

Zur Kenntniss der beim Eiweisszerfall entstehenden Phenylamidopropionsäure.

Von

E. Schulze und E. Nägeli.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 30. November 1886.)

Vor einigen Jahren hat der Eine von uns durch Untersuchungen, welche unter Mitwirkung von J. Barbieri ausgeführt wurden, den Nachweis geliefert, dass unter den bei Zersetzung von Eiweissstoffen mittelst Salzsäure erhaltenen Producten eine Amidosäure sich findet, welche man nach ihren Eigenschaften und ihrer Zusammensetzung als eine Phenylamidopropionsäure ansehen muss¹⁾, und dass der gleiche Körper, wahrscheinlich ebenfalls als Product der Eiweisszersetzung, in etiolirten Lupinenkeimlingen enthalten ist²⁾.

In den Abhandlungen, in welchen die Resultate dieser Untersuchungen mitgetheilt wurden, ist es für sehr wahrscheinlich erklärt worden³⁾, dass jene Amidosäure mit der von E. Erlenmeyer und A. Lipp⁴⁾ synthetisch dargestellten

¹⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 16, S. 1711.

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

³⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 16, S. 1711; Journal für praktische Chemie [2], Bd. 27, S. 348. Beim Niederschreiben dieser Abhandlungen war es dem Verfasser derselben (E. S.) noch nicht bekannt, dass die betreffende Amidosäure optisch activ sei.

⁴⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 15, S. 1006; Annalen der Chemie, Bd. 219, S. 194.

Phenyl- α -Amidopropionsäure (Phenylalanin) identisch sei; ebendahin haben auch die eben genannten Forscher sich ausgesprochen¹⁾. Diese Annahme gründet sich hauptsächlich auf die Wahrnehmung, dass beide Amidosäuren bei der trockenen Destillation die gleichen Zersetzungsproducte liefern, nämlich Kohlensäure, Phenyllactimid und eine Base $C^8H^{11}N$, welche nach den Untersuchungen von Erlenmeyer und Lipp Phenyläthylamin ist. Doch stimmen die beiden Körper in ihren Eigenschaften nicht vollständig überein; und zwar bestehen die Verschiedenheiten in Folgendem: Die aus Lupinenkeimlingen und aus Eiweissstoffen dargestellte Amidosäure krystallisirt aus concentrirten noch warmen wässrigen 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 wasserfreien Prismen, aus wässrigem Alkohol in glänzenden Blättchen. Beim Erhitzen in Capillarröhrchen zersetzt sich nach den von Erlenmeyer und Lipp ausgeführten Versuchen das Phenylalanin unter Zusammenschmelzen bei $263-265^\circ$, die aus Lupinenkeimlingen dargestellte Amidosäure bei $275-280^\circ$. Das Kupfersalz der letzteren Amidosäure ist wasserfrei, während die Kupferverbindung des Phenylalanins zwei Moleküle Krystallwasser enthält (welche jedoch schon beim Trocknen des Salzes über Schwefelsäure entweichen).

Die Verschiedenheit im Aussehen der beiden Körper könnte man vielleicht durch die Annahme erklären, dass die aus Keimpflanzen und aus Eiweissstoffen erhaltene Amidosäure nicht in so reinem Zustande gewonnen sei wie die synthetisch dargestellte. Man weiss ja, dass den aus den Organismen abgeschiedenen Stoffen zuweilen schwer zu entfernende Unreinigkeiten anhaften, welche die Art der Krystallisation jener Stoffe und ihr Aussehen beeinflussen. Ob aber die übrigen Verschiedenheiten in den Eigenschaften der beiden Amidosäuren sich in solcher Weise erklären lassen,

1) Annalen der Chemie, Bd. 219, S. 197, Anmerkung.

ist doch fraglich. Insbesondere gilt dies für die Differenz in den Wärmegraden, bei denen die Zersetzung und das Zusammenschmelzen der genannten Stoffe erfolgt. Bei der aus Lupinenkeimlingen abgetrennten Amidosäure wurde dieser Wärmegrad höher gefunden als beim Phenylalanin, während doch Verunreinigungen eines Körpers in der Regel die Temperatur, bei welcher derselbe zusammenschmilzt, erniedrigen.

