

# Über die Hydrolyse des Caseins durch Salzsäure.<sup>1)</sup>

Von

**Zd. H. Skraup.**

(Aus dem chemischen Institut der Universität Graz.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. Juli 1904.)

Durch hydrolytische Zerlegung des Caseins sind schon in früherer Zeit zahlreiche Spaltungsprodukte gewonnen worden, welche in neuester Zeit durch Emil Fischer noch vermehrt worden sind. Es war aber von vornherein wenig wahrscheinlich, daß eine vollständige Kenntnis der Spaltungsprodukte erreicht ist, denn bei allen Methoden, die bisher angewendet worden sind, erhält man mehr oder weniger undefinierte Nebenprodukte die an Menge den in kristallisierte Form gebrachten Teil in der Regel übertreffen.

Die großen Schwierigkeiten, die allgemein auftreten, wenn die durch Spaltung der Eiweißstoffe entstehenden Stoffe definiert werden sollen, beruhen schließlich und endlich immer darauf, daß die Spaltungsprodukte chemisch und physikalisch viel größere Ähnlichkeit besitzen, als es sonst beim Abbau komplizierter Stoffe der Fall ist. Sie beeinflussen sich deshalb gegenseitig nicht bloß im freien Zustand, sondern auch in Form verschiedener Derivate in den Lösungsverhältnissen in ganz ungewöhnlicher Weise und nur dadurch, daß durch verschiedenartige Methoden eine sukzessive Änderung der Mengenverhältnisse in den amorphen Mischungen eintritt, wird endlich eine leidliche Trennung in kristallisierter Form möglich.

Für eine weitere Auflösung der bisher unentwirrbaren Gewirre stand deshalb von vornherein sicher, daß eine einzige Methode nicht genügen werde und daß nur eine weitgehende

<sup>1)</sup> Vorgelegt in der Sitzung am 28. April 1904 der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien.

Fraktionierung, die alle anwendbaren Wege benützt, weiter zum Ziel führen kann. Und ebenso selbstverständlich war, daß die bisher schon mit Erfolg angewendeten Trennungsvorverfahren als Basis weiterer Zerlegungsmethoden dienen müssen.

Es ist nun tatsächlich möglich gewesen, durch passende Kombinationen verhältnismäßig leicht Spaltungsprodukte aufzufinden, welche bisher aus dem Casein nicht erhalten worden sind, die auch bei der Hydrolyse von anderen Eiweißstoffen noch nicht nachgewiesen wurden und auch als chemische Individuen bisher noch nicht beschrieben wurden. Sie sind durchwegs gesättigte Verbindungen der Fettsäurereihe, und zwar:

### I. Diamidodikarbonsäuren.

1. Diamidoglutarinsäure  $C_5H_{12}O_4N_2$ .

2. Diamidoadipinsäure  $C_6H_{14}O_4N_2$ . Die Diamidoglutarinsäure dürfte in reinem Zustand isoliert worden sein. Bei der Diamidoadipinsäure war das nicht möglich, da sie an Menge weit mehr zurücktritt; doch ist ihre Anwesenheit mit großer Wahrscheinlichkeit sichergestellt.

### II. Aminooxypolykarbonsäuren.

Auch diese sind ihrer Zusammensetzung nach gesättigte Fettsäureverbindungen. Ihre Alkoholnatur konnte bisher wegen Mangels an Material nicht direkt bewiesen werden, ist aber sehr wahrscheinlich, da, falls der den Carboxylen nicht zugehörige Sauerstoff nicht in Hydroxylform wäre, der Wasserstoffgehalt viel niedriger liegen müßte, als tatsächlich der Fall ist.

Von diesen Verbindungen ist eine sehr einfach zusammengesetzt, es ist die

3. Aminooxybernsteinsäure  $C_4H_7O_5N$ . Leider war ihre Menge so gering, daß es nicht einmal möglich war, festzustellen, ob sie als aktive Verbindung auftritt:

4.  $C_8H_{16}N_2O_6$ . Diese Verbindung hat die Zusammensetzung einer Dioxydiaminokorksäure und soll vorläufig unter diesem Namen gehen, obzwar ihre Beziehung zur normalen Korksäure in keiner Weise nachgewiesen ist.

5.  $C_9H_{16}N_2O_6$ , eine dreibasische Säure, welche vermutlich eine Oxydiaminoverbindung ist und als dreibasische Säure keine normale Struktur haben kann. Da ihre Konstitution vorläufig ganz unbekannt ist, soll sie mit dem Trivialnamen «Caseansäure» bezeichnet werden.

6. und 7.  $C_{12}H_{16}N_2O_5$ , die in zwei Modifikationen auftritt, ist zweibasisch und der Zusammensetzung nach auch als dreiatomig anzunehmen: sie soll Caseinsäure heißen. Dieser Name ist zwar schon von Proust<sup>1)</sup> für die im Käse enthaltene Säure gebraucht worden. Da diese aber ein Gemenge ist, steht seiner Neuanwendung nichts im Wege. Die Säure bildet zwei Modifikationen, von denen die eine, in kleineren Mengen isolierbare, niedriger schmilzt (bei  $228^{\circ}$ ) und, wenn auch schwach, so doch wahrnehmbar rechtsdrehend ist; die andre, in größeren Mengen vorkommende schmilzt höher, bei etwa  $245^{\circ}$  und ist inaktiv. Die aktive ist auch etwas deutlicher kristallisiert wie die inaktive, die Kupfersalze beider Säuren sind zum Verwechseln ähnlich. Da nach den bisherigen Erfahrungen wahrscheinlich ist, daß die inaktive durch Racemisierung der aktiven entstanden ist, sollen die beiden Abarten als rechts (d) und als racemische (r) Säure unterschieden sein.

Von den genannten neuen Spaltungsprodukten wurde die Aminoxybernsteinsäure, die Dioxyaminokorksäure und die Diaminoadipinsäure nur in sehr kleinen Mengen rein dargestellt. Diese gingen über die für die Analysen nötigen zum Teil kaum hinaus. Es braucht natürlich nicht hervorgehoben zu werden, daß die drei Säuren wohl in größeren als den gefaßten Quantitäten auftreten, die aber in amorph bleibende Mischungen übergegangen sind. Die Diaminoglutarsäure, die Caseansäure und die Caseinsäure treten dagegen in gar nicht unbeträchtlichen Mengen auf. Von der ersteren, vielmehr von dem Gemisch dieser mit kleinen Mengen von Diaminoadipinsäure, wird nahezu 1% vom Gewichte des Caseins erhalten, ungefähr ebensoviel von der Caseansäure und vom Gemisch der aktiven und nicht aktiven Form der Caseinsäure noch viel mehr.

