

## Ueber die Constitution des Leucins.

Von

**E. Schulze und A. Likiernik<sup>1)</sup>.**

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)  
(Der Redaction zugegangen am 30. November 1892.)

Während für die meisten der beim Eiweisszerfall entstehenden Amidosäuren, nämlich für die Asparaginsäure, die Glutaminsäure, das Tyrosin und die Phenylamidopropionsäure<sup>2)</sup> die Frage der Constitution längst endgültig entschieden ist, gilt nicht das Gleiche für das Leucin. Man weiss freilich seit langer Zeit, dass dasselbe als eine Amidocaprinsäure anzusehen ist — und zwar auf Grund einer von G. Hüfner<sup>3)</sup> im Jahre 1868 publicirten Untersuchung, nach welcher Leucin beim Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure im zugeschmolzenen Rohr als Spaltungsproducte Caprinsäure und Ammoniak liefert; was für eine Capron-

<sup>1)</sup> Berichterstatter: E. Schulze. Es ist hier zu erwähnen, dass bei Ausführung eines Theils unserer Versuche Herr S. Frankfurt uns Hilfe geleistet hat, wofür wir ihm an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

<sup>2)</sup> Dass die beim Eiweisszerfall entstehende Phenylamidopropionsäure eine optisch active Modification des von Erlenmeyer und Lipp (Ann. d. Chem., Bd. 219, S. 194) synthetisch dargestellten Phenylalanins (Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure) ist, wird insbesondere durch die von E. Schulze und E. Nägeli (diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 201) ausgeführten Versuche bewiesen.

<sup>3)</sup> Zeitschrift für Chemie, 1868, S. 391.

säure dabei entsteht, vermochte Hüfner aber nicht festzustellen<sup>1)</sup>, da er die Säure nur in geringer Quantität erhielt. Er suchte daher die Frage nach der Constitution des Leucins dadurch einer Lösung näher zu bringen<sup>2)</sup>, dass er zwei synthetisch dargestellte Amidocaprone Säuren, von denen die eine aus dem Monobromsubstitutionsproduct der Gährungscaprone Säure und Ammoniak, die zweite aus Isovaleraldehyd-Ammoniak und Blausäure erhalten war, mit Leucin verglich. Er fand dieselben im Aussehen dem letzteren sehr ähnlich; der Sublimationspunkt war bei allen drei Substanzen fast der gleiche; auch in der Beschaffenheit ihrer Salpetersäure- und Kupfer-Verbindungen liessen sich Unterschiede nicht herausfinden. Dagegen zeigten sich Verschiedenheiten in der Löslichkeit. Am schwersten löslich war die aus Isovaleraldehyd dargestellte Amidosäure, welche als  $\alpha$ -Amidobutyllessigsäure zu bezeichnen ist; 1 Th. derselben bedurfte bei 12° 117,5 Th. Wasser zur Lösung. Das Leucin und die aus Gährungscaprone Säure dargestellte Amidosäure zeigten dagegen bei 20° eine Löslichkeit von 1 : 25 bis 1 : 26<sup>3)</sup>.

Auf Grund unserer gegenwärtigen Kenntnisse muss es aber für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass die Versuche Hüfner's eine Entscheidung der obigen Frage gar nicht bringen konnten. Denn J. Mauthner<sup>4)</sup> hat im Jahre 1883 nachgewiesen, dass Leucin Circumpolarisation zeigt, während jene beiden synthetisch dargestellten Amidocaprone Säuren optisch inactiv sind. Das von Mauthner verwendete Leucin-Präparat, welches aus Casein dargestellt war, erwies sich sowohl in salzsaurer als in alkalischer Lösung als rechts-

<sup>1)</sup> Dagegen ist vor Kurzem über die Natur dieser Caprone Säure von A. Kwisda (Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S. 423—425) eine Mittheilung gemacht worden. Auf dieselbe kommen wir w. u. noch zurück.

<sup>2)</sup> Journal f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 1, S. 6.

<sup>3)</sup> D. h.: 1 Th. bedurfte 25—26 Th. Wasser zur Lösung (der Kürze halber wählen wir hier und hin und wieder auch später die obige Ausdrucksweise). An einer anderen Stelle seiner Abhandlung giebt Hüfner übrigens auch an, dass 1 Th. der aus Gährungscaprone Säure dargestellten Amidosäure bei 12° 48,8 Th. Wasser zur Lösung bedurfte.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 222.

drehend; später zeigte Lewkowitsch<sup>1)</sup> unter Benutzung eines aus pflanzlichem Eiweiss dargestellten Leucin-Präparates, dass diese Amidosäure in wässriger Lösung linksdrehend ist, was von Mauthner später auch für das aus Casein dargestellte Leucin bestätigt worden ist. Wenn nun auch über das optische Verhalten des von Hüfner verwendeten Leucin-Präparats eine Angabe nicht vorliegt, so muss es doch im Hinblick auf die von Mauthner und Lewkowitsch gemachten Beobachtungen, sowie auf die Resultate der von uns an Leucin-Präparaten verschiedener Herkunft ausgeführten Versuche (vgl. w. u.) für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass dasselbe gleichfalls optisch activ war. Active Körper können aber von ihren inactiven Modificationen ausser im optischen Verhalten auch noch in anderen Punkten differiren. Um also auf dem von Hüfner eingeschlagenen Wege zu einem sicheren Resultate zu gelangen, muss man, wie man jetzt voraussagen kann, die synthetisch dargestellten Amidosäuren mit inactivem Leucin vergleichen. Das letztere lässt sich nach den Untersuchungen, welche der Eine von uns in Verbindung mit J. Barbieri und E. Bosshard<sup>2)</sup> ausgeführt hat, durch Spaltung von Eiweissstoffen mittelst Barytwassers bei 160° erhalten; man kann es aber auch darstellen, indem man das gewöhnliche active Leucin mit Barytwasser auf die gleiche Temperatur erhitzt<sup>3)</sup>.

Es schien angezeigt, in dieser Richtung einige Versuche auszuführen.

Wenn eine jener beiden synthetisch dargestellten Amidocaprinsäuren die Structur des Leucins besitzt, so muss sie erstens die gleiche Löslichkeit zeigen, wie das letztere; zweitens muss sie bei Einwirkung von *Penicillium glaucum* eine active Isomere liefern, welche mit dem in gleicher Weise von E. Schulze und E. Bosshard<sup>4)</sup> aus dem inactiven Leucin dargestellten Product in den Eigenschaften überein-

<sup>1)</sup> Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 17, S. 1430.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 108.

