

Beiträge zur Kenntniss des Arginins und des Ornithins.

Von
E. Schulze und E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnicums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 7. November 1901.)

In unserer Abhandlung «Ueber die Bildung von Ornithin bei der Spaltung des Arginins und über die Constitution dieser beiden Basen»¹⁾ sprachen wir die Vermuthung aus, dass es möglich sein werde, durch Einwirkung von Cyanamid auf Ornithin (Diaminovaleriansäure) das Arginin synthetisch darzustellen. Dass man in der That auf diesem Wege Arginin erhalten kann, haben wir vor ungefähr 2 Jahren in den Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft²⁾ in aller Kürze mitgetheilt. Am Schluss dieser Mittheilung haben wir eine ausführlichere Abhandlung über den gleichen Gegenstand in Aussicht gestellt. Dass wir diese Abhandlung erst jetzt dem Druck übergeben, hat — abgesehen von einigen äusseren Umständen — seinen Grund darin, dass wir unsere Versuche inzwischen noch ergänzt und erweitert haben. Dazu bedurfte es einer beträchtlichen Quantität von Ornithin: zur Darstellung derselben hatten wir viel Arginin nöthig. Die Herstellung dieser Substanzen nahm ebenso wie die Ausführung der mit denselben gemachten Versuche geraume Zeit für sich in Anspruch. So sind wir denn erst jetzt im Stande, einen abschliessenden Bericht über unsere Versuche zu geben.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 1—14.

2) Bd. 32, S. 3191—3194.

Der Besitz einer beträchtlichen Quantität von Ornithin veranlasste uns, zur Erweiterung unserer Kenntnisse von den Eigenschaften dieser Base noch einige Versuche anzustellen; die dabei erhaltenen Resultate theilen wir im ersten Abschnitt unserer Abhandlung mit. Dann lassen wir im zweiten Abschnitt die Beschreibung der Versuche folgen, die zur synthetischen Darstellung des Arginins geführt haben, im dritten Abschnitt endlich theilen wir die Ergebnisse einiger noch über das Verhalten des Arginins angestellten Versuche mit.

A. Zur Kenntniss des Ornithins.

Das für unsere Versuche erforderliche Ornithin stellten wir nach dem in unserer oben citirten Abhandlung auf S. 3—4 beschriebenen Verfahren dar; wir erhitzen Argininnitrat mit Barytwasser,¹⁾ führten das dabei entstandene Ornithin in Ornithursäure (Dibenzoylornithin) über,²⁾ reinigten letztere durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus Weingeist und zersetzten sie sodann durch anhaltendes Kochen mit concentrirter Salzsäure. Das dabei erhaltene Ornithinchlorid krystallisirte aus der zum Syrup eingedunsteten wässerigen, noch etwas Salzsäure enthaltenden Lösung ohne Schwierigkeit, auch ohne dass Alkohol zugesetzt wurde; es bildete strahlige Krystallaggregate. Wie schon früher einmal, so erhielten wir auch in diesem Falle ein Salz, dessen Chlorgehalt der

1) Auf einen Theil Argininnitrat haben wir eben so viel Baryumhydroxyd genommen, wie früher; doch setzten wir das Kochen etwas länger fort.

2) Ueber das Verhalten der mit Benzoylchlorid behandelten Ornithinlösung ist noch Folgendes zu bemerken: Als diese Lösung zunächst mit so viel Salzsäure vermischt wurde, dass ihre Reaction noch schwach alkalisch blieb, schied sich eine schmierige Substanz aus, welche entfernt wurde. Die davon befreite Flüssigkeit wurde sodann mit mehr Salzsäure versetzt, wobei die Ausscheidung der Ornithursäure erfolgte. Letztere wurde, wie früher, durch wiederholtes Auskochen mit Wasser von dem grössten Theil der Benzoessäure befreit, dann wiederholt aus Weingeist umkrystallisirt. Aus den Benzoessäure-haltigen wässerigen Flüssigkeiten konnte noch eine kleine Ornithursäure-Menge gewonnen werden.

Formel $C_5H_{12}N_2O_2 \cdot 2HCl$ entsprach, wie folgende Angaben beweisen:

- a) 0,1028 g Substanz gaben 0,1434 g AgCl = 34,38% Cl.
 b) 0,1220 „ „ „ 0,1702 „ „ = 34,46% „

Die obige Formel verlangt 34,57% Cl.

Aus der Mutterlauge¹⁾ wurden Krystalle mit niedrigerem Chlorgehalt erhalten; die Analyse lieferte folgende Zahlen:

- 0,1041 g Substanz gaben 0,1430 g AgCl = 33,58% Cl.

Es muss für möglich erklärt werden, dass in einem Salz von solchem Chlorgehalt das Dichlorid mit dem Monochlorhydrat gemengt ist (m. vgl. die in unserer obencitirten Abhandlung gemachten Angaben, sowie die Abhandlungen Jaffe's über das Ornithin).²⁾

Während das Ornithinchlorid wenig löslich in Weingeist ist, löst es sich, wie das Lysinchlorid, leicht in Methylalkohol; beim Verdunsten der Lösung bleibt es krystallinisch zurück.

Da das Ornithin nach der ihm gegebenen Constitutionsformel ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält, so war von vornherein anzunehmen, dass es ein optisch activer Körper ist: dieser Annahme entsprechen die von uns ausgeführten Versuche. Für den ersten dieser Versuche diente das Ornithinchlorid, in welchem 34,4% Cl gefunden wurden, für den zweiten Versuch das Salz mit 33,58% Cl. Die Versuche lieferten folgende Resultate:

Versuch I. Eine wässrige Lösung, welche in 10 cem. 0,5060 g Substanz enthielt, drehte im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat im 200 mm-Rohr bei 10° C. 5,4° nach rechts: also war $[\alpha]_D = +16,8^\circ$.

