

277. Felix Ehrlich: Ueber das natürliche Isomere des Leucins.

[I. Mittheilung¹⁾.]

(Eingegangen am 7. April 1904.)

Die Constitution des im Jahre 1818 von Proust²⁾ entdeckten und bald darauf von Braconnot³⁾ und Mulder⁴⁾ näher beschriebenen Leucins, das man späterhin als eins der wichtigsten und am häufigsten vorkommenden Spaltungsproducte pflanzlicher und thierischer Eiweisskörper erkannt hat, ist erst durch die Arbeiten E. Schulze's und E. Fischer's endgültig aufgeklärt worden. Man fasste früher unter dem Namen Leucin natürlich auftretende Aminocapronsäuren zusammen, von denen man glaubte, dass sie je nach ihrer Herkunft eine andere chemische Configuration besaßen, und nahm hauptsächlich auf Grund älterer Arbeiten von Limpricht⁵⁾, Hüfner⁶⁾ und Kwisda⁷⁾ an, dass das in der Natur verbreitetste Leucin die α -Amino-Normalcapronsäure darstellt. Diese sich vielfach widersprechenden, irrthümlichen Anschauungen widerlegten erst E. Schulze und Likiernik⁸⁾ im Jahre 1891, indem sie zeigten, dass das natürliche, in die Racemverbindung übergeführte Leucin mit der aus Isovaleraldehyd durch die Cyanhydrin-Reaction synthetisch erhaltenen α -Aminoisobutylessigsäure, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}.\text{CH}_2.\text{CH}(\text{NH}_2).\text{COOH}$, übereinstimmt. Durch Spaltung des Racemkörpers in die optisch activen Componenten gelang dann vor 4 Jahren E. Fischer⁹⁾ die Totalsynthese des Leucins und der vollkommene Nachweis, dass das natürliche Leucin mit der *l*- α -Aminoisobutylessigsäure identisch ist. Da die auf analogem Wege aus dem *n*-Valeraldehyd dargestellte¹⁰⁾ oder durch Reduction

¹⁾ Zum Theil vorgetragen in der Sitzung am 25. Mai 1903. Ein vorläufiger Bericht über einige Ergebnisse dieser Arbeit wurde ausserdem am 3. Juni 1903 der Section V (für Zuckerindustrie) des V. Internationalen Congresses für angewandte Chemie in Berlin in einem Vortrage »Ueber neue stickstoffhaltige Bestandtheile der Zuckerabläufe« mitgetheilt. Vergl. kurzes Referat darüber in der Chemiker-Ztg. 1903, 543; Repert. 201. Der Vortrag findet sich in erweiterter Form abgedruckt in der Zeitschr. des Vereins der Deutsch. Zuckerind. 1903, 809—829; Ref. Chem. Centralblatt 1903, II, 811; Biolog. Centralblatt 1903, 186.

²⁾ Ann. chim. phys. 10, 40. ³⁾ Ann. chim. phys. 13, 119; 35, 161.

⁴⁾ Journ. für prakt. Chem. 16, 290; 17, 57.

⁵⁾ Ann. d. Chem. 94, 243.

⁶⁾ Zeitschr. für Chem. 1868, 391.

⁷⁾ Monatsh. für Chem. 12, 423.

⁸⁾ Diese Berichte 24, 669 [1891].

⁹⁾ Diese Berichte 33, 2370 [1900].

¹⁰⁾ E. Schulze und Likiernik, Zeitschr. für physiolog. Chem. 17, 523; E. Fischer und Hagenbach, diese Berichte 34, 3764 [1901]; E. Fischer, diese Berichte 33, 2381 [1900].

der *d*-Glucosaminsäure erhaltene¹⁾ optisch active α -Amino-*n*-capronsäure von dem natürlichen Leucin gänzlich abweichende Eigenschaften besass, so schien auch die Eindeutigkeit der Constitution für alle in der Natur aufgefundenen Leucine bewiesen, zumal E. Fischer und seine Mitarbeiter im Laufe der letzten Jahre gelegentlich ihrer Arbeiten über die Hydrolyse der Eiweissstoffe mittels der Estermethode aus allen bisher untersuchten Materialien stets nur ein gleich constituirtes Leucin isoliren konnten. Alle früheren Beobachtungen über natürlich vorkommende isomere Leucine mussten demnach darauf zurückgeführt werden, dass das active Leucin, für dessen Reindarstellung und genaue Identificirung erst die Fischer'schen Untersuchungen geeignete Methoden²⁾ geliefert haben, in den betreffenden Fällen nicht absolut rein und chemisch einheitlich, sondern mit dem Racemkörper oder mit niedriger, resp. höher drehenden Substanzen behaftet erhalten war.

Indess ist die Frage, ob nicht doch ausser dem bekannten Leucin Isomere desselben in der Natur vorkommen, bisher nicht entschieden und von E. Fischer ebenso wie vorher von E. Schulze vorläufig offen gelassen. Gelegentliche Anzeichen in den Arbeiten beider Forscher sprechen auch dafür, dass thatsächlich ein solches Isomeres in pflanzlichem und thierischem Eiweiss neben dem Leucin vorhanden ist, aber bis jetzt auf keine Weise von diesem zu trennen war. So beobachtete Schulze, der bereits früher theoretisch die Möglichkeit des Vorhandenseins eines Isomeren im unreinen Leucin aus Proteinstoffen eingehend erörtert hatte³⁾, in der Mutterlauge des aus der *Vicia sativa* erhaltenen Leucinkupfers eine Substanz⁴⁾ von zwar gleicher Bruttoformel, aber höherem Drehungsvermögen in Salzsäure als das bekannte Leucin, und Fischer zeigte, dass bei der Hydrolyse verschiedener Eiweissstoffe, besonders des Caseïns⁵⁾, einige nach der Estermethode erhaltene Fractionen zwar die Elementarzusammensetzung des Leucins, doch eine grössere specifische Drehung als das active Leucin besaßen, sodass er auf die Vermuthung kam, dass hier eine stärker drehende isomere Aminocapronsäure ähnlich wie die Aminoovaleriansäure⁶⁾ dem Leucin beigemischt war. In keinem dieser Fälle war es indess möglich gewesen, die fraglichen Substanzen chemisch einheitlich für sich zur Abscheidung zu bringen.

¹⁾ C. Neuberger, diese Berichte 35, 4015 [1902].

²⁾ Diese Berichte 34, 446 [1901].

³⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 17, 534.

⁴⁾ E. Schulze und Winterstein, Zeitschr. für physiolog. Chem. 35, 306.

⁵⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 33, 161.

⁶⁾ E. Fischer und Dörpinghaus, Zeitschr. für physiolog. Chem. 36, 469.

Es ist mir nun bei Gelegenheit der Untersuchung pflanzlicher Extractstoffe auf organische Stickstoffkörper gelungen, neben Leucin eine Substanz von gleicher Elementarzusammensetzung zu isoliren und rein darzustellen, die dem Leucin äusserlich ungemein ähnlich, aber in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften selbst und in ihren Derivaten derartig fundamentale Unterschiede von diesem aufweist, dass sie unzweifelhaft als das erste bisher gefundene und, wie ich ferner Grund zur Annahme habe, als das einzige natürliche Isomere des Leucins zu bezeichnen ist. Während seither aus Eiweissstoffen stets, auch in den abweichend beobachteten Fällen, nur Leucin erhalten wurde, das in wässriger Lösung links dreht, zeigt die neuentdeckte isomere Verbindung sowohl in wässriger, wie in saurer und alkalischer Lösung Rechtsdrehung, und zwar in 20-procentiger Salzsäure unter gleichen Bedingungen eine mehr als doppelt so starke wie das *l*-Leucin, ferner einen um 15° niedrigeren Schmelzpunkt und bedeutend grössere Löslichkeit in Wasser und Alkohol als dieses. Besonders charakterisirt ist sie durch die merkwürdigen Löslichkeitsverhältnisse ihres Kupfer-Salzes, die allein ihre Trennung vom Leucin und ihre Reindarstellung gestatten. Die grossen Unterschiede in den chemischen und physikalischen Constanten ihrer vollkommen einheitlich schmelzenden Derivate von denen des *l*-Leucins und der *d*- α -Amino-*n*-capronsäure lassen ausserdem mit Sicherheit darauf schliessen, dass hier eine neue, bisher auch chemisch unbekannte, structurisomere Aminocapronsäure vorliegt. Da ich endlich dasselbe Isomere des Leucins aus pflanzlichen und aus thierischen Eiweissstoffen sowohl nach der Hydrolyse mit Säuren wie mit Fermenten habe gewinnen können, so ist diese Verbindung als ein neues primäres Eiweisspaltungsproduct anzusehen, das meinen bisherigen Beobachtungen nach stets neben dem Leucin in der Natur vorkommt und in Anbetracht der grossen physiologischen Bedeutung der letzteren Substanz besondere Beachtung verdient. So lange ihre chemische Constitution, mit deren Aufklärung ich beschäftigt bin, unbekannt ist, möchte ich, um auch äusserlich die nahe Zugehörigkeit der neuen Aminocapronsäure zu dem bisher bekannten Leucin zu kennzeichnen, für diese den Namen Isoleucin oder genauer *d*-Isoleucin vorschlagen, entsprechend dem in wässriger Lösung linksdrehenden *l*-Leucin.

Die Melasseentzuckerungslaugen als Ausgangsmaterial für die Gewinnung pflanzlicher Eiweisspaltungsproducte.

Die Isolirung des Isoleucins gelang zuerst aus dem Saft der Zuckerrübe oder vielmehr aus den letzten Abläufen der Zuckerfabrication, den Melasseentzuckerungslaugen, auch Melasseschlempen genannt. Mit

letzterem Namen bezeichnete man früher die bei der Vergärung der Rübenzuckermelasse nach dem Abdestilliren des Alkohols verbleibenden Rückstände; heute wendet man ihn der Kürze halber in übertragener Bedeutung auf alle zuckerfreien Laugen an, die bei der Melasseentzuckerung nach dem Osmoseverfahren oder nach chemischen Verfahren mittels Kalk, Strontian etc. abfallen.

Diese in Deutschland jetzt fast ausschliesslich bei der Strontianentzuckerung nebenher gewonnenen Melasseschlempen enthalten im Wesentlichen die aus der Zuckerrübe neben Zucker mit Wasser ausgelaugten Substanzen und deren im Verlaufe der Fabrication durch Einwirkung der Wärme, des Kalks und Strontians, sowie durch Gährungsvorgänge entstandenen Zersetzungsproducte. Eingedampft bilden die Abfalllaugen eine zähe, syrupöse, tief dunkelbraun gefärbte Masse von eigenthümlich fauligem Geruch und ganz ähnlicher Beschaffenheit wie die Melasse. In Folge ihres hohen Kalium- und Stickstoff-Gehaltes stellen sie ein sehr wichtiges technisches Rohproduct dar. Ausser zu Düngemitteln verarbeitet man die Melasseschlempen hauptsächlich auf Pottasche, wobei als Nebenproducte Methylalkohol, Trimethylamin, Ammoniak etc. erhalten werden. In den letzten Jahren ist es durch chemisch und technisch gut durchgebildete Verfahren möglich geworden, den grössten Theil des bis zu 5 pCt. der Trockensubstanz betragenden Stickstoffgehaltes der Schlempen in Cyankalium und Ammoniak überzuführen.

Wissenschaftlich nur wenig durchforscht und industriell überhaupt nicht verwerthet ist bisher die zu ungefähr 60 pCt. in der Trockensubstanz der Melasseschlempen enthaltene organische Substanz, wenn auch durch interessante Arbeiten von Scheibler und v. Lippmann in diesen »Berichten« wiederholt auf das von der Natur und Technik in so reichem Maasse gespendete werthvolle Rohmaterial¹⁾ hingewiesen war, das in den Abfällen der Rübenzuckerfabrication, in der Melasse und Melasseschlempe, vorliegt. Untersuchungen über die quantitative Zusammensetzung der organischen Verbindungen der Strontian-Melasseschlempen sind erst in neuerer Zeit von A. Herzfeld und Andrlík begonnen worden. Herzfeld²⁾ fand, dass die organischen ätherlöslichen Säuren der Strontianentzuckerungslaugen zum überwiegenden

¹⁾ Nach dem Ausweis der amtlichen Statistik wurden im Betriebsjahr 1902—1903 in den sechs deutschen Melasseentzuckerungsanstalten nach dem Strontianverfahren 2856240 Doppelcentner Melasse entzuckert. Rechnet man diese zu durchschnittlich 50 pCt. Zuckergehalt, so würde daraus eine jährliche Production der Hälfte des Gewichts Melasse, also von ungefähr 1400000 Doppelcentnern auf 80° Br. = 1.4 spec. Gew. eingedickter Abfallmenge resultiren!

