

Notizen.

Von
Emil Fischer.

Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 18. März 1902.)

I. Bildung von α -Pyrrolidincarbonensäure bei der Hydrolyse des Caseins durch Alkali.

II. Quantitative Bestimmung des Glycocolls.

I. Bei der Beschreibung der Versuche, welche zur Auf-
findung der Pyrrolidincarbonensäure unter den Spaltungsprodukten
des Caseins nach der Hydrolyse mit Salzsäure geführt haben,
wurde schon die Frage discutirt, ob diese cyclische Amino-
säure nicht secundär aus anderen Produkten durch die Wirkung
der Mineralsäure entstanden sei.

Obschon einige triftige Gründe gegen diese Annahme
angeführt werden konnten, so schien es mir doch erwünscht,
auch die Hydrolyse des Caseins durch Alkali von diesem Ge-
sichtspunkte aus zu untersuchen.

Zu dem Zweck wurden 200 g Casein in 1 l. 10% iger
Natronlauge gelöst und auf 100° erhitzt, bis die Biuretreaction
der Flüssigkeit fast ganz verschwunden war. Das dauerte
65 Stunden. Die Hydrolyse geht also hier sehr viel langsamer
von statten als beim Kochen mit Säuren. Die Anfangs ziem-
lich starke Ammoniakentwicklung war zum Schluss recht
schwach geworden. Die erkaltete Flüssigkeit wurde jetzt mit
Salzsäure nahezu neutralisirt und eingedampft, bis die Ab-
scheidung des Chlornatriums begann. Zur Isolirung der Pyrro-
lidincarbonensäure war die Verwandlung in Ester nicht zu um-
gehen. Um dabei aber längeres Erwärmen mit der Salzsäure
möglichst zu vermeiden, bin ich folgendermassen verfahren:

Die sehr concentrirte wässrige Lösung wurde nach dem Erkalten mit alkoholischer Salzsäure schwach angesäuert, mit 1 l. absolutem Alkohol vermischt, vom ausgeschiedenen Kochsalz filtrirt und bei 15—20 mm. Druck aus einem Bade von 40—50° bis zum dicken Syrup eingedampft. Letzterer wurde mit 1½ l. Alkohol unter Erwärmen durchgeschüttelt, zum Schluss unter Zugabe von einigen Cubikcentimetern alkoholischer Salzsäure. Dabei blieb eine zähe Masse zurück, auf deren Untersuchung ich verzichtet habe.

Die alkoholische Lösung wurde filtrirt und mit gasförmiger Salzsäure nahezu gesättigt, ohne die dabei eintretende Erwärmung zu mässigen. Die Operation dauerte ¾ Stunden. Die erkaltete Flüssigkeit wurde nach 12stündigem Stehen wieder bei stark vermindertem Druck aus einem Bade von etwa 45° bis zum Syrup eingedampft und dann die Ester der Aminosäuren in der früher beschriebenen Weise abgeschieden, getrocknet und destillirt.

Die Fraction von 60—95° (bei 10 mm. Druck) wog 23 g. Sie wurde durch Kochen mit Wasser verseift und die Aminosäuren durch Krystallisation in 3 Fractionen zerlegt. Die leicht lösliche Fraction, im Gewichte von 10 g, gab an kochenden absoluten Alkohol die Hälfte ab, und dieser lösliche Theil bestand hauptsächlich aus Pyrrolidincarbonsäure. Für die Trennung der activen und der racemischen Form diente die Kupferverbindung. Von dem racemischen Salz wurden 3 g isolirt.

0.3159 g verloren bei 109° 0.0345 g und gaben 0.0770 g CuO.

$C_{10}H_{16}O_4N_2Cu + 2 H_2O$. Ber.: 10.99% H_2O , 19.39% Cu.

Gef.: 10.92% „ 19.45% „

Die Menge des activen Salzes war viel geringer, sie betrug nur 0.7 g.

Aus obigen Beobachtungen folgt, dass bei der Hydrolyse des Caseins mit Alkali die Pyrrolidincarbonsäure in einer Menge entsteht, welche sich nach der Quantität der in Alkohol löslichen Säure auf 2.5% und nach der Menge der Kupfersalze auf 1.3% berechnet. Bei der Hydrolyse mit Salzsäure wurden 3.2% gefunden, aber die Operation war mit grösseren Mengen ausgeführt, wo die Verluste geringer sind, und ausserdem ist

die Hydrolyse mit Salzsäure bei den Aminosäuren vollständiger als die Spaltung mit Alkali unter den angegebenen Bedingungen. Aus den sämtlichen Beobachtungen glaube ich also den Schluss ziehen zu dürfen, dass die Bildung der Pyrrolidincarbonsäure unabhängig davon ist, ob die Hydrolyse mit Säuren oder mit Alkalien bewerkstelligt wird. Dass bei Anwendung von Alkali hauptsächlich racemische Aminosäure entsteht, erklärt sich durch die lange Dauer des Erhitzens.

