

# Ueber die Trennung des Phenylalanins von anderen Aminosäuren.

Von

E. Schulze und E. Winterstein.

Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.

(Der Redaction zugegangen am 13. März 1902.)

Zur Isolirung des Phenylalanins benutzten E. Schulze und J. Barbieri<sup>1)</sup> die Eigenschaft dieser Aminosäure, mit Kupfer eine in Wasser sehr wenig lösliche Verbindung zu geben, welche sich bei geeignetem Verfahren meistens vor den Kupferverbindungen anderer, in der gleichen Flüssigkeit vorhandener Aminosäuren ausscheidet. Mit Hülfe dieses Verfahrens gelingt es leicht, das Phenylalanin aus zwei- bis dreiwöchentlichen etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* darzustellen — aus demjenigen Material also, in welchem die genannte Aminosäure entdeckt worden ist. Das Gemenge von Aminosäuren, welches in der von E. Schulze und J. Barbieri beschriebenen Art und Weise aus den genannten Keimpflanzen sich gewinnen lässt, besteht im Wesentlichen aus Phenylalanin und Aminovaleriansäure. Erhitzt man die wässrige Lösung dieses Gemenges mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd, so scheidet sich ziemlich reines Phenylalaninkupfer aus. Die daraus gewonnene Aminosäure kann dann durch mehrmaliges Ausfällen mit Kupferacetat aus heisser wässriger Lösung gereinigt werden. Bietet aber die Darstellung des Phenylalanins auf diesem Wege hier keine Schwierigkeit dar, so ist sie doch mit beträchtlichem Verlust verbunden. Denn bekanntlich besitzen die Kupferverbindungen der Aminosäuren in gewissem Grade die Eigenschaft, sich gegenseitig in Lösung zu halten. Die vom Phenylalaninkupfer abfiltrirte blaue Flüssigkeit, in welcher das in Wasser ziemlich leicht lösliche aminovaleriansaure Kupfer sich vorfindet, enthält daher auch einen Theil

<sup>1)</sup> J. f. praktische Chemie. N. F., Bd. 27, S. 337.

des Phenylalaninkupfers in Lösung. Dunstet man diese Flüssigkeit im Wasserbade auf ein geringeres Volumen ein, so scheidet sich freilich noch etwas Phenylalaninkupfer aus; doch ist eine vollständige Gewinnung der genannten Aminosäure auch durch Wiederholung der zu ihrer Trennung von der Aminovaleriansäure dienenden Operation nach unseren Erfahrungen nicht zu erreichen.

Schwieriger ist die Darstellung des Phenylalanins aus Keimpflanzen, wenn letztere auch noch Leucin nicht bloss in Spuren, sondern in etwas grösserer Menge enthalten. Denn auch aus einer wässerigen Leucinlösung scheidet sich, wenn man sie mit Kupferhydroxyd erhitzt, eine sehr schwer lösliche Kupferverbindung aus. Behandelt man also eine Flüssigkeit, welche Phenylalanin, Leucin und Aminovaleriansäure neben einander enthält, in der angegebenen Weise, so wird man eine Ausscheidung erhalten, welche Phenylalanin und Leucin als Kupferverbindungen einschliesst. Zerlegt man diese Verbindungen durch Schwefelwasserstoff und versetzt die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Aminosäurelösung, nachdem sie im Wasserbade eingeeengt worden ist, mit einer nicht zu grossen Menge einer Kupferacetatsolution, so kann man allerdings einen Niederschlag erhalten, der relativ reich an Phenylalanin, arm an Leucin ist, und kann durch mehrmalige Wiederholung der fractionirten Ausfällung mit Kupferacetat schliesslich das Phenylalanin rein erhalten. Doch ist dieser Weg zur Gewinnung von reinem Phenylalanin kein ganz sicherer und jedenfalls mit starkem Substanzverlust verbunden.

