

sich aber sehr schön aus siedendem Alkohol umlösen und krystallisiert dann in grünlichen, wohl ausgebildeten Nadeln vom Schmp. 168—169°.

Dieses Produkt, von dem vorläufig aus Materialmangel eine Analyse nicht ausgeführt werden konnte, ist in Äther und Petroläther schwer löslich, leicht dagegen in Alkohol, Essigester und Aceton.

**120. Felix Ehrlich und K. A. Jacobsen:
Über die Umwandlung von Aminosäuren in Oxysäuren
durch Schimmelpilze.**

[Aus dem Landwirtschaftlich-technologischen Institut der Universität Breslau.]
(Eingegangen am 29. März 1911.)

Durch frühere Untersuchungen¹⁾ war festgestellt worden, daß Hefe bei der Assimilation nicht das ganze Molekül von Aminosäuren verwertet, sondern diese im wesentlichen nur zu Alkoholen resp. Säuren der nächst niederen Kohlenstoffreihe abbaut, die dann von den lebenden Hefezellen ausgeschieden und für den weiteren Stoffwechselprozeß nicht mehr verwendet werden. Es schien nun von Interesse, diese Untersuchungen auch auf andere Mikroorganismen auszudehnen, namentlich in der Richtung, ob hier ähnliche chemische Vorgänge des Eiweißauf- und -abbaues stattfinden und welche Stoffwechsel-Endprodukte dabei aus den verschiedenen Aminosäuren entstehen.

Wir haben zu diesem Zwecke ungefähr 50 verschiedene bekanntere Arten von Hefen, Schimmelpilzen und ihnen nahestehenden Organismen auf Lösungen einzelner Aminosäuren gezüchtet und die bei der Vegetation auftretenden stickstofffreien Abbausubstanzen isoliert und näher untersucht. Über diese sehr umfangreichen Arbeiten wird später an anderer Stelle im Zusammenhang ausführlich berichtet. Hier seien zunächst nur einige Resultate mitgeteilt, die sich als bemerkenswert für den biochemischen Abbau der Aminosäuren ergeben haben.

Die Eigenschaft, bei Gegenwart von Zucker Aminosäuren zu Alkoholen zu vergären, besitzen außer den früher untersuchten Kulturhefen die meisten wilden Heferasen, auch die sogenannten Kahl-

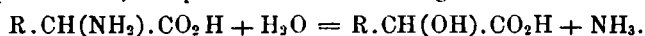
¹⁾ F. Ehrlich, B. 39, 4072 [1906]; 40, 1027, 2538 [1907]; 44, 139 [1911]; Zeitschr. Vereins Deutsch. Zuckerind. 55, 539 [1905]. Bio. Z. 1, 8 [1906]; 2, 52 [1906.]; 8, 438 [1908]; 18, 391 [1909]. Landw. Jahrb. 1909, Ergänzungsbd. V, 289.

hefen, wie sich am Beispiel des Tyrosins leicht zeigen ließ¹⁾. Selbst Organismen, die den Hefearten schon verhältnismäßig fern stehen, wie *Dematium pullulans* und andere, vermögen noch Tyrosol aus Tyrosin zu bilden.

Sehr verschiedenartig verhalten sich dagegen die einzelnen Gruppen von Schimmelpilzen gegenüber den Aminosäuren. Hier ist zunächst zu unterscheiden, ob man die Schimmelpilze bei Gegenwart oder bei Abwesenheit von Kohlehydraten auf Aminosäurelösungen wachsen läßt. Im letzteren Falle findet, wenn der betreffende Schimmelpilz überhaupt unter diesen Umständen gedeihen kann, ein sehr weitgehender Abbau der Aminosäuren statt. So läßt sich z. B. bei längerem Wachstum von *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* auf kohlehydratfreien Tyrosinlösungen keine die Millonsche Reaktion gebende Substanz mehr im Nährsubstrat nachweisen. Aber auch bei Gegenwart von Zucker in der Form, wie ihn der betreffende Mikroorganismus als Energie- und Baumaterial für den Lebensprozeß braucht, zeigen sich sehr beträchtliche Unterschiede in der Art und Weise, wie die verschiedenen Schimmelpilze Aminosäuren chemisch angreifen. Einzelne Pilze vermögen nämlich auch in diesem Falle Aminosäuren zu niedrigmolekularen Verbindungen aufzuspalten, worüber demnächst näher berichtet wird, während beim Wachstum einer ganzen Reihe von anderen Schimmelpilzen auf Aminosäuren der größte Teil des Moleküls dieser Substanzen erhalten bleibt.

