

# Ein Beitrag zur Kenntniss der Hexonbasen.

Von

Dr. Yandell Henderson.

---

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

(Der Redaction zugegangen am 16. März 1900.)

---

## I. Gibt es mehrere Lysine?

Diese von Drechsel<sup>1)</sup> entdeckte Base ist von Siegfried, Hedin, Schulze, sowie von A. Kossel und seinen Mitarbeitern unter den Zersetzungsprodukten thierischer und pflanzlicher Eiweissstoffe, besonders reichlich des Histons und des Sturins aufgefunden worden. Vor Allem ist es durch die von A. Kossel angegebene Darstellungsmethode möglich geworden, sie in so bequemer Weise darzustellen, dass man die Frage nach ihrer Constitution ohne besondere Schwierigkeit in Angriff nehmen kann. Ich habe es versucht, einen Beitrag zu dieser Frage zu liefern: ehe ich jedoch meine Versuche in dieser Richtung begann, habe ich mich auf Veranlassung des Herrn Professor A. Kossel mit der Frage beschäftigt, ob die Lysine verschiedenen Ursprungs mit einander identisch sind. Zu einer solchen Vergleichung forderte nicht nur die bekannte Thatsache auf, dass im Thierkörper verschiedene isomere Leucine gebildet werden, sondern auch die Beobachtung, dass die Schmelzpunkte und die Löslichkeitsverhältnisse der aus verschiedenen Eiweisskörpern dargestellten Lysinpräparate im rohen Zustand recht beträchtliche Unterschiede zeigten.

Folgende acht Lysinpräparate wurden mir für diesen Zweck von Herrn Professor A. Kossel zur Verfügung gestellt:

1. Lysin durch Zersetzung mit verdünnter Mineralsäure aus Pepton (Deuteroalbumose aus Wittepepton) gewonnen.
2. In gleicher Weise aus Spongine von Herrn Dr. Kutscher dargestellt.

---

<sup>1)</sup> Drechsel, Der Abbau der Eiweissstoffe. Archiv f. Physiol. von E. du Bois-Reymond 1891. S. 248.

3. In gleicher Weise aus Leim (Handelsgelatine) von Herrn Dr. Kutscher gewonnen.

4. und 5. Zwei Präparate in gleicher Weise aus Casein gewonnen.

6. Aus Fibrin durch langdauernde Trypsinwirkung.

7. und 8. Zwei Lysinpräparate unbekanntem Ursprungs.

Ich führte alle diese Präparate, soweit sie nicht schon als Chloride vorlagen, in diese über und trennte sodann jedes derselben nach seiner Löslichkeit in Alkohol in mehrere Fractionen. Die in Alkohol leichter löslichen Fractionen wurden durch Aether aus dieser Lösung gefällt. Die meisten der so gewonnenen Fractionen schmolzen zwischen 190 und 200°, einzelne zeigten aber ganz bedeutende Abweichungen des Schmelzpunktes nach unten oder nach oben. Ähnliche Schwankungen fand ich auch in der specifischen Drehung, die, in 2 bis 4° iger Lösung untersucht, für  $(\alpha)_D$  Werthe zwischen +10,2 und -15,4° ergaben.

Diese Unterschiede waren nur durch Verunreinigungen bedingt: zum Theil durch Gegenwart von Kochsalz. Sie verschwanden, als ich von der Anwendung von Alkohol und Aether als Lösungs- resp. Fällungsmittel völlig Abstand nahm und das Lysinchlorid aus salzsäurehaltigem Wasser umkrystallisirte. Die aus dieser Lösung gewonnenen Krystalle wurden mit Alkohol gewaschen und im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

Nach mehrfachem Umkrystallisiren erhielt ich aus jedem Präparat eine Fraction völlig reiner Krystalle, ferner wurden zwei Fractionen aus den vereinigten Mutterlängen dargestellt. Alle zeigten die gleichen Eigenschaften und den Schmelzpunkt 192—193°. Die Krystalle waren farblos, kaum hygroskopisch und nur wenig löslich in absolutem Alkohol.

Seitdem habe ich noch ein weiteres Präparat von Lysinchlorid aus Handelsgelatine dargestellt. Dasselbe zeigte in zwei Fractionen krystallisirt den Schmelzpunkt 193°.

