5 chem. Barytwasser a).
2. 0,3045 gr. Substanz gaben 0,032553 gr. N (= 8,3 chem. Barytwasser b).

	Berechnet für	Gefunden:	
	$C^6H^{13}NO^2$	1.	2.
N	10,69%	10,64%	10,68%

Bei allen in der beschriebenen Weise dargestellten drei Präparaten lag, wie man sieht, der gefundene Stickstoffgehalt demjenigen des Leucins sehr nahe<sup>2)</sup>. Man hat daher keinen Grund anzunehmen, dass in diesen Präparaten dem Leucin Homologe beigemischt waren.

Ob man aber dieses Ergebniss als einen Beweis dafür ansehen kann, dass unter den bei Zersetzung des Kürbisglobulins erhaltenen Produkten Homologe des Leucins völlig

1) In den Lupinenkeimlingen ist nach der vom Verfasser und J. Barbieri ausgeführten Untersuchung eine Amidovaleriansäure vorhanden, welche sich vom Leucin dadurch unterscheidet, dass ihre Kupferverbindung viel leichter löslich ist. Wir mussten daher bei dem Bestreben im vorliegenden Falle Homologe des Leucins aufzufinden, unser Augenmerk insbesondere auch auf den am leichtesten löslichen Theil der in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Kupferverbindungen richten.

2) Die nächsten Homologen des Leucins unterscheiden sich im Stickstoffgehalt so beträchtlich von letzteren, dass eine nur einigermaßen beträchtliche Beimengung solcher Körper durch die Stickstoffbestimmung leicht nachgewiesen werden könnte.

fehlten, ist noch fraglich. Vergleicht man die Quantität der reinen, für die Analysen verwendeten Präparate mit dem Quantum des Rohprodukts, aus welchem jene Präparate erhalten wurden, so zeigt sich eine sehr grosse Differenz; demnach finden bei der Reinigung und beim Umkrystallisiren der einzelnen Präparate grosse Substanzverluste statt. Es ist nun sehr wohl denkbar, dass im vorliegenden Fall Homologe des Leucins in geringer Menge vorhanden waren, aber der Beobachtung entgingen, weil sie beim Umkrystallisiren der Rohprodukte nach und nach so vollständig in die Mutterlauge übergingen, dass schliesslich nur Leucin übrig blieb.

Wenn man alle Portionen des Rohleucins vereinigte und sodann wiederholt umkrystallisirte, so würde ohne Zweifel schliesslich auch die Phenylamidopropionsäure so vollständig in die Mutterlauge übergehen, dass ein reines Leucinpräparat resultirte (dass solches bei Verarbeitung der beiden ersten Portionen des Rohleucins der Fall war, ist früher schon gezeigt worden).

Man könnte nun denken, dass obige Frage sich entscheiden liesse, indem man das Rohprodukt unter möglichster Vermeidung von Verlusten nur ein- oder zweimal umkrystallisirt und dann der Elementaranalyse unterwirft. Hätte man es mit einem Gemenge zu thun, welches neben geringer (der Abscheidung entgangenen) Quantitäten von Tyrosin, Asparaginsäure und Glutaminsäure nur Leucin und Homologe desselben enthielt, so würde diese Methode wohl zum Ziele führen; da aber im Rohprodukt auch die Phenylamidopropionsäure (und zwar ihrer ganzen Menge nach) enthalten ist, so kann jenes Verfahren kaum ein sicheres Resultat geben.

Dass es gelingen könnte, die Gemengtheile des Rohleucins durch fraktionirte Krystallisation aus Wasser oder aus verdünntem Weingeist von einander zu trennen, halten wir für sehr unwahrscheinlich.



## II. Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure.

Die Produkte, welche das Conglutin bei der Zersetzung durch eine Säure liefert, sind früher schon von Ritthausen<sup>1)</sup> untersucht worden. Beim Erhitzen des genannten Eiweissstoffs mit verdünnter Schwefelsäure (1 Theil conc. Säure und 2 Theile Wasser) erhielt derselbe Tyrosin, Leucin, Asparagin- und Glutaminsäure.

Wir führten die Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure unter Zinnchlorürzusatz nach den von Hlasiwetz und Habermann gegebenen Vorschriften, also in der gleichen Weise wie beim Kürbiseiweiss, aus. Auch verfahren wir bei der Abscheidung von Tyrosin, Leucin und Asparaginsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit ebenso, wie dort angegeben worden ist. Die Glutaminsäure dagegen liessen wir in den ersten Versuchen vor Entfernung der Salzsäure aus der Zersetzungsflüssigkeit als Salzsäure-Verbindung auskrystallisiren (eine Gewinnungsmethode, welche bekanntlich zuerst von Hlasiwetz und Habermann angewendet wurde). Wenn man nämlich die mittelst Schwefelwasserstoff vom Zinn befreite Flüssigkeit bis zum Erscheinen eines Krystallhäutchens auf der Oberfläche eindampft und dann erkalten lässt, so erfolgt nach einiger Zeit eine reichliche krystallinische Ausscheidung. Man kann dieselbe von dem flüssig gebliebenen Theile des Syrups trennen, indem man die mit etwas concentrirter Salzsäure verdünnte Masse auf ein aus wollenem Zeug hergestelltes Filter bringt, und die Mutterlauge durch Absaugen mittelst der Wasserluftpumpe und darauf folgendes Abpressen zwischen Fliesspapier entfernt; zersetzt man die so gewonnene Krystallmasse (am besten nach dem Umkrystallisiren derselben aus Wasser) mittelst Silberoxyds, so erhält man Glutaminsäure. Zur Reinigung kann man dieselbe in das durch Weingeist fällbare Baryumsalz überführen. Die Ausbeute betrug ca. 6 Theile pro 100 Theile Conglutin.

Der in der beschriebenen Weise aus der Zersetzungsflüssigkeit abgeschiedenen salzsauren Glutaminsäure waren

<sup>1)</sup> Ritthausen: Die Eiweisskörper etc., S. 213.

jedoch Salzsäure-Verbindungen anderer Amidosäuren (hauptsächlich wohl des Leucins) in nicht unbeträchtlicher Quantität beigemischt<sup>1)</sup>. Wir schlugen daher später bei Verarbeitung der Zersetzungsflüssigkeit folgenden Weg ein: Die Flüssigkeit wurde gleich anfangs von der Salzsäure befreit, dann so weit eingedunstet, dass beim Erkalten Tyrosin auskrystallisirte; dasselbe wurde abfiltrirt, zuerst mit kaltem Wasser, dann mit verdünntem Weingeist gewaschen. Die Mutterlauge lieferte bei weiterem Eindunsten eine Krystallisation, welche hauptsächlich aus Leucin bestand. Das Filtrat davon erhitzen wir mit Baryumcarbonat, um Glutamin- und Asparaginsäure in die leicht löslichen Baryumsalze überzuführen und dampften dasselbe dann weiter ein; es erfolgten nun noch weitere, hauptsächlich aus Leucin bestehende Ausscheidungen, welche ebenso wie die erste auf einem Zeugfilter abfiltrirt, mit verdünntem Weingeist gewaschen, dann zwischen Filtrirpapier stark abgepresst wurde. Diese Ausscheidungen wollen wir im Folgenden als Rohleucin bezeichnen. Als die von denselben abfiltrirte Mutterlauge nur noch wenig Krystallinisches lieferte, versetzten wir sie zur Ausfällung von glutaminsaurem und asparaginsaurem Baryum mit Weingeist, nachdem sie zuvor zur Zersetzung der vorhandenen Ammoniaksalze nach Zusatz von etwas Barythydrat längere Zeit erhitzt worden war<sup>2)</sup>. Da jedoch durch den Weingeist, wenn man ihn in grosser Menge zusetzt, auch ein Theil des in der Flüssigkeit noch vorhandenen Leucins ausgefällt wird, so verfahren wir in folgender Weise: Die Flüssigkeit wurde zunächst nur mit soviel Weingeist versetzt, dass die Baryumsalze zum Theil ausgefällt wurden; die vom Ausgeschiedenen abgegossene weingeistige Lösung liessen

1) Die vom Zinn befreite und dann bis zum Syrup eingedunstete Zersetzungsflüssigkeit erstarrte zuweilen bei längerem Stehen fast vollständig zu einem Krystallbrei.

2) Bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säuren entsteht bekanntlich neben Amidosäuren auch Ammoniak. In der vermittelst Silberoxyd von der Salzsäure fast vollständig befreiten Flüssigkeit muss sich der Ammoniak z. Th. in Verbindung mit Glutaminsäure und Asparaginsäure vorfinden.



wir dann im Wasserbade so weit eindunsten, dass nach dem Erkalten noch eine leucinhaltige Ausscheidung erfolgte; letztere wurde nach mehrtägigem Stehen abfiltrirt, die Mutterlauge davon wieder mit Weingeist versetzt, die dadurch hervorgebrachte Fällung mit der früheren vereinigt, dann noch einmal in Wasser gelöst und durch Weingeistzusatz niedergeschlagen<sup>1)</sup>. Die vom Ausgeschiedenen abgegossene Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten noch etwas Rohleucin. Auf solche Weise suchten wir die Baryumsalze der Glutaminsäure und Asparaginsäure möglichst vollständig von Leucin und ähnlichen Amidosäuren zu trennen.

Die durch den Weingeistzusatz hervorgebrachte syrupförmige Ausscheidung, welche die oben gewonnenen Baryumsalze einschloss, wurde in Wasser gelöst; aus der Lösung das Baryum mittelst Schwefelsäure genau ausgefällt. Die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit lieferte nach dem Eindunsten eine reichliche krystallinische Ausscheidung. Um daraus Glutaminsäure zu isoliren, lösten wir die ganze Masse (mit Einschluss der Mutterlauge) in der Wärme in überschüssiger concentrirter Salzsäure. Aus dieser Lösung schied sich nach einiger Zeit salzsaure Glutaminsäure aus. Sie wurde, nach mehrtägigem Stehen, auf einem Zeugfilter abfiltrirt, mit etwas concentrirter Salzsäure gewaschen, dann getrocknet. Bei der Zerlegung mittelst Silberoxyds lieferte sie anscheinend reine Glutaminsäure (mit einem der Formel  $C_5H_9NO_4$  entsprechenden Stickstoffgehalt).

Die von der salzsauren Glutaminsäure abfiltrirte Flüssigkeit befreiten wir durch Eindampfen und darauffolgende Behandlung mit Silberoxyd von der Salzsäure, sättigten sie darauf mit Kupferoxydhydrat und fügten dann in kleinen Antheilen Bleiessig zu. Es entstand ein Niederschlag, welcher fast ausschliesslich aus asparaginsaurem Blei zu bestehen schien<sup>2)</sup>. Derselbe wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, sodann mit Schwefelwasserstoff zerlegt.

1) Bei einer zweiten Darstellung kochten wir die durch den Weingeist hervorgebrachte syrupförmige Ausscheidung noch einmal mit verdünntem Weingeist aus.