Zu derartigen Schimmelpilzen gehört das in der Natur überall sehr verbreitete *Oidium lactis*, über dessen eigentümliche Einwirkung auf Aminosäuren im Folgenden einiges mitgeteilt sei.

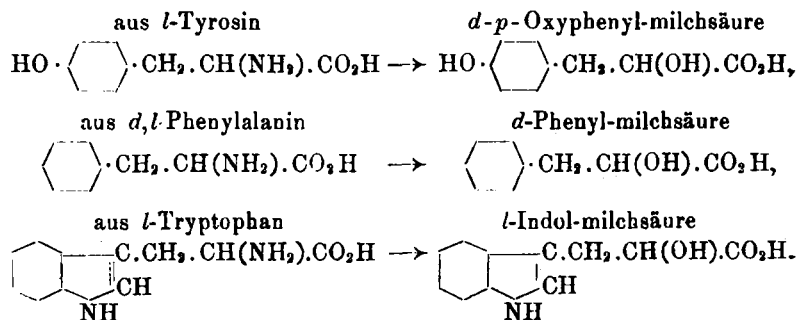
Für *Oidium lactis* sind alle natürlich vorkommenden α -Aminosäuren vorzügliche Stickstoffnährmittel, wenn gleichzeitig in genügender Menge die üblichen anorganischen Nährsalze und Glucose, Invertzucker oder Milchzucker als Kohlenstoffquelle geboten werden, die der Pilz für den Eiweißaufbau unbedingt erfordert. In verdünnten Lösungen verbraucht *Oidium lactis* die Aminosäuren verhältnismäßig schnell, und schon nach 4–5-wöchentlichem Wachstum ist im Nährsubstrat von diesen Substanzen gewöhnlich nichts mehr nachzuweisen. Die nähere Untersuchung ergibt, daß bei diesem Vorgange regelmäßig eine Desamidierung der als Stickstoffnahrung dargebotenen Aminosäure in dem Sinne stattfindet, daß Wasser angelagert und Ammoniak abgespalten wird, entsprechend der Gleichung:



¹⁾ F. Ehrlich, B. 44, 139 [1911].

Das so primär entstehende Ammoniak ist auch nicht spurenweise in der Nährlösung aufzufinden, da es sofort nach der Abspaltung zusammen mit Bruchstücken des Zuckers von dem Pilz zu Eiweiß aufgebaut wird, ähnlich wie dies früher für die Hefe bewiesen wurde. Dagegen zeigt sich, daß bei der Pilzvegetation im Sinne obiger Gleichung das Kohlenstoffgerüst der Aminosäuren fast unverändert erhalten bleibt und in Form der entsprechenden α -Oxysäuren aus den Nährlösungen in beinahe quantitativer Ausbeute wiederzugewinnen ist. Alkohole treten nur nebenbei in äußerst minimalen Mengen auf. Eine Gasentwicklung ließ sich während des Pilzwachstums nicht beobachten.