Zieht man weiter in Betracht, daß diese Beobachtungen

<sup>1)</sup> Fehlings Handwörterbuch.

mit einem sehr reinen Casein (nach Hammarsten, bezogen von Merck) gemacht worden sind, dann ist zum mindesten für die drei in größeren Mengen auftretenden Säuren sicher, daß sie dem Casein und nicht einer dieses begleitenden Verunreinigung entstammen.

Es ist deshalb von Wichtigkeit, festzustellen, ob diese Verbindungen auch aus anderen Eiweißstoffen entstehen, und sind Versuche mit Gelatine nahe dem Abschluß, Versuche mit Hühnereiweiß und mit Hornsubstanz im Gange.

Die bei dem Casein gemachten Beobachtungen haben nicht bloß das Interesse, daß die Spaltungsprodukte noch viel zahlreicher sind, als bisher anzunehmen war und die neuen Stoffe bisher überhaupt unbekannt gewesen sind, sondern auch noch das, daß die neu aufgefundenen durchwegs mehrbasische und, von der Oxyaminobernsteinsäure abgesehen, durchwegs Diaminoverbindungen sind. Von ihnen ist wiederum die Mehrzahl gleichzeitig Oxysäuren. Außerdem ist es von Belang, daß unter ihnen gerade die in größerer Menge aufgefundenen, die Casean- und die Caseinsäure, sehr reich an Kohlenstoff sind, daß Casein also in dieser Hinsicht eine gewisse Ähnlichkeit mit den Fetten hat, in welchen die komplizierteren Fettsäuren ja überwiegen.

Dabei sei erinnert, daß Oxyaminosäuren aus Eiweißstoffen bisher nur selten erhalten wurden: meines Wissens sind nur die zwei Aminomilchsäuren, das Serin und Isoserin sowie die Oxypyrrolidinkarbonsäure und die Tetraoxyaminocaprinsäure (aus der Chondroitinschwefelsäure) beobachtet worden.

#### Experimenteller Teil.

Das Verfahren, durch welches die Isolierung der in der Einleitung schon genannten Verbindungen möglich war, verwendet zunächst die von Fischer in Anwendung gebrachte Estermethode. Die Abscheidung der Ester geschieht aber in ganz anderer Weise. Fischer zersetzt bekanntlich die esteri-fizierte Reaktionsmasse mit Alkalien und äthert die abgeschiedenen freien Ester aus. Hierdurch werden in die nicht äther-löslichen Teile massenhaft Alkalisalze gebracht, welche die ohnedies schon sehr mißlichen Kristallisationsverhältnisse noch

mehr beeinträchtigen. Diese Schwierigkeit ist aber unschwer zu vermeiden, wenn man zur Abscheidung der Ester einen anderen Weg einschlägt. Wie ich nämlich gefunden habe, sind die Salzsäureverbindungen der Ester von Amidosäuren, wie die des Leucins, in Ätheralkohol selbst bei starkem Vorwalten des Äthers löslich, man kann deshalb aus der Reaktionsmasse die Ester unschwer abscheiden, wenn jene wiederholt mit wenig Alkohol vermischt und mit dem gleichen Volumen von Äther tüchtig geschüttelt wird.

Die abgehobenen Äther-Alkoholgemische abdestilliert, geben einen Rückstand, der infolge Entfernung des nicht veresterten Teils jetzt auch bequemer als nach der Vorschrift von Fischer auf die freien Ester verarbeitet werden kann. Das Estergemisch erwies sich fraktionell destilliert ganz ähnlich zusammengesetzt, wie es Fischer beschrieben hat.

Die von den Estern durch Äther möglichst befreite Lösung wurde nun mit Phosphorwolframsäure fraktionell ausgefällt und die Filtrate der Fällungen nach dem Konzentrieren so lange mit 50%iger Phosphorwolframsäure vermischt, so lange auch bei sehr großer Konzentration noch etwas ausfiel.

Die letzten Mutterlaugen, in welchen keine oder doch nur sehr geringe Fällung entstanden, wurden nun in üblicher Weise von Phosphorwolframsäure befreit und durch entsprechendes Konzentrieren Tyrosin und Leucin abgetrennt. Hierauf wurde der in Lösung befindliche Baryt mit Schwefelsäure gefällt, das Filtrat zum Sirup gedampft und die als Salzsäureverbindung auskristallisierte Glutaminsäure abgeschieden. Die dicke Mutterlauge wurde mit absolutem Alkohol vollständig ausgefällt, wobei ein Sirup sich abschied, der wieder beträchtliche Mengen von Glutaminsäurechlorhydrat enthält, und endlich die nach dem Abdestillieren des Alkohols verbleibende Flüssigkeit, die als Sirup bis 15% des in Arbeit genommenen Caseins beträgt, kochend mit Kupferkarbonat und, als dieses nicht mehr in Lösung ging, mit gefällttem Kupferoxyd gesättigt. Das im Filter zurückbleibende Gemisch von Kupferoxyd und Kupferkarbonat enthält nur sehr geringe Spuren von organischer Substanz.

In dem tief dunkelblauen Filtrat ist nun neben Kupferchlorid ein Gemisch verschiedener Kupfersalze enthalten, die im reinen Zustand in Wasser mehr weniger schwer löslich, sich gegenseitig in Lösung halten und vermutlich auch durch das Kupferchlorid, in Form von Doppelsalzen, wasserlöslich gemacht sind.

Sie sind durch fraktionelles Fällern mit Alkohol trennbar. Ohne in Details einzugehen, welche mit wechselnden Konzentrationen geändert werden müssen, sei bloß das Prinzip auseinandergesetzt. Sowohl die Casean- wie die Caseinsäure geben als Kupfersalze mit Chlorkupfer Doppelverbindungen, die beide in Wasser sehr leicht löslich sind, sich aber durch die Löslichkeit in Alkohol verschiedener Konzentration unterscheiden.

Das Doppelsalz der Caseansäure löst sich in Alkohol von 50% sehr schwer, das der Caseinsäure bleibt noch in Alkohol von 75% in Lösung, wird aber von 96%igem Alkohol nur mehr sehr schwierig gelöst: in Äther ist es praktisch unlöslich.

Versetzt man daher die ursprüngliche blaue Lösung mit dem gleichen Volumen Alkohol, so fällt die Caseansäure als Kupfersalz größtenteils aus, während die Caseinsäure in Lösung bleibt.

