

Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln.

XII. Mitteilung.

Über die Konstitution des Carnosins.

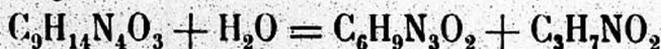
Von

Wl. Gulewitsch.

(Aus dem medizinisch-chemischen Laboratorium der Universität Moskau.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. Juli 1911.)

Vor einigen Jahren habe ich die Bildung des Histidins bei der Barytspaltung von Carnosin beschrieben¹⁾ und die Vermutung ausgesprochen, daß das andere Produkt der wohl nach der Gleichung:



vor sich gehenden Hydrolyse Alanin sein kann. In der vorliegenden Untersuchung habe ich nun die quantitativen Verhältnisse bei der Spaltung des Carnosins verfolgt und die chemische Natur auch des anderen, sich bei der Hydrolyse des Carnosins bildenden Produktes aufgeklärt.

I.

Das zu dieser Untersuchung nötige Carnosin habe ich aus dem zweimal umkrystallisierten Carnosinnitrat durch die Fällung mit Phosphorwolframsäure und die Zerlegung des Niederschlages mit Barythydrat dargestellt. Die konzentrierte wässerige Lösung der freien Base wurde dann mit einem Überschuß von absolutem Alkohol gefällt. Das auf diese Weise dargestellte Carnosin bildete sternförmige Drusen von schneeweißen kurzen zarten Nadeln.

1. 0,2023 g der im Vakuumexsikkator getrockneten Substanz gaben nach Kjeldahls Verfahren²⁾ Ammoniak in einer Menge, die 35,53 ccm 0,10038fach normaler Natronlauge = 0,04997 g N entsprach.

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. 50. S. 535.

²⁾ Das Carnosin wird nach Kjeldahls Verfahren etwas schwierig

II. Aus 0,1826 g Substanz wurde nach demselben Verfahren Ammoniak in einer 32,40 ccm derselben Natronlauge = 0,04556 g N entsprechenden Menge erhalten.

Gefunden:		Berechnet
I.	II.	für $C_9H_{14}N_4O_3$
N = 24,7%	25,0%	24,8%

Die Bestimmung des spezifischen Drehungsvermögens zeigte, daß die Substanz rein war.

V. 1,5248 g Carnosin in Wasser gelöst; das Gewicht der Lösung = 12,2230 g; $d_4^{19,9} = 1,0427$; $l = 1$ dm; $\alpha_{546}^{20,0} = +3,245^\circ$.¹⁾ Aus diesen Werten wird unter der Reduktion der Wägungen auf den luftleeren Raum berechnet: $c = 13,004\%$ und $[\alpha]_{546}^{20,0} = +25,0^\circ$, während ich für ein besonders sorgfältig gereinigtes Präparat des Carnosins $[\alpha]_{546}^{20,1} = +25,3^\circ$ bei $c = 12,925\%$ gefunden habe.²⁾

Weiter wurde noch eine kryoskopische Bestimmung des Molekulargewichtes von Carnosin ausgeführt.

VI. 0,2070 g Carnosin in 20,69 g Wasser aufgelöst ergaben eine Depression von $0,085^\circ$.

Daraus resultiert $M = 219$, während das nach der Formel $C_9H_{14}N_4O_3$ berechnete Molekulargewicht 226 betragen soll.

Das Carnosin wurde nun in Wasser gelöst und von der Lösung 3 Portionen zu 25 ccm abpipettiert, welche je 2,9104 g Carnosin = 0,7212 g N enthielten. Diese Portionen wurden in 3 Einschlußröhren gebracht, mit einer heißen filtrierten Barytlösung gemischt, die Röhren zugeschmolzen und die etwa 45% krystallinisches Barythydrat enthaltende Lösung $5\frac{1}{2}$ Stunden

zerstört. Die richtigen, bei den Analysen I. und II. gefundenen Stickstoffwerte wurden unter Anwendung von 1 g Quecksilber und 25 ccm der Säuremischung erzielt, welche auf 1 l Schwefelsäure 100 g Phosphorsäureanhydrid enthielt. Bei der Zerstörung des Carnosins mit einer Mischung von 15 g Schwefelsäure (ohne Phosphorsäureanhydrid), 0,5 g Kupfersulfat und 3 g Kaliumsulfat erwies sich aber ein merkliches Stickstoffdefizit:

Gefunden:	
III.	IV.
N = 23,5%	23,2%

¹⁾ Als Lichtquelle diente das grüne monochromatische Licht $\lambda = 546$, welches von der Siedentopfschen Quecksilberbogenlampe geliefert und spektral gereinigt wurde.