Da man beliebige Quantitäten einzelner Aminosäuren mit *Oidium lactis* in ziemlich kurzer Zeit verarbeiten kann, so ist hiermit eine bequeme Methode zur Darstellung optisch-aktiver Oxysäuren gegeben, die vor der chemischen manche Vorteile besitzt. In der Tat gelang nach diesem Verfahren leicht die Reingewinnung mehrerer bisher nicht beschriebener optisch-aktiver Formen von α -Oxysäuren. Es wurden so erhalten



Ob es sich in allen diesen Fällen um eine einfache Desamidierung der Aminosäuren nach dem Bilde der obigen Gleichung handelt, oder ob auch *Oidium lactis* Aminosäuren in der Weise angreift, daß zunächst durch eine oxydative Desamidierung daraus die entsprechenden Ketosäuren und erst weiterhin durch eine Art optischer Reduktion die aktiven Oxysäuren gebildet werden, ähnlich wie es O. Neubauer und K. Fromherz¹⁾ neuerdings für den Abbau der Aminosäuren bei der Hefegärung wahrscheinlich gemacht haben, sollen weitere Versuche entscheiden.

¹⁾ H. 70, 326 [1911].

Das für die folgenden Untersuchungen benutzte *Oidium lactis* war aus einem frischen Sahnenkäse einer Breslauer Molkerei isoliert und auf Bierwürze- und Erbsendekokt-Gelatine rein gezüchtet.

Als Kohlehydratnahrung für den Pilz, der keine Invertase abscheidet, diente in einzelnen Fällen Traubenzucker (Kahlbaum), meistens wurde aber mit bestem Erfolge Invertzuckersyrup angewandt, der sich nach dem Verfahren von Wohl und Kollrepp¹⁾ aus Raffinade mit 0.005 % Salzsäure bequem in großen Mengen gewinnen läßt und, da man ihn direkt ohne Neutralisation den Nährlösungen zusetzen kann, sich als sehr geeignet für derartige Kulturversuche erwiesen hat.

Die Nährlösungen wurden in 2—3 l fassenden Stehkolben aus Jenenser Glas angesetzt, die mit einem Wattebausch verschlossen waren. Zur Sterilisierung genügte es vollständig, wenn sie an zwei auf einander folgenden Tagen je eine halbe Stunde auf dem Baboblech gekocht wurden. Die Impfung geschah mittels einer Platinöse in üblicher Weise von einer frischen Kultur des *Oidium lactis*. Die geimpften Kolben wurden in den ersten Tagen bei ca. 25°, später bei mittlerer Zimmertemperatur von 18° aufbewahrt.

d-p-Oxyphenyl-milchsäure aus *l*-Tyrosin.

2 g *l*-Tyrosin wurden unter Erwärmen in zwei Litern einer Nährlöslichkeit aufgelöst, die enthielt 20 g Invertzuckersirup, 0.5 g K_2HPO_4 , 0.5 g KH_2PO_4 , 0.1 g $MgSO_4$ und Spuren Natrium- und Eisenchlorid. Die, wie angegeben, in einem Kolben sterilisierte Lösung wurde mit *Oidium lactis* geimpft. Schon nach 2 Tagen zeigte sich an der Oberfläche ein zarter Pilzflaum, der bald stärker wurde und in die Flüssigkeit hineinwuchs. Nach 6 Tagen hatte sich bereits eine starke Pilzdecke gebildet, die, durch Schütteln des Kolbens untergetaucht, bald von neuem Pilzmycel überwuchert wurde, das auch die Lösung allmählich erfüllte. Die Flüssigkeit wurde dann in der nächsten Zeit noch einige Male geschüttelt. Die Neubildung der Pilzdecke erfolgte schließlich immer langsamer, bis nach 4 Wochen das Wachstum ganz aufzuhören schien. Nach 5-wöchentlicher Dauer wurde der Versuch abgebrochen und die Flüssigkeit durch ein gewogenes Filter abfiltriert. Das gelblich gefärbte klare Filtrat zeigte keine Drehung mehr und reagierte sauer, 100 ccm desselben verbrauchten zur Neutralisation gegen Phenolphthalein 10 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH. Das auf dem Filter zurückbleibende Pilzmycel wurde mit destilliertem Wasser gründlich ausgewaschen, im Trockenschrank bei 105° getrocknet, gewogen und dann nach Kjeldahl auf Stickstoffgehalt untersucht. Die Gesamtausbeute an trockenem Mycel betrug 3.52 g mit 0.1176 g Stickstoff. Demnach wären also 1.52 g Tyrosin von dem Pilz assi-

¹⁾ v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, 1904, I. Bd. S. 908.

miliert worden, wenn man von dem Myceleiweiß absieht, das während der Pilzvegetation durch Autolyse wieder in Lösung gegangen ist.