2) Die aus diesem Bleisalz abgeschiedene Amidosäure wurde in

Das Filtrat von diesem Niederschlag lieferte, nachdem es mittelst Schwefelwasserstoff von Blei und Kupfer befreit und darauf eingedunstet worden war, noch eine leucin-haltige Ausscheidung, jedoch in nicht beträchtlicher Quantität.

In der beschriebenen Weise erhielten wir in zwei möglichst sorgfältig durchgeführten Versuchen aus 100 Gewichtstheilen Conglutin im Mittel 2,2 Gewichtstheile Tyrosin und 15,3 Gewichtstheile Rohleucin<sup>1)</sup>.

Die Ausbeute an Glutaminsäure zeigte starke Schwankungen; in dem einen Versuch wurden aus 10 Theilen Conglutin 9 Theile Glutaminsäure erhalten, im zweiten Versuch dagegen 13 Theile (berechnet aus dem Gewicht der in der beschriebenen Weise gewonnenen salzsauren Glutaminsäure). Ob die Abscheidung der Säure in Form der Salzsäureverbindung eine unvollständige war, oder ob andere Umstände das Resultat beeinflussten, müssen wir dahingestellt sein lassen. Die Ausbeute an Asparaginsäure betrug ungefähr 1,5 Theile pro 100 Theile Conglutin.

Solche Zahlenangaben können selbstverständlich nur einen beschränkten Werth beanspruchen; denn die zur Trennung der einzelnen Produkte verwendeten Methoden lassen viel zu wünschen übrig und es sind beträchtliche Substanzverluste nicht zu vermeiden; die zur Abscheidung gebrachten Mengen der einzelnen Amidosäuren müssen daher von den beim Zerfall der Eiweisssubstanz wirklich entstandenen Quantitäten mehr oder weniger abweichen. Am geringsten ist die Differenz wohl beim Tyrosin, da dieser

heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferoxydhydrat gesättigt und dann im Wasserbade noch etwas concentrirt. Beim Erkalten schied sich in lockeren, hellblauen Krystallnadeln ein Kupfersalz aus, welches in seinem Aussehen etc. mit asparaginsauerm Kupfer vollständig übereinstimmte. Die Mutterlauge lieferte beim Eindunsten noch ein wenig von dem gleichen Salze, ausserdem eine sehr geringe Menge eines im Aussehen mit dem glutaminsauren Kupfer übereinstimmenden Kupfersalzes.

<sup>1)</sup> Zahlenbelege: a) 59,3 gr. Conglutin (wasserfrei) geben 1,1 gr. = 1,9% Tyrosin und 9,5 gr. = 16,0% Rohleucin. — b) 73,8 gr. Conglutin (wasserfrei) gaben 1,74 gr. = 2,4% Tyrosin und 10,7 = 14,5% Rohleucin.



Körper wegen seiner Schwerlöslichkeit sich am leichtesten isoliren lässt (indessen ist darauf aufmerksam zu machen, dass geringe Tyrosinmengen sich zuweilen selbst noch in den letzten Mutterlaugen vorfinden). Beim Leucin stehen zwei Fehler sich gegenüber: es bleibt ohne Zweifel ein Theil des Leucins in der Mutterlauge zurück; andererseits ist das zur Abscheidung gebrachte Rohprodukt durch andere Amidosäuren stark verunreinigt und es ist nicht möglich, diese anderen Stoffe quantitativ vom Leucin zu trennen (wir haben daher nur für die Quantität des Rohprodukts eine Zahl angegeben). Die Abscheidung der Glutaminsäure in Form ihrer Salzsäureverbindung ist jedenfalls keine vollständige; auch vollständige Gewinnung der Asparaginsäure (durch Fällung mit Bleiessig) ist wohl nicht möglich — schon deshalb nicht, weil im Ueberschuss des Fällungsmittels der Niederschlag sich wieder auflöst. Wenn wir nun trotz solcher, den Gewinnungsmethoden anhaftenden Mängel die Quantitäten der einzelnen Produkte zu ermitteln suchten und die dabei erhaltenen Zahlen mittheilen, so liegt der Grund dafür hauptsächlich darin, dass es wünschenswerth erschien, nicht nur in Bezug auf die Qualität der gewonnenen Produkte, sondern auch in Bezug auf die Quantität derselben die Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure mit der Zersetzung des gleichen Eiweissstoffes durch Barytwasser vergleichen zu können.

Ehe wir zur Mittheilung der Resultate übergehen, welche bei der näheren Untersuchung der einzelnen Produkte erhalten wurden, sind einige Bemerkungen vorzuschicken. Da früher schon durch Ritthausen nachgewiesen worden ist, dass bei der Zersetzung des Conglutins durch eine Mineralsäure (verd. Schwefelsäure) Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin und Tyrosin entstehen, da ferner die gleichen Produkte bei der Zersetzung vegetabilischer Eiweisssubstanzen durch Salzsäure erhalten wurden<sup>1)</sup>, so konnte eine nähere Untersuchung der in der beschriebenen Weise aus dem Conglutin von uns erhaltenen Produkte behufs Identificirung derselben

<sup>1)</sup> Von Hlasiwetz und Habermann (l. c.) aus dem Legumin, von uns aus dem Kürbisglobulin.

kaum als nöthig betrachtet werden. Dass wir trotzdem für drei dieser Produkte, nämlich für Tyrosin, Leucin und Glutaminsäure eine solche Untersuchung ausgeführt haben, geschah, weil es nöthig war, diese Körper hinsichtlich ihrer Eigenschaften mit denjenigen zu vergleichen, welche bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser erhalten wurden. Ausserdem mussten wir festzustellen suchen, ob auch unter den Zersetzungsprodukten des Conglutins Phenylamidopropionsäure sich vorfinde.

1. Tyrosin. Dasselbe wurde nach dem von Hlasiwetz und Habermann angegebenen Verfahren gereinigt. Es wich im Aussehen nicht vom gewöhnlichen Tyrosin ab und gab sowohl die Hoffmann'sche, wie die Piria'sche Reaction. In Uebereinstimmung mit den von J. Mauthner<sup>1)</sup> gemachten Angaben erwies es sich als optisch wirksam; eine Lösung von 1 gr. Substanz in 4procentiger Salzsäure, auf 20 cbcm. gebracht, drehte im Soleil-Ventzke'schen Apparat im 200 mm. Rohr  $4,5^\circ$  nach links. Daraus berechnet sich  $\alpha_D = -15,6$ . Eine Lösung von 1 gr. Substanz in 21 proc. Salzsäure dagegen drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen nur  $2,4-2,5^\circ$  nach links; daraus berechnet sich  $\alpha_D = 8,48^2)$ . Das Drehungsvermögen verringerte sich also mit steigender Concentration der zur Auflösung des Tyrosins verwendeten Salzsäure.

Um die Löslichkeit des Präparats in Wasser zu bestimmen, wurde eine Portion desselben mehrere Tage lang unter häufigem Umschütteln mit kaltem Wasser in Berührung gelassen. Von der abfiltrirten Lösung wurden abgewogene Antheile in Platinschälchen eingedampft, der Rückstand bei  $100^\circ$  getrocknet und gewogen. Wir erhielten so folgende Resultate:

1. 67,970 gr. Lösung (bei  $20^\circ$ ) gaben 0,0325 gr. Rückstand.
2. 59,593 gr. Lösung (bei  $20^\circ$ ) gaben 0,0284 gr. Rückstand.

1) Jahresbericht für Thierchemie, 1882, S. 81.

2) Diese letztere Zahl liegt derjenigen nahe, welche Mauthner für Tyrosin anderer Herkunft in einer salzsauren Lösung (dargestellt unter Anwendung von Salzsäure gleicher Concentration) fand.



1 Theil Substanz hatte demnach im Mittel 2094 Theile Wasser von 20° zur Lösung bedurft. Diese Zahl liegt ziemlich nahe derjenigen, welche Städeler<sup>1)</sup> früher für Tyrosin gefunden hat, differirt dagegen mehr von der von Erlenmeyer und Lipp gefundenen Löslichkeit (1 Theil Substanz in 2491 Theilen Wasser<sup>2)</sup>).

Für ein zweites Präparat wurde eine Löslichkeit von 1:1944 (bei 19—20°) gefunden.

2. Glutaminsäure. Die aus ihrer Salzsäure-Verbindung abgeschiedene Säure krystallisirte in einigen Fällen in stark glänzenden Tetrædern; rhombische Tetræder bilden aber bekanntlich eine charakteristische Krystallform der Glutaminsäure. Die durch Ueberführung in das Kupfersalz und Wiederabscheidung aus demselben (mittelst Schwefelwasserstoff) gereinigte Säure krystallisirte in kleinen glänzenden Blättchen (das Gleiche haben wir bei Glutaminsäure anderer Herkunft beobachtet). Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode gab für zwei verschiedene Präparate folgende Zahlen:

1. 0,3430 gr. Substanz gaben 0,032357 gr. N (= 8,25 cbcm. Barytwasser b).
2. 0,3505 gr. Substanz gaben 0,033783 gr. N (= 8,45 cbcm. Barytwasser a).

Berechnet für:	Gefunden:	
$C^5H^9NO^4$	1.	2.
N     9,52%	9,43%	9,63%

Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens im Soleil-Ventzke'schen Apparat gab folgende Resultate:

1. Eine Lösung von 1 gr. Substanz in 15 procentiger Salzsäure, auf 20 cbcm. gebracht, drehte bei 15° im 200 mm. Rohr 9,3° nach rechts.
2. Eine Lösung von 0,998 gr. von einem anderen Präparat in 20 cbcm. verdünnter Salzsäure drehte 9° nach rechts.

Daraus berechnet sich im Mittel  $\alpha_D = +31,7$ . Ritthausen und Rellstab<sup>3)</sup> haben für eine salpetersaure Lösung der Glutaminsäure  $\alpha_D = +34,7$  gefunden.

1) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 116, S. 57.

2) Ebendaselbst, Bd. 219, S. 173.

3) Journal für praktische Chemie, Bd. 107, S. 239.

Aus einer Lösung unserer Säure in heisser concentrirter Salzsäure krystallisirte bald nach dem Erkalten in glänzenden kleinen Tafeln die Salzsäureverbindung. Wurde eine Lösung der Säure mit Kupferoxydhydrat gesättigt und dann eingedunstet, so schied sich schon in der Wärme das charakteristische Kupfersalz der Glutaminsäure als schweres blaues Krystallpulver aus.

