

Ueber das Vorkommen von Histidin und Lysin in Keimpflanzen.

Von
E. Schulze.

Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.

Der Redaction zugegangen am 28. August 1899.

Seitdem man weiss, dass aus den Eiweisskörpern bei der Zersetzung durch Säuren oder durch Trypsin neben Amidosäuren und Arginin Histidin und Lysin entstehen, musste sich die Frage aufdrängen, ob auch beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen neben Arginin jene beiden Basen sich bilden. Es lag freilich im Bereich der Möglichkeit, dass diese Stoffe zwar bei jenem Process in den Keimpflanzen entstehen, aber im pflanzlichen Stoffwechsel bald umgewandelt werden und in Folge davon sich niemals anhäufen: doch durfte man hoffen, dass auch in diesem Falle ihre Abscheidung und ihr Nachweis mit Hülfe der trefflichen Methoden, die für diesen Zweck von A. Kossel angegeben worden sind, vielleicht gelingen werde.

Wie von mir nachgewiesen worden ist, findet sich das Arginin in grosser Quantität in den Cotyledonen 2—3wöchentlicher etiolirter Keimpflanzen von *Lupinus luteus*. Es schien angezeigt, solche Cotyledonen auch auf Histidin und Lysin zu untersuchen. Ich führte dies in folgender Weise aus: Die fein zerriebenen, lufttrockenen Cotyledonen wurden zunächst mit kochendem, 95^o oigem Weingeist behandelt. Der weingeistige Auszug¹⁾ wurde beseitigt, der im Weingeist unlösliche

¹⁾ Dieser Auszug enthält u. A. Cholin: auch ist es möglich, dass darin Lupinenalkaloide sich vorfinden.

Theil der Cotyledonen sodann mit heissem Wasser behandelt. Den filtrirten wässerigen Auszug versetzte ich mit einer wässerigen Lösung von Phosphorwolframsäure, nachdem er zuvor von den durch Gerbsäure und durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit und hierauf mit Schwefelsäure angesäuert worden war. Der sehr starke Phosphorwolframsäureniederschlag wurde abfiltrirt, mit 5^oiger Schwefelsäure ausgewaschen, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann durch Barythydrat in der Kälte zerlegt. In die von den unlöslichen Baryumverbindungen abfiltrirte Lösung leitete ich Kohlensäure ein, um das überschüssige Baryumhydrat zu beseitigen. Nachdem dieses Ziel erreicht worden war, wurde die filtrirte Flüssigkeit noch mit Kohlensäure gesättigt und sodann mit einer wässerigen Quecksilberchloridlösung in kleinen Antheilen versetzt, bis ihre Reaction fast neutral geworden war.¹⁾ Es schied sich ein weisser Niederschlag aus, welcher nach 24 Stunden abfiltrirt,²⁾ ausgewaschen, sodann in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber lieferte, nachdem es im Wasserbade stark eingeeengt worden war, bald Krystalle. Die von denselben abgegossene Mutterlauge gab bei weiterem Verdunsten noch mehr von solchen Krystallen, doch schied sich in kleiner Menge auch noch eine andere Substanz in sehr kleinen Krystallen aus. Diese Substanz liess sich jedoch durch Abschlemmen mittelst der Mutterlauge ziemlich vollständig von den zuerst gewonnenen Krystallen trennen. Letztere wurden aus Wasser umkrystallirt.

1) In einem Versuche, in welchem die Cotyledonen 14tägiger Keimpflanzen verarbeitet wurden, habe ich die durch Quecksilberchlorid fällbare Substanz fractionirt gefällt und die beiden Fractionen des Niederschlags getrennt verarbeitet; in einem anderen Versuche, in welchem Cotyledonen 3wöchentlicher Keimpflanzen zur Verarbeitung gelangten, geschah dies nicht. Ob in der einen oder in der anderen Weise Verfahren wurde, war nicht von wesentlichem Einfluss auf das Resultat. In beiden Fällen aber habe ich nur so viel Quecksilberchlorid zugesetzt, dass in den Filtraten noch etwas von der durch dieses Reagens fällbaren Substanz sich vorfand.

2) Vor der Filtration wurde die Flüssigkeit noch einmal mit Kohlensäure gesättigt.