<sup>3)</sup> Ebendasselbst, Bd. 10, S. 135.

<sup>4)</sup> Ebendasselbst, Bd. 10, S. 138.

stimmt; drittens endlich muss aus ihr bei Einwirkung von salpetriger Säure die gleiche Oxycaprone Säure entstehen, wie aus dem inactiven Leucin.

In allen diesen Punkten stimmte nun in der That die  $\alpha$ -Amidoisobutyllessigsäure mit dem aus einem pflanzlichen Eiweissstoff (Conglutin) dargestellten inactiven Leucin überein, während zwischen dem letzteren und der aus Gährungscaprone Säure dargestellten  $\alpha$ -Amidosäure sich Unterschiede herausfinden liessen.

Im Folgenden geben wir eine ausführliche Beschreibung der Versuche, welche zu diesen Resultaten führten, nachdem eine kurze Mittheilung über dieselben früher schon in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 24, S. 669, von uns gemacht worden ist.

#### **Darstellung von $\alpha$ -Amidoisobutyllessigsäure und Vergleichung derselben mit inactivem Leucin.**

Die Darstellung der  $\alpha$ -Amidoisobutyllessigsäure aus Isovaleraldehyd-Ammoniak und Blausäure ist bekanntlich zuerst von Limpricht<sup>1)</sup> ausgeführt worden. Hüfner (loc. cit.) hat das Verfahren modificirt. Wir befolgten im Wesentlichen Hüfner's Vorschrift und verfahren folgendermassen: Gereinigter Isovaleraldehyd<sup>2)</sup> wurde zur Ueberführung in die Ammoniak-Verbindung mit einer gesättigten Lösung von Ammoniak in Alkohol geschüttelt. Das Anfangs ölige Product verwandelte sich nach einiger Zeit in einen Krystallbrei. Die Krystalle wurden abfiltrirt, auf einer Thonplatte getrocknet und sodann mit der halben Gewichtsmenge wässriger Blausäure zusammengebracht. Das Gemisch liessen wir 12 Stunden stehen. Es resultirte eine ölige gelbe Flüssigkeit, in welcher das Nitril der  $\alpha$ -Amidoisobutyllessigsäure sich in Lösung befand. Dieser Flüssigkeit wurde Salzsäure zugesetzt. Es entstand ein klumpiger Niederschlag, welcher beim Kochen mit

<sup>1)</sup> Ann. Chem. Pharm., Bd. 94, S. 243.

<sup>2)</sup> Erhalten durch Rectification von käuflichem Isovaleraldehyd (das bei 92—93° Uebergehende wurde für sich aufgefangen).

überschüssiger Salzsäure nach und nach in Lösung ging; doch blieben an der Oberfläche der Flüssigkeit dunkle ölige Tropfen, welche auch bei sehr langem Kochen mit Salzsäure nicht verschwanden. Wir beseitigten dieselben durch Filtration. Das Filtrat wurde unter öfterem  $H_2O$ -Zusatz im Wasserbade eingedampft, um die Salzsäure so weit als möglich zu verjagen; zur völligen Entchlorung behandelten wir die Flüssigkeit sodann mit Bleioxydhydrat und schliesslich noch mit Silberoxyd. Aus der mittelst Schwefelwasserstoffs vom gelösten Blei und Silber befreiten Lösung krystallisirte beim Eindunsten die  $\alpha$ -Amidoisobutyllessigsäure aus. Sie wurde durch Umkrystallisiren aus Weingeist, welchem etwas Ammoniakflüssigkeit zugesetzt war, gereinigt.

Die in dieser Weise dargestellte optisch unwirksame Amidosäure war im Aussehen dem inactiven Leucin täuschend ähnlich. Um ihre Löslichkeit in Wasser zu bestimmen, wurde ein Quantum der Krystalle mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Wassermenge unter häufigem Umschütteln 1—2 Tage lang bei gewöhnlicher Temperatur in Berührung gelassen. Von der filtrirten Lösung wurde ein Theil in einem kleinen, mit Stöpsel versehenen Glasgefäss abgewogen und sodann in einem gewogenen Platinschälchen im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand bei  $100-105^\circ$  getrocknet und gewogen (in der gleichen Weise sind alle später aufgeführten Löslichkeitsbestimmungen gemacht worden). Wir erhielten folgendes Resultat: 11,8624 gr. Lösung, dargestellt bei  $15^\circ$ , lieferten 0,1110 gr. Rückstand. 1 Th. Substanz hatte also bei  $15^\circ$  105,9 Th. Wasser zur Lösung bedurft.

Hüfner (l. c.) fand für die gleiche Amidosäure eine Löslichkeit von 1 : 117,5 bei  $12^\circ$ . Die nicht sehr beträchtliche Differenz erklärt sich theilweise wohl schon daraus, dass Hüfner die Lösung bei einem etwas geringeren Wärme-grad hergestellt hat; unter diesen Umständen ist auf dieselbe kein grosses Gewicht zu legen. Denn der Eine von uns<sup>1)</sup> hat gezeigt, dass sehr geringe Verunreinigungen die Löslichkeit

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 254.

der Leucin-Präparate stark beeinflussen können<sup>1)</sup>. Gesetzt also, dass Hüfner's Präparat ein wenig reiner war, als das unsrige, so erklärt es sich, dass es etwas schwerer in Wasser löslich war.

Die für die  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure von uns beobachtete Löslichkeit liegt derjenigen sehr nahe, welche für das aus Conglutin dargestellte inactive Leucin gefunden wurde. Für ein wiederholt umkrystallisiertes Präparat des letzteren wurde bei völlig gleichem Verfahren von E. Schulze<sup>2)</sup> eine Löslichkeit von 1 : 106,5 bei Zimmertemperatur, für ein anderes von E. Schulze und E. Bosshard<sup>3)</sup> eine Löslichkeit von 1 : 102,4 bei 21° gefunden. Die Differenzen dieser Zahlen von einander und von dem für die  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure von uns erhaltenen Resultat liegen ohne Zweifel innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmungen. Es darf also behauptet werden, dass die genannte Amidosäure die gleiche Löslichkeit in Wasser besitzt, wie das inactive Leucin.

**Ueberführung der  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure in eine active Modification mit Hilfe von *Penicillium glaucum* und Vergleichung derselben mit dem in gleicher Weise aus dem inactiven Leucin erhaltenen Product.**

Die Behandlung der  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure mit *Penicillium glaucum* führten wir nach der auch von E. Schulze und E. Bosshard in der früher erwähnten Untersuchung befolgten Vorschrift aus. Die stark verdünnte wässrige Lösung der genannten Amidosäure wurde, nachdem ihr die für die Entwicklung des Pilzes erforderlichen anorganischen Nährsalze<sup>4)</sup> und etwas freie Phosphorsäure zugefügt worden

<sup>1)</sup> Doch lässt sich nicht behaupten, dass eine jede Verunreinigung diese Wirkung in starkem Maasse ausübt; vorzugsweise scheint sie anderen Amidosäuren zuzukommen.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 111.