Versuch II. Eine wässrige Lösung, welche in 10 cem. 0,5475 g Substanz enthielt, drehte im 200 mm-Rohr bei 10° C. 5,4° nach rechts: daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +15,64^\circ$.

1) Aus den letzten Mutterlaugen liess sich in ganz kleiner Menge ein Salz gewinnen, welches verschieden vom salzsauren Ornithin zu sein schien. Es lieferte ein Pikrat, welches im Aussehen nicht mit Ornithinpikrat übereinstimmte.

2) Berichte der Chem. Gesellschaft, Bd. X, S. 1925 u. Bd. XI, S. 406.

Dass die in diesen beiden Versuchen gefundenen Werthe nicht genau übereinstimmen, kann seinen Grund darin haben, dass die für die Versuche verwendeten beiden Salze nicht genau die gleiche Zusammensetzung hatten (sie besaßen nicht den gleichen Cl-Gehalt).

Da das Chloroplatinat und das Pikrat des Lysins gut krystallisirende Salze von charakteristischem Aussehen sind, so schien es uns von Interesse zu sein, die entsprechenden Ornithinsalze darzustellen. Zur Darstellung des Chloroplatinats¹⁾ vermischten wir eine concentrirte wässerige Lösung von Ornithinchlorid mit der zur Bildung des Doppelsalzes erforderlichen Platinchlorid-Quantität und fügten dann Weingeist hinzu: es entstand ein fein krystallinischer Niederschlag, der offenbar aus dem Doppelsalz bestand. Um grössere Krystalle zu erhalten, lösten wir den Niederschlag in ziemlich viel Wasser und fügten dann Weingeist zu; doch gelang es nicht, aus dieser verdünnten Lösung das Doppelsalz wieder zur Ausscheidung zu bringen: als wir aber die Lösung unter einer Glasglocke über concentrirter Schwefelsäure langsam verdunsten liessen, schied sich wieder in sehr kleinen Krystallen ein Chloroplatinat aus: nach dem Abfiltriren und Trocknen bildete dasselbe eine hellgelbe, in Wasser leicht lösliche Masse. Die Analyse des bei 120° getrockneten Salzes gab folgende Zahlen:

1. 0,3270 g Substanz gaben 0,1180 g Pt.

2. 0,296 g Substanz wurden in heissem Wasser gelöst, die Lösung durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Platin befreit, das Filtrat vom Schwefelplatin eingedunstet und dann zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode verwendet: erhalten wurden 0,0147 g N.

	Berechnet für:	Gefunden:	
	$C_5H_{12}N_2O_2 \cdot H_2PtCl_6$	1	2
Pt	35,96	36,09	—
N	5,18	—	4,97

Im Aussehen unterscheidet sich dieses Doppelsalz sehr stark von dem aus alkoholischer Lösung bekanntlich sehr schön krystallisirenden Chloroplatinat des Lysins.

¹⁾ Jaffé gibt in seiner Abhandlung über das Ornithin (loc. cit.) an, dass er ein Chloroplatinat dieser Base nicht habe erhalten können.

Zur Darstellung des Pikrats neutralisirten wir eine ziemlich concentrirte wässrige Ornithinlösung¹⁾ mit weingeistiger Pikrinsäure-Solution und krystallisirten das dabei sich ausscheidende Produkt später aus heissem Wasser um. Wir erhielten das Pikrat so in derben, meist sternförmig vereinigten Prismen von starkem Glanz: beim langsamen Verdunsten einer verdünnten Lösung wurden grosse tafelförmige Krystalle erhalten.²⁾ Eine Stickstoffbestimmung gab folgendes Resultat:

0,2085 g Substanz gaben 36,1 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 15° C. und 732 mm. Druck.

	Berechnet für	Gefunden
	$C_5H_{12}N_2O_2$, $C_6H_3N_3O_7$	
N	19,24	19,51 %.

Endlich haben wir noch das Phosphorwolframats des Ornithins dargestellt. Phosphorwolframsäure bringt schon in einer stark verdünnten Ornithinsalzlösung einen Niederschlag hervor. Der letztere löst sich ziemlich leicht in kochendem Wasser: aus der Lösung scheiden sich beim Erkalten feine, glänzende, zu Gruppen vereinigte Nadeln des Phosphorwolframats aus. Die Verbindung sieht ganz anders aus, als das in feinen Schuppen auftretende phosphorwolframsaure Lysin.

Da das Lysin beim Vermischen seiner wässrigen Lösung mit Silbernitrat und Barytwasser nicht gefällt wird, so durfte man vermuthen, dass das Ornithin das gleiche Verhalten zeigen würde. Das Experiment bestätigte dies. Als wir 0,5 g salzsaures Ornithin mit Hilfe von Silbernitrat in Ornithinnitrat verwandelten und der wässrigen Lösung des letzteren Silbernitrat und Barytwasser zusetzten, entstand ein brauner Niederschlag, welcher keine organische Base einschloss; als wir denselben abfiltrirten, mit Wasser auswuschen und sodann durch Schwefelwasserstoff zersetzten, erhielten wir eine Lösung, in welcher durch Phosphorwolframsäure kein Niederschlag hervor-

1) Eine stark verdünnte Ornithinlösung wird durch Pikrinsäure nicht gefällt.

2) Vielleicht existiren zwei Pikrate, was wir noch zu untersuchen gedenken.

gebracht wurde. Man kann also durch Fällung mit Silbernitrat und Barytwasser nach Kossel's Methode das Arginin nicht nur vom Lysin, sondern auch vom Ornithin trennen.

