

Beiträge zur Kenntniss einiger aus Pflanzen dargestellten Aminosäuren.

Von

E. Schulze und E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 2. April 1902.)

Von E. Schulze und seinen Mitarbeitern wurden aus Keimpflanzen und anderen Untersuchungsobjekten pflanzlichen Ursprungs vier Monoaminosäuren dargestellt, nämlich Amino-valeriansäure, Leucin, Phenylalanin und Tyrosin. Das Phenylalanin wurde von den Genannten einer eingehenden Untersuchung unterzogen, deren Zweck es war, die Constitution dieser bis dahin noch unbekanntes Aminosäure aufzuklären: die bezüglichen Versuche fanden ihren Abschluss in der Arbeit von E. Schulze und E. Nägeli.¹⁾ Die Untersuchung der aus den Pflanzen dargestellten Präparate von Aminovaleriansäure, Leucin und Tyrosin wurden im Allgemeinen nur so weit fortgeführt, als dies zur Identificirung der genannten Stickstoffverbindungen erforderlich war. Es schien nun angezeigt zu sein, mit diesen Aminosäuren noch einige Versuche anzustellen, insbesondere aber im Polarisationsapparat ihr specifisches Drehungsvermögen zu bestimmen und dasselbe mit dem Drehungsvermögen der bei der Spaltung von Eiweiss-substanzen durch Säuren erhaltenen Präparate der gleichen Aminosäuren zu vergleichen. Dass man bei dieser Vergleichung übereinstimmende Zahlen erhalten werde, konnte von vornherein nicht mit Sicherheit erwartet werden; denn es lag im Bereich der Möglichkeit, dass den optisch activen Aminosäuren

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 201.

entgegengesetzt drehende Isomeren oder Racemkörper beige-
mengt waren. Zur Begründung dieser Ansicht weisen wir
darauf hin, dass F. Kutscher¹⁾ unter den Produkten der
tryptischen Verdauung des Fibrins optisch inactives Arginin
fand, dass ferner zwei Leucinpräparate, von denen das eine
von Gmelin²⁾ beim Kochen von Hämoglobineiweiss mit Salz-
säure, das zweite von E. Schulze und A. Likiernik³⁾ bei
der tryptischen Verdauung von Fibrin erhalten worden war,
ein beträchtlich geringeres specifisches Drehungsvermögen be-
sassen, als viele andere Leucinpräparate.⁴⁾ Endlich sei noch
darauf hingewiesen, dass Piutti⁵⁾ aus den Keimpflanzen von
Vicia sativa neben linksdrehendem Asparagin in geringer Menge
ein entgegengesetzt drehendes Asparagin zu isoliren vermochte.

Die bei unseren Versuchen erhaltenen Resultate theilen
wir im Folgenden mit. Für die Bestimmung des specifischen
Drehungsvermögens unserer Präparate verwendeten wir einen
Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat. Die bei Mitthei-
lung der Beobachtungsergebnisse von uns aufgeführten Zahlen
sind in allen Fällen Mittel einer grösseren Anzahl von Ab-
lesungen.⁶⁾

A. Aminovaleriansäure.

Diese Aminosäure wurde von E. Schulze und seinen
Mitarbeitern zuerst aus 2—2¹/₂ wöchentlichen etiolirten Keim-
pflanzen von *Lupinus luteus*, später auch aus ebensolchen
Keimpflanzen von *Lupinus albus* und *Lupinus angustifolius* dar-
gestellt: höchstwahrscheinlich findet sie sich auch in etiolirten

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 476.

2) Ebendasselbst, Bd. XVIII, S. 21.

3) Ebendasselbst, Bd. XVII, S. 531.

4) Das Drehungsvermögen dieser beiden Präparate betrug in
20% iger Salzsäure $\alpha = D = +14.3^\circ$ und $+14.7^\circ$.

5) Berichte der d. chem. Gesellschaft, Bd. 19, S. 1691.

