

Die Chemie der Proteinkörper des Weizenkornes.

III. Hydrolyse der Weizen-Proteine.¹⁾

Von

Thomas B. Osborne und S. H. Clapp.

Wie in der vorigen Abhandlung, Teil II²⁾, auseinander gesetzt wurde, sind Gliadin, Glutenin und Leukosin die einzigen Proteine des Weizenkornes, welche in genügender Menge zur quantitativen Bestimmung ihrer Zersetzungsprodukte gewonnen werden konnten.

Die Bestimmungen der Monoaminosäuren geschahen grösstenteils nach dem Verfahren von Fischer³⁾ und die der Basen nach Kossel und dessen Mitarbeitern.⁴⁾ Der allgemeine Plan dieser Analysen war der von Abderhalden.⁵⁾

Die Resultate dieser Analysen erscheinen auf Tabelle I.

Tabelle I.

	Gliadin %	Glutenin %	Leukosin %
Glykokoll	—	0,89	0,94
Alanin	2,00	4,65	4,45
Aminovaleriansäure	0,21	0,24	0,18
Leuzin	5,61	5,95	11,34
α -Prolin	7,06	4,23	3,18
Phenylalanin	2,35	1,97	3,83
Asparaginsäure	0,58	0,91	3,35
Glutaminsäure	37,33	23,42	6,73
Serin	0,13	0,74	—
Tyrosin	1,20	4,25	3,34
Cystin	0,45	0,02	—
Oxyprolin	—	—	—
Lysin	0,00	1,92	2,75
Histidin	0,61	1,76	2,83
Arginin	3,16	4,72	5,94
Ammoniak	5,11	4,01	1,41
Tryptophan	zugegen	zugegen	zugegen
Total	65,81	59,66	50,32

¹⁾ Nach dem American Journ. of Physiology **17**, No. III; bearbeitet und übersetzt von V. Griessmayer.

²⁾ Diese Zeitschrift **46**, 749.

³⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie **33**, 151.

⁴⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie **31** und **38**.

⁵⁾ Zeitschrift f. physiol. Chemie **37**, 484.

Diese Analysen zeigen, dass sich diese drei Proteine durch so grosse Differenzen von einander unterscheiden, dass gar kein Zweifel darüber bestehen kann, dass. entschiedene Unterschiede in der Struktur zwischen denselben vorhanden sind. So unterscheidet sich das Gliadin vom Glutenin und Leukosin dadurch, dass es weder Glykokoll noch Lysin, wohl aber mehr Prolin und Glutaminsäure liefert. Gliadin und Glutenin hingegen liefern viel mehr Glutaminsäure und Ammoniak als Leukosin und weniger Leuzin. Mit Rücksicht auf diesen Gehalt an Aminosäuren ist das Leukosin den tierischen Proteinen viel ähnlicher wie den bisher untersuchten Samenproteinen und im Zusammenhange damit ist es interessant zu notieren, dass das Leukosin hauptsächlich, wenn auch nicht ausschliesslich, in dem Embryo des Weizensamens vorkommt und dass es wahrscheinlich eines seiner Gewebeproteine ist, im Gegensatz zu den Reserveproteinen des Endosperms, wovon Gliadin und Glutenin die Hauptmasse ausmachen.

Glykokoll erscheint nicht unter den Produkten der Hydrolyse des Gliadins, denn trotz der sorgfältigsten Untersuchung wurde keines gefunden.

Der Gehalt an Prolin, welchen das Gliadin lieferte, ist grösser als wie ein solcher bisher bei irgend einem anderen Protein gefunden wurde und nur die Albuminoide Spongin und Gelatin kommen ihm am nächsten. Wenn auch der aus dem Glutenin stammende Prolingehalt hoch ist, so sind doch die Weizenproteine im Ganzen besonders reich an dieser besonderen Aminosäure.

Glutaminsäure ist das Hauptprodukt aus den Endospermproteinen dieses Samens, wobei das Gliadin mehr von dieser Säure liefert wie irgend ein bisher untersuchtes Protein und, so weit bekannt, bei weitem mehr wie der Durchschnitt unserer Nahrungsproteine. Der durchschnittliche Gehalt an Glutaminsäure aus der gesamten Proteinsubstanz dieses Samens beträgt mehr wie 30 $\frac{0}{100}$. Die Ausbeute an Ammoniak ist auch relativ hoch, mehr wie 4,5 $\frac{0}{100}$ vom Gesamtprotein, während der Gesamtgehalt an Hexonbasen verhältnissmässig klein ist.

Hydrolyse des Gliadins.

1100 g Gliadin, gleich 998,6 g bei 110° getrocknetem, wurden mit einer Mischung von 1000 cc konzentrierter Salzsäure und 1000 cc Wasser

auf dem Wasserbade mehrere Stunden lang erhitzt, bis das Gliadin gelöst war, und das Schäumen aufgehört hatte. Die Lösung wurde dann in einem Ölbade, das eine Temperatur von 115° hatte, zehn Stunden lang erhitzt, mit Eis abgekühlt und mit gasförmiger Salzsäure gesättigt. Nachdem die Masse zwei Tage lang auf Eis gestanden hatte, wurde das abgeschiedene Glutaminsäurehydrochlorid abfiltriert, mit in Eis gekühlter alkoholischer Salzsäure ausgewaschen, in Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle behandelt und durch Sieden mit einem Überschuss von Barytwasser vom Ammoniak befreit. Nachdem man den Baryt mit der äquivalenten Menge Schwefelsäure entfernt hatte, wurde die Glutaminsäure als Hydrochlorid abgeschieden und diese wog, umkristallisiert und gänzlich getrocknet, $374,3\text{ g} = 300\text{ g}$ freier Glutaminsäure. Es wurde in die freie Säure umgewandelt, die bei $202\text{--}203^{\circ}$ schmolz.

Kohlenstoff und Wasserstoff. $0,6218\text{ g}$ Substanz gaben $0,9276\text{ g CO}_2$ und $0,3494\text{ g H}_2\text{O}$.

Stickstoff. $0,4574\text{ g}$ Substanz gaben $\text{NH}_3 = 4,3\text{ cc HCl}$ ($1\text{ cc HCl} = 0,01\text{ g N}$).

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4\text{N} = \text{C } 40,78; \text{H } 6,18; \text{N } 9,54$.

Gefunden « « = $\text{C } 40,69; \text{H } 6,24; \text{N } 9,40$.

Die Mutterlauge von der umkristallisierten Glutaminsäure wurde zu dem Filtrate von der ersten Abtrennung der Glutaminsäure gesetzt und die ganze Lösung unter stark reduziertem Drucke zu einem Sirup konzentriert. Drei Liter Alkohol, die vorher bei niedriger Temperatur mit Salzsäure gesättigt waren, wurden zum Sirup hinzugesetzt und trockenes Salzsäuregas in die Lösung eingeleitet, bis sie gesättigt war.

Die Mischung wurde wiederum wie vorher unter vermindertem Drucke konzentriert, der Sirup wieder mit drei Litern alkoholischer Salzsäure aufgenommen und nachdem er mehrere Stunden gestanden hatte, wieder zu einem Sirup konzentriert, mit alkoholischer Salzsäure aufgenommen und nach einigen Stunden auf dem Wasserbade bei 40° und unter einem Drucke von $5\text{--}10\text{ mm}$ zu einem Sirup konzentriert. Die Neutralisation, der Auszug und das Trocknen der Ester wurde nach der Methode von Emil Fischer durchgeführt.¹⁾

¹⁾ Zeitschrift f. physik. Chemie **33**, 158 (1901).

Destillation A.

Fraktion	Temp. des Bades bis zu	Dampf	Druck mm	Gewicht g
I.	93°	—	12,0	28,18
II.	100°	75—76°	12,0	47,03
III.	120°	—	0,8	64,68
IV.	160°	—	0,8	40,00
Total . .				179,89

Der undestillierte Rückstand wog 180,0 g.