3. Leucin. Um ein reines Leucinpräparat herzustellen, verfahren wir in folgender Weise: Das Rohleucin mit Ausschluß der letzten Krystallisationen wurde aus verdünntem, ammoniakhaltigem Weingeist umkrystallisirt, die so erhaltene, aus kleinen Blättchen bestehende Krystallmasse, welche wohl schon an und für sich ein ziemlich reines Leucinpräparat darstellte, in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferoxydhydrat gesättigt. Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche wir nach dem Abfiltriren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zersetzten. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Lösung wurde zur Krystallisation verdunstet, das resultirende Produkt sodann noch aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. So erhielten wir ein Präparat, welches aus weissen, atlasglänzenden Blättern bestand und vollkommen das Verhalten des Leucins zeigte. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,3160 gr. gaben 0,033729 gr. N (= 8,6 chem. Barytwasser b).
2. 0,3096 gr. gaben 0,032160 gr. N (= 8,2 chem. Barytwasser b).

Berechnet für	Gefunden:	
$C^6H^{13}NO^2$	1.	1.
N     10,69 <sub>0</sub>	10,67 <sub>0</sub>	10,39 <sub>0</sub>

Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens gab folgende Resultate:

1. Eine Lösung von 1 gr. Substanz in 19 procentiger Salzsäure, auf 20 ccm. gebracht, drehte im 200 mm. Rohr 5,0°. S.-V. nach rechts.
2. Eine Lösung von 1 gr. Substanz von einem zweiten Präparat in 20 ccm. mit 15 procent. Salzsäure drehte 5,0°. S.-V. nach rechts.

Daraus berechnet sich  $\alpha_D = +17,3^1$ .

---

<sup>1)</sup> Die Zahl liegt der von J. Mauthner (diese Zeitschrift, Bd. VII, S 2:2) gefundenen sehr nahe. In wässriger Lösung ist Leucin links-



Zur Bestimmung der Löslichkeit wurde eine Portion der Krystalle mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Quantität Wasser schwach erwärmt, sodann ca. zwei Tage lang bei gewöhnlicher Temperatur damit in Berührung gelassen; der Substanzgehalt der so erhaltenen Lösungen wurde durch Eindampfen abgewogener Antheile in einem Platinschälchen oder einem Glasgefäß in bekannter Weise bestimmt. Es ergaben sich folgende Zahlen:

1. 7,045 gr. Lösung (bei 22°) gaben 0,169 gr. Rückstand.
2. 7,008 gr. einer zweiten Lösung gaben 0,168 gr. Rückstand.

Ein Theil Substanz bedurfte demnach im Mittel zur Lösung 41 Theile Wasser (bei 22°).

Für ein zweites Präparat der gleichen Substanz wurde (im Mittel von zwei in der gleichen Weise ausgeführten Bestimmungen) eine Löslichkeit von 1 Theil Substanz in 37 Theilen Wasser gefunden. Diese Differenz lässt sich nicht auf die Art und Weise, in welcher die Bestimmungen ausgeführt wurden, zurückzuführen (denn es wurde die nöthige Sorgfalt auf die Versuche verwendet und die Einzelbestimmungen differirten untereinander nur wenig); sie kann wohl nur durch die Annahme erklärt werden, dass die beiden zur Verwendung gekommenen Präparate (welche beide schön krystallisirt waren) nicht ganz den gleichen Reinheitsgrad besaßen. Es scheint, dass sehr geringe Beimengungen die Löslichkeit des Leucins<sup>1)</sup> stark beeinflussen<sup>2)</sup>.

4. Phenylamidopropionsäure. Nachdem constatirt worden war, dass das Rohleucin bei der Oxydation mittelst Chromsäuremischung Benzoësäure lieferte, versuchten wir aus den letzten Krystallisationen derselben nach dem früher schon beschriebenen Verfahren Phenyl-

drehend, wie zuerst von J. Lewkowitsch (Berliner Berichte, Bd. 17, S. 1439) beobachtet worden ist.

<sup>1)</sup> Das Gleiche gilt wohl für andere Amidosäuren.

<sup>2)</sup> Für Leucin wird in der Regel eine Löslichkeit von 1 Theil in 27 Theilen kalten Wassers angegeben. Doch haben sowohl Hüfner wie Nencki Präparate von natürlichem Leucin unter Händen gehabt, von welchen 1 Theil mehr als 40 Theile kalten Wassers zur Lösung bedurfte (man vergleiche Fehling's Handwörterbuch der Chemie).

amidopropionsäure zu gewinnen. Jene Krystallisationen wurden zunächst einmal unter möglichster Vermeidung von Verlusten (also unter Aufarbeitung aller Mutterlaugen) aus Wasser umkrystallisirt, dann in heissem Wasser gelöst; in die Lösung wurde eine zur Sättigung nicht ganz hinreichende Quantität von Kupferoxydhydrat eingetragen, Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und sodann mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Die vom Schwefelkupfer ablaufende Lösung wurde wieder mit Kupferoxydhydrat erhitzt, die dabei erhaltene Kupferverbindung ebenso wie vorhin behandelt; die nun resultirende Amidosäurelösung wurde einer fraktionirten Fällung mit Kupferacetat unterworfen. Die aus den zuerst ausgefallenen Kupferverbindungen abgeschiedenen Amidosäuren brachten wir zur Krystallisation und verwendeten sie sodann für die Elementar-Analyse. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

1. Substanz A aus Fällung I: 0,20405 gr. gaben 0,4718 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1475 gr. H<sub>2</sub>O.
2. Substanz B aus Fällung II: 0,2040 gr. gaben 0,4500 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1475 gr. H<sub>2</sub>O.

	A, aus Fällung I:	B, aus Fällung II:
C	62,92 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	60,15 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>
H	7,03 %	8,03 %
N	—	—
O	—	—

Die Zusammensetzung der beiden analysirten Substanzen weicht von derjenigen des Leucins und seiner Homologen sehr weit ab, da diese Körper auf den gleichen Kohlenstoffgehalt weit mehr Wasserstoff enthalten<sup>1)</sup>; sie entspricht dagegen der Annahme, dass ein Gemenge von Leucin und Phenylamidopropionsäure vorlag: Der C- und H-Gehalt von Substanz A würde z. B. mit demjenigen eines Gemenges von 75 Theilen Phenylamidopropionsäure und 25 Theilen Leucin

<sup>1)</sup> Leucin enthält z. B. 54,96<sup>0</sup>/<sub>10</sub> C und 9,92<sup>0</sup>/<sub>10</sub> H, Amidocaprylsäure 60,60<sup>0</sup>/<sub>10</sub> C und 10,70<sup>0</sup>/<sub>10</sub> H. Tyrosin fand sich in den für die Analyse benutzten Präparaten höchstens in Spuren vor. (Die Lösung des einen Präparats gab mit Millon'schem Reagenz ganz schwache Rothfärbung.)



(welches 62,83% C und 7,48% H enthält) sehr nahe übereinstimmen. Einer solchen Annahme entsprach auch das Verhalten, welches jene Substanzen beim Erhitzen im Probierrohr zeigten; dieses Verhalten glich demjenigen, welches von einer Gemenge der beiden oben genannten Amidosäuren zu erwarten ist.

Aus den Ergebnissen der oben aufgeführten Analysen ist zu schliessen, dass hier (ebenso wie bei dem analogen Produkt aus Kürbisglobulin) die Phenylamidopropionsäure durch das Kupferacetat früher ausgefällt wurde, als das Leucin; denn beide analysirte Substanzen weichen in der Zusammensetzung weit vom Leucin ab; ferner nähert sich die mit A bezeichnete (erhalten aus der ersten Fraction des Kupferniederschlags) in ihrer Zusammensetzung weit mehr der Phenylamidopropionsäure, als die Substanz B, (welche aus der zweiten Fraction des Kupferniederschlags gewonnen wurde). Es ist daher wahrscheinlich, dass wir reine Phenylamidopropionsäure erhalten haben würden, wenn wir die fractionirte Fällung öfters hätten wiederholen können. Leider reichte die Substanzmenge dazu nicht hin.

Der sichere Beweis dafür, dass unter den bei Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure erhaltenen Produkten Phenylamidopropionsäure sich vorfindet, ist daher von uns nicht beigebracht worden; doch kann ihr Vorhandensein unter jenen Produkten im Hinblick auf die von uns mitgetheilten That-sachen wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden.

### III. Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser<sup>1)</sup>.

Die beim Erhitzen von Eiweissstoffen mit Barytwasser entstehenden Produkte sind, wie früher schon erwähnt wurde, von Schützenberger untersucht worden. Der genannte Forscher führte das Erhitzen in einem Gefäss aus, welches aus einem ausgebohrten Gussstahlblock hergestellt und mit luftdicht schliessendem Deckel versehen war.

<sup>1)</sup> Für die ersten Parallelversuche (Zersetzung durch Salzsäure und Zersetzung durch Barytwasser) verwendeten wir von uns selbst dargestelltes Conglutin, für die späteren ein Gemenge von solchen mit

Da uns ein solcher Apparat nicht zur Verfügung stand, so verwendeten wir für den gleichen Zweck ein cylindrisches, innen verzinnertes, kupfernes Gefäss, versehen mit einem aus dem gleichen Material hergestellten Deckel, welcher durch einen Ring aus Kautschukzeug gedichtet und durch Schrauben angepresst wurde. Nachdem das Gefäss seine Füllung (in der Regel 250 gr. lufttrockenes Conglutin, 750 gr. krystallisiertes Barythydrat und 1000 gr. Wasser) erhalten hatte, wurde es in einem Paraffinbad ca. vier Tage lang auf 150 bis 160° erhitzt. Als nach dem Erkalten das Gefäss geöffnet wurde, stellte der Inhalt derselben eine gelb-braune Flüssigkeit dar, aus welcher sich unlösliche Baryumverbindungen (Baryumcarbonat und Baryumoxalat) und Krystalle von Barythydrat ausgeschieden hatten. Nachdem letztere durch Erwärmen wieder in Lösung übergeführt worden waren, wurde der ganze Inhalt des Gefässes in eine grosse Porzellanschale gebracht und über freiem Feuer so lange erwärmt, bis nur noch schwacher Ammoniakgeruch bemerklich war. Dann setzten wir so viel Schwefelsäure zu, dass das Baryum vollständig oder doch bis auf einen geringen Rest ausgefällt war, filtrirten, wuschen den Niederschlag mit heissem Wasser nach, dunsteten das Filtrat soweit ein, dass nach dem Erkalten das Tyrosin auskrystallisirte. Die von letzterem abfiltrirte, stark braun gefärbte Mutterlauge lieferte bei weiterem Eindampfen Krystallisationen, welche vorzugsweise aus Leucin bestanden (wir wollen sie auch hier als Rohleucin bezeichnen); sie wurden mit Hülfe der Wasserluftpumpe abfiltrirt, mit verdünntem Weingeist gewaschen und zwischen Filtrirpapier stark abgepresst. Da denselben möglicherweise noch etwas Glutaminsäure beigemischt sein konnte, so wurden sie wieder in Wasser gelöst, die heisse Lösung mit etwas

---

dem von G. Grübler bezogenen Präparat. Im letzteren Falle war das für die Zersetzung durch Salzsäure einerseits und für die Zersetzung durch Barytwasser andererseits verwendete Rohmaterial genau gleicher Qualität — im ersteren Falle nur insofern nicht, als verschiedene nacheinander aus der gleichen Lupinensorte von uns dargestellte Präparate zur Verwendung kamen.