In unserer kurzen Mittheilung in den Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft haben wir erwähnt, dass wir aus dem Ornithin Pyrrolidin darzustellen versuchten. Dem Versuch lag die Vermuthung zu Grunde, dass bei der Zersetzung des Ornithins Pyrrolidin durch Ringschliessung sich bilden könne; liess sich dies nachweisen, so konnte man daraus einen Schluss auf die Constitution des Ornithins machen. Wir unterwarfen 1,8 g salzsaures Ornithin in einem kleinen Kölbchen im Salzsäurestrom, später noch einmal eine kleine Menge unter Herstellung eines partiellen Vacuums der trockenen Destillation. Dabei gingen einige Oeltropfen über, wir brachten dieselben mit Kalilauge zusammen, trennten die Flüssigkeit von einer harzigen Ausscheidung und destillirten sie dann, um die freie Base zu gewinnen. Das Destillat besass den gleichen Geruch, wie ein aus Pyrrol durch Reduction mit Jodwasserstoffsäure und Phosphor dargestelltes Pyrrolidinpräparat. Auch gab das neutralisirte Destillat mit Kaliumwismuthjodid und Kaliumcadmiumjodid Fällungen, wie das Pyrrolidin. Endlich haben wir noch das Chloraurat der Base dargestellt; dasselbe schmolz nach einmaligem Umkrystallisiren unter Zersetzung bei 200° ; für das Chloraurat des Pyrrolidins wird 206° als Schmelzpunkt angegeben. Die Differenz kann davon herrühren, dass unser Chloraurat noch nicht ganz rein war.

Wir erhielten die im Vorigen besprochene Base nur in sehr kleiner Menge. Es unterlag keinem Zweifel, dass wir, um sie in einer zur genaueren Untersuchung hinreichenden Quantität zu gewinnen, sehr viel Ornithin hätten aufwenden müssen. Wir konnten aber von weiteren Versuchen absehen, weil inzwischen Ellinger¹⁾ über die Constitution des Ornithins Licht verbreitet hatte. Dieser Forscher hat nachgewiesen, dass aus Ornithin Putrescin sich bilden kann; daraus ist

¹⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 31, S. 3183; diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 334.

aber zu schliessen, dass im Ornithin die Amidogruppen sich in der α - δ -Stellung befinden. Diese Schlussfolgerung hat später durch die von E. Fischer¹⁾ ausgeführte synthetische Darstellung der α - δ -Diaminovaleriansäure (des optisch inactiven Ornithins) eine Bestätigung erhalten. Die Constitution des Ornithins kann demnach als aufgeklärt gelten.

B. Synthetische Darstellung von Arginin aus Ornithin und Cyanamid.

Zur Darstellung von Arginin aus Ornithin und Cyanamid haben wir fünf Versuche angestellt, von denen aber der erste, ausgeführt mit einer sehr kleinen Substanzmenge, nur ein Vorversuch war. In vier Versuchen liessen wir das Cyanamid theils bei gewöhnlicher Temperatur, theils in der Wärme auf freies Ornithin einwirken, im fünften Versuche brachten wir das Chlorhydrat des Ornithins mit Cyanamid und der zur Bindung der Salzsäure erforderlichen Baryumhydroxydmenge zusammen. Um das freie Ornithin darzustellen, erhitzen wir die wässrige Lösung des Ornithinchlorids mit etwas mehr als der berechneten Menge von Silbersulfat; letzteres wurde zuvor fein zerrieben, in Wasser aufgeschlemmt und dann in kleinen Antheilen der Ornithinchloridlösung zugesetzt. Aus der vom Chlorsilber abfiltrirten Lösung fällten wir die Schwefelsäure quantitativ durch Barytwasser aus; das Abfiltriren des Baryumsulfats geschah unter Abhaltung der Luft, um eine Aufnahme von Kohlensäure möglichst zu verhüten. Das Eindampfen der so gewonnenen Ornithinlösung wurde in einem kohlenstofffreien Luftstrom ausgeführt.²⁾ Wir erhielten so das Ornithin in Form eines Syrups, welcher nicht krystallinisch wurde. Das für die Versuche erforderliche Cyanamid stellten wir aus Thioharnstoff mit Hülfe von frisch gefälltem alkalifreiem Quecksilberoxyd unter Zusatz von etwas Sulfocyanammonium in bekannter Weise dar. Es wurde zur Reinigung 4–5 mal in Aether aufgelöst und durch Verdunsten der filtrirten Lösung

¹⁾ Berichte der D. chem. Gesellschaft, Bd. 34, S. 154.

²⁾ So wie es in unserer oben citirten Abhandlung auf S. 8 beschrieben worden ist.

wieder gewonnen. Von dem so gereinigten, schön krystallisirten Produkt wurde dann eine abgewogene Menge (1 Mol. auf 1 Mol. Ornithin) in wässeriger Lösung dem Ornithin zugesetzt. Die für die einzelnen Versuche verwendeten Ornithinmengen wurden, da wir das Ornithin nur als Syrup erhielten, nicht gewogen: wir geben aber im Folgenden in jedem Falle die Ornithinchloridquantität an, von der wir bei Darstellung des Ornithins ausgingen.

Nachdem der oben erwähnte Vorversuch eine kleine Menge eines Produkts geliefert hatte, welches die Reactionen des Arginins gab, stellten wir einen zweiten Versuch an, für welchen 3 g Ornithinchlorid verwendet wurden. Die mit 0,6 g Cyanamid versetzte, sehr concentrirte wässerige Lösung des freien Ornithins wurde, nachdem zur Bindung etwa vorhandener Kohlensäure noch 0,2 g Baryumhydroxyd beigefügt waren, unter einer Glasglocke über einer mit Natronkalk gefüllten Schale aufgestellt und nun sich selbst überlassen. Nach Verlauf von einer Woche wurde eine sehr kleine Probe der Flüssigkeit herausgenommen und mit ammoniakalischer Silberlösung auf Cyanamid geprüft: diese Prüfung wurde von Zeit zu Zeit wiederholt. Nachdem die Flüssigkeit syrupös geworden war, setzten wir zur Verdünnung einige Cubikcentimeter Wasser hinzu. Nach ungefähr 3 Wochen liess sich kein Cyanamid mehr nachweisen. Die Flüssigkeit wurde nun mit Wasser verdünnt, sodann mit Salpetersäure neutralisirt und nun mit Silbernitrat versetzt, wobei ein nicht sehr starker Niederschlag entstand. Dieser Niederschlag wurde abfiltrirt, das Filtrat mit mehr Silbernitrat, sodann mit überschüssigem Barytwasser versetzt, die dabei entstandene bräunliche Fällung mit Hilfe einer Nutsche von der Flüssigkeit getrennt, mit Wasser ausgewaschen, hierauf in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelsilber abfiltrirte alkalische Lösung neutralisirten wir mit Salpetersäure und engten sie sodann im Wasserbade stark ein. Da sie keine Krystalle lieferte, so wurde sie mit Wasser verdünnt und in der Wärme mit Kupferhydroxyd gesättigt, wobei eine tiefblaue Flüssigkeit entstand. Dieselbe wurde, nachdem sie im Wasserbade etwas eingeeengt worden