Mit dem Kupfersalz der Caseansäure fallen aber auch die Kupfersalze bekannter Amidosäuren, wie das der Asparaginsäure aus. Sie hinterbleiben größtenteils ungelöst, wenn die Fällung mit Wasser übergossen wird, während das Doppelsalz der Caseansäure in Lösung geht. Wird diese wieder durch Alkohol niedergeschlagen und die Fällung wieder in Wasser aufgenommen, so bleibt wieder ein Teil ungelöst u. s. f. Die Fällung mit Alkohol wurde so lange fortgesetzt, bis der Niederschlag in Wasser bis auf eine geringe Trübung löslich ist: nach zweimaligem Fällern ist dies in der Regel der Fall. Die Filtrate der Fällungen wurden immer wieder eingedampft und nach entsprechender Konzentration mit Alkohol wieder ausgefällt. Die Fällungen des caseansäuren Kupfers sind blaugrüne Flocken, die luftbeständig sind, oder auch harte dunkelblaugrüne Massen.

Das Filtrat der allerersten Fällung, welche die gesamte Caseinsäure enthielt, wurde zum dicken Sirup gedampft, dieser heiß mit absolutem Alkohol angerührt und dann mit überschüssigem Alkohol ausgefällt. Er fällt die Caseinsäure als pulveriges Kupfersalz von schön laubgrüner Farbe, welches, noch mit Alkohol durchtränkt, an der Luft harzig zerfließt, nicht aber, wenn es im Exsikkator den anhaftenden Alkohol verloren hat.

Das alkoholische Filtrat gibt mit Äther eine grüne Fällung, von der ein Teil sich in Alkohol nicht wieder löst und vorwiegend caseinsaures Kupfer ist: die in Alkohol schließlich in Lösung bleibende sowie die ätherlösliche Substanz sind der Menge nach untergeordnet.

Die Fällungen von caseinsaurem Kupfer werden durch Wiederholung der beschriebenen Operationen nochmals gereinigt, wobei die Zwischenfraktionen beim Wiederauflösen in Wasser mitunter auch wieder wasserunlösliche Kupfersalze abscheiden.

#### Fällung durch Phosphorwolframsäure.

Die durch Ausschütteln mit Ätheralkohol von der Salzsäureverbindung der Ester der Amidosäuren befreite Lösung ist dunkelbraun gefärbt. Durch Zusatz von Sublimat läßt sich die färbende Verunreinigung ausfällen. Es ist dieses aber, wie sich später zeigte, ganz unnötig, da die Färbung auch durch Phosphorwolframsäure niedergeschlagen wird.

Man fällt heiß aus und fügt eine 50–60%ige Lösung so lange zu, bis in einer filtrierten Probe der bei neuerlichem Zusatz entstehende Niederschlag sich beim Kochen löst. Diese erste Fällung ist pulverig. Es wird filtriert, mit heißem Wasser nachgewaschen, fast völlig eingedampft und heiß eine höchst konzentrierte Lösung von Phosphorwolframsäure zugefügt, bis auf einen neuen Zusatz so gut wie keine Neufällung eintritt. Ein ganz genaues Ausfällen ist nicht zu erreichen, da es von Konzentrationsverhältnissen abhängt, ob auf weiteren Zusatz ein weiterer Niederschlag oder das Auflösen der schon entstandenen Fällung erfolgt.

Die zweite Fällung ist manchmal anfänglich ölig, erstarrt

aber beim Stehen über Nacht. Sie wird möglichst verrieben, scharf abgesaugt und mit Phosphorwolframsäurelösung nachgewaschen.

Während die ersten Fällungen mit Phosphorwolframsäure in Wasser auch in der Kochhitze äußerst schwer löslich sind und unter dem Mikroskop keine charakteristischen Formen zeigen, ist das zweit ausgefällte Phosphorwolframat in heißem Wasser zum weitaus größten Teil löslich und erkennt man unter dem Mikroskop Kristallwarzen oder Gruppen, die aus feinen Fäden bestehen. Die Kristallform ähnelt sehr jener, welche Siegfried von dem Phosphorwolframat des Kyrins angibt, welche Mitteilung mir erst im Laufe der Untersuchung bekannt wurde.

Bei systematischem Umkristallisieren des Phosphorwolframates veränderte sich die charakteristische Kristallform nicht: die aus den Mutterlaugen erhaltenen Anschüsse kristallisierten aber durchwegs ganz anders und zwar in Form von gut ausgebildeten Blättern. Hierbei zeigte sich überdies, daß eine in Wasser viel schwerer lösliche, feinpulverige Verbindung beigemischt ist, die in alle Fraktionen übergeht und beim Wiederauflösen der einzelnen Kristallisationen in nicht zu wenig Wasser ungelöst bleibt. Dieses Pulver reichert sich in den schwerstlöslichen Fraktionen an und ist in den durch Wiedereindampfen der Mutterlaugen gewonnenen Kristallisationen schließlich nicht oder nur in Spuren wahrzunehmen. Eine völlige Abscheidung dieser erwies sich als aussichtslos und so wurden die sieben durch systematische Fraktionierung erhaltenen Kristallisationen sowie die schließlich entstandene, letzte, dicke, nicht mehr kristallisierende Mutterlauge einzeln in Ammoniak gelöst, in üblicher Weise mit Baryt zersetzt und dann mit Kohlendioxyd ausgefällt.

Die schließlich bis zum Sirup eingedampften Lösungen reagierten alle stark alkalisch, beim Ansäuern war aber Kohlensäureentwicklung kaum wahrzunehmen. Bei einigem Stehen zeigten sie ganz verschiedenes Verhalten.

Die aus der nicht kristallisierenden Mutterlauge des Phosphorwolframates erhaltene Lösung, die nicht viel weniger Sub-

stanz enthielt als alle anderen Fraktionen zusammengenommen, schied zunächst tyrosinähnliche Kristalle ab, sodann leucinähnliche, später eine halbamorphe Kristallisation, welche große Ähnlichkeit mit der racemischen Caseinsäure besaß, die später beschrieben wird.

Die aus den sieben Kristallisationen des Phosphorwolframatens erhaltenen Lösungen geben beim Stehen, zum Teil nach wenig Stunden, zum Teil erst nach Tagen feinnadelige Kristallisationen, die schon dem Aussehen nach sich von Tyrosin und Leucin deutlich unterschieden und der Menge nach sehr ungleich waren.

Am reichlichsten entstanden die Anschüsse aus jenen Phosphorwolframatens, welche die mittelsten Fraktionen waren, und eine dieser kristallisierte sogar ganz vollständig. Eigentümlicherweise gab eine oder die andere Fraktion sehr wenig dieser Kristalle, während beide Nebenfraktionen sehr reichlich kristallisierten.