²⁾ Die Ergebnisse der von mir ausgeführten Bestimmungen des spez. Drehungsvermögens von Carnosin werden demnächst veröffentlicht werden.

lang bei 130—140° erwärmt. In der Flüssigkeit entstand kein Niederschlag, was die Bildung von Kohlensäure ausschließt, und bei dem Öffnen der Röhren war kein Überdruck zu bemerken.

Die Menge des bei der Spaltung des Carnosins gebildeten Ammoniaks wurde durch die Destillation in eine titrierte Schwefelsäure bestimmt.

VII. Der Inhalt der I. Röhre wurde mit Wasser verdünnt und unter Zusatz von Talk destilliert, bis das Destillat nicht mehr alkalisch reagierte. Die von dem Ammoniak neutralisierte Menge Schwefelsäure entsprach 23,44 ccm 0,10038fach normaler Natronlauge. Daraus berechnet sich die als Ammoniak vorhandene Menge $N = 0,0330$ g.

VIII. Die aus der II. Röhre überdestillierte Ammoniakmenge entsprach 22,09 ccm Natronlauge ($f = 0,10038$) = 0,0311 g N.

Mithin wurden bei der Hydrolyse des Carnosins 4,57 resp. 4,31%, im Mittel 4,4% des Gesamtstickstoffs als Ammoniak abgespalten.

Daß die flüchtige, von der Schwefelsäure gebundene Base Ammoniak war, wurde dadurch bewiesen, daß die durch Barythydrat in Freiheit gesetzte Base in eine verdünnte Salzsäure überdestilliert, die Lösung zur Trockene verdampft und der Rückstand mit kaltem 99%igem Alkohol extrahiert wurde, worin sich nur ein kleiner Teil der Substanz löste. Der ungelöst gebliebene Rückstand zeigte die Reaktionen von Ammoniumchlorid. Die alkoholische Lösung, mit einer alkoholischen Lösung der Platinchlorwasserstoffsäure versetzt, lieferte einen Niederschlag, der abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen und aus heißem Wasser umkrystallisiert wurde, wobei sich die Substanz nur schwer auflöste. Nach dem Einengen und Erkalten der Lösung schieden sich ausschließlich optisch-isotrope 6-seitige Tafeln aus (Kombination des Hexaeders mit Oktaeder), welche sich beim Glühen, ohne zu schmelzen, zersetzten. Das alkoholische Filtrat von dem Ammoniumplatinchloridniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt und zur Trockene verdampft: der verschwindend kleine Rückstand mit einigen Tropfen Natronlauge gekocht entwickelte Dämpfe, die kaum bemerkbar alkalisch reagierten. Somit bestand auch der in Alkohol gelöste Teil des Chlorids der flüchtigen Base ausschließlich aus Ammoniumchlorid.

Der durch die Destillation von Ammoniak befreite Inhalt der I. Röhre wurde mit reiner Schwefelsäure genau ausgefällt, der Niederschlag abgesaugt und ausgewaschen.¹⁾ Die Filtrate wurden auf dem Wasserbade eingeeengt und in der auf 1 l genau aufgefüllten Flüssigkeit der Stickstoffgehalt bestimmt.

IX. 25 ccm Flüssigkeit wurden in einem Kjeldahl-Kolben mit 10 ccm der Mischung von Schwefelsäure und Phosphorsäureanhydrid gekocht, nach dem Verdampfen des Wassers weitere 15 ccm derselben Säuremischung und 1 g Quecksilber hinzugefügt und der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt. Dabei wurde Ammoniak in einer Menge erhalten, die 11,48 ccm Natronlauge ($f = 0,09987$) = 0,01606 g N entsprach.