war,¹⁾ unter eine Glasglocke über concentrirte Schwefelsäure gestellt. Nach einigen Tagen hatten sich aus dieser Flüssigkeit Krystalle ausgeschieden, welche das Aussehen des Argininkupfernitrats $= (\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2)_2 \text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}$ besaßen. Sie wurden von der ziemlich dickflüssigen grünblauen Mutterlauge getrennt und aus Wasser umkrystallisirt; dabei erhielten wir kugelige, aus sehr dünnen Prismen zusammengesetzte dunkelblaue Aggregate, im Aussehen völlig den Krystallaggregaten gleichend, in denen das Argininkupfernitrats sich gewöhnlich aus seiner wässerigen Lösung ausscheidet. Sie besaßen den gleichen Schmelzpunkt, wie das genannte Salz (112—114°) und gaben bei der Analyse Zahlen, die der oben angeführten Formel dieses Salzes entsprachen (man vergleiche die weiter unten gegebene Zusammenstellung der analytischen Resultate). Das bei der Zerlegung dieser Kupferverbindung durch Schwefelwasserstoff erhaltene Nitrats bildete, wie das Argininnitrat, eine weisse aus sehr kleinen Nadeln bestehende Krystallmasse und schmolz gleichzeitig mit einer Probe jenes Nitrats. Die wässrige Lösung dieses Nitrats gab folgende Reaction:

Mit Phosphorwolframsäure: starke weisse Fällung,

Phosphormolybdänsäure: gelbliche Fällung, löslich im Ueberschuss des Reagens,

Kaliumwismuthjodid: rothe Fällung,

Kaliumquecksilberjodid: keine Fällung, auf Zusatz von etwas Natronlauge entsteht aber ein starker weisser Niederschlag.

Schliesslich haben wir noch ein Pikrat dargestellt, indem wir eine wässrige Lösung des Carbonats der Base mit weingeistiger Pikrinsäurelösung neutralisirten. Nach dem Umkrystallisiren aus Wasser stimmte dieses Pikrat im Aussehen vollständig mit Argininpikrat überein und schmolz gleichzeitig mit einer Probe des letzteren unter Zersetzung bei 205°.

Aus den im Vorstehenden mitgetheilten Versuchsergebnissen geht hervor, dass in der mit Cyanamid versetzten

¹⁾ Während des Eindunstens schied sich etwas Kupferoxydul aus; dasselbe wurde durch Filtration entfernt.

Ornithinlösung Arginin sich gebildet hatte. Die Ausbeute an dieser Base war aber in dem beschriebenen Versuch nicht gross: sie betrug nur 15% vom Gewicht des in Verwendung gekommenen Ornithins. Dies konnte im Hinblick auf die Angaben, die über andere, mit Hülfe von Cyanamid ausgeführte Synthesen gemacht worden sind,¹⁾ kaum überraschen; es war aber zu prüfen, ob die Ausbeute nicht durch Abänderung der Versuchsbedingungen erhöht werden könnte; insbesondere schien es wünschenswerth, die Cyanamidquantität zu vergrössern, weil dieses Amid sich bekanntlich in wässriger Lösung langsam von selbst zersetzt, und weil demnach anzunehmen war, dass es nicht seinem ganzen Betrage nach für die Argininbildung in Verwendung kam. Wir haben daher einen dritten Versuch unter Verwendung von 3,73 g Ornithinchlorid²⁾ in folgender Weise angestellt: Das ebenso wie früher dargestellte freie Ornithin wurde in einer stärker verdünnten wässrigen Lösung mit 0,8 g Cyanamid und 3 cem. einer kalt gesättigten Lösung von Baryumhydroxyd zusammengebracht; ausserdem fügten wir etwas Toluol als antiseptisches Mittel zu. Die Flüssigkeit, deren Volumen ungefähr 60 cem. betrug, wurde unter einer Glasglocke über Natronkalk aufgestellt; von Zeit zu Zeit wurde noch etwas Barytwasser hinzugegeben. Als nach Verlauf von etwa drei Wochen in der Flüssigkeit kein Cyanamid mehr nachzuweisen war, wurde noch 0,15 g von diesem Amid zugesetzt. Nachdem auch dieses verschwunden war, verarbeiteten wir die auf ein Volumen von ca. 25 cem. eingedunstete Flüssigkeit ebenso, wie es im zweiten

1) Bei der synthetischen Darstellung des Kreatins aus Sarkosin und Cyanamid durch Volhard (Sitzungsberichte der Akademie der Wissensch. in München, 1868, II, S. 472) betrug die Ausbeute nur 20% vom Gewicht des angewendeten Sarkosins.

2) Als zufällige Verunreinigung enthielt das salzsaure Ornithin eine, jedoch nur äusserst geringe Kupfermenge, die allem Anschein nach bei Ermittlung des specifischen Drehungsvermögens dieses Salzes aus der Messingfassung des Beobachtungsrohres in die wässrige Lösung übergegangen war. Wir erwähnen dies, obwohl wir nicht wissen, ob es von irgend welchem Einfluss auf das Resultat unseres Versuchs war.