Durch Anrühren und Waschen mit Weingeist von 50% ließ sich die Mutterlauge entfernen und durch Lösen in heißem Wasser, Eindampfen bis zur beginnenden Kristallabscheidung und Zufügen des gleichen Volumens heißen Alkohols die Substanz auch leicht umkristallisieren.

Die aus verschiedenen Fraktionen des Phosphorwolframatens erhaltenen Kristalle zeigten übereinstimmend den Schmelzpunkt 246°.

0,1472 g. bei 110° getrocknet, gaben 0,2146 g CO<sub>2</sub> und 0,0941 g H<sub>2</sub>O.

0,1545 „ „ 110° „ „ 22 ccm N bei 17° und 733,5 mm.

Die gefundenen Zahlen liegen zwischen jenen, die sich für Diaminoglutarinsäure und für Diaminoadipinsäure berechnen.

In 100 Teilen:

	Berechnet für		Gefunden
	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	
C	37,0	40,8	39,76
H	6,1	6,8	7,15
N	17,2	15,9	16,16

Ganz analog ist die Zusammensetzung des Kupfersalzes. Dieses ist in Wasser ziemlich leicht löslich und kristallisiert

erst nach starkem Einengen in feucht dunkelblauen, beim Trocknen lichtviolett werdenden Nadeln, die unter dem Mikroskop sich als Aggregate großer Platten erweisen. Die wässrige Lösung scheidet auf Zusatz von Alkohol violette flimmernde Kriställchen ab. Das Salz enthält kein Kristallwasser.

0,2255 g, bei 110° getrocknet, gaben 0,2368 g CO<sub>2</sub>, 0,0921 g H<sub>2</sub>O und 0,0753 g CuO.

In 100 Teilen:

	Berechnet für		Gefunden
	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> Cu	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> Cu	
C	27,7	30,3	28,64
H	3,5	4,1	4,56
Cu	28,4	26,7	26,68

Bei systematischem Umkristallisieren des Säuregemisches rückte der Schmelzpunkt der schwerer löslichen Anteile hinauf, der der leichter löslichen hinunter. Der Schmelzpunkt der ersteren wurde schließlich bei 278°, der der zweiten bei 238° gefunden.

Nebenbei bemerkt war der Schmelzpunkt der Säure, die aus der schwerst löslichen Fraktion des Phosphorwolframatens erhalten worden war, sofort bei 275°.

Die niedriger schmelzende Fraktion gab die für die Diaminoglutarsäure sich berechnenden Zahlen.

0,1715 g, bei 100° getrocknet, gaben 0,2286 g CO<sub>2</sub> und 0,1051 g H<sub>2</sub>O.

In 100 Teilen:

	Berechnet für C <sub>5</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	Gefunden
C	37,0	36,31
H	6,1	6,69

In konzentrierter Salzsäure gelöst, schied sich beim Eindunsten die Salzsäureverbindung in strahlig angeordneten Büscheln von Kristallnadeln ab. Das Golddoppelsalz kristallisiert in langen, verzweigten und gebogenen Nadeln. Das Chloroplatinat kristallisiert schwieriger in ähnlichen Gebilden.

Die höher schmelzende Fraktion nähert sich in der Zusammensetzung der Diaminoadipinsäure.

0,1319 g, bei 110° getrocknet, gaben 0,1931 g CO<sub>2</sub> und 0,0824 g H<sub>2</sub>O.

In 100 Teilen:

	Berechnet	Gefunden
C	40,87	39,93
H	6,86	6,98

#### Alkoholunlöslicher Teil.

Wie schon früher beschrieben wurde, kristallisieren aus der durch Phosphorwolframsäure ausgefällten Flüssigkeit nach Entfernung des Überschusses von Phosphorwolframsäure zunächst Tyrosin und Leucin aus. Die Mutterlauge gibt, wenn das Baryum durch Schwefelsäure genau ausgefällt wird, sodann nach starkem Konzentrieren die Salzsäureverbindung der Glutaminsäure und die Mutterlauge dieser Konzentration endlich beim Vermischen mit absolutem Alkohol eine halb kristallinische, halb amorphe Fällung.

Wird letztere mit konzentrierter Salzsäure übergossen, so geht ein Teil in Lösung, während neue Mengen von salzsaurer Glutaminsäure ungelöst bleiben.

Die von letzterer abgesaugte Flüssigkeit dunstet sirupös ein und hatte auch nach vielwöchentlichem Stehen nur höchst geringe Spuren von Kristallanschüssen gezeigt.

Durch Lösen in Wasser und genaues Ausfällen mit Silberoxyd wurde sie entchlort. Das Filtrat vom Chlorsilber, zum mäßig dicken Sirup gedampft und mit Alkohol vermischt, schied eine gelatinöse Masse ab, die gleichfalls keine Neigung zur Kristallisation besaß.

Sie wurde in Wasser heiß gelöst, kochend mit überschüssigem (etwa dem gleichen Volumen) Alkohol gefällt und der Niederschlag zu wiederholten Malen demselben Verfahren unterworfen. Als sodann die wieder in Wasser gelöste Masse in der Hitze vorsichtig mit Alkohol ausgefällt wurde, schied sich eine Kristallisation ab, die in der Kälte sich noch vermehrte.

Die Aufarbeitung der verschiedenen Mutterlaugen nach derselben Methode gab nur mehr sehr geringe Mengen der kristallisierten Substanz.

Durch wiederholtes Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle erhielt man hübsche weiße Platten, die

in der Regel so verwachsen sind, daß sie den Eindruck von Nadeln machen. In heißem Wasser sind sie recht leicht, in kaltem schwierig, in Alkohol fast nicht löslich; sie schmelzen unter vorhergehender Zersetzung unscharf bei 305 bis 320°.

Da nur geringe Mengen zur Verfügung standen, wurde zunächst das Kupfersalz dargestellt. Die mit gefällttem Kupferoxyd in der Hitze gesättigte Lösung scheidet, mäßig eingedampft, beim Erkalten lange, schön blaue Fäden ab, die ein Aggregat mikroskopischer nadeliger Prismen sind. In der Mutterlauge bleibt nur sehr geringe Menge der Substanz.

Das Kupfersalz enthält Kristallwasser, das bei 110° entweicht.

0,1602 g Trockensubstanz gaben 0,1331 g CO<sub>2</sub>, 0,0408 g H<sub>2</sub>O und 0,0602 g CuO.

