

Über die Hydrolyse des Eiereiweißes

von

A. Adensamer und Ph. Hoernes.

Aus dem chemischen Institut der Universität Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 13. Juli 1906.)

Nachdem Skraup¹ bei der Hydrolyse des Kaseins verschiedene bisher nicht aufgefundene Aminosäuren nachgewiesen hatte, unternahmen wir es, das Hühnereiweiß auf dieselben zu prüfen.

Die Verarbeitung der Produkte der Hydrolyse erfolgte in derselben Weise wie beim Kasein. Es wurde verestert, durch Ausschütteln mit Äther-Alkohol die Hauptmenge der Aminosäuren als salzsaure Ester extrahiert, sodann abgestuft mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, und schließlich wurden Kupfersalze dargestellt und diese in Fraktionen von verschiedener Löslichkeit in Wasser, Alkohol und Äther zerlegt.

Aus den in heißem Wasser leicht löslichen Phosphorwolframatn wurde in recht erheblicher Menge eine kristallisierende Aminosäure gewonnen, die nach allen Eigenschaften mit dem *d*-Alanin identisch ist. Es gelang in dessen Mutterlaugen nicht Fraktionen aufzufinden, welche Glykokoll enthalten hätten. Um nachzuweisen, ob dieses nicht doch vorhanden ist und vielleicht in die Ätherauszüge übergegangen war, wurden die bei dem Ausschütteln mit Äther erhaltenen Amidosäuren in Ester abgeführt und nach E. Fischer im Vakuum fraktioniert destilliert.

Auch hier gelang der Glykokollnachweis nicht. Dieses dürfte deshalb im Hühnereiweiß nicht vorhanden sein, wie

¹ Monatshefte für Chemie, Bd. XXV, p. 633.

auch schon bisher ohne ganz strikte Beweise angenommen wird.

Da Fischer die Untersuchung der Ester nur soweit geführt hatte, um nachweisen zu können, ob Pyrrolidincarbonsäure vorhanden sei, haben wir die Fraktionen der Ester, die niedriger sieden als jene, welche die genannte Säure enthalten, untersucht und in diesen gewöhnliches Leucin und neben diesem ein äußerst schwierig trennbares Gemisch aufgefunden, welches vermutlich aus Aminovaleriansäure und dem von Ehrlich¹ aufgefundenen Isoleucin besteht.

Pyrrolidincarbonsäure war nicht vorhanden. In den niedrigst siedenden Fraktionen der Ester wurde ziemlich reine Aminovaleriansäure nachgewiesen.

d-Alanin und Aminovaleriansäure sind also auch im Hühnereiweiß vorhanden, was bisher nicht festgestellt worden ist.

Aus den Kupfersalzen aus Kasein hat Skraup die Kasein- und Kaseinsäure abgetrennt, wir erhielten auch aus dem Hühnereiweiß beträchtliche Mengen Kupfersalze. Sie waren aber ganz anders gefärbt und hatten auch sonst andere Eigenschaften wie die aus dem Kasein. Ihre Untersuchung wurde durch den Umstand, daß sie große Mengen anorganischer Salze enthielten, noch viel schwieriger, als es beim Kasein der Fall ist.

Um einigermaßen Anhaltspunkte zu erhalten, wurden die verschiedenen Fraktionen nach der Vorschrift von Fischer mit Naphthalinsulfochlorid behandelt. Die Ausbeute an kristallisierten Substanzen war immer sehr gering, in manchen Fraktionen Null, mitunter entstanden nur Öle. Die einzige Substanz, die endlich rein erhalten wurde, erwies sich als Naphthalinsulfamid. Dieses Resultat war deshalb überraschend, weil, um diese Komplikation zu vermeiden, vor dem Schütteln mit Naphthalinsulfochlorid die alkalisch gemachten Lösungen durch Destillation im Vakuum von Ammoniak befreit worden waren und die Anwesenheit von Ammoniaks in den letzten Destillaten festgestellt werden konnte.