Die gesammelten Filtrate der Pilzmasse wurden im Vakuum bei 50° bis zum Sirup eingedampft, wobei sich kein Tyrosin ausschied. Trotzdem gab der sirupöse, bräunlich gefärbte Rückstand stark die Millonsche Reaktion. Zur Abscheidung gewisser, mit Äther starke Emulsionen bildender Bestandteile wurde der Sirup mit dem mehrfachen Volumen Alkohol verrührt, die alkoholische Lösung von den ausgeschiedenen Flocken, die ebenfalls kein Tyrosin enthielten, abfiltriert und der Alkohol daraus verdunstet. Den schließlich erhaltenen Rückstand nahm man in wenig Wasser auf, versetzte ihn mit wenig Natriumbicarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion und extrahierte im Apparat von v. d. Heide erschöpfend mit Äther. Der getrocknete Ätherauszug hinterließ beim Verdampfen Spuren eines gelben Sirups, der in undeutlichen Sternchen krystallisierte und aus dem ca. 0.01 g *p*-Oxyphenyl-äthylalkohol (Tyrosol) vom Schmp. 92° und den früher¹⁾ beschriebenen Eigenschaften zu isolieren war.

Die noch intensiv auf Millonsche Lösung reagierende alkalische Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und von neuem im Apparat sehr gründlich mit Äther extrahiert. Der ätherische Extrakt wurde mit geglähtem Natriumsulfat scharf getrocknet, filtriert und verdampft, wobei ein gelblich gefärbter, harter, krystallinischer Rückstand zurückblieb, der trocken 2.2 g wog.

Zur Reinigung wurde die Krystallmasse mit Wasser aufgenommen und die Lösung einige Zeit mit Tierkohle gekocht. Das Filtrat gab beim Einengen auf dem Wasserbade zu einem kleinen Volumen einen Krystallbrei, den man nach dem Abkühlen absaugte und noch einmal derselben Behandlung unterwarf. Auf diese Weise wurde die Substanz mit verhältnismäßig geringen Verlusten in einer Menge von 1.8 g völlig rein in Form langer, farbloser, seidenglänzender Nadeln erhalten, die scharf bei 169° schmolzen. Ihre wäßrige Lösung reagierte stark sauer und gab schon bei gelindem Erwärmen deutlich die Millonsche Reaktion. Sie erwies sich in ihrer Zusammensetzung und in allen ihren Eigenschaften als identisch mit der *d-p*-Oxyphenylmilchsäure.

Die im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Verbindung enthält $\frac{1}{2}$ Mol. Krystallwasser, das bei 100—110° entweicht.

0.1864 g Sbst. verloren, bei 110° getrocknet, 0.0087 g H₂O.

C₉H₁₀O₄ + $\frac{1}{2}$ H₂O. Ber. H₂O 4.71. Gef. H₂O 4.67.

0.1025 g Sbst. (bei 110° getrocknet): 0.2226 g CO₂, 0.0530 g H₂O.

C₉H₁₀O₄. Ber. C 59.34, H 5.50.

Gef. » 59.23, » 5.79.

0.3304 g vakuumtrockne Sbst. verbrauchen zur Neutralisation gegen Phenolphthalein 17.4 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH.

C₉H₁₀O₄ + $\frac{1}{2}$ H₂O. Ber. 17.3 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH.

¹⁾ F. Ehrlich, a. a. O.

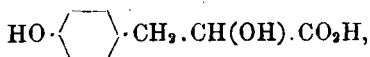
1 Tl. krystallwasserhaltige Säure erfordert zur Lösung bei 16° 77.5 Tle. Wasser. In warmem Wasser löst sich die Substanz sehr leicht. Sie ist ferner schon in der Kälte leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, Äther, Aceton, Essigester; von Amylalkohol und Chloroform wird sie schwer, noch schwerer von Benzol und Toluol aufgenommen; in Ligroin, Petroläther und Schwefelkohlenstoff ist sie so gut wie unlöslich.