<sup>3)</sup> Ebendasselbst, Bd. 10, S. 136.

<sup>4)</sup> Wir setzten das auch von E. Schulze und E. Bosshard (loc. cit.) verwendete Salzgemisch zu, jedoch mit Weglassung des Chlorammoniums.

waren, in einen zuvor sterilisirten und mit Baumwollpfropfen versehenen Glaskolben gebracht und in demselben wiederholt (an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen) zum Sieden erhitzt, um alle vorhandenen Keime zu tödten. Sodann wurde etwas *Penicillium glaucum* eingesät, dessen Besitz wir der Gefälligkeit des Herrn Dr. von Tavel, Assistenten am botanischen Institut unseres Polytechnikums, verdankten. Nach ungefähr 14 Tagen hatte sich eine ziemlich dichte Pilzdecke auf der Flüssigkeit gebildet. Nach Verlauf von ungefähr 10 Wochen wurde der Pilz durch Filtration entfernt, das Filtrat mit Barytwasser neutralisirt und nach nochmaliger Filtration zur Trockne verdunstet. Den Verdampfungsrückstand extrahirten wir in der Wärme mit absolutem Alkohol, welchem etwas concentrirte Ammoniakflüssigkeit zugefügt war. Wir wendeten dieses Extractionsmittel zunächst nur in solcher Menge an, dass die noch vorhandene Amidosäure nicht vollständig in Lösung gehen konnte; der Rest wurde sodann durch Behandlung mit einer neuen Quantität des Extractionsmittels in Lösung gebracht. Die Lösungen lieferten nach dem Erkalten bald Krystalle. So erhielten wir zwei aus glänzenden Blättern bestehende Krystallisationen. Die Untersuchung derselben im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat lieferte folgende Resultate:

- I. Fraction der Krystalle: Eine Lösung in 20 procentiger Salzsäure, welche in 20 ccm. 0,874 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte bei 17° C. im 200 mm.-Rohr 4,4° nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D = -17,4^\circ$ .
- II. Fraction der Krystalle: Eine ebenso bereitete Lösung, welche in 20 ccm. 0,6813 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter gleichen Bedingungen 3,6° nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D = -14,4^\circ$ .

Die erste Fraction der Krystalle zeigte das gleiche Drehungsvermögen wie die von E. Schulze und E. Bossard bei Einwirkung von *Penicillium glaucum* auf inactives Leucin erhaltene active Modification; denn für zwei Präparate der letzteren wurde  $[\alpha]_D = -17,3^\circ$  bzw.  $-17,5^\circ$  gefunden; sie drehte ferner in salzsaurer Lösung ebensoviel nach links, wie das gewöhnliche active Leucin unter den gleichen Ver-

suchsbedingungen nach rechts dreht. Die zweite Fraction der Krystalle besass ein etwas schwächeres Drehungsvermögen. Man darf wohl annehmen, dass derselben noch etwas vom inactiven Product beigemischt war. Das Gleiche wurde in den Versuchen von E. Schulze und E. Bosshard beobachtet; es wurden in zwei Fällen Präparate erhalten, deren Drehungsvermögen darauf hinwies, dass ihnen noch inactives Leucin beigemischt war. Letzteres wurde für das eine dieser Präparate direct bewiesen, indem man es noch einmal mit *Penicillium* zusammenbrachte; sein Drehungsvermögen vergrösserte sich in Folge dessen bis auf den oben angegebenen Betrag.

Es sei noch darauf aufmerksam gemacht, dass die schwächer drehende zweite Fraction unserer Krystalle nach der Art ihrer Gewinnung den schwerer löslichen Theil des Products einschliessen musste.

In einem zweiten, mit der  $\alpha$ -Amidoisobutylessigsäure angestellten Versuch, in welchem wir die Lösung der letzteren noch länger als im ersten Versuch mit *Penicillium glaucum* in Berührung liessen, erhielten wir bei übrigens ganz gleichem Verfahren eine active Modification, welche bei der Untersuchung im Polarisationsapparat folgendes Resultat gab: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,4929 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr  $4,85^\circ$  S.-V. nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D = -17,0^\circ$ .

Die in der beschriebenen Weise erhaltene active Modification der  $\alpha$ -Amidoisobutylessigsäure zeigte auch eine Löslichkeit, welche derjenigen des aus dem inactiven Leucin durch Einwirkung von *Penicillium* entstandenen activen Products sehr nahe lag und bedeutend grösser war, als die Löslichkeit der inactiven Modification; 1 Theil derselben, und zwar von der ersten der beiden oben erwähnten Krystallfractionen, bedurfte nämlich bei  $13^\circ$  41 Th. Wasser zur Lösung (8,9300 gr. Lösung lieferten 0,2148 gr. Rückstand), während E. Schulze und E. Bosshard für jene aus dem inactiven Leucin erhaltene active Modification eine Löslichkeit von 1 : 43 bei  $18^\circ$  fanden — eine Löslichkeit, welche auch mit derjenigen des gewöhnlichen activen Leucins übereinstimmt (vgl. w. u.).

Die  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure liefert also bei der Behandlung mit *Penicillium glaucum* ein actives Product, welches in den Eigenschaften mit der in gleicher Weise aus dem inactiven Leucin erhaltenen activen Modification übereinstimmt und in salzsaurer Lösung ebensoviel nach links dreht, wie das gewöhnliche active Leucin unter den gleichen Versuchsbedingungen nach rechts.

**Darstellung einer Oxysäure aus der  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure und aus dem inactiven Leucin.**

Zur Ueberführung in die Oxysäure brachten wir die  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure in wässriger Lösung mit der berechneten Menge von Schwefelsäure und Natriumnitrit zusammen. Nachdem die Reaction sich vollendet hatte, wurde die Flüssigkeit eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Aether behandelt. Die ätherische Lösung wurde verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die Lösung mit Kupferacetat versetzt. Es entstand ein hellblauer krystallinischer Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen und sodann durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Aus der vom Schwefelkupfer abfiltrirten Lösung der freien Oxysäure gewannen wir die letztere durch Ausschütteln mit Aether, führten sie zur Reinigung noch einmal in das Kupfersalz über, schüttelten sie aus der bei Zerlegung des letzteren erhaltenen Flüssigkeit wieder mit Aether aus und brachten sie sodann zur Krystallisation. Die Krystalle schmolzen im Kapillarröhrchen bei 50°.