¹ Ehrlich, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 37, II, p. 1809.

Wenn auch negative Resultate mit Mißtrauen aufgenommen werden müssen, glauben wir doch mit Wahrscheinlichkeit sagen zu können, daß Kasein- und Kaseinsäure, wenn überhaupt, so nur in ganz untergeordneter Menge im Eiereiweiß vorhanden sein werden.

Experimenteller Teil.

Eiereiweiß wurde nach E. Fischer hydrolysiert und verestert, sodann, wie es beim Kasein von Skraup beschrieben ist, mit Äther-Alkohol durch achtmaliges Schütteln die Hauptmenge der Aminosäuren in Form der Salzsäureverbindungen ihrer Ester entfernt.

Die ätherunlösliche Flüssigkeit wurde fraktionell mit Phosphorwolframsäure gefällt.

Für je ein halbes Kilo hydrolysiertes Eiweiß wurden hintereinander 230, 250, sodann 1250, 360 und 440 g Phosphorwolframsäure verwendet. Die einzelnen Niederschläge wurden scharf abgesaugt und mit Wasser gewaschen, die späteren Filtrate vor der folgenden Fällung durch Eindampfen konzentriert. Das Filtrat der letzten Fällung gab weiter eingedampft auch nach weiterem Zusatz von Phosphorwolframsäure keine erhebliche Fällung.

Die ersten Niederschläge sind in kochendem Wasser so gut wie nicht, die folgenden werden immer leichter löslich, ebenso in stark verdünntem Weingeist. Die vierte und fünfte Fällung wurden jede für sich einer systematischen Kristallisation unterzogen, welche darin bestand, daß in 50 % Weingeist gelöst, vom Ungelösten filtriert, das weingeistige Filtrat bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft und die leichtest löslichen Anteile schließlich aus Wasser umkristallisiert wurden.

Derart wurden in Wasser so gut wie unlösliche Anteile von der Hauptmenge, die in heißem Wasser ziemlich leicht, in kaltem Wasser sehr schwer löslich ist, getrennt.

Letztere, die ziemlich einheitliche Kristalle zeigte, wurde mit Baryt in bekannter Weise zerlegt.

Auch hier zeigte sich wie beim Kasein, daß die Phosphorwolframate mittlerer Löslichkeit nach dem Zersetzen die reichlichsten Kristallisationen liefern.

Aus dem Phosphorwolframat IV wurde weniger von den kristallisierten Amidosäuren erhalten als aus V.

Die Mutterlaugen der ersten Anschüsse der freien Amidosäuren gaben bei weiterem längeren Stehen neuerliche Kristallisationen.

Durch systematisches Umkristallisieren aus Wasser wurden Fraktionen erhalten, die schließlich bei 287° schmolzen und andere, deren Schmelzpunkt bei 276° stehen blieb. Als letztere aber in das Kupfersalz verwandelt, dieses umkristallisiert und dann mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurde, stieg der Schmelzpunkt ebenfalls auf 287°.

Eine andere Säure von niedrigerem Schmelzpunkt war nicht zu isolieren.

Die erwähnte Säure ist all ihren Eigenschaften nach *d*-Alanin.

1. 0·1883 *g* gaben 0·2763 *g* CO₂ und 0·1230 *g* H₂O
2. 0·1872 *g* » 0·2755 *g* » » 0·1223 *g* »
3. 0·1378 *g* » 0·2062 *g* » » 0·1024 *g* »
4. 0·1674 *g* » 0·2500 *g* » » 0·1180 *g* »
5. 0·1879 *g* » 0·2790 *g* » » 0·1348 *g* »
6. 0·1979 *g* » 27·4 *cm*³ N bei 16° und 731 *mm*.

Die Analysen 1 und 2 sind nach Lippmann-Fleissner, 3—5 im Glaser'schen Ofen ausgeführt.