Die Substanz zeigt in wäßriger Lösung deutliche Rechtsdrehung.

0.1139 g Subst. in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 10.0550 g. Prozentgehalt 1.13. Drehung im 2-dm-Rohr bei 20° im Natriumlicht 0.41° nach rechts, folglich

$$[\alpha]_D^{20} = + 18.14^\circ.$$

Die Verbindung ist offenbar das bisher nicht bekannt gewordene rechtsdrehende Stereoisomere der *p*-Oxyphenyl-milchsäure,



deren Racemkörper zuerst Erlenmeyer und Lipp¹⁾ synthetisiert haben. Schon vorher hatte Blendermann²⁾ diese Säure nach sehr reichlicher Tyrosin-Verfütterung im Kaninchenharn gefunden, doch macht er keine Angaben darüber, ob die von ihm beobachtete Substanz optisch-aktiv war. Wahrscheinlich war seine Säure auch nicht ganz rein, was aus den von ihm angegebenen Analysenwerten und aus dem niedrigeren Schmelzpunkt von 162—164° zu folgern ist. Neuerdings hat Kotake³⁾ auf Veranlassung von Ellinger die Untersuchung der *p*-Oxyphenyl-milchsäure in verschiedener Richtung wieder aufgenommen. Er konnte durch Einwirkung von salpetriger Säure auf *l*-Tyrosin eine optisch-aktive Oxyphenyl-milchsäure darstellen, die in jeder Beziehung übereinstimmte mit einer Säure, die sich bei Versuchen an Hunden mit Phosphorvergiftung aus dem Harn isolieren ließ. Die Angaben Kotakes deuten darauf hin, daß auch unsere mittels *Oidium lactis* aus Tyrosin erhaltene Oxyphenyl-milchsäure mit der seinigen im wesentlichen identisch ist. Die Kotakesche Säure enthält ebenfalls vakuumtrocken $\frac{1}{2}$ Molekül Krystallwasser und schmilzt bei 167—168° (die unserige bei 169°). Ein sehr wesentlicher und bemerkenswerter Unterschied zeigt sich aber im Drehungsvermögen beider Substanzen. Die Drehungsgröße ist bei beiden ungefähr gleich, die Drehungsrichtung aber gerade entgegengesetzt. Während Kotake sowohl für die chemisch aus Tyrosin, wie für die aus dem Tierkörper dargestellte Oxyphenyl-milchsäure in wäßriger

¹⁾ A. 220, 226 [1883]. ²⁾ H. 6, 234 [1882].

³⁾ H. 65, 397 [1910]; 69, 409 [1910].

Lösung $[\alpha]_D = -18.05^\circ$ (im Maximum) beobachtete, fanden wir bei mehreren Kulturversuchen mit *Oidium lactis* gleichmäßig den oben angegebenen Wert $[\alpha]_D = +18.14^\circ$.

Ein derartiger Fall, daß aus ein und derselben optisch-aktiven Verbindung von der Pflanzen- und Tierzelle nicht dasselbe, sondern entgegengesetzt drehende Stereoisomere, Antipoden, produziert werden, ist unseres Wissens bisher nicht bekannt geworden, und eine Erklärung für diesen merkwürdigen Vorgang erscheint vorläufig schwierig. Es sei nur in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, daß neuerdings Neubauer und Fromberz¹⁾ bei der Hefe-Gärung der racemischen Phenyl-aminoessigsäure die Bildung von *l*-Acetyl-phenyl-aminoessigsäure festgestellt haben, während Neubauer früher gemeinsam mit O. Warburg²⁾ bei Zusatz derselben Racemverbindung zur künstlich durchbluteten Hundeleber die entgegengesetzt drehende *d*-Acetyl-phenyl-aminoessigsäure beobachtet hatte. Doch ist zu betonen, daß in diesem Falle den Organismen von vorn herein die beiden Stereoisomeren der Aminosäure zu Gebote standen.