²⁾ Zeitschr. d. Ver. d. Deutsch. Zuckerind. 51, 720.

Theil aus Ameisen-, Essig- und Milch-Säure bestehen, die jedenfalls aus der Zersetzung von Zucker im Fabrikbetriebe herrühren. Andrlik¹⁾ nimmt lediglich auf Grund der Resultate von ihm ausgeführter vergleichender Stickstoffbestimmungen an, dass in den Melassen und Melasseschlempen nur wenig Ammonium-Salze und Nitrate, dagegen vorwiegend eiweissähnliche Verbindungen, Amid-Körper und Aminosäuren enthalten sind.

Diese stickstoffhaltigen, organischen Substanzen beanspruchen in vielfacher Hinsicht, vor allem in Anbetracht der grossen Mengen, in denen sie sich in den Abfalllaugen der Zuckerfabrication vorfinden, ein ganz besonderes Interesse. Der Hauptbestandtheil derselben bildet das von Scheibler²⁾ zuerst in der Rübe entdeckte Betaïn, das nach Stanek³⁾ zu 7 pCt. der Trockensubstanz in der Melasse vorkommt und in Melasseschlempen demnach in doppelt so grossen Quantitäten vorhanden sein muss, da die vom Zucker befreiten Laugen qualitativ in der Zusammensetzung ihrer sonstigen organischen Substanz gegenüber den Melassen nur unwesentlich verändert erscheinen. Nächst dem Betaïn finden sich in den Abfällen der Zuckerfabrication vielfach und in grossen Mengen die Abbausubstanzen des in der Rübe vorkommenden Asparagins⁴⁾ und Glutamins⁵⁾, die Asparagin-⁶⁾ und Glutamin-Säure⁷⁾. Ausser diesen, sehr häufig zu beobachtenden, integrierenden Bestandtheilen der Rübensäfte ist dann noch von dem einzeltem Vorkommen der verschiedenartigsten organischen Stickstoffkörper in der Melasse, der Elutionslauge und anderen Abfalllaugen, sowie in anomalen Rüben- und Zuckerfabriks-Producten, besonders von v. Lippmann berichtet worden. So fand v. Lippmann das Cholin⁸⁾, das er ebenso wie das Betaïn als Zersetzungsproduct des von ihm isolirten Rüben-Lecithins betrachtet, ferner die Glutaminsäure⁹⁾, das Leucin und das Tyrosin¹⁰⁾, die Citrazinsäure¹¹⁾, das Guanidin, Arginin und eine Reihe, wahrscheinlich aus dem Nucleïn der Rüben-

¹⁾ Zeitschr. Ver. f. Zuckerind. in Böhmen **25**, 268; **27**, 161.

²⁾ Diese Berichte **3**, 13 [1870]; s. a. Liebreich, diese Berichte **3**, 167 [1870].

³⁾ Zeitschr. Ver. Zuckerind. in Böhmen **27**, 287.

⁴⁾ Scheibler, Zeitschr. Ver. Deutsch. Zuckerind. **16**, 225.

⁵⁾ E. Schulze und Bosshard, diese Berichte **16**, 312 [1883] u. **18**, 390 [1883]; E. Sellier, Bull. de l'assoc. chim. de suc. et dist. **21**, 754.

⁶⁾ Scheibler, Zeitschr. f. Chem. **1866**, 278.

⁷⁾ Scheibler, diese Berichte **2**, 296 [1869]; Andrlik, Zeitschr. Ver. f. Zuckerind. in Böhmen **27**, 665.

⁸⁾ Diese Berichte **20**, 3201 [1887]. ⁹⁾ Diese Berichte **17**, Ref. 171 [1884].

¹⁰⁾ Diese Berichte **17**, 2835 [1884]. ¹¹⁾ Diese Berichte **26**, 3061 [1893].

zelle herstammender Xanthin-Körper¹⁾. Doch waren diese Substanzen meist nur in sehr geringen, kaum für die Untersuchung ausreichenden Mengen zu fassen.

Die nachstehenden Untersuchungen lassen nun erkennen, dass in den Abfalllaugen der Zuckerindustrie, besonders in den bei der Strontianentzuckerung abfallenden Melasseschlempen, ein vorzügliches, bisher nur sehr wenig beachtetes Ausgangsmaterial zur Gewinnung pflanzlicher Eiweisspaltungsproducte vorliegt, da der in ihnen enthaltene Stickstoff, ausser an Betaïn, Asparagin- und Glutamin-Säure, fast ausschliesslich an Aminosäuren gebunden ist, die sich aus dem Rübeneiweiss gebildet haben. Die Entstehungsweise dieser Abbausubstanzen aus dem Rübeneiweiss ist in der Weise zu erklären, dass der weitaus grösste Theil derselben durch fermentative Prozesse während des Wachstums und Lagerens der Rübe vorgebildet, sich bereits im Saft der reifen Wurzel vorfindet, während der kleinere Theil des darin gelösten Eiweisses im Verlaufe der Verarbeitung der Rüben und der darauffolgenden Entzuckerung der Melasse durch das Behandeln der Säfte mit Kalk, den durch Letzteren frei gemachten Alkalien und durch das Kochen mit Strontian, nach Art einer alkalischen Hydrolyse, total bis zu den Aminosäuren abgebaut wird. Wenn auch die Arbeiten in dieser Hinsicht erst begonnen sind, so deuten doch die bisherigen Resultate darauf hin, dass man aus dem in grossen Massen zugänglichen und bequem zu verarbeitenden Rohmaterial der Strontian-Melasseschlempen in guter Ausbeute einen grossen Theil der besonders von E. Schulze und seinen Mitarbeitern aus anderem pflanzlichen Eiweiss erhaltenen Abbauproducte wird darstellen können, soweit dieselben nicht durch die lang andauernde Einwirkung der Hitze mit Alkalien im Fabrikbetriebe vollständig zersetzt sind.

Besonders geeignet erweisen sich die Melasseentzuckerungslaugen zur Gewinnung von Leucin und des von mir in denselben zuerst gefundenen neuen Eiweisspaltungsproductes, des Isoleucins.

Darstellung von Roh-Leucin aus Strontian-Entzuckerungslaugen²⁾.

Als typisches Gemisch von Eiweissabbausubstanzen, wie sie gewöhnlich bei der Hydrolyse von Eiweisskörpern erhalten werden,

¹⁾ Diese Berichte 29, 2645 [1896].

²⁾ Als Ausgangsmaterial für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen diente hauptsächlich concentrirte Melasseschlempe der grössten Strontianentzuckerungsanstalt Deutschlands in Dessau, die dem Laboratorium von

zeigen sich die Strontianschlempen schon rein äusserlich durch ihre Farbe, ihren Geruch, ferner durch die bei ihrer Destillation entstehenden Producte, die unter anderem dem Pyrrol, Pyridin und Chinolin verwandte Verbindungen enthalten und in ihren Eigenschaften dem Dippel'schen Thieröl sehr ähnlich sind, besonders aber dadurch, dass beim Eindampfen aus ihnen direct Leucin krystallisirt¹⁾.

Diese bisher nicht beschriebene Krystallisationserscheinung habe ich an sämtlichen, mir zur Verfügung stehenden, zuckerfreien Abfalllaugen aus Strontianenzuckerungsbetrieben regelmässig beobachten können. Dampft man derartige, nach der Entzuckerung erhaltene, dünne Melasseschlempen auf dem Wasserbade scharf ein und lässt den zurückbleibenden, dicken, braunschwarzen Syrup längere Zeit in kühlen Räumen stehen, so beginnt schon nach einigen Tagen die Krystallisation, die bei wiederholtem Umrühren schnell zunimmt und nach mehreren Wochen beendet ist. In der Fabrik werden die dünnen Laugen gewöhnlich nach der Behandlung mit Kohlensäure zur möglichst vollständigen Wiedergewinnung des gelösten Strontians für die spätere Destillation und Veraschung im Vacuum concentrirt und die so hergestellten syrupdicken Melasseschlempen bis zur Weiterverarbeitung in grosse Bassins abgelassen. Die in dieser Form von der Fabrik bezogenen Schlempen, die mir als Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen dienten, zeigten stets ein krystallinisches Aussehen und bestanden zumeist zu einem grossen Theil aus einem dicken, zähen Krystallblei. Lässt man solche aus den Fässern auf grosse Flaschen abgefüllte Melasseschlempe an einem kühlen Ort ruhig stehen, so senkt sich schon nach kurzer Zeit ein krystallinischer Niederschlag zu Boden, der bald mehr als die Hälfte des Volumens des schwarzbraunen Syrups einnimmt. Er besteht in den am Boden des Gefässes befindlichen Theilen aus einem sandigen Pulver, während die specifisch leichteren, in der Flüssigkeit suspendirten Partikelchen, eine fein vertheilte, zähe, schlammige Masse darstellen, die beim Reiben zwischen den Fingern kaum zu spüren ist.

Zur Gewinnung der krystallinischen Abscheidungen aus der concentrirten, längere Zeit aufbewahrten Strontian-Melasseschlempe, ver-

dieser Fabrik in freigelegter Weise zur Verfügung gestellt wurde. Ich verfehle nicht, auch an dieser Stelle Hrn. Director Venator für sein liebenswürdiges Entgegenkommen bestens zu danken.

¹⁾ Tyrosin konnte in den Strontian-Melasseschlempen bisher nicht nachgewiesen werden, dagegen eine in Alkohol leicht lösliche, deutlich die Millon'sche Reaction gebende Substanz, in der vermuthlich ein Abbauprodukt des Tyrosins, vielleicht die Oxyphenyllessigsäure oder das Oxyphenyläthylamin, vorliegt.

führt man am besten in der Weise, dass man die ganze Masse, nach dem man event. den oberen dünnflüssigeren Theil abgossen hat, mittels einer guten Pumpe auf einer Nutsche mit grosser Oberfläche auf feinen Haarfilz in kleinen Portionen absaugt, wobei man jedesmal die zurückbleibenden Krystalle von dem Filztuche entfernt. Die Filtration geht dann verhältnissmässig leicht und so vollständig von statten, dass dem Niederschlag nachher nur wenig bräunlicher Syrup anhaftet. Die abgesaugte braune, bröcklige Krystallmasse lässt sich durch Pressen auf Thon von der Mutterlauge fast vollkommen befreien.

Man erhält so in einer Ausbeute von ungefähr 15—20 pCt. der Trockensubstanz der Strontian-Melasseschlempen die Niederschläge als ein sandiges Pulver von gelbbrauner Farbe mit keller aussehenden Parthien gemischt und von schwach melasseähnlichem Geruch. Die trockne Krystallmasse besteht ungefähr zur Hälfte, oft bis zu $\frac{2}{3}$, aus organischer Substanz. Die in den oberen Schichten des Bodensatzes länger lagernder Melasseschlempen suspendirten Krystalle enthielten dabei stets weniger anorganische Bestandtheile, als die tiefer liegenden. Genaue Aschenbestimmungen des Pulvers aus den sandigen, am Boden befindlichen und den specifisch leichteren Niederschlägen schwankten zwischen 38.16—51.04 pCt. Das trockne Pulver setzt sich zum grossen Theil aus anorganischen und organischen Calcium-, Kalium- und Natrium-Salzen zusammen. Es enthält durchschnittlich 1.5—2.0 pCt. Stickstoff nach Kjeldahl, der an Aminosäuren gebunden ist.

Durch langdauerndes Extrahiren mit kochendem Alkohol erhält man aus den auf Thon getrockneten Niederschlägen in geringen Mengen eine in kleinen Warzen krystallisirende, stickstoffhaltige, organische Substanz, die beim Erhitzen sublimirt, mit Kupferhydroxyd in Wasser gekocht eine tiefblaue Lösung giebt, aber auch durch mehrfaches, verlustreiches Umkrystallisiren von anorganischen Beimengungen nicht zu befreien ist. Dieselbe, dem Leucin sehr ähnliche, specifisch sehr leichte Substanz kann man, wenn auch ebenfalls nicht aschefrei, theilweise schon durch Abschlämmen aus dem wie oben hergestellten Krystallmehl gewinnen, indem man dieses in 95-procentigen Alkohol einträgt, das Ganze lebhaft umrührt, dann absitzen lässt, und den oberen Theil der Flüssigkeit, in welchem sich die Aminosäure in weissen Flocken suspendirt befindet, von dem schweren Bodensatz schnell abgiesst. Fügt man nun aber zu der Suspension des gesammten Niederschlages in Alkohol etwas concentrirte, flüssige Melasseschlempe, oder verrührt man von vornherein Niederschläge aus Melasseschlempe, denen noch viel Mutterlauge anhaftet, längere Zeit mit Alkohol, so beobachtet man, dass der überstehende Alkohol sich schnell braun färbt, und die anfangs aufgeschwemmte, specifisch sehr leichte Aminosäure sehr bald schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur so vollständig in Lösung

geht, dass in dem zurückbleibenden Bodensatz nichts mehr davon nachzuweisen ist. Die hier vorliegenden Leucin-Substanzen, die an und für sich in reiner Form in kaltem Alkohol absolut unlöslich sind, lösen sich also in demselben sehr leicht bei Gegenwart gewisser, in der flüssigen Melasseschlempe enthaltener, wahrscheinlich aminartiger Verbindungen. Noch mehr lässt sich ihre Löslichkeit in Alkohol durch geringen Zusatz von Ammoniak steigern.