	Berechnet für	Gefunden					
	C ₃ H ₇ O ₂ N	1.	2.	3.	4.	5.	6.
C.....	40·40 %	40·02	40·32	40·52	40·65	40·49	—
H.....	7·91 %	7·25	7·34	8·00	7·88	7·82	—
N.....	15·75 %	—	—	—	—	—	15·53

Die Elementaranalysen nach Lippmann-Fleissner haben auch hier wieder für den Wasserstoff viel zu niedrige Werte gegeben.

Das Kupfersalz bildet in Wasser mit tiefblauer Farbe lösliche, blättrige Aggregate. Es wurde zur Analyse bei 105° getrocknet.

- 0·1973 *g* gaben 0·2170 *g* CO₂, 0·0817 *g* H₂O und 0·0653 *g* CuO
 0·1396 *g* » 0·1531 *g* » 0·0551 *g* » » 0·0464 *g* »

	Berechnet für $C_6H_{12}O_4N_2Cu$	Gefunden	
C.....	30·30	30·04	29·91
H.....	5·04	4·64	4·38
Cu.....	26·51	26·50	26·55

Auch die nicht ganz reine Säure vom Schmelzpunkt 276° gab dieselben Zahlen. C = 39·66 und 39·96, H = 7·07 und 6·73, N = 15·53 und 15·62 %.

Für C = 5, t = 19° wurde die spezifische Drehung in Salzsäure von 22·5 % Gehalt mit $[\alpha]_D = +14·0^\circ$ gefunden.

Das Chlorhydrat kristallisiert in dicken Prismen vom Schmelzpunkt 204°. Es ist in Wasser äußerst leicht, in Alkohol und konzentrierter Salzsäure sehr schwer löslich.

0·2938 g über Kalk im Vakuum getrocknet gaben 0·3362 g AgCl.

	Berechnet für $C_3H_8O_2NCl$	Gefunden
Cl.....	28·14	28·13

Das nach der Methode von E. Fischer¹ dargestellte Benzoylalanin hatte den Schmelzpunkt 150—152°. Bei der Darstellung entstand auch Benzoësäureanhydrid vom Schmelzpunkt 42°.

Kupfersalze.

Das Filtrat von der letzten Fällung mit Phosphorwolframsäure wurde, so wie es beim Kasein von Skraup beschrieben wurde, von Phosphorwolframsäure, Barytsalzen und Glutaminsäure befreit und das Filtrat der Fällung mit Alkohol mit Kupferoxyd gekocht. Die eingedampfte Lösung wurde dann mit demselben Volumen Alkohol versetzt, wobei sich ein Kupfersalz abschied.

Das Filtrat wurde zum dicken Sirup gedampft und sodann mit absolutem Alkohol angerührt.

¹ E. Fischer, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 32, II., p. 3454.

Beide Fällungen wurden durch Lösen in Wasser von unlöslichen Beimengungen befreit und durch Wiederholen des Verfahrens in Fraktionen zerlegt.

Keine der erhaltenen Fraktionen hatte die Farbe und Konsistenz der beim Kasein erhaltenen Fraktionen, aus denen Kasein-, respektive Kaseinsäure erhalten wurden. Alle Fraktionen enthielten in beträchtlicher Menge anorganische Salze (Ammonium- und Kalium-Kupfersulfat), welche zum Teil bei den fraktionellen Fällungen in hübschen Kristallen ausfielen. Auch als die einzelnen Fraktionen mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurden, kristallisierte nur sehr wenig aus, ebenso als das Chlor mit Silberoxyd entfernt wurde und ähnlichen Versuchen.

Um doch einige Anhaltspunkte zu erhalten, wurden die aus den einzelnen Kupfersalzen erhaltenen Verbindungen mit Naphthalinsulfochlorid behandelt.

Die erhaltenen Sirupe wurden zunächst durch Eindampfen im Vakuum mit verdünnter Natronlauge von Ammoniak befreit und dann nach der Vorschrift von Fischer¹ behandelt.