In 100 Teilen:

Berechnet für C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> Cu		Gefunden
C	23,10	22,66
H	2,87	2,84
Cu	30,46	30,02
0,2113 g verloren bei 110° 0,0511 g.		

In 100 Teilen:

Berechnet für		Gefunden
4 Moleküle H <sub>2</sub> O	3 1/2 Moleküle H <sub>2</sub> O	
H <sub>2</sub> O	25,5	23,1
		24,17

Da die Zahlen der Analyse des Kupfersalzes unentschieden lassen, ob eine Diamidobernsteinsäure oder eine Oxyamidobernsteinsäure vorliegt, war die Stickstoffbestimmung in der freien Säure wichtiger als die Elementaranalyse. Die Substanzmenge reichte nur zu einer der zwei Analysen hin.

0,0865 g, bei 110° getrocknet, gaben 8,0 ccm N bei t = 18° und B = 726 mm.

In 100 Teilen:

Berechnet für		Gefunden
C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>5</sub> N	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	
N	9,39	10,36
	18,9	

Es liegt demnach bestimmt die Oxyamidobernsteinsäure vor, die bisher überhaupt noch nicht beschrieben worden ist. Versuche, diese synthetisch darzustellen, sind im Gange.

## Wasserunlösliches Kupfersalz.

Wie schon früher mitgeteilt wurde, gibt das alkoholische Filtrat der Fällung, welche die Oxyaminobernsteinsäure enthält, nach Entfernung des Alkohols und Sättigen mit Kupferkarbonat eine dunkelblaue Lösung, aus der durch fraktionelles Fällen mit Alkohol die Kupfersalze der Caseansäure und der Caseinsäure erhalten werden, die als Doppelverbindungen mit Kupferchlorid wasserlöslich sind. Dabei werden aber auch in Wasser unlösliche Kupfersalze erhalten, deren Färbung von graugrün bis blau wechseln kann.

Mit Schwefelwasserstoff zersetzt geben sie eine Lösung, deren Rückstand nahezu vollständig kristallisiert. Nach wiederholtem Umkristallisieren, aus heißem Wasser mit Tierkohle wurden schöne, ganz ungefärbte, nadelige Aggregate erhalten, die unter dem Mikroskop sich in Blättchen auflösten. Die Säure ist in kaltem Wasser sehr schwer, in heißem recht leicht, in Alkohol nicht löslich. Sie liefert ein in kaltem Wasser sehr schwer lösliches Kupfersalz von dunkel himmelblauer Farbe, das aus meist verbogenen, kurzen Prismen besteht, die zu Bündeln, aber auch strahlig verwachsen sind.

Die vorliegende Verbindung dürfte im wesentlichen Asparaginsäure sein.

0,1506 g bei 105° getrockneter Säure gaben 0,2025 g CO<sub>2</sub> und 0,0724 g H<sub>2</sub>O.

0,1355 g bei 105° getrockneter Säure gaben 12,3 ccm bei 17° und 735,5 mm.

In 100 Teilen:

	Berechnet	Gefunden
C	36,1	36,64
H	5,2	5,33
N	10,5	10,33

0,3505 g Cu-Salz verloren, bei 130° getrocknet, 0,0875 g und gaben verbrannt 0,2263 g CO<sub>2</sub>, 0,0710 g H<sub>2</sub>O und 0,1108 g CuO.

In 100 Teilen:

Berechnet für		Gefunden
C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>4</sub> Cu + 3½ H <sub>2</sub> O		
C	24,71	23,46
H	2,59	3,01
Cu	32,74	33,06
H <sub>2</sub> O	25,23	24,90

Nach Ritthausen<sup>1)</sup> enthält asparaginsaures Kupfer  $4\frac{1}{2}$  Moleküle Wasser. Vielleicht ist der von mir beobachtete geringere Gehalt an Kristallwasser darauf zurückzuführen, daß dem Salze geringe Mengen von Verunreinigungen anhaften, auf welche auch die Differenz zwischen den gefundenen und den berechneten Zahlen deutet.

#### Blaugrünes Kupfersalz. Caseansäure.

Das aus Alkohol zuerst ausgefällte blaugrüne Kupfersalz wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, durch Silberoxyd von Salzsäure befreit und zum Sirup gedampft.

Das Ausfällen von Salzsäure durch Silberoxyd erkennt man dem Endpunkte nach sehr leicht daran, daß, wenn das Oxyd im Überschuß zugefügt ist, beim Schütteln eine Emulsion entsteht, die sich nicht oder langsam und dann als feines Pulver absetzt, während, so lange noch Salzsäure in Lösung ist, die käsigen Flocken groß sind und sich rasch absetzen. Beim Zufügen von verdünnter Salzsäure unter kräftigem Schütteln zeigen sich die käsigen Flocken des Chlorsilbers dann wieder, wenn vollständige Fällung des Silbers eingetreten und eine zu vernachlässigende Spur Salzsäure in Lösung gegangen ist. Man erspart sich derart nicht nur das Ausfällen von gelöstem Silber mit Schwefelwasserstoff, wobei das Schwefelsilber leicht kolloidal in Lösung geht, sondern man ist auch bei Amidosäuren, deren Silbersalze oft in Wasser unlöslich sind, vor Verlusten sicher.

Der Sirup, der durch Eindampfen der Filtrate von Chlorsilber erhalten wurde, ist, wenn zu starkes Eindampfen vermieden wurde, in der Regel nach wenig Stunden kristallinisch erstarrt. Der dicke Kristallbrei wird mit verdünntem Alkohol angerührt, auf einem Siebtrichter mit sehr großem Sieb auf Leinwand abgesaugt und mit immer stärkerem Alkohol von der Mutterlauge befreit.

Hier wie in allen ähnlichen Fällen ist 50%iger Alkohol als Verdünnungsmittel und Mischflüssigkeit anwendbar. Sollten trotzdem gelatinöse Fällungen entstehen, sind diese durch

<sup>1)</sup> Journal für prakt. Chemie, Bd. 107, S. 222.

Zusatz von wenig Tropfen Wasser leicht wieder in Lösung zu bringen.

Die Mutterlaugen scheiden eingedampft nach längerem Stehen noch eine zweite geringere Kristallisation ab. Die dann resultierenden amorphen Mutterlaugen wurden durch Kochen mit gefällttem Kupferoxyd in die Kupfersalze verwandelt und deren mäßig konzentrierte Lösung mit Alkohol fraktionell gefällt. Die amorphen blaugrünen Fällungen schieden entweder direkt beim Lösen in Wasser oder doch nachdem sie einigemal wieder in Wasser gelöst und wieder mit Alkohol ausgefällt worden waren, in Wasser unlösliche, grüne Kupfersalze ab, die, mit Schwefelwasserstoff versetzt, nach dem Eindampfen einen Sirup gaben, der kristallisierte. Die Menge der Kristalle ist aber so gering, daß sie das umständliche Reinigungsverfahren eigentlich nicht lohnen.