Baryumcarbonat behandelt (um Glutaminsäure in das leicht lösliche Baryumsalz zu verwandeln) und nach dem Filtriren wieder zur Krystallisation verdunstet, das nun erhaltene reinere Produkt wie früher behandelt (die übrig bleibende, der Menge nach nur geringe Mutterlauge wurde mit der früher erhaltenen vereinigt). Die vom Rohleucin abfiltrirte Mutterlauge, welche noch einen Theil des Leucins, ausserdem noch viel Glutaminsäure enthielt, wurde mit Wasser verdünnt, in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt, sodann mit Bleiessig in kleinen Antheilen versetzt; Zweck dieser Massregel war, zu versuchen, ob durch das genannte Fällungsmittel Asparaginsäure niedergeschlagen werden konnte. Der so erhaltene Bleiniederschlag wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelblei abfiltrirte Flüssigkeit eingedunstet. Sie lieferte Krystalle, jedoch gemengt mit etwas syrupförmiger Substanz; letztere liess sich durch Auskochen mit Alkoholt grösstentheils entfernen. Das Vorhandensein von Asparaginsäure in dieser Krystallisation liess sich jedoch nicht nachweisen; entweder fehte diese Säure ganz, oder sie war nicht von den daneben vorhandenen Substanzen zu trennen. Der grösste Theil jener Krystallisation bestand wahrscheinlich aus Glutaminsäure<sup>1)</sup>.

Das vom Bleiessigniederschlag abgelaufene Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei und Kupfer befreit und sodann in der Wärme mit Baryumcarbonat behandelt, um die in grosser Menge vorhandene Glutaminsäure in das Baryumsalz überzuführen. Die filtrirte Lösung lieferte, nachdem sie auf ein geringes Volumen eingedunstet worden war, zunächst noch eine der Menge nach nicht bedeutende Ausscheidung, welche im Aussehen und Verhalten den leucin-

<sup>1)</sup> Aus der oben beschriebenen Substanz wurde ein Kupfersalz dargestellt. In der aus letzterem abgeschiedenen Amidosäure wurden im Mittel aus zwei Bestimmungen 9,37% N gefunden (Glutaminsäure enthält 9,53% N). Aus einer Auflösung der Substanz in überschüssiger heisser concentrirter Salzsäure schied sich nach dem Erkalten eine krystallinische Verbindung aus.

haltigen Krystallisationen glich, auch noch etwas Tyrosin einschloss; sie wurde durch Filtration entfernt. Aus der übrigbleibenden Flüssigkeit fällten wir nun das glutaminsaure Baryum durch Weingeist aus. Dabei verfahren wir ganz ebenso, wie bei der Gewinnung des gleichen Salzes aus der durch Einwirkung von Salzsäure auf Conglutin erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit (man vergl. oben S. 94). Das glutaminsaure Baryum wird, wie dort erwähnt worden ist, zunächst in Form einer syrupförmigen Ausscheidung gewonnen, welche ohne Zweifel neben jenem Salz in geringer Menge noch andere Substanzen einschliesst. Wir lösten dieselbe in Wasser, fällten das Baryum durch Schwefelsäure aus und dunsteten das Filtrat im Wasserbade bis zum dünnen Syrup ein. Letzterer lieferte eine reichliche, krystallinische Ausscheidung. Um ein reineres Produkt zu erhalten, lösten wir sowohl die Krystalle wie die (zuvor verdunstete) Mutterlauge in der Wärme in überschüssiger, concentrirter Salzsäure. Einige Zeit nach dem Erkalten begann aus der Flüssigkeit salzsaure Glutaminsäure sich abzuscheiden. Sie wurde nach ca. 8-täg. Stehen auf einem Zeugfilter abfiltrirt, mit kalter, concentrirter Salzsäure gewaschen, zuerst über Aetzkali, dann in der Wärme getrocknet.

Die vom glutaminsauren Baryum abgegossene weingeistige Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten noch eine ziemlich beträchtliche Quantität von Rohleucin. Schliesslich blieb eine der Menge nach nicht bedeutende syrupartige Mutterlauge über, aus welcher erst nach mehrwöchentlichem Stehen etwas Festes sich ausschied; die darin vorhandenen Stoffe haben wir nicht mehr zu gewinnen gesucht.

In der beschriebenen Weise erhielten wir aus 100 Gewichtstheilen Conglutin im Mittel 2,4 Gewichtstheile Tyrosin und 14,2 Gewichtstheile Rohleucin<sup>1)</sup> (in Betreff des Werths dieser Zahlenangaben verweisen wir auf das früher Gesagte).

<sup>1)</sup> Zahlenbelege: a) 218 gr. Conglutin (= 250 gr. lufttrocken) gaben 5,3 gr. = 2,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Tyrosin und 32 gr. = 14,7<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Rohleucin. b) 218 gr. Conglutin gaben 30 gr. = 13,8<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Rohleucin. c) 157 gr. Conglutin (= 180 gr. lufttrocken) gaben 3,9 gr. = 2,48<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Tyrosin und 22,1 gr. = 14,1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Rohleucin.



Die Ausbeute an Glutaminsäure lässt sich nicht genau angeben. Das Gewicht der bei Zerlegung des glutaminsauren Baryums erhaltenen Krystallisation, welche allem Anscheine nach hauptsächlich aus Glutaminsäure bestand, betrug ungefähr 12% vom Gewicht des angewendeten Conglutins, wir haben sie aber, wie oben erwähnt wurde, zur Reinigung noch in die Salzsäureverbindung übergeführt. Die in letzterer Form erhaltene Glutaminsäurequantität war beträchtlich geringer; sie betrug nur ungefähr 7% vom Conglutin.

Jedenfalls aber war auch bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser, ebenso wie bei der Zersetzung durch Salzsäure, Glutaminsäure in sehr beträchtlicher Quantität entstanden<sup>1)</sup>.

1) Bei der oben beschriebenen Darstellungsweise sind, wie aus den von uns gemachten Angaben zu ersehen ist, die aus dem Conglutin entstehenden Produkte der Einwirkung des Barytwassers bei einer Temperatur von 150—160° unter Druck ausgesetzt. Es fragt sich, ob dabei nicht Amidosäuren unter Ammoniakbildung in die entsprechenden Oxy-säuren übergehen können. Nach den von Schützenberger gemachten Mittheilungen ist solches kaum der Fall; denn derselbe gibt an, bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Barytwasser keine anderen stickstofffreien organischen Säuren erhalten zu haben, als Oxalsäure, Essigsäure und Spuren von Ameisensäure, Bernsteinsäure und Milchsäure. Es schien uns jedoch wünschenswerth, selbst einige Versuche anzustellen. Die bei Verarbeitung von 250 gr. lufttrockenen Conglutins erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit wurde (nach Ausfällung des Baryums) mit Schwefelsäure angesäuert und in einem Stöpselcylinder mehrere Male mit Aether ausgeschüttelt. Die vereinigten ätherischen Auszüge wurden eingedunstet, es blieb ein der Menge nach nicht bedeutender Rückstand; wir nahmen denselben mit Wasser auf, wobei ein fettartiger Körper ungelöst blieb und versetzten die filtrirte Lösung mit Bleizucker. Der Bleiniederschlag wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelblei abfiltrirte Lösung in einem gewogenen Schälchen zur Trockene verdunstet. Der so erhaltene Rückstand wog nur 0,185 gr.

Bernsteinsäure oder Säuren aus der Aepfelsäure-Reihe konnten sich möglicherweise auch in dem Niederschlage vorfinden, welcher bei der Prüfung auf Asparaginsäure in der zuvor mit Kupferoxydhydrat gesättigten Zersetzungsflüssigkeit durch Zusatz von Bleiessig hervorgebracht wurde (wie oben näher beschrieben worden ist). Die bei Zersetzung dieses Niederschlags (durch Schwefelwasserstoff) erhaltene Lösung wurde

Zur Mittheilung der Resultate übergehend, welche bei der näheren Untersuchung der einzelnen in der beschriebenen Weise aus dem Conglutin dargestellten Amidosäuren erhalten wurden, haben wir zunächst zu erwähnen, dass diese Amidosäuren im Gegensatz zu den bei Zersetzung des gleichen Eiweissstoffs durch Salzsäure erhaltenen, sich sämtlich als optisch inaktiv erwiesen<sup>1)</sup>. Dieser Befund machte es wünschenswerth, dieselben auch in Bezug auf einige andere Eigenschaften zu untersuchen.

1. Tyrosin. Wir reinigten dasselbe nach den von Hlasiwetz und Habermann angegebenen Verfahren; da es auch nach solcher Behandlung noch gefärbt war, so lösten wir es in verdünnter Salzsäure, entfärbten die Lösung mit Thierkohle und fällten das Tyrosin dann durch Natrium-

eingedunstet, der Rückstand zweimal in der Wärme mit Alkohol extrahirt. Der so erhaltene Auszug wurde eingedunstet, der Rückstand in einem Gemisch von Aether und Alkohol aufgenommen, die filtrirte Lösung eingedunstet. Wir erhielten so einen Rückstand, welcher 0,57 gr. wog. Derselbe schien Bernsteinsäure zu enthalten; denn die neutralisirte wässrige Lösung gab mit Eisenchlorid einen braunen Niederschlag.

Aus den im Vorigen gemachten Angaben ist zu schliessen, dass Oxy Säuren, falls sie überhaupt vorhanden waren, doch jedenfalls nur in sehr zurücktretender Menge sich vorfanden.

Bernsteinsäure liess sich deutlicher nachweisen unter den Produkten, welche in einem anderen, nicht ganz korrekt verlaufenen Versuch erhalten wurden. In diesem Versuch war aus dem kupfernen Zersetzungsgefäss, welches das Conglutin und das Barytwasser enthielt, während des Erhitzens das Wasser vollständig verdunstet, weil der Deckel nicht luftdicht geschlossen hatte. Der Versuch wurde trotzdem fortgesetzt, nachdem neues Wasser hineingefüllt worden war. In der so erhaltenen Zersetzungsflüssigkeit entstand, als dieselbe nach dem Auskrystallisiren des Tyrosins und des meisten Leucins mit Kupferoxydhydrat gesättigt und dann mit Bleiessig versetzt wurde ein relativ starker Niederschlag. Von dem aus letzterem abgeschiedenen Säuregemenge wurde ein ziemlich grosser Theil durch Alkohol gelöst, die Lösung lieferte beim Verdunsten Krystalle, welche die Eigenschaften der Bernsteinsäure zeigten. Sie sublimirten beim Erhitzen im Proberohr; die neutralisirte wässrige Lösung gab mit Eisenchlorid einen braunen Niederschlag, mit Bleizucker eine weisse Fällung.