Auf diese Beobachtungen gründet sich folgendes vereinfachtes Verfahren zur Darstellung eines rohen Gemisches von Leucin und Isoleucin, das ich der Kürze halber vorläufig Roh-Leucin nennen will, aus den Niederschlägen von eingedickten Strontian-Entzuckerungslaugen:

Von concentrirten, syrupdicken Strontian-Melasseschlempen, die längere Zeit gestanden und aus denen sich beträchtliche Mengen Abscheidungen niedergeschlagen haben, wird der obere, dünnflüssigere Theil abgossen und der Bodensatz in der oben beschriebenen Weise, aber nur soweit abgesaugt, dass die zurückbleibenden Krystalle gerade noch mit brauner Mutterlauge durchtränkt sind. Der so erhaltene, dicke Krystallbrei wird nun direct in eine geräumige, weithalsige Flasche oder am besten in eine Kugelmühle oder ein ähnliches Rühr- oder Misch-Gefäss eingetragen, zu je 1 kg mit 2 L 95-procentigen Alkohols und 100 cem 25-procentigen wässrigen Ammoniaks überschichtet und das Ganze dann solange kräftig geschüttelt und durchgemischt, bis alles Leucin in Lösung gegangen ist, wofür gewöhnlich $\frac{1}{2}$ —1 Stunde genügt. Darauf lässt man absitzen und giesst dann den tiefdunkelblauen, ammoniakalisch-alkoholischen Extract von dem am Boden und an den Wandungen des Gefässes haftenden, klebrigen, schwarzbraunen Syrup ab. Aus der durch Aufkochen mit Kohle geklärten und filtrirten, alkoholischen Lösung destillirt man auf dem Wasserbade den Alkohol, der nach event. Zusatz von Ammoniak wieder zur Ausschüttelung von neuen Mengen der Schlempenniederschläge zu verwenden ist. Der erhaltene Extract wird zur Verjagung der letzten Reste Alkohol noch einige Zeit in offener Porzellanschale auf dem Wasserbade erhitzt und dann zur Abkühlung stehen gelassen. Bereits während des Eindampfens scheiden sich daraus Krystallkrusten ab, beim Erkalten besteht der schliesslich resultirende, gelbbraune Syrup vollständig zu einem Krystallbrei. Dieser wird nach einigem Stehen auf einer Nutsche scharf abgesaugt, der Rückstand mehrmals gründlich unter Umrühren mit Alkohol, dem vortheilhaft noch einige Tropfen concentrirten Ammoniaks beigemischt sind, gewaschen und an der Luft oder bei 100° getrocknet. Man gewinnt so die Leucinkörper als lockeres, specifisch äusserst leichtes, fast reinweisses Pulver, das nur minimale Mengen Asche enthält. Bei erschöpfender Extraction und Verarbeitung der alkoholischen Waschwässer erhält man nach diesem Verfahren sehr schnell und bequem aus 1 kg des breiigen Niederschlages der Melasseschlempen im Ganzen 25—30 g eines ziemlich reinen Roh-Leucins.

Die von den Niederschlägen abgossene und abgesaugte, flüssige Melasseschlempe liefert, in gleicher Weise mit denselben Mengen Alkohol und Ammoniak behandelt, einen braunschwarzen Syrup, der erst nach mehreren

Tagen zu krystallisiren beginnt. Die ausgeschiedenen, amorph aussehenden Flocken, deren Menge nach 8 Tagen pro kg Schlempe gewöhnlich 1—2 g beträgt, erweisen sich, mit Alkohol gewaschen und getrocknet, mit dem Roh-Leucin identisch. Die syrupösen Filtrate ergeben bei erneutem Eindampfen und langem Stehen auch hier nur sehr geringe Mengen Krystalle.

Die nach dieser Methode erhaltene Ausbeute lässt auf einen Gesamtgehalt an Roh-Leucin von 1—2 pCt. der Trockensubstanz der Strontian-Entzuckerungslaugen schliessen. Mehr als $\frac{3}{4}$ von dieser Gesamtmenge Roh Leucin sind nach mehrwöchentlicher Aufbewahrung der concentrirten Melasseschlempen auskrystallisirt in den Niederschlägen zu finden.

Nach dem gleichen Ausschüttelungsverfahren kann man auch aus Melasse, die auf ca. 80° Br. = 1.4 spec. Gew. eingedickt ist, ein Roh-Leucin gewinnen, das in allen seinen Eigenschaften mit dem aus Melasseschlempe übereinstimmt. Nur krystallisiren hierbei die Syrupe der ammoniakalisch-alkoholischen Auszüge bei weitem schwieriger, und erst nach mehrwöchentlichem Stehenlassen gelingt es, 1—2 g Roh-Leucin pro kg Melasse daraus abzuscheiden, während der übrige Theil offenbar durch andere, mit in Lösung gegangene Substanzen an der Krystallisation gehindert wird.

Die Eigenschaften des Roh-Leucins aus Melasseschlempen.

Die, wie beschrieben, aus den Abläufen der Zuckerfabrication isolirte Aminosäure zeigte in allen ihren Eigenschaften eine derartige Aehnlichkeit mit dem bekannten *l*-Leucin, dass ich sie anfangs für ein fast einheitliches, nur durch geringe Beimengung von Salzen organischer Säuren und syrupöser Bestandtheile verunreinigtes Rohproduct dieses Körpers ansah, wie man solches bei der Hydrolyse von Eiweissstoffen nach dem alten Verfahren recht häufig erhält.

Krystallisirt man nämlich die rohe Substanz aus verdünntem (ca. 70-procentigem) Alkohol um, so erhält man daraus in einer Ausbeute von ungefähr 70—75 pCt. die charakteristischen, farblosen, glänzenden Blättchen des Leucins, die, offen erhitzt, in Flocken sublimiren und nach 2—3-maligem Umkrystallisiren im geschlossenen Röhrchen constant bei 288—289° unter Schäumen schmelzen, während E. Fischer für reines *l*-Leucin den corrigirten Schmp. 293—295° angiebt. Die dreimal umkrystallisirte und bei 110° getrocknete Verbindung gab bei der Analyse genau auf die Formel des Leucins stimmende Werthe.

0.1682 g Sbst : 0.3370 g CO₂, 0.1524 g H₂O. — 0.1943 g Sbst. : 17.9 ccm N (20°, 767 mm).

C₆H₁₃NO₂. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.
Gef. » 54.64, » 10.06, » 10.71.

Die ebenso gereinigte Substanz löste sich bei 18.5° in 50.35 Theilen Wasser, zeigte also eine etwas geringere Löslichkeit als sie für das natürliche *l*-Leucin von E. Schulze zu 1:46 bei 18° angegeben ist.

Wie das Leucin drehte die Verbindung in wässriger Lösung schwach links, in salzsaurer und alkalischer Lösung rechts. In 22-procentiger Salzsäure ergab die Bestimmung der optischen Drehung der zweimal umkrystallisirten Substanz: $[\alpha]_D^{20} = +19.05^0$ ($c = 4.88$, $d = 1.108$, beobachtet $+2.06^0$ für $l = 2$) und der dreimal krystallisirten Verbindung: $[\alpha]_D^{20} = +18.59^0$ ($c = 4.90$, $d = 1.12$, beobachtet $+0.99^0$ für $l = 1$), d. h. also etwas höhere Werthe als sie die von Mauthner¹⁾ aus Casein ($+17.54^0$ in 10-procentiger Salzsäure) und von Schulze und Bosshard²⁾, sowie Schulze und Likiernik³⁾ aus Conglutin ($+17.31^0$ in 19-procentiger, $+17.3^0$ in 20-procentiger Salzsäure) gewonnenen Leucin-Präparate zeigten, die auch nach E. Fischer's⁴⁾ Beobachtungen als die reinsten bisher gefundenen gelten können. Die specifische Drehung derselben Substanz in Wasser wurde zu $[\alpha]_D^{20} = -1.75^0$ ($c = 1.71$, $d = 1.0029$, beobachtet -0.06^0 für $l = 2$), in 0.2-procentiger Natronlauge zu $[\alpha]_D^{20} = +10.29^0$ ($c = 2.257$, $d = 1.012$, beobachtet $+0.47^0$ für $l = 2$) ermittelt, während nach Mauthner⁵⁾ Leucin aus Casein in ca. 10-procentiger Kalilauge $+6.65^0$ für $c = 5.6$ dreht.

Bis auf gewisse Differenzen in den physikalischen Constanten schien also die von mir isolirte Substanz mit dem activen Leucin, wie man solches gewöhnlich aus Eiweissstoffen erhält, identisch zu sein. Eine ähnliche Substanz hat bereits vor langer Zeit v. Lippmann⁶⁾ in der Rübe gefunden. Wenigstens hielt dieser Forscher eine Verbindung mit dem Leucin thierischen Ursprungs für identisch, die er in geringen Mengen aus einer nach dem Scheibler'schen Elutionsverfahren entzuckerten Melasse und später aus Rübenkeimlingen isoliren konnte. Dieses Leucin krystallisirte in weissen Blättchen, die bei 168° schmolzen, theilweise sublimirten und nach Landolt's Untersuchung in 4-procentiger Natronlauge eine Drehung von $\alpha_D = +8.05^0$ ($c = 2.371$ und $t = 20^0$) zeigten. Da die Drehung in salzsaurer Lösung nicht angegeben ist, so lässt sich mit dem nach heutigen Begriffen reinsten Leucin ein weiterer Vergleich nicht ziehen, um so weniger als das von v. Lippmann gefundene Leucin ca. 130° niedriger schmilzt als das von Fischer rein dargestellte. Das von mir aus Melasseschlempe isolirte Leucin differirt ausser im Schmelzpunkt von dem v. Lippmann'schen sehr wesentlich darin, dass Letzteres aus seiner concentrirten, salzsauren Lösung durch Platinchlorid in

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 222.

2) Ibid. 9, 100.

3) Diese Berichte 26, 56 [1893].

4) Ibid. 34, 446 [1902].

5) l. c.

6) Diese Berichte 17, 2835 [1834].

Form eines gelben, krystallinischen Doppelsalzes gefällt werden kann, während das Leucin aus Melasseschlempe ein in Wasser und Alkohol sehr leicht lösliches Platinsalz bildet, das erst bei starkem Eindampfen in Form eines langsam krystallisirenden, gelben Syrups erhalten wird.

Die weitere Untersuchung zeigte nun, dass die aus Strontianmelasseschlempe in der beschriebenen Weise dargestellte, in ihrer Zusammensetzung auf die Formel des Leucins stimmende Substanz trotz ihrer grossen Aehnlichkeit mit dem *l*-Leucin nicht einheitlich war, sondern aus einem Gemisch von *r*-Leucin, *l*-Leucin und einem Isomeren des Leucins, dem *d*-Isoleucin, bestand.

Schon das eigenartige Verhalten der Kupfersalze deutete darauf hin, dass hier ein Gemisch chemischer Verbindungen vorlag. Nach der allgemeinen Annahme ist das Leucinkupfer in Wasser praktisch fast unlöslich¹⁾, und man hat sogar vorgeschlagen, diese Schwerlöslichkeit des Kupfersalzes für eine quantitative Bestimmungsmethode des Leucins zu benutzen. Ausnahmen von dieser Regel sind ausser von E. Schulze und E. Fischer, wie erwähnt, auch sonst häufig beobachtet worden, doch wurde dieser Erscheinung nie eine besondere Bedeutung beigemessen. Man hat in solchen Fällen die leichtere Löslichkeit des Leucinkupfers in Wasser in der Weise zu erklären versucht, dass das Kupfersalz durch Salze ähnlicher Verbindungen, wie z. B. der Aminovaleriansäure, in Lösung gehalten wurde oder sonst irgendwie verunreinigt war. Es war nun auffallend, dass auch das gereinigte »Leucin« aus Melasseschlempe deutlich zwei verschiedene Kupfersalze gab, ein in Wasser schwer und ein sehr leicht lösliches. Trug man in kochende, wässrige Lösung des Leucins Kupfercarbonat ein, so schied sich unter gleichzeitiger Kohlensäureentwicklung fast sofort an der Oberfläche ein mattblaues Salz aus, während sich die Lösung schnell tiefblau färbte. Nach längerem Kochen wurde von dem ausgeschiedenen Salz und dem überschüssigen Kupfercarbonat heiss abfiltrirt. Aus dem abgekühlten Filtrat krystallisirten dunkelblaue Blättchen. Aehnliche Krystalle wurden bei fast vollständigem Verdampfen der Mutterlauge erhalten. Beide in Wasser leicht lösliche Fractionen zeigten bei 110° getrocknet und analysirt auf die Bruttoformel des Leucinkupfers stimmende Werthe.