Genau in der gleichen Weise wurde aus dem inactiven Leucin eine Oxysäure dargestellt. Eine Probe derselben schmolz bei 50°, eine andere noch besser gereinigt bei 52°.

Man darf also sagen, dass die aus der  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure und aus dem inactiven Leucin dargestellten Oxysäuren den gleichen Schmelzpunkt besaßen. Dieselben zeigten auch das gleiche Aussehen. Dies gilt auch für die in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Kupfersalze der beiden Säuren.

Wir haben auch noch die Zinksalze der Säuren dargestellt, indem wir die wässerigen Lösungen der letzteren mit einer Zinkacetat-Lösung versetzten, worauf sofort die Zinksalze sich ausschieden. Dieselben besaßen das gleiche Aussehen und die gleiche Löslichkeit in Wasser. Letzteres geht aus folgenden Angaben hervor:

- a) 100 Th. Wasser lösten bei Zimmertemperatur 0,115 Th. vom Zinksalz der aus der  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure dargestellten Oxysäure.
- b) 100 Th. Wasser lösten vom Zinksalz der aus dem inactiven Leucin dargestellten Oxysäure 0,107 Th.

Die in Bezug auf die Löslichkeit beobachteten Differenzen dürfen als unwesentlich angesehen werden.

Die bei Einwirkung von salpetriger Säure auf das inactive Leucin entstandene Oxysäure ist demnach identisch mit derjenigen, welche die  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure bei gleicher Behandlung lieferte. Mit letzterer muss nach der Art ihrer Darstellung auch die Oxycaprone (Leucinsäure) identisch sein, welche von Erlenmeyer und Sigl<sup>1)</sup> durch Behandlung des aus Isovaleraldehyd und Blausäure entstehenden Nitrils mit rauchender Salzsäure dargestellt und später auch von Ley<sup>2)</sup> und von Guthzeit<sup>3)</sup> untersucht worden ist. Doch wird für diese Säure ein Schmelzpunkt von 54—56° angegeben, während unsere Säure bei 50—52° schmolz. Die Ursache für diese Differenz liegt ohne Zweifel darin, dass die von uns dargestellte Säure nicht völlig rein war. Beim Wiederauflösen derselben in Wasser blieben, freilich nur in sehr geringer Menge, kleine syrupöse Flüssigkeits-Tröpfchen zurück. Vielleicht hatte sich beim Eindunsten der Säure-Lösung eine geringe Quantität eines Anhydrids<sup>4)</sup> oder eines Esters<sup>5)</sup> ge-

<sup>1)</sup> Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 1109.

<sup>2)</sup> Ebendasselbst, Bd. 10, S. 231.

<sup>3)</sup> Ann. d. Chem., Bd. 209, S. 240.

<sup>4)</sup> Es wird angegeben, dass die Oxycaprone schon bei längerem Erhitzen auf 100° in Anhydride, welche in Wasser unlöslich sind, übergehen (vgl. Beilstein's Handbuch der organischen Chemie, 2. Auflage, Bd. 1, S. 523).

<sup>5)</sup> Ein Ester konnte sich bilden, falls der zum Ausschütteln der Säure verwendete Aether nicht frei von Alkohol war.

bildet. Wir stellten daher aus inactivem Leucin eine neue Quantität der Oxysäure dar und reinigten dieselbe in der oben beschriebenen Weise; zum Ausschütteln der Säure aus der wässerigen Flüssigkeit verwendeten wir aber in diesem Falle reinen, über Natrium rectificirten Aether; ferner liessen wir die nach dem Verdunsten des Aethers zurückbleibende wässerige Säure-Lösung nicht in der Wärme, sondern bei gewöhnlicher Temperatur über concentrirter Schwefelsäure eindunsten. Die so erhaltene Oxysäure, welche sich ohne Rückstand in Wasser löste, schmolz bei  $54,5^{\circ}$ , nachdem sie zuvor aus Wasser umkrystallisirt worden war; ihr Schmelzpunkt stimmte nun also mit demjenigen der von Erlenmeyer und Sigl entdeckten Säure überein. Auch besitzt das Zinksalz dieser Säure nach den darüber vorliegenden Angaben nahezu die gleiche Löslichkeit in Wasser, wie sie für das Zinksalz unserer Säure gefunden wurde.

Es ist hier noch darauf aufmerksam zu machen, dass die im Vorigen beschriebene Oxysäure verschieden von der Leucinsäure ist, welche man bei Einwirkung von salpetriger Säure auf das gewöhnliche active Leucin erhält. Wir haben uns diese Säure aus gewöhnlichem Leucin, erhalten durch Zersetzung von Conglutin mittelst Salzsäure, selbst dargestellt und fanden sie, wie zu erwarten war, optisch activ. Ihr Schmelzpunkt lag bei  $73^{\circ}$ . Den gleichen Schmelzpunkt gibt Waage<sup>1)</sup> für die von ihm untersuchte Leucinsäure an, für deren Darstellung ein aus Hornspänen gewonnenes Leucinpräparat gedient hatte.

#### Vergleichung der aus Gährungsacpronsäure dargestellten $\alpha$ -Amidosäure mit Leucin.

Bei Darstellung dieser Amidosäure verfahren wir in folgender Weise: Der bei fractionirter Destillation zwischen  $199$  und  $204^{\circ}$  übergegangene Theil käuflicher Gährungsacpronsäure wurde im zugeschmolzenen Glasrohr mit Brom<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Ann. d. Chem., Bd. 118, S. 295.

<sup>2)</sup> 80 Th. Brom auf 131 Th. Capronsäure.

erhitzt, das so erhaltene Bromsubstitutionsproduct von der bei der Reaction entstandenen Bromwasserstoffsäure befreit und sodann mit concentrirter wässeriger Ammoniakflüssigkeit im zugeschmolzenen Rohr ca. 6 Stunden lang auf  $120^{\circ}$  erhitzt. Der Rohrinhalt lieferte beim Erkalten eine reichliche Ausscheidung blättriger Krystalle. Dieselben wurden auf ein Filter gebracht, mit etwas kaltem Wasser gewaschen und sodann behufs völliger Entfernung der Mutterlauge auf eine Thonplatte aufgestrichen. Wir lösten sie nun in heissem Wasser und fügten der Lösung Kupferacetat zu. Es schied sich sofort eine krystallinische Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und hierauf mittelst Schwefelwasserstoffs zerlegt wurde. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Flüssigkeit wurde zur Krystallisation gebracht. Wir erhielten so eine in glänzenden Blättern krystallisirende, im Aussehen dem Leucin sehr ähnliche Amidosäure. Dieselbe war optisch inactiv. Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat: 18,6148 gr. einer gesättigten wässerigen Lösung (dargestellt bei  $16^{\circ}$ ) gaben 0,2312 gr. Rückstand. Demnach bedurfte 1 Th. der Amidosäure 79,5 Th. Wasser von  $16^{\circ}$  zur Lösung.