X. 25 ccm Flüssigkeit, nach demselben Verfahren behandelt, lieferten eine 11,63 ccm derselben Natronlauge = 0,01627 g N entsprechende Menge Ammoniak.

Daraus werden für 1 l Flüssigkeit 0,642 g resp. 0,651 g im Mittel 0,647 g N berechnet.

Von der restierenden Flüssigkeit wurden 900 ccm genau abgemessen, auf etwa 350 ccm eingeeengt und mit 25%iger Phosphorwolframsäure vorsichtig gefällt, der Niederschlag (A) abgesaugt, sorgfältig ausgewaschen, mit Wasser zerrieben, abgesaugt und nochmals ausgewaschen (die Filtrate B). Der Niederschlag (A) wurde dann mit Barythydrat zerrieben, abgesaugt, mit Barytwasser gekocht, abgesaugt und ausgewaschen. Das Filtrat und die vereinigten Waschwasser wurden mit Kohlensäure gesättigt, gekocht, der Niederschlag von Baryumcarbonat abgesaugt und ausgewaschen, die neuen Filtrate auf dem Wasserbade eingeeengt, auf 500 ccm aufgefüllt und in der erhaltenen Flüssigkeit der Stickstoffgehalt wie in der Analyse IX bestimmt.

XI. Die aus 25 ccm Flüssigkeit erhaltene Ammoniakmenge entsprach 14,75 ccm Natronlauge ($f = 0,10038$) = 0,02074 g N. Die Parallelbestimmung konnte infolge eines Unfalls nicht zu Ende geführt werden.

Somit waren von dem Gesamtstickstoff (0,647 g) der von Ammoniak befreiten I. Portion

$$\frac{0,02074 \cdot 500 \cdot 1000}{25 \cdot 900} = 0,461 \text{ g} = 71,3\%$$

¹⁾ Bei dieser, wie auch bei den weiter unten beschriebenen Bestimmungen wurden die Niederschläge sehr sorgfältig ausgewaschen und außer dem Niederschlag des Histidinphosphorwolframat, mit Wasser wiederholt ausgekocht.

in dem Phosphorwolframsäureniederschlag enthalten, d. h. als Histidin abgespalten.

Das Filtrat (B) wurde auf die bekannte Weise durch Baryhydrat von der Phosphorwolframsäure befreit, die Flüssigkeit auf 500 ccm aufgefüllt und der Stickstoffgehalt wie bei der Bestimmung IX ermittelt.

XII. 50 ccm der Lösung lieferten Ammoniak in einer Menge, die 11,59 ccm Natronlauge ($f = 0,10038$) = 0,01630 g N entsprach.

XIII. Die aus 50 ccm Lösung erhaltene Ammoniakmenge entsprach 11,68 ccm derselben Natronlauge = 0,01643 g N.

Somit waren von dem Gesamtstickstoff der von Ammoniak befreiten I. Portion 0,181 g resp. 0,183 g, im Mittel 0,182 g = 28,1% in einer von der Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindung enthalten. Von dem Gesamtstickstoff (0,647 g) der von Ammoniak befreiten Flüssigkeit waren in dem Niederschlage (A) und in dem Filtrate (B) $0,461 + 0,182 = 0,643$ g = 99,4% wiedergefunden. Addiert man zum Gesamtstickstoff 0,033 g N, welcher als Ammoniak abgespalten wurde, so bekommt man 0,680 g N, d. h. 94,3% der Stickstoffmenge (0,721 g), welche in den für die Spaltung genommenen 2,9104 g Carnosin enthalten war.

Die Stickstoffverteilung zwischen den Spaltungsprodukten des Carnosins: dem Histidin und einem anderen unbekanntem Körper drückt sich durch das Verhältnis 71,3 : 28,1 aus. Berücksichtigt man aber, daß dieses Verhältnis infolge einer, obgleich geringen Löslichkeit des Histidinphosphorwolframats zugunsten des unbekanntem Körpers etwas verschoben ist,¹⁾ so läßt sich der Schluß ziehen, daß das wirkliche Verhältnis in der Nähe von 75 : 25 liegt, d. h. von 4 Atomen N des Carnosins 3 als Histidin und 1 als ein anderer Körper abgespalten sind. Die auf S. 434 angegebene Gleichung kann somit als richtig betrachtet werden und die geringe bei der Hydrolyse des Carnosins gefundene Ammoniakmenge entsteht offenbar als ein sekundäres Zersetzungsprodukt.