6) Zur Umwandlung der an der Scala des Soleil-Ventzke'schen
Apparates abgelesenen Grade in Kreisgrade haben wir die ersteren mit
dem Factor 0,344 multiplicirt, entsprechend den Ergebnissen, die wir bei
der Prüfung unseres Apparates mit Lösungen von reinem Rohrzucker
erhielten.

Keimpflanzen von *Vicia sativa*, konnte aber aus diesem Material nicht isolirt werden. Sie ist von E. Schulze und J. Barbieri¹⁾ analysirt worden; später haben E. Bosshard²⁾ und M. Merlis³⁾ noch Stickstoffbestimmungen in mehreren Präparaten dieser Aminosäure ausgeführt. Ferner wurden ihr in Prismen krystallisirendes Chlorhydrat und ihre Kupferverbindung dargestellt und untersucht. Der Chlorgehalt des Chlorhydrats entsprach der Formel $C_5H_{11}NO_2HCl$. Die Kupferverbindung ist viel leichter löslich in Wasser, als das Leucinkupfer: sie krystallisirt in dunkelblauen blättrigen Krystallen, welche Krystallwasser enthalten. Der Kupfergehalt der bei 100° getrockneten Substanz entspricht der Formel $(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$.

Zur Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens verwendeten wir zwei Aminovaleriansäurepräparate, von denen das eine aus *Lupinus luteus*, das andere aus *Lupinus albus* dargestellt worden war. Beide Präparate bestanden aus weissen glänzenden Krystallblättchen, die im Aussehen den Leucinkrystallen ausserordentlich ähnlich waren. Es muss als möglich bezeichnet werden, dass beide Präparate durch kleine Mengen anderer Aminosäuren verunreinigt waren. Diese Verunreinigungen können aber nur in geringem Maasse vorhanden gewesen sein, weil die Präparate bei der Analyse Zahlen gaben, die von den von der Formel $C_5H_{11}NO_2$ geforderten Werthen nur unwesentlich abweichen. Die Untersuchung im Polarisationsapparat gab folgende Resultate:

Präparat I, aus *Lupinus luteus*.

Eine Lösung in 20%iger Salzsäure, welche in 10 ccm. 0,500 g Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 16° C. 8,2° nach rechts; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = +28.2^\circ$.

Präparat II, aus *Lupinus albus*.

Eine Lösung in 20%iger Salzsäure, welche in 10 ccm. 0,5012 g Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 16° C. 8,2° S. V. nach rechts; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = +27.64\%$.

Im Mittel war $[\alpha]_D^{16} = +27.9^\circ$.

1) Journal f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 27, S. 353.

2) Ebendasselbst, Bd. 32, S. 459, Anmerkung 1.

3) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 423 u. 431.

Emil Fischer¹⁾ fand für die aus Casein von ihm dargestellte Aminovaleriansäure $[\alpha]_D^{20} = +27,1^\circ$, eine Zahl, welche von der unserigen nur wenig abweicht. Dass wir das Drehungsvermögen der Aminovaleriansäure etwas höher gefunden haben, ist erklärlich; denn E. Fischer theilt mit, dass das von ihm untersuchte Präparat nicht völlig rein gewesen sei. Vielleicht würde auch unser Präparat eine noch etwas stärkere Drehung gezeigt haben, wenn wir dasselbe öfter umkrystallisiren und dadurch noch vollständiger hätten reinigen können.

In Wasser war unsere Aminovaleriansäure bedeutend leichter löslich als Leucin: 1 Theil derselben bedurfte bei $16,5^\circ \text{C}$ ungefähr 11 Theile Wasser zur Lösung. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die Löslichkeit etwas geringer gewesen wäre, wenn wir unser Präparat durch wiederholtes Umkrystallisiren auf einen höheren Reinheitsgrad hätten bringen können. Auch die Aminovaleriansäure, welche E. Fischer unter Händen hatte, war in Wasser leichter löslich als Leucin. Auch E. Fischer's Angabe, dass die Kupferverbindung der Aminovaleriansäure in Wasser weit leichter löslich war als Leucinkupfer, steht in Uebereinstimmung mit der Beobachtung, die wir an der Kupferverbindung unserer Aminovaleriansäure gemacht haben.