Fraction I: 0.1788 g Sbst.: 0.0442 g CuO.

» II: 0.1811 g Sbst.: 0.0446 g CuO.

$C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$. Ber. Cu 19.50. Gef. Cu I. 19.71, II. 19.67.

Auch das Verhalten seiner Benzolsulfoverbindung zeigte, dass das Leucin aus Melasseschlempe kein einheitlicher Körper war. Nach

¹⁾ Nach Hofmeister (Ann. d. Chem. 189, 16) löst sich 1 Theil Leucinkupfer in 3045 Theilen kaltem und 1460 Theilen siedendem Wasser.

E. Fischer schmilzt actives Benzolsulfoleucin¹⁾ bei 119 - 120° (corr.) und inactives Benzolsulfo-*r*-Leucin²⁾ bei 146° (corr.). Die nach dem gleichen Verfahren hergestellte Benzolsulfoverbindung des oben erwähnten reinen Leucins wies nun nach zweimaligem Umkrystallisiren aus Benzol einen undeutlichen, bis 5° über dem des Racemkörpers liegenden Schmelzpunkt auf, trotzdem sie optisch activ war, während aus den Mutterlaugen je nach der Reinigung niedriger und höher als das active Benzolsulfoleucin schmelzende Verbindungen erhalten wurden.

Eine Erklärung für diese Erscheinungen ergab erst die nähere Untersuchung der alkoholischen Mutterlaugen des durch Umkrystallisiren aus dem ursprünglichen Rohproduct zuerst erhaltenen Leucins. Als diese nämlich von den einzelnen Darstellungen her gesammelt, eingedampft und der Rückstand durch Umlösen aus Alkohol gereinigt wurde, erhielt man Präparate von der Zusammensetzung des Leucins, aber von bedeutend stärkerer Drehung in 22-procentiger Salzsäure (z. B. $[\alpha]_D^{20} = +26.89^\circ$ und $+28.12^\circ$) und grösserer Löslichkeit in Wasser (durchschnittlich 1 : 30 bei 19°), die sich nun von dem bisher bekannten activen Leucin fundamental dadurch unterschieden, dass sie in wässriger Lösung deutlich rechts drehten. Aehnliche Leucine liessen sich aus den in Wasser leicht löslichen Fractionen der Kupfersalze des Rohleucins gewinnen. Dieselben besaßen je nach der Art der Darstellung und dem Grade der Reinigung schwankende, zum Theil noch höhere Drehungen in salzsaurer und wässriger Lösung. Doch war es in keinem Falle möglich, Verbindungen mit einheitlich schmelzenden Derivaten zu erhalten. Versuche in den verschiedensten Richtungen, durch fractionirte Krystallisation von Salzen, Derivaten etc. eine Trennung der einzelnen Körper zu erzielen, schlugen ebenso fehl, da stets Mischkrystalle des Leucins und eines hier offenbar neben ihm vorhandenen Isomeren in wechselnden Mengenverhältnissen resultirten, die auf keine Weise weiter zu zerlegen waren.

Eine bequeme und einfache Methode zur Isolirung und Reindarstellung des Isoleucins ergab sich schliesslich auf Grund der Beobachtung, dass sich Isoleucinkupfer vollkommen abweichend vom Leucinkupfer leicht in Alkohol und ganz besonders leicht in Methylalkohol löst.

Darstellung des Isoleucins aus dem Rohleucin der Strontian-Entzuckerungslaugen.

Zur Darstellung des Isoleucins verwendet man das nach obiger Beschreibung aus Strontian-Melasseschlempe gewonnene Rohleucin direct,

¹⁾ Diese Berichte 34, 449 [1900].

²⁾ Diese Berichte 33, 2380 [1899].

ohne dasselbe zuvor umzukrystallisiren, da hierbei ein sehr grosser Theil dieser Verbindung in die Mutterlaugen übergeht.

Das Rohleucin wird zunächst am besten in kleinen Portionen in die Kupfersalze übergeführt. Zu diesem Zweck werden 20 g des Rohproductes in einer geräumigen Porzellanschale in 1 Liter Wasser gelöst und in die kochende Lösung 15 g sehr fein gepulvertes Kupfercarbonat unter stetem Rühren eingetragen, wobei sich unter Aufbrausen die Oberfläche der Lösung nach kurzer Zeit mit einer mattblauen Krystallabscheidung überzieht, während die Flüssigkeit schnell eine tiefblaue Färbung annimmt. Nachdem die Eintragung beendet ist, wird das Ganze ohne weiteres unter häufigem Rühren zunächst über freier Flamme bis auf ein kleines Volumen eingekocht und dann auf dem Wasserbade vollständig zur Trockne verdampft. Der hellblaue, mit grünen Theilchen des überschüssigen Kupfercarbonats durchsetzte Rückstand wird gesammelt und in einem Extractionsapparat mit eingeschlifftem Aufsatz und Kühler in einer Filtrirpapierhülse mittels reinem, concentrirtem Methylalkohol auf dem Wasserbade erschöpfend extrahirt. Die Hauptmenge des Isoleucinkupfers geht hierbei bereits in 1–2 Stunden in Lösung, zur möglichst vollständigen Extraction desselben sind ca. 24 Stunden erforderlich. Der so erhaltene, tiefdunkelblau gefärbte Extract wird nach dem Abkühlen mit Methylalkohol auf ungefähr $\frac{1}{2}$ Liter verdünnt, kurze Zeit geschüttelt und dann von geringen Mengen eines ungelöst in der Flüssigkeit herumschwimmenden, hellblauen Salzes abfiltrirt, wobei mit demselben Lösungsmittel nachgewaschen wird. Aus dem klaren, intensiv blauen Filtrat wird nun vorsichtig auf dem Wasserbade der Methylalkohol verdampft. Die zurückbleibenden Krystallkrusten (8 g) wurden in wenig 90-procentigem Aethylalkohol durch Kochen am Rückflusskühler gelöst. Aus der heiss gesättigten Lösung krystallisirt beim Abkühlen reines Isoleucinkupfer in prächtig glänzenden, dunkelblauen Blättchen. Die alkoholische Mutterlauge liefert beim Einengen weitere Mengen desselben Salzes. Das Kupfersalz wird nach dem Abfiltriren und Trocknen in wässriger Lösung mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Hierbei erhält man stets dunkelgrüne, colloïdale Lösungen von Schwefelkupfer, die auch durch noch so langes Einleiten von Schwefelwasserstoff und Kochen nicht zum Absetzen zu bringen sind. Klar filtrirbare Flüssigkeiten ergeben sich erst, wenn man nach dem Abkühlen der Lösung in Wasser aufgeschlämmtes, frisch gefälltes Aluminiumhydroxyd¹⁾ zufügt. Die klaren Filtrate wurden auf dem Wasser zur Trockne verdampft. Den blättrigen Rückstand suspendirt man in heissem Alkohol und setzt hierzu unter stetem Kochen in kleinen Portionen so viel Wasser, dass gerade vollständige Lösung eintritt. Von einer etwa zurückbleibenden, von anorganischen Bestandtheilen herrührenden Trübung wird nach Aufkochen mit Thierkohle abfiltrirt und das Filtrat mit absolutem Alkohol bis zur beginnenden Krystallisation versetzt. Nach 2–3-maligem Umkrystallisiren erhält man in der angegebenen Weise vollkommen reines, aschefreies Isoleucin.

¹⁾ Als »Scheibler'scher Thonerdebrei« bei der Zuckeranalyse zur Klärung der Polarisationslösungen benutzt.

Aus dem bei der Extraction mit Methylalkohol unlöslich gebliebenen Kupfersalz kann man noch ca. 1.5 g Isoleucinkupfer gewinnen, wenn man dasselbe mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das frei gewordene Leucin wieder in die Kupfersalze überführt und diese nach dem Eintrocknen von neuem mit Methylalkohol auslaugt.

Die Gesamtausbeute an reinem Isoleucin nach der beschriebenen Methode beträgt, wenn die alkoholischen Mutterlaugen vollständig aufgearbeitet werden, durchschnittlich 6.5 g aus 20 g Roh-Leucin der Strontian-Melasseschlempen.

d-Isoleucin.

Bei schnellem Abkühlen seiner heiss gesättigten alkoholischen Lösungen krystallisirt das Isoleucin in glänzenden Blättchen, die äusserlich vom Leucin nicht zu unterscheiden sind. Lässt man die reine Verbindung langsam innerhalb einiger Tage aus schwach übersättigten Lösungen in 70—80-procentigem Alkohol auskrystallisiren, so erhält man das Isoleucin in centimeterlangen, dünnen Stäbchen und Täfelchen von rhombischem Habitus mit theils abgestumpften, theils an einer Seite keilförmig zugespitzten Ecken, die in Sternchen und Büscheln angeordnet sind und lufttrocken einen prächtigen seide- und glimmerähnlichen Glanz zeigen. Die Substanz krystallisirt wasser- und alkoholfrei. Die trocknen Krystalle besitzen ein äusserst geringes specifisches Gewicht, sie haften hartnäckig an Glas, Papier und Metall und zeigen stark elektrische Eigenschaften. Zur Analyse wurde die 2 Mal aus Alkohol umkrystallisirte Substanz bei 110° getrocknet.

0.1864 g Sbst.: 0.3730 g CO₂, 0.1656 g H₂O. — 0.2696 g Sbst : 25 ccm N (15°, 756 mm).

C₆H₁₃NO₂. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.
Gef. » 54.59, » 9.94, » 10.86.

Nach 2-maligem Umkrystallisiren schmilzt das Isoleucin, im geschlossenen Capillarrohr schnell erhitzt, constant bei 280° unter Schäumen zu einer klaren Flüssigkeit. Bei vorsichtigem Erhitzen im offenen Röhrchen beginnt die Substanz bei 230° in wolligen Flocken zu sublimiren, wobei sich gleichzeitig ein sehr eigenthümlicher Geruch wie nach zerriebenen frischen, grünen Pflanzen, etwa Bohnen, bemerkbar macht.

Das reine *d*-Isoleucin wird von Wasser sehr schwer benetzt, löst sich aber bei längerem Schütteln darin weit leichter als das *l*-Leucin.

Zur Bestimmung der Löslichkeit des *d*-Isoleucins aus Strontian-Melasseschlempe wurde das 2 Mal umkrystallisirte Präparat mit einer zur Lösung ungenügenden Menge Wasser 24 Std. auf einer Schüttelmaschine bei Zimmertemperatur geschüttelt. Es erfordert danach 1 Theil *d*-Isoleucin bei 15.50 zur Lösung 25.84 Theile Wasser.

Die wässrigen Lösungen auch des reinsten Isoleucins zeigen ebenso wie die Verbindung selbst einen schwach adstringenden, bitteren, kreideähnlichen Geschmack.

In absolutem Methyl- und Aethyl-Alkohol ist das *d*-Isoleucin kalt unlöslich, löst sich aber darin in der Hitze, besonders in Methylalkohol, merkbar. Die Löslichkeit nimmt mit steigendem Wassergehalt dieser Solventien schnell zu. In heissem Eisessig und concentrirtem Glycerin ist das Isoleucin leicht löslich, schwerer in heissem Anilin. Von allen übrigen Lösungsmitteln wird es auch in der Hitze nicht aufgenommen.

Das Isoleucin dreht in wässriger, saurer und alkalischer Lösung die Polarisationsebene des Lichtes nach rechts, am stärksten in salzsaurer Lösung. Bei den Bestimmungen der verschiedenen optischen Drehungsvermögen wurden die von früheren Forschern für das active Leucin und seine Derivate gewählten Concentrationsbedingungen zum Zwecke des besseren Vergleiches möglichst innegehalten. Es wurde ein 2 Mal aus Alkohol umkrystallisirtes Präparat angewandt, dessen Kupfersalz zuvor ebenfalls durch 2-maliges Umlösen aus Alkohol gereinigt war.

Specifische Drehung¹⁾ des Isoleucins in wässriger Lösung.

Zur Beobachtung der Drehung wurde die bei 15.5° gesättigte Lösung benutzt. Gewicht der Lösung 22.3568 g, Gehalt an Isoleucin 0.8660 g. Procentgehalt 3.87. Specifisches Gewicht der Lösung 1.0078. Temperatur 20° Drehung im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht + 0.76°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 9.74^{\circ}.$$

Specifische Drehung des Isoleucins in 20-procentiger Salzsäure.