Da die Gegenwart von Leucin die Reindarstellung des Phenylalanins nach dem angegebenen Verfahren erschwert, so liegt auf der Hand, dass dieses Verfahren sich nicht gut dazu eignet, aus dem leucinreichen Aminosäurengemenge, das man bei Spaltung der Eiweisssubstanzen durch Säuren erhält, Phenylalanin zu isoliren. Man kann hier nur zum Ziele kommen, falls es zuvor gelungen ist, beim Auskrystallisiren der Aminosäuren Krystallfractionen zu gewinnen, die relativ reich an Phenylalanin sind. Wenn man diese Fractionen in Wasser löst, die Lösung mit einer nicht zu grossen Menge von Kupfer-

hydroxyderhitzt, den dabei erhaltenen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die so gewonnenen Aminosäuren einer fractionirten Fällung mit Kupferacetat unterwirft. so ist es möglich, Phenylalanin zu isoliren. Doch vermochten E. Schulze und seine Mitarbeiter nur bei Untersuchung der aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen erhaltenen Spaltungsprodukte dieses Ziel zu erreichen; aus anderen Eiweissstoffen, z. B. aus Conglutin, konnten sie nur Präparate darstellen, die nach ihrer Elementarzusammensetzung und nach ihrem Verhalten als Gemenge von Phenylalanin und Leucin anzusehen waren.<sup>1)</sup> Ganz ungeeignet erwies sich jenes Verfahren zur Isolirung von Phenylalanin aus den Produkten, die man bei der Zersetzung von Eiweissstoffen mit Barytwasser unter Druck erhält, da das in diesem Falle entstandene racemische Leucin durch Kupferacetat ebenso leicht gefällt wird, wie Phenylalanin. Versuche zur Auffindung eines besseren Trennungsverfahrens blieben damals ohne Resultat. Allerdings zeigte sich, dass Phenylalanin in wässriger Lösung durch Mercurinitrat gefällt wird. Da aber die Anwesenheit von viel Leucin die Fällung verhindert, so kann man auch auf diesem Wege nicht zum Ziele kommen. Doch gelang es in einigen Fällen, wenigstens phenylalaninreiche Präparate zu gewinnen, indem man die Lösungen der Aminosäuren zuerst mit Mercurinitrat und hierauf mit etwas Natriumcarbonat versetzte.

Ein besseres Verfahren zur Isolirung des Phenylalanins aus dem bei Zersetzung von Eiweisssubstanzen erhaltenen Stoffgemenge ist vor nicht langer Zeit von Emil Fischer<sup>2)</sup> beschrieben worden. Dieses Verfahren, dessen man sich zugleich auch zur Isolirung anderer Aminosäuren bedienen kann, besteht darin, dass man die Aminosäuren in Ester verwandelt und die letzteren durch fractionirte Destillation trennt. E. Fischer vermochte auf diesem Wege Phenylalanin aus Casein und aus Eieralbumin darzustellen.

Wenn auch seit dem Bekanntwerden dieses Verfahrens

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

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 151 und 412.

die Auffindung einer neuen Methode zur Isolirung des Phenylalanins nicht die gleiche Bedeutung hat wie früher, so schien es uns doch angezeigt, zu untersuchen, inwieweit für den genannten Zweck die von uns vor Kurzem beobachtete Fällbarkeit des Phenylalanins durch Phosphorwolframsäure sich verwenden lässt. Ehe wir die darüber angestellten Versuche beschreiben, wollen wir zunächst über das Verhalten des reinen Phenylalanins gegen das genannte Reagens und über die Eigenschaften des phosphorwolframsauren Phenylalanins noch Einiges mittheilen.

Eine wässrige Phenylalaninlösung wird auch bei starker Verdünnung durch Phosphorwolframsäure gefällt. Noch bei einem Gehalt von nur 1% Phenylalanin gab eine solche Lösung mit dem genannten Reagens sofort eine ölige Fällung, die sich später in blätterige Krystalle verwandelte. Im Ueberschuss des Reagens war die Fällung leicht löslich; Zusatz von Schwefelsäure zu dieser Lösung rief die Ausscheidung von Krystallblättchen hervor. Eine 0,25%ige Phenylalaninlösung gab mit Phosphorwolframsäure nicht sofort eine Fällung; nach Verlauf von etwa 10 Minuten schieden sich aber in der Flüssigkeit Krystallblättchen aus. In einer mit Phosphorwolframsäure versetzten 0,125%igen Phenylalaninlösung erfolgte auch bei längerem Stehen keine Ausscheidung. In kochendem Wasser löst sich das Phosphorwolframat des Phenylalanins ziemlich leicht; die Lösung lieferte beim Erkalten blätterige Krystalle. Im Alkohol ist die Verbindung leicht löslich. Um ihre Löslichkeit in kaltem Wasser annähernd zu bestimmen, wurde ein durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Wasser gereinigtes Präparat anhaltend mit kaltem Wasser geschüttelt, die so entstandene Lösung dann vom Ungelösten abfiltrirt. Abgewogene Antheile dieser Lösung wurden sodann in gewogenen Platinschälchen eingedunstet, die Verdampfungsrückstände getrocknet und gewogen. Es ergab sich, dass 100 Th. Wasser von 15—16° in einem Falle 0,72 Th., in einem zweiten Versuch 0,74 Th. der Verbindung gelöst hatten. Die reine Verbindung zeigt also nur geringe Löslichkeit in kaltem Wasser. Bei ihrer Darstellung wirkt, wie oben schon erwähnt