Durch Kulturversuche mit *Oidium lactis* auf *p*-Oxyphenyl-brenztraubensäure beabsichtigen wir, die Frage zu entscheiden, ob auch aus dieser Säure durch den Pilz optisch-aktive *p*-Oxyphenyl-milchsäure erzeugt werden kann und zwar welcher Drehungsrichtung, und ob etwa ähnlich wie bei der Hefe-Gärung auch bei Einwirkung von *Oidium* auf Tyrosin die Ketosäure das Zwischenprodukt der Reaktion bildet.

d-Phenyl-milchsäure aus *d,l*-Phenyl-alanin.

6 g *d,l*-Phenylalanin wurden zusammen mit 25 g Invertzucker, 1 g K_2HPO_4 , 1 g KH_2PO_4 , 0.1 g $MgSO_4$ und Spuren Natrium- und Eisenchlorid in 2 l Wasser gelöst und die sterilisierte Lösung mit dem Pilz geimpft. Das Pilzmycel gedieh in üppiger Weise, ähnlich wie beim Tyrosin beschrieben. Nach vier Wochen zeigte die abfiltrierte Nährlösung im 2-dm-Rohr eine Polarisierung von -0.10° und eine Acidität entspr. 11 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge pro 100 ccm (gegen Phenolphthalein). Die Ausbeute an trockenem Pilzmycel betrug 3.05 g mit 0.1231 g Stickstoff (entsprechend 1.45 g assimiliertem Phenylalanin)³⁾. Der aus der gesamten eingedampften Nährlösung erhaltene Sirup wurde mit dem mehrfachen Volumen Alkohol verrieben, aus der alkoholischen Lösung

¹⁾ H. 70, 333 [1911].

²⁾ H. 70, 1 [1910].

³⁾ Eine genaue Stickstoffbilanz aufzustellen, ist bei derartigen Kulturversuchen nicht möglich, da in der langen Zeit des Wachstums stets ein nicht unbeträchtlicher Teil des entstandenen Pilzeiweißes durch autolytische Vorgänge wieder in Lösung geht. Wie der Versuch auch in diesem Falle zeigt, ist wesentlich mehr Phenylalanin von dem Pilz umgesetzt worden, als sich aus der Stickstoffbestimmung in dem ungelösten Mycel berechnet.

der Alkohol abdestilliert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure angesäuert und erschöpfend mit Äther extrahiert. Beim Einengen des Filtrats der Pilzmasse machte sich deutlicher Geruch nach Phenyläthylalkohol bemerkbar, doch war die entstandene Menge zur Isolierung zu gering.

Aus dem Ätherextrakt schied sich beim Verdunsten eine dunkelbraun gefärbte Krystallmasse ab, die, auf Ton von klebrigen Bestandteilen größtenteils befreit, 3 g wog. Durch zweimaliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle gelang es, daraus 2 g reine Substanz in Form von glänzenden, regelmäßig ausgebildeten Nadelchen und Stäbchen zu gewinnen.

Die Verbindung krystallisiert wasserfrei und schmilzt nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure bei 124° zu einer klaren, farblosen Flüssigkeit.

0.1485 g Sbst.: 0.3523 g CO₂, 0.0834 g H₂O. — 0.1501 g Sbst.: 0.3581 g CO₂, 0.0834 g H₂O.

C₉H₁₀O₃. Ber. C 65.06, H 6.02.
Gef. » 64.70, 65.07, » 6.28, 6.22.

0.3679 g Sbst. verbrauchten zur Neutralisation gegen Phenolphthalein 22.0 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH.

Für C₉H₁₀O₃ berechnet 22.1 ccm $\frac{n}{10}$ -NaOH.

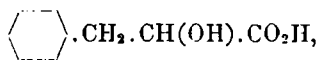
Die Säure ist leicht löslich in heißem Wasser, in Methyl-, Äthyl- und Amylalkohol, Essigester und Aceton, schwerer in Chloroform, Benzol und Toluol. Von kochendem Ligroin und Petroläther wird sie nur wenig, von Schwefelkohlenstoff fast gar nicht aufgenommen.