0.7448 g Isoleucin, 16.2990 g Lösung. Procentgehalt 4.57. Specifisches Gewicht 1.091. Temperatur 20°. Drehung im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht + 3.68°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 36.80^{\circ}.$$

Specifische Drehung des Isoleucins in schwach alkalischer Lösung.

0.5100 g Isoleucin in 5 ccm *n*-Natronlauge gelöst (statt der zur Ueberführung in das Natriumsalz theoretisch berechneten Menge von 3.8 ccm

¹⁾ Diese und die sonstigen, in dieser Arbeit mitgetheilten, specifischen Drehungen sind bei Natriumlicht mittels eines Lippich'schen Halbschatten-Kreisapparates beobachtet worden, der eine Genauigkeit der Ablesung von 0.01° gestattete. Die beobachteten Werthe wurden an einem Soleil-Ventzke-Peters'schen Saccharimeter controllirt, das durch eine Kaliumbichromatschicht mit Auer-Licht sehr kräftig beleuchtet war. Die mit letzterem Apparat gefundenen Ablesungen ergaben mit der Rimbach'schen Zahl 0.344 multiplicirt fast stets genaue Uebereinstimmung mit den am Kreisapparat direct ermittelten Drehungen. Die Höchstdifferenzen betragen 0.03°.

n-NaOH), mit Wasser nachgefüllt, bis das Gesamtgewicht der Lösung 15.5682 g betrug. Procentgehalt 3.28. Specificisches Gewicht 1.017. Temperatur 20°. Drehung im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht + 0.74°.

$$[\alpha]_D^{20} = + 11.09^{\circ}.$$

Die Bleisalze des Isoleucins zeigen dagegen starke Linksdrehung. Fügt man zu einer gesättigten wässrigen Lösung des Isoleucins das gleiche Volumen von 10-procentigem Bleiessig, so wird die Lösung sofort linksdrehend und zwar ungefähr 4 Mal so stark wie vorher rechtsdrehend.

Salze und Derivate des *d*-Isoleucins.

Mit Säuren und Alkalien bildet das Isoleucin Salze, die alle in Wasser sehr leicht löslich sind.

d-Isoleucin-chlorhydrat erhält man beim Eindampfen der salzsauren Lösung des Isoleucins in strahligen Aggregaten. Auf Thon und bei Wasserbadwärme getrocknet, bildet es glänzende, luftbeständige Blättchen, die sich sehr leicht in Wasser, Alkohol und auch in einer Mischung von gleichen Theilen Alkohol und Aether lösen. Aus der concentrirten Lösung in Alkohol lassen sie sich durch viel Aether in feinen Nadelchen fällen.

Das Platin-Doppelsalz wird erst beim starken Eindampfen der Lösungen des Chlorhydrats mit Platinchlorid als rothgelbe, blättrige Krystallmasse gewonnen, die in Wasser und Alkohol äusserst leicht löslich ist.

Besonders charakteristisch in seiner äusseren Form und in seinen Eigenschaften ist von allen seinen Verbindungen das

Kupfersalz des *d*-Isoleucins,

das durch Kochen seiner wässrigen Lösung mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd oder käuflichem Kupfercarbonat, Eindampfen des Filtrats und Umkrystallisiren des Rückstandes aus Wasser oder Alkohol leicht rein darzustellen ist. Es krystallisirt ohne Krystall-Wasser oder -Alkohol.

I. Aus Alkohol (im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet):

0.7128 g Sbst.: 0.1752 g CuO.

II. Aus Wasser (bei 110° getrocknet):

0.4694 g Sbst.: 0.1162 g CuO.

$C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$. Ber. Cu 19.50. Gef. Cu I. 19.63, II. 19.77.

Das *d*-Isoleucin-Kupfer krystallisirt in sternchen-, büschel- und rosetten-artig gruppirten Blättchen, die unter dem Mikroskop als schmale, längliche, an einem Ende zugespitzte Stäbchen erscheinen und oft in Zwillingkrystallen von herzförmigem Aussehen auftreten. Am besten aus ca. 90-procentigem Alkohol umkrystallisirt, besitzt das lufttrockne Kupfersalz gewöhnlich eine prächtige, tiefdunkelblaue Farbe und im

seitlichen Lichte besehen, einen mattgrauen, silberähnlichen Glanz. Je nach der Concentration des Alkohols, aus dem das Salz umkrystallisirt ist, und je nach dem Concentrationsgrade der Lösung und der Schnelligkeit der Abkühlung ist die blaue Farbennuance des Isoleucinkupfers eine andere. Beim Eindampfen seiner Lösungen zur vollständigen Trockne, bei sehr schneller Abkühlung oder bei Ausscheidung aus weniger reinen Lösungen erhält man das Salz meist in violett bis hellmatt-blauer Farbe, die indess beim Betupfen des trocknen Isoleucinkupfers mit Methylalkohol stets sofort in ein intensives Blau umschlägt.

Sehr eigenthümlich und für das Kupfersalz einer organischen Verbindung wohl beispieillos sind die Löslichkeitsverhältnisse des Isoleucinkupfers.

Das Salz wird von kaltem Wasser sehr schwer benetzt, löst sich aber bei längerem Schütteln darin ziemlich leicht, wesentlich leichter in der Hitze. Ungefähr ebenso leicht löslich ist es in heissem Aethylalkohol. Es löst sich dagegen in concentrirtem Methylalkohol schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur beim Schütteln spielend mit intensiv dunkelblauer Farbe.

Zur Bestimmung der Löslichkeit des *d*-Isoleucinkupfers in diesen drei Solventien diente ein mit Methylalkohol extrahirtes Salz, das ein Mal aus Wasser und dann zwei Mal aus Aethylalkohol umkrystallisirt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet war.

Löslichkeit ¹⁾ des <i>d</i> -Isoleucinkupfers in Wasser von 17°	1:278
» » » » » 99-proc. Aethylalkohol von 18°	1:476
» » » » » concentrirtem Methylalkohol von 17°	1:55.

In den höheren Homologen des Methylalkohols löst sich das *d*-Isoleucin-Kupfer zunehmend schwerer, doch wird es noch von Amylalkohol in der Hitze deutlich gelöst. Sehr merkwürdig ist die überaus leichte Löslichkeit des Salzes in Benzylalkohol. Es wird nämlich von reinem, concentrirtem Benzylalkohol vom Sdp. 206° schon beim Schütteln bei gewöhnlicher Zimmertemperatur mit fast derselben Leichtigkeit und derselben tiefdunkelblauen Farbe wie von Methylalkohol aufgenommen und aus dieser Lösung durch viel Aether unverändert als hellblaues Pulver gefällt. Man kann das Verhalten gegen Methyl- und Benzyl-Alkohol sehr gut zum Nachweis des freien Isoleucins benutzen, da Mengen von 0.001 g Isoleucin-Kupfer noch deutlich blaue Lösungen mit 1—2 ccm dieser Alkohole geben. Ob ebenso wie der Benzylalkohol auch alle übrigen, durch aromatische

¹⁾ Die betreffenden Lösungsmittel wurden mit einem Ueberschuss des Salzes 24 Stunden geschüttelt.

Gruppen substituirten Methylalkohole ein ähnlich grosses Lösungsvermögen für Isoleucin-Kupfer besitzen, habe ich, da mir solche nicht zur Verfügung standen, bisher nicht weiter feststellen können.

In heissem Acetessigester und in heissem Benzaldehyd löst sich das Kupfersalz des Isoleucins mit grüner Farbe, wobei offenbar Reactionen stattfinden. Kocht man Isoleucin-Kupfer mit concentrirtem Glycerin, so tritt schnell Lösung ein, und es scheidet sich bald darauf rothes Kupferoxydul aus. In Essigester, Aceton und allen übrigen Lösungsmitteln ist das Salz vollkommen unlöslich.

Das *d*-Isoleucin-Silber wird durch Fällen der wässrigen Lösung von Isoleucin mit Silbernitrat und Baryt- oder Kalk-Wasser nach der Kutscher'schen Methode als weisser, flockig-krystallinischer Niederschlag gewonnen, der sich trocken am Lichte violett färbt. Es ist in heissem Wasser löslich, in allen sonstigen Solventien unlöslich. Zur Analyse wurde das Salz im Vacuum getrocknet.

0.1236 g Sbst.: 0.0562 g Ag.

$C_6H_{12}NO_2$ Ag. Ber. Ag 45.38. Gef. Ag 45.47.

Durch alle übrigen Reagentien, wie Bleiessig, Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdän-Säure, Pikrinsäure, Gerbsäure, Quecksilberoxydul- und Quecksilberoxyd-Nitrat etc. ist das *d*-Isoleucin auch aus concentrirten Lösungen nicht fällbar und giebt weder mit Millon's Reagens noch mit irgend einem anderen, das für Eiweiss oder für Eiweisspaltungsproducte typisch ist, Niederschläge.

Das active Isoleucin ist durch 20-stündiges Erhitzen mit Barytwasser im Autoclaven auf 180° vollständig racemisirbar. Das *r*-Isoleucin-Kupfer zeigt ebenfalls grosse Löslichkeit in Methylalkohol. Ueber die Eigenschaften und Verbindungen des *r*-Isoleucins wird späterhin weiteres berichtet werden.

Sehr ähnlich in ihrer Krystallform und in ihrem chemischen Verhalten, aber wesentlich abweichend in den Werthen ihrer physikalischen Constanten gegenüber den entsprechenden Verbindungen des activen Leucins und der activen α -Amino-*n*-capronsäure sind die Derivate des *d*-Isoleucins. Im Folgenden sind seine Benzoyl-, Benzolsulfo-, Phenylecyanat- und Hydantoïn-Verbindungen beschrieben, die sich nach den von E. Fischer für die analogen Körper aus *l*-, *d*- und *r*-Leucin angegebenen Verfahren leicht und mit guter Ausbeute gewinnen lassen und für die genaue Identificirung des *d*-Isoleucins sehr geeignet sind.

Benzoyl-*d*-Isoleucin.

3 g reines *d*-Isoleucin wurden in 23 ccm Normalnatronlauge und 60 ccm Wasser gelöst und in die Lösung 11.5 g Natriumbicarbonat und unter stetem Schütteln im Verlauf von 4½ Stunden in kleinen Portionen 9.6 g Benzoylchlorid eingetragen. Nach kurzer Behandlung der Lösung mit Thierkohle

wurde darauf abfiltrirt, das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert und längere Zeit kühl aufbewahrt. Die aus der anfänglich entstandenen Emulsion sich schnell absetzende Krystallmasse wurde nunmehr scharf abgeseugt, mit kaltem Wasser gewaschen und über Nacht zwischen Fiesspapier an der Luft getrocknet. Beim Auskochen der trocknen Krystalle mit Ligroïn zur Entfernung der Benzoësäure zeigte es sich, dass dabei auch wesentliche Mengen des Benzoylkörpers in Lösung und somit für die Ausbeute verloren gehen. Man verfährt daher zweckmässiger, wenn man das zuerst erhaltene Gemisch von Benzoylverbindung und Benzoësäure in der Kälte mit Benzol kräftig schüttelt, wobei sich Letztere spielend leicht löst, ein Verfahren, das sich zur Extraction der nebenher gebildeten Benzoësäure auch bei der Darstellung anderer, in heissem Ligroïn löslicher Benzoylkörper zu bewähren scheint. Der mehrfach mit kaltem Benzol ausgewaschene Rückstand wird in viel Wasser heiss gelöst, die Lösung mit Thierkohle aufgeköcht und filtrirt. Beim Abkühlen trübt sich die Flüssigkeit zunächst emulsionsartig, und es scheidet sich dann beim Reiben an den Wänden oder nach Impfung langsam ein Haufwerk farbloser, langer, glänzender Nadelchen und Stäbchen aus. Die Substanz krystallisirt wasserfrei. Zur Analyse wurde die zweimal aus Wasser umkrystallisirte Verbindung im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet.

0.1965 g Sbst.: 0.4774 g CO₂, 0.1294 g H₂O. — 0.1420 g Sbst.: 7.6 cem N (12°, 746 mm).

C₁₃H₁₇NO₃. Ber. C 66.38, H 7.23, N 5.96.

Gef. » 66.27, » 7.37, » 6.26.

Die Ausbeute an reiner Substanz betrug 3 g.

Das Benzoyl-*d*-Isoleucin sintert bei 114° und schmilzt bei 116—117°. Es ist in kaltem Wasser sehr schwer löslich, bedeutend leichter dagegen in heissem. Schwer, aber merkbar löslich ist die reine Substanz ferner in Ligroïn und Schwefelkohlenstoff. Von warmem Benzol und Toluol wird sie leicht, sehr leicht schon bei gewöhnlicher Temperatur von Alkohol, Aether, Essigester und Aceton aufgenommen.

