

HOPPE-SEYLER'S ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

E. ABDERHALDEN-Halle, SVANTE ARRHENIUS-Stockholm, G. v. BUNGE-Basel, A. ELLINGER-Frankfurt a. M., G. EMBDEN-Frankfurt a. M., H. EULER-Stockholm, †EMIL FISCHER-Berlin, H. FISCHER-Wien, R. GOTTLIEB-Heidelberg, W. v. GULEWITSCH-Moskau, O. HAMMARSTEN-Upsala, S. G. HEDIN-Upsala, V. HENRIQUES-Kopenhagen, G. HOPPE-SEYLER, Kiel, O. KESTNER-Hamburg, F. KNOOP-Freiburg i. Br., L. KREHL-Heidelberg, Wm. KÜSTER-Stuttgart, CARL TH. MÖRNER-Upsala, F. v. MÜLLER-München, J. P. PAWLOW-St. Petersburg, C. A. PEKELHARING-Utrecht, F. PREGL-Graz, W. E. RINGER-Utrecht, E. SALKOWSKI-Berlin, M. SIEGFRIED-Leipzig, S. P. L. SÖRENSEN-Kopenhagen, H. STEUDEL-Berlin, H. THIERFELDER-Tübingen, H. WIELAND-München, R. WILLSTÄTTER-München, A. WINDAUS-Göttingen, E. WINTERSTEIN-Zürich,
R. v. ZEYNER-Prag

herausgegeben von

A. KOSSEL,

Professor der Physiologie in Heidelberg.

Einhundertundsiebenter Band:

Erstes Heft.

(Ausgegeben am 1. August 1919.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

BERLIN und LEIPZIG 1919

VEREINIGUNG WISSENSCHAFTLICHER VERLEGER

WALTER DE GRUYTER & Co.

vormals G. J. Göschen'sche Verlagsbuchhandlung — J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung — Georg Reimer — Karl J. Trübner — Veit & Comp.

EINHUNDERTUNDSIEBENTER BAND ERSTES HEFT.

Inhalt.	Seite
Abderhalden, Emil und Hans Spinner. Einwirkung von Pyrrolidonylchlorid auf Leucinäthylester	1
Christiansen, C. und Johanne Christiansen. Über die Balloelektrizität amphoterer Stoffe. Mit 6 Abbildungen im Text . .	7
Stepp, Wilhelm. Beiträge zur Kenntnis der reduzierenden Substanzen des Blutes. Vergleichende Bestimmungen des „Blutzuckers“ durch Reduktion, Polarisation und Gärung bei einigen Fällen von Diabetes und Nephritis	29
Kossel, A. und S. Edlbacher. Über die Methylierung von Dipeptiden	45
Edlbacher, S. Über die freien Amidogruppen der Eiweißkörper .	52

Für die nächsten Hefte sind Arbeiten eingegangen von:

E. Eckstein und E. Grafe, C. Th. Mörner, R. Fritsch, E. Winterstein, H. v. Euler und O. Svanberg, M. Schenck, E. Fischer (2), A. Joel, H. v. Euler und I. Laurin, G. Lockemann, P. Waentig und Ed. Gierisch, S. J. Thannhauser, P. Waentig.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie erscheint in Bänden von 6 Heften. Preis des Bandes 25 Mark.

Kurze Notizen oder Bemerkungen zu anderen Arbeiten werden in der Regel am Schluß des Heftes und außerhalb der Reihenfolge des Eingangsdatums mitgeteilt. — Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Arbeiten, sowie Referate über bereits publizierte Arbeiten werden nicht aufgenommen.

Das Honorar beträgt für den Druckbogen 40 Mark. Von jeder Arbeit werden dem Verfasser 75 Separat-Abdrücke gratis geliefert.

In bezug auf die Rechtschreibung der Fachausdrücke sind bis auf weiteres die Publikationen der Deutschen chemischen Gesellschaft maßgebend. In zweifelhaften Fällen wird der etymologische und internationale Standpunkt vor dem phonetischen bevorzugt.

Einwirkung von Pyrrolidonylchlorid auf Leucinäthylester.

