

Ueber die Entstehung von α -Pyrrolidincarbonsäure und Phenylalanin bei der Hydrolyse des Eialbumins.

Von
Emil Fischer.

(Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 8. August 1901.)

Für den Versuch diente das käufliche Präparat aus Eiweiss von Dr. Grübler in Dresden und die Untersuchungsmethode war genau dieselbe wie beim Casein.¹⁾

250 g Albumin wurden mit 750 ccm. Salzsäure (spec. Gew. 1,19) bei gewöhnlicher Temperatur übergossen und wiederholt umgeschüttelt. Nach einer Stunde war dasselbe zum Theil mit stark violettrother Farbe gelöst, zum andern Theil gallertig aufgequollen. Als dann am Rückflusskühler zum Sieden erhitzt wurde, nahm Anfangs die violette Färbung noch zu, schlug später aber in braunschwarz um. Nach sechsstündigem Kochen wurde die Operation unterbrochen und die Flüssigkeit nach längerem Stehen von einer dunklen schmierigen Ausscheidung durch Filtration getrennt. Wie es scheint, rühren diese dunklen Zersetzungsprodukte, die beim Casein nur in ganz geringer Menge entstehen, von den im Albumin vorhandenen Kohlehydraten her. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck stark eingeeengt und der Rückstand mit Alkohol und

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. XXXIII. S. 151. (1901.)

Salzsäure verestert. Die Destillation des Estergemisches gab bei 25 mm. Druck¹⁾ folgende Fractionen:

I.	50°— 75°	(35— 60°)	8.8 g.
II.	75°— 90°	(60— 75°)	10.3 g.
III.	90°—110°	(75— 95°)	19.5 g.
IV.	110°—145°	(95—130°)	21.0 g.
V.	145°—165°	(130—150°)	9.5 g.
			69,1 g.

Zum Vergleich sind in der Tabelle eingeklammert die Siedepunkte angeführt, welche die gleichen Fractionen bei 10 mm. zeigen würden: selbstverständlich haben diese Zahlen nur eine annähernde Gültigkeit.

Da es mir zunächst nur auf den Nachweis von Pyrrolidincarbonsäure und Phenylalanin ankam, so habe ich die Untersuchung auf die Fractionen III und V beschränkt.

Die Verarbeitung der ersteren war genau dieselbe wie beim Casein. Die Menge der activen Pyrrolidincarbonsäure, welche mit Hilfe des in Alkohol löslichen Kupfersalzes isolirt war, betrug 1,15 g und das Präparat zeigte den Schmelzpunkt (205°) sowie alle anderen Eigenschaften der activen Säure.

Zur sicheren Identificirung wurde es noch mit Phenylisocyanat combinirt und aus dieser Verbindung durch Erhitzen mit Salzsäure das Anhydrid dargestellt. Letzteres zeigte, aus Wasser umkrystallisirt, die charakteristischen flachen Nadeln vom Schmelzpunkt 142°.

Die Menge der racemischen α -Pyrrolidincarbonsäure war geringer, denn von dem Kupfersalz wurden nur 0,4 g gewonnen. Bei der Analyse desselben wurde allerdings etwas zu wenig Krystallwasser gefunden:

0,2363 g lufttrockne Substanz verloren bei 110° 0,0230 g H₂O.

0,2133 g wasserfreies Salz gaben 0,0581 g CuO.

C₁₀H₁₆O₄N₂Cu + 2 H₂O Ber.: 10,99% H₂O, gef. 9,79% H₂O.

C₁₀H₁₆O₄N₂Cu > 21,81% Cu, > 21,75% Cu.

Da aber das Salz sonst ganz die Eigenschaften des

¹⁾ Da die Versuche im hohen Sommer ausgeführt wurden, so war mit der Wasserstrahlpumpe kein niedrigerer Druck zu erreichen.

r-pyrrolidincarbon-sauren Kupfers, z. B. die Löslichkeit, die Form der Krystalle und den starken Geruch nach Pyrrolidin beim Erhitzen oder beim Eindampfen der wässrigen Lösung zeigte, so kann über die Identität kein Zweifel herrschen.

Die Fraction V der Ester wurde zunächst wie beim Casein mit der 7fachen Menge Wasser durchgeschüttelt und der unlösliche Theil für sich mit Barytwasser bei 100° verseift. Da die Identificirung des racemischen Phenylalanins sehr viel leichter ist, so habe ich auf die Isolirung der activen Aminosäure verzichtet und die filtrirte Barylösung sofort durch 24stündiges Erhitzen im Autoclaven auf 160° racemisirt. Die Isolirung des Phenylalanins aus der baryumhaltigen Lösung geschah in bekannter Weise, ihre Menge betrug 2,5 g.