¹⁾ In der Tat lieferte die zu den Analysen XII und XIII benutzte Flüssigkeit einen sehr geringen Niederschlag mit schwefelsaurem Quecksilberoxyd, welches bekanntlich mit dem Histidin eine Fällung gibt.

II.

Der Inhalt von II. und III. Röhren wurde auf dieselbe Weise, wie der Inhalt von I. Röhre behandelt und die nach dem Zersetzen des Phosphorwolframsäureniederschlags und des Filtrats von demselben resultierenden Flüssigkeiten mit den entsprechenden, nach den Stickstoffbestimmungen übrig gebliebenen Lösungen (A und B) der I. Portion vereinigt.

Der basische, bei dieser Untersuchung durch die Phosphorwolframsäure gefällte Teil der Spaltungsprodukte von Carnosin besteht, wie ich früher bewiesen habe,¹⁾ aus Histidin, welches ich damals durch die Fällung mit Silbernitrat und Barythydrat isoliert habe. Auch diesmal wurde aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag ein alkalisch reagierender Körper erhalten, welcher sich nach dem Entfärben mit Tierkohle und Umkrystallisieren aus heißem Wasser in farblosen glänzenden Tafelchen ausschied, die einen ausgesprochenen süßlichen Geschmack hatten, im Thieleschen Apparate bei 252—253° (korr.) unter starker Zersetzung und Aufschäumen schmolzen und gegen Quecksilberchlorid, Silbernitrat und Biuretprobe dasselbe Verhalten wie Histidin (l. c., S. 536) zeigten; mit Bromwasser erwärmt, färbte sich die Substanz intensiv rot.²⁾ Die Bestimmung des Drehungsvermögens zeigte, daß die Substanz inaktiv war.

XIV. 1,3550 g Histidin in Wasser gelöst; das Gewicht der Lösung = 43,4102 g. Für diese (3.12%ige) Lösung wurde $\alpha_D = -0,015^\circ$ bei $l = 6$ dm gefunden.

Somit veranlaßte das Erwärmen mit Barythydrat bei 130—140° die Racemisierung des bei der Hydrolyse von Carnosin entstandenen Histidins. Ein Histidin, dessen Chlorid optisch inaktiv war, erhielten Kossel und Kutscher³⁾ bei der Spaltung der Eiweißkörper mit Jodwasserstoffsäure bei Gegenwart von phosphoriger Säure. Auch S. Fränkel⁴⁾ beobachtete die Racemisierung des Histidins bei der Behandlung mit 20%iger Salzsäure bei 160°.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 50, S. 535.

²⁾ Fr. Knoop, Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 11, S. 356.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 31, S. 179.

⁴⁾ Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 8, S. 160.

Um das zweite Produkt der Carnosinspaltung zu isolieren, wurde nun das Phosphorwolframsäurefiltrat von der Histidin-fällung auf die bekannte Weise durch Barythydrat von der Phosphorwolframsäure befreit. Aus der eingeengten Flüssigkeit schieden sich viele Krystalle aus, die sich aber als Natriumcarbonat erwiesen. Da ich bei dieser Untersuchung ausschließlich ein reines Präparat von Barythydrat benutzte, welches noch zweimal aus heißem Wasser umkrystallisiert wurde, konnte das Natriumcarbonat aus den dem Barythydrat eventuell beige-mischten Natriumverbindungen nicht entstammen und es war vielmehr anzunehmen, daß der Ursprung des Natrons in dem Glase der Einschlußröhren zu suchen ist, welches durch das Erhitzen mit Barythydrat stark zerfressen war. Ein Versuch, die vollständige Trennung des Mineralsalzes und der organischen Substanz in Gestalt von Sulfaten auszuführen, erwies sich als erfolglos. Dann wurde das alkoholische Filtrat verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst und die Lösung mit Quecksilberoxydsulfat ausgefällt, um eine ganz geringe von der Phosphorwolframsäure nicht gefällte Menge Histidin zu entfernen. Das Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff behandelt, mit Barythydrat neutralisiert, filtriert, eingedampft, wobei ein Sirup resultierte, welcher sich bald in sternförmige Drusen verwandelte. Ein Teil der Krystalle wurde in Wasser gelöst: die etwa 5%ige Lösung zeigte $\alpha_{546} = -0,01^{\circ}$ ($l = 1$ dm). Die wässrige Lösung des anderen Teiles der Substanz wurde mit einer titrierten Salzsäure deutlich sauer (Kongopapier) gemacht: für die etwa 10%ige Lösung war $\alpha_{546} = -0,005^{\circ}$ ($l = 1$ dm). Das Vorhandensein eines optisch aktiven Alanins unter den Spaltungsprodukten des Carnosins war somit ausgeschlossen.