Der Rückstand, der nach dem Auszuge der Ester mit Äther verblieb, wurde mit Salzsäure stark sauer gemacht, von den Natrium- und Kaliumsalzen durch wiederholte Eindampfungen mit alkoholischer Salzsäure und gründliches Ausziehen der gefällten Chloride mit letzterer befreit.

Die alkoholische Lösung der Chloride der Aminosäuren wurde zum Sirup eingedampft und die Veresterung wie in der ersten Instanz wiederholt. Nach dem Auszuge der Ester mit Äther und Trocknung derselben wurde der ganze Prozess wiederholt und die von dieser dritten Behandlung stammende ätherische Lösung der Ester mit der von der zweiten herrührenden vereinigt.

Destillation B.

Fraktion	Temp. des Bades bis zu	Druck mm	Gewicht g
I	83°	12,0	20,13
II.	100°	12,0	36,81
III.	120°	0,8	62,70
IV.	200°	0,8	33,00
Total . .			152,64

Fraktion I. Destillation A. Dies Destillat wurde sofort durch Eindampfung mit konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbade verseift, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen, die Lösung mit trockenem Salzsäuregas gesättigt und ein Kristall von Glykokollsterhydrochlorid zugesetzt. Nach längerem Stehen auf Eis schied sich nichts ab.

Die Lösung wurde dann auf dem Wasserbade mit konzentrierter Salzsäure eingedampft, letztere mit Bleioxyd und das Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt. Die Aminosäuren wurden der fraktionierten Kristallisation unterworfen.

Fraktion I, Destillat B. Dies wurde der Hauptsache nach ebenso behandelt, aber obwohl verschiedene Versuche angestellt wurden, um das Hydrochlorid des Glykokollsters zu isolieren, so wurde doch keines gefunden. Durch systematische Fraktionierung erhielt man aus den beiden Destillaten A und B von Fraktion I 6,68 g Alanin und 0,86 g Leuzin.

Das aus verdünntem Alkohol umkristallisierte Leuzin zersetzte sich bei 298°.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,1778 g Substanz, getrocknet bei 110° gaben 0,3577 g CO₂ und 0,1608 g H₂O.

Berechnet für C₆H₁₃O₂N = C 54,89; H 10,01 %.

Gefunden « « = C 54,87; H 10,04 «

Wurde das Alanin durch Auflösen in etwas heissem Wasser und allmählichen Zusatz von Alkohol umkristallisiert, so zersetzte es sich bei 290°.

Kohlenstoff und Wassertoff. 0,2404 g Substanz, getrocknet bei 110°, gaben 0,3571 g CO₂ und 0,1712 g H₂O.

Stickstoff. 0,3970 g Substanz gaben NH₃ gleich 6,2 cc HCl (1 cc HCl = 0,01 g N).

Berechnet für C₃H₇O₂N = C 40,40; H 7,93; N 15,75 %.

Gefunden « « = C 40,51; H 7,91; N 15,58 «

Fraktion II. Temperatur des Bades 100°. Druck 12 mm. Gewicht 83,84 g.

Destillat A und B. Jedes wurde dadurch verseift, dass man es 5½ Stunden mit 5 Teilen Wasser kochte.

Die Lösung wurde unter vermindertem Drucke zur Trockne verdampft, der getrocknete Rückstand mit absolutem Alkohol ausgesotten und hierbei 13,37 g in Lösung gebracht. Diese Lösung wurde mit einer ähnlichen von Fraktion III vereinigt. Die in Alkohol unlösliche Substanz gab nach systematischer fraktionierter Kristallisation:

I. 22,1 g Leuzin, das sich bei 298° zersetzte.

II. Eine Fraktion von 3,45 g, welche bei fraktionierter Kristallisation nicht weiter getrennt werden konnte und analytische Resultate lieferte, die am besten mit einer Mischung von Leuzin und Amino-valeriansäure übereinstimmten.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,2857 g Substanz, getrocknet bei 110°, gaben 0,5519 g CO₂ und 0,2577 g H₂O.

Berechnet auf gleiche Moleküle Leuzin und Aminovaleriansäure
 $= \text{C } 53,05; \text{H } 9,74 \frac{0}{100}.$

Gefunden $= \text{C } 52,68; \text{H } 10,02 \ll$

III. 2,1 g Substanz, welche die Eigenschaften und Zusammensetzung der Aminovaleriansäure hatte.

Kohlenstoff und Wasserstoff. I. 0,2115 g Substanz, getrocknet bei 110° , gaben 0,3957 g CO_2 und 0,187 g H_2O .

II. 0,4597 g Substanz, getrocknet bei 110° , gaben 0,8643 g CO_2 und 0,3956 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_3\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N} = \text{C } 51,22; \text{H } 9,48 \frac{0}{100}.$

Gefunden $\ll \begin{cases} \text{I.} & . & . & = \text{C } 51,03; \text{H } 9,82 \ll \\ & \text{II.} & . & . & = \text{C } 51,27; \text{H } 9,56 \ll \end{cases}$

Spezifische Drehung. Gelöst in 20-prozentiger Salzsäure
 $(\alpha)_{\text{D}}^{20} = + 25,79^{\circ}.$

Fischer und Dörpinghaus fanden $+ 25,9^{\circ}$ für ihr Präparat aus Horn und Schulze und Winterstein fanden $+ 28,2^{\circ}$ und $27,9$ für ihre Präparate aus Lupinenpflänzchen.

Das Chlor wurde aus der zur Bestimmung der spezifischen Drehung benutzten Lösung entfernt und die Substanz dadurch racemisiert, dass man sie mit 20 cc Wasser und 7 g kristallisiertem Baryumhydroxyd 19 Stunden lang in einem Autoklaven bei 175° erhitzte. Das Baryum wurde mit Schwefelsäure quantitativ entfernt und die α -Naphthylhydantoin-säure nach den Angaben von Neuberg und Manasse dargestellt. Diese kristallisierte in langen Nadeln und schmolz nach wiederholtem Umkristallisieren aus 40-prozentigem Alkohol konstant bei $180-181^{\circ}$.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3235 g Substanz, getrocknet bei 90° , gaben 0,7936 g CO_2 und 0,1909 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2 = \text{C } 67,07; \text{H } 6,35 \frac{0}{100}.$

Gefunden $\ll \ll = \text{C } 66,90; \text{H } 6,56 \ll$

IV. 8,6 g Alanin. Dies wurde durch Erhitzen mit einem Überschuss von Baryumhydroxyd racemisiert und nach den Angaben von Neuberg und Manasse mit α -Naphthylisocyanat gekuppelt. Die Hydantoin-säure, die in Prismen kristallisierte, schmolz bei 197° .

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3148 g Substanz, getrocknet bei 110° , gaben 0,7480 g CO_2 und 0,1560 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{N}_2 = \text{C } 65,06; \text{H } 5,48 \frac{0}{100}.$

Gefunden $\ll \ll = \text{C } 64,84; \text{H } 5,51 \ll$

Fraktion III. Temperatur des Bades bis zu 120° . Druck $0,8\text{ mm}$. Gewicht $127,38\text{ g}$. Diese Fraktion wurde $5\frac{1}{2}$ Stunden mit 8 Teilen Wasser gesotten. Die unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampfte Lösung gab 98 g Aminosäuren oder 80% der Ester. Von diesen waren $59,94\text{ g}$ löslich in Alkohol. Von dem in Alkohol unlöslichen Teil wurden durch fraktionierte Kristallisation $33,06\text{ g}$ Leuzin und $4,57\text{ g}$ Alanin erhalten.

Die alkohollösliche Substanz von Fraktion II wurde mit der von Fraktion III vereinigt. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und ungefähr eine Stunde mit einem Überschuss von Kupferhydroxyd langsam gekocht. Die filtrierte Lösung wurde zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol gesotten. Der ungelöste Teil wurde in Wasser aufgelöst, durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und die Lösung wieder unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol gekocht, in dem sich alles auflöste. Der Alkohol wurde unter vermindertem Druck weggedampft, der Rückstand in 500 cc Wasser gelöst und wieder in das Kupfersalz verwandelt. Durch Konzentration wurden $19,91\text{ g}$ von kristallinischem, racemischen Prolinkupfersalz erhalten, welches gleich ist $13,98\text{ g}$ α -Prolin. Dies wurde aus Wasser umkristallisiert und an der Luft getrocknet.