Die Substanz dreht in wäßriger Lösung die Polarisationssebene des Lichtes nach rechts.

0.2178 g Sbst. in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 10.0643 g. Prozentgehalt 2.16. Drehung im 2-dm-Rohr im Natriumlicht bei 20° 0.96° nach rechts, folglich

$$[\alpha]_D^{20} = +22.22^\circ.$$

Die Verbindung erweist sich demnach als die rechtsdrehende Modifikation der Phenylmilchsäure von der Formel



die bisher nur in der Racemform bekannt war.

Aus den letzten Mutterlaugen der Phenylmilchsäure ließ sich noch eine sehr geringe Menge (ca. 0.05 g) einer die Millonsche Reaktion gebenden Substanz abscheiden, die als *p*-Oxyphenylmilchsäure identifiziert wurde. Sie ist offenbar aus Tyrosin entstanden, das bei der Autolyse von Pilzeiweiß in die Nährlösung übergegangen ist.

l-Indol-milchsäure aus *l*-Tryptophan.

2 g *l*-Tryptophan wurden in 1 l Wasser gelöst, das außerdem enthielt 10 g Invertzucker, 1 g K_2HPO_4 , 0.1 g $MgSO_4$ und Spuren NaCl und $FeCl_3$. Die sterilisierte Lösung impfte man in üblicher Weise mit *Oidium lactis*. Dauer des Wachstums 4 Wochen. Die abfiltrirte, gelblich gefärbte Nährflüssigkeit roch schwach nach Indol, sie zeigte keine Drehung mehr und verbrauchte zur Neutralisation pro 100 ccm 13.5 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH. Die Ausbeute an trockenem Pilzmycel betrug 1.94 g, enthaltend 0.1072 g Stickstoff. Das gesammelte Filtrat wurde im Vakuum zwischen 40–50° zum Sirup eingeeengt, den man mit einem größeren Volumen Alkohol verrührte. Der aus dem alkoholischen Filtrat durch Abdestillieren des Alkohols gewonnene Rückstand wurde mit wenig Wasser verdünnt, mit etwas Schwefelsäure versetzt und mit Äther erschöpfend extrahirt. Der Ätherextrakt hinterließ beim Verdampfen des Äthers ein bräunliches Öl, das nach mehrtägiger Aufbewahrung im Exsiccator über Schwefelsäure zu einem Krystallbrei erstarrte (ca. 1.8 g). Auf Ton getrocknet, wurde daraus ein dunkelgefärbtes, noch klebriges Krystallmehl erhalten (1.3 g), dessen wäßrige Lösung, mit Tierkohle gekocht, eine rotviolette Farbe annahm. Beim Eindampfen der Lösung auf dem Wasserbade trat offenbar teilweise Zersetzung ein, da die Flüssigkeit sich stark dunkel färbte und sich deutlicher Indolgeruch bemerkbar machte. Das zurückbleibende violettgefärbte Öl erstarrte indes nach kurzer Zeit wieder krystallinisch. Beim Aufnehmen mit Äther ging der größte Teil der Substanz leicht mit schwach rötlicher Farbe in Lösung, während geringe Mengen von Flocken eines Farbstoffs ungelöst blieben. Aus dem ätherischen Filtrat gelang es durch tropfenweisen Zusatz von Petroläther rötlich gefärbte Verunreinigungen als ein Öl auszufällen, das sich schnell an den Wänden und dem Boden des Becherglases absetzte. Die überstehende farblose Lösung wurde abgegossen und nunmehr mit Petroläther übersättigt. Die sich ausscheidende Emulsion verwandelte sich beim Reiben sehr bald in ein Haufwerk von sternchen- und büschelförmig angeordneten Nadelchen, die getrocknet eine spezifisch sehr leichte, seidenglänzende, verfilzte Krystallmasse darstellten. 0.85 g.