Es wurden ungefähr je 5 g der Sirupe in 50 cm³ Normalnatronlauge gelöst und mit einer Lösung von 10 g Naphthalinsulfochlorid in Äther vier Stunden auf der Maschine geschüttelt. Nach je einer Stunde (im ganzen dreimal) wurden noch je 50 cm³ Normalnatronlauge zugefügt. Der Äther wurde abgehoben, die alkalische Lösung einmal mit frischem Äther durchgeschüttelt, filtriert und mit Salzsäure angesäuert, wobei sich bei einigen Fraktionen direkt ein Niederschlag bildete, der nach längerem Stehen in der Kälte sich vermehrte und kristallinisch wurde; bei anderen fiel zuerst ein dunkles Öl aus und später der kristallinische Niederschlag, wobei das Öl auch teilweise erstarrte.

Die erhaltenen Kristallisationen wurden abgesaugt und aus verdünntem Alkohol oftmals umkristallisiert. Sie erwiesen sich als äußerst schwer trennbare Gemische, die zum Teil auch aschehaltig waren. Bei den äußerst langwierigen Fraktionierungen wurden schließlich so geringe Mengen reiner Sub-

¹ E. Fischer, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1902, III., p. 3779.

stanz erhalten, daß an weitere Untersuchungen nicht zu denken war.

Aus den in Alkohol löslichen Kupfersalzen wurde einmal in größerer Menge eine gut kristallisierende einheitliche Verbindung erzielt, die sich aber als Naphthalinsulfamid erwies. F. p. 217—218°.

0·1300 g gaben 0·2785 g CO₂, 0·0502 g H₂O
 0·1353 g » 0·2873 g CO₂, 0·0515 g H₂O
 0·1925 g » 12·4 cm³ N t = 18°, 743 mm,
 0·2640 g » nach Asbøth 0·3065 g BaSO₄.

	Berechnet für		Gefunden			
	C ₁₀ H ₉ SO ₂ N					
C.....	57·97	58·43	58·13	—	—	
H.....	4·35	4·32	4·27	—	—	
N.....	6·76	—	—	7·28	—	
S.....	15·46	—	—	—	—	15·90

In Äther lösliche salzsaure Ester.

Die Untersuchung der kristallisierenden Phosphorwolframate ergab, daß in ihnen Alanin vorhanden ist, sie gab aber keinen Anhaltspunkt für die Anwesenheit von Glykokoll. Es war nicht ausgeschlossen, daß dieses in die Ätherausschüttlung übergegangen wäre.

Da diese von der Verwendung von Kupfergefäßen herührendes Kupfer gelöst enthielt, wurden die Ester von zwei Kilogrammen Albumin in verdünnter Salzsäure wieder gelöst und mit Schwefelwasserstoff von Kupfer befreit. Die Lösung wurde im Vakuum bei Wasserbadtemperatur verdampft und der sirupöse Rückstand zweimal mit absolutem Alkohol verestert. Die erhaltenen salzsauren Ester wurden nach E. Fischer¹ weiter verarbeitet.

Die vereinigten ätherischen Lösungen wurden rasch mit trockenem Kaliumkarbonat durchgeschüttelt und mit ent-

¹ E. Fischer, Hydrolyse des Kaseins. Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. 33, p. 151.

wässertem Natriumsulfat zwölf Stunden getrocknet. Die filtrierte Lösung wurde schließlich abdestilliert und das zurückbleibende Gemisch der freien Ester aus einer kleinen Kupferretorte über freier Flamme einer Destillation unter vermindertem Drucke unterworfen. Die Menge des Gemisches nach dem Abdestillieren des Äthers bei normalem Druck betrug 390 g.