Wasser. $0,7789\text{ g}$ Substanz verloren $0,0866\text{ g H}_2\text{O}$ bei 110° .

Berechnet auf $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cu} \cdot 2\text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{O } 11,00\%$.

Gefunden « « = $\text{H}_2\text{O } 10,98\%$

Kohlenstoff und Wasserstoff. $0,6851\text{ g}$ Substanz, getrocknet bei 110° , gaben $1,0310\text{ g CO}_2$ und $0,3450\text{ g H}_2\text{O}$.

Kupfer. $0,2926\text{ g}$ Substanz lieferten $0,0799\text{ g CuO}$.

Berechnet für $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cu} = \text{C } 41,11; \text{H } 5,54; \text{Cu } 21,79\%$.

Gefunden « « = $\text{C } 41,04; \text{H } 5,59; \text{Cu } 21,81\%$

Das r-Prolin-Kupfersalz wurde mittels Schwefelwasserstoffs vom Kupfer befreit, seine Lösung zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus Alkohol umkristallisiert. Nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure schmolz das r-Prolin bei $203\text{--}205^{\circ}$.

Kohlenstoff und Wasserstoff. $0,3373\text{ g}$ Substanz gaben $0,6424\text{ g CO}_2$ und $0,2453\text{ g H}_2\text{O}$.

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2\text{N} = \text{C } 52,12; \text{H } 7,90\%$.

Gefunden « « = $\text{C } 51,94; \text{H } 8,08\%$

Die Lösung des alkohollöslichen Kupfersalzes, zur Trockne verdampft, hinterliess einen Rückstand von l-Prolin-Kupfersalz, der, bei 120° getrocknet, 71,62 g wog, was gleich ist 56,51 g von freiem l- α -Prolin.

Kupfer. 0,285 g Substanz, getrocknet bei 110°, gaben 0,076 g CuO.

Berechnet auf $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu = Cu\ 21,79\%$.

Gefunden „ „ = Cu 21,30 „

Die eine Hälfte dieses Prolinkupfersalzes wurde vom Kupfer befreit und das Prolin durch Erhitzen mit 150 cc Wasser, das 80 g kristallisiertes Baryumhydroxyd enthielt, 5 Stunden lang bei 150° racemisiert. Das Baryum wurde quantitativ mit Schwefelsäure entfernt, die Lösung konzentriert und das Prolin wieder in das Kupfersalz umgewandelt. Man erhielt so 20,1 g fast reines, racemisches α -Prolin-Kupfer.

Wasser. 0,3356 g Substanz, lufttrocken, verloren 0,0369 g H_2O bei 110°.

Kupfer. 0,2640 g Substanz gaben 0,064 g CuO.

Berechnet für $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu \cdot 2H_2O = H_2O\ 11; Cu\ 19,4\%$.

Gefunden „ „ = $H_2O\ 11; Cu\ 19,35\%$

Die Totalmenge des kristallinischen, racemischen Kupfersalzes entsprach 41,96 g r- α -Prolin.

Aus der anderen Hälfte des l-Prolin-Kupfersalzes wurde das freie Prolin regeneriert und aus Alkohol umkristallisiert. Nur ein kleiner Teil wurde in kristallinischer Form erhalten und schmolz bei 205—206°.

Von Fraktion III wurden 4,57 g Alanin, 33,06 g Leuzin und 70,47 g α -Prolin isoliert.

	Temp. des Bades	Druck mm	Gewicht g
Fraktion IV. A	160°	0,8	39,96
	B 200°	0,8	33,00
Total . .			72,96

Sie wurde mit Wasser behandelt und nach dem Verfahren von E. Fischer mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wurde durch Eindampfen sorgfältig entfernt und der zurückbleibende Phenylaminester dadurch verseift, dass man ihn in konzentrierter Salzsäure auflöste und auf dem Wasserbade eindampfte. Das Phenylaminhydrochlorid wog 29,14 g, gleich 23,87 g freiem Phenylamin. Das Hydrochlorid wurde aus starker Salzsäure umkristallisiert. Es wurde durch Eindampfen

mit einem Überschuss von Ammoniak zersetzt und das Phenylalanin aus Wasser umkristallisiert. Es schmolz bei langsamem Erhitzen, bei 263—265°.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3051 Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 0,7322 g CO₂ und 0,1792 g H₂O.

Stickstoff. 0,302 g Substanz gaben NH₃ = 2,53 cc HCl (1 cc HCl = 0,01 g N).

Berechnet auf C₉H₁₁O₂N = C 65,4; H 6,73; N 8,5 %.

Gefunden „ „ = C 65,44; H 6,53; N 8,38 „

Die wässrige Schicht wurde mit einem Überschuss von Baryumhydroxyd 5 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Nachdem die Masse einige Zeit gestanden hatte, wurde das ausgeschiedene Baryumsalz abfiltriert und durch die äquivalente Menge Schwefelsäure zersetzt. Die Lösung lieferte bei der Konzentration 5,76 g Asparaginsäure.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3866 g Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 0,5109 g CO₂ und 0,1852 g H₂O.

Stickstoff. 0,3637 g Substanz gaben NH₃ = 3,78 cc HCl.

Berechnet auf C₄H₇O₄N = C 36,09; H 5,26; N 10,53 %.

Gefunden „ „ = C 36,04; H 5,32; N 10,39 „

Das Filtrat vom asparaginsauren Baryum wurde vom Baryum befreit, auf ein kleines Volumen konzentriert und mit Salzsäure gesättigt. Bei längerem Stehen schied sich eine Spur von Phenylalaninhydrochlorid aus, aber Glutaminsäurehydrochlorid wurde keines gefunden. Nach Entfernung der Salzsäure mit Silbersulfat und der Schwefelsäure mit Barytwasser wurde die Lösung mit einem Überschuss von Kupferhydroxyd gesotten, aber es konnte kein Kupfersalz daraus abgeschieden werden, auch nicht nach Konzentrierung auf ein kleines Volumen. Das Kupfer wurde dann entfernt, die mit Tierkohle behandelte Lösung gab nach der Konzentration im luftleeren Raum über Schwefelsäure Kristalle, welche bei der fraktionierten Kristallisation aus Wasser 0,42 g Serin lieferten, das sich in einer offenen Kapillarröhre bei ungefähr 218° bräunte und bei zirka 240° zu einer braunen Masse zersetzte.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,2577 g Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 0,3224 g CO₂ und 0,1602 g H₂O.

Berechnet auf C₃H₇O₃N = C 34,24; H 6,73 %.

Gefunden „ „ = C 34,12; H 6,91 „

Im Filtrate vom Serin wurden ungefähr 5,32 g einer kristallinen Substanz gefunden, woraus nichts Bestimmtes isoliert werden konnte.

Der Destillations-Rückstand.

Die Rückstände von den Destillaten A und B wurden in siedendem Alkohol aufgelöst und die Lösungen vereinigt. Beim Abkühlen schieden sich 5,76 g haarähnlicher Kristalle aus.

Das Filtrat von dieser Substanz wurde vom Alkohol befreit und durch Erhitzen mit 200 g kristallisiertem Baryumhydroxyd verseift; das Baryum wurde entfernt: die Lösung unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen reduziert, mit Salzsäure gesättigt, lieferte nach einigem Stehen auf Eis 74,21 g Glutaminsäurehydrochlorid, gleich 59,46 g der freien Säure. Dies Hydrochlorid schmolz bei ungefähr 198° unter Aufbrausen.

Spezifische Drehung. Gelöst in 20-prozentiger Salzsäure.

$$(\alpha)_{\text{D}}^{20} = + 31,47^{\circ}.$$

Der Rückstand, welcher nach Entfernung der Ester mit Äther aus der ursprünglichen Lösung der Produkte der Hydrolyse zurückblieb, wurde nach der Methode weiter behandelt, welche E. Fischer zur Isolierung des Oxyprolins vorschreibt¹⁾; aber die einzige Substanz, die isoliert werden konnte, war Serin, wovon 0,87 g erhalten wurden, welche sich bei 219° bräunten und bei 240° zersetzten. Im Filtrate von diesem Serin gab β -Naphthalensulfon kein bestimmtes Produkt.