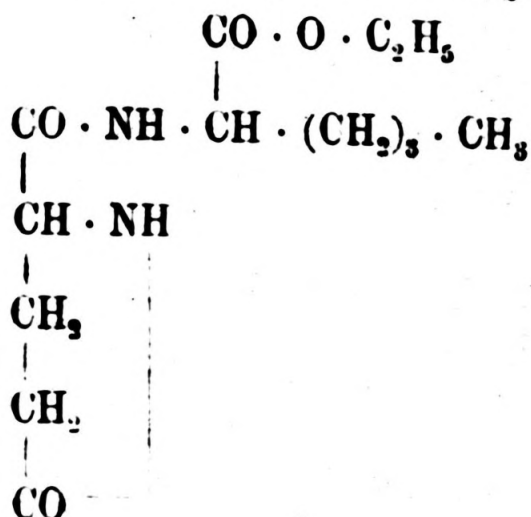
Von

Emil Abderhalden und Hans Spinner.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Halle a. S.)
(Der Redaktion zugegangen am 1. Juni 1919.)

Es ist seinerzeit von dem einen von uns (Abderhalden) und Wurm¹⁾ bei der Einwirkung von dl-Pyrrolidonylchlorid auf dl-Leucinäthylester eine Verbindung vom Schmelzpunkt 115 bis 117° erhalten worden. Sie wurde als Pyrrolidonyl-leucinester angesprochen. Wir haben die betreffenden Versuche wiederholt. Es stellte sich dabei heraus, daß das erwähnte Produkt ein Gemisch darstellte.

Der rein dargestellte dl-Pyrrolidonyl-dl-leucinester:

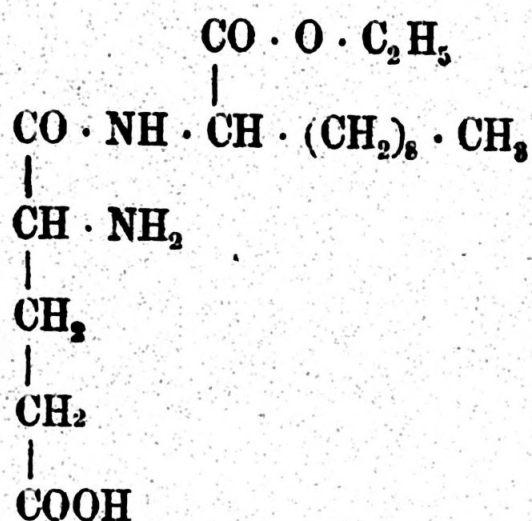


schmilzt bei 147–148°, ist in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich und kristallisiert in regelmäßigen quadratischen oder rechteckigen Blättchen.

Neben Pyrrolidonyl-leucinester konnte in einem Fall eine in Nadeln kristallisierende Substanz vom F. P. 120–122° iso-

¹⁾ Fortgesetzte Studien über die Pyrrolidoncarbonsäure und aus ihr aufgebaute Polypeptide. Diese Zeitschr. Bd. 82, S. 160 (1912).

liert werden, die in Wasser spielend leicht löslich ist, eine freie, titrierbare Carboxylgruppe enthält, und deren Analyse für Glutaminyl-leucinäthylester genau stimmende Zahlen ergab:



In einem anderen Versuch konnte neben Pyrrolidonyl-leucinester eine andere Substanz isoliert werden, welche auch in Nadeln kristallisiert und bei 120—121° schmilzt, aber nicht identisch ist mit dem obigen Glutaminyl-leucinester; eine Mischprobe der beiden Substanzen schmilzt von 92—104°, zeigt also starke Schmelzpunktsdepression. Sie ist ungefähr gleich löslich wie Pyrrolidonyl-leucinäthylester und deshalb schwer von diesem zu trennen. Eine freie Carboxylgruppe ist durch Titration nicht nachzuweisen. Die Analyse ergab für Pyrrolidonyl-leucinester stimmende Werte. Es handelt sich offenbar entweder um eine isomere Verbindung des oben erwähnten bei 147—148° schmelzenden Pyrrolidonyl-leucinesters, oder aber es unterscheiden sich die beiden Verbindungen in ihrer optischen Einheitlichkeit. Leider steht kein Material mehr zur Verfügung, um diese Frage zu entscheiden.