Zur Bestimmung seines optischen Drehungsvermögens wurde das zweimal umkrystallisirte Benzoyl-*d*-Isoleucin in einem geringen Ueberschuss der zur Ueberführung in das Natriumsalz berechneten Menge Normalnatronlauge gelöst.

Angewandt 1.4612 g Benzoyl-*d*-Isoleucin, Gewicht der Lösung incl. 9 cem *n*-NaOH 19.6544 g; Procentgehalt 7.43. Spec. Gewicht 1.031. Drehung bei 20° im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht + 4.04°.

Specifische Drehung des Benzoyl-*d*-Isoleucins in alkalischer Lösung:

$$[\alpha]_D^{20} = + 26.36^\circ.$$

Benzolsulfo-*d*-Isoleucin.

2.5 g *d*-Isoleucin wurden in 20 cem Normalnatronlauge gelöst und zu der Lösung unter andauerndem Schütteln abwechselnd in kleinen Portionen 7.5 g Benzolsulfochlorid und 30 cem 22-procentiger Kalilauge gefügt. In 2 Stunden war die Eintragung beendet. Nach kurzem Schütteln mit Thierkohle wurde

abfiltrirt und das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert. Das ausgefallene Oel erstarrte beim Reiben krystallinisch. Die feste Krystallmasse (3 g) wurde abgeseugt und mehrmals aus Benzol umkrystallisirt. Es wurden auf diese Weise farblose, lanzettförmige Nadeln und Stäbchen erhalten, die, über Schwefelsäure getrocknet, bei 100° nicht an Gewicht verloren.

0.2020 g Sbst.: 0.3931 g CO₂, 0.1149 g H₂O. — 0.1968 g Sbst.: 8.8 ccm N (14°, 753 mm). — 0.1905 g Sbst.: 0.1604 g BaSO₄.

C₁₂H₁₇NO₄S. Ber. C 53.14, H 6.26, N 5.16, S 11.81.

Gef. » 53.08, » 6.37, » 5.24, S 11.58.

Das Benzolsulfo-*d*-Isoleucin schmilzt bei 149–150° nach vorherigem Sintern zu einer klaren Flüssigkeit. Es löst sich leicht in heissem Wasser, Benzol, Toluol und Chloroform, sehr leicht schon kalt in Alkohol, Aether, Aceton und Essigester. In Ligroin und Schwefelkohlenstoff ist es fast unlöslich.

Seine Drehung wurde in schwach alkalischer Lösung bestimmt.

1.5010 g Sbst.: Lösung incl. 6 ccm *n*-NaOH 19.7118 g; Procentgehalt 7.62. Specif. Gewicht 1.030. Drehung bei 20° im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht — 1.89°.

Specifische Drehung des Benzolsulfo-*d*-Isoleucins in alkalischer Lösung:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -12.04^{\circ}.$$

d-Isoleucin-Phenylisocyanat.

2 g *d*-Isoleucin wurden in 16 ccm Normal-Natronlauge gelöst, die Lösung in einer Kältemischung stark abgekühlt und hierzu allmählich in kleinen Quanten unter starkem Schütteln 2 g Phenylisocyanat gegeben. Nach ungefähr einer Stunde war die Eintragung des Phenylcyanats beendet, und die Flüssigkeit begann, sich durch Ausscheidung von Diphenylharnstoff milchig zu trüben. Es wurde nunmehr kurze Zeit mit Thierkohle geschüttelt, abfiltrirt und das Filtrat mit Salzsäure angesäuert. Dabei fiel eine weisse klebrige Masse aus, die oft erst nach starkem Abkühlen der Lösung und längerem Reiben resp. durch Impfung sich in harte Krystallkrusten verwandelte. Die Menge des abgeseugten, mit kaltem Wasser gewaschenen und an der Luft getrockneten Rohproductes betrug 3.5 g. Durch Eindampfen des salzsauren Filtrats liessen sich noch 0.35 g Substanz in Form des Hydantoins gewinnen (s. unten). Zur Reinigung wird die Verbindung am besten in wenig kaltem Alkohol gelöst und bis zur starken Trübung mit Wasser versetzt. Beim Reiben oder Impfen unter gleichzeitiger Kühlung krystallisirt daraus allmählich die Phenylisocyanat-Verbindung des *d*-Isoleucins, die nach Wiederholung dieser Operation in weissen glänzenden Blättchen rein gewonnen wird. Für die Analyse wurde die Substanz über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

0.1804 g Sbst.: 0.4107 g CO₂, 0.1170 g H₂O. — 0.1800 g Sbst.: 17.0 ccm N (14°, 756 mm).

C₁₃H₁₈N₂O₃. Ber. C 62.40, H 7.20, N 11.20

Gef. » 62.10, » 7.26, » 11.10.

Das *d*-Isoleucin-Phenylisocyanat schmilzt bei 119–120° unter Schäumen zu einer klaren Flüssigkeit. Es ist unlöslich in kaltem Wasser, leicht löslich in heissem Wasser und in Chloroform. Sehr leicht wird es von kaltem Alkohol, Aether, Aceton und Essigester aufgenommen, schwer von Benzol, noch schwerer von Ligroin und fast garnicht von Schwefelkohlenstoff.

Zur Bestimmung ihrer specifischen Drehung wurde die Verbindung in *n*-Natronlauge gelöst.

0.8124 g Sbst.: 15.4248 g Lösung; Procentgehalt 5.27. Specif. Gewicht 1.049. Drehung bei 20° im 2 dm-Rohr bei Natriumlicht + 1.65°.

Specifische Drehung des *d*-Isoleucin-Phenylisocyanats in alkalischer Lösung
 $[\alpha]_D^{20} = + 14.92^\circ$.

Das

Phenylhydantoïn des *d*-Isoleucins

liess sich anfangs nicht gewinnen, da bei zu langem Kochen der Phenylisocyanat-Verbindung mit Säuren und aus anderen, noch nicht aufgeklärten Gründen oft sehr leicht Verharzung des zuerst entstehenden Körpers eintritt. Es wurde schliesslich in der Weise erhalten, dass man 1 g des *d*-Isoleucin-Phenylisocyanats mit 100 ccm Salzsäure vom spec. Gewicht 1.124 übergoss und das Ganze über freier Flamme auf ca. 25 ccm einkochte. Beim Abkühlen trübte sich die Flüssigkeit, und es schied sich ein gelbliches Oel ab, das beim Reiben allmählich in ein Haufwerk nadelförmiger Krystalle überging. Man gewinnt so 0.7 g Rohproduct, das mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet wird. Durch zweimaliges Umkrystallisiren aus Ligroin gereinigt, bildet die Hydantoïn-Verbindung des *d*-Isoleucins centimeterlange seidenglänzende Nadeln vom Schmp. 78–79°. Für die Analyse wurde sie 48 Stunden im Vacuum getrocknet.

0.1662 g Sbst.: 17.6 ccm N (17,5°, 754 mm).

$C_{13}H_{16}O_2N_2$. Ber. N 12.07. Gef. N 12.23.

Das Phenylhydantoïn des *d*-Isoleucins löst sich nur sehr schwer in kaltem Wasser und Ligroin. In der Hitze ist seine Löslichkeit in Ligroin stärker als in Wasser, aus dem es sich beim Erkalten zuerst ölförmig abscheidet. Von allen übrigen Lösungsmitteln, auch von Amylalkohol, Pyridin, Nitrobenzol, Anilin, wird die Substanz schon bei gewöhnlicher Temperatur spielend in grossen Mengen aufgenommen.

Im Gegensatz zu allen bisher untersuchten Derivaten des *d*-Isoleucins dreht seine Phenylhydantoïn-Verbindung in alkoholischer Lösung stark links.

d-Isoleucin aus Blutfibrin.

Die grosse Aehnlichkeit des Isoleucins in seinem ganzen Verhalten mit dem bekannten Leucin und das gemeinsame Auftreten beider

Körper in den Abfällen der Rübenzuckerfabrication legte die Frage nahe, ob das Isoleucin nicht ähnlich wie das Leucin aus dem Rüben-eiweiss entweder schon durch Fermente im Saft der Rübe selbst oder durch Einwirkung des Kalkes und der im Verlaufe des Betriebes freigewordenen Alkalien bei den oft bis zu 125° gesteigerten Temperaturen entstanden war. Andererseits war dem Einwand zu begegnen, dass das Isoleucin der Strontian-Melasseschlempen nicht in seiner ursprünglichen Form vorlag, sondern sich unter dem Einfluss der Hitze und in Folge anderer Reactionen aus anderen, zunächst entstandenen Eiweissabbauprodukten gebildet hatte oder vielleicht auch partiell racemisirt war.

Der exacte Beweis, dass das oben beschriebene *d*-Isoleucin thatsächlich ein primäres Eiweisspaltungsproduct ist, liess sich in der Weise führen, dass es gelang, aus Blutfibrin nach der Verdauung mit Pankreas-Saft eine in wässriger, salzsaurer und alkalischer Lösung rechtsdrehende Substanz von der Bruttoformel $C_6H_{13}NO_2$ zu isoliren, die in allen ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften mit dem *d*-Isoleucin aus Strontian-Entzuckerungslaugen übereinstimmte.

670 g frisches Blutfibrin (entsprechend ca. 150 g Trockensubstanz) wurden in $3\frac{1}{2}$ Liter Wasser suspendirt und nach Zusatz von 120 ccm 10-procentiger Sodalösung und 12 ccm Chloroform mit 2.5 g Pankreatin (Rhenania) 4 Wochen lang im Brutschrank bei 32° verdaut. Die so erhaltene Lösung wurde abcolirt, heiss mit Knochenkohle behandelt, filtrirt und das Filtrat zum Syrup eingedampft. Das sich ausscheidende Gemisch von Leucin und Tyrosin wurde auf einer Nutsche scharf abgesaugt. Der zurückbleibende, von anhaftender Mutterlauge dunkelbraun gefärbte Krystallbrei wurde in eine geräumige Pulverflasche gefüllt, mit $\frac{1}{2}$ Liter 95-procentigem Alkohol und 50 ccm 25-procentigen wässrigen Ammoniaks übergossen und das Ganze längere Zeit gut durchgeschüttelt. Nach dem Absitzenlassen giesst man den dunkelbraunen alkoholischen Extract ab, kocht mit Thierkohle auf und destillirt den Alkohol auf dem Wasserbade ab. Der hellbraun gefärbte Syrup krystallisirt schon während des Eindampfens. Nach dem Erkalten und längeren Stehen wird der entstandene Krystallbrei abgesaugt. Die auf dem Filter zurückbleibenden Leucinkrystalle lassen sich unter gutem Durchrühren durch Waschen mit Alkohol, dem einige ccm wässrigen Ammoniaks zugefügt sind, von der anhaftenden Mutterlauge fast vollständig befreien. Das Durchschütteln des zuerst erhaltenen syropösen Krystallgemisches von Tyrosin und Leucin mit Alkohol und concentrirtem Ammoniak kann in der angegebenen Weise event. unter geringer Steigerung der Ammoniakmenge noch mehrmals wiederholt werden. Die dabei gewonnenen Extracte werden wie beschrieben weiter behandelt und liefern ebenfalls ein verhältnissmässig reines tyrosinfreies Roh-Leucin.

20 g nach diesem Verfahren¹⁾ aus Blutfibrin dargestelltes, fast rein weisses Roh-Leucin wurden in 1½ L Wasser in einer grossen Porzellanschale gelöst und in die kochende Lösung 20 g fein gepulvertes Kupfercarbonat in kleinen Portionen eingetragen. Die Flüssigkeit färbte sich unter Aufbrausen sehr schnell tief blau, während sich bald ein mattblaues Salz an der Oberfläche abzuschneiden begann. Nach Beendigung der Eintragung wurde das Ganze ohne Filtration zur Trockne eingedampft und der hellblaue, pulverisirte Rückstand in der früher angegebenen Weise ca. 48 Stunden mit concentrirtem Methylalkohol extrahirt. Aus dem intensiv dunkelblau gefärbten Extract wurde der Methylalkohol abdestillirt und der trockne Rückstand (5.5 g) aus 90-proc. Alkohol umkrystallisirt, wobei 4.2 g des in den typischen tiefblauen Blättchen anschliessenden Isoleucin-Kupfers erhalten wurden. Eine kleine Probe davon wurde zur Analyse noch einmal umkrystallisirt.

0.1380 g Sbst.: 0.0336 g CuO.

$C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$. Ber. Cu 19.50. Gef. Cu 19.41.

Der übrige Theil (ca. 4 g) des Kupfer-Salzes, das sich auch glatt in Benzylalkohol löste, wurde in ¾ L heissem Wasser suspendirt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Lösung mit Thonerdebrei geklärt. Das Filtrat vom Schwefelkupfer wurde eingedampft und der Rückstand aus Alkohol umkrystallisirt.