Cystin.

300 g Gliadin wurden 2—3 Stunden bei 85° mit 900 cc Salzsäure behandelt (spezifisches Gewicht 1,19) und die Lösung 3 Stunden gesotten. Dann konzentrierte man sie unter vermindertem Druck zu einem Sirup, verdünnte mit kaltem Wasser auf 900 cc und neutralisierte mit 50-prozentiger Natronlauge. Nach dem Sieden mit einer grossen Menge von Tierkohle und nach einer Konzentration auf 800 cc, schied sich viel Substanz aus, die aus 300 cc Wasser umkristallisiert wurde. Das umkristallisierte Produkt wurde in 5-prozentiger Schwefelsäure gelöst und durch Quecksilbersulfatlösung gefällt. Der Quecksilberniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Lösung vom Schwefelwasserstoff befreit, mit Natronlauge neutralisiert und mit Essigsäure angesäuert. Beim Stehen schied sich Cystin aus der Lösung in hexagonalen Platten aus, und durch Zusatz von Alkohol zum Filtrat wurde noch mehr erhalten. Als kein weiteres

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin **35**, 2660 (1902).

Cystin mehr erhalten werden konnte, wurde die Fällung mit Quecksilbersulfat wiederholt. Durch verschiedene Repetitionen dieses Verfahrens wurden schliesslich 1,18 g Cystin erhalten, welches, durch Auflösung in verdünntem Ammoniak und Ansäuern mit Essigsäure umkristallisiert, folgende Resultate gab:

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3063 g Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 0,3379 g CO₂ und 0,1444 g H₂O.

Berechnet auf C₆H₁₂O₄N₂S₂ = C 29,96; H 5,04 %.

Gefunden « « = C 30,08; H 5,23 «

Tyrosin.

219 g Gliadin, gleich 200 g bei 110° getrocknetem, wurden mit 600 cc konzentrierter Salzsäure behandelt, einige Zeit auf dem Wasserbade digeriert und die Lösung 12 Stunden auf einem Ölbad gesotten. Durch Sättigung mit Salzsäure wurde die Lösung von der meisten Salzsäure befreit, mit Tierkohle gekocht und dann stark konzentriert, um die Salzsäure so weit wie möglich zu entfernen. Der Rest der Säure wurde mit 50-prozentiger Natronlauge neutralisiert. Beim Stehen schied sich ein erheblicher Niederschlag aus, welcher abfiltriert und in Ammon gelöst wurde. Die entstandene Lösung wurde gekocht, bis das meiste Ammoniak entfernt war, und das Tyrosin, das sich ausschied abfiltriert. Nach dem Trocknen wog es 2,4 g, gleich 1,2 % des Gliadins. Aus siedendem Wasser umkristallisiert, gab es folgende analytischen Resultate:

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3661 g Substanz gaben, bei 110° getrocknet, 0,7981 g CO₂ und 0,2160 g H₂O.

Berechnet auf C₉H₁₁O₃N = C 59,62; H 6,13 %.

Gefunden « « = C 59,45; H 6,56 «

Kutscher fand 2,09 % Tyrosin im Gliadin und Abderhalden und Samuely 2,37. Die Verfasser halten ihre Ausbeute für zu gering.

Arginin und Histidin.

50 g Gliadin, gleich 43,97 bei 110° getrocknetem, wurden nach Kossel und Kutscher¹⁾ hydrolysiert und die Basen nach den Methoden von Kossel und Patten²⁾ dargestellt.

Die Lösung des Histidins wurde auf 500 cc gebracht und der Stickstoff in 100 cc davon bestimmt.

¹⁾ Zeitschrift f. phys. Chemie **31**, 165 (1900).

²⁾ Ibidem **38**, 276 (1903).

100 cc der Lösung gaben Ammoniak = 1,37 cc HCl = 0,0137 g N = 0,0685 g N in 500 cc = 0,2524 g Histidin = 0,58 % des Gliadins.

Die Identität dieses Histidins konnte Mangels einer grösseren Menge des Produktes nicht festgestellt werden.

Die Argininlösung wurde auf 500 cc gebracht und der Stickstoff in 50 cc davon bestimmt.

50 cc der Lösung gaben Ammoniak = 4,15 cc HCl = 0,0415 g N oder 0,415 g in 500 cc = 1,39 g Arginin oder 3,16 % des Gliadins.

Die zurückbleibende Lösung wurde nach Kossel und Kutscher direkt behandelt und das Arginin als Karbonat erhalten. Ein Teil dieses Karbonates wurde nach Steudel¹⁾ in das Pikrolonat verwandelt. Dies schmolz bei 226–227°, während Steudel 225° angibt.

Stickstoff. 0,0832 g bei 110° getrockneter Substanz gaben 18,8 cc feuchten N bei 765 mm und 25°.

Berechnet auf $C_6H_{14}O_2N_4 \cdot C_{10}H_8O_5N_4 = N\ 25,62\ %$.

Gefunden = N 25,40 «

Das Fitrat von dem Silberniederschlage des Arginins und Histidins wurde vom Silber befreit, mit Phosphorwolframsäure gefällt und auf Lysin in der gewöhnlichen Weise mit Pikrinsäure geprüft, es wurde aber keines gefunden.

Kossel und Kutscher fanden in den drei Fraktionen des alkohollöslichen Proteins des Weizenkornes, welches sie prüften, 1,2; 0,43 und 1,53 % Histidin. Die obige Bestimmung fällt zwischen diese.

Kossel und Kutscher fanden 3,05 % Arginin in der Fraktion, welche sie Glutenfibrin nannten, 2,73 % in ihrem Gliadin und 3,13 % in ihrem Muzedin. Existiert jedoch, wie die Verfasser annehmen, nur ein alkohollösliches Protein im Weizensamen²⁾, nämlich Gliadin mit 17,5 % Stickstoff und gehörte der Stickstoff ihrer Lösungen diesem Protein an, so würde der von ihnen gefundene Stickstoffgehalt beziehungsweise 3,13; 2,79 und 3,25 % betragen, womit die Bestimmung der Verfasser zu 3,16 % ganz gut stimmt.

Hydrolyse des Glutenins.

940 g Glutenin, gleich 839,33 g asche- und wasserfreiem Glutenin, wurden dadurch hydrolysiert, dass man sie mehrere Stunden lang auf dem Wasserbade mit einer Mischung von 950 cc konzentrierter Salz-

¹⁾ Zeitschrift f. phys. Chemie **37**, 219 (1902).

²⁾ Osborne und Harris, Journ. of Amer. Physiol. **13**, 35 (1905).

säure und 950 cc Wasser erhitze. Nachdem sie über Nacht gestanden hatte, wurde die Lösung auf einem Ölbad 9 Stunden lang gesotten und dann mit Salzsäuregas gesättigt. Durch dieselbe Behandlung wie beim Gliadin erhielt man 202,73 g Glutaminsäurehydrochlorid, gleich 162,4 g der freien Säure. Einmal aus konzentrierter Salzsäure umkristallisiert, schmolz diese bei 198°.

Die vereinigten Filtrate und Waschwasser wurden auf dem Wasserbade und bei vermindertem Drucke zu einem Sirup konzentriert und die Hydrochloride der Aminosäuren dreimal esterifiziert, wie beim Gliadin. Die Hydrochloride der Ester wurden neutralisiert und die freien Ester mit Äther ausgeschüttelt. Nachdem die ätherische Lösung der Ester mit Kaliumkarbonat getrocknet war, hielt man sie zwei Tage lang über wasserfreiem Natriumsulfat. Der Äther wurde dann durch Destillation auf einem Wasserbade bei atmosphärischem Drucke entfernt und die Ester mit folgender Wirkung abdestilliert.

Destillation A.