Nachdem die Lösung der Substanz mit einer titrierten Natronlauge versetzt war, deren Menge der zugesetzten Salzsäure genau entsprach, wurde die α -Naphthylisocyanatverbindung nach C. Neubergs und A. Manasses¹⁾ Verfahren dargestellt. Der nach dem Ansäuern mit Salzsäure entstandene schneeweiße Niederschlag wurde abfiltriert, ausgewaschen und

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 38, S. 2363.

getrocknet; er wog 2¹/₂ g. Die Verbindung wurde aus heißem, etwa 90%igem Alkohol umkrystallisiert, worin dieselbe ziemlich schwer löslich war, und analysiert.

XV. 0,0961 g der bei 115—120° getrockneten Substanz gaben mit Kupferoxyd verbrannt 0,0474 g H₂O und 0,2300 g CO₂.

XVI. 0,1543 g derselben Substanz lieferten 14,45 ccm N bei 14,5° und 760 mm Bar.

Gefunden:		Berechnet
XV.	XVI.	für C ₁₄ H ₁₄ N ₂ O ₃ :
C = 65,3%	—	65,1%
H = 5,5%	—	5,5%
N — —	10,9%	10,9%
O = — —	—	18,5%

Somit war die analysierte Substanz ein Derivat von α -Naphthylisocyanat und einem Körper C₃H₇NO₂. Da die Substanz im Thieleschen Apparate bei 230—232° (korr.) unter starkem Zersetzen schmolz, während die α -Naphthylisocyanatverbindung des dl-Alanins nach C. Neuberg und A. Manasse¹⁾ bei 198° schmilzt, so konnte die aus den Spaltungsprodukten des Carnosins isolierte Aminosäure kein α -Alanin sein.

Zum Vergleich wurde die α -Naphthylmethylhydantoinsäure aus dem von Kahlbaum bezogenen α -Naphthylisocyanat und dem in hiesigem Laboratorium aus Aldehyd und Ammoniumcyanid gewonnenen reinen dl-Alanin dargestellt. Die Ausbeute betrug 88% der theoretischen. Die aus heißem Alkohol zweimal umkrystallisierte Substanz wird im Thieleschen Apparate bei 180—180,5° (korr.) halbflüssig und schäumt dabei stark, bleibt aber halbgeschmolzen und trüb und haftet an den Wänden der Kapillare, um sich erst bei 196—200° (korr.) in eine braungelbe durchsichtige Flüssigkeit zu verwandeln, die nach dem unteren Ende der Kapillare zusammenfließt. Die aus einem anderen Präparate von dl-Alanin dargestellte Verbindung schäumte bei 186—189° (korr.) und schmolz vollständig bei 197—199° (korr.). Wird die aus dem Hydrolyseprodukte des Carnosins dargestellte α -Naphthylisocyanatverbindung in dem bis auf etwa 190° vorgewärmten Thieleschen Apparate langsam weiter erwärmt, so verwandelt sich die Substanz bei

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 38, S. 2363.

230—232° (korr.) unscharf und ohne zu schäumen in eine zähe dunkle rotbraune Flüssigkeit; wird aber die Substanz in den auf 210° vorgewärmten Apparat gebracht, so schäumt dieselbe in kurzer Zeit, dann erstarrt sie und bildet bei weiterem Erwärmen bei etwa 232° eine zähe braune Flüssigkeit.