Auf diese Weise erhielt ich ca. 2 g glimmerartig glänzende Blättchen, die dasselbe Aussehen und, unter dem Mikroskop betrachtet, dieselbe Krystallform zeigten wie das Isoleucin aus Strontian-Melasseschlempe zeigten. Sie schmolzen, im geschlossenen Capillarrohr schnell erhitzt, constant bei 280° unter Zersetzung. Eine Mischung aus gleichen Theilen des Isoleucins aus Blutfibrin und des Isoleucins aus Melasseschlempe wies genau denselben Schmelzpunkt auf. Im Vacuum getrocknet, verlor die Substanz beim Erhitzen auf 110° nicht an Gewicht.

0.1882 g Sbst.: 17.0 cem N (18°, 765 mm). — 0.1909 g Sbst.: 0.3805 g CO₂, 0.1674 g H₂O.

$C_8H_{13}NO_2$. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.
Gef. » 54.37, » 9.81, » 10.56.

Das Isoleucin aus Blutfibrin, das im übrigen dieselben Löslichkeitsverhältnisse wie das zuerst isolirte besass, drehte in wässriger, salzsaurer und alkalischen Lösung deutlich rechts.

Specifiche Drehung in wässriger Lösung: $[\alpha]_D^{17} = + 8.17^0$
($c = 2.51$, $l = 2$, Drehung bei 17° im Natriumlicht + 0.41°).

Specifiche Drehung in 20-procentiger Salzsäure:

$[\alpha]_D^{18} = + 34.45^0$

($c = 4.01$, $l = 1$, $d = 1.093$, Drehung bei 18° im Natriumlicht + 1.51°).

¹⁾ Ein ähnliches Verfahren, das der Darstellungsmethode des Roh-Leucins aus den Niederschlägen der Strontian-Melasseschlempen nachgebildet ist, habe ich zur möglichst quantitativen Isolirung von tyrosinfreiem Roh-Leucin, d. h. des Gemisches von Leucin und Isoleucin, aus vielen anderen Eiweissstoffen bewährt gefunden.

An der Identität des *d*-Isoleucins aus Blutfibrin mit dem aus den Abfällen der Strontian-Entzuckerung dargestellten ist demnach nicht zu zweifeln. Die verhältnismässig geringen Unterschiede in der Drehung gegenüber dem Letzteren ($[\alpha]_D^{20} = + 9.74^\circ$ in wässriger und $[\alpha]_D^{20} = + 36.80^\circ$ in salzsaurer Lösung) lassen sich ausser durch Differenzen in den Concentrationen und Beobachtungstemperaturen auch leicht dadurch erklären, dass eine so weitgehende Reinigung wie bei dem Isoleucin aus Melasseschlempe aus vorläufigem Mangel an Material mit dem Isoleucin aus Blutfibrin bisher nicht vorgenommen werden konnte. Da die Analyse des Kupfersalzes und der Substanz stimmen, so erscheint es nicht ausgeschlossen, dass dem Präparat noch eine sehr geringe Menge Leucin beigemischt war. Ich behalte mir vor, darüber späterhin eingehend zu berichten.

Jedenfalls geht aber schon aus den obigen Befunden, die das *d* Isoleucin als ein typisches Eiweisspaltungsproduct vollauf kennzeichnen, zur Genüge hervor, dass das *d*-Isoleucin auch in den Strontian-Melasseschlempen in seiner ursprünglichen chemischen und optisch activen Form vorliegt und in den stark alkalischen Säften im Verlauf der Zuckerfabrication keine Racemisirung erfahren hat, während das neben ihm vorhandene active Leucin, das in dieser Beziehung gegen Alkali viel empfindlicher ist, in derselben Zeit zu einem grossen Theil, wie später gezeigt wird, inactivirt worden ist.

d-Isoleucin aus anderen Eiweissstoffen.

In ähnlicher Weise ist es mir nun gelungen, aus den verschiedensten Eiweissstoffen Substanzen von der Zusammensetzung des Leucins zu isoliren, die mit dem beschriebenen *d*-Isoleucin aus Strontian-Melasseschlempe und Blutfibrin in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften vollkommen übereinstimmen. Bisher liess sich das Isoleucin u. a. darstellen aus dem Ovalbumin nach der Hydrolyse mit Schwefelsäure, aus dem Getreidekleber (Roborat) nach der Verdauung mit Pankreas, aus dem Roh-Leucin der Fäulniss von Rindfleisch etc. Ueber das genaue Ergebniss dieser einzelnen Untersuchungen gedenke ich, ebenfalls an anderer Stelle eingehend zu berichten.

Soviel steht auf alle Fälle jetzt schon fest, dass das *d*-Isoleucin ein in der Natur sehr weit verbreitetes constantes Eiweisspaltungsproduct ist, das stets mit dem *l*-Leucin zusammen bei der Hydrolyse der Proteide erhalten wird.

Betrachtungen über die Constitution des *d*-Isoleucins.

Nach seinen vorher beschriebenen Eigenschaften und der näheren Charakterisirung durch seine Salze und Derivate erweist sich das *d* Isoleucin als eine neue, bisher auch chemisch unbekannt

Aminocaprinsäure, die in ihrer Constitution mit den einzigen, bis heute beschriebenen, activen, isomeren Substanzen, dem *l*- resp. *d*-Leucin und der *d*- α -Amino-*n*-caprinsäure nicht identisch sein kann. Nachstehende Zusammenstellung zeigt die Unterschiede zwischen dem *l*Leucin und der *d*- α -Aminocaprinsäure, soweit deren Constanten aus der Literatur zu entnehmen waren, und den von mir festgestellten physikalischen Eigenschaften des *d*-Isoleucins sehr deutlich:

	<i>l</i> -Leucin	<i>d</i> - α -Amino- <i>n</i> -caprinsäure	<i>d</i> -Isoleucin
Schmelzpunkt	293—295° (corr.)	296°	280°
Löslichkeit der Substanzen	in Wasser von 17° 1 : 46	—	in Wasser von 15.5° 1 : 25.84
Specifiche Drehung der Substanzen $[\alpha]_D^{20}$ in Wasser	links	—	+ 9.74°
in 20—21-procentiger Salzsäure	+ 17.3°	+ 26.5°	+ 36.80°
in alkalischer Lösung	+ 6.65°	—	+ 11.1°
Löslichkeit der Kupfersalze	in kaltem Wasser 1 : 3045	—	in Wasser von 17°: 1 : 278 in 99-procentigem Aethylalkohol von 18° 1 : 476 in conc. Methylalkohol von 17° 1 : 55
Benzoyl-Verbindung Schmp. $[\alpha]_D^{20} =$	104—106° + 6.59°	krystallwasserhaltig 53° (corr.) + 21.9°	116—117° + 26.36°
Benzolsulfo-Verbindung Schmp. $[\alpha]_D^{20} =$	119—120° (corr.) — 39.0°	— —	149—150° — 12.04°
Phenylisocyanat-Verbindung	—	—	Schmp. 119—120° $[\alpha]_D^{20} = + 14.92°$
Phenylhydantoïn-Verbindung	—	—	Schmp. 78—79° dreht links

Ueber den inneren chemischen Bau des Isoleucin-Moleküls lassen sich bisher nur Vermuthungen legen.

Die Thatsache, dass auch das reinste *d*-Isoleucin abweichend vom activen Leucin deutlich bitter schmeckt, könnte darauf hindeuten, dass dasselbe keine α -substituirte Aminosäure ist, da solche nach E. Fischer¹⁾ süß schmecken müsste. Andererseits giebt das Isoleucin eine wohldefinierte Phenylhydantoin-Verbindung, die nur von einer α - oder β -Aminosäure gebildet werden kann. Es bliebe demnach nur die Möglichkeit, dass in dem Isoleucin eine β -Aminosäure vorliegt, wofür allerdings durch die im Gange befindlichen Untersuchungen bisher kein weiterer Beweis zu erbringen war.

Durch concentrirte Salpetersäure im Ueberschuss wird Isoleucin bei Wasserbadwärme auch bei langdauernder Einwirkung nicht angegriffen. Man erhält nach vollständigem Abdampfen stets wieder das Nitrat der Aminosäure in strahligen Aggregaten, aus dem das Isoleucin über das Kupfersalz unverändert zurückgewonnen werden kann.

Bei trockner Destillation spaltet das anfangs sublimirende Isoleucin Kohlensäure und Ammoniak ab, und es geht ein grünelbes Oel über, das stark basische Eigenschaften zeigt und eine dem Isoamylamin aus Leucin isomere Verbindung zu enthalten scheint.

Durch Kochen mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure erhält man aus dem Isoleucin ein mit Wasserdämpfen flüchtiges, farbloses Oel, das stark nach Bittermandelöl und blausäureähnlich riecht.

Mit der Aufklärung der letzteren beiden Reactionen bin ich z. Z. beschäftigt.

Leucin neben Isoleucin.

In allen Fällen, in denen bisher Isoleucin isolirt werden konnte, wurde dasselbe stets neben Leucin aufgefunden. Die Zusammengehörigkeit und Unzertrennlichkeit dieser beiden Substanzen scheint für alle Eiweisstoffe zu bestehen, in denen sie in verschiedenen Mengenverhältnissen regelmässig nebeneinander vorkommen.

Es unterliegt daher, wenn wir die eigentümlichen Löslichkeitsverhältnisse und Drehungserscheinungen des Isoleucins betrachten, keinem Zweifel, dass hauptsächlich diese Substanz die Ursache ist, warum das natürliche active Leucin so ungemein schwer aus hydrolysirtem Eiweiss rein darzustellen ist.

Leucin und Isoleucin bilden ausserordentlich hartnäckig Mischkrystalle, die eine Trennung der beiden Körper durch einfaches Umkrystallisiren entweder dieser selbst oder ihrer Salze oder Derivate fast vollständig unmöglich machen. Der an und für sich leichter lösliche Körper, das Isoleucin, ist dabei stets im Stande, den schwerer löslichen, das Leucin, zum Theil in Lösung zu halten, während ande-

¹⁾ Diese Berichte 35, 2662 [1903].

rerseits das Leucin, wenn es sich irgendwie aus seinen Lösungen abscheidet, stets auch einen bestimmten Theil des Isoleucins mit niederreißt. Es ist daher sehr erklärlich, dass die fractionirte Krystallisation des Roh-Leucins aus Wasser und Alkohol mit so grossen Verlusten verknüpft ist und nur nach unzähliger Wiederholung dieser Operation eine minimale Ausbeute an reinem *l*-Leucin liefert. Ob dieses dann auch wirklich rein ist, wird sich einwandfrei erst jetzt, nachdem sein so schwer von ihm trennbarer Begleiter näher bekannt geworden ist, durch eingehende Untersuchung des Verhaltens der Kupfersalze gegen Methylalkohol zeigen lassen.

Die einzige, bisher aufgefundene Verbindung des Leucins und Isoleucins, die in ihren Eigenschaften weitgehende Unterschiede beider isomerer Körper aufweist und in Folge ihrer eigenartigen Löslichkeitsverhältnisse allein eine vollkommene Entmischung derselben ermöglicht, ist ihr Kupfersalz. Doch ist auch hierbei zu beachten, dass die Trennung der natürlichen Gemische von Leucin und Isoleucin durch Extraction ihrer Kupfersalze mit Methylalkohol von vornherein durchaus keine absolute ist, sondern zunächst nur zur Entfernung eines Theiles des Isoleucins und zu einer Anreicherung des Leucins im Rückstand führt.

Schüttelt man z. B. das trockne Gemisch der Kupfersalze des Roh-Leucins aus Strontian-Melasseschlempe mit viel kaltem, concentrirtem Methylalkohol, so geht ein grosser Theil des Isoleucinkupfers nach ganz kurzer Zeit mit tiefblauer Farbe in Lösung; man kann indess den Rückstand mit noch so grossen Mengen und noch so häufig mit Methylalkohol nachwaschen, stets färbt sich dieser wieder nach einiger Berührung mit dem zurückbleibenden Salz blau. Beim Auskochen des Gemisches der Kupfersalze mit Methylalkohol wird das Isoleucinkupfer natürlich viel schneller gelöst, wobei zuweilen, besonders wenn das ursprüngliche Roh-Leucin weniger rein war, auch etwas Leucinkupfer mit in Lösung geht. Man muss daher, um mit Sicherheit entmischte Lösungen von reinem Isoleucinkupfer zu erhalten, stets die Extracte erst abkühlen, mit weiteren Mengen kaltem Methylalkohol schütteln und erst dann von etwa ausgeschiedenem hellblauem Kupfersalz abfiltriren.