Versuch geschehen war: nachdem sie mit Salpetersäure neutralisirt und hierauf von den durch Silbernitrat direkt fällbaren Substanzen befreit worden war, fällten wir aus ihr das Arginin nach Kossel's Methode durch Silbernitrat und Barytwasser aus; dabei erhielten wir einen viel stärkeren Niederschlag als im zweiten Versuch, was schon auf eine grössere Argininausbeute hindeutete. Die bei Zerlegung dieses Niederschlags mit Hülfe von Schwefelwasserstoff erhaltene alkalische Flüssigkeit wurde mit Salpetersäure neutralisirt und dann sofort in der Wärme mit Kupferhydroxyd gesättigt, wobei eine tiefblaue Lösung entstand. Diese Lösung wurde im Wasserbade eingeeengt, wobei etwas Kupferoxydul sich ausschied, dann noch einmal filtrirt und nun zur Krystallisation hingestellt. Sie lieferte schon im Verlauf von wenigen Stunden in reichlicher Menge dunkelblaue Krystallaggregate, die im Aussehen vollständig mit den Krystallen übereinstimmten, in denen das Argininkupferniträt sich aus wässriger Lösung gewöhnlich ausscheidet. Die Mutterlauge lieferte noch eine kleine Quantität des gleichen Produktes. Nachdem dieses Produkt aus Wasser umkrystallisirt worden war, wurde sein Schmelzpunkt bestimmt: derselbe lag bei 113—114°. Ausser durch den Schmelzpunkt wird durch die weiter unten aufgeführten Bestimmungen des Kupfergehalts und des specifischen Drehungsvermögens bewiesen, dass das vorliegende Produkt in der That Argininkupferniträt war. Das Gewicht der im Ganzen erhaltenen Krystalle betrug 2,00 g, in dieser Quantität waren 1,181 g Arginin enthalten. Da nun für den Versuch 2,40 g freies Ornithin (= 3,73 g Ornithinchlorid) verwendet waren, so beziffert sich die Ausbeute an Arginin auf 49% vom Gewicht des Ornithins oder 37% der Argininquantität, die nach der Theorie aus dem Ornithin und Cyanamid sich bilden konnte. Die Ausbeute an Arginin war also mehr als dreimal so gross, wie im dritten Versuch. Der Grund dafür darf wohl nicht lediglich in dem stärkeren Cyanamidzusatz gesucht werden: man wird vielmehr anzunehmen haben, dass für die Bildung des Arginins auch die übrigen Bedingungen im dritten Versuch günstiger waren, als im zweiten. Zu er-

wähnen ist noch, dass allem Anschein nach das in die Lösung hineingebrachte Ornithin während des Versuches nicht vollständig umgewandelt worden war; denn die vom Argininsilberniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit lieferte, nachdem sie vom Silber und vom Baryt befreit worden war, mit Phosphorwolframsäure einen freilich nicht sehr starken Niederschlag, der sich in kochendem Wasser auflöste; aus dieser Lösung schieden sich beim Erkalten feine Nadeln aus, die im Aussehen mit dem Phosphorwolframat des Ornithins übereinstimmten.

Die Resultate, die wir bei der Analyse des in diesen beiden Versuchen gewonnenen Argininkupfernitrat erhalten, theilen wir im Folgenden mit:

1. 0,1790 g Substanz gaben 38,8 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 16° C. und 720 mm. Druck:

2. 0,2486 g Substanz verloren beim Trocknen (zuerst bei 80°, dann bei 100°) 0,0234 g an Gewicht und gaben 0,0332 g Cu_2S .

3. 0,3034 g Substanz gaben 0,0408 g CuO .

Berechnet für:		Gefunden:		
$(\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2)_2\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + 3\text{H}_2\text{O}$		1.	2.	3.
N	23,78	23,91	—	—
Cu	10,77	—	10,70	10,74
H_2O	9,16	—	9,41	—

Von Interesse war es, das synthetisch dargestellte Arginin auf sein Verhalten gegenüber dem polarisirten Licht zu prüfen. Da wir für seine Darstellung optisch actives Ornithin verwendet hatten, so musste es von vornherein für wahrscheinlich erklärt werden, dass auch das gewonnene Produkt optisch activ sei. Diese Vermuthung wurde durch das Experiment bestätigt. Der bezügliche Versuch lieferte folgende Resultate: Wir lösten 1,65 g umkrystallisirtes Argininkupfernitrat in Wasser, befreiten die Lösung durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer und brachten das Filtrat vom Schwefelkupfer, in welchem nach der Rechnung 1,327 g Argininitrat ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2, \text{HNO}_3$) enthalten sein mussten, auf ein Volumen von 10 ccm. Diese Lösung drehte im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat im 200 mm.-Rohr bei 10° C. 7° nach rechts. Aus diesen Daten berechnet sich $[\alpha]_D = +9,1^\circ$. Diese Zahl

differirt nur wenig von dem von Gulewitsch¹⁾ für eine nahezu 10%ige Argininnitratlösung gefundenen Werth ($[\alpha]D = -9,3^\circ$).