Im Anfang ging noch Äther und Alkohol über, daher der Abgang von 52 g der erhaltenen Mengen. Wir erhielten bei den angegebenen Drucken folgende Fraktionen:

I.	40— 60°	60 mm	9 g
II.	60— 70°	13 mm	13 g
III.	70— 80°	15 mm	10 g
IV.	80—100°	14 mm	28 g
V.	100—110°	14 mm	66 g
VI.	110—120°	17 mm	42 g
VII.	120—150°	20 mm	40 g
VIII.	150—170°	20 mm	51 g
IX.	170—200°	30 mm	20 g
X.	200—220°	20 mm	23 g
Rückstand			36 g
		Summe..	338 g

Fraktion I und II.

Die Ester wurden mit konzentrierter Salzsäure mehrmals eingedampft und erstarrten beim Erkalten zu Kristallen. Der Rückstand betrug bei Fraktion I 2·7 g, bei Fraktion II 11·6 g feucht. Beide Mengen wurden jede für sich in der dreifachen Menge absoluten Alkohols gelöst, in einer Kältemischung gekühlt, trockenes Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet und die Lösung mit reinem Glykokollester geimpft.¹ Eine Kristallisation trat nicht ein, womit die Abwesenheit von Glykokoll ziemlich sicher gestellt erschien. Die Esterlösungen wurden nun wieder mit Salzsäure verseift und dann zur Kristallisation eingedampft und die Kristalle auf Ton abgepreßt.

Das Produkt aus Fraktion II betrug 1·17 g, das aus Fraktion I noch weniger. Die Substanz aus I begann bei 170°

¹ Nach E. Fischer. Zeitschrift für physiologische Chemie, 35, p. 230.

zu sintern und war bei 180—182° unter Gasentwicklung geschmolzen; die Substanz aus II schmolz bei 209°.

Eine Chlorbestimmung der Fraktion II gab folgendes Resultat:

0·2948 g trocken im Vakuum über Schwefelsäure gaben 0·2706 g AgCl.

	Berechnet für $C_5H_{12}O_2NCl$	Gefunden
Cl.....	23·12	22·696

Beide Fraktionen wurden mit frisch gefälltem Silberoxyd genau entchlort und dann mit gefälltem Kupferoxyd in Kupfersalze verwandelt. Aus beiden Lösungen wurden zwei Kristallisationsansätze erzielt, die trocken schwach blau gefärbt waren und unter dem Mikroskop unregelmäßige Platten zeigten.

Die Kupfersalze wurden auf Ton abgepreßt und zu den Analysen bei 135° getrocknet.

Fraktion I. Kristallisation 1.

0·1951 g gaben 0·0528 g CuO, 0·2936 g CO₂ und 0·1209 g H₂O.

	Berechnet für $C_{10}H_{20}N_2O_4Cu$	Gefunden
Cu	21·51	21·62
C	40·59	41·04
H	6·77	6·93

Fraktion I. Kristallisation 2.

0·1092 g gaben 0·0288 g CuO.

	Gefunden
Cu	21·07

Fraktion II. Kristallisation 1.

0·2116 g gaben 0·0562 g CuO, 0·3122 g CO₂ und 0·1322 g H₂O.

	Berechnet für $C_{10}H_{20}N_2O_4Cu$	Gefunden
Cu	21·51	21·22
C	40·59	40·24
H	6·77	6·99

Fraktion II. Kristallisation 2.

0·0641 g gaben 0·0169 g CuO.

	Gefunden
Cu	21·06

Die Zahlen stimmen recht gut auf Amidovaleriansäure. Es soll untersucht werden, ob, wie es hier anscheinend der Fall war, ihre Salzsäureverbindung in Wirklichkeit zur Reindarstellung geeignet ist.

Fraktion V und VI.

Da größere Mengen der anderen Esterfraktionen zur Verfügung standen, wurden die von Fischer nicht untersuchten Fraktionen, die einen niedrigeren Siedepunkt hatten als diejenigen, die *l*-Pyrrolidincarbonsäure enthielten, gleichfalls untersucht.