Die polarimetrische Untersuchung dieser Präparate ergab folgende Zahlen:

| Ursprung des Lysins       | l     | t      | p      | d      | $\alpha_D$ | $(\alpha)_D$ für             |                   |
|---------------------------|-------|--------|--------|--------|------------|------------------------------|-------------------|
|                           |       |        |        |        |            | $C_6H_{14}N_2O_7 \cdot 2HCl$ | $C_6H_{14}N_2O_7$ |
| I. Casein                 | 6 dm. | 18° C. | 4.4560 | 1.0128 | + 3.94     | + 14.62                      | 21.93             |
| II. Fibrin(Pankreasverd.) | 6     | 20°    | 3.0000 | 1.0089 | + 2.78     | + 15.29                      | 22.93             |
| III. Spongine             | 4     | 19°    | 2.0030 | 1.0065 | + 1.12     | + 14.03                      | 21.05             |
| IV. Casein                | 6     | 20°    | 3.7074 | 1.0098 | + 3.37     | + 15.05                      | 22.57             |
| V. Unbekannt              | 6     | 20°    | 2.7884 | 1.0071 | + 2.56     | + 15.25                      | 22.87             |
| VI. Unbekannt             | 4     | 19°    | 4.6700 | 1.0127 | + 2.88     | + 15.30                      | 22.95             |

Lawrow fand  $(\alpha)_D = 15,5$  (in 2,8%iger Lösung).

Diese Prüfung der physikalischen Eigenschaften des Lysinchlorids wurde durch Stickstoffbestimmungen ergänzt. Bei Anwendung der Kjeldahl'schen Methode zeigten sich die Stickstoffwerthe stets zu niedrig, mochte ich Kupfersulfat oder Quecksilberoxyd als oxydirendes Mittel anwenden, oder Kaliumsulfat hinzufügen, sie betragen 9,7 bis 10,3%, während die Theorie 12,8% verlangt. Volumetrische Analysen ergaben hingegen 13,0 und 13,3% Stickstoff in zwei verschiedenen Präparaten. Die Kjeldahl'sche Methode ist also zur Untersuchung des Lysins nicht ohne Weiteres zu benutzen. Wenn jedoch die Zersetzung des Lysins mit Schwefelsäure und oxydirenden Mitteln bei Anwesenheit einer hinreichenden Menge Phosphorwolframsäure ausgeführt wird, so stimmen die gefundenen Stickstoffwerthe mit den berechneten überein.

Nach einem allerdings nur vereinzelt Experiment scheint es mir, als ob beim andauernden Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure aus dem Lysin eine flüchtige stickstoffhaltige Substanz entweicht.

Fassen wir die Resultate dieser Versuche zusammen, so ergibt sich, dass in den oben angeführten Präparaten stets ein und dasselbe Lysin enthalten ist<sup>1)</sup>.

Den geringen Unterschieden, die sich bei der polarimetrischen Prüfung der Lysinpräparate ergeben haben, darf

<sup>1)</sup> Selbstverständlich ist die Existenz isomerer Lysine damit keineswegs ausgeschlossen.

man um so weniger Bedeutung beilegen, da der bei der Darstellung benutzte Baryt das Drehungsvermögen beeinflussen kann. Siegfried<sup>1)</sup> hat festgestellt und Lawrow bestätigt<sup>2)</sup>, dass das Lysin unter der Einwirkung des Baryts in der Wärme langsam inactiv wird.

## II. Ueber die Einwirkung schmelzenden Kalis auf Lysin.

Bekanntlich hat Drechsel<sup>3)</sup> das Lysin als eine  $\alpha, \epsilon$ -Amido-normalcapronsäure aufgefasst. Dieser Anschauung entsprechend suchte er es durch trockne Destillation in Pentamethylen-diamin und Kohlensäure zu spalten. Diese Versuche schlugen jedoch fehl und erst in jüngster Zeit ist es Ellinger geglückt, das Lysin durch Bakterienwirkung in Pentamethylen-diamin überzuführen.<sup>4)</sup> Auch wenn man diese Zerlegung als eine glatte Spaltung auffasst, bleibt noch die Frage zu entscheiden, welche Stelle die Carboxylgruppe einnimmt. Hier ist nur eine Stellung, nämlich diejenige im centralen Kohlenstoffatom, welche dem Lysin eine symmetrische Formel geben würde, ausgeschlossen, denn diese würde mit der optischen Activität dieser Base kaum zu vereinigen sein.

Auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. A. Kossel habe ich die Einwirkung des schmelzenden Kalis auf Lysin untersucht. Wie Liebig erwiesen hat, erfolgt die Zersetzung des Leucins durch schmelzendes Kali unter Bildung von Valeriansäure, Ammoniak und Kohlensäure nach folgendem Schema:



Geht man von der Ansicht aus, dass das Lysin eine dem Leucin analoge Constitution besitzt, so könnte man unter gleichem Verhältnisse hier Glutarsäure als Hauptprodukt der Einwirkung erwarten.

1) Siegfried, Archiv f. Physiologie von E. du Bois-Reymond 1891, S. 270.

2) Lawrow, l. c.

3) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XXV, S. 3502.

4) Berichte der d. chem. Gesellsch., Bd. XXXII, S. 3542.

Vorläufige Versuche mit Leucin überzeugten mich davon, dass die Valeriansäure, die durch schmelzendes Kali aus dieser Amidosäure erzeugt wird, leicht nachweisbar ist. Als ich zum Beispiel bei dem ersten Versuch Leucin mit dem fünffachen Gewicht Aetzkali und wenig Wasser im Liebermann'schen Nickeltiegel zwei Stunden auf  $240^{\circ}$  erhitzt hatte (bis zum Aufhören der Ammoniakentwicklung), konnte ich aus der in Wasser gelösten und mit Schwefelsäure angesäuerten Schmelze eine organische Säure abdestilliren, deren Silbersalz  $51,85\%$  Ag enthielt, für valeriansaures Silber ist berechnet:  $51,67\%$  Ag. Ein bemerkenswerthes Resultat ergab ein zweiter Versuch, bei welchem ich 9 g reines Leucin in gleicher Weise mit Kali schmolz. Hier wurde ebenso wie beim ersten Versuch die durch Kaliwirkung gebildete flüchtige Säure übergetrieben, das Destillat mit Natronlauge genau neutralisirt, auf ein geringes Volumen eingedampft und mit Silbernitrat gefällt. Das Silbersalz wurde durch fractionirte Krystallisation in zwei Portionen verschiedener Löslichkeit zerlegt und in beiden der Silbergehalt festgestellt. Das Ergebniss war folgendes:

1. Schwerer löslicher Theil enthielt:  $51,27\%$  Ag.
  2. Leichter löslicher Theil enthielt:  $61,00\%$  Ag.
- Berechnet für  $C_5H_9O_2$  Ag:  $51,67\%$  Ag.  
 „ „  $C_3H_5O_2$  Ag:  $59,67\%$  Ag.  
 „ „  $C_2H_3O_2$  Ag:  $64,67\%$  Ag.

Aus diesem Versuch ergibt sich, dass bei der Einwirkung schmelzenden Kalis auf Leucin neben der Valeriansäure noch gewisse Mengen niederer Fettsäure gebildet werden. Da ich in dem Extract der nicht flüchtigen Stoffe eine ätherlösliche Säure nachweisen konnte, welche sich wie Oxalsäure verhielt, so kann man vermuthen, dass hier auch Ameisensäure als Durchgangsprodukt gebildet wird.

Das für die folgenden Versuche benutzte Lysin war eine Mischung der im ersten Theil dieser Arbeit erwähnten Präparate. Es wurden 4 Versuche angestellt, bei denen das Lysin mit dem zehnfachen Gewicht Kalihydrat und wenig Wasser im Nickeltiegel erhitzt wurde und zwar in den beiden ersten Versuchen auf dem Oelbade, bei den letzten direkt über kleiner

Flamme. Es erwies sich als nothwendig, die schmelzende Masse fortwährend umzurühren, um das Schäumen und eine zu hohe Temperatursteigerung zu verhindern. Die Entwicklung von Ammoniak begann bei 280°, eine andere flüchtige Base konnte nicht nachgewiesen werden. Bei einem Versuch wurde ein Theil der alkalischen Dämpfe durch Salzsäure hindurchgesaugt, die durch Titration und Wägung des Rückstandes von Ammoniumchlorid ermittelten Zahlen stimmten mit den Zahlen des Ammoniaks überein. Unter 280° konnte die Bildung flüchtiger oder nicht flüchtiger Säuren nicht beobachtet werden.