Einwirkung von dl-Pyrrolidonylchlorid auf dl-Leucinäthylester.

Erster Versuch: 19,6 g dl-Leucinäthylester werden in der 5fachen Menge trockenen Chloroforms gelöst, mit Eis gekühlt und in die Lösung portionenweise 9,1 g dl-Pyrrolidonylchlorid unter gutem Schütteln und zeitweisem Kühlen im Laufe von $\frac{3}{4}$ Stunden eingetragen. Das Chlorid löst sich

leicht auf. Die orangegefärbte Lösung wird 48 Stunden stehen gelassen. Man destilliert das Chloroform im Vakuum bei Zimmertemperatur ab, nimmt den rückständigen braunen Sirup in 250 ccm absolutem Alkohol auf und bestimmt in einem aliquoten Teil das Chlor titrimetrisch. Der Rest der Lösung wird mit einer Auflösung der berechneten Menge Natrium in absolutem Alkohol versetzt und das ausgeschiedene Kochsalz abfiltriert. Das Filtrat verdunstet man im Vakuum bei 35 bis 40° Wasserbadtemperatur zur Trockne, rührt den festen, gelbbraunen Rückstand mit Petroläther an und nutsch ab. Der Rückstand wird mit 75 ccm Essigester und etwas Tierkohle zum Sieden erhitzt und die Lösung vom Kochsalz abfiltriert. Beim Verdunsten des Filtrates auf dem Ofen bei 40° auf ca. $\frac{1}{3}$ seines Volumens scheiden sich farblose mikroskopische Nadelchen ab. Man nutsch diese nach dem Erkalten ab (Filtrat I, s. u.) und kristallisiert sie aus heißem Essigester um (es geht dabei nicht mehr alles in Lösung; vom Rückstand wird abfiltriert). Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Essigester erhält man schöne Nadelbüschel vom F. P. 120—122°.

Zur Analyse wurde das Produkt im Vakuum-Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet:

0,1445 g Substanz ergaben 0,2868 g CO₂, 0,1078 g H₂O (Wetzel).

Glutaminyl-leucinäthylester (C₁₃H₂₄O₅N₂ = 288,2)

ber.: 54,13% C, 8,39% H.

gef.: 54,13% C, 8,35% H.

0,03186 g Substanz wurden in 10 ccm destilliertem Wasser, das vorher durch Zufügen von einigen Tropfen $\frac{1}{100}$ n-Natronlauge genau neutral gestellt worden war (Phenolphthalein als Indikator), gelöst und mit $\frac{1}{100}$ n-Natronlauge titriert. Gebraucht wurden 9,9 ccm (der Umschlag war nicht ganz scharf, ganz schwache Rötung trat schon von 9,2 ccm an auf).

Filtrat I: wird noch weiter auf dem Ofen eingedunstet. Es hinterbleibt ein orangeroter Sirup, vermischt mit quadratischen Blättchen. Man löst den Sirup in Äther und nutsch die hinterbleibenden weißen glänzenden Blättchen ab. Sie

sind schwer löslich in Essigester und Alkohol, leicht in heißem Wasser und scheiden sich beim Erkalten daraus wieder ab. Man kristallisiert die Blättchen aus heißem Wasser um und erhält prächtige große quadratische oder rechteckige Blättchen vom F. P. 147—148°.

0,1246 g Substanz: 0,2658 g CO₂, 0,0932 g H₂O (Wetzel).

Pyrrolidonyl-leucinäthylester (C₁₃H₂₂O₄N₂ = 270,17)

ber.: 57,74% C, 8,20% H.

gef.: 58,18% C, 8,37% H.

0,03790 g Substanz wurden in 10 ccm heißem Wasser, das vorher durch Natronlauge genau neutral gestellt worden war (Phenolphthalein), gelöst und nach dem Erkalten mit $\frac{1}{100}$ n-Natronlauge titriert. Der erste Tropfen $\frac{1}{100}$ n-Natronlauge bewirkt schon Rötung: Es ist keine freie Carbonylgruppe vorhanden.