Das Umkristallisieren der ersten Rohkristallisation erfolgt am zweckmäßigsten derart, daß man in Wasser löst, kochend mit Tierkohle entfärbt, hierauf bis zur Abscheidung von Kristallkrusten dampft und dann etwa das gleiche Volumen heißen Weingeist zufügt.

Man erhält nach dem Erkalten mikroskopische Kristalle, die meist die Form unregelmäßiger, an den Ecken abgestumpfter Tetraeder oder stark abgestumpfter Keile haben.

Die wiederholt derart umkristallisierte Säure läßt sich schließlich aus Wasser allein umkristallisieren, in welchem sie in der Hitze erheblich leichter löslich ist als in der Kälte. Bei Zimmertemperatur braucht die Säure ungefähr 25 Teile Wasser zur Lösung; sie ist schwierig in 50%igem Weingeist, so gut wie nicht in absolutem Alkohol löslich.

Im Kapillarrohr erhitzt, tritt unter vorhergehendem schwachen Sintern bei 190 bis 191° unter gleichzeitiger Gasentwicklung Schmelzen zu einer farblosen Flüssigkeit ein; beim Trocknen kein merklicher Gewichtsverlust.

Die Lösung in Natronlauge wird von verdünnter Kupfervitriollösung nicht stärker blau gefärbt als die Natronlauge allein.

Die Substanzen 1 und 2 beziehlich 3 und 4 entstammen verschiedenen Darstellungen. 4 ist durch Umkristallisieren

von 3 erhalten worden, wobei der Schmelzpunkt sich nicht änderte.

1. 0.2047 g bei 60° im Vacuum getrocknet  $\text{CO}_2 = 0.3039 \text{ g}$ ,  $\text{H}_2\text{O} = 0.1122 \text{ g}$ .
2. 0.1794 g bei 60° im Vacuum getrocknet  $\text{N} = 16.5 \text{ ccm}$ ,  $t = 23^\circ$ ,  
B = 737 mm.
3. 0.1827 g bei 107° getrocknet  $\text{CO}_2 = 0.2669 \text{ g}$ ,  $\text{H}_2\text{O} = 0.0917 \text{ g}$ .
4. 0.1324 g bei 107° getrocknet  $\text{CO}_2 = 0.1951 \text{ g}$ ,  $\text{H}_2\text{O} = 0.0646 \text{ g}$ .

In 100 Teilen:

	1	2	3	4
C	40.48	—	39.84	40.19
H	6.06	—	5.48	5.45
N	—	10.26	—	—

Die mit gefälltem Kupferoxyd gekochte Lösung der Säure gibt ein dunkelblaues Filtrat, das bis auf einen kleinen Rest eingedampft werden kann, ohne zu kristallisieren. Die allmählich anschließenden blaugrünen Kristallwarzen sind aber, einmal gebildet, in Wasser dann so gut wie unlöslich.

0.2654 g, lufttrocken, verlieren bei 108°  $\text{H}_2\text{O} = 0.0286 \text{ g}$  und geben verbrannt 0.2553 g  $\text{CO}_2$ , 0.0695 g  $\text{H}_2\text{O}$  und 0.0787 g Cu.

In 100 Teilen:

Gefunden in der Trockensubstanz

C	29.17
H	3.28
Cu	26.55
$\text{H}_2\text{O}$	10.77

Aus den Analysen berechnet sich für die Säure, die Caseinsäure benannt wird, die Zusammensetzung  $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7$  und für ihr Kupfersalz  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_7\text{Cu}_3 + 3\text{H}_2\text{O}$ . Die wasserstoffärmere Formel  $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$  stimmt im Wasserstoffgehalt sogar noch besser, weicht aber im Kohlenstoffgehalt mehr als zulässig ab.

	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_7$	$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_7\text{Cu}_3$	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_7\text{Cu}_3$
C	40.87	41.19	29.95	30.12
H	6.16	5.38	3.63	3.09
N	10.53	10.54	26.46	26.65

Die Säure ist daher sehr wahrscheinlich eine gesättigte, dreibasische, vieratomige Diamidosäure, eine Nonan-ol-diaminotrisäure.

Als dreibasische Säure kann sie natürlich keine normale Verbindung sein, sie schließt sich in dieser Beziehung an das Leucin an.

Die Caseansäure liefert eine sehr charakteristische Salzsäureverbindung, die in konzentrierter Salzsäure sehr schwer löslich ist und beim Verdunsten der Lösung in Wasser in wasserklaren, quadratförmigen Tafeln oder rechteckigen Platten anschießt. Bei einem Versuch mit etwa zwei Zentigramm schossen Vierecke von mehreren Millimetern Kantenlänge aus.

Der Chloroplatinat bildet ziemlich große Büschel unregelmäßiger Prismen und ist in Wasser sehr leicht löslich. Das Aurat bildet leicht lösliche, strahlig angeordnete Prismen.

#### Säure aus gelbgrünem Kupfersalz: Caseinsäure.

Das gelbgrüne Kupfersalz unterscheidet sich von dem blaugrünen durch die viel größere Löslichkeit in Alkohol. Es löst sich in beträchtlicher Menge sogar in ungefähr 75%igem Weingeist auf, während das blaugüne auch in 50%igem so gut wie nicht löslich ist.

Das gelbgrüne Kupfersalz wurde so wie das blaugüne mit Schwefelwasserstoff zerlegt, mit Silberoxyd von Chlor befreit und sodann zu mäßig dickem Sirup gedampft, der nach kurzer Zeit kristallisierte. Beim Absaugen und Waschen der Kristallationen sind dieselben Kunstgriffe anzuwenden wie bei den Kristallationen mit dem blaugrünen Salz.

Hier erhält man aber durch Eindampfen der Mutterlaugen eine viel größere Zahl von Kristallationen, die sich im Ansehen und im Schmelzpunkt unterscheiden. Zum Schluß kristallisierte die dicke Mutterlauge nicht mehr. Durch wiederholtes Lösen in Wasser und Fällen in Alkohol wurde sie systematisch fraktioniert.

Die dabei erhaltenen, in Alkohol schwerlöslichen Anteile, in Wasser gelöst, schieden allmählich Kristalle ab, die, durch wiederholtes Umkristallisieren aus Wasser gereinigt, in Kristallform, Löslichkeit und Schmelzpunkt sich identisch mit der Säure aus dem blaugrünen Kupfersalz der Caseansäure vom Schmelzpunkt 190° erwiesen.