II. Während man für die Polyaminosäuren Lysin, Arginin und Histidin vortreffliche Abscheidungsverfahren kennt, ist von den Monoaminosäuren, welche bei der hydrolytischen Spaltung der Proteinstoffe entstehen, bisher nur für das Tyrosin eine ausreichend genaue quantitative Bestimmung möglich gewesen.

Vor Kurzem habe ich nun gemeinschaftlich mit A. Skita in der Untersuchung über das Fibroin der Seide¹⁾ gezeigt, dass man das Glycocoll recht gut von den anderen Aminosäuren durch die Krystallisation des salzsauren Aethylesters trennen und zur Wägung bringen kann. Das gleiche Verfahren wurde für die Bestimmung des Glycocolls unter den Spaltprodukten des Leims²⁾ angewandt, und ich zweifle nicht daran, dass die Methode sich wegen der bequemen Ausführung bald allgemein einbürgern wird.

Aus diesem Grunde habe ich es aber für nützlich gehalten, ihre Zuverlässigkeit nachträglich noch durch einige Versuche mit reinem Glycocoll zu prüfen.

5,036 g wurden fein zerrieben, mit 40 cem. absolutem Alkohol übergossen, dann mit gasförmiger Salzsäure gesättigt und 15 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt, bis alles gelöst war. Beim Erkalten schied die Flüssigkeit sofort den salzsauren Glycocollester ab, der nach 12stündigem Stehen im Eisschrank abfiltrirt, mit Alkohol und Aether gewaschen und bei 100° getrocknet wurde. Erhalten 8,9 g oder 95% der Theorie. Aus den alkoholischen Mutterlaugen wurden durch

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 177.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 70.

Eindampfen und Fällung mit Aether noch 0,191 g oder 2,04% der Theorie gewonnen, sodass die Gesamtausbeute 97% der Theorie betrug.

Bei den Gemischen von Aminosäuren, welche aus den Proteinstoffen entstehen, erfolgt die Krystallisation des salzsauren Glycinesters viel langsamer, sodass es sich empfiehlt, die salzsaure alkoholische Flüssigkeit 24 Stunden bei 0° stehen zu lassen. Aber auch dann ist die Abscheidung noch nicht so vollständig, wie beim vorhergehenden Experiment, und man findet deshalb kleine Mengen Glycocoll später noch, wenn man die niedrig siedenden Fractionen der Ester wieder mit alkoholischer Salzsäure behandelt.

Um einen Anhaltspunkt dafür zu gewinnen, auf welchen Grad von Genauigkeit man in solchen Fällen rechnen darf, habe ich folgenden Versuch mit Casein, welches selbst nur Spuren Glycocoll enthält, ausgeführt.

25 g wurden in der früher beschriebenen Weise mit Salzsäure hydrolysiert, dann 5 g Glycocoll zugesetzt, unter stark vermindertem Druck zum dicken Syrup eingedampft, mit heissem Alkohol aufgenommen, vom ungelösten Salmiak filtrirt, wieder verdampft, um das Wasser möglichst zu entfernen, und schliesslich mit 150 g absolutem Alkohol in der gewöhnlichen Weise verestert. Nach Einimpfung eines Kryställchens von salzsaurem Glycocollester blieb die alkoholische salzsaure Lösung erst 15 Stunden im Eisschrank, dann noch 4 Stunden in einer Mischung von Salz und Eis stehen. Die ausgeschiedene Krystallmasse wurde abgesogen, abgepresst, mit wenig eiskaltem salzsäurehaltigen Alkohol und zum Schluss mit einer Mischung von Alkohol und Aether gewaschen. Das so erhaltene Präparat war fast farblos, in heissem Alkohol sehr leicht und völlig löslich und nahezu chemisch rein. Seine Menge betrug 7,335 g, welche 78,5% des angewandten Glycocolls entsprechen.

Bei grösserem Glycocollgehalt würde sich dieser Procentsatz noch günstiger gestalten.

Aus der Mutterlauge konnten auch nach dem Eindampfen und erneuter Veresterung keine Krystalle mehr gewonnen werden.