Eine andere Erklärung für jene Verschiedenheiten lässt sich aber auf den später geführten Nachweis ¹⁾ gründen, dass die aus Lupinenkeimlingen und aus Eiweissstoffen erhaltene Phenylamidopropionsäure optisch activ ist, während das Phenylalanin von Erlenmeyer und Lipp als ein synthetisch dargestellter Körper keine optische Wirksamkeit zeigt. Bei Untersuchung der im optischen Verhalten von einander abweichenden Modificationen chemischer Verbindungen hat man mehrfach die Beobachtung gemacht, dass die activen und inactiven Isomeren nicht nur im optischen Verhalten, sondern auch noch in anderen Eigenschaften differiren. So hat z. B. Lewkowitsch ²⁾ gefunden, dass active und inactive Mandelsäure nicht denselben Schmelzpunkt besitzen; das Gleiche beobachtete Ladenburg ³⁾ für die Chlorhydrate des activen und inactiven Coniins, Anschütz ⁴⁾ für die Weinsäure-Aether. Die active Weinsäure löst sich bekanntlich leichter in Wasser als die Traubensäure. Nach A. Michael und J. Wing ⁵⁾ unterscheidet sich die inactive Asparaginsäure, in welche sich die gewöhnliche Asparaginsäure beim Erhitzen mit Salzsäure auf 170—180° verwandelt, nicht nur im optischen Verhalten, sondern auch in anderen Punkten von der activen Modification.

¹⁾ Der erste Versuch, in welchem eine Lösung der Amidosäure in verdünnter Salzsäure im Polarisationsapparat untersucht wurde, gab ein negatives Resultat; spätere Versuche, welche der Eine von uns unter Mitwirkung von E. Bosshard ausführte (diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 85), ergaben, dass sowohl eine Lösung der Amidosäure in Wasser, als auch eine solche in verdünnter Ammoniakflüssigkeit Circularpolarisation zeigt.

²⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 16, S. 1568.

³⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 19, S. 2578.

⁴⁾ Ebendasselbst, Bd. 18, S. 1397.

⁵⁾ Ebendasselbst, Bd. 17, S. 2984.

Der Eine von uns und E. Bosshard¹⁾ haben gezeigt, dass man das active Leucin durch Erhitzen mit Barytwasser auf 150—160° in eine inactive Modification verwandeln kann, welche ein viel geringeres Lösungsvermögen in Wasser besitzt, als jenes. Im Hinblick auf diese Beobachtungen kann es nicht auffallen, dass die beiden Phenylamidopropionsäuren, von denen die eine optisch wirksam, die andere inactiv ist, in Bezug auf mehrere Punkte in den Eigenschaften differiren, und man kann das Vorhandensein dieser Differenzen nicht als ein Hinderniss für die Annahme betrachten, dass die aus Lupinenkeimlingen und Eiweissstoffen erhaltene Amidosäure wirklich Phenyl- α -Amidopropionsäure (Phenylalanin) sei.

Es erschien aber doch wünschenswerth, für letztere Annahme weitere Stützen zu gewinnen. Ein zur Erreichung dieses Ziels geeigneter Weg war leicht aufzufinden. Das Phenylalanin lässt sich nach den Untersuchungen von Erlenmeyer und Lipp in Tyrosin überführen, indem man es nitriert, das so erhaltene Product mittelst Zinn und Salzsäure zu Amidophenylalanin reducirt und das Sulfat oder Chlorhydrat des letzteren mit Natriumnitrit oder mit Salpetrigsäureanhydrid zusammenbringt. War die oben besprochene Amidosäure wirklich Phenylalanin, so musste sie sich auf dem gleichen Wege in Tyrosin überführen lassen. Das Experiment hat gezeigt, dass dies in der That der Fall ist.

Wir hielten uns bei Ausführung unserer Versuche fast ganz an die von Erlenmeyer und Lipp in der Abhandlung über die Synthese des Tyrosins²⁾ gegebenen Vorschriften. Die aus Lupinenkeimlingen erhaltene Amidosäure wurde in concentrirter Schwefelsäure gelöst, der Lösung unter Umrühren und beständigem Kühlen langsam concentrirte Salpetersäure zugesetzt (auf 1,2 gr. der Amidosäure verwendeten wir 7 cbem. Schwefelsäure und 0,9 cbem. Salpetersäure). Das Reactionsproduct wurde in 600—700 cbem. Wasser gegossen, die Lösung zum Kochen erhitzt; dann wurde zur Entfernung

1) Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 135.

2) Annalen der Chemie, Bd. 219, S. 161.

der Schwefelsäure Bleicarbonat eingetragen. Das Filtrat vom Bleisulfat befreiten wir durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei und dunsteten es sodann im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. Es schieden sich bald harte Krystalle aus, welche einmal aus Wasser umkrystallisirt wurden. Das Verhalten derselben entsprach den von Erlenmeyer und Lipp für das Nitrophenylalanin gemachten Angaben.