Fraktion	Temp. des Bades	Druck mm	Gewicht g
I.	65°	12,0	61,00
II.	100°	12,0	43,74
III.	a) 100°	4,0	45,94
	b) 110°	1,5	33,01
IV.	155°	1,5	43,32
V.	200°	0,8	32,56
Total . .			259,57

Der undestillierte Rückstand wog 211,5 g.

Der Rückstand, aus welchem die Ester durch Äther ausgezogen worden waren, wurde noch zweimal esterifiziert, wie beim Gliadin, und die Ester destilliert.

Destillation B.

Fraktion	Temp. des Bades	Druck mm	Gewicht g
I.	65°	12	28,74
II.	88°	12	24,27
III.	a) 100°	10	19,18
	b) 120°	0,8	23,23
IV.	180°	0,8	23,92
Total . .			119,34

Der undestillierte Rückstand wog 93 g.

Die verschiedenen Fraktionen aus den beiden Destillationen wurden in folgender Weise aufgearbeitet:

Fraktion	Temp. des Bades	Druck <i>mm</i>	Gewicht <i>g</i>
I. {	a) 65°	12	61,00
	b) 65°	12	28,74

Diese wurde auf einmal verseift, indem man sie mit konzentrierter Salzsäure zu einem Sirup eindampfte, den Rückstand in Alkohol löste und mit trockenem Salzsäuregas esterifizierte. Das Glykokollesterhydrochlorid, das sich ausschied, wog 6,68 g. Aus Alkohol umkristallisiert schmolz es bei 144°.

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,3179 g Substanz gaben 0,3984 g CO₂ und 0,2151 H₂O.

Berechnet für C₄H₁₀O₂NCl = C 34,39; H 7,23 %.

Gefunden = C 34,18; H 7,52 %

Das Filtrat vom Glykokollesterhydrochlorid wurde verseift, indem man es auf dem Wasserbade mit Salzsäure eindampfte, die letztere mit Silbersulfat entfernte und die Lösung mit einer äquivalenten Menge Baryumhydroxyd von der Schwefelsäure befreite. Durch fraktionierte Kristallisation lieferte diese Lösung 11,83 g Alanin, das bei 290° schmolz.

Fraktion	Temp. des Bades	Druck <i>mm</i>	Gewicht <i>g</i>
II. {	a) 100°	12	43,74
	b) 88°	10	24,27

Die vereinigten Ester wurden verseift, indem man sie 10 Stunden lang mit 10 Teilen Wasser kochte, so lange ihre Lösung gegen Lackmus neutral reagierte. Diese Lösung wurde unter vermindertem Drucke zur Trockne eingedampft und mit absolutem Alkohol gesotten, wobei 0,5 g Substanz in Lösung gingen. Durch wiederholte fraktionierte Kristallisation der Substanz, die in Alkohol unlöslich war, wurden 3,5 g Leuzin erhalten. Das isolierte Leuzin zersetzte sich bei 298°.

Nachdem man zum Filtrate von diesem Leuzin die löslichste Portion von Fraktion III gesetzt und weiter fraktioniert hatte, wurden 25,76 g Alanin und 3,84 g Glykokoll erhalten.

Fraktion	Temp. des Bades	Druck <i>mm</i>	Gewicht <i>g</i>
III. {	a) 110°	1,5	78,95
	b) 120°	0,8	42,41

Diese Ester wurden verseift, indem man sie fünf Stunden lang mit 6 Teilen Wasser kochte, so lange ihre Lösung gegen Lackmus neutral blieb. Nach dem Eindampfen zur Trockne unter vermindertem Druck wurde der trockene Rückstand mit siedendem, absolutem Alkohol gesotten. Der in Alkohol unlösliche Teil gab bei systematischer fraktionierter Kristallisation 32,42 g Leuzin, das sich bei 298° zersetzte. Das Filtrat von diesem Leuzin lieferte 2 g einer Substanz, welche die Eigenschaften und die Zusammensetzung der Aminovaleriansäure hatte.

Spezifische Drehung. Aus einer Lösung in 20-prozentiger Salzsäure:

$$(\alpha) \frac{20^\circ}{D} = +25,63^\circ.$$

Ein ähnliches Präparat aus dem Gliadin ergab $(\alpha)_D = +25,79^\circ$. Die zur Bestimmung der spezifischen Drehung benutzte Lösung wurde von der Salzsäure mit Silbersulfat befreit und die Aminosäuren dadurch racemisiert, dass man sie mit einem Überschuss von Baryumhydroxyd 19 Stunden lang in einem Autoklaven bei 175° erhitze. Nachdem man das Baryum quantitativ mittels Schwefelsäure entfernt hatte, wurde die Substanz mit α -Naphthylisocyanat gekuppelt. Die Hydantonsäure schmolz konstant, nach wiederholtem Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol, bei 183—184°. Im Gegensatz zum Gliadin schmolz die Hydantonsäure aus dem Glutenin um 2° höher.

Aus dem Filtrate von der Aminovaleriansäure erhielt man weiter noch 1,41 g Alanin. Die alkoholische Lösung, welche das Prolin enthielt, wurde unter vermindertem Drucke zur Trockne eingedampft und der getrocknete Rückstand wieder mit absolutem Alkohol gekocht. Trotz mehrerer Wiederholungen dieses Verfahrens wurde keine in Alkohol unlösliche Substanz gefunden. Die alkohollösliche Substanz wog nach dem Trocknen 35,54 g. Man bereitete hieraus in der gewohnten Manier ein Kupfersalz und verdampfte dessen Lösung unter vermindertem Druck zur Trockne. Der trockene Rückstand wurde mit siedendem, absolutem Alkohol ausgezogen, um das l-Prolinkupfer zu entfernen. Der in Alkohol unlösliche Rückstand gab, aus Wasser umkristallisiert, 15,53 g von racemischem Prolinkupfer, gleich 10,9 g Prolin.

Die alkoholische Lösung des l-Prolinkupfersalzes wurde zur Trockne eingedampft, das Kupfer entfernt und das Prolin als Phenylhydantoin identifiziert. Die so bereitete Substanz war sofort rein und schmolz bei 143°.

Fraktion	Temp. des Bades	Druck <i>mm</i>	Gewicht <i>g</i>
IV a.	155°	1,5	43,32

Diese Fraktion wurde in gewohnter Weise mit Äther ausgeschüttelt und der Äther von selber verdampfen gelassen. Es zeigte sich, dass kein Phenylalanin vorhanden war. Der Rückstand der Ester wurde mit konzentrierter Salzsäure verseift und die Hydrochloride mit Ammoniak zersetzt. Die freie Säure kristallisierte in der charakteristischen Form des Leuzins und wurde bei 298° zersetzt. Man erhielt 13,99 *g* Leuzin.

Die wässrige Schicht wurde verseift, indem man sie auf dem Wasserbade fünf Stunden lang mit einem Überschuss von Baryumhydroxyd erhitze. Das asparaginsäure Baryum, das sich beim Stehen in erheblicher Menge absetzte, wurde mit dem bei Fraktion V erhaltenen vereint.

Aus dem Filtrate von dem asparaginsäurem Baryum konnte keine bestimmte Substanz erhalten werden. Es schien Serin zu enthalten, aber es konnte keines isoliert werden.

Fraktion	Temp. des Bades	Druck <i>mm</i>	Gewicht <i>g</i>
V a.	200°	0,8	32,56
IV b.	180°	0,8	23,92

Diese Ester wurden mit Äther ausgeschüttelt und die ausgezogene Substanz mit Salzsäure verseift. Das so erhaltene Hydrochlorid, welches 20,21 *g* wog, gleich 16,55 *g* freiem Phenylalanin, wurde in die freie Säure mit Ammoniak verwandelt und dann in das Kupfersalz, indem man seine Lösung mit Kupferhydroxyd siedete. Das aus dem Kupfersalz isolierte, freie Phenylalanin schmolz bei 263—265°.

Die wässrige Schicht wurde dadurch verseift, dass man sie fünf Stunden lang auf dem Wasserbade mit einem Überschuss von Barytwasser erhitze. Das asparaginsäure Baryum, das sich beim Stehen ausschied, wurde mit dem früher aus Fraktion IVa erhaltenen vereinigt, mit einer äquivalenten Menge Schwefelsäure zersetzt und so 7,12 *g* freie Asparaginsäure aus der Lösung erhalten.