In der Vermutung, daß die sich bei der Spaltung des Carnosins bildende unbekannte Substanz β -Alanin sein könne, habe ich aus dem aus β -Jodpropionsäure gewonnenen β -Alanin die entsprechende α -Naphthylureidosäure dargestellt. Die Substanz wurde aus heißem Alkohol umkrystallisiert.

XVII. 0.2083 g der bei 110° getrockneten Substanz lieferten beim Verbrennen mit Kupferoxyd 20,45 ccm N bei 13,5° und 743 mm Bar.

Gefunden:	Berechnet
XVII.	für $C_{14}H_{14}N_2O_3$:
N = 11.2%	10,9%.

Beim Erwärmen im Thieleschen Apparate zeigte die Substanz dasselbe Verhalten wie die aus dem Spaltungsprodukte des Carnosins dargestellte α -Naphthylisocyanatverbindung, d. h. sie schmolz bei 231—233° (korr.) unscharf und unter starker Zersetzung, indem sie eine zähe, dunkle rotbraune Flüssigkeit bildete; beim Eintauchen in den auf etwa 210° vorgewärmten Apparat schäumte die Substanz, indem sie halbflüssig wurde, dann erstarrte sie wiederum, um sich bei 232° (korr.) in eine zähe dunkle rotbraune Flüssigkeit unscharf zu verwandeln. Eine Mischprobe der α -Naphthylisocyanatverbindungen von β -Alanin und unbekannter Substanz schmolz ohne zu schäumen bei 231° (korr.), während eine Mischung der α -Naphthylisocyanatverbindungen von **dl**-Alanin und unbekannter Substanz bei 177° (korr.) schäumte und bei 192,5° (korr.) vollständig flüssig wurde.

In ihrem äußerlichen Aussehen ist die α -Naphthylisocyanatverbindung von dem aus Carnosin erhaltenen Körper der entsprechenden Verbindung von β -Alanin ganz ähnlich und von der **dl**- α -Alaninverbindung verschieden. Beim Krystallisieren aus einer erkaltenden Lösung in etwa 94%igem Alkohol scheiden sich die beiden ersten Verbindungen als schneeweiße, glänzende sehr kleine Täfelchen, während die **dl**-Alaninver-

bindung ein schneeweißes, mattes, grobes, scheinbar amorphes Pulver bildet, welches aus mikroskopischen, sehr dünnen und kurzen Nadeln besteht. Beim Umkrystallisieren aus erkaltendem 40%igem Alkohol bleibt das Aussehen der beiden ersten Verbindungen unverändert, während sich die **dl**-Alaninverbindung jetzt in verlängerten makroskopisch sichtbaren Täfelchen ausscheidet.

Die krystallographische Untersuchung wurde sowohl mit den aus verdünntem Alkohol auskrystallisierten Naphthylisocyanatverbindungen, wie auch mit den auf dem Objektträger durch das Zusammenfließen eines Tropfens der wässerigen Lösung von Ammoniumsalzen dieser Verbindungen mit einem Tropfen verdünnter Essigsäure ausgeschiedenen Kryställchen ausgeführt. Die genannten Verbindungen schieden sich als rhomboidale oder 6seitige verlängerte oder fast gleichseitige Tafeln aus. Die aus dem hydrolysierten Carnosin und die aus dem β -Alanin dargestellten Verbindungen bilden größtenteils 4seitige regelmäßig ausgebildete Tafeln; durch die Abrundung von stumpfen Winkeln kann bisweilen auch Wetzsteinform entstehen. Die stumpfen Linearwinkel der 4seitigen Tafeln betragen im Mittel $107\frac{1}{2}^\circ$ für die erste und $108\frac{1}{2}^\circ$ für die zweite Verbindung; bei 6seitigen Tafeln wurden außerdem die Winkel $128\frac{1}{2}^\circ$ resp. 127° beobachtet. Die **dl**-Alaninverbindung krystallisiert vorzugsweise in 6seitigen verlängerten und meistens unregelmäßig ausgebildeten Tafeln, deren Linearwinkel 102° resp. 128° betragen. Die Auslöschungsrichtung ist in den 4seitigen Tafeln aller 3 Verbindungen diagonal und der längeren Kante der 6seitigen Tafeln parallel. Diese Kante, wie auch die kürzere Diagonale der 4seitigen Tafeln fallen mit der Axe der größeren Elastizität zusammen. Im konvergenten Lichte waren keine Interferenzfiguren zu erkennen. Die aus den Spaltungsprodukten des Carnosins gewonnene Verbindung ist somit mit der aus β -Alanin dargestellten krystallographisch identisch und auch der Unterschied zwischen diesen Verbindungen und dem **dl**-Alaninderivate ist in Anbetracht der schlechten Ausbildung der Kanten dieses letzteren nicht so groß, daß die Isomorphie ausgeschlossen werden soll.