Im Folgenden berichten wir nun noch über die Ergebnisse der beiden letzten Versuche. Im vierten Versuche verwandelten wir 1,8 g Ornithinchlorid in die freie Base, versetzten die verdünnte wässerige Lösung der letzteren mit 0,55 g Cyanamid und erwärmten sie sodann 6 Stunden lang, theils auf ca. 60°, theils auf 80°. Hierauf wurde sie in der bei den anderen Versuchen beschriebenen Art und Weise verarbeitet. Es gelang uns in diesem Falle nicht, Krystalle von Argininkupfernitrat zu erhalten. Wir befreiten daher die blaue Lösung, in der dieses Salz vermuthlich sich vorfand, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer, fügten der vom Schwefelkupfer abfiltrirten Flüssigkeit Phosphorwolframsäure zu, zerlegten den dadurch erzeugten Niederschlag durch Barytwasser und versetzten die dabei erhaltene, selbstverständlich zuvor vom Baryt befreite Basenlösung mit Pikrinsäure. Wir erhielten ein schwer lösliches Pikrat, das nach mehrmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser das Aussehen des Argininpikrates zeigte und gleichzeitig mit letzterem schmolz. Bei Zerlegung dieses Pikrats durch Schütteln mit verdünnter Salpetersäure und Aether wurde ein Nitrat gewonnen, das alle Reactionen des Argininnitrats gab. Die Ausbeute an Arginin ist in diesem Versuch nicht bestimmt worden, da die Trennung dieser Basen von den Nebenbestandtheilen ohne Zweifel mit bedeutendem Verlust verbunden war. Jedenfalls aber war die Ausbeute nur gering. Daraus darf man wohl den Schluss ziehen, dass die Bedingungen für die synthetische Bildung des Arginins in diesem Falle weniger günstig waren, als in den anderen Versuchen. Möglich ist es übrigens, dass in der Versuchsflüssigkeit noch eine beträchtliche Menge von unverändertem Ornithin vorhanden war.

Im fünften Versuch endlich brachten wir 0,8 g Ornithinchlorid mit der zur Bindung der Salzsäure erforderlichen Baryumhydroxydmenge und Cyanamid zusammen und liessen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 190.

die mit etwas Toluol versetzte, ziemlich verdünnte Flüssigkeit bei gewöhnlicher Temperatur zwei Wochen lang stehen; dann wurde sie ebenso verarbeitet, wie es in den anderen Versuchen geschehen ist. Wir erhielten bei Zerlegung des durch Silbernitrat und Barytwasser entstandenen Niederschlags eine Substanz, welche alle Reactionen des Arginins gab.

Die zur synthetischen Darstellung des Arginins aus Ornithin und Cyanamid von uns angestellten Versuche haben also sämmtlich ein positives Resultat ergeben. Die Ausbeute an Arginin war in den verschiedenen Versuchen eine recht ungleiche; am grössten war sie im dritten Versuch.

Da das von uns als Ausgangsmaterial verwendete Ornithinchlorid aus Ornithursäure, letztere aber aus dem bei der Spaltung von Arginin durch Barytwasser erhaltenen Ornithin dargestellt worden war, so ist es nicht überflüssig, die Frage zu erörtern, ob dieses Ausgangsmaterial völlig frei von Arginin war; wäre letzteres nicht der Fall gewesen, so würden wenigstens diejenigen der obigen Versuche, in denen wir nur eine kleine Argininausbeute erhielten, keine Beweiskraft besitzen. Es liess sich aber sehr leicht zeigen, dass das von uns verwendete Ornithinchlorid völlig frei von Arginin war. Erstens gab dasselbe nicht die sehr empfindliche Argininreaction mit Kaliumquecksilberjodid und Natronlauge oder mit Nessler'schem Reagens. Als wir zweitens 0,5 g des Ornithinchlorids mit Hilfe von Silbernitrat in Ornithinnitrat verwandelten und die Lösung des letzteren mit Silbernitrat und Barytwasser versetzten, entstand ein Niederschlag, der kein Arginin einschloss; als wir diesen Niederschlag nach dem Abfiltriren und Auswaschen in Wasser vertheilten und durch Schwefelwasserstoff zersetzten, erhielten wir eine Flüssigkeit, in welcher Phosphorwolframsäure auch nach dem Einengen keine Fällung hervorbrachte. Uebrigens weisen wir noch darauf hin, dass wir das Ornithinchlorid, welches für unsere Versuche verwendet wurde, aus Ornithursäure darstellten, die zuvor durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Weingeist gut gereinigt worden war und den richtigen Schmelzpunkt besass.

Da man aus Ornithin und Cyanamid mit Leichtigkeit

Arginin darstellen kann, so liegt der Gedanke nahe, analoge Synthesen mit anderen Diaminosäuren und Cyanamid auszuführen. Von Interesse würde es z. B. sein, wenn man auf diesem Wege aus dem Lysin, das man als Diaminocapronsäure anzusehen hat, eine dem Arginin homologe Base darstellen könnte. Ein Versuch zur experimentellen Prüfung dieser Frage ist in unserem Laboratorium bereits in Angriff genommen worden. Auch über die Einwirkung von Cyanamid auf Diaminopropionsäure liegt uns bereits ein Versuch vor, der allem Anschein nach ein positives Resultat hatte: doch wurde das betreffende Produkt nur in so kleiner Menge gewonnen, dass dasselbe bis jetzt nicht genauer untersucht werden konnte.

In unserer oben schon citirten Abhandlung über die Bildung von Ornithin aus Arginin und über die Constitution dieser beiden Basen haben wir es für wahrscheinlich erklärt, dass dem Arginin die Constitutionsformel



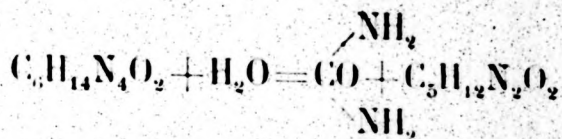
zukomme. Doch konnte eine Entscheidung über die Zulässigkeit dieser Formel nicht getroffen werden, ehe man nicht wusste, welche Stellung die beiden Amidgruppen im Ornithin haben. Aus den oben schon erwähnten Untersuchungen von Ellinger und E. Fischer hat sich ergeben, dass diese Amidgruppen sich in der α - δ -Stellung finden. In Uebereinstimmung damit steht die bei Aufstellung der Formel von uns gemachte, damals aber noch nicht auf sicherer Grundlage beruhende Annahme. Für die Richtigkeit unserer Formel sprechen ausser der von uns ausgeführten synthetischen Darstellung des Arginins die Resultate, welche E. Kutscher¹⁾ bei der Oxydation des Arginins mittels Baryumpermanganat erhalten hat. Der genannte Forscher hat gezeigt, dass bei dieser Oxydation zuerst Guanidinbuttersäure, dann Guanidin sich bildet.²⁾

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 413.