Zweiter Versuch: 40 g dl-Leucinäthylester werden in 200 ccm trockenem Chloroform gelöst. Unter Kühlung durch zeitweiliges Einstellen in Eis und Schütteln werden im Laufe von 1½ Stunden 18,5 g dl-Pyrrolidonylchlorid eingetragen. Die klare orangegefärbte Lösung wird 13½ Stunden sich selbst überlassen und dann im Vakuum das Chloroform abdestilliert. Der braune ölige Rückstand wird mit 125 ccm Wasser versetzt, wobei der größte Teil in Lösung geht. Man trennt im Scheidetrichter und schüttelt das Öl nochmals mit 125 ccm Wasser aus. (Bei Aufarbeitung des farblosen wässerigen Auszuges konnten nur Leucinäthylester, freies Leucin und Leucinanhydrid isoliert werden.) Das braune Öl wird nach einigem Stehen auf dem Ofen bei 40° mit Toluol und etwas Tierkohle aufgeköcht und die Lösung filtriert; beim Erkalten und teilweisen Verdunsten des Lösungsmittels scheidet sich eine Substanz ab, die nach dem Abnutschen von der dunkelbraunen Flüssigkeit fast weiß auf der Nutsche zurückbleibt. Man trocknet und kristallisiert nochmals aus Toluol um. Da ein Gemisch vorzuliegen scheint, wird noch 2 mal aus Essigester umkristallisiert. Durch fraktionierte Kristallisation erhält man zunächst die schönen quadratischen Blättchen des Pyrrolidonyl-leucinesters (s. erster Versuch), die

nach nochmaligem Umkristallisieren aus der 12fachen Menge heißen Wassers bei 146—147° schmelzen.

Als zweite Fraktion erhält man in der Hauptsache weiße Nadeln, die zunächst noch mit den quadratischen Blättchen des Pyrrolidonyl-leucinesters verunreinigt sind. Diese werden unter der Lupe herausgesucht. Bei mehrfachem Umkristallisieren aus heißem Wasser gewinnt man schöne einheitliche Nadeln, die bei 120—121° schmelzen, aber nicht identisch sind mit Glutaminyl-leucinäthylester (s. erster Versuch), wie Titration und Bestimmung des Schmelzpunktes einer Mischprobe zeigen. Eine Mischprobe dieser Substanz mit Glutaminyl-leucinäthylester (F. P. 120—122°) schmilzt von 92—104°, zeigt also sehr starke Schmelzpunktsdepression.

Zur Analyse wurde das Produkt im Vakuum-Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet:

0,1550 g Substanz gaben 0,3267 g CO₂, 0,1150 g H₂O = 57,48% C,
8,28% H. (Wetzel.)

Berechnet für C₁₃H₂₂O₄N₂ — Pyrrolidonyl-leucinester (Mol. 270,19).
57,74% C, 8,20% H.

Anhangsweise sei der **l-Leucinmethylester** beschrieben, den wir verschiedentlich in Händen hatten und genauer untersucht haben.

Zur Darstellung des bisher unseres Wissens noch nicht beschriebenen l-Leucinmethylesters wurden 30 g l-Leucin ($[\alpha]_D = +15,83^\circ$) in 150 ccm Methylalkohol suspendiert und 1 Stunde lang trockenes Chlorwasserstoffgas durchgeleitet, dann die Lösung $\frac{1}{2}$ Stunde zum Sieden erhitzt und hierauf der Methylalkohol im Vakuum abdestilliert. Der feste Rückstand wird in 50 ccm Wasser gelöst, die Lösung mit Eis gekühlt, mit 200 ccm Äther überschichtet und vorsichtig mit 25 ccm 33%iger Natronlauge alkalisch gemacht. Es wird 3mal ausgeäthert, der Auszug mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther verdampft. Der Rückstand wird im Vakuum destilliert und geht bei 12 mm Druck bei 79—79,5° (Wasserbadtemperatur 85—86°) über.

Bestimmung des spezifischen Gewichtes von l-Leucinmethylester:

Gewicht des Esters = 4,7725 g,

Wasserwert des Pyknometers = 5,0063 g.

$D^{17^{\circ}} = 0,9533.$

Bestimmung der optischen Drehung:

$\alpha_D^{17^{\circ}} = + 3,15^{\circ}$ (im 2 cm-Rohr).

$[\alpha]_D^{17^{\circ}} = + 16,52^{\circ}.$