

# Über die Spaltung der Gelatine.

## IV. Mitteilung.

Von

**P. A. Levene und G. B. Wallace.**

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New-York.)  
(Der Redaktion zugegangen am 24. Januar 1906.)

### Über das Prolin.

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> hat einer von uns über das Vorkommen von inaktivem Prolin bei der tryptischen Verdauung der Gelatine berichtet. In ihrem Aussehen schien die Substanz von dem des  $\alpha$ -Prolin abweichend; aber die Menge des damals dargestellten Körpers war zu gering, um eine Entscheidung über seine genaue Natur zu ermöglichen.

In der vorliegenden Arbeit wurde es versucht, eine größere Quantität der Substanz zu bereiten und ihre Eigenschaften mit denen des  $\alpha$ -Prolin zu vergleichen.

Die Darstellung wurde ausgeführt auf dieselbe Weise, wie in der früheren Mitteilung angegeben. Das Kupfersalz hatte dasselbe Aussehen, wie das der vor zwei Jahren gewonnenen Substanz, nämlich es schien eine hellere Farbe und einen stärkeren Silberglanz als das gewöhnlich inaktive  $\alpha$ -Prolin zu besitzen.

Bei wiederholtem Auskochen mit Tierkohle und mehrmaligem Umkrystallisieren aus Wasser gelang es endlich, ein Kupfersalz zu erhalten, das in der Farbe und im mikroskopischen Aussehen der Krystalle sich von dem gewöhnlichen Prolin kaum unterschied.

Zum weiteren Vergleich wurden die freie Substanz, die Phenylisocyanat-Verbindung, das Hydantoin und das Pikrat dargestellt.

Die freie Substanz wurde aus Wasser krystallisiert. Sie schied sich in großen, einige Millimeter langen Krystallen aus.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 99, 1904.

Beim Trocknen im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure schienen die Krystalle zu verwittern. Lufttrocken enthielt die Substanz Krystallwasser und verlor dasselbe beim Trocknen im Toluolbad.

0,1230 g der Substanz haben beim Trocknen 0,0169 g an Gewicht abgenommen.

Für  $C_5H_9NO_2 \cdot H_2O$

| Berechnet:       | Gefunden: |
|------------------|-----------|
| $H_2O = 13,54\%$ | 13,74%    |

Der Schmelzpunkt der trockenen Substanz lag bei  $190^\circ C.$ , stimmte also mit dem für  $\alpha$ -Prolin nicht. Die Substanz wurde dann aus Alkohol krystallisiert und im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, sie schmolz dann bei  $170^\circ C.$

1 g der Substanz wurde auf übliche Weise mit Phenylcyanat behandelt. Im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, hatte die Verbindung den Schmelzpunkt von  $152^\circ C.$

Durch Kochen mit Salzsäure wurde die Substanz in das Hydantoin übergeführt. Aus Weingeist umkrystallisiert, hatte es einen Schmelzpunkt von  $110^\circ C.$

Also diese Derivate besaßen nicht die für das  $\alpha$ -Prolin verlangten Schmelzpunkte.

Da unterdessen Alexandroff ein Verfahren zur Darstellung eines Pikrates des  $\alpha$ -Prolins veröffentlicht hat, so wurde es versucht, diese Verbindung aus der vorliegenden Substanz zu gewinnen.

0,5 g der Substanz wurden mit der berechneten Menge Pikrinsäure und mit Essigsäure erhitzt. Die Lösung mit Alkohol und Äther behandelt. Es schied sich eine harzartige, gelbe Substanz ab. Beim längeren Stehen nahm der Niederschlag eine krystallinische Beschaffenheit an. Er wurde aus Alkohol zweimal umkrystallisiert. Das Pikrat krystallisierte nur beim längeren Stehen.

Im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, schmolz die Substanz bei  $100^\circ C.$  (schon bei  $80^\circ C.$  fing sie zu sintern an).

0,1462 g der Substanz gaben 20,8 ccm N bei  $t = 22,5^\circ C.$  und bei  $p = 762$  mm.