1) Eine ganz kurze Mittheilung darüber ist in den Berichten der deutschen Gesellschaft, Bd. 17, H. 12, gemacht worden.



acetat wieder aus. Schliesslich wurde es noch einmal in sehr verdünnter kochender Ammoniakflüssigkeit aufgelöst; aus der mit Salzsäure neutralisirten Lösung schied es sich während des Erkaltens in feinen glänzenden Nadeln wieder aus. Nach dem Abfiltriren und Trocknen bildete es eine lockere, glänzende Masse, im Aussehen mit dem gewöhnlichen Tyrosin übereinstimmend. Es gab sowohl die Hoffmannsche, wie die Piria'sche Reaction. Weder die Salzsäure, noch die alkalische, mit Hülfe von etwas Natronlauge hergestellte, Lösung war optisch activ. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Zahlen:

1. 0,3046 gr. Substanz gaben 0,02314 gr. N (= 5,9 cbcm. Barytwasser b).
2. 0,3106 gr. Substanz gaben 0,023916 gr. N (= 6,1 cbcm. Barytwasser b).

	Berechnet für	Gefunden:	
$C_9H_{11}NO_3$		1.	2.
N	7,73%	7,60%	7,70%

Die Bestimmung der Löslichkeit, ausgeführt in derselben Weise wie bei den mittelst Salzsäure aus Conglutin dargestellten Tyrosin, gab folgende Resultate<sup>1)</sup>:

1. 54,197 gr. Lösung (hergestellt bei 21°) gaben 0,0155 gr. Rückstand.
2. 51,938 gr. einer zweiten Lösung (hergestellt bei 22°) gaben 0,0150 gr. Rückstand.

Im Mittel hatte demnach 1 Theil Substanz 3458 Theile Wasser von 21—22° zur Lösung bedurft; die Löslichkeit unseres Präparates war also geringer, als die des gewöhnlichen Tyrosins (man vergleiche die für letzteres früher auf Seite 99 angegebenen Zahlen). Für ein zweites Präparat wurde eine Löslichkeit von 1:3200 (bei 17½°) gefunden.

2. Glutaminsäure. Die aus der Salzsäureverbindung abgeschiedene Säure wurde in das Kupfersalz übergeführt, letzteres durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die so gereinigte Säure aus Wasser umkrystallisirt. Sie schied sich aus der wässerigen Lösung in kleinen Blättchen aus; tetraëdrische Krystalle haben wir niemals erhalten. Die Elementar-Analyse,

<sup>1)</sup> Das für diese Versuche benutzte Tyrosinpräparat war zuvor noch einmal aus Wasser umkrystallisirt worden, das zweite Präparat nicht.

für welche zwei wiederholt umkrystallisirte Präparate verwendet wurden, gab folgende Resultate:

1. 0,2369 gr. Substanz gaben 0,3535 gr.  $\text{CO}_2$  und 0,1320 gr.  $\text{H}_2\text{O}$ .
2. 0,3080 gr. Substanz gaben 0,029611 gr. N (= 7,55 chem. Barytwasser b).
3. 0,2303 gr. Substanz gaben 0,021989 gr. N (= 5,5 chem. Barytwasser a).

	Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$	Gefunden:		
		1.	2.	3.
C	40,81%	40,69%	—	—
H	6,12 "	6,19 "	—	—
N	9,53 "	—	9,61%	9,50%
O	43,54 "	—	—	—

Weder in salzsaurer und in alkalischer, noch in wässriger Lösung zeigte die Säure optische Wirksamkeit.

Die Bestimmung der Löslichkeit lieferte folgende Zahlen:

1. 19,121 gr. Lösung (bei  $19^\circ$ ) gaben 0,4019 gr. Rückstand.
2. 14,660 gr. Lösung (bei  $20^\circ$ ) gaben 0,3292 gr. Rückstand.

1 Theil Substanz bedurfte demnach im Mittel 45 Theile Wasser von  $19-20^\circ$  zur Lösung. Unsere Säure ist also leichter löslich, als die gewöhnliche Glutaminsäure, von welcher 1 Theil sich in ungefähr 100 Theilen kalten Wassers auflöst.

Aus der mit Kupferoxydhydrat gesättigten Lösung der Säure schied sich das Kupfersalz in der Regel schon während des Eindunstens der Flüssigkeit als schweres blaues Krystallpulver aus, im Aussehen vom gewöhnlichen glutaminsauren Kupfer nur wenig abweichend. Die Analyse gab Zahlen, welche der Formel  $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_4\text{Cu} + 3\text{H}_2\text{O}$  entsprechen.

1. 1,0610 gr. lufttrockener Substanz gaben 0,3162 gr.  $\text{CuO}$ .
2. 0,5255 gr. lufttrockener Substanz verloren beim Trocknen bei  $110^\circ$  0,1055 gr. an Gewicht.

	Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_4\text{Cu} + 3\text{H}_2\text{O}$	Gefunden:
$\text{H}_2\text{O}$	20,6%	20,1%
Cu	24,2 "	23,8 "

Von der gewöhnlichen Glutaminsäure existiren nach den von Ritthausen u. A. gemachten Angaben Kupfersalze mit 2,  $2\frac{1}{2}$  und 3 Molekülen Wasser.



3. Leucin. Zur Darstellung eines reinen Leucinpräparates verfahren wir ganz ebenso wie zur Isolirung eines solchen aus den mittelst Salzsäure erhaltenen Zersetzungsprodukten des Conglutins. Die ersten Portionen des Rohleucins (ungefähr  $\frac{2}{3}$  vom Gesamtgewicht des letzteren ausmachend) wurden aus ammoniakhaltigem, verdünntem Weingeist umkrystallisirt, das so erhaltene Produkt in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferoxydhydrat annähernd gesättigt, die ausgeschiedene Kupferverbindung durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die daraus gewonnene Amidosäure wiederholt umkrystallisirt. Dieselbe glich im Aussehen dem gewöhnlichen Leucin; doch war der Habitus der Krystalle nicht völlig der gleiche. Sie erwies sich sowohl in wässriger, wie in salzsaurer und in alkalischer Lösung<sup>1)</sup> als optisch inaktiv. Die Elementar-Analyse lieferte folgende Resultate:

1. 0,2015 gr. Substanz gaben 0,4065 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1812 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,2225 gr. Substanz (von einem anderen Präparat) gaben 0,448 gr. CO<sub>2</sub> und 0,201 gr. H<sub>2</sub>O.
3. 0,2245 gr. Substanz gaben 0,024188 gr. N (= 6,05 cem. Barytwasser a).

	Berechnet für C <sup>6</sup> H <sup>13</sup> NO <sup>2</sup>	Gefunden:		
		1.	2.	3.
C	54,96 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	55,01 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	54,83 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	—
H	9,92 «	9,99 «	10,03 «	—
N	10,69 «	—	—	10,77 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
O	24,43 «	—	—	—

Die Bestimmung der Löslichkeit, ausgeführt in derselben Weise wie bei dem mittelst Salzsäure aus Conglutin dargestellten Leucin lieferte folgende Resultate:

1. 5,425 gr. Lösung gaben 0,0505 gr. Rückstand.
2. 3,1622 einer zweiten Lösung gaben 0,0295 gr. Rückstand.

1 Theil Substanz bedurfte demnach im Mittel 106,5 Theile Wasser von Zimmertemperatur<sup>2)</sup> zur Lösung.

<sup>1)</sup> Die alkalische Lösung wurde mit Hülfe von etwas Natronlauge hergestellt.

<sup>2)</sup> Wir vermögen die Temperatur nicht genauer anzugeben, weil die betreffende Notiz verloren wurde. Doch war diese Temperatur jedenfalls nur wenig verschieden von derjenigen, bei welcher in den anderen, oben aufgeführten Versuchen die Lösungen hergestellt wurden.

Für ein zweites, gleichfalls sehr schön krystallisirtes Präparat der gleichen Substanz, welches bei der Elementaranalyse richtige Zahlen gab, wurden folgende Zahlen gefunden:

1. 7,5373 gr. Lösung (bei 18°) gaben 0,0766 gr. Rückstand.
2. 13,674 gr. Lösung (bei 17°) gaben 0,1410 gr. Rückstand.

1 Theil Substanz bedurfte also im Mittel 96,7 Theile Wasser von 17—18° zur Lösung.

Die nicht unbeträchtliche Differenz, welche in der Löslichkeit der bei den Präparate sich zeigte, ist wohl hauptsächlich darauf zurückzuführen, dass dieselben nicht ganz den gleichen Reinheitsgrad besaßen (sehr geringe Beimengungen scheinen die Löslichkeit der Amidosäuren stark zu beeinflussen, wie schon früher von uns hervorgehoben worden ist). Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die Löslichkeit beider Präparate noch etwas geringer geworden wäre, wenn wir dieselben noch wiederholt umkrystallisirt hätten.

Jedenfalls aber besaß dieses optisch inaktive Leucin eine bedeutend geringere Löslichkeit, als das mittelst Salzsäure aus dem Conglutin erhaltene Leucin. Auch alle übrigen bis jetzt untersuchten Präparate von natürlichem (aus Eiweissstoffen etc. dargestelltem) Leucin wurden als leichter löslich befunden.

Wurde in die heisse wässerige Lösung unseres Leucins Kupferoxydhydrat eingetragen, so schied sich schon in der Wärme eine krystallinische Kupferverbindung so vollständig aus, dass die darüberstehende Flüssigkeit ganz farblos wurde. Das Gleiche war der Fall, als der heissen wässerigen Lösung Kupferacetatsolution zugesetzt wurde; das so erhaltene Leucinkupfer war demnach durch Schwerlöslichkeit ausgezeichnet. Im Aussehen wich dasselbe von der Kupferverbindung des gewöhnlichen Leucins nicht ab.

4. Phenylamidopropionsäure. Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass in demjenigen Antheil der bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser erhaltenen Produkte, welchen wir als Rohleucin bezeichnet haben, als Hauptbestandtheil ein Leucin sich



vorfindet. Unsere weiteren Versuche sollten hauptsächlich entscheiden, ob neben demselben auch Phenylamidopropionsäure vorhanden sei. Zu diesem Zweck haben wir zunächst die Stoffmenge, welche nach Abscheidung der im Vorigen beschriebenen Substanz aus dem Rohleucin noch übrig blieben, der Elementar-Analyse unterworfen und auf ihr Verhalten untersucht.

Die blaue Flüssigkeit, welche von der für die Reindarstellung des Leucins verwendeten Kupferverbindung abfiltrirt war, wurde durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und dann fast bis zur Trockene eingedunstet. Das so erhaltene Produkt glich im Aussehen und im Verhalten dem unreinen Leucin; Tyrosin war darin jedenfalls nur in sehr geringer Menge vorhanden, denn es löste sich ziemlich leicht in warmem Wasser und diese Lösung gab mit Millon'schem Reagens nur sehr schwache Rothfärbung. Die Elementar-Analyse gab folgende Resultate<sup>1)</sup>:

0,2711 gr. Substanz gaben 0,5540 gr. CO<sub>2</sub> = 55,73<sub>0</sub>% C und 0,2310 gr. H<sub>2</sub>O = 9,47<sub>0</sub>% H.