Die Krystalle besaßen nach einer auf meine Bitte von Herrn Professor U. Grubenmann ausgeführten krystallographischen Untersuchung die für Histidinchlorid charakteristischen Formen, und zwar waren die Flächen σ , ρ und δ ausgebildet wie an dem zweiten der von Bauer¹⁾ untersuchten Histidinchloridkrystalle.

Eine Chlorbestimmung gab ein der Formel des Histidinchlorids = $C_6H_9N_3O_2, HCl + H_2O$ entsprechendes Resultat:

0.2810 g Substanz (über Schwefelsäure getrocknet) gaben 0.1885 g AgCl.

	Berechnet:	Gefunden:
Cl	16.90%	16.59%

Das in bekannter Weise²⁾ aus dem Chlorhydrat dargestellte Histidinsilber gab, nachdem es bei 100° getrocknet worden war, bei der Analyse folgende Resultate:

1. 0.2915 g Substanz gaben 0.1630 g Ag
2. 0.2490 " " 0.1375 "
3. 0.5110 " " nach Kjeldahl's Methode 0.05408 g N.

	Berechnet für:	Gefunden:		
	$C_6H_7N_3O_2Ag_2 + H_2O$ ³⁾	1.	2.	3.
Ag	55.77%	55.92%	55.22%	—
N	10.88%	—	—	10.58%

Diese Versuchsergebnisse beweisen, dass die aus dem Quecksilberchloridniederschlag abgeschiedene Base Histidin war.

Das Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlag enthielt sehr viel Arginin. Zur Gewinnung dieser Base wurde jenes Filtrat zunächst durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, sodann durch Zusatz der berechneten Silbernitratmenge von der Salzsäure befreit. Das Filtrat vom Chlor-silber, dessen Reaction alkalisch war, wurde, nach dem Ausfällen einer darin noch vorhandenen Spur von Silber mittelst Schwefelwasserstoff, mit Salpetersäure neutralisirt und sodann im Wasserbade eingeeengt. Diese Flüssigkeit lieferte bald Arginin-nitratkrystalle in grosser Quantität. Aus der Mutterlauge liess

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXII. S. 182.

2) Man vergleiche die vorhergehende Abhandlung.

3) Diese Formel ist von Hedin für das Histidinsilber aufgestellt worden.

sich noch etwas Arginin durch Ausfällen mit Silbernitrat und Barytwasser gewinnen.

In dem Filtrat von dem durch die zuletzt genannten Reagentien hervorgebrachten Niederschlage war nun das Lysin zu suchen. Ich versetzte dieses Filtrat, nachdem es mittelst Salzsäure von einem Silberrest befreit worden war, mit Phosphorwolframsäure, wobei ein ziemlich starker Niederschlag entstand. Da die bei Zerlegung dieses Niederschlags durch Baryt in bekannter Weise erhaltene Basenlösung etwas Kali enthielt,¹⁾ so machte ich sie mit Weinsäure stark sauer, engte sie im Wasserbade stark ein und fügte dann etwas Weingeist zu. Nachdem das so zur Ausscheidung gebrachte Kaliumbitartrat abfiltrirt worden war, befreite ich die Flüssigkeit durch Eindunsten vom Weingeist und fügte dann wieder Phosphorwolframsäure zu. Der dadurch erzeugte Niederschlag wurde wieder mit Baryt zerlegt, die so erhaltene Basenlösung vom Baryt befreit, im Wasserbade stark eingeengt und sodann mit einer alkoholischen Pikrinsäurelösung neutralisirt. Nach kurzer Zeit schied sich ein Pikrat in feinen gelben Krystallen aus. Die davon abfiltrirte Mutterlauge lieferte beim Verdunsten ein Pikrat von ganz anderem Aussehen, welches ich nicht weiter untersucht habe.