Um weitere Anhaltspunkte außer dem Unterschied der Schmelztemperaturen zur Identifizierung des Spaltungsproduktes des Carnosins mit β -Alanin zu finden, habe ich einige Salze der α -Naphthylisocyanatverbindungen nach dem Verfahren von C. Neuberg und E. Rosenberg¹⁾ dargestellt. Leider erwiesen sich aber die Naphthylisocyanatverbindungen von **dl**- und von β -Alanin auch in dieser Hinsicht als täuschend ähnlich. Etwa 1%ige wässrige Lösungen der Ammoniumsalze lieferten gallertige Niederschläge mit Kupferacetat, Zinksulfat, Bleizucker; mit Baryum- und Calciumchlorid entstanden nach einiger Zeit krystallinische, in kochendem Wasser lösliche Niederschläge. Ein Unterschied konnte nur zwischen Silbersalzen beobachtet werden, welche als gallertige Niederschläge beim Versetzen der etwa 1%igen Lösung von Ammoniumsalzen der entsprechenden Naphthylisocyanatverbindungen mit Silbernitrat entstanden. Der Niederschlag des Silbersalzes von **dl**-Alaninverbindung löste sich leicht beim Kochen der mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnten Flüssigkeit auf; nach dem Erkalten schied sich ein gallertiger Niederschlag aus, welcher unter dem Mikroskop ganz unregelmäßig abgebrochene Häutchen zeigte, worin keine Doppelbrechung zu bemerken war. Die Niederschläge des Silbersalzes der aus β -Alanin und aus dem Hydrolyseprodukte des Carnosins dargestellten Naphthylisocyanatverbindung lösten sich beim Kochen der mit 3 Volumina Wasser verdünnten Flüssigkeiten nicht vollständig auf; nach dem Erkalten der heiß filtrierten Lösungen schieden sich gallertige Niederschläge aus, welche unter dem Mikroskop aus kleinen Drusen von äußerst zarten Nadeln und Trichiten bestanden, welche im parallelen Lichte zwischen gekreuzten Nicols ein dunkles Kreuz zeigten, dessen Arme den Hauptschnitten der Nicols parallel waren, d. h. die Auslöschungsrichtung fiel mit der Axe der Nadeln zusammen. Daß hier kein zufälliger Unterschied war, läßt sich dadurch beweisen, daß auch die aus einem anderen Präparate von **dl**-Alanin dargestellte Naphthylisocyanatverbindung genau dasselbe Verhalten ihres Silbersalzes wie das erste Präparat zeigte.

¹⁾ Biochem. Zeitschrift. Bd. 5. S. 459.

Ein endgültiger Beweis der Identität des Hydrolyseproduktes von Carnosin mit β -Alanin wurde endlich in der verschiedenen Löslichkeit der Derivate von dl- und von β -Alanin gefunden. Jene Verbindung ist nämlich in kochendem starken und 60%igem Alkohol augenfällig leichter löslich als diese und die aus dem hydrolysierten Carnosin erhaltene; die Löslichkeitsbestimmung zeigte, daß die Löslichkeit von Spaltungsprodukten des Carnosins in kaltem Alkohol dieselbe wie die des β -Alaninderivates und von der des α -Alaninderivates verschieden ist. Als Lösungsmittel wurde Äthylalkohol $d_4^{15} = 0,8107$ genommen, womit die Verbindungen in dem Ostwaldschen Thermostaten 24 Stunden bei 24,9–25,1° rotiert wurden.