Wir stellten aus dieser Amidosäure nun eine active Modification dar, indem wir sie in wässeriger Lösung unter den w. oben beschriebenen Versuchsbedingungen der Einwirkung von *Penicillium glaucum* aussetzten. Nachdem der Versuch 12 Wochen lang gedauert hatte, wurde der Pilz durch Filtration entfernt, das Filtrat in der gleichen Weise wie früher (vgl. S. 519) verarbeitet, die dabei erhaltene Amidosäure aus Weingeist, welchem etwas Ammoniakflüssigkeit zugefügt war, umkrystallisirt. Wir erhielten so ein aus glänzenden Krystallblättern bestehendes Präparat. Die Untersuchung im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 ccm. 0,463 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei  $17^{\circ}$  C.  $6,95^{\circ}$  S.-V. nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D = -26,0^{\circ}$ .

Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat: 8,000 gr. einer bei  $18^{\circ}$  dargestellten wässerigen Lösung gaben

0,125 gr. Rückstand. Demnach bedurfte 1 Th. der Amidosäure 63,0 Th. Wasser von 18° zur Lösung.

Ein zweiter Versuch, in welchem wir die Einwirkung des Pilzes auf die Amidosäure noch 2 Wochen länger dauern liessen, lieferte ein Product von gleichen Eigenschaften. Eine Lösung desselben in 20 procentiger Salzsäure, welche in 10 ccm. 0,508 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 17° C. 7,8° S.-V nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D = -26,5^\circ$ .

Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat: 7,045 gr. einer bei 19° dargestellten wässrigen Lösung gaben 0,115 gr. Rückstand. Die Löslichkeit war also = 1 : 60,3.

Dass die in solcher Weise erhaltene active Substanz die Zusammensetzung einer Amidocaprinsäure besass, wurde durch die bei der Elementaranalyse erhaltenen Zahlen bewiesen: 0,1596 gr. Substanz lieferten 0,3214 gr. CO<sub>2</sub> und 0,1460 gr. H<sub>2</sub>O.

	Berechnet für	Gefunden:
	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> :	
C.	54,96	54,92 %
H	9,92	10,16 %
N	10,69	—
O	24,43	—

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse darf behauptet werden, dass die aus Gährungscaprinsäure von uns dargestellte Amidosäure verschieden vom Leucin ist. Denn dieselbe zeigte eine grössere Löslichkeit in Wasser als das inactive Leucin und lieferte bei der Spaltung durch *Penicillium glaucum* ein actives Product, welches von der in gleicher Weise aus dem inactiven Leucin dargestellten activen Modification sich durch weit stärkeres Drehungsvermögen und durch geringere Löslichkeit in Wasser unterschied.

Da nun nach allgemeiner Annahme<sup>1)</sup> die Gährungscaprinsäure normale Caprinsäure ist, so würden die von uns erhaltenen Versuchsergebnisse auch als ein Beweis dafür

<sup>1)</sup> M. vgl. z. B. Beilstein's Handbuch der organischen Chemie, 2. Auflage, S. 406.

angesehen werden können, dass die normale  $\alpha$ -Amidocaprinsäure verschieden von dem von uns aus Conglutin dargestellten Leucin ist.

Gegen diese Schlussfolgerungen lässt sich jedoch noch ein, freilich wohl nicht sehr schwerwiegender, Einwand erheben. Wie aus dem oben Mitgetheilten zu ersehen ist, haben wir als Material für die Darstellung der besprochenen Amidosäure den zwischen 199 und 204° überdestillirenden Theil der Gährungscaprinsäure verwendet. Dass derselbe nicht aus völlig reiner Caprinsäure bestand, war von vornherein kaum zweifelhaft und liess sich auch leicht beweisen<sup>1)</sup>. Trotzdem konnte die daraus dargestellte Amidosäure, welche nicht nur durch Krystallisation, sondern auch durch Ueberführung in die Kupferverbindung gereinigt wurde, eine ganz reine, einheitliche Substanz sein — wofür auch das Resultat der oben aufgeführten Elementaranalyse zu sprechen scheint. Immerhin aber muss zugegeben werden, dass die von uns mitgetheilten Versuchsergebnisse noch beweiskräftiger sein würden, wenn für die Darstellung der Amidosäure reine Caprinsäure verwendet worden wäre.

Wir führten daher einen neuen Versuch in folgender Weise aus: Gährungscaprinsäure wurde der fractionirten Destillation unterworfen, der zwischen 199 und 204° übergehende Theil für sich aufgefangen. Wir führten letzteren dann in das Kalksalz über und brachten dasselbe zur Krystallisation. Wir erhielten ein aus glänzenden Krystallblättern bestehendes Salz, welches in Wasser schwer löslich war und sich daher ohne Schwierigkeit von leichter löslichen Beimengungen<sup>2)</sup> befreien liess. Dasselbe wurde mehrmals umkrystallisirt. Bestimmungen des Calciumgehalts und der Löslichkeit in Wasser, welche in den schliesslich erhaltenen verschiedenen

<sup>1)</sup> Als wir einen Theil dieser Säure in das Calciumsalz verwandelten und letzteres umkrystallisirten, erhielten wir neben einem schwer löslichen, in glänzenden Blättern krystallisirenden Salz in geringer Menge ein anderes, welches eine weit grössere Löslichkeit in Wasser zeigte.

<sup>2)</sup> Vgl. die vorige Anmerkung.