Demnach enthielt diese Substanz etwas mehr Kohlenstoff, weniger Wasserstoff, als Leucin.

Für weitere Versuche wurden die letzten Krystallisationen des Rohleucins verwendet, welche dem Gewicht nach ungefähr  $\frac{1}{3}$  von der Gesamtmenge ausmachten. Sie wurden zunächst unter möglichster Vermeidung von Verlusten (also unter Aufarbeitung aller Mutterlaugen) zweimal aus Wasser umkrystallisirt<sup>2)</sup>. Die so erhaltene, nur noch schwach gelb gefärbte Substanz glich im Aussehen dem ganz unreinen Leucin. Die wässerige Lösung derselben war nicht deutlich sauer (Glutaminsäure konnte demnach nur in geringer Menge

<sup>1)</sup> Das analysirte Präparat enthielt 0,5<sub>0</sub>% Asche. Die obigen Zahlen sind auf aschefreie Substanz umgerechnet.

<sup>2)</sup> Die verschiedenen während dieser Reinigungsoperation erhaltenen Krystallisationen wurden auf Filter gebracht, mit verdünntem Weingeist gewaschen, dann unter Benutzung einer kleinen Schraubenpresse zwischen Fließpapier möglichst stark abgepresst. So gelingt es, die Mutterlauge ziemlich vollständig zu entfernen.

vorhanden sein); sie gab beim Erwärmen mit Millon'schem Reagens nur noch sehr schwache Rothfärbung (Tyrosin fand sich also nur in Spuren vor). Bei der Oxydation durch Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure lieferte sie eine im Aussehen und Verhalten mit Benzoësäure übereinstimmende Säure. Das Silbersalz derselben, im Aeusseren vollständig dem benzoësauren Silber gleichend, hinterliess beim Glühen 46,91 % Ag<sup>1)</sup>, während die Formel:



47,16% Ag verlangt.

Die Elementar-Analyse der im Vorigen beschriebenen Substanz gab folgende Resultate<sup>2)</sup>:

1. 0,2235 gr. Substanz gaben 0,4630 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1932 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,2100 gr. Substanz gaben 0,4340 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1805 gr. H<sub>2</sub>O.
3. 0,3296 gr. Substanz gaben 0,032945 gr. N (= 8,4 cbcm. Barytwasser b).

	Gefunden:		
	1.	2.	3.
C	56,49 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	56,36 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	—
H	9,60 «	9,55 «	—
N	—	—	10,00 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
O	—	—	=

Der C-Gehalt war demnach um etwa 1 1/2 % höher, der H-Gehalt um fast 0,5 % niedriger, als beim Leucin. Da die analysirte Substanz bei der Oxydation Benzoësäure lieferte so liess sich vermuthen, dass sie Phenylamidopropionsäure einschloss; dass daneben auch noch Leucin sich vorfand, war von vorneherein anzunehmen (der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme wird später noch beigebracht werden).

Man durfte demnach vermuthen, dass die analysirte Substanz im Wesentlichen ein Gemenge von Leucin und Phenylamidopropionsäure sei. Ihre Elementar-Zusammensetzung würde in der That mit derjenigen eines Gemenges von 85 Theilen Leucin und 15 Theilen Phenylamidopropion-

<sup>1)</sup> 0,1620 gr. Substanz hinterliessen beim Glühen 0,0760 gr. Ag (das letztere löste sich in Salpetersäure, ohne einen kohligen Rückstand zu lassen).

<sup>2)</sup> Die Substanz enthielt 0,23<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Asche, welche oben in Abzug gebracht ist.



säure ziemlich genau übereinstimmen; denn ein solches Gemenge enthält 56,54% C, 9,43% H und 10,35% N (dieser nahen Uebereinstimmung ist freilich deshalb keine grosse Beweiskraft beizulegen, weil es möglich ist, dass jene Substanz auch noch andere Amidosäuren einschloss).

Um die Phenylamidopropionsäure, deren Vorhandensein in der fraglichen Substanz vermuthet werden musste, zur Abscheidung zu bringen, versuchten wir zunächst die Anwendung desjenigen Verfahrens, vermittelt dessen wir die genannte Säure aus dem bei Zersetzung des Kürbisglobulins erhaltenen Stoffgemenge gewonnen hatten; wir lösten jene Substanz in heissem Wasser, erhitzen die Lösung mit Kupferoxydhydrat, zersetzten die so gewonnene Kupferverbindung, nach dem Abfiltriren und Auswaschen, durch Schwefelwasserstoff und suchten aus der so erhaltenen Amidosäuren-Lösung durch fraktionirte Fällung mittelst Kupferacetat Phenylamidopropionsäure zu isoliren. Wir gelangten aber auf solche Weise nicht zum Ziele. Die Ursache für diesen Misserfolg glauben wir errathen zu können. Wie früher mitgetheilt worden ist, gibt das bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser entstehende optisch inaktive Leucin eine durch Schwerlöslichkeit ausgezeichnete Kupferverbindung, welche sich — wenigstens aus reinen Lösungen — sofort ausscheidet, wenn man die heisse wässrige Leucinlösung mit Kupferacetat versetzt. Diese Kupferverbindung gleicht in ihrem Verhalten dem Kupfersalz der Phenylamidopropionsäure vermuthlich so sehr, dass die Trennung der beiden Amidosäuren auf dem besprochenen Wege zu schwierig ist.

Wir versuchten hierauf, die Phenylamidopropionsäure durch Ausfällen mittelst salpetersauren Quecksilberoxyds zu gewinnen. Die in den früheren Versuchen erhaltenen Kupferniederschläge, welche die Phenylamidopropionsäure — falls sie überhaupt vorhanden war — neben Leucin enthalten mussten, wurden durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die Lösungen mit salpetersaurem Quecksilberoxyd im Ueberschuss versetzt, die dadurch hervorgebrachten Niederschläge nach fast 8-tägigem Stehen abfiltrirt, dann in Wasser aufgelöst.

und durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirten Lösungen dunsteten wir im Wasserbade zur Trockene ein, nachdem sie zuvor durch Ammoniak alkalisch gemacht worden waren. Den Rückstand extrahirten wir in der Kälte mit Weingeist; das darin ungelöst Gebliebene lösten wir in Wasser und sättigten die Flüssigkeit in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es schied sich eine Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, sodann durch Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Die so gewonnene Amidosäure gab bei der Analyse folgende Zahlen<sup>1)</sup>:

1. 0,2004 gr. Substanz gaben 0,4528 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1410 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,3219 gr. Substanz gaben 0,029605 gr. N (= 7,3 ccm. Barytwasser c).

	Berechnet für	Gefunden:
	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	
C	65,45%	61,62%
H	6,67 «	7,81 «
N	8,45 «	9,19 «
O	19,43 «	—

Die Zusammensetzung der analysirten Substanz weicht, wie man sieht, von derjenigen der Phenylamidopropionsäure noch beträchtlich ab, liegt aber der Zusammensetzung eines Gemenges von 70 Theilen Phenylamidopropionsäure und 30 Theilen Leucin ziemlich nahe.

Eine dem Anschein nach weit reinere Substanz erhielten wir in folgender Weise: Das Filtrat vom ersten Quecksilber-Niederschlag wurde nach und nach mit Natriumcarbonat-Lösung versetzt, der dadurch hervorgebrachte Niederschlag nach einigen Tagen abfiltrirt und sodann durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die Lösung zur Trockene verdunstet, der Rückstand nach der Behandlung mit kaltem Weingeist in Wasser gelöst, die Lösung in der Wärme mit Kupferacetat versetzt. Die aus dem so erhaltenen Niederschlage abge-

<sup>1)</sup> Die für die Stickstoffbestimmung benutzte Substanz war, um noch eine Reinigung zu erzielen, wieder in die Kupferverbindung übergeführt und mittelst Schwefelwasserstoff wieder daraus abgeschieden worden.



schiedene, in kleinen Blättchen krystallisirte Amidosäure gab bei der Analyse folgende Zahlen<sup>1)</sup>:

0,1872 gr. Substanz gaben 0,4461 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1194 gr. H<sub>2</sub>O.

	Berechnet für	Gefunden:
	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	
C	65,45 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	64,99 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
H	6,67 «	7,08 «
N	8,45 «	—
O	19,43 «	—

Beim Erhitzen im Proberohr zeigte diese Substanz das in einem früheren Abschnitt dieser Abhandlung geschilderte Verhalten der Phenylamidopropionsäure.

Das Filtrat von dem Quecksilberniederschlage, aus welchem diese Substanz (von welcher wir nur eine ganz geringe Menge erhielten) gewonnen worden war, lieferte auf weiteren Zusatz von Natriumcarbonat einen Niederschlag, welcher dem Anschein nach den gleichen Körper, daneben aber mehr Leucin enthielt.

Zur Prüfung des Verhaltens, welches der aus dem Quecksilberniederschlag abgeschiedene Körper bei der trockenen Destillation zeigte, konnten wir nur eine relativ geringe Menge eines unreinen Präparats verwenden. Beim Erhitzen desselben in einer kleinen, aus einer schwer schmelzbaren Glasröhre hergestellten Retorte wurde Folgendes beobachtet: Die Substanz zersetzte sich unter Zusammenschmelzen und unter Entwicklung eines gasförmigen Körpers; es blieb ein brauner geschmolzener, beim Erkalten fest werdender Rückstand; im mittleren Theile der Glasröhre setzte sich ein Sublimat an, welches wahrscheinlich grösstentheils aus Leucin bestand; in die Vorlage ging ein flüchtiger Körper über, welcher beim Erkalten halb fest wurde. Derselbe löste sich in Salzsäure unter Aufbrausen, mit Hinterlassung eines geringen Rückstandes. Die filtrirte Lösung gab mit Platinchlorid einen blass-gelben Niederschlag, welcher in kochendem Wasser

<sup>1)</sup> Die Substanz enthielt, ebenso wie die für die vorhergehende Analyse verwendete, noch eine geringe Aschenmenge (0,8%). Die Resultate der C- und H-Bestimmungen sind auf aschenfreie Substanz umgerechnet worden.

sich auflöste; die Lösung lieferte beim Erkalten glänzende gelbe Krystallblättchen. Dieselben hinterliessen beim Glühen 30,47% Pt (während das Platindoppelsalz des beim Erhitzen der Phenylamidopropionsäure entstehenden Phenyläthylamins 29,86% Pt enthält<sup>1)</sup>). Der im Retörtchen hinterbliebene Rückstand gab an kaltem Weingeist eine leicht lösliche braune Substanz ab; als das ungelöst Gebliebene mit kochendem Weingeist behandelt, die Lösung der Ruhe überlassen wurde, schied sich in feinen weissen Nadelchen eine Substanz ab, welche das früher beschriebene Verhalten des beim Erhitzen der Phenylamidopropionsäure entstehenden Phenyllactimids zeigte (so weit sich dies an einer nicht ganz reinen und der Quantität nach nicht bedeutenden Probe feststellen liess).