Für  $C_5H_9NO_2 \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH$

| Berechnet:    | Gefunden: |
|---------------|-----------|
| $N = 16,28\%$ | 16,54%    |

Zum Vergleich wurde dann das  $\alpha$ -Prolin nach Fischer's Verfahren aus durch Salzsäure hydrolysierter Gelatine dargestellt, die Substanz, nach den Angaben von Fischer inaktiviert, als Kupfersalz isoliert, und dann die freie Substanz aus Wasser krystallisiert.

0,1775 g der lufttrockenen Substanz haben 0,0254 g beim Trocknen im Toluolbad an Gewicht abgenommen.<sup>1)</sup>

Für  $C_5H_9NO_2 \cdot H_2O$

|                  |           |
|------------------|-----------|
| Berechnet:       | Gefunden: |
| $H_2O = 13,54\%$ | $14,30\%$ |

0,500 g der Substanz wurden nach Kossel's Verfahren in das Pikrat übergeführt. Die Substanz besaß dieselben Eigenschaften wie die durch tryptische Verdauung gebildete. Die Substanz fing bei  $108^\circ C.$  zu sintern an und schmolz bei  $125^\circ C.$

Also auch mit Pikrinsäure kommt man nicht zu reineren Präparaten wie mit Phenylisocyanat.

Nach allen diesen Befunden darf man annehmen, daß das bei tryptischer Verdauung sich bildende Prolin mit dem inaktiven  $\alpha$ -Prolin identisch ist. Die Abweichungen in den Schmelzpunkten der verschiedenen Präparate sind wahrscheinlich durch kleine Verunreinigungen verursacht.

#### Weitere Untersuchungen über die bei tryptischer Verdauung der Gelatine sich bildenden krystallinischen Substanzen.

1500 g Gelatine wurden in 15 l einer 0,4%igen Lösung von Natroncarbonat gelöst und mit 15 g Trypsin (Trypsinum purissimum Grübler) der Verdauung überlassen. Toluol und Chloroform sind als Antiseptica gebraucht worden. In Intervallen von 1 Monat wurden zweimal je 10 g Trypsin zugefügt.

Die Verdauung dauerte 15 Monate. Am Ende der Zeit wurde die Mischung neutralisiert, zur Sirupkonsistenz eingedampft, in einer 5%igen Lösung von Schwefelsäure aufgenommen, und so lange mit Phosphorwolframsäure behandelt, als sich noch ein ölformiger Niederschlag bildete. Dieser (P. W. I) wurde absetzen gelassen, die überstehende Lösung wurde dekantiert und weiter mit Phosphorwolframsäure behandelt, solange sich ein

<sup>1)</sup> Wilstädter, Ann., Bd. CCCXXVI.

weißer körniger Niederschlag bildete (P. W. II). Das Filtrat wurde weiter mit Phosphorwolframsäure behandelt, solange sich ein Niederschlag beim starken Abkühlen bildete. Beim längeren Stehen bildeten sich an den Wänden des Gefäßes krystallinische Absätze.

Als dies eintrat, wurde der Niederschlag (P. W. III) abfiltriert, und das Filtrat weiter mit Phosphorwolframsäure behandelt, solange sich beim folgenden längeren Stehen eine krystallinische Verbindung bildete (P. W. IV).

In der vorliegenden Mitteilung wird nur über Niederschlag I und IV berichtet.

### Phosphorwolframat I.

Dieser Niederschlag ist beim Stehen zu einer ziegelartigen Masse erstarrt. Diese wurde im Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben, in ammoniakalischem Wasser aufgelöst und so lange mit konzentrierter Barytlösung behandelt, bis sich noch ein Niederschlag bildete. Der Überschuß des Baryums wurde erst mit Kohlensäure und endlich quantitativ mit Schwefelsäure entfernt. Das Filtrat wurde so weit wie möglich auf dem Wasserbade eingedampft und mit absolutem Alkohol extrahiert.

Der Auszug wurde wiederholt eingedampft und wieder mit Alkohol ausgezogen, schließlich von Alkohol befreit, in Wasser gelöst und mit Kupferoxyd aufgeköcht. Beim Konzentrieren der blauen Lösung schied sich ein spärlicher Niederschlag aus. Das Filtrat wurde mit Alkohol und Äther behandelt, es bildete sich dabei ein zweiter Niederschlag. Das Filtrat von diesem wurde an der Luft verdunsten gelassen. Beim längeren Stehen bildete sich eine sirupartige Masse, in welcher eine deutliche Krystallbildung zu bemerken war. Die Masse wurde dann auf Tonplatten übertragen. Nach einiger Zeit erschienen aus der kupferhaltigen Mutterlauge farblose Krystalle. Diese wurden aus absolutem Alkohol umkrystallisiert und zur Analyse verbraucht. Im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, hatte die Substanz einen Schmelzpunkt von 182—185° C.