Fraktion V wurde zunächst nach der Vorschrift von E. Fischer¹ mit etwa der zwanzigfachen Menge Petroläther vermischt, wobei sich nach längerem Stehen wenig Öl abschied. Von diesem wurde abgegossen. Das Öl wurde mit Äther aufgenommen und mit Wasser durchgeschüttelt. Sowohl die ätherische als auch die wässrige Lösung wurden, erstere nach Abdunsten des Äthers, mit Barytwasser verseift, der Baryt mit Schwefelsäure genau entfernt und eingedampft. Da beide nur sehr geringe Substanzmengen enthielten, wurden sie nicht weiter untersucht.

Die Ligroinlösung wurde auf dem Wasserbad abdestilliert und das zurückbleibende Öl mit Barytwasser verseift. Beim Erkalten der Lösung schieden sich Kristalle ab, die jedoch *Ba* frei waren. Diese wurden abgesaugt und aus Wasser umkristallisiert. Das Produkt (5 g) wurde mit gefällttem Kupferoxyd in Kupfersalz verwandelt. Beim Eindampfen der Lösung wurden mehrere Kristallisationen erhalten. Die erste Fraktion gab bei der Analyse folgenden Wert:

¹ E. Fischer, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 39, p. 156.

0·0716 g gaben 0·0182 g Cu O.

	Berechnet für $C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$	Gefunden
Cu	19·65	20·31

Es dürfte nahezu reines Leucin vorliegen.

Die früher erwähnte *Ba* enthaltende Lösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure ausgefällt und eingedampft. Dabei wurden fünf Kristallisationen erzielt, die jede für sich aus Wasser umkristallisiert wurden. Die Schmelzpunkte im geschlossenen Kapillarrohr waren 280°, 280°, 266°, 273°, 265°. Aus den Mutterlaugen wurden noch weitere Kristallisationen erhalten. Die verschiedenen Anschüsse wurden nach ihrem Schmelzpunkt vereinigt. Schmelzpunkt 280° 11·8 g, 269° 3·1 g, 275° 5·4 g und 267° 4·7 g. Jeder dieser Anteile wurde in das Kupfersalz verwandelt. Beim Erkalten der filtrierten Lösungen zeigte sich geringe Kristallisation, von den Eigenschaften des Leucinkupfers. Die Filtrate wurden nun fraktioniert eingedampft, wobei eine große Zahl von Fraktionen erhalten wurde. Zwei der leichtest löslichen Kupfersalze gaben bei der Kupferbestimmung folgende Werte:

1. 0·2557 g gaben 0·0631 g Cu O.

	Gefunden
Cu	19·72

2. 0·2157 g gaben 0·0537 g Cu O.

	Gefunden
Cu	19·89

Beide Fraktionen wurden vereinigt und betragen zusammen 5·7 g. Die fein gepulverten Kupfersalze wurden nun am Rückflußkühler längere Zeit mit reinem Methylalkohol extrahiert, wobei die Hauptmenge bis auf einen Rest von 0·8 g (lichtblau gefärbt), der einen Kupfergehalt von 20·86% hatte, mit tiefblauer Farbe in Lösung ging. Der Methylalkohol wurde

zur Hälfte abdestilliert und die ausgeschiedenen Kristalle in zwei Fraktionen aus Äthylalkohol umkristallisiert. Das methylalkoholische Filtrat gab bei weiterem Eindampfen noch eine Kristallisation, die wieder in zwei Fraktionen aus Äthylalkohol umkristallisiert wurde. Die voneinander am weitesten abstehenden zwei Fraktionen gaben folgende Werte:

1. 0·1475 g gaben 0·0387 g CuO.
2. 0·2658 g gaben 0·0689 g CuO.

	Berechnet für $C_{10}H_{20}N_2O_4Cu$	Berechnet für $C_{12}H_{24}N_2O_4Cu$	Gefunden	
			1.	2.
Cu.....	21·51	19·65	20·96	20·71

Die erhaltenen Zahlen liegen, wie man sieht, beiläufig in der Mitte zwischen den für amidovaleriansaures und Leucin-Kupfer gerechneten Werten. Es liegt also jedenfalls kein einheitliches Produkt vor.