Den Rest der aus dem Quecksilberniederschlag gewonnenen Substanz unterwarfen wir der Oxydation mittelst Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure. Während des Erhitzens trat der Geruch des Benzaldehyds auf. Aus der Flüssigkeit schied sich nach dem Erkalten eine Substanz aus, welche im Aussehen und Verhalten mit Benzoësäure übereinstimmte. Sie krystallisirte aus Wasser in kleinen Blättchen und Nadeln, welche im Capillarröhrchen bei 121° schmolzen<sup>2)</sup>; in höherer Temperatur sublimirte sie. Die neutralisirte wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid einen röthlich-gelben, mit Silbernitrat einen weissen, krystallinischen Niederschlag. Das Silbersalz wurde für eine Silberbestimmung verwendet; 0,137 gr. desselben hinterliessen beim Glühen 0,0643 gr. = 46,93% Ag (während die Formel  $C_7H_5AgO_4$  47,16% Ag verlangt).

Auf Grund der im Vorigen gemachten Mittheilungen dürfen wir es wohl für sehr wahrscheinlich erklären, dass die aus dem Quecksilberniederschlag abgeschiedene Substanz

---

<sup>1)</sup> 0,0968 gr. Substanz gaben 0,0295 gr. Pt. Die Genauigkeit der Bestimmung wird wohl etwas dadurch beeinträchtigt, dass dieselbe mit einer relativ geringen Substanzmenge ausgeführt werden musste.

<sup>2)</sup> Für ein Benzoësäure-Präparat unserer Sammlung wurde unter Benutzung des gleichen Thermometers, der gleiche Schmelzpunkt gefunden.



Phenylamidopropionsäure einschloss. Wir zweifeln kaum daran, dass es möglich sein wird, auf dem von uns eingeschlagenen Wege die genannte Amidosäure in einer zur ausführlichen Untersuchung hinreichenden Menge rein zu gewinnen, wenn man von grösseren Rohmaterialquantitäten ausgeht. Das Rohleucin, mit welchem wir experimentirten, war durch Verarbeitung von etwas mehr als 1 kg. Conglutin gewonnen worden. Hätten wir die drei bis vierfache Quantität zur Verfügung gehabt, so würden wir wahrscheinlich ein reines Produkt in genügender Menge gewinnen und den Nachweis der Phenylamidopropionsäure mit Sicherheit haben führen können.

Die genauere Untersuchung dieser Phenylamidopropionsäure würde insofern noch von besonderem Interesse gewesen sein, als dieselbe ohne Zweifel optisch inaktiv ist. Denn die von uns untersuchten Substanzgemenge, welche nach unserer Annahme Phenylamidopropionsäure und Leucin neben einander enthielten, zeigten in wässriger Lösung keine optische Wirksamkeit.

Dass in derjenigen Portion des Rohleucins, aus welcher wir die im Vorigen beschriebenen Präparate gewannen, auch Leucin sich vorfand, war leicht nachzuweisen. Die Filtrate, von den früher erwähnten Quecksilberniederschlägen wurden durch Schwefelwasserstoff von dem in Lösung befindlichen Quecksilber befreit, dann unter Zusatz von Ammoniak eingedunstet, der Rückstand mit kaltem Weingeist extrahirt, das ungelöst Gebliebene in heissem Wasser gelöst. Aus dieser Lösung schied sich in reichlicher Menge eine Substanz aus, welche — nachdem sie noch einmal unkrystallisirt worden war — vollkommen das Aussehen des reinen Leucins besass. Aus der Auflösung in heissem verdünntem Weingeist krystallisirte sie in atlasglänzenden farblosen Krystallblättern. Sie zeigte beim Erhitzen im Proberohr, sowie beim Behandeln der wässrigen Lösung mit Kupferacetat vollkommen das Verhalten des Leucins. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0.3008 gr. Substanz gaben 0,032038 gr. N (= 7,9 chem. Barytwasser c).

2. 0,3312 gr. Substanz gaben 0,035283 gr. N (= 8,70 chem. Baryt-wasser c).

	Berechnet für	Gefunden:	
	$C_6H_{13}NO_2$	1.	2.
N	10,69 <sup>o</sup> o	10,65 <sup>o</sup> o	10,65 <sup>o</sup> o

Man scheint unreines Leucin gut reinigen zu können, indem man die wässrige Lösung desselben mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt, den dadurch hervorgebrachten Niederschlag nach mehrtägigem Stehen entfernt und das Filtrat in der oben beschriebenen Weise behandelt.

### Anhang.

Im Anschluss an die Untersuchungen, deren Ergebnisse im Vorigen mitgetheilt worden sind, haben wir auch einige Versuche mit Casein und mit Leim ausgeführt.

Eine Quantität von circa 1 kg. Casein wurde durch Erhitzen mit Salzsäure unter Zinnchlorür-Zusatz zersetzt, das dabei entstandene Rohleucin fraktionsweise in mehreren Portionen aufgesammelt. Aus der letzten Portion desselben versuchten wir in der früher beschriebenen Weise durch fraktionirte Ausfällung mit Kupferacetat Phenylamidopropionsäure zu gewinnen. Wir gelangten dabei aber nicht zum Ziele; keine der verschiedenen Fraktionen des Kupferniederschlags lieferte bei der Zerlegung eine Substanz, welche für reine oder annähernd reine Phenylamidopropionsäure hätte erklärt werden können. Bei der Oxydation dieser Substanzen mittelst Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure wurde aber Benzoësäure erhalten. Es ist demnach wahrscheinlich, dass jene Substanzen Phenylamidopropionsäure einschlossen, aber im Gemenge mit viel Leucin.

Vermuthlich entsteht bei der Zersetzung des Caseins Phenylamidopropionsäure in geringerer Menge, als bei der Zersetzung der früher von uns untersuchten vegetabilischen Eiweisssubstanzen. In Uebereinstimmung mit den von Hlasiwetz und Habermann gemachten Angaben erhielten wir aus dem Casein viel Glutaminsäure.



Dass wir auch den Leim in den Bereich unserer Untersuchung zogen, wurde dadurch veranlasst, dass derselbe nach den in den Fachzeitschriften sich findenden Angaben<sup>1)</sup>, bei der Oxydation Benzoësäure liefert. Wir zersetzten ca. 1 kg. Leim (reinste Gelatine des Handels) durch Erhitzen mit Salzsäure unter Zinnchlorür-Zusatz. Die Zersetzungsflüssigkeit lieferte, nachdem sie von der Salzsäure befreit und sodann stark concentrirt worden war, zuerst eine dem Rohleucin gleichende Substanz; aus der davon abfiltrirten, ziemlich dickflüssigen Mutterlauge erhielten wir Ausscheidungen, welche — nachdem sie durch Umkrystallisiren gereinigt worden waren — das Aussehen des Glycocolls zeigten. Das Rohleucin wurde für sich umkrystallisirt, das dabei resultirende Produkt in drei Fraktionen aufgesammelt. Eine Probe der letzten Fraktion wurde der Oxydation durch Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure unterworfen; dabei entstand Benzoësäure (während des Erhitzens trat der Geruch des Benzaldehyds auf).

Wir lösten nun diese Fraktion in Wasser und sättigten diese Lösung mit Kupferoxydhydrat. Die dabei ausgeschiedene Kupferverbindung wurde nach dem Abfiltriren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zerlegt, das so gewonnene Amidosäurengemenge der Elementar-Analyse unterworfen. Es wurden folgende Zahlen erhalten:

1. 0,222 gr. Substanz gaben 0,460 gr. CO<sub>2</sub> und 0,181 gr. H<sub>2</sub>O.
2. 0,2244 gr. Substanz gaben 0,4647 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1786 gr. H<sub>2</sub>O.

	Mittel:		
C	56,50%	56,47%	56,49%
H	9,11 «	8,86 «	8,94 «
N	—	—	—
O	—	—	—

Die analysirte Substanz enthielt also mehr Kohlenstoff, weniger Wasserstoff als Leucin; in derselben musste demnach neben Leucin (welches ohne Zweifel vorhanden war) noch eine Amidosäure von anderer Zusammensetzung oder ein Gemenge mehrerer solcher Amidosäuren sich vorfinden.

<sup>1)</sup> Nach Guckelberger: *Annalen der Chemie und Pharmacie* Bd. 64, S. 39 und nach Schlieper: ebendasselbst, Bd. 59, S. 1.

Auf ein Gemisch von Leucin und Phenylamidopropionsäure passen die obigen Zahlen nicht gut; falls also Phenylamidopropionsäure sich vorfand (was nach dem Ergebniss des Oxydationsversuchs wahrscheinlich ist), so war wohl neben dieser noch eine andere Amidosäure dem Leucin beigemischt. Eine wässrige Lösung der fraglichen Substanz gab auf Zusatz von salpetersaurem Quecksilberoxyd einen Niederschlag.

Die ersten Fraktionen des Rohleucins (welche bei der Oxydation nur sehr wenig Benzoësäure gaben<sup>1)</sup>) lieferten bei mehrmaligem Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Weingeist ein Produkt, welches im Aussehen und Verhalten mit reinem Leucin übereinstimmte.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse lassen es möglich erscheinen, dass bei der Zersetzung des Leims etwas Phenylamidopropionsäure entsteht; jedenfalls ist aber die Menge derselben sehr gering und man müsste, um sie gewinnen zu können, ohne Zweifel eine grosse Quantität von Rohmaterial in Arbeit nehmen.

Bei Untersuchung der aus dem Leim gewonnenen Produkte hatte Herr Dr. L. Weitz die Güte sich zu theiligen; von ihm sind auch die obigen Elementaranalysen ausgeführt worden.

### Rückblick auf die Resultate.

Vergleichen wir die Ergebnisse unserer Arbeit mit den Resultaten, welche Ritthausen, sowie Hlasiwetz und Habermann bei der Zersetzung von Eiweisssubstanzen durch Mineralsäuren (verdünnte Schwefelsäure und Salzsäure) erhielten, so zeigt sich in einem Punkte eine Differenz: Während die genannten Forscher aus dem bei der Zersetzung erhaltenen Stoffgemenge keine anderen Amidosäuren zu isoliren vermochten als Asparaginsäure, Glutaminsäure, Leucin

<sup>1)</sup> Während des Erhitzens trat der Geruch des Benzaldehyds auf; aus der Zersetzungsflüssigkeit schied sich in dem einen Falle nur eine geringe Menge von Benzoësäure, in dem anderen Falle gar nichts aus.



und Tyrosin, haben wir neben letzteren auch noch Phenylamidopropionsäure erhalten (welche allerdings bis jetzt nur unter den Zersetzungsprodukten des Kürbisglobulins mit völliger Sicherheit nachgewiesen worden ist). Diese Differenz ist jedoch nicht schwer zu erklären. Wenn man das Rohleucin, in welchem die Phenylamidopropionsäure als Gemengtheil enthalten ist, oft genug umkrystallisirt, so wird die letztere, deren Quantität nur gering ist, wohl in allen Fällen vollständig in die Mutterlaugen übergehen -- es erklärt sich daher leicht, dass sie früher der Beobachtung entgangen ist. Auch uns würde die Auffindung dieses Körpers unter den Zersetzungsprodukten der Eiweissstoffe kaum gelungen sein, wenn wir denselben nicht zuvor aus Keimpflanzen gewonnen und in Folge davon seine Eigenschaften gekannt hätten.