wurde, ein Ueberschuss des Fällungsmittels lösend, während Zusatz von  $H_2SO_4$  die Löslichkeit vermindert. Die Anwesenheit von Leucin oder Aminovaleriansäure verhinderte die Fällung des Phenylalanins durch Phosphorwolframsäure bei genügender Concentration der mit  $H_2SO_4$  versetzten Lösung nicht; eine ca. 0,5%ige Lösung, welcher Leucin zugesetzt war, wurde aber nicht mehr gefällt.

Zu erwähnen ist noch, dass das reine Phosphorwolframat sich aus der heissen wässerigen Lösung in atlasglänzenden leucinähnlichen Krystallblättchen ausscheidet, wenn man diese Lösung während des Erkaltens stark umrührt, und dass man das Phenylalanin aus dieser Verbindung leicht wieder gewinnen kann, indem man die heisse wässerige Lösung derselben mit Baryumhydroxyd bis zur alkalischen Reaction versetzt, dann filtrirt, das Filtrat mit Hülfe von Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit und hierauf eindunstet.

Dass die Fällbarkeit des Phenylalanins durch Phosphorwolframsäure sich nicht nur für die Unterscheidung dieses Körpers von anderen Aminosäuren, sondern auch für seine Isolirung verwerthen lässt, wurde durch eine Anzahl von Versuchen von uns bewiesen. Für einen dieser Versuche verwendeten wir 2—2 $\frac{1}{2}$  wöchentliche etiolirte Keimpflanzen von *Lupinus albus*, welche nach einer in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchung<sup>1)</sup> neben Aminovaleriansäure und Leucin eine geringe Quantität von Phenylalanin enthalten. Zur Darstellung dieser Aminosäuren wurden ca. 750 g der getrockneten fein zerriebenen Keimpflanzen mit ca. 92%igem Weingeist extrahirt, der Auszug sodann in bekannter Weise<sup>2)</sup> verarbeitet. Das dabei erhaltene Rohprodukt wurde einmal aus einem Gemisch von heissem Alkohol mit Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt. Das durch Waschen mit Weingeist und darauf folgendes Aufstreichen auf eine Thonplatte von der Mutterlauge befreite Aminosäurengemenge, dessen Gewicht ca. 8 g betrug, lösten wir in 5%iger Schwefelsäure und versetzten die Lösung mit einer ca. 50%igen Phosphorwolfram-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 313 und Bd. XXII, S. 421.

2) M. vergl. die citirten Abhandlungen.

säuresolution, solange als noch ein Niederschlag entstand. Die ölige Fällung sammelte sich am Boden des Gefässes als bräunliche Masse an. Sie wurde nach dem Abgiessen der überstehenden Flüssigkeit in heissem Wasser gelöst. Die von einem schwer löslichen Rückstand abfiltrirte Lösung lieferte, nachdem sie im Wasserbade eingeeengt worden war, beim Erkalten wieder eine ölige Ausscheidung, die nach ca. 24 Stunden blättrig krystallinisch wurde. Wir lösten dieselbe nach dem Abgiessen der Mutterlauge wieder in heissem Wasser und versetzten die zuvor noch einmal filtrirte Flüssigkeit mit heissem Barytwasser, bis ihre Reaction eine alkalische geworden war. In die vom Baryumphosphorwolframat abfiltrirte Flüssigkeit wurde Kohlensäure eingeleitet; dann wurde dieselbe filtrirt, im Wasserbade eingeeengt und nun mit Kupferacetatsolution versetzt, solange als dieses Reagens noch eine sofort oder nach ganz kurzer Zeit auftretende Fällung gab.<sup>1)</sup> Die blassblaue Fällung, welche das Aussehen des Phenylalaninkupfers hatte, wurde abfiltrirt, mit kaltem Wasser ausgewaschen, dann in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Flüssigkeit lieferte, nachdem sie im Wasserbade bis zur Bildung einer Krystallhaut auf der Oberfläche eingeeengt und dann mit Weingeist vermischt wurde, Krystallblättchen vom Aussehen und von den Eigenschaften des Phenylalanins. Beim raschen Erhitzen im Glasröhrchen zeigten sie das öfter schon geschilderte Verhalten dieser Aminosäure, das auf der Bildung von Phenyläthylamin und Phenyllactimid beruht. Die wässrige Lösung der Krystalle war linksdrehend, und zwar eben so stark linksdrehend, wie eine gleich concentrirte Lösung eines Phenylalaninpräparats unserer Sammlung. Beim Erhitzen mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat entwickelten die Krystalle den für Phenylalanin charakteristischen Geruch, welcher nach E. Fischer durch die Bildung von Phenylacetaldehyd bedingt wird. Die heisse wässrige Lösung der Krystalle gab auf Zusatz von