Dieses Product wurde nun mit Zinn und Salzsäure zusammengebracht (auf 1 Th. Substanz nahmen wir 2 Th. Zinnfolie und 5 Th. concentrirte Salzsäure; da jedoch diese Zinn- und Salzsäure-Mengen nicht auszureichen schienen, so wurde später noch etwas mehr davon zugesetzt). Wir erwärmten auf dem Wasserbade, bis das Nitroproduct sich vollständig gelöst hatte; die Lösung, welche saizsaures Amidophenylalanin enthalten musste, verdünnten wir stark mit Wasser, befreiten sie durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Zinn und dunsteten sie sodann ein. Es blieb eine bräunlich gefärbte Masse, welche nicht zum Krystallisiren zu bringen war. Wir lösten dieselbe in Wasser und theilten die Lösung in zwei Hälften, von denen die eine direct, die zweite nach Entfernung der Salzsäure weiter verarbeitet wurde. Nach Erlenmeyer und Lipp kann man nämlich zwar zur Darstellung des Tyrosins auch das Chlorhydrat des Amidophenylalanins benutzen, indem man die Lösung desselben mit der berechneten Menge von Natriumnitrit (oder von Salpetersäure-Anhydrid) zusammenbringt; die Lösung färbt sich dabei aber dunkel und liefert stark gefärbtes Tyrosin, während man ein nur wenig gefärbtes Tyrosin-Präparat erhält, wenn man vom Sulfat des Amidophenylalanins ausgeht. Wir befreiten daher die eine Hälfte der oben erwähnten Lösung durch Eintragen von feuchtem Silberoxyd¹⁾ von der Salzsäure, leiteten in das Filtrat vom Chlorsilber zur Beseitigung gelösten Silbers Schwefelwasserstoff ein und verdunsteten es sodann im Wasserbade. Es blieb eine krystallinische Masse.

1) Der Lösung waren zuvor einige Tropfen Essigsäure zugesetzt worden.

Wir lösten dieselbe in verdünnter Schwefelsäure, stellten die Lösung in Eis und setzten Natriumnitrit (letzteres sowie die Schwefelsäure in den von Erlenmeyer und Lipp angegebenen Gewichtsverhältnissen) zu. Wir liessen die Flüssigkeit $\frac{1}{2}$ Stunde lang im Eis, dann einige Zeit bei gewöhnlicher Temperatur stehen; hierauf wurde sie langsam zum Sieden erhitzt und $\frac{1}{2}$ Stunde darin erhalten. Als sie nach dem Erkalten mit Ammoniak neutralisirt wurde, schied sich ein nur wenig gefärbtes Product aus, welches das Aussehen und das Verhalten des Tyrosins zeigte; es gab sowohl die Hoffmann'sche wie die Piria'sche Reaction.

Die zweite Hälfte der oben näher bezeichneten Lösung brachten wir direct mit Natriumnitrit zusammen; wir verfahren im Uebrigen ebenso, wie oben angegeben worden ist. Die Flüssigkeit färbte sich schon in der Kälte dunkel; beim Erhitzen schieden sich braune Flocken aus. Dieselben wurden durch Filtration beseitigt. Das Filtrat neutralisirten wir mit Ammoniak. Es erfolgte Anfangs keine Ausscheidung; als wir aber die Flüssigkeit über Schwefelsäure der Verdunstung überliessen, schieden sich bald feine Krystalle ab, welche unter dem Mikroskop das Aussehen des Tyrosins zeigten. Dieselben waren stark gefärbt; wir reinigten sie durch Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem verdünntem Weingeist. Sie gaben sowohl die Hoffmann'sche wie die Piria'sche Reaction. Also auch in diesem Versuch war Tyrosin entstanden; doch war dasselbe weniger rein, als das im ersten Versuch erhaltene (was nach den von Erlenmeyer und Lipp gemachten Angaben von vornherein zu erwarten war).

Die Ergebnisse dieser Versuche liefern eine Bestätigung der von dem Einen von uns früher ausgesprochenen Annahme¹⁾, dass die aus Lupinenkeimlingen und aus Eiweissstoffen erhaltene Amidosäure eine optisch active Modification der Phenyl- α -Amidopropionsäure (des Phenylalanins) ist.

1) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 86.