Die in Alkohol leichter löslichen Anteile geben neue Kristallisationen, die mit den früher erhaltenen identisch sind.

Als endlich die sirupösen Mutterlaugen der alkoholschwer- und alkoholleichtlöslichen Fraktionen, jede für sich, kochend, mit Kupferoxyd gesättigt, zum dicken Sirup gedampft, und dieser vorsichtig mit wenig Alkohol angerührt wurde, schieden sich Cu-Salze ab, die in Wasser sehr schwer löslich waren und, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, gut kristallisierende Säuren gaben, die mit den vorher schon direkt umkristallisierten identisch waren.

Aber auch von den Kupfersalzen blieb die Hauptlauge amorph. Allerdings schieden sich aus den dicken dunkelblauen Lösungen mitunter und manchmal sogar recht reichlich Kristallisationen ab, es fand sich aber kein praktikabler Weg, sie von der zähen Mutterlauge zu trennen.

Die Ausbeute an kristallisierenden Substanzen bei Aufarbeitung der ursprünglichen Mutterlaugen durch die Kupfersalze ist so gering, daß sie die mühevollen Arbeit nicht lohnt.

Die ursprünglichen Kristallisationen aus der von Salzsäure befreiten Lösung wurden durch wiederholtes Umkristallisieren in Fraktionen gewonnen, die sich in Ansehen und Schmelzpunkt unterscheiden.

Beim Umkristallisieren macht sich der Umstand bemerkbar, daß, insbesondere so lange die Säuren noch verunreinigt sind, der Unterschied der Löslichkeit in Wasser, in der Hitze und bei gewöhnlicher Temperatur sehr gering ist. Deshalb wurde auch hier derart verfahren, daß die wässrige Lösung bis zum Auftreten einer Kristallhaut eingedampft und sodann mit dem gleichen Volumen Alkohol vermischt wurde. Beim Absaugen wurde die Mutterlauge durch Decken mit 50%igem Weingeist entfernt, stärkerer Weingeist kann leicht amorphe Fällungen hervorrufen, welche sich an den Kristallen niederschlagen.

Das Umkristallisieren wird auch dadurch erschwert, daß die Lösungen anfänglich durch eine Suspension getrübt sind, die hartnäckig durch die Filter geht. Man schlägt sie am einfachsten durch Digerieren mit Tierkohle nieder.

Die ersten zwei Hauptkristallisationen schmolzen bei  $228^{\circ}$  und veränderten beim Umkristallisieren den Schmelzpunkt nicht. Sie zeigten sich schon dem unbewaffneten Auge deutlich kristallisiert und lösten sich unter dem Mikroskop in sehr kleine Prismen auf, die meist zu klobenartigen Aggregaten verwachsen sind.

Die Säure ist optisch aktiv, ihr Drehungsvermögen allerdings sehr gering.

0,7874 g wurden mit 16,5683 g  $H_2O$  in Lösung gebracht,  $d \cdot \frac{20}{l} = 1,0091$ ,  $t = 20$ , bei 10 cm Länge der Schicht war  $\alpha = + 0,06$ .

Daraus berechnet sich  $(\alpha)_D = + 0,13^{\circ}$ . Da aber Amidosäuren in wässriger Lösung äußerst wenig drehen, kann wohl angenommen werden, daß die rechtsdrehende Form der Caseinsäure vorliegt. Dieses um so mehr, als, wie später gezeigt wird, eine isomere Säure sich als optisch inaktiv zeigte. Es sei noch bemerkt, daß die Beobachtungen mit einem Apparat von Lippich ausgeführt wurden, der Minuten genau anzeigt.

Die analysierte Substanz ist so gut wie aschefrei.

1. 0,2047 g gaben 0,3857 g  $CO_2$  und 0,1537 g  $H_2O$ .
2. 0,1829 .. .. 16,1 ccm Stickstoff bei  $t = 24,5^{\circ}$  und  $B = 735$  mm.
3. 0,1199 .. .. 0,2284 g  $CO_2$  und 0,0849 g  $H_2O$ .
4. 0,2716 .. .. 0,5151 ..  $CO_2$  .. 0,2111 g  $H_2O$ .

In 100 Teilen:

	Berechnet für		Gefunden			
	$C_{12}H_{24}N_2O_5$	$C_{12}H_{22}N_2O_5$	1	2	3	4
C	52,12	52,51	51,39	—	51,95	51,72
H	8,75	8,08	8,39	—	7,91	8,63
N	10,17	10,26	—	10,00	—	—

Die verdünnte wässrige Lösung der Säure, kochend mit gefällttem Kupferoxyd gesättigt, gibt ein dunkelblaues Filtrat, aus welchem sich beim Eindampfen Kristalle abscheiden, die feucht lavendelblau sind, beim Liegen an der Luft aber bald sehr lichtviolett werden. Unter dem Mikroskop erkennt man unregelmäßige Blätter, die zu Rosetten vereinigt sind.

Das lufttrockene Salz verliert bei  $110^{\circ}$  nicht mehr an Gewicht.

0.1575 g gaben 0.2511 g CO<sub>2</sub>, 0.0798 g H<sub>2</sub>O und 0.0352 g CuO.  
 0.2408 .. .. 0.3757 .. .. 0.1342 .. .. 0,0535 .. ..

In 100 Teilen:

Berechnet für C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> Cu		Gefunden	
C	42.61	43.49	42.55
H	6.51	5.66	6.23
Cu	18.86	17.86	17.75 <sup>1)</sup>

Wird die Caseinsäure mit konzentrierter Salzsäure übergossen, verändert sie die Form, löst sich aber nicht auf, sondern erst nach Zusatz von Wasser. Beim Verdunsten bleibt die Salzsäureverbindung in vereinzeltten Kristallgruppen zurück, die ein unregelmäßiges Haufwerk von unregelmäßigen, miteinander verwachsenen Tafeln sind.

Wird die Salzsäureverbindung in konzentriertem Platinchlorid gelöst, so hinterbleibt beim Eindunsten eine gelbe strahlige Kristallmasse. Das Aurat bildet blumenkohlartige Aggregate.

### Dritte Fraktion.

Die Kristalle dieser sind viel besser ausgebildet wie die der Caseinsäure: unter dem Mikroskop erkennt man schmale viereckige Blätter, mitunter zu zweien oder dreien zusammengewachsen. Sie sind von all den Anschüssen aus dem gelbgrünen Kupfersalz am besten ausgebildet. In Löslichkeitsverhältnissen zeigen sie keine merklichen Unterschiede. Erhitzt färben sie sich von 215° an immer mehr braun, sintern stark bei 245° und schmelzen bei 248—249° unter lebhafter Gasentwicklung.