1) Aus dem Filtrat schied sich langsam noch eine Kupferverbindung von anderem Aussehen aus, als dasselbe eingeeengt und dann mit mehr Kupferacetat versetzt wurde.

Kupferacetat sofort einen blassblauen krystallinischen Niederschlag, dessen Kupfergehalt dem von der Formel des Phenylalaninkupfers geforderten Werthe entspricht:

0.2715 g der bei 100° getrockneten Substanz gaben 0.0547 g CuO.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$C_9H_{10}NO_2 \cdot \frac{1}{2}Cu$	
Cu	16.2 %	16.1 %

Diese Angaben beweisen, dass mit Hilfe der Ausfällung durch Phosphorwolframsäure das Phenylalanin von anderen im Rohprodukt enthaltenen Aminosäuren getrennt werden konnte. Zu bemerken ist noch, dass diese Trennungsweise die Gewinnung jener anderen Aminosäuren keineswegs hinderte. Denn man konnte die von der Phosphorwolframsäurefällung getrennte Flüssigkeit durch Versetzen mit Barytwasser von der Phosphorwolframsäure befreien und die vom Baryumphosphorwolframat abfiltrirte Lösung sodann zur Darstellung der anderen Aminosäuren benutzen.

In der gleichen Weise liess sich auch aus einem Aminosäurenpräparat, welches aus etiolirten Keimpflanzen von *Vicia sativa* dargestellt war, eine kleine Quantität von Phenylalanin isoliren.

Wir betrachteten es als unsere Hauptaufgabe, festzustellen, ob man nach dem gleichen Verfahren das Phenylalanin von den Monoaminosäuren trennen kann, die neben ihm — und zwar in weit grösserer Quantität, als das Phenylalanin — bei der Spaltung der Eiweissstoffe durch kochende Mineral-säuren entstehen. Wir zersetzten daher 260 g lufttrockenes Conglutin durch 10stündiges Kochen mit concentrirter Salzsäure. Die Lösung wurde, nachdem der grösste Theil der Salzsäure durch Eindunsten fortgeschafft war, durch Eintragen von Silberoxyd vom Rest dieser Säure befreit; dann mit Schwefelwasserstoff behandelt und nun eingedunstet, bis auf der Oberfläche eine Krystallhaut sich bildete. Die beim Erkalten entstandene Ausscheidung, welche ohne Zweifel hauptsächlich aus Leucin und Tyrosin bestand, wurde von der Mutterlange getrennt, letztere sodann eingeeengt, bis wieder eine Ausscheidung entstand, die gleiche Operation nach dem

Abfiltriren der zweiten Krystallfraction später noch einmal wiederholt. Die in dieser Weise erhaltenen Krystallisationen wurden unter Verwendung von möglichst geringen Wassermengen umkrystallisirt,<sup>1)</sup> dann in verdünnter Schwefelsäure gelöst und auf ihr Verhalten gegen Phosphorwolframsäure geprüft. Zwar brachte letzteres Reagens in den meisten dieser Lösungen Fällungen hervor, doch hatten dieselben nicht das Aussehen des Phenylalaninphosphorwolframat und lieferten auch bei der Zerlegung durch Barytwasser kein Produkt, welches die Eigenschaften des Phenylalanins besass.