In dem nach der Extraction mit Methylalkohol unlöslich zurückbleibenden, gewöhnlich hellblau gefärbten Salz sind nun stets noch beträchtliche Mengen Isoleucin-Kupfer enthalten, die offenbar mit dem Leucinkupfer molekular verbunden sind, da sie auch durch noch so lange fortgesetztes Auskochen sich nicht daraus entfernen lassen. Um dieses Isoleucin zu gewinnen, muss man das unlösliche Kupfersalz mit Schwefelwasserstoff zersetzen und die so erhaltene Lösung von Leucin und Isoleucin wieder in die Kupfersalze über-

führen. Durch die erneute Ausfällung mit Kupfercarbonat wird hierbei ein Theil des vorher in Form seines Kupfersalzes an das Leucinkupfer molekular gebundenen Isoleucins frei und kann nun leicht mit Methylalkohol extrahiert werden. Dieser Process muss indes, wenn man die beiden Substanzen vollständig entmischen und jede für sich in ihrer Gesamtmenge rein gewinnen will, mindestens 3–4 Mal und meist noch häufiger wiederholt werden.

Eine ähnliche Entmischung beider isomerer Substanzen, die allmählich zu einer Anreicherung an Leucin im schwer löslichen Kupfersalz und an Isoleucin in dem leichter löslichen Salz führt, kann man in der Weise erreichen, dass man das Roh-Leucin in der theoretisch berechneten Menge Normalnatronlauge und viel Wasser löst, und zu der Lösung etwas mehr als die theoretisch erforderliche Menge Kupfersulfat setzt. Es scheidet sich dabei schnell ein feinkörniger mattblauer Niederschlag aus, während sich die Lösung tiefblau färbt. Es wird abfiltrirt und das Filtrat zur Trockne verdampft. Aus dem Rückstand lässt sich mit Methylalkohol Isoleucin-Kupfer extrahiren. Das ausgefallene, mit Wasser gut gewaschene Kupfersalz wird zusammen mit dem in Methylalkohol unlöslich zurückgebliebenen Kupfersalz des Filtrats mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die Lösung eingedampft und das verbleibende Gemisch der Leucine wieder in Normalnatronlauge gelöst und mit Kupfersulfat gefällt, wobei genau dieselben Erscheinungen wie anfangs beobachtet wurden, nur dass das wässrige Filtrat bei der zweiten und den nachfolgenden Fällungen (4–5 und mehr) immer weniger blau gefärbt ist und nach dem Eindampfen immer geringere Mengen Isoleucin-Kupfer abgibt.

Als diese Fällungen mit dem in Methylalkohol unlöslich gebliebenen Kupfersalz aus dem Roh-Leucin der Strontian-Melasseschlempen vorgenommen wurden, zeigte es sich, dass das aus den jedesmal unlöslich ausfallenden Salzen zu erhaltende Leucin allmählich immer niedrigere Drehungswerthe in 20-procentiger Salzsäure annahm, während es gleichzeitig in wässriger Lösung links drehte. Nach 4 oder 5 Fällungen wurde schliesslich eine fast inactive Substanz erhalten. Es lag also in dem Roh-Leucin der Strontian-Melasseschlempen ein Gemisch des Isoleucins mit *l*-Leucin und *r*-Leucin vor, von denen Letzteres offenbar durch Alkali im Verlaufe des Betriebes sich aus dem activen Leucin gebildet hatte.

Bei derartigen Gemischen compliciren sich die Löslichkeitsverhältnisse der einzelnen Componenten durch die gegenseitige Beeinflussung noch weit mehr, und es war anfangs schwer, aus dem Gewirr der in verschiedenen Mengen vorliegenden Substanzen, die je nach der Darstellung eine andere Drehung, Löslichkeit etc. besaßen, einen als *l* oder *r*-Leucin einwandfrei zu identificirenden Körper zu gewinnen.

Ein Versuch, durch fortgesetztes Auskochen mit Wasser das Isoleucinkupfer aus dem zuerst bei der Darstellung der Kupfer-Salze in Methylalkohol löslich verbleibenden Salz auszuziehen, zeigte, dass man z. B. 20 g eines solchen Kupfersalzes 10 Mal mit je $1\frac{1}{2}$ L Wasser je $\frac{1}{2}$ Stde. auskochen kann und doch wieder das 11. Mal eine blaue Lösung erhält, aus der nach dem Eindampfen Isoleucinkupfer mittels kaltem Methylalkohol zu extrahiren ist. Aehnliche Erscheinungen zeigten sich beim Auskochen des schwer löslichen Kupfer-Salzes mit 95-procentigem und mit 50-procentigem Alkohol.

Nach vielfachen Versuchen gelang es schliesslich, auf zwei Wegen zu einem vollständig racemisirten Leucin zu kommen, das mit der *r*-Aminoisobutylessigsäure von E. Fischer und E. Schulze im wesentlichen übereinstimmte.

1. 20 g Roh-Leucin aus Strontian-Melasseschlempe wurden durch 18-stündiges Erhitzen im Autoclaven bei 180° mit überschüssigem Barytwasser vollständig racemisirt. Nach Entfernung des Baryts mit Kohlensäure und Schwefelsäure wurde das Filtrat auf 50 ccm eingedampft und die ausgeschiedene, gelbliche, blättrige Krystallmasse (9.8 g) 3 Mal aus Alkohol unter geringem Wasserzusatz umkrystallisirt. Man erhielt so 2.1 g weisse glänzende Blättchen vom Aussehen des Leucins, die, im geschlossenen Rohr schnell erhitzt, constant bei $289-290^{\circ}$ schmolzen [nach E. Fischer ¹⁾ $293-295^{\circ}$ (corr.)].

0.1801 g Sbst.: 0.1618 g H_2O , 0.3629 g CO_2 . — 0.1560 g Sbst.: 14.4 ccm N (19° , 753 mm).

$C_6H_{13}NO_2$. Ber. C 54.96, H 9.92, N 10.69.

Gef. » 54.97, » 10.05, » 10.58.

Die nach E. Fischer dargestellte Benzolsulf-Verbindung²⁾ schmolz, aus Benzol umkrystallisirt, bei $145-146^{\circ}$ [nach E. Fischer 146° (corr.)].

0.1693 g Sbst.: 7.7 ccm N (21° , 762 mm).

$C_{12}H_{17}NO_4S$. Ber. N 5.16. Gef. N 5.23.

Die ebenfalls nach E. Fischer gewonnene Phenylisocyanat-Verbindung³⁾ zeigte nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol den constanten Schmelzpunkt 161° unter Schäumen [nach E. Fischer 165° (corr.)]. Die weiterhin daraus erhaltene Phenylhydantoin-Verbindung schmolz, aus wässrigem Alkohol umkrystallisirt, bei $125-126^{\circ}$, während E. Fischer und Skita⁴⁾ für dieselbe Verbindung aus *r*-Leucin den Schmp. 125° angeben.

Bemerkenswerth ist, das aus 0.6 g desselben Leucins, aus dem diese Verbindungen dargestellt waren, nach seiner Verwandlung in das Kupfer-Salz sich mit Methylalkohol noch ca. 0.01 g Isoleucinkupfer extrahiren liess.

¹⁾ Diese Berichte 33, 2373 [1900]. ²⁾ Diese Berichte 33, 2380 [1900].

³⁾ Diese Berichte 33, 2381 [1900].

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 187.

2. 20 g Roh-Leucin aus Strontian-Melasseschlempe wurden, wie früher angegeben, in die Kupfersalze übergeführt und das trockne Gemisch der Salze mit Methylalkohol zunächst 48 Stdn. und nach Zerlegung des ungelöst gebliebenen Rückstandes mit Schwefelwasserstoff und Wiederüberführung in die Kupfersalze noch 24 Stdn. mit demselben Lösungsmittel extrahirt. Aus den alkoholischen Extracten wurden nach dem Verdampfen im ganzen 9.4 g nicht gereinigtes Isoleucinkupfer erhalten.

Das schliesslich unlöslich zurückbleibende, mattblaue Kupfersalz wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelkupfer eingedampft. Die gewonnene weisse Krystallmasse (8 g) wurde im Autoclaven zur Racemisirung mit 1 L. gesättigter Barytlösung 20 Stdn. auf 180° erhitzt. Nach der Ausfällung und dem Abfiltriren des Baryums suspendirte man die beim Eindampfen erhaltenen 6.6 g Krystalle in kochendem Alkohol und fügte dazu tropfenweise soviel Wasser hinzu, bis in der Hitze Lösung eintrat. Nach dem Filtriren krystallisirten beim Abkühlen und Uebersättigen der Lösung mit absolutem Alkohol 4.0 g reinweisse glänzende Blättchen des Leucins vom Schmp. 288—289° im geschlossenen Röhrchen.

Die 2 Mal aus wässrigem Alkohol umkrystallisirte Phenylisocyanat-Verbindung schmolz bei 160—161°.

0.1707 g Subst.: 16.6 ccm N (22.5°, 759 mm).

$C_{13}H_{13}N_2O_3$. Ber. N 11.20. Gef. N 11.05.

Die aus Alkohol und Wasser gereinigte Phenylhydantoin-Verbindung zeigte den constanten Schmp. 124—125°.

Aus dem Kupfersalz dieses Leucins liess sich Isoleucinkupfer nicht extrahiren.

Nach dem Resultat der vorstehenden Untersuchungen muss angenommen werden, dass in dem Roh-Leucin der Strontian-Entzuckerungslaugen partiell racemisirtes Leucin (α -Aminoisobutylessigsäure) und *d*-Isoleucin zu ungefähr gleichen Theilen enthalten sind. In dem Blutfibrin und in den übrigen, bisher untersuchten Eiweissstoffen scheint die Menge des Isoleucins gegenüber der des Leucins eine geringere zu sein.

Die weitere eingehende Durchforschung der verschiedensten Roh-Leucine hat fernerhin gezeigt, dass dieselben stets nur Leucin und Isoleucin enthalten, und dass andere Isomere des Leucins, trotz früherer gegentheiligter Behauptungen, in der Natur nicht vorkommen. Thatsächlich werden ja auch durch das stete gemeinsame Auftreten dieser beiden isomeren Verbindungen und durch ihre eigenthümlichen, sich gegenseitig so stark beeinflussenden, chemischen und physikalischen Eigenschaften, besonders bei gleichzeitiger Anwesenheit von *r*-Leucin und event. *r*-Isoleucin, alle die früher beobachteten starken Differenzen in dem Verhalten des seither bekannten activen Leucins vollkommen erklärt.

Die chemische und physiologische Bearbeitung des Isoleucins behalte ich mir nach jeder Richtung hin vor, und ich hoffe, demnächst über die Constitution dieser in vielfacher Beziehung interessanten Substanz berichten zu können.

Berlin N., Institut für Zuckerindustrie.

278. M. Dittrich: Ueber Filtriren und Veraschen von schleimigen Niederschlägen.

(Eingegangen am 21. April 1904.)

Gar oft kommt es vor, dass gelatinöse Niederschläge und besonders solche, welche beim Kochen schleimig geworden sind, wie Aluminium- und Eisen-Hydroxyd, allmählich nur ganz langsam filtriren und schliesslich sogar infolge Uebergang in die colloidal-lösliche Form trüb durch das Filter laufen. Eine Beschleunigung des Filtrirens durch Anwendung der Saugpumpe ist nicht zu empfehlen, da sich dabei in dem Niederschlage leicht Kanäle bilden können, durch welche das Waschwasser ohne auszuwaschen rasch abläuft. Die erwähnten Uebelstände lassen sich wesentlich herabmindern, wenn man vor dem Filtriren dem Niederschlage Filtrirpapier, welches durch heftiges Schütteln mit Wasser im Reagensglase zu Brei zerkleinert ist, zusetzt; (je nach der Menge des Niederschlages genügt ein Filter von 7—11 cm Durchmesser, Schleicher & Schüll, Nr. 589). Das Filtriren und Auswaschen geht dann äusserst rasch von statten, da jetzt der Niederschlag nicht mehr direct an den Filterwänden festklebt und dadurch die Poren verstopft, sondern durch die darin fein vertheilte Filtermasse aufgelockert ist, welche ein Zusammenkleben des Niederschlages verhindert. Beim Veraschen derartiger Niederschläge ist darauf zu achten, dass die Filter vollständig verbrennen, was manchmal erst nach mehrmaligem vorsichtigen Umschütteln zu erreichen ist.

Der erhaltene Glührückstand besteht nicht wie sonst gewöhnlich aus wenigen, dicken, harten Bröckchen, sondern aus einem äusserst feinen Pulver. Wichtig ist es ferner, dass Eisenhydroxydniederschläge nicht erst getrocknet zu werden brauchen, sondern direct nass im Platintiegel verascht werden können, ohne dass dabei eine Reduction zu befürchten ist. Das Gewicht des vor dem Bunsenbrenner einige Zeit geglühten Eisenoxyd-Niederschlages ändert sich nicht mehr, auch nicht nach Befeuchten mit concentrirter Salpetersäure und Verdampfen derselben; ein Zeichen, dass eine Reduction des Eisen-Oxydes zu -Oxydul