Für die Analyse wurde die Substanz nochmals in Äther gelöst und mit Petroläther gefällt. Die so erhaltenen Krystalle wurden im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet; sie schmolzen scharf bei 99° zu einer fast farblosen Flüssigkeit.

0.0949 g Sbst.: 0.2235 g CO_2 , 0.0482 g H_2O . — 0.1340 g Sbst.: 7.7 ccm N (12°, 754 mm).

$C_{11}H_{11}O_3N$. Ber. C 64.39, H 5.37, N 6.83.

Gef. » 64.23, » 5.68, » 6.62.

Zur Neutralisation gegen Phenolphthalein verbrauchten 0.1828 g Sbst.: 9.2 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH. Ber. 9.0 ccm $\frac{1}{10}$ -NaOH.

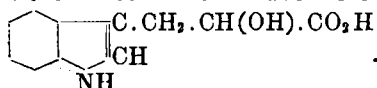
Die Substanz löst sich schon in der Kälte spielend leicht in Methyl- und Äthylalkohol, Äther, Aceton und Essigester, schwerer in Wasser und Chloroform, noch schwerer in Benzol; in Petroläther, Ligroin und Schwefelkohlenstoff ist sie fast unlöslich.

Ihre wäßrige Lösung zeigt schwache Linksdrehung.

0.1032 g Sbst. in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 7.4178 g. Prozentgehalt 1.31. Drehung im 2-dm-Rohr im Natriumlicht bei 20°, 0.14° nach links, demnach

$$[\alpha]_D^{20} = -5.34^\circ.$$

Die erhaltene Verbindung ist also ihrer Entstehung und ihren Eigenschaften zufolge als die optisch-aktive linksdrehende Form der bisher unbekanntenen Indol-milchsäure anzusprechen von der Formel



. Entsprechend ihrer dem Tryptophan

ähnlichen Konstitution gibt sie mit einer Lösung von Quecksilbersulfat einen gelben Niederschlag und mit Bromwasser sofort eine flockige Fällung. Beim Erwärmen der Säure mit Millonschem Reagens tritt eine braunrote Färbung auf. Dimethylamido-benzaldehyd und konzentrierte Schwefelsäure geben, mit der Lösung der Substanz vermischt, eine blaugrün gefärbte Flüssigkeit. Auch die farblose wäßrige Lösung der reinen Säure färbt sich schon für sich beim Eindampfen auf dem Wasserbade nach kurzer Zeit rotviolett, wobei sich ein indol-ähnlicher Geruch bemerkbar macht.

In der gleichen Weise wie *Oidium lactis* vermögen auch eine Reihe ihm ferner stehender Pilze Aminosäuren in Oxysäuren umzuwandeln. Einzelne Pilze aus anderen Gruppen können aus α -Aminosäuren sowohl α -Oxysäuren wie auch Alkohole produzieren. So verwandelt z. B. *Monilia candida* Tyrosin ungefähr zur Hälfte in *p*-Oxyphenyl-milchsäure, während es die andere Hälfte zu *p*-Oxyphenyl-äthylalkohol (Tyrosol) abbaut. Auch in der Gruppe der *Mucoraceen* finden sich Pilze, die aus Aminosäuren die entsprechenden Oxysäuren bilden. Doch scheinen hier in einzelnen Fällen noch weiter verlaufende Abbauprozesse bei der Vergärung der Aminosäuren vor sich zu gehen, worüber demnächst berichtet wird.

Angesichts der Leichtigkeit, mit der *Oidium lactis* und andere Schimmelpilze Aminosäuren zu Oxysäuren umwandeln, liegt die Vermutung nahe, daß derartige Substanzen wie die oben beschriebenen in der Natur weiter verbreitet sind, als man bisher annehmen konnte. Es scheint, daß sich solche Oxysäuren entweder frei oder in Form irgend einer Verbindung auch in vielen Käsearten finden, die, wie z. B. der Roquefort, ihr Aroma dem Zusammenwirken von *Oidium lactis* und *Penicillium* verdanken.