2) Diese Entdeckung kann auch eine Erklärung für das Auftreten von Guanidin in den Keimpflanzen von *Vicia sativa* geben.

Das Arginin ist demnach als Guanidin- α -Amino-valeriansäure zu bezeichnen.

Für die Bildung von Harnstoff und Ornithin aus Arginin kann man folgende Gleichung aufstellen:



Da wir aber nur 40% der Ornithinquantität erhielten, die nach dieser Gleichung aus dem Arginin entstehen könnte, so muss man annehmen, dass nur ein Theil des Arginins sich nach jener Gleichung zersetzt, während der Rest in anderer Weise zerfällt. Welche Produkte bei letzterem Vorgang sich bilden, vermögen wir zur Zeit nicht anzugeben; wir hoffen aber durch Fortsetzung unserer Untersuchungen darüber Aufschluss gewinnen zu können.

C. Kleinere Mittheilungen über das Verhalten des Arginins.

Im Folgenden theilen wir noch einige Beobachtungen mit, die wir über das Verhalten des Arginins theils vor Kurzem, theils schon früher gemacht haben. Sie betreffen hauptsächlich sein Verhalten beim Erhitzen mit Säuren und mit Basen.

Verhalten des Arginins gegen Salzsäure.

Da man bei Darstellung von Arginin aus Eiweisssubstanzen die letzteren längere Zeit mit starken Säuren erhitzt, so schien es nicht ohne Interesse, zu prüfen, ob man das Arginin längere Zeit mit Säuren erhitzen kann, ohne dass eine mit Ammoniakbildung verbundene Spaltung desselben beginnt. Wir haben daher 0,9840 g Argininchlorid 10 Stunden lang mit 20 ccm. concentrirter Salzsäure am Rückflusskühler erhitzt. Die Flüssigkeit wurde dann annähernd neutralisirt und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt: abgemessene Antheile dieser Flüssigkeit unterwarfen wir hierauf der Destillation mit Magnesia. Dabei erhielten wir kein Ammoniak; sogar mit Nessler'schem Reagens liess sich solches im Destillat nicht nachweisen.

Erhitzt man Argininchlorid mit concentrirter Salzsäure

im zugeschmolzenen Glasrohr auf eine bedeutend über 100° liegende Temperatur, so wird es nach und nach unter Bildung von Chlorammonium zersetzt. Doch fanden wir in der Flüssigkeit nur wenig Chlorammonium, als der Inhalt des Glasrohres einige Stunden lang auf 150° erhitzt worden war: erst beim Erhitzen auf 180–200° war stärkere Bildung von Chlorammonium eingetreten. Was für Produkte bei dieser Zersetzung neben Chlorammonium noch entstehen, das ist eine Frage, die wir durch weitere Versuche entscheiden zu können hoffen.

Das Arginin besitzt also grosse Widerstandsfähigkeit gegen Salzsäure. Dass man es auch mit Schwefelsäure ziemlich stark erhitzen kann, ohne dass Ammoniak abgespalten wird, geht aus Versuchen hervor, die schon vor längerer Zeit in unserem Laboratorium angestellt worden sind.

Verhalten des Arginins gegen Natronlauge.

Zur Darstellung von Ornithin aus Arginin haben wir letzteres, wie aus den oben gemachten Angaben zu erschen ist, mit Barytwasser erhitzt: die Ornithinquantität, die wir dabei zu isoliren vermochten, betrug in maximo 40% der theoretisch möglichen Ausbeute. Es war von Interesse, zu prüfen, wie die Ausbeute sich gestaltete, wenn man das Barytwasser durch andere Basen ersetzte. Für diesen Zweck wurde zunächst Natronlauge gewählt: wir erhitzten 6.0 g Argininmitrat mit 250 cem. Wasser und 2 g Natriumhydroxyd, also mit $\frac{1}{5}$ Normalnatronlauge, eine Stunde lang am Rückflusskühler auf die Siedetemperatur. Die später nach bekanntem Verfahren verarbeitete Flüssigkeit lieferte 4.2 g rohe Ornithursäure. Letztere schien noch recht unrein zu sein. Beim Umkrystallisiren des Rohproduktes aus Weingeist gewannen wir zunächst 2 g reine Ornithursäure vom Schmelzpunkt 184–185°. Aus der Mutterlauge wurden noch 0.9 g gewonnen,¹⁾ so dass die Gesamtausbeute auf ungefähr 3.0 g

¹⁾ Schliesslich blieb eine Mutterlauge übrig, aus welcher durch Aether eine Substanz gefällt wurde, die verschieden von Ornithursäure zu sein schien.

beziffert werden kann. Sie betrug demnach ungefähr die Hälfte vom Gewicht des angewendeten Argininnitrats d. h. ebenso viel, als wir bei Zersetzung des Arginins durch Barytwasser in der Regel erhielten.

Die in diesem Versuche aus der Mutterlauge erhaltenen 0.9 g Ornithursäure wurden durch Kochen mit Salzsäure zersetzt, das dabei gewonnene Ornithin in das Phosphorwolframat übergeführt. Letzteres krystallisirte aus heissem Wasser in feinen, zu Gruppen vereinigten Nadeln, also in der Form, die für die genannte Verbindung charakteristisch ist.

Verhalten des Arginins gegen Kalkmilch.