Das zuerst ausgeschiedene Pikrat wurde aus Wasser umkrystallisirt: es zeigte das Aussehen des Lysinpikrats. Ich verwandelte es durch Schütteln mit wässriger Salzsäure und Aether nach Kossel's Vorschrift in das Chlorhydrat. Das letztere blieb beim Verdunsten der wässrigen Lösung krystallinisch zurück: es löste sich leicht in Methylalkohol. Ich versetzte seine concentrirte wässrige Lösung mit Platinchlorid und fügte dann absoluten Alkohol zu. Im Verlauf von einigen Stunden schied sich ein Chloroplatinat in schönen rothgelben Prismen aus. Im Aussehen stimmte dieses Salz vollständig mit dem bei Untersuchung der Spaltungsprodukte des Coniferenproteins erhaltenen Lysinplatinchlorid²⁾ überein und ver-

1) Die Niederschläge, welche durch Phosphorwolframsäure in den wässrigen Keimpflanzenextracten hervorgebracht werden, enthalten in der Regel etwas Kali.

2) Man vergleiche die vorhergehende Abhandlung.

bleibt sich auch beim Trocknen über Schwefelsäure ebenso wie das letztere. Die Analyse gab für den Platingehalt des zuerst bei 100°, dann noch bei 130° getrockneten Salzes Zahlen, welche der Formel $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4$ entsprechen, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

	1. 0.2030 g Substanz gaben 0.0715 g Pt.		
	2. 0.2000 „ „ „ 0.0700 „ „		
		Gefunden:	
	Berechnet:		
Pt	35.05 %	1. 35.22 %	2. 35.00 %

Die Identität dieses Chloroplatinats mit dem bei Verarbeitung der Spaltungsprodukte des Coniferenproteins erhaltenen Lysinplatinchlorid wird noch dadurch bewiesen, dass die beiden Salze bei gleichzeitigem Erhitzen in Capillarröhrchen bei der gleichen Temperatur (219—220°) schmolzen.¹⁾

Aus diesen Thatsachen ist zu schliessen, dass die von mir untersuchten Keimpflanzen neben Arginin und Histidin auch Lysin enthielten.

Was die Ausbeute an diesen drei Basen betrifft, so lieferten 560 g lufttrockener Cotyledonen ungefähr 45 g Arginin-nitrat, 2.5 g Histidinchlorid und 1 g Lysin-pikrat; die zur Abscheidung gebrachten Histidin- und Lysinnengen waren also nur gering gegenüber der sehr grossen Argininquantität. Aus obigen Zahlen kann man aber noch keinen Schluss auf das Mengenverhältniss machen, in welchem beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen die genannten drei Basen nebeneinander entstanden waren. Denn zur Darstellung dieser Basen habe ich ja nur den Rückstand verwendet, welcher bei Behandlung der gepulverten Cotyledonen mit kochendem Weingeist geblieben war; es ist aber denkbar, dass der Weingeist einen Theil der Basen gelöst hatte, and zwar vom Lysin und Histidin mehr als vom Arginin. Ferner liegt es im Bereich der Möglichkeit, dass im Stoffwechsel der Keimpflanzen die zuerst genannten beiden Basen rascher umgewandelt werden, als das Arginin.

¹⁾ Ohne Zweifel schmolz das Chloroplatinat unter Zersetzung; sein Schmelzpunkt ist daher vermuthlich kein constanter.

Es ist noch zu erwähnen, dass ich auch in den Cotyledonen 6—7tägiger Keimpflanzen von *Lupinus luteus* Histidin neben Arginin nachzuweisen vermochte: ob die beiden Basen auch hier von Lysin begleitet waren, wurde nicht untersucht. Das aus dem Quecksilberchloridniederschlag dargestellte Histidinchlorid wurde wieder durch eine auf meine Bitte von Herrn Professor F. Grubenmann ausgeführten krystallographischen Untersuchung identificirt.

Die Versuche, deren Ergebnisse ich im Vorigen mitgetheilt habe, bilden eine Ergänzung der von mir und meinen Mitarbeitern über die stickstoffhaltigen Bestandtheile der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* früher ausgeführten Untersuchungen. In den genannten Keimpflanzen sind nun im Ganzen acht Stickstoffverbindungen nachgewiesen worden, die man als Produkte des Eiweissumsatzes betrachten kann, nämlich Asparagin, Leucin, Amidovaleriansäure, Tyrosin, Phenylalanin, Arginin, Histidin und Lysin. Leucin und Tyrosin vermochte ich nur aus Pflänzchen abzuschcheiden, deren Vegetationszeit nur ca. eine Woche betragen hatte.