Alle diese Beobachtungen sprechen dafür, dass die aus Keimpflanzen von uns dargestellte Aminovaleriansäure mit der von E. Fischer bei der Spaltung des Caseins durch Säure erhaltenen Aminosäure gleichen Namens identisch ist. Gesetzt aber auch, dass noch ein Unterschied zwischen den beiden Körpern sich zeigen würde, so dürfen wir doch annehmen, dass unsere Aminovaleriansäure, ebenso wie die neben ihr in den Keimpflanzen vorgefundenen Aminosäuren und Hexonbasen, beim Zerfall von Eiweissstoffen in den Keimpflanzen sich gebildet hat. Bisher konnte dies nicht mit Sicherheit ausgesprochen werden,²⁾ weil man vor dem Erscheinen der Arbeit

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 159.

2) In seinem Werke «Die chemische Energie der lebenden Zellen» hat O. Loew die Vermuthung ausgesprochen, dass die in den Keimpflanzen auftretende Aminovaleriansäure durch Oxydation des Leucins oder durch Zersetzung des Arginins entstanden sei.

E. Fischer's keine Kenntniss davon hatte, dass unter den bei der Spaltung der Eiweissstoffe durch Säuren entstehenden Produkten auch Aminovaleriansäure sich findet.¹⁾

Dem von E. Fischer (loc. cit.) gegebenen Beispiele folgend, haben wir schliesslich noch die Aminovaleriansäure in eine Verbindung mit Phenylisocyanat übergeführt. Wir lösten 0,5 g Aminovaleriansäure in 10 ccm. halbnormaler Natronlauge und fügten unter Umschütteln Phenylisocyanat (2 Mol.) hinzu, wobei bald eine Ausscheidung von Diphenylharnstoff erfolgte. Nachdem das Cyanat vollständig verschwunden war, wurde filtrirt, der Filterinhalt gut ausgewaschen, das alkalische Filtrat mit Salzsäure versetzt, wobei zunächst eine kleine Menge eines klebrigen Produktes sich ausschied. Auf weiteren Zusatz von Säure schied sich eine krystallinische Substanz aus. Dieselbe wurde von der Flüssigkeit getrennt, sodann in absolutem Alkohol gelöst, die Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser vermischt, wobei ölige, schwachgelb gefärbte Tropfen sich abschieden. Die von letzteren abgossene Lösung wurde zur Krystallisation gebracht. Nach zweimaligem Umkrystallisiren aus verdünntem Weingeist schmolz das Produkt bei 154°. Es krystallisirte in glänzenden Blättchen.

Zur Darstellung des Anhydrids wurde diese Verbindung mit starker Salzsäure gekocht, die Lösung sodann zur Trockne eingedunstet, der Verdampfungsrückstand zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirt. So wurde ein in farblosen, zu Büscheln gruppirten Nadeln krystallisirendes Produkt erhalten, welches in Wasser schwer löslich war und bei 124° schmolz.

Im Aussehen stimmten diese Produkte mit den von E. Fischer in gleicher Weise aus Aminovaleriansäure dargestellten Verbindungen überein, soweit sich dies nach den vorliegenden Angaben beurtheilen lässt: in den Schmelzpunkten zeigten sich Differenzen. Denn E. Fischer fand für die Phenylisocyanatverbindung einen Schmelzpunkt von 157—158°, für das Anhydrid einen Schmelzpunkt von 117°. Doch ist

¹⁾ Doch hat Schützenberger unter den bei Spaltung der Eiweissstoffe durch Barytwasser erhaltenen Produkten Aminovaleriansäure aufgeführt.

darauf aufmerksam zu machen, dass E. Fischer für die Darstellung dieser Verbindungen racemische Aminovaleriansäure benutzte, während wir für den gleichen Zweck die optisch active, in salzsaurer Lösung nach rechts drehende Aminovaleriansäure verwendet haben. Uebrigens sagt E. Fischer noch, dass nach seinen Erfahrungen bei solchen Derivaten der Aminosäuren Constanz des Schmelzpunktes keine Garantie für die Reinheit und Einheitlichkeit des Produktes sei. Auch im vorliegenden Falle wird dies zu berücksichtigen sein.