Das Filtrat vom asparaginsäuren Baryt wurde vom Baryum befreit, unter vermindertem Druck konzentriert und mit Salzsäure gesättigt. Bei längerem Stehen auf Eis schied sich eine Spur Phenylalanin-Hydrochlorid aus, aber es konnte kein Glutaminsäurehydrochlorid erhalten werden. Nach Entfernung der Salzsäure mittels Silbersulfats wurde die Flüssigkeit mit einer Lösung von Kupferhydroxyd gesotten und asparagin-

saures Kupfer schied sich aus. Das Filtrat davon, vom Kupfer durch Schwefelwasserstoff befreit und auf ein kleines Volumen konzentriert, lieferte durch fraktionierte Kristallisation 4,35 g nahezu reines Serin. Diese Substanz bräunte sich bei ungefähr 213° und zersetzte sich zu einer bräunlichen Masse bei 243°.

Rückstand von der Destillation.

Die Rückstände, die nach dem Abdestillieren der Ester verblieben, wogen 304,5 g. Man löste sie in heissem Alkohol, und aus deren vereinigten Lösungen schieden sich beim Abkühlen 3,16 g Substanz aus. Das Filtrat von dieser Substanz wurde unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und dadurch verseift, dass man die Lösung neun Stunden lang mit einem Überschuss von Baryumhydroxyd kochte. Nachdem das Baryum quantitativ entfernt war, wurde die Lösung konzentriert und mit Salzsäure gesättigt. Nach längerem Stehen auf Eis erhielt man 38,25 g Glutaminsäure-Hydrochlorid, welche bei 198° schmolzen. Diese entsprachen 30,64 g freier Glutaminsäure, was mit der früher isolierten einen Totalgehalt von 193,04 g oder 23 % des Glutenins ausmacht.

Rückstand nach der Esterifizierung.

Der Rückstand, welcher nach der dritten Esterifizierung verblieb, wurde ebenso behandelt wie der entsprechende Rückstand vom Gliadin, die von den Mineralsalzen und den durch Phosphorwolframsäure fällbaren Basen befreite Lösung unter vermindertem Drucke auf ein kleines Volumen konzentriert und dann einige Zeit über Schwefelsäure stehen gelassen. Nach Entfernung von ein wenig Tyrosin, das zuerst auskristallisierte, schieden sich 1,87 g Serin aus, welches, aus Wasser umkristallisiert, sich bei 210° bräunte und bei 240° zersetzte.

Dies Serin, mit dem aus Fraktion V vereint, gab einen Totalgehalt von 6,22 g Serin.

Cystin.

300 g Glutenin wurden in der beim Gliadin beschriebenen Weise hydrolysiert. Nach dem Eindampfen bei niederem Druck zu einem Sirup, Neutralisieren des Säureüberschusses mit Natronlauge und Entfärbung der Lösung mit Tierkohle, schied sich eine erhebliche Menge von Tyrosin aus, welche zugleich die ganze Cystinmenge enthielt, die

man in der Lösung entdecken konnte. Es wurde daher in 5-prozentiger Schwefelsäure gelöst und das Cystin mit Quecksilbersulfat gefällt. Dieser Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Lösung etwas konzentriert, mit Ammoniak alkalisch und dann mit Essigsäure sauer gemacht und ein gleiches Volumen Alkohol zugesetzt. Das Cystin, das sich beim Stehen in charakteristischen, hexagonalen Platten ausschied, wog nur 0,17 g. Mehr konnte man nicht erhalten. Dies wurde in Ammoniak gelöst und mit Essigsäure wieder gefällt.

Schwefel. 0,0897 g Substanz, bei 110° getrocknet, gaben 0,173 g Ba SO₄.

Berechnet auf C₆H₁₂O₄N₂S₂ = S 26,68 %.

Gefunden = S 26,53 «

Obgleich das Glutenin ungefähr denselben Gehalt an Schwefel enthält wie das Gliadin, so war doch der aus dem letzteren unter gleichen Bedingungen erhaltene Cystingehalt viel grösser. Es scheint, wie wenn das Glutenin in der Tat weniger Cystin lieferte; doch erlauben die Unsicherheiten bei der Abscheidung dieser Substanz keine bestimmte Schlussfolgerung.

Tyrosin.

250 g Glutenin wurden mit einer Mischung von 750 g Schwefelsäure und 1500 g Wasser 12 Stunden lang gesotten.

Die Lösung wurde von der Schwefelsäure durch eine äquivalente Menge von Baryum befreit und nach Konzentrierung auf 800 cc einige Zeit stehen gelassen. Eine erhebliche Menge von Tyrosin schied sich aus, das abfiltriert wurde, das Filtrat wurde mit Baryumkarbonat gesotten, um das Ammoniak auszutreiben, und dann auf die Hälfte seines anfänglichen Volumens konzentriert. Nach dem Abkühlen wurde der Rückstand von Baryumkarbonat und anderen Substanzen, die sich ausgeschieden hatten, mit heissem, verdünntem Ammoniak ausgezogen und das filtrierte Extrakt konzentriert und abgekühlt. Beim Stehen schied sich noch etwas Tyrosin aus, das mit dem zuerst erhaltenen vereint wurde. Weiteres Tyrosin konnte aus der Lösung der hydrolytischen Zersetzungsprodukte nicht mehr erhalten werden. Alles Tyrosin, das erhalten worden war, wurde in 5-prozentiger Schwefelsäure gelöst und Phosphorwolframsäure zur Lösung gesetzt. Es erfolgte nur ein geringer Niederschlag. Nach Entfernung der Phosphorwolframsäure mittels Baryumhydroxyds. wurde die Lösung stark konzentriert und zur Abkühlung stehen gelassen.

Nach einiger Zeit schieden sich 9,62 g Tyrosin aus, gleich 4,25 % des Glutenins.

Arginin. Histidin und Lysin.

50 g Glutenin, gleich 43,39 g bei 110° getrocknetem, wurden hydrolysiert und Arginin und Histidin in derselben Weise ausgeschieden, wie dies bei dem Gliadin beschrieben wurde.

Stickstoff. 100 cc der Lösung (500 cc) gaben $\text{NH}_3 = 4,15 \text{ cc HCl} = 0,0415 \text{ N} = 0,2075 \text{ g}$ in 500 cc = 0,7645 g Histidin = 1,76 %.

Der Histidingehalt der Lösung war zu gering zur Identifizierung. Das Filtrat vom Histidinniederschlag lieferte 500 cc der Arginin haltenden Lösung, in welcher folgender Stickstoffgehalt gefunden wurde.

Stickstoff. 50 cc der Lösung gaben $\text{NH}_3 = 6,79 \text{ cc HCl} = 0,0679 \text{ g N}$ oder 0,679 g in 500 cc, oder 2,107 g Arginin = 4,72 %.

Die zurückbleibende Lösung, nach Kossel behandelt, lieferte das Arginin als Karbonat. Dies wurde in das Kupfersalz verwandelt, das bei der Analyse folgende Werte gab:

Kohlenstoff und Wasserstoff. 0,2118 g Substanz, lufttrocken, verloren 0,0210 g H_2O bei 100°.

Berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{N}_{10}\text{O}_{10}\text{Cu} \cdot 3\text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{O} \text{ } 9,15 \%$.

Gefunden = $\text{H}_2\text{O} \text{ } 9,92 \%$

Kupfer I. 0,1858 g Substanz bei 100° getrocknet, gaben 0,0275 g Cu.

Kupfer II. 0,1808 g Substanz, bei 100° getrocknet, gaben 0,0267 g Cu.

Berechnet für $\text{C}_{12}\text{H}_{28}\text{N}_{10}\text{O}_{10}\text{Cu} = \text{Cu} \text{ } 11,85 \%$.

Gefunden < < = Cu I 11,84 %; II 11,78 %.