Für die Analyse wurde die Substanz im Xylolbad getrocknet.

0,2089 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,4135 g  $\text{CO}_2$  und 0,1266 g  $\text{H}_2\text{O}$ ; C = 53,95%, H = 6,75%.

0,1046 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 0,2072 g  $\text{CO}_2$  und 0,0619 g  $\text{H}_2\text{O}$ ; C = 54,01%, H = 6,58%.

0,1344 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 21,9 ccm N bei  $t = 21^\circ$  und  $p = 750$  mm; N = 18,51%.

Für  $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$

| Berechnet: | Gefunden: |
|------------|-----------|
| C = 54,22% | 53,93%    |
| H = 6,45%  | 6,66%     |
| N = 18,08% | 18,51%    |
| O = 20,25% | 20,90%    |

Wie aus der Gewinnung der Substanz schon ersichtlich ist, bildet die Substanz kein Salz mit Kupferoxyd. Mit Platinchlorid bildet sich kein unlösliches Doppelsalz, mit Jodwismuthjodkalium bildete sich kein Niederschlag. Die Substanz gab eine ausgesprochene Pyrrolreaktion und schmeckte stark bitter.

Ein Pikrat wurde erhalten, indem eine alkoholische Lösung der Substanz mit einer ähnlichen Lösung von Pikrinsäure behandelt war. Die Verbindung wurde mehrmals mit Alkohol und Äther extrahiert und zur Analyse gebraucht.

Im Vacuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, hatte die Substanz einen Schmelzpunkt von  $165\text{--}167^\circ$  C.

0,1342 g der Substanz gaben bei der Verbrennung 21,8 ccm N bei  $t = 25^\circ$  C. und  $p = 758$  mm, N = 18,58%.

|  | Berechnet: | Gefunden: |
|--|------------|-----------|
|  | N          | N         |
| Für $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3\text{OH}$ | 18,23%     |           |
| • $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3\text{OH}$  | 18,27%     | 18,58%    |

Weitere Untersuchungen über die Natur der Substanz sind im Gange.

#### Phosphorwolframat IV.

Der Niederschlag wurde auf dieselbe Weise wie der erste behandelt. Beim Eindampfen der barytfreien Lösung schieden sich ganz einförmige Krystalle aus. Diese wurden in wenig Wasser aufgelöst und mit einem gleichen Volumen absoluten Alkohols behandelt. Es bildete sich ein Niederschlag, der aus nadelförmigen Krystallen bestand. Diese schmeckten stark süß, bildeten ein rotes Sublimat und hatten einen Schmelzpunkt von  $240^\circ$  C. (Anschütz-Thermometer gebraucht.) Mit Kupferoxyd

bildete sich ein Satz, der aus langen, prismatischen Nadeln bestand und mit einem Molekül Krystallwasser krystallisierte.

0,2050 g der Substanz haben beim Trocknen im Toluolbad 0,0659 g an Gewicht abgenommen.

Für  $(C_2H_4NO_2)_2Cu \cdot H_2O$

Berechnet:  
 $H_2O = 9,13\%$

Gefunden:  
8,78%

Es lag also Glycocoll vor.

Als diese Experimente schon abgeschlossen waren, ist die Arbeit von Skraup<sup>1)</sup> erschienen, in welcher er über die Bildung von krystallinischen Phosphorwolframat von Glycocoll und Alanin berichtete. Unsere Beobachtung hatten einen von uns in Gemeinschaft mit Dr. Beatty veranlaßt, eine genauere Untersuchung über Fällbarkeit der Aminosäuren durch Phosphorwolframsäure zu unternehmen. Über die Resultate dieser Untersuchung ist in der folgenden Mitteilung berichtet.

<sup>1)</sup> Monatshefte für Chemie, Bd. XXVI, S. 1351, 1905.