Das Produkt gab stark die charakteristische Verwandlung des Phenylalanins in Phenylacetaldehyd beim Kochen mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat. Zur weiteren Identificirung wurde es einmal aus heissem Wasser umkrystallisirt und dann mit Phenylisocyanat gekuppelt. Nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol zeigte dieses Produkt nicht allein den Zersetzungspunkt (gefunden 178°), sondern auch die Zusammensetzung des Phenylecyanat-Phenylalanins:

0,1963 g Substanz gaben 0,4835 g CO_2 und 0,1010 g H_2O .

$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{N}_2$. Berechnet: 67,60% C, 5,63% H.

Gefunden: 67,18% C, 5,72% H.

Die gleiche Uebereinstimmung im Schmelzpunkt (gefunden $170-171^{\circ}$) ergab sich bei dem Anhydrid der vorigen Verbindung.

Aehnliche Resultate haben einige Versuche des Herrn Dr. Levene mit der Gelatine ergeben. Die Bildung der α -Pyrrolidincarbon-säure wurde ganz sicher nachgewiesen und diejenige des Phenylalanins sehr wahrscheinlich gemacht. Ausführliche Mittheilung darüber wird bald folgen.

Schützenberger¹⁾ hat bei seiner ausgedehnten Arbeit über die Zersetzung des Albumins durch Barytwasser ein Produkt isolirt, welches er Tyroleucin nannte und als eine

¹⁾ Ann. chim. phys. (5), 16, S. 343. (1879.)

Verbindung von Aminovaleriansäure mit einem Körper $C_9H_{11}NO_2$ glaubte betrachten zu können.

E. Schulze und Barbieri,¹⁾ welche zuerst das Phenylalanin unter den Zersetzungsprodukten der Eiweissstoffe mit Sicherheit erkannten, haben bereits darauf hingewiesen, dass nach dem Befunde von Schützenberger bei der Zersetzung des Albumins mit Barytwasser wahrscheinlich Phenylalanin entstehe. Aber der sichere Beweis dafür würde ohne die Estermethode wohl noch lange nicht geliefert worden sein; denn gerade die Versuche von Schulze²⁾ zeigen, welche ausserordentliche Schwierigkeiten die sichere Erkennung des Phenylalanins unter den Spaltungsprodukten der Proteinstoffe nach den älteren Methoden darbietet.

Was die Pyrrolidincarbonsäure betrifft, so habe ich schon in der ersten Mittheilung hervorgehoben, dass sie wohl zu unterscheiden ist von den schlecht charakterisirten Produkten, welche Schützenberger aus Proteinstoffen durch Baryt erhielt und Leuceine genannt hat. Dass die von ihm aufgestellte allgemeine Formel $C_nH_{2n-1}NO_2$ auf die Pyrrolidincarbonsäure zutrifft, ist nur ein Zufall, denn das einfachste Leucin soll nach Schützenberger die Formel $C_7H_7NO_2$ haben und kann demnach keine Carbonsäure des Pyrrolidins sein.

Ich glaube bei dieser Gelegenheit nicht mit meinem Urtheil über die Arbeiten Schützenberger's zurückhalten zu sollen. Er hat zweifellos das Verdienst, gezeigt zu haben, dass die Zahl der aus den Proteinstoffen entstehenden Aminosäuren viel grösser ist, als man früher annahm. Aber bei aller Anerkennung der grossen Mühe, welche er der Isolirung der Produkte gewidmet hat, kann man sich der Ueberzeugung nicht verschliessen, dass die von ihm verwandte Trennungsmethode sehr unvollkommen gewesen ist. Er hat sich auf fractionirte Krystallisation der Aminosäuren aus Wasser und Alkohol beschränkt, dass aber dadurch keine völlige Scheidung dieser Stoffe, welche in hohem Grade zur Bildung von Misch-

¹ Ber. d. deutsch. chem. Ges., 14, S. 1785. (1881.)

² Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 63. (1885.)

krystallen befähigt sind, zu erreichen ist, wird jeder auf diesem Gebiete bewanderte Beobachter zugeben. In Folge dessen sind die meisten von Schützenberger analysirten Präparate Gemische gewesen, und seine Angaben über die Entstehung der verschiedenen Aminosäuren aus den Proteinstoffen bedürfen in jedem Einzelfalle der Prüfung.

Auch bei diesen Versuchen habe ich mich der Hülfe des Herrn Dr. O. Wolfes erfreut, wofür ich ihm besten Dank sage.