Krystallfractionen ausgeführt wurden, gaben folgende Resultate<sup>1)</sup>:

A. Calciumgehalt:

	Berechnet für (C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ca:	Gefunden:	
		a)	b)
Ca	14,82	15,07	14,99%

B. Löslichkeit in Wasser:

I. Krystallisation:	100 Th. Wasser von 19—20° lösten	2,29 Th. Salz.
II. »	a) » » » »	2,31 » »
	b) » » » »	2,22 » »
III. »	» » » »	2,32 » »

Die Uebereinstimmung der bei den Löslichkeitsbestimmungen erhaltenen Zahlen<sup>2)</sup> beweist, dass das in der beschriebenen Weise dargestellte und gereinigte Kalksalz eine einheitliche Substanz war. Dasselbe wurde nun durch Behandlung mit Natriumcarbonat in das Natriumsalz übergeführt, letzteres sodann durch Schwefelsäure zersetzt. Die so gewonnene freie Säure führten wir dann in der oben schon beschriebenen Weise in die  $\alpha$ -Amidosäure über. Die letztere besass genau dasselbe Aussehen, wie das früher dargestellte Präparat; das Gleiche gilt für die Kupferverbindung, in welche auch in diesem Falle die Amidosäure zur Reinigung über-

<sup>1)</sup> Analytische Belege:

A. Calciumbestimmungen:

- a) 0,4426 gr. wasserfreies Salz gaben 0,0935 gr. Ca O (im Gebläse geglüht),
- b) 0,4827 gr. wasserfreies Salz gaben 0,2460 gr. CaSO<sub>4</sub>.

B. Löslichkeitsbestimmungen:

- I. Krystallisation: 11,1910 gr. Lösung gaben 0,2491 gr. wasserfreies Salz.
- II. Krystallisation:
  - a) 11,5526 gr. Lösung gaben 0,2518 gr. wasserfreies Salz,
  - b) 8,7081 gr. Lösung gaben 0,1896 gr. wasserfreies Salz.
- III. Krystallisation: 8,8572 gr. Lösung gaben 0,2002 gr. wasserfreies Salz.

<sup>2)</sup> Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass die von uns gefundene Löslichkeit der von Keppich (Monatsh. für Chemie, Bd 9, S. 594) für das Calciumsalz der normalen Capronsäure gemachten Angabe (100 Th. Wasser lösen bei 20° 2,5244 gr. wasserfreies Salz) nicht genau entspricht. Doch ist die Differenz wohl nicht so gross, dass man sie nicht als durch nebensächliche Umstände verursacht ansehen könnte.

geführt wurde. Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat:

7,792 gr. Lösung (dargestellt bei 22°) gaben 0,0927 gr. Rückstand. Dies entspricht einer Löslichkeit von 1 : 83,0 — ein Resultat, welches dem für das früher untersuchte Präparat gleicher Art gefundenen nahe liegt.

Auch auf dieses Product liessen wir nun *Penicillium glaucum* unter den früher angegebenen Versuchsbedingungen einwirken. Nach 12wöchentlicher Dauer des Versuchs wurde der Pilz durch Filtration entfernt, die Flüssigkeit in der früher beschriebenen Weise verarbeitet und die dabei resultirende Amidosäure nach bekanntem Verfahren gereinigt. Die Untersuchung derselben im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,423 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte bei 17° C. im 200 mm.-Rohr 5,4° S.-V. nach links. Daraus berechnet sich  $[\alpha]_D = -22,1^\circ$ .

Dieses Product zeigte also ein etwas schwächeres Drehungsvermögen, als die activen Substanzen, welche die aus Gährungsacpronsäure dargestellte  $\alpha$ -Amidosäure in den früher beschriebenen Versuchen lieferte. Vielleicht war demselben noch etwas von der inactiven Amidosäure beigemischt, was ja in solchen Versuchen hin und wieder vorkommt. Wir hätten darüber Aufschluss bekommen können, indem wir den Versuch mit *Penicillium* wiederholten. Letzteres erschien aber deshalb unnöthig, weil das oben mitgetheilte Resultat schon für sich allein beweisend ist. Denn es ist ja klar, dass eine Amidosäure, welche die Structur unseres inactiven Leucins besass, bei der Einwirkung von *Penicillium glaucum* nicht ein actives Product von so hohem Drehungsvermögen liefern konnte; es ist demnach zweifellos, dass auch die aus gereinigter Gährungsacpronsäure gewonnene  $\alpha$ -Amidosäure verschieden von dem aus Conglutin dargestellten Leucin ist.

Eine Stütze für diese Schlussfolgerung gibt auch die Differenz, welche sich in der Löslichkeit dieser beiden Substanzen zeigte<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Wie aus den w. o. von uns gemachten Angaben zu ersehen ist, fanden wir für das aus Conglutin dargestellte inactive Leucin eine Lös-

Wenn nun nicht bezweifelt werden kann, dass Gährungs-capronsäure die normale Säure ist, so führen die von uns erhaltenen Versuchsergebnisse auch zu der Schlussfolgerung, dass die normale  $\alpha$ -Amidocapronsäure verschieden von dem aus Conglutin dargestellten Leucin ist.

Schliesslich haben wir noch mitzutheilen, dass ein Theil der aus Gährungsapronsäure dargestellten  $\alpha$ -Amidosäure<sup>1)</sup> behufs Darstellung einer Oxysäure mit Kaliumnitrit und verdünnter Schwefelsäure behandelt wurde. Bei Ausführung des Versuchs, sowie bei Reinigung der dabei resultirenden Oxysäure befolgten wir die früher (S. 521) gegebenen Vorschriften. Die so gewonnene Oxysäure schmolz bei 60°. Dies entspricht den Angaben, welche für den Schmelzpunkt der normalen  $\alpha$ -Oxycapronsäure in der Litteratur sich finden<sup>2)</sup>.

#### Untersuchung einiger Leucinpräparate anderer Herkunft.

Die aus unseren Versuchen sich ergebende Schlussfolgerung, dass Leucin und  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure die gleiche Structur besitzen, konnte zunächst nur für das für jene Versuche benutzte Leucin, welches aus Conglutin dargestellt worden war, ausgesprochen werden; denn es ist denkbar, dass die aus verschiedenen thierischen und pflanzlichen Objecten dargestellten Leucine nicht identisch sind. Es erschien daher wünschenswerth, zum Vergleich noch einige Leucin-Präparate anderer Herkunft zu untersuchen.

Drei solche Präparate, welche nach dem Verfahren von Hlasiwetz und Habermann aus der Eiweisssubstanz der

lichkeit von 1 : 106,5 bei Zimmertemperatur, bezw. von 1 : 102,4 bei 21°, für die aus Gährungsapronsäure dargestellte  $\alpha$ -Amidosäure dagegen eine Löslichkeit von 1 : 83 bei 22°, bezw. 1 : 79,5 bei 16°.

<sup>1)</sup> Es sei bemerkt, dass für diesen Versuch ein Präparat der Amidosäure diente, welches aus nicht gereinigter Gährungsapronsäure dargestellt war; doch war dieses Präparat sowohl durch Umkrystallisiren als durch Ueberführung in die schwer lösliche Kupferverbindung gereinigt worden.