Nachdem aus der bei Zersetzung des Conglutins erhaltenen Flüssigkeit das Leucin und das Tyrosin so vollständig auskrystallisirt waren, als es unter den obwaltenden Umständen möglich war, blieb eine dickflüssige Mutterlauge übrig, in welcher neben den Basen auch Glutaminsäure und Asparaginsäure sich vorfinden mussten. Diese Mutterlauge wurde mit Wasser verdünnt, dann mit Baryumcarbonat erhitzt, nun wieder eingeeengt und mit Weingeist versetzt, wobei eine syrupöse Ausscheidung entstand. Die von letzterer abgegossene Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten wieder eine dem Rohleucin gleichende Ausscheidung. Die davon getrennte Flüssigkeit wurde wieder mit Weingeist versetzt, wobei noch einmal eine Fällung entstand, dann wieder eingeeengt: sie lieferte nun noch einmal eine Ausscheidung, die das Aussehen des Rohleucins besass. Diese Ausscheidungen wurden aus einer möglichst geringen Wassermenge umkrystallisirt, dann in 5%iger Schwefelsäure gelöst, die Lösungen mit Phosphorwolframsäure versetzt. Die durch dieses Reagens hervorgebrachten Fällungen glichen im Aussehen den Fällungen, welche das Phenylalanin mit Phosphorwolframsäure gibt: doch waren sie ziemlich dunkel gefärbt. Sie wurden in heissem Wasser gelöst, die Lösung von einem schwer löslichen Rückstand abfiltrirt und sodann im Wasserbade eingeeengt: beim Erkalten lieferte sie wieder eine ölige Ausscheidung, welche später blättrig krystal-

1) Beim Umkrystallisiren wurden die mit Hilfe von heissem Wasser erhaltenen Lösungen stets so weit eingedunstet, dass auf der Oberfläche wieder eine Krystallhaut sich bildete.

linisch wurde. Wir lösten dieselbe wieder in heissem Wasser, beseitigten einen in geringer Menge vorhandenen schwer löslichen Rückstand durch Filtration und fügten dann heisses Barytwasser in kleinem Ueberschuss zu. Aus der vom Baryumphosphorwolframat abfiltrirten Lösung wurde, nachdem zuvor der Baryt durch Kohlensäure entfernt war, das Phenylalanin durch Kupferacetat gefällt. Die aus der Kupferverbindung abgeschiedene Aminosäure zeigte alle die Eigenschaften, welche oben für das aus den Keimpflanzen von *Lupinus albus* dargestellte Phenylalanin angegeben worden sind. Die Analyse des Kupfersalzes gab folgendes Resultat:

0,238 g der bei 100° getrockneten Substanz gaben 0,048 CuO.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$(C_9H_{10}NO_2)_2Cu$	
Cu	16,2%	16,1%

Zu erwähnen ist noch, dass die Aminosäure beim langsamen Auskrystallisiren aus Wasser lange, zu Gruppen vereinigte weisse Nadeln bildete (wie es auch bei dem aus Keimpflanzen dargestellten Phenylalanin beobachtet worden ist),<sup>1)</sup> und dass ihre wässrige Lösung beim Versetzen mit Phosphorwolframsäure das oben beschriebene charakteristische Verhalten zeigte.

So liess sich denn mit Hülfe von Phosphorwolframsäure das Phenylalanin auch aus den bei Zersetzung des Conglutins mit Salzsäure erhaltenen Spaltungsprodukten isoliren. Die Ausbeute war freilich nicht gross, wir erhielten nur ca. 0,8 g Phenylalanin.<sup>2)</sup> Man darf annehmen, dass bei der Gewinnung dieser Aminosäure verschiedene Verlustquellen sich geltend machten. Ausser den Fractionen des Rohleucins, aus denen

1) Diese Krystalle enthalten wahrscheinlich Krystallwasser. Doch erlitten dieselben, nachdem sie längere Zeit an der Luft gelegen hatten, beim Trocknen bei 100° nur einen Gewichtsverlust von ca. 4%, während die Formel  $C_9H_{11}NO_2 + \frac{1}{2} H_2O$  (5%  $H_2O$ ) verlangt. Vielleicht hatten die Krystalle schon beim Liegen an der Luft einen Theil des Krystallwassers verloren.

2) Wobei nicht zu vergessen ist, dass nach allen bis jetzt vorliegenden Angaben die Eiweissstoffe beim Zerfall stets nur eine recht geringe Menge von Phenylalanin liefern.

wir das Phenylalanin isolirten, haben vermuthlich auch die übrigen ein wenig davon enthalten; die Gewinnung desselben aus den letzteren Fractionen misslang aber wohl deshalb, weil es in sehr verdünnter, auch andere Aminosäuren enthaltender Lösung durch Phosphorwolframsäure nicht mehr gefällt wird. Auch erschwerte das Vorhandensein kleiner Quantitäten anderer durch Phosphorwolframsäure fällbarer Substanzen (Basen etc.) in jenen Fractionen naturgemäss seine Gewinnung.