Unter dem Mikroskop erschienen die Kristalle als längliche sechseckige Platten. Die festen Salze sowie die alkoholischen Lösungen sind tief dunkelblau gefärbt.

Die vier aus Äthylalkohol umkristallisierten Fraktionen wurden nun vereinigt durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die erhaltene Lösung schied beim Eindampfen schöne weiße Kristalle ab, die unter dem Mikroskop als kleine Platten oder Nadeln erschienen und sich fettig anfühlten. Der Schmelzpunkt in geschlossener Kapillare lag bei 280°.

Um die Anwesenheit von α -Pyrrolidincarbonsäure festzustellen, wurde die ganze Menge mit absolutem Alkohol ausgekocht, wobei jedoch nur eine sehr geringe Menge, die sich überdies durch den nahen Schmelzpunkt 278° in geschlossener Kapillare als identisch mit der Hauptmenge erwies, in Lösung ging. Die Substanz wurde nun nochmals aus Wasser umkristallisiert, wobei sich jedoch der Schmelzpunkt kaum änderte. Sie zeigt ziemliche Löslichkeit in Wasser, wird jedoch von diesem schwer benetzt; aus wässriger Lösung kann sie durch Alkohol gefällt werden. Die lufttrockene Substanz verliert beim Erhitzen auf 105° anscheinend kein Kristallwasser.

Von umkristallisiertem Produkte wurden nur zirka 0·6 g erhalten. Eine Elementaranalyse ergab folgende Zahlen:

0·2006 g gaben 0·3837 g CO₂ und 0·1767 g H₂O.

	Berechnet für C ₅ H ₁₁ NO ₂	für C ₆ H ₁₃ NO ₂	Gefunden
C	51·28	54·88	52·22
H	9·40	9·92	9·86

Die Zahlen liegen zwischen den für Amidovaleriansäure und Leucin errechneten Werten, also ist ziemlich wahrscheinlich ein Gemisch dieser beiden Amidosäuren anzunehmen, wie es ja auch die bei der Analyse der Kupfersalze gefundenen Zahlen erwarten ließen.

Die Bestimmung der spezifischen Drehung hatte folgendes Resultat:

0·3573 g gelöst in 10 cm³ Salzsäure von 23·95% Gehalt drehten im 10 cm Rohr um + 1·078°. Das spezifische Gewicht der Lösung betrug 1·1035.

$$[\alpha]_D = +30·196°.$$

Die gefundene Zahl liegt wieder in der Mitte zwischen den für Amidovaleriansäure¹ ($[\alpha]_D^{20} = +27·1°$) und Isoleucin² ($[\alpha]_D^{20} = +36·80°$) gefundenen Werten.

Die leichte Löslichkeit der Kupfersalze in Methylalkohol läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß das vorhandene Leucin in der von Ehrlich³ beschriebenen Form als Isoleucin vorliegt.

Versuche, die Trennung weiter durchzuführen, mußten wegen zu geringer Substanzmengen aufgegeben werden.

Fraktion VI zeigte sich in allen Stücken ganz ähnlich der Fraktion V.

Die Verarbeitung geschah auch in der gleichen Weise. An Amidosäuren wurden vom Schmelzpunkt 275° 10·8 g und vom Schmelzpunkt 265° 4·8 g erhalten.

¹ E. Fischer, Zeitschrift für physiologische Chemie, 33, p. 159.

² Ehrlich, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 37, II, p. 1834.

³ Ehrlich, *ibid.* p. 1809 ff.

Zwei der am leichtesten löslichen Kupfersalze ergaben folgende Zahlen:

1. 0·3016 g gaben 0·075 g CuO.

	Gefunden
Cu	19·95 %

2. 0·2225 g gaben 0·0570 g CuO.

	Gefunden
Cu	20·47 %