Wir erhitzen 5.0 g Argininnitrat mit 300 cem. verdünnter Kalkmilch, welche so viel Calciumhydroxyd enthielt, dass die Lösung $\frac{1}{5}$ -normal war, $2\frac{1}{2}$ Stunden lang am Rückflusskühler auf die Siedetemperatur. Die Flüssigkeit wurde sodann mit Hilfe von Kohlensäure vom Kalk befreit und hierauf nach bekanntem Verfahren auf Ornithursäure verarbeitet. Wir erhielten von letzterer nur eine kleine Menge: ihr Gewicht betrug nach dem Umkrystallisiren aus Weingeist nur 0.3 g (dass es Ornithursäure war, liess sich aus ihrem Schmelzpunkt schliessen). Demnach scheint durch das Kochen mit verdünnter Kalkmilch das Arginin nur ganz unvollständig zersetzt worden zu sein: wie auch daraus sich schliessen lässt, dass die ornithinhaltige Flüssigkeit mit Nessler'schem Reagens noch starke Argininreaçtion gab.

Verhalten des Arginins gegen Magnesia bei Abwesenheit und bei Anwesenheit von Ammoniaksalzen.

Da nach unseren Beobachtungen das Arginin durch verdünnte Kalkmilch sehr langsam zersetzt wird, so durfte man von vornherein annehmen, dass Magnesia noch weniger auf jene Base einwirken würde. Dass ein Argininsalz in wässriger Lösung durch Kochen mit Magnesia nicht unter Ammoniakbildung zersetzt wird — was ja auch a priori mit Sicherheit annehmen liess —, geht aus den oben beschriebenen Versuchen hervor, in denen eine zuvor mit Salzsäure erhitze Argininlösung der Destillation mit Magnesia unterworfen wurde;

dabei trat kein Ammoniak auf. Wir können hier ferner noch anführen, dass wir in Versuchen, in denen wir jener Lösung eine bestimmte Menge von Chlorammonium zusetzten, bei der Destillation mit Magnesia nur so viel Ammoniak erhielten, wie der in die Lösung hineingebrachten Chlorammoniumquantität entsprach.

Aus diesen Versuchsergebnissen lässt sich natürlich noch nicht mit Sicherheit schliessen, dass nicht das Arginin eine Spaltung unter Bildung von Ornithin erfahren hatte. Und wenn es auch, wie oben schon hervorgehoben ist, von vornherein höchst unwahrscheinlich war, dass die Magnesia für sich allein eine solche Wirkung hervorbrachte, so lag es doch im Bereich der Möglichkeit, dass bei Gegenwart von Ammoniaksalzen die Sache eine andere war; es war denkbar, dass das durch Magnesia aus den Salzen freigemachte Ammoniak in der Wärme verändernd auf das Arginin einwirkte. Wir haben daher noch einige Versuche in folgender Weise angestellt: 1,5 g Argininnitrat wurde mit 100 ccm. einer Chlorammoniumlösung, die in 1 ccm. 1 mg NH_3 enthielt, und 100 ccm. Wasser unter Zusatz von Magnesia in einer Porzellanschale im Wasserbade erhitzt, bis der Inhalt der Schale zu einem Brei geworden war; dann gaben wir wieder 100 ccm. Wasser hinzu und dunsteten nun im Wasserbade zur Trockne ein. Der Inhalt der Schale wurde sodann mit Wasser behandelt, aus der filtrirten und mit Salpetersäure neutralisirten Lösung hierauf das Arginin durch Silbernitrat und Barytwasser ausgefällt. Der Niederschlag wurde auf einer Nutsche abfiltrirt und ausgewaschen. Das Filtrat, dessen Volumen ungefähr 200 ccm. betrug, wurde von der minimalen Silbermenge, die in ihm noch enthalten war, sowie vom Baryt befreit, hierauf durch Eindunsten auf ein Volumen von 100 ccm. gebracht und nun mit Phosphorwolframsäure versetzt. Dabei entstand nur ein sehr geringer Niederschlag, der nach Kjeldahl's Methode nur eine sehr kleine Stickstoffmenge lieferte; letztere betrug im Mittel nur 0,002 g. Das Vorhandensein dieser kleinen Stickstoffmenge im Filtrat kann darauf zurückgeführt werden, dass das Argininsilber nicht völlig unlöslich in Wasser ist. Nach

den von Gulewitsch¹⁾ ausgeführten Bestimmungen enthält eine gesättigte Lösung von Argininsilber in kaltem Wasser bei Gegenwart von Baryumhydroxyd und Baryumnitrat in 200 ccm. etwas mehr als 0,002 g N in Form von Arginin, also ungefähr diejenige Stickstoffmenge, die wir in jenem Filtrat vorfanden. Unsere Versuche führen also zu der Schlussfolgerung, dass Arginin auch bei Gegenwart von Ammoniaksalzen durch Erhitzen mit Magnesia nicht zersetzt wird.

Verhalten des Arginins gegen bromirte Natronlauge.

Bei Einwirkung von bromirter Natronlauge entwickelt das Arginin eine beträchtliche Stickstoffmenge, wie aus den folgenden mit Argininnitrat im Knop'schen Azotometer angestellten Versuchen zu ersehen ist:

0,200 g Substanz gaben 16,0 ccm. Gas bei 17° und 723 mm. Druck
= 0,0176 g N.

0,200 g Substanz gaben 16,3 ccm. Gas bei 17° und 723 mm. Druck
= 0,0179 g N.

Die in Freiheit gesetzte Stickstoffmenge beträgt ungefähr $\frac{1}{3}$ vom Stickstoff des Arginins.

Bekanntlich wird das Guanidin durch bromirte Natronlauge stark angegriffen; da das Arginin ein Derivat des Guanidins ist, so kann es nicht auffallen, dass es ebenfalls bei Einwirkung des genannten Reagens eine beträchtliche Zersetzung erleidet.

Schliesslich sei noch bemerkt, dass wir neben dem Versuch über die Einwirkung von Cyanamid auf Lysin auch die nähere Untersuchung der beim Erhitzen von Arginin mit Salzsäure unter Druck entstehenden Spaltungsprodukte, sowie der Produkte, die bei der Zersetzung des Arginins durch Barytwasser neben Ornithin und Harnstoff sich bilden, uns vorbehalten möchten.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 209.