Kossel und Kutscher fanden bei drei Argininbestimmungen im Glutenin 4,5, 4,02 und 4,54 %. Die Grundlage ihrer Berechnungen beruht auf der Annahme, dass das Glutenin 16,2 % Stickstoff enthält. Rechnet man aber deren Resultate auf der Basis von 17,5 % Stickstoff in Glutenin um, so entstehen hieraus 4,82, 4,52 und 4,84 %, was mit den Bestimmungen Osborne's, 4,72 %, ganz gut stimmt.

Lysin.

Das Filtrat vom Argininsilber wurde nach Kossel's Vorschrift behandelt. Nachdem das Lysin mittels Phosphorwolframsäure gefällt war, wurde es in das Pikrat verwandelt und 2,33 g = 0,907 g freies Lysin erhalten. Dies beträgt 1,92 % des Glutenins.

Kossel und Kutscher fanden bei drei Bestimmungen dieser Substanz: 1,9, 2,29 und 2 $\frac{0}{0}$; rechnet man diese Werte auf der Grundlage von 17,5 $\frac{0}{0}$ Stickstoff im Glutenin um, so betragen sie 2,05; 2,15; 2,4 $\frac{0}{0}$.

Stickstoff. 0,1225 g bei 120° getrocknete Substanz gaben 23,1 cc feuchten N bei 760 mm und 29°.

Berechnet auf $C_6H_{14}O_2N_2 \cdot C_6H_3O_7N_3 = N 18,70 \frac{0}{0}$.

Gefunden = N 18,76 «

Hydrolyse des Leukosins.

Angesichts der Schwierigkeit, grosse Mengen von diesem Protein darzustellen, welches in sehr geringer Menge im Weizenkorn vorkommt, war man bei dieser Hydrolyse auf 257,8 g wasser- und aschefreies Leukosin beschränkt. Dieses wurde hydrolysiert, die Glutaminsäure als Hydrochlorid ausgeschieden, wie dies bei dem Gliadin beschrieben worden ist. Getrocknet im leeren Raum über Schwefelsäure, wurden 12,39 g des Hydrochlorids abgeschieden, die bei 198° unter Aufbrausen schmolzen. Das Filtrat von diesem Hydrochlorid wurde unter vermindertem Druck zu einem Sirup konzentriert, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und mit Salzsäuregas gesättigt. Die Lösung wurde dann zu einem dicken Sirup unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand wieder mit Alkohol und Salzsäure esterifiziert und die Lösung wie vorher konzentriert. Die Esterifikation wurde dann wiederholt, wobei die letzte Konzentration bei einem Drucke von 10 mm erfolgte, und zwar aus einem Wasserbade, dessen Temperatur nicht über 40° stieg. Die freien Ester der Aminosäuren wurden dann aus dem Rückstande befreit, mit Äther ausgezogen und mit Kaliumkarbonat und wasserfreiem Natriumsulfat auf dem gewöhnlichen Wege getrocknet. Die wässrige Schicht wurde dann mit Salzsäure stark sauer gemacht und die Salze durch Konzentration und durch Behandlung mit alkoholischer Salzsäure entfernt. Die alkoholischen Extrakte, welche die Hydrochloride der Aminosäuren enthielten, wurden zu einem dicken Sirup unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand wie oben esterifiziert. Die freien Ester wurden dann befreit und deren ätherische Lösung wie oben getrocknet. Nachdem der Äther auf dem Wasserbade bei atmosphärischem Drucke abdestilliert war, wurde der Rückstand mit folgendem Resultate abdestilliert:

Fraktion	Temp. des Bades	Druck <i>mm</i>	Gewicht <i>g</i>
I.	75°	12,00	21,76
II.	80°	10,00	25,86
III.	125°	0,8	49,60
IV.	200°	0,8	49,39
Total . .			146,61

Fraktion I.

Diese Fraktion wurde nach dem Eindampfen auf dem Wasserbade mit konzentrierter Salzsäure direkt verseift. Der Rückstand wurde mit Alkohol und Salzsäure esterifiziert und mehrere Tage auf Eis stehen gelassen. Das Glykokollester-Hydrochlorid, das sich ausschied, wog 1,73 g und schmolz bei 145°.

Im Filtrate davon wurden die freien Aminosäuren regeneriert und der fraktionierten Kristallisation in Wasser und Alkohol unterzogen. Man erhielt 303 g nahezu reines Alanin.

Fraktion II.

Nach Verseifen mit siedendem Wasser wurde die Lösung der Aminosäuren unter vermindertem Drucke zur Trockne eingedampft. Der getrocknete Rückstand, welcher 18,78 g wog, wurde mit siedendem Alkohol ausgezogen, wobei 1,68 g in Lösung gingen. Aus dem in Alkohol unlöslichen Teile wurden durch fraktionierte Kristallisation 5,53 g Leuzin, 5,79 g Alanin und 0,47 g Substanz, welche die Zusammensetzung der Aminovaleriansäure hatte, isoliert.

Aus dem löslicheren Teile dieser Fraktion wurde Glykokoll als das Hydrochlorid des Esters isoliert. Dies wog 2,78 g, gleich 1,5 g Glykokoll, und schmolz bei 144—145°.

Fraktion III.

Diese wurde dadurch verseift, dass man sie zehn Stunden lang mit 10 Teilen Wasser kochte und die Lösung unter vermindertem Drucke zur Trockne verdampfte. Nach dem Auszuge des Prolins mit siedendem Alkohol wurde der unlösliche Teil fraktioniert kristallisiert. Man erhielt 23,72 g Leuzin und 2,32 g Alanin.

Die vereinten alkoholischen Lösungen der Fraktionen II und III, welche das Prolin enthielten, wurden zur Trockne eingedampft und der

Rückstand mit siedendem Alkohol ausgezogen, in welchem sich 2,3 g nicht auflösten. Die hiervon abfiltrierte Lösung wurde wieder unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst und durch Sieden mit einem Überschusse von Kupferoxydhydrat während einer Stunde die Kupfersalze dargestellt. Die tief blaue Lösung wurde unter vermindertem Drucke zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol gesotten, welcher das l-Prolin-Kupfersalz in Lösung brachte. Der Rückstand des racemischen Kupfersalzes, unlöslich in Alkohol, wurde in Wasser gelöst und die Lösung konzentriert. Von racemischem Prolinkupfer wurden 2,41 g erhalten, gleich 1,69 g α -Prolin.

Die alkoholische Lösung des Kupfersalzes des l-Prolins wurde unter vermindertem Drucke zur Trockne verdampft. Der getrocknete Rückstand wog 8,24 g, gleich 6,5 g l-Prolin.

Zur Identifizierung wurde eine kleine Portion mit Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und das freie Prolin in das Phenylhydantoin umgewandelt. Dies schmolz scharf bei 143° und stimmte vollständig bei der Analyse.

Fraktion IV.

Aus dieser wurde der Ester des Phenylalanins durch Schütteln mit Äther entfernt, und, nachdem der Rückstand vom Äther befreit war, wurde der zurückbleibende Ester dadurch verseift, dass man ihn in konzentrierter Salzsäure löste und auf dem Wasserbade eintrocknete. Vom Phenylalaninhydrochlorid erhielt man 12,12 g, gleich 9,93 g Phenylalanin. Zur Identifizierung wurde das Hydrochlorid aus starker Salzsäure umkristallisiert und durch Eindampfen mit einem Überschuss von Ammoniak in die freie Säure verwandelt.

Berechnet für $C_9H_{11}O_2N = C\ 65,39; H\ 6,73; N\ 8,5\ %$.

Gefunden = C 65,27; H 6,76; N 8,57 %.

Die wässrige Schicht wurde dadurch verseift, dass man sie sieben Stunden lang auf dem Wasserbade mit einem Überschuss von Barytwasser erwärmte. Nach längerem Stehen wurden die Kristalle von asparaginsäurem Baryum abfiltriert und mit der äquivalenten Menge Schwefelsäure zersetzt. Das Filtrat vom Baryumsulfatniederschlag gab bei der Konzentration 5,06 g Asparaginsäure, welche, aus Wasser umkristallisiert, analysiert wurde.