Eine ähnliche Differenz scheint zwischen den Ergebnissen unserer Untersuchungen und denjenigen der Schützenberger'schen Arbeiten zu bestehen. Wir haben nachgewiesen, dass unter den bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser entstehenden Produkten eine Amidosäure sich findet, welche in ihrer Zusammensetzung vom Leucin und dessen Homologen weit abweicht und mehr Kohlenstoff enthält, als das Tyrosin; dass diese Amidosäure Phenylamidopropionsäure ist, wurde zwar nicht mit völliger Sicherheit festgestellt, es darf aber auf Grund der von uns gemachten Beobachtungen doch wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden. Unter den Stoffen, welche Schützenberger als Produkte der Eiweisszersetzung namhaft macht, findet sich keiner, welcher seiner Zusammensetzung und seinen Eigenschaften nach mit Phenylamidopropionsäure übereinstimmt.

Es ist indessen nicht unwahrscheinlich, dass eine Substanz, welche Schützenberger unter Händen hatte, Phenylamidopropionsäure einschloss. Unter den Zersetzungsprodukten des Albumins fand der genannte Forscher einen Körper auf, welchem er den Namen Tyroleucin und die Formel  $C_7 H_{11} NO_2$  oder  $C_{14} H_{22} N_2 O_4$  gegeben hat. Dieser Körper liefert, allem Anschein nach, bei der trockenen Destil-

lation die gleichen Zersetzungsprodukte wie Phenylamidopropionsäure, neben denselben aber auch noch Amidovaleriansäure<sup>1)</sup>. Schützenberger<sup>2)</sup> hat nun die Vermuthung ausgesprochen, dass sein Tyroleucin eine Verbindung von Amidovaleriansäure mit einem nach der Formel  $C_9H_{11}NO_2$  zusammengesetzter Körper sei. Dass diese Vermuthung richtig<sup>3)</sup> und dass der zuletzt genannte Körper Phenylamidopropionsäure ist, dürfte wohl nicht unwahrscheinlich sein.

Dass auch die Schützenberger'schen Leuceine möglicherweise Phenylamidopropionsäure einschliessen, hat der Verfasser schon in einer früheren Abhandlung ausgesprochen<sup>4)</sup>.

<sup>1)</sup> Der Verfasser hat darauf schon früher (Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. 14, S. 1791) aufmerksam gemacht. Nach den Angaben Schützenberger's liefert das Tyroleucin beim Erhitzen auf ca. 250° unter Abspaltung von Wasser und Kohlensäure einen gelben geschmolzenen Rückstand, ein weisses aus Amidovaleriansäure bestehendes Sublimat, und das Carbonat einer flüchtigen Base, welche nach der Formel  $C_8H_{11}N$  zusammengesetzt ist und ein krystallinisches Platindoppelsalz liefert.

<sup>2)</sup> Annales de chimie et de physique, T. 16, p. 347.

<sup>3)</sup> Doch bleibt es vielleicht eine discutirbare Frage, ob es sich hier um eine Verbindung oder ein Gemenge handelt.

<sup>4)</sup> Tageblatt der 55. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Eisenach, 1882, S. 168.

In seiner ersten Mittheilung über das Tyroleucin (Comptes rendus. T. 84, p. 124, im Auszug Chemisches Centralblatt 1877, S. 181) giebt Schützenberger an, dass man das Leucein  $C_6H_{11}NO_2$  als eine Verbindung von Tyroleucin mit Amidovaleriansäure, ansehen könne ( $C_{11}H_{22}N_2O_4 + 2C_5H_{11}NO_2 = 4C_6H_{11}NO_2$ ); denn es verhalte sich beim Erhitzen ähnlich dem Tyroleucin, nur liefere es bei der Zersetzung mehr Amidovaleriansäure. Wenn nun Tyroleucin aus Amidovaleriansäure und Phenylamidopropionsäure besteht, so würde gemäss obiger Annahme auch das Leucin  $C_6H_{11}NO_2$  diese Bestandtheile enthalten. Es würden in der That 3 Mol. Amidovaleriansäure und 1 Mol. Phenylamidopropionsäure ein Gemenge geben, welches die Elementar-Zusammensetzung eines Schützenberger'schen Leuceins besitzt ( $3C_5H_{11}NO_2 + C_9H_{11}NO_2 = 4C_6H_{11}NO_2$ ). Es ist übrigens darauf aufmerksam zu machen, dass die von Schützenberger für die Zusammensetzung der Leuceine gefundenen Zahlen z. Th. ziemlich stark von denjenigen abweichen, welche den von ihm gewählten Formeln entsprechen.



Vergleicht man die Resultate, welche wir bei der Spaltung des Conglutins durch Salzsäure erhielten, mit den bei der Spaltung des gleichen Eiweissstoffes durch Barytwasser von uns erhaltenen, so zeigt sich eine bemerkenswerthe Differenz: Im ersteren Falle entstanden optisch wirksame, im zweiten Falle optisch inaktive Amidosäuren. Auch in Bezug auf den Grad der Löslichkeit im Wasser zeigten sich Differenzen zwischen den gleichnamigen Produkten.

Aus dem bei der Zersetzung des Conglutins durch Barytwasser erhaltenen Stoffgemenge vermochten wir Asparaginsäure nicht zu gewinnen, während letztere bei der Zersetzung der Eiweisssubstanzen durch Säuren stets erhalten worden ist und sich nach Schützenberger auch unter den Produkten vorfindet, welche bei der Spaltung des Albumins durch Barytwasser entstehen. Diesem Umstande können wir bis auf Weiteres kein grosses Gewicht beilegen; denn es ist möglich, dass wir bei Anwendung eines anderen Abscheidungsverfahrens die fragliche Amidosäure hätten nachweisen können<sup>1)</sup>. Andere Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der bei Einwirkung von Salzsäure einerseits und von Barytwasser andererseits entstehenden Amidosäuren-Gemenge haben wir nicht zu constatiren vermocht: doch möchten wir nicht behaupten, dass es uns gelungen sei, alle Bestandtheile dieser Gemenge aufzufinden.

Wäre es möglich, die Quantitäten der einzelnen, bei der Zersetzung der Eiweisssubstanzen resultirenden Produkte einigermaßen genau zu bestimmen, so würde es von Wichtigkeit sein, in dieser Hinsicht die Spaltung eines Eiweissstoffes durch Salzsäure mit derjenigen durch Barytwasser zu vergleichen. Leider hatten den für die Trennung der verschiedenen Amidosäuren verwendbaren Methoden so bedeutende Mängel an, dass die Quantitäts-Angaben nur sehr beschränkten Werth

1) Schützenberger hat die Asparaginsäure neben der Glutaminsäure in dem durch salpetersaures Quecksilberoxyd hervorgebrachten Niederschlag vorgefunden. Es ist nicht unmöglich, dass beim Erhitzen mit Barytwasser unter Druck ein Theil der Asparaginsäure zersetzt wird.

beanspruchen können. Trotzdem ist es vielleicht von einigem Interesse, dass die Quantitäten von Tyrosin und von Rohleucin, welche wir bei der Spaltung des Conglutins durch Salzsäure und durch Barytwasser erhielten, nicht weit von einander abwichen und dass in beiden Fällen Glutaminsäure in sehr beträchtlicher Menge sich gebildet hatte.



P darin.	Asche.	ORGANISCHES										I. Pferdegehirn. vorwiegend. Substanz auf 100 Theile feuchtes Gehirn.	ORGANISCHES										Asche.	P darin.
		Unlöslicher Rest.		Wasser löst.		I. Aether, II. Alkohol löst.			I. Aether, II. Alkohol löst.		Wasser löst.		Unlöslicher Rest.		Asche.									
		Unverdaulich. Alkali nicht. löst.	Verdaulich.	Coagulir- bar.	Nicht coagulir- bar.	I leicht.	schwer.	nicht.	nicht.	schwer.	leicht I.		Nicht coagulir- bar.	Coagulir- bar.		Verdaulich.	Unverdaulich Alkali löst. nicht.							
																		II nicht.	kaum kalt, nur warm.		warm nur, kaum kalt.	nicht II.		
0,0019 0,0270	0,0074 0,0034 0,2681	— — —	— — —	0,2314 0,2057	— — 0,8820	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	0,3278 0,2795	— — —	— — —	— — —	0,0105 0,0045 0,3308	— — —	0,0025 0,0298				
											I. Diffusionswasser. I. Albumin direkt coagulirt. Albumin durch Kochen coagulirt. Löslicher Extrakt.													
											1,5980												2,1298	
0,0010 0,0192 0,0167 0,0014 0,2229	— — — 0,0079	— — — — —	— — — Spuren	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	— — — — —	0,0005 — 0,0063 0,0151 0,0008 0,1506			
											II. Aetherextrakt. II. Flocken vor Cholesterin. Cholesterin frei Flocken neben Cholesterin. Unlöslich in Alkohol. Unlöslich in Aether und Alkohol. Cholesterin gebunden. Rest.													
											15,9911												9,7411	
0,0095 0,0031	0,1572 0,0237	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	0,0081 0,0024			
											III. Alkoholextrakt kalt. III. Löslich in Aether. Löslich in Wasser. Unlöslich überhaupt.													
											1,5762												1,3290	
											(0,3652 zu II)													
0,0258	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0111			
											IV. Alkoholextrakt bei 45°. IV. Protagon.													
											2,5109												1,1801	
0,0142 0,0077	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	0,0089 0,0061			
											V. Alkoholextrakt kochend. V. Löslich in Aether. Unlöslich in Aether.													
											0,9937												0,6869	
0,0298	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0359			
											VI. Wasserextrakt kochend. VI.													
											0,5479												0,6567	
0,0105 0,0081 —	0,0553 — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	0,0589 0,0046			
											VII. Unlöslicher Rest. VII. Verdauliches } Albumin. Bindegewebe. Nuclein in Alkali löslich. Neurokeratin; Rest.													
											7,2468												7,3790	
0,3986	0,5230	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5624 0,2945			
											30,4646												23,0026	
											69,5354												76,9974	
											44,4101												58,5283	
											25,1253												18,4691	
											Festes. Wasser.													
											Diffundirt. Rest.													
											22,4402													
											29,9416													