Das von uns angewendete Verfahren zur Trennung des Phenylalanins von den anderen bei der Eiweisszersetzung entstehenden Aminosäuren ist, wie aus den im Vorigen gemachten Bemerkungen sich ersehen lässt, kein vollkommenes und es lieferte nur eine geringe Ausbeute; doch kann dasselbe zweifellos in manchen Fällen Nutzen bringen. Wir vermochten mit seiner Hülfe das Phenylalanin aus den bei Spaltung des Conglutins durch Salzsäure erhaltenen Spaltungsprodukten zu isoliren, während dies mit Hülfe der von E. Schulze und seinen Mitarbeitern früher verwendeten Methode nicht gelungen ist. Vielleicht lässt sich jenes Verfahren auch noch vervollkommen. Zur Trennung des Phenylalanin-Phosphorwolframats von den Phosphorwolframsäureverbindungen anderer unter den Eiweisszersetzungsprodukten sich findenden Substanzen haben wir den Umstand benutzt, dass der zuerst genannte Körper sich leicht in kochendem Wasser löst. Es ist möglich, dass für den gleichen Zweck auch die Leichtlöslichkeit des Phenylalanin-Phosphorwolframats in Weingeist sich verwenden lässt.

Sodann ist hier noch darauf aufmerksam zu machen, dass es nicht schwer ist, aus dem bei der Eiweisspaltung erhaltenen Aminosäurengemenge Präparate darzustellen, welche relativ reich an Phenylalanin sind. Wenn man beim fractionirten Auskrystallisiren des Rohleucins diejenigen Fractionen sondert, welche bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure relativ viel Benzoesäure geben, dieselben dann in Wasser löst und die Lösung mit Kupferhydroxyd erhitzt, so kann man Ausscheidungen erhalten, in denen ziemlich viel Phenylalaninkupfer, daneben aber auch viel Leucinkupfer sich vorfindet. Zerlegt man diese Kupferverbindungen durch Schwefel-

wasserstoff, so erhält man neben Schwefelkupfer ein Gemenge der genannten beiden Aminosäuren, aus welchem man durch Phosphorwolframsäure Phenylalanin fällen kann.

Wie oben schon erwähnt wurde, kann man unter Umständen auch durch Fällung mit Mercurinitrat und Natriumcarbonat aus dem bei der Eiweisszersetzung erhaltenen Gemenge von Aminosäuren Präparate gewinnen, die ziemlich viel Phenylalanin einschliessen. Ein solches Präparat, dargestellt aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen, befand sich von früher her noch in unseren Händen. Wir lösten dasselbe in verdünnter Schwefelsäure und versetzten die Lösung mit Phosphorwolframsäure. Dabei entstand ein Niederschlag, welcher abfiltrirt und dann mit heissem Wasser behandelt wurde. Die Lösung wurde abfiltrirt und eingeeengt; nach dem Erkalten lieferte sie eine ölige Ausscheidung, aus welcher in der oben beschriebenen Weise Phenylalanin gewonnen werden konnte.

Das Phenylalanin ist jetzt aus 4 Eiweissstoffen dargestellt worden, nämlich aus Eieralbumin, aus Casein, aus Conglutin und aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen. Dass es auch bei der Spaltung des Leims entsteht, lässt sich aus der Thatsache schliessen, dass unter den Fäulnissprodukten dieser Proteinsubstanz Phenyläthylamin sich findet. K. Spiro<sup>1)</sup> hat dies mit Sicherheit nachgewiesen, nachdem es vorher durch M. Nencki<sup>2)</sup> schon wahrscheinlich gemacht worden war. Zu der gleichen Schlussfolgerung führt eine andere Beobachtung Spiro's.<sup>3)</sup> Als Derselbe die beim Kochen des Leims mit Salzsäure erhaltenen Produkte mit salpetriger Säure behandelte und das Reactionsprodukt sodann in geeigneter Weise verarbeitete, erhielt er eine Säure, die sich als identisch mit Zimmtsäure erwies.<sup>4)</sup>

1) Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., 1901, Bd. 1, S. 347.

2) Sitzungsber. d. Akadem. d. Wissensch. in Wien, 1889, S. 1.

3) loc. cit. Man vgl. auch die Arbeit Duceschi's, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 1, S. 339.

4) Erst nach dem Niederschreiben dieser Abhandlung erschien E. Fischer's, Levene's und Aders' Mittheilung über die Darstellung von Phenylalanin u. s. w. aus Leim (diese Zeitschrift, letztes Heft).