Berechnet für $C_4H_7O_4N = C\ 36,06; H\ 5,31; N\ 10,55\ %$.

Gefunden < < < = C 36,00; H 5,44; N 10,59 <

Das Filtrat vom asparaginsäuren Baryum wurde mittels Schwefelsäure vom Baryum quantitativ befreit, auf ein kleines Volumen gebracht und mit Salzsäuregas gesättigt. Nach längerem Stehen über Eis wurden 2,15 g Glutaminsäurehydrochlorid abgeschieden.

Das Filtrat davon wurde unter vermindertem Drucke eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und das Chlor mit Silbersulfat entfernt. Nachdem die Schwefelsäure mit der äquivalenten Menge Baryumhydroxyd weggeschafft war, wurde die Lösung mit einem Überschuss von Kupferhydroxyd gesotten. Die filtrierte Lösung schied beim Stehen tyrosinähnliche Nadeln von l-asparaginsäurem Kupfer aus, welche 7,41 g wogen, gleich 3,57 g Asparaginsäure.

Berechnet für $C_4H_5O_4N \text{ Cu} \cdot 4\frac{1}{2} H_2O = N 5,09; \text{ Cu } 23,06 \%$.

Gefunden „ „ „ = N 5,02; Cu 23,37 „

Aus dem Kupfersalze wurde die freie Säure regeneriert und analysiert:

Berechnet für $C_4H_7O_4N = C 36,06; H 5,31 \%$.

Gefunden „ „ „ = C 36,29; H 5,74 „

Spezifische Drehung. Gelöst in 20-prozentiger Salzsäure

$$(\alpha) \frac{20^\circ}{D} = + 23,8^\circ.$$

Der Rückstand nach der Destillation.

Der Rückstand nach der Destillation der Ester wog 57 g. Diese wurden in siedendem Alkohol aufgelöst und nach dem Abkühlen 1,98 g nadelförmige Kristalle abfiltriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck zu einem Sirup eingedampft, durch Erhitzen mit einem Überschuss von Baryumhydroxyd verseift und nach Entfernung des Baryums zu einem kleinen Volumen unter vermindertem Druck eingedampft. Die Lösung wurde dann mit Salzsäure gesättigt und lieferte, nachdem sie lange Zeit auf Eis gestanden hatte, 7,39 g Glutaminsäurehydrochlorid. Die hieraus dargestellte freie Säure schmolz bei 202—203° unter Aufbrausen.

Die aus dem Leukosin gewonnene Totalmenge an Glutaminsäure betrug 17,5 g oder 6,73 %.

Tyrosin.

40 g Leukosin, gleich 34,96 g bei 110° getrocknetem, wurden 12 Stunden lang mit einer Mischung von 120 g Schwefelsäure und 240 g Wasser gesotten. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit einer äqui-

valenten Menge Baryumhydroxyd wurde die Lösung mit einem Überschusse von Baryumkarbonat zur Entfernung des Ammoniaks eingedampft. Nach der Entfernung des Baryums wurde die Lösung auf dem Wasserbade zu einem kleinen Volumen eingedampft und einige Zeit stehen gelassen. Die Substanz, die sich ausschied, wurde mit kaltem Wasser gewaschen, in Ammoniak gelöst, mit Tierkohle behandelt und eingedampft. Beim Abkühlen schieden sich 1,036 g Tyrosin in Form farbloser Nadeln aus. Das Filtrat davon lieferte bei weiterer Konzentration noch weitere 0,13 g Tyrosin, also in Summa 1,16 g oder 3,33 $\frac{0}{10}$. Diese wurden umkristallisiert und analysiert.

Berechnet für $C_9H_{11}O_3N = C\ 59,62; H\ 6,13\ \frac{0}{10}$.

Gefunden « « = C 59,60; H 6,11 «

Arginin, Histidin und Lysin.

Das Filtrat vom Tyrosin lieferte nach der beim Gliadin angewendeten Methode eine Lösung, in welcher man fand, dass der Stickstoff 0,99 g Histidin oder 2,83 $\frac{0}{10}$ entsprach.

Die Identität dieses Histidins konnte wegen seines geringen Betrages nicht nachgewiesen werden.

Die Lösung des Arginins enthielt 0,672 g Stickstoff, gleich 2,08 g Arginin oder 5,94 $\frac{0}{10}$. Ein Teil davon wurde in das Kupfersalz verwandelt, indem man ihn mit einem Überschuss von Kupferhydroxyd kochte und das Kupfersalz aus Wasser umkristallisierte.

Wasser. 0,1984 g Substanz, lufttrocken, verloren 0,0191 g H_2O bei 110°.

Kupfer. 0,1766 g, bei 110° getrocknet, gaben 0,0262 g CuO .

Berechnet für $C_{12}H_{28}C_4N_8Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O = H_2O\ 9,15\ \frac{0}{10}$.

Gefunden « « = $H_2O\ 9,62\ \frac{0}{10}$

Berechnet für $C_{12}H_{28}O_4N_8Cu(NO_3)_2 = Cu\ 11,85\ \frac{0}{10}$.

Gefunden « « = Cu 11,83 «

Das Filtrat vom Kupfersalze wurde vom Kupfer befreit und die Lösung mit einem Überschuss von Schwefelsäure unter vermindertem Druck eingedampft. Die Schwefelsäure wurde durch einen Überschuss von Baryumhydroxyd und das Baryum durch Kohlensäure entfernt. Das Filtrat vom Baryumkarbonat wurde zur Trockne verdampft und das Arginin in das Pikrolonat verwandelt. Dies schmolz bei 226—227°; Steudel gibt 225° an.

Stickstoff. 0,0516 g bei 110° getrockneter Substanz gaben 11,8 cc feuchten Stickstoff bei 25° und 765 mm.

Berechnet für $C_6H_{14}O_2N_4 \cdot C_{10}H_8O_5N_4 = N\ 25,62\ \%$.

Gefunden „ „ = N 25,71 „

Das Filtrat von dem ersten Silberniederschlag, welcher das Arginin und Histidin enthielt, wurde vom Silber und Baryum befreit und das Lysin mit Phosphorwolframsäure gefällt und dann in das Pikrat verwandelt, wovon 2,47 g, gleich 0,9616 Lysin oder 2,75 %, erhalten wurden. Dies wurde aus Wasser umkristallisiert und analysiert.

Stickstoff. 0,2288 g Substanz gaben 38,6 cc feuchten N bei 25,5° und 759 mm.

Berechnet auf $C_6H_{14}O_2N_2 \cdot C_6H_3O_7N_3 = N\ 18,70\ \%$.

Gefunden „ „ = N 18,77 „

Über die Einwirkung von Arsenwasserstoff auf Lösungen von Halogenen, Halogensäuren und anderen Oxydationsmitteln.

Von

Hans Reckleben und Georg Lockemann.

(Mitteilung aus dem Institut von E. Beckmann, Laboratorium für angew. Chemie der Universität Leipzig.)

Im Anschluss an unsere Untersuchungen über die Einwirkung von Arsenwasserstoff auf die Lösungen einiger Schwermetallsalze¹⁾ haben wir auch andere leicht reduzierbare Reagenzien zur Absorption von Arsenwasserstoff benutzt und haben geprüft, ob dieselben zur quantitativen Bestimmung dieses Gases brauchbar sind. Einige dieser Resultate haben wir bereits an anderer Stelle mitgeteilt²⁾, wir halten es aber der Übersichtlichkeit halber für notwendig, dieselben hier nochmals zu erwähnen, da sie durch die jetzt vorliegenden Versuche ergänzt und vervollständigt werden.

Betreffs Darstellung und Aufbewahrung des Gases, sowie Ausführung der Analysen verweisen wir auf unsere früheren Angaben.³⁾ Wir verwendeten auch hier wiederum ein Gasmisch von Wasserstoff und Arsenwasserstoff.

1) Diese Zeitschrift **46**, 671 (1907).

2) Zeitschrift f. angew. Chemie **19**, 275 (1906).

3) Diese Zeitschrift **46**, 674 ff. (1907).