<sup>2)</sup> Vgl. Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, 2. Auflage, S. 523.

Kürbissamen, aus Leim und aus Hornspänen dargestellt wurden, können für identisch mit dem in gleicher Weise aus Conglutin erhaltenen Leucin erklärt werden; denn sie besaßen nahezu das gleiche Drehungsvermögen und die gleiche Löslichkeit in Wasser, wie aus folgender Zusammenstellung zu ersehen ist:

A. Spezifisches Drehungsvermögen in salzsaurer Lösung<sup>1)</sup>:

Leucin aus Conglutin:	$[\alpha]_D = 17,3^\circ$ .
» » Kürbiseiweiss:	» = 17,7°.
» » Leim:	» = 17,76°.
» » Hornspänen:	» = 17,5°.

B. Löslichkeit in Wasser<sup>2)</sup>:

Leucin aus Conglutin:	1 Th. löste sich in 46 Th. Wasser von 18°.
» » Kürbiseiweiss:	» » » » 45 » » » 19,5°.
» » Leim:	» » » » 44 $\frac{1}{2}$ » » » 16°.
» » Hornspänen:	» » » » 41 » » » 19°.

Die Differenzen, welche sich zwischen den für das spezifische Drehungsvermögen und für die Löslichkeit der verschiedenen Präparate gefundenen Zahlen zeigen, können für unwesentlich erklärt werden.

Es sei noch hervorgehoben, dass alle für die vorstehenden Bestimmungen benutzten Präparate sehr oft aus einem Gemisch von Weingeist mit concentrirter Ammoniakflüssigkeit, bezw.

<sup>1)</sup> Analytische Belege:

- Leucin aus Conglutin: Vgl. diese Zeitschr., Bd. 9, S. 100.
- Leucin aus Kürbiseiweiss: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,4392 gr. Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 16—17° C. 4,5° S.-V. nach rechts.
- Leucin aus Leim: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,5650 gr. Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Bedingungen 5,8° S.-V. nach rechts.
- Leucin aus Hornspänen: In 10 cbcm. 0,444 gr. Substanz; Drehung +4,50 S.-V.

<sup>2)</sup> Analytische Belege:

- Leucin aus Leim: 10,276 gr. Lösung gaben 0,225 gr. Rückstand.
- Leucin aus Hornspänen: 8,022 gr. Lösung gaben 0,1900 gr. Rückstand. — In Betreff des Leucins aus Conglutin und aus Kürbiseiweiss vgl. man diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 254 u. 255.

aus verdünntem Weingeist umkrystallirt worden waren und aus völlig farblosen, atlasglänzenden Krystallblättern bestanden.

Das specifische Drehungsvermögen haben wir noch bei drei anderen Leucinpräparaten bestimmt, von denen das eine durch Behandeln von Blutfibrin mit Pancreas, die beiden anderen durch Erhitzen von thierischem Nackenband (vom Ochsen) mit verdünnter Schwefelsäure, bezw. mit Salzsäure unter Zinnchlorürzusatz dargestellt worden waren. Für die beiden letzteren Präparate wurde in salzsaurer Lösung  $[\alpha]_D = +17,2^\circ$  und  $+17,55^\circ$ , für das erstere Präparat  $[\alpha]_D = +14,7^\circ$  gefunden. Das aus Fibrin dargestellte Präparat konnte, da es uns nur in relativ geringer Quantität vorlag, nicht so oft umkrystallisirt werden, wie die übrigen Präparate; es ist möglich, dass es nur aus diesem Grunde ein schwächeres Drehungsvermögen zeigte.

Alle durch Zersetzung von Proteinstoffen mittelst Säuren von uns hergestellten Leucin-Präparate, welche bis jetzt von uns untersucht wurden, erwiesen sich als optisch activ, und zwar als rechtsdrehend in salzsaurer Lösung<sup>1)</sup>.

Als optisch inactiv erwies sich dagegen ein Leucinpräparat, welches wir nach einem von Janke<sup>2)</sup> empfohlenen Verfahren aus Käse in folgender Weise dargestellt hatten: Emmenthaler Magerkäse wurde zerkleinert, in Wasser vertheilt und sodann 5—6 Wochen lang bei einer Temperatur von circa  $40^\circ$  stehen gelassen. Dann wurde die Lösung durch Filtration vom Rückstand getrennt. Wir reinigten dieselbe durch Versetzen mit Gerbsäure und Bleiessig, entfernten das überflüssige Blei durch Schwefelwasserstoff und dunsteten die Flüssigkeit sodann im

<sup>1)</sup> Erlenmeyer und Hell (Ann. d. Chem., Bd. 160, S. 258) fanden die bei gewöhnlicher Temperatur gesättigten wässrigen Lösungen einiger aus Eiweissstoffen und aus elastischem Gewebe mittelst Schwefelsäure dargestellter Leucinpräparate ohne Wirkung auf das polarisirte Licht. Die aus solchem Leucin durch Oxydation dargestellte Valeriansäure war aber optisch activ.

<sup>2)</sup> Mittheilung auf der Naturforscher-Versammlung in Bremen, 1890; Chem. Centralblatt, 1891, S. 703.

Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. Nach einiger Zeit krystallisirte aus derselben Leucin aus. Dasselbe zeigte in unreinem Zustande ein schwaches Drehungsvermögen; nach mehrmaligem Umkrystallisiren erwies es sich aber als optisch inactiv. Es war schwer löslich; 1 Th. bedurfte bei Zimmertemperatur 96 Th. Wasser zur Lösung.

Es muss auffallen, dass ein Process, an welchem doch wohl Mikroorganismen sich betheiligten, ein optisch inactives Präparat lieferte. Vielleicht lässt sich dies unter Berücksichtigung der Thatsache, dass ein in unserem Laboratorium früher aus reifem Emmenthaler Käse dargestelltes Leucinpräparat optisch activ, und zwar rechtsdrehend in salzsaurer Lösung war, in folgender Weise erklären: Es ist wahrscheinlich, dass der für obigen Versuch verwendete Käse schon Leucin enthielt, ehe er in Wasser vertheilt und der Wirkung der Mikroorganismen überlassen wurde, und dass dieses Leucin optisch activ (rechtsdrehend in salzsaurer Lösung) war. Wenn nun während des Zersetzungs Vorganges durch die Mikroorganismen aus den Eisweisssubstanzen des Käses ein Leucin von entgegengesetztem Drehungsvermögen gebildet wurde, so konnte dasselbe mit dem schon vorhandenen Leucin sich zu einem inactiven Product vereinigen.