XVIII. 39,49 g der Lösung von dl-Alaninderivat hinterließen nach dem Verdampfen im Vakuumexsikkator 0,4223 g Rückstand.

XIX. 68,57 g der Lösung des Derivates von synthetischem β -Alanin lieferten 0,1694 g Rückstand.

XX. 42,48 g der Lösung von der aus Carnosin erhaltenen β -Alaninverbindung gaben 0,1033 g Rückstand.

	XVIII	XIX	XX
100 g Alkohol lösen	1,081 g	0,248 g	0,244 g Verbindung
1 > Verbindung ist in	92,5 >	404 >	410 > Alkohol löslich.

In der oben mitgeteilten Untersuchung habe ich nachgewiesen, daß die sich bei der Barytspaltung von Carnosin bildende Substanz $C_3H_7NO_2$ β -Alanin ist.¹⁾ Das Carnosin stellt den ersten bekannt gewordenen Fall eines im Organismus vorkommenden Derivates einer β -Aminosäure²⁾ vor. Damit ist

¹⁾ Bei der oben beschriebenen Untersuchung blieb β -Alanin im Phosphorwolframsäurefiltrat, da die Konzentration der Alaninlösung bei der Fällung mit dieser Säure gering (etwa 0,9%) war und die Fällung vorsichtig ausgeführt wurde. Eine 3,3%ige Lösung von reinem synthetisch dargestellten β -Alanin gibt mit Phosphorwolframsäure einen Niederschlag, wird aber von Quecksilberoxydsulfat und Quecksilberchlorid nicht gefällt; die ungefähr 1,5%ige Lösung von β -Alanin liefert mit Phosphorwolframsäure keinen Niederschlag.

²⁾ β -Alanin wurde von Engeland (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genussm., Bd. 16, S. 658) aus dem Fleischextrakt isoliert, wo auch Histidin aufgefunden wurde. Da aber der Verfasser die Lösungen mit überschüssiger Salzsäure abgedampft hat, und da das Carnosin, wie ich gefunden habe, sich auch beim Kochen mit Schwefelsäure spaltet, bleibt

die interessante Frage nach dem Vorkommen von β -Aminosäuren im Eiweißmolekül eng verknüpft, bei dessen Spaltung nur α -Monoaminosäuren bis jetzt isoliert worden sind. Die Tatsache, daß sich ein β -Alaninrest im Carnosinmolekül befindet, kann noch nicht als Beweis dafür herangezogen werden, daß das Carnosin im Organismus aus einem in Eiweißstoffen vorhandenen β -Alaninreste direkt aufgebaut wird. Kann doch Carnosin auch als Abbauprodukt zusammengesetzter Gruppen des Eiweißmoleküls entstehen, welche z. B. durch den Verlust der Aminogruppe und die schrittweise Abspaltung der Kohlenstoffatome in einen β -Alaninrest übergehen können. Asparagylhistidin $C_6H_7N_2O_2 \cdot NH \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$ resp. Histidyllysin $C_5H_8N_3 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$ können z. B. auf solche Weise in β -Alanylhistidin resp. in Histidyl- β -Alanin übergehen; mit einem von diesen Dipeptiden soll Carnosin identisch sein. Solche zusammengesetzte Gruppen, nachdem sie aus dem Eiweißmolekül abgespalten sind, können dann auf die angegebene Weise zur Bildung von Carnosin führen, oder dieser Abbau kann schon vor der Aufspaltung des Eiweißmoleküls (z. B. im Muskelgewebe) statthaben, worin die Carnosin-Gruppe in diesem Falle präformiert enthalten sein soll. Es ist auch die Vermutung gerechtfertigt, daß die aus dem Eiweißmolekül abgespaltenen Asparaginsäure, Lysin usw. im Organismus (vielleicht speziell im Muskelgewebe) zum β -Alanin abgebaut werden, welches dann durch die Synthese mit dem ebenfalls aus dem Eiweißmolekül abgespaltenen Histidin Carnosin liefert.

Einige Versuche, die zur Aufklärung der Entstehungsart von Carnosin im Organismus beitragen können, wie auch die Versuche zur Synthese des Carnosins, sind in hiesigem Laboratorium schon im Gange.

die Frage offen, ob Histidin und β -Alanin im Fleischextrakt vorgebildet sind oder erst bei der Einwirkung von Salzsäure auf Carnosin entstehen.