Nach dem Abkühlen der Schmelze wurde die Reactionsmasse, wie oben beschrieben, aus saurer Lösung mit Wasserdämpfen destillirt, bis die letzte Spur flüchtiger Säure übergegangen war. Die Extraction des nicht flüchtigen Rückstandes mit Aether und der eingedampften Masse mit Alkohol ergab nur beim Versuch 4 die Gegenwart einer Menge einer Säure, die die Reactionen der Oxalsäure zeigte. Die Menge war für die Analyse zu gering. Das Destillat wurde mit n 10 Natronlauge titirt, die Resultate dieser Titirung sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt, in welcher das Verhältniss

$$\frac{1 \text{ Molekül Lysin}}{2 \text{ Aequival. fl. Säure}} = 1 \text{ gesetzt worden ist.}$$

| Versuchs-<br>Nummer | Angewandte<br>Menge des<br>Lysinchlorids | Temperatur<br>der Schmelze | Dauer<br>der Schmelze | Verhältniss<br>der gefundenen<br>zur berechneten<br>Menge der<br>flüchtigen Säure |
|---------------------|------------------------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 1                   | 3 g                                      | 280°                       | 5 Stunden             | 0.15                                                                              |
| 2                   | 3 g                                      | 300°                       | 30 Min.               | 0.23                                                                              |
| 3                   | 3 g                                      | 300°                       | 40 Min.               | 0.93                                                                              |
| 4                   | 4 g                                      | 300°                       | 45 Min.               | 0.96                                                                              |

Somit waren bei den letzten beiden Versuchen auf ein Molekül Lysin 2 Aequivalente flüchtiger Säure gebildet worden, bei den ersten beiden Versuchen war die Reaction unvollständig. Auch war bei den ersten Versuchen während der Destillation ein schwacher Geruch nach Buttersäure oder Valeriansäure bemerkbar, bei der Destillation der beiden letzten

Versuche trat der Geruch nach Essigsäure oder Propionsäure auf.

Schon die gefundenen Säurezahlen drängen zu der Annahme, dass Propionsäure oder Essigsäure entstanden ist, und dies wird durch die Analyse der Silbersalze der flüchtigen Säuren bestätigt. Dieselbe wurden aus jedem Versuch in mehreren Fractionen gewonnen.

| Versuchs-<br>Nummer | Fraction    | Kohlenstoff<br>in Procenten | Wasserstoff<br>in Procenten | Silber<br>in Procenten |
|---------------------|-------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|
| 1                   | a           | 14.91                       | 1.99                        | 63.21                  |
|                     | b           | 15.09                       | 2.03                        | 63.46                  |
| 2                   | a           | 16.23                       | 2.20                        | 62.50                  |
|                     | b           | 16.22                       | 2.25                        | 62.02                  |
| 3                   | a 1)        | —                           | —                           | 63.77                  |
|                     | a 2)        | —                           | —                           | 63.81                  |
|                     | a 3)        | —                           | —                           | 64.23                  |
|                     | b           | 15.06                       | 1.96                        | 62.73                  |
| 4                   | a 1)        | —                           | —                           | 63.92                  |
|                     | a 2)        | —                           | —                           | 64.07                  |
|                     | b           | 15.31                       | 2.04                        | 64.03                  |
| Berechnet für       | Kohlenstoff | Wasserstoff                 | Silber                      |                        |
| Silberacetat        | 14.37       | 1.80                        | 64.67                       |                        |
| Silberpropionat     | 19.89       | 2.76                        | 59.67                       |                        |

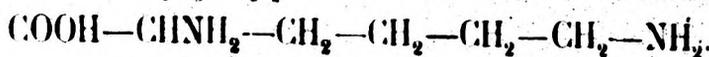
Diese Resultate zeigen, dass hier Essigsäure vorliegt, der eine geringe Menge einer höheren Säure beigemischt ist. Meine zahlreichen Versuche, eine vollkommene Trennung dieser beiden Säuren herbeizuführen, hatten keinen Erfolg. Diese Trennung wäre jedenfalls gelungen, wenn die der Essigsäure beigemischte Säure Buttersäure oder Valeriansäure gewesen wäre.

Vergebens versuchte ich die auf Grund von Linnemann's<sup>1)</sup> Angaben von Haberland<sup>2)</sup> ausgearbeitete Methode zur Trennung von Essigsäure und Propionsäure anzuwenden. Ich hätte bei den Reactionsprodukten der Kalischmelze aus Lysin ebensowenig Erfolg, wie bei künstlichen Gemischen von Essigsäure und Propionsäure, die ich mir bereitete und die ich genau nach den Vorschriften Haberland's verarbeitete.

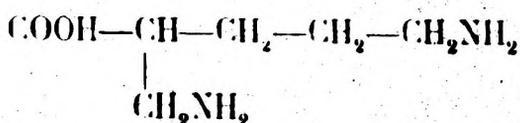
Somit ergab sich, dass an Stelle der erwarteten Glutarsäure ein Gemisch von Essigsäure und Propionsäure aufgetreten war. Eine Erklärung für dies Verhalten fand sich erst, als die Glutarsäure selbst 30 Minuten bei 280—300° mit Kali geschmolzen und die Schmelze auf flüchtige Säuren verarbeitet wurde. Hierbei entstanden dieselben Säuren, welche ich aus dem Lysin erhalten hatte, in reichlichen Mengen. Die Analyse der aus Glutarsäure dargestellten Silbersalze ergab:

1. Fraction: 63,4% Ag.
2. Fraction: 63,4% Ag.
3. Fraction: 63,5% Ag.

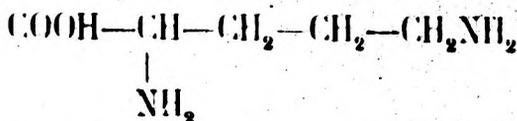
Meine Versuche stimmen somit völlig mit der Auffassung des Lysins als einer  $\alpha, \epsilon$ -Amidocapronsäure überein. Die Stellung der Carboxylgruppe ist also wahrscheinlich folgende:



Die Stellung



ist unwahrscheinlich, da sich in diesem Falle vermuthlich das Lysin der Wirkung schmelzenden Kalis gegenüber ebenso verhalten würde, wie die Diamidovaleriansäure



welche aus Arginin<sup>3)</sup> hervorgeht. Einige Versuche belehrten

1) Linnemann, Annalen der Chemie, Bd. 160, S. 223.

2) K. R. Haberland, Zeitschrift für analytische Chemie 1899, S. 217. Diese Methode beruht auf der verschiedenen Löslichkeit der basischen Bleisalze in siedendem Wasser.

3) Schulze u. Winterstein; Berichte der deutsch. chem. Ges. 32, S. 3191 und diese Zeitschr. Bd. XXVI, S. 1.

nich aber darüber, dass das Arginin durch schmelzendes Kali nicht in gleicher Weise zerlegt wird, wie Lysin.

6 g Argininchlorid wurden zunächst mit 60 g Kali im Oelbade eine Stunde auf 200° erhitzt. Die Destillation, in gleicher Weise wie beim Lysin ausgeführt, gab nur eine geringe Menge flüchtiger Säure (0.2 g Silbersalz). Bei der Destillation war starker Buttersäuregeruch bemerkbar. Das Silbersalz gab bei der Analyse: 56.89% Ag, berechnet für Silberbutyrat: 55.38% Ag. Im nicht flüchtigen Antheil waren keine ätherlöslichen Stoffe nachweisbar. Nach Ausfällung der Schwefelsäure mit Baryt wurde der Rückstand eingedampft und von Neuem mit Kali bei 300° geschmolzen, bis die bei 280° beginnende Ammoniakentwicklung beendet war (3/4 Stunde). Die Schmelze wurde angesäuert und destillirt, wobei kein Buttersäuregeruch bemerkbar war, der nicht flüchtige Theil gab keine Stoffe aus wässriger Lösung an Aether ab. Die Analyse der aus den flüchtigen Säuren dargestellten Silbersalze gab folgende Zahlen:

|                             | C     | H    | Ag    |
|-----------------------------|-------|------|-------|
| Gefunden:                   | 15.21 | 2.13 | 63.38 |
| Berechnet für Silberacetat: | 14.37 | 1.80 | 64.67 |
| Silberpropionat             | 19.89 | 2.76 | 59.67 |

Während die Zusammensetzung des aus Arginin gewonnenen Salzes hiernach die gleiche war, war die quantitative Ausbeute doch eine durchaus andere. Dieselbe war eine derartige, dass man auf 1 Molekül Arginin die Bildung von 1 Molekül flüchtiger Säure anzunehmen hat. Setzt man dies berechnete Verhältniss  $\frac{1 \text{ Molekül Arginin}}{1 \text{ Äquivalent fl. Säure}}$  gleich 1, so betrug das gefundene 0.90.

Diese Ergebnisse schliessen zwar die zweite der in Erwägung gezogenen Formeln nicht mit Sicherheit aus, machen es aber höchstwahrscheinlich, dass dem Lysin die Constitution

$$\text{COOH}-\text{CHNH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$$

zukommt.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. A. Kossel für sein vielfaches Interesse und seine Unterstützung bei meinen Arbeiten in seinem Laboratorium meinen herzlichsten Dank auszusprechen.