Ueber die Constitution der beim Zerfall der Eiweissstoffe entstehende Aminovaleriansäure haben die bisher ausgeführten Untersuchungen noch keinen Aufschluss gebracht. Diese Lücke unserer Kenntnisse wird sich ausfüllen lassen, indem man die racemische und die active Aminosäure mit den gleichartigen Präparaten der synthetisch dargestellten Aminovaleriansäuren¹⁾ vergleicht.

B. Leucin.

Die beiden Leucinpräparate, auf welche die nachfolgenden Angaben sich beziehen, sind aus 6—7-tägigen Keimpflanzen von *Vicia sativa* und von *Lupinus albus* dargestellt worden;²⁾ sie bestanden aus weissen glänzenden Krystallblättchen. Um für die Untersuchung im Polarisationsapparat möglichst reine Substanzen zu gewinnen, behandelten wir die Präparate in folgender Weise: Das aus *Vicia* dargestellte Leucin wurde in heissem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferacetat versetzt; das dabei sich ausscheidende Leucinkupfer wurde abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen, dann durch Schwefelwasserstoff zerlegt, die dabei neben Schwefelkupfer erhaltene Aminosäure wieder zur Krystallisation gebracht, indem wir ihre wässerige Lösung stark einengten und dann mit Weingeist vermischten.

1) Eine von M. Stimmer ausgeführte Untersuchung über diese Aminovaleriansäuren findet sich in den «Berichten der D. chemischen Gesellschaft», Bd. 34, S. 400.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 249 und 277. Dasselbst sind auch die bei Analyse der Kupferverbindungen dieser Präparate erhaltenen Resultate zu finden.

Das aus *Lupinus albus* dargestellte Leucin reinigten wir in der gleichen Weise, nur mit dem Unterschiede, dass wir zur Darstellung des Leucinkupfers die wässrige Lösung der Aminosäure nicht mit Kupferacetat, sondern mit Kupferhydroxyd erhitzten.

Die Untersuchung des aus *Vicia* dargestellten Leucins im Polarisationsapparat gab folgende Resultate:

Eine Lösung in 20%iger Salzsäure, welche in 10 ccm. 0,5012 g Substanz enthielt, drehte bei 16° C. im 200 mm.-Rohr 5,3° S. V. nach rechts; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = + 17,8^\circ$.

Diese Zahl übersteigt nur ganz unwesentlich die Werthe, welche früher in unserem Laboratorium für zwei aus pflanzlichen Eiweissstoffen dargestellte Leucinpräparate gefunden wurden: diese Werthe sind $[\alpha]_D = + 17,3$ und $+ 17,7^\circ$ (für ein aus Leim dargestelltes Leucinpräparat wurde $[\alpha]_D = + 17,76^\circ$ gefunden).¹⁾

Wir haben ferner noch das spezifische Drehungsvermögen dieses Leucinpräparates in etwas stärkerer, nämlich 24%iger Salzsäure bestimmt, wobei sich, wie zu erwarten war,²⁾ ein etwas höheres Resultat ergab:

Eine Lösung, welche in 20 ccm. 0,501 g Substanz enthielt, drehte bei 16° C. im 200 mm.-Rohr 5,5° S. V. nach rechts; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = + 18,9^\circ$.