In der Zusammensetzung weichen sie von den schwerer löslichen als auch den leichter löslichen Kristallisationen stark ab.

0.1626 g. bei 108° getrocknet, gaben 16.6 ccm Stickstoff bei 17° und 736,5 mm.

0,1789 g, bei 108° getrocknet, gaben 0,2715 g CO<sub>2</sub> und 0,1192 g H<sub>2</sub>O.

0,1534 .. .. .. .. 0,2335 .. .. .. 0,0928 .. ..

<sup>1)</sup> Die Kupferbestimmungen sind sicher zu niedrig, da bei der Verbrennung auch bei sehr vorsichtigem Erhitzen etwas Kupferoxyd aus dem Schiffchen verloren ging.

In 100 Teilen:

	Gefunden		
C	—	41,39	41,51
H	—	7,45	6,76
N	11,63	—	—

Diese Zahlen kommen am nächsten jenen, die sich für eine Verbindung  $C_8H_{16}N_2O_6$  berechnen.

C	40,67
H	6,77
N	11,90

Wird die wässrige Lösung bis zur Sättigung mit gefällttem Kupferoxyd gekocht und die blaue Lösung eingedampft, so beginnt erst nach Konzentration auf ein sehr kleines Volumen Kristallisation, die nach Zufügung des gleichen Volumens Alkohol sich sehr erheblich vermehrt. Nach dem Erkalten ist ein Brei von Kristallen entstanden, die dunkel blauviolett gefärbt sind und unter dem Mikroskop Rosetten zeigen, die aus langen, unregelmäßigen, rechteckigen Platten zusammengesetzt sind.

Das Salz ist in Alkohol von 50% sehr wenig, in kaltem Wasser recht leicht löslich. Es enthält Kristallwasser, das zum Teil über Schwefelsäure, vollständig aber erst nach langem Trocknen auf  $115^\circ$  entweicht.

Das wasserfreie Salz ist etwas mehr rötlich und gleichzeitig lichter gefärbt wie das lufttrockene.

0,2368 g gaben 0,2813 g  $CO_2$  und 0,1048 g  $H_2O$ , sowie 0,0630 g  $CuO$ .

In 100 Teilen:

	Berechnet für $C_8H_{14}O_6N_2Cu$	Gefunden
C	32,26	32,40
H	4,78	4,95
Cu	21,37	21,26

Die Säure löst sich in konzentrierter Salzsäure leicht auf. Die Lösung dunstet zu einem Sirup ein, der erst nach sehr langem Stehen farrenkrautähnliche Kristallgebilde anzusetzen beginnt. Die Gold- und Platindoppelsalze kristallisieren noch viel schlechter.

Die Säure ist nach Analysen der freien Verbindung wie des Kupfersalzes sicherlich eine zweibasische Diaminosäure

und nach dem Wasserstoffgehalt sicherlich auch eine Dioxy-säure. Sie ist schon eingangs als Diaminodioxykorksäure bezeichnet worden. Ob sie gerade von der normalen Korksäure sich ableitet oder eine isomere Säure ist, ist vollständig unsicher. Da ersteres aber nicht ausgeschlossen ist und um nicht zwecklos nach neuen Namen zu suchen, soll sie unter jenem allerdings nicht bewiesenen Namen vorläufig laufen.

#### Vierte, fünfte und spätere Fraktionen.

Die vierte Fraktion sowie alle andern Anschüsse, welche durch sukzessives Eindampfen aus ihrer Mutterlauge noch zu erhalten waren (es waren dies im ganzen noch vier), zeigten im Ansehen wiederum die größte Ähnlichkeit mit den ersten zwei Kristallisationen; der Schmelzpunkt liegt aber viel höher und beim systematischen Umkristallisieren wurde dieser höhere Schmelzpunkt (243—244°) bei allen neu erhaltenen Fraktionen wiedergefunden. Die Zusammensetzung ist wieder gleich jener der ersten Kristallisation, die Ausbildung der Kristalle aber noch viel undeutlicher.

0.1438 g gaben 0.2767 g CO<sub>2</sub> und 0.1099 g H<sub>2</sub>O.

0.1759 „ „ 15.1 ccm Stickstoff bei 15° und 739.5 mm.

In 100 Teilen:

Berechnet für C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		Gefunden	
C	52.12	52.41	—
H	8.75	8.54	—
N	10.17	—	9.89

Das Kupfersalz ist in Löslichkeit, Farbe und Kristallform gleichfalls jenem täuschend ähnlich, welches aus der bei 226° schmelzenden Säure der ersten Fraktion erhalten worden ist. Die Blättchen waren dieses Mal durchwegs einzeln ausgebildet und nicht in Rosetten verwachsen. Es kristallisiert gleichfalls ohne Kristallwasser.

0.1904 g, bei 108° getrocknet, gaben 0.3021 g CO<sub>2</sub>, 0.1070 g H<sub>2</sub>O und 0.0420 g CuO.

In 100 Teilen:

Berechnet für C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> Cu		Gefunden	
C	42.62	43.27	
H	6.56	6.40	
Cu	18.82	18.04	

Eine 4,5%ige wässrige Lösung der Säure erwies sich optisch vollständig inaktiv. Man ist deshalb berechtigt, in den späteren Anschlüssen die racemische Form der Caseinsäure anzunehmen. Gegen Salzsäure verhält sie sich der rechtsdrehenden Säure ganz gleich, nur sind die Kristalle kleiner und noch weniger charakteristisch ausgebildet.

Der Chloroplatinat kristallisiert sehr schwierig, schlechter wie das der aktiven Säure. Dasselbe gilt vom Chloroaurat.

Es ist schon erwähnt worden, daß die beim Casein durchgeführten Trennungsmethoden auch bei anderen Eiweißstoffen, wie dem Gelatin, dem Hühnereiweiß und der Hornsubstanz angewendet werden sollen.

Die Ausdehnung der Methode auf andere Fälle dürfte nicht ohne Interesse sein, und darf ich wohl die Bitte aussprechen, daß, um Kollisionen zu vermeiden, die Herren Fachgenossen, die solche Arbeiten ausführen wollen, sich mit mir freundlichst zuvor in Verbindung setzen.

Die genauere Untersuchung der ihrer Konstitution nach unbekanntem neuen Spaltungsstoffe möchte ich mir vorläufig vorbehalten.