Allerdings ist diese Erklärung nur annehmbar unter der Voraussetzung, dass das im Käse schon fertig gebildete active Leucin von den Mikroorganismen nicht zerstört wurde.

Dass dem in obigem Versuch erhaltenen Leucin, so lange dasselbe nicht gut gereinigt war, ein schwaches Drehungsvermögen zukam, würde sich leicht durch die Annahme erklären lassen, dass neben dem inactiven Product in geringer Menge actives Leucin vorhanden war, welches aber beim Umkrystallisiren des Rohproducts nach und nach in die Mutterlauge überging.

---

Aus den im Vorigen von uns mitgetheilten Versuchsergebnissen ist zu schliessen, dass dem aus Conglutin dargestellten Leucin die Constitution einer  $\alpha$ -Amidoisobutyl-essigsäure zukommt; es ist ferner auf Grund jener Ergebnisse

als sehr wahrscheinlich zu bezeichnen, dass für die aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen, sowie aus Leim und aus Hornspänen dargestellten Leucinpräparate das Gleiche gilt.

Keines der von uns untersuchten Leucinpräparate zeigte Eigenschaften, welche zu der Annahme berechtigten, dass dasselbe identisch mit der aus Gährungsacpronsäure dargestellten  $\alpha$ -Amidosäure sei.

Die Frage, ob die aus verschiedenen thierischen und pflanzlichen Proteinstoffen dargestellten Leucinpräparate die gleiche Structur besitzen, ist früher schon hin und wieder discutirt worden. Unsere Versuche haben keinen bestimmten Anhalt für die Annahme geliefert, dass es ausser einem natürlichen Leucin, welches die Constitution einer  $\alpha$ -Amidoisobutyl-essigsäure besitzt, noch ein anderes gibt<sup>1)</sup>. Zu dieser Schlussfolgerung führt aber eine vor Kurzem von A. Kwisda<sup>2)</sup> gemachte Angabe. Derselbe hat Leucin, welches durch Zersetzung von Casein mittelst Salzsäure erhalten worden war, mit Jodwasserstoffsäure längere Zeit auf  $180^\circ$  erhitzt und die dabei resultirende Capronsäure untersucht. Er erklärt die letztere für die normale Säure, und zwar auf Grund der Ergebnisse, welche er bei Bestimmung des Krystallwassergehalts und der Löslichkeit des Kalksalzes der Säure erhielt.

Dies führt zur Annahme, dass ausser einem Leucin, welches die Constitution der  $\alpha$ -Amidoisobutylelessigsäure besitzt, noch ein anderes existirt, welches sich von der normalen Capronsäure ableitet<sup>3)</sup>.

Wir wollen schliesslich noch darauf aufmerksam machen, dass die Entscheidung der Frage, wie viel Leucin verschiedener Constitution unter den Zersetzungsproducten der Proteinstoffe

<sup>1)</sup> Allerdings haben wir für das aus Blutfibrin mittelst Pancreas dargestellte Leucin ein etwas schwächeres Drehungsvermögen gefunden, als für die anderen Präparate; vielleicht aber wäre das Drehungsvermögen des ersteren Präparats noch gestiegen, wenn wir dasselbe noch öfter hätten umkrystallisiren können.

<sup>2)</sup> Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S. 423—425.

<sup>3)</sup> Es sei hier aber erwähnt, dass J. Mauthner (l. c.) für ein aus Casein dargestelltes Leucinpräparat ein Drehungsvermögen fand, welches demjenigen der von uns untersuchten Präparate sehr nahe liegt.

sich finden, keineswegs leicht ist, und zwar aus folgendem Grunde: Wenn man Proteinstoffe durch Säuren oder andere Agentien zersetzt und aus den dabei erhaltenen Producten nach bekannter Methode das Leucin abscheidet, so erhält man bekanntlich zunächst ein «Roh-Leucin», welches in seinen Eigenschaften vom reinen Leucin bedeutend abweicht. Es besteht nicht, wie das letztere, aus glänzenden Krystallblättern, sondern bildet eine mehr oder weniger gefärbte krümelige Masse, welche entweder amorph ist, oder nur aus sehr kleinen Krystallen besteht. In Wasser ist sie relativ leicht löslich. Erst durch wiederholtes Umkrystallisiren erhält sie diejenigen Eigenschaften, welche für reines Leucin angegeben werden.

Wer einmal eine solche Darstellung ausgeführt hat, weiss zur Genüge, dass beim wiederholten Umkrystallisiren des Rohleucins ein sehr grosser Theil desselben in die Mutterlauge übergeht, so dass der Quantität nach das schliesslich resultirende reine Präparat nur wenig vom Gewicht des Rohleucins ausmacht.

Man pflegt nun in der Regel wohl anzunehmen, dass dem Rohleucin die abweichenden Eigenschaften nur durch eine Beimengung geringer Quantitäten anderer Amidosäuren gegeben werden. Doch kann diese Annahme als eine völlig bewiesene nicht hingestellt werden. Es liegt wohl im Bereich der Möglichkeit, dass im Rohleucin zwei Leucine<sup>1)</sup> von verschiedener Constitution enthalten sind, von denen das eine beim Umkrystallisiren des Rohproductes nach und nach in die Mutterlauge übergeht. Sind auch zur Zeit keine That-sachen bekannt, welche eine bestimmte Stütze für eine solche Annahme geben können<sup>2)</sup>, so liegen doch auch andererseits, so-

<sup>1)</sup> Selbst die Annahme, dass im Rohproduct mehr als zwei Leucine enthalten sind, dürfte wohl zur Zeit nicht als eine ganz unmögliche bezeichnet werden können.

<sup>2)</sup> Falls man nicht etwa als eine solche Stütze den Umstand betrachten will, dass die für die Löslichkeit des gewöhnlichen, optisch activen Leucins in der Literatur sich findenden Angaben stark differiren. Früher ist meistens für Leucin eine Löslichkeit von 1 : 27 (bei Zimmer-temperatur) angegeben worden, während die von uns untersuchten Präparate eine Löslichkeit von 1 : 40 bis 1 : 46 zeigten.

viel wir wissen, keine Beobachtungen vor, welche ein absolutes Hinderniss für dieselbe bilden.

Dass es sehr schwierig ist, über alle Bestandtheile der beim Eiweisszerfall entstehenden Gemenge von Amidosäuren Aufschluss zu gewinnen, dürfte auch aus den Untersuchungen zu ersehen sein, deren Ergebnisse der Eine von uns<sup>1)</sup> in dieser Zeitschrift früher publicirt hat.

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 63.

---