Auch haben wir noch die Löslichkeit dieses Leucinpräparates in Wasser bestimmt, indem wir eine Probe desselben mit Wasser anhaltend schüttelten, nach 36 Stunden die Flüssigkeit vom Ungelösten trennten, einen abgewogenen Theil des Filtrats in einem Platinschälchen eindunsteten und das Gewicht des bei 100° getrockneten Verdampfungsrückstandes bestimmten. 8,2653 g der Lösung gaben 0,2042 g

1) Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 530. Bei Ausführung der bezüglichen Bestimmungen waren die Versuchsbedingungen ungefähr die gleichen: nur ist die niedrigste Zahl ($[\alpha]_D = + 17,3^\circ$) in einem Versuch erhalten worden, für welchen eine Lösung von Leucin in etwas schwächerer Salzsäure verwendet wurde.

2) Für eine Leucinprobe, welche in 10%iger Salzsäure gelöst war, wurde $[\alpha]_D = + 15^\circ$ gefunden.

Rückstand. Daraus ergibt sich, dass 1 Theil Substanz bei $16,5^{\circ}$ C. 39,5 Theile Wasser zur Lösung bedurfte. Für Leucinpräparate, welche durch wiederholtes Umkrystallisiren sehr gut gereinigt worden waren, ist früher in unserem Laboratorium eine Löslichkeit von 1 : 41 bis 1 : 46 gefunden worden. Dass für das aus *Vicia* dargestellte Präparat eine etwas grössere Löslichkeit gefunden wurde, erklärt sich daraus, dass wir dieses nicht in grosser Quantität uns vorliegende Product zur Reinigung nicht so oft umkrystallisiren konnten, als dies bei den anderen früher untersuchten Präparaten möglich war.

Bei dem aus *Lupinus albus* dargestellten Leucin haben wir nur das spezifische Drehungsvermögen in 24%iger Salzsäure bestimmt. Dabei erhielten wir folgendes Resultat:

Eine Lösung, welche in 10 ccm. 0,501 g Substanz enthielt, drehte bei 16° C. im 200 mm.-Rohr $5,5^{\circ}$ nach rechts; demnach ist $\alpha_{\text{D}}^{16} = 18,9^{\circ}$.

Demnach zeigte dieses Leucinpräparat genau das gleiche Drehungsvermögen, wie das aus den Keimpflanzen von *Vicia sativa* dargestellte Leucin. Bei Untersuchung dieser beiden Präparate sind also keine Thatsachen hervorgetreten, aus denen man auf eine Verschiedenheit derselben von dem beim Kochen pflanzlicher Eiweissstoffe mit Salzsäure erhaltenen Leucin schliessen könnte.

Wie oben erwähnt ist, war das für die beschriebenen Versuche verwendete Leucin aus *Vicia sativa* zur Reinigung in die Kupferverbindung übergeführt worden. Aus der von dieser Kupferbindung abfiltrirten blauen Flüssigkeit konnte noch Leucin gewonnen werden, indem man diese Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreite und sodann zur Krystallisation eindunstete. Das so gewonnene Leucinpräparat zeigte ein stärkeres Drehungsvermögen, als das aus der Kupferverbindung abgeschiedene Leucin. Da es als möglich bezeichnet werden musste, dass dies durch eine Beimengung von Aminovaleriansäure verursacht war, so wurde in dem Präparat eine Stickstoffbestimmung ausgeführt:

0,2056 g Substanz gaben 19,8 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 16° C. und 723 mm. Druck = 0,02179 g N.

	Berechnet für	
	$C_6H_{13}NO_2$:	Gefunden:
N	10,69 %	10,59 %

Der Stickstoffgehalt des Präparats blieb also noch ein wenig hinter dem von der Formel des Leucins geforderten Werth zurück; somit ist nicht anzunehmen, dass eine Beimengung von Aminovaleriansäure vorhanden war. Vielleicht war dieses Präparat ein Gemenge von gewöhnlichem Leucin mit einer anderen, stärker drehenden Aminocaprinsäure.

C. Phenylalanin.

Dass das Phenylalanin in wässriger Lösung linksdrehend ist, wurde früher schon nachgewiesen.¹⁾