

Ueber das Verhalten einiger Monoaminosäuren gegen Phosphorwolframsäure.

Von
E. Schulze und E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 11. September 1901.)

Wenn man aus den beim Erhitzen der Eiweissstoffe mit einer Mineralsäure erhaltenen Lösungen die Hexonbasen durch Phosphorwolframsäure ausfällen und auch den Stickstoffgehalt der so entstandenen Niederschläge bestimmen will, so ist es nicht gleichgültig, wie die in jenen Lösungen vorhandenen Monoaminosäuren sich gegen das genannte Fällungsmittel verhalten. Im Einklang mit der von früher her vorliegenden Angabe, dass die Monoaminosäuren, wenigstens in verdünnter Lösung, nicht durch Phosphorwolframsäure gefällt werden, stehen die Resultate einiger Versuche, die wir mit Glycocoll, optisch activem und optisch inactivem Leucin, Aminovaleriansäure (dargestellt aus Lupinuskeimpflanzen) und Tyrosin anstellten: keine dieser Stickstoffverbindungen gab in 5^oiger wässriger, mit Schwefelsäure stark angesäuerter Lösung mit Phosphorwolframsäure einen Niederschlag.¹⁾ Anders verhält sich aber Phenylalanin (Phenyl- α -aminopropionsäure)²⁾. Wenn man eine 5^oige wässrige, mit Schwefelsäure oder Salzsäure angesäuerte Lösung dieser Aminosäure mit Phosphorwolframsäure versetzt, so entsteht

1) Doch schieden sich in einigen der mit dem Reagens versetzten Lösungen Krystalle aus, als dieselben einige Wochen lang in verschlossenen Gläsern aufbewahrt wurden.

2) Für diese Versuche wurde ein aus Lupinuskeimpflanzen dargestelltes Phenylalaninpräparat verwendet.

eine ölige Fällung, welche nach einiger Zeit krystallinisch wird. Sie löst sich schwer in kaltem Wasser (um die bei Verwendung von ca. 0,1 g Phenylalanin erhaltene Fällung in Lösung zu bringen, bedurften wir ungefähr 50 cem. kalten Wassers). In kochendem Wasser löst sich die Fällung leicht auf; beim Erkalten liefert die Lösung glänzende, blätterige Krystalle, welche sich als luftbeständig erwiesen. In einer sehr stark verdünnten Phenylalaninlösung entsteht die Fällung nicht.

Das Verhalten des Phenylalanins gegen Phosphorwolframsäure kann zur Unterscheidung dieser Stickstoffverbindung von anderen Monoaminosäuren dienen: es wird sich aber höchstwahrscheinlich auch zur Isolirung der genannten Aminosäure gebrauchen lassen (bezügliche Versuche beabsichtigen wir in nächster Zeit auszuführen). Das zur Trennung des Phenylalanins von den anderen, beim Eiweisszerfall entstehenden Monoaminosäuren früher benutzte Verfahren weist manche Mängel auf; ist auch vor Kurzem ein ohne Zweifel weit besseres Verfahren von E. Fischer beschrieben worden, so würde es doch vielleicht von Werth sein, wenn man noch eine neue Isolirungsmethode für das Phenylalanin auffinden könnte.

Ob das Phenylalanin aus den beim Kochen der Eiweissstoffe mit Säure entstandenen Lösungen durch Phosphorwolframsäure gefällt wird oder nicht, das wird von dem Concentrationsgrade dieser Lösungen abhängen. Da die Eiweissstoffe, so viel bis jetzt bekannt ist, bei der Spaltung Phenylalanin nur in kleiner Quantität liefern, so findet sich das letztere vielleicht in jenen Lösungen meistens in so starker Verdünnung vor, dass es der Ausfällung durch das genannte Reagens entgeht. Andererseits aber ist im Hinblick auf die oft gemachte Beobachtung, dass manche Substanzen, die in reinen Lösungen mit einem Reagens keine Fällung geben, doch in einen durch dieses Reagens hervorgebrachten Niederschlag partiell mit eingehen, mit der Möglichkeit zu rechnen, dass die Monoaminosäuren durch Phosphorwolframsäure partiell gefällt werden. So haben denn auch Kossel und Kutscher¹⁾ be-

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. XXXI. S. 165.

obachtet, dass in den Phosphorwolframsäureniederschlägen Leucin und Tyrosin in gewisser Menge enthalten waren. Dass auch die von uns dargestellten Phosphorwolframsäureniederschläge nicht frei von Monoaminosäuren seien, mussten wir vermuthen, nachdem wir gefunden hatten, dass der Stickstoffgehalt jener Niederschläge grösser war, als die Summe der in den Hexonbasen und im Ammoniak gefundenen Stickstoffmengen. Doch haben wir bei dem Versuch, aus jenen Niederschlägen Monoaminosäuren zu isoliren, negative Resultate erhalten.

Für einen unserer Versuche diente die bei Zersetzung der Eiweisssubstanz der Seekiefersamen mit Salzsäure erhaltene Lösung. Der in dieser Lösung durch Phosphorwolframsäure hervorgebrachte Niederschlag wurde bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen, dann in bekannter Weise mit Barytwasser zerlegt. Aus der dabei erhaltenen Basenlösung fällten wir das Histidin und das Arginin zusammen durch Silbersulfat und Barytwasser aus. Das Filtrat von dem so erhaltenen Niederschlage wurde vom Silber und vom Baryumhydroxyd befreit und hierauf eingedunstet. Den dabei erhaltenen Rückstand, welcher selbstverständlich das Lysin einschloss, erhitzen wir im Wasserbade mit einem Gemisch von Alkohol und etwas concentrirter Ammoniakflüssigkeit. Die vom Ungelösten abfiltrirte Flüssigkeit lieferte beim Eindunsten eine nicht bedeutende Quantität eines syrupösen Rückstands. Dieser Rückstand gab mit Millon'schem Reagens keine Tyrosinreaction. Er wurde noch einmal mit einem heissen Gemisch von Alkohol und Ammoniakflüssigkeit behandelt, wobei er grösstentheils in Lösung ging. Den beim Verdunsten dieser Lösung verbliebenen Rückstand, welcher sich leicht in kaltem Wasser auflöste, prüften wir noch einmal auf Tyrosin, jedoch wieder mit negativem Resultat. Wir prüften ferner, ob dieser Rückstand beim Erhitzen im Glasröhrchen sich wie Leucin verhielt; es gelang uns aber nicht, aus denselben ein Sublimat zu erhalten, wie es bekanntlich selbst aus unreinem Leucin sich leicht gewinnen lässt.

Ein zweiter in der gleichen Weise unter Mitwirkung von O. Meyer ausgeführter Versuch, für welchen gleichfalls eine bei Zersetzung der Eiweisssubstanz der Seekiefersamen durch Salzsäure erhaltene Lösung verwendet wurde, gab genau das gleiche Resultat.

Wären Leucin und Tyrosin in unseren Phosphorwolframsäureniederschlägen enthalten gewesen, so hätten sie doch wohl in den in der beschriebenen Weise von uns erhaltenen Rückständen sich vorfinden und bei Behandlung der letzteren mit einem heissen Gemisch von Alkohol und Ammoniakflüssigkeit in Lösung gehen müssen.

Wie aus der vorhergehenden Abhandlung zu erschen ist, haben wir die bei Zerlegung unserer Phosphorwolframsäureniederschläge erhaltenen Basenlösungen in der Regel in der Weise verarbeitet, dass wir aus denselben das Histidin durch Quecksilberchlorid, das Arginin durch Silbernitrat und Barytwasser und schliesslich das Lysin durch Phosphorwolframsäure ausfällten. Man wird anzunehmen haben, dass Monoaminosäuren, welche etwa mit den Hexonbasen ausgefallen waren, bei Ausführung der beschriebenen Operationen grösstentheils in das Filtrat vom phosphorwolframsauren Lysin übergingen; dieser Annahme entsprechen auch die Resultate, die wir bei Untersuchung unvollständig ausgewaschener Phosphorwolframsäureniederschläge, in denen selbstverständlich Monoaminosäuren sich vorfinden mussten, erhielten. Wir haben nun in drei Fällen ¹⁾ das Filtrat vom phosphorwolframsauren Lysin auf Leucin und Tyrosin untersucht, und zwar in folgender Weise: die Flüssigkeit wurde mit Hülfe von Barytwasser von Phosphorwolframsäure, sodann mit Hülfe von Kohlensäure vom überschüssigen Baryt befreit. Das Filtrat vom Baryumcarbonat wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit einem Gemisch von Alkohol und concentrirter Ammoniakflüssigkeit erhitzt. Die vom Ungelösten abfiltrirte Lösung wurde eingedunstet.

1) Die in diesen drei Versuchen verwendeten Filtrate stammten von den Basenlösungen, die bei Verarbeitung der Eiweisssubstanzen der Rothtannen-, Kiefer- und Kürbissamen erhalten worden waren. Vergl. die vorhergehende Abhandlung.

der Verdampfungsrückstand wieder mit einem Gemisch von Alkohol und Ammoniakflüssigkeit behandelt, die Lösung wieder eingedunstet. Der so erhaltene Verdampfungsrückstand löste sich leicht in kaltem Wasser und zeigte weder das Aussehen des Tyrosins, noch des Leucins. Die Prüfung auf Tyrosin mit Hülfe des Millon'schen Reagens gab negative Resultate. Beim Erhitzen des Rückstandes im Glasröhrchen erhielten wir nur in einem Falle eine äusserst geringe Menge eines Sublimates, dessen Entstehen die Möglichkeit offen lässt, dass eine minimale Leucinmenge sich vorfand; doch war die Erscheinung so, dass eine sichere Schlussfolgerung auf das Vorhandensein von Leucin oder einer anderen Aminosäure von ähnlichem Verhalten auch in diesem Falle nicht gezogen werden konnte.

Die Untersuchung unserer Phosphorwolframsäureniederschläge auf Leucin und Tyrosin gab also fast immer ganz negative Resultate. Auch haben wir in unseren Versuchen keine Erscheinung auftreten sehen, welche als Beweis dafür betrachtet werden kann, dass in jenen Niederschlägen Phenylalanin sich vorfand. Doch glauben wir, die Frage, ob in jenen Niederschlägen Phenylalanin enthalten war, auf Grund unserer Versuche nicht mit Sicherheit entscheiden zu können.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass wir für unsere Untersuchungen ausschliesslich gut krystallisirte Phosphorwolframsäure verwendet haben, die von uns selbst dargestellt und nach Drechsel's Verfahren mit Hülfe von Aether gereinigt worden war. Wir erwähnen dies, weil es bekanntlich mehrere Phosphorwolframsäuren gibt, und weil es demnach nicht unwahrscheinlich ist, dass verschiedene Phosphorwolframsäurepräparate als Fällungsmittel nicht genau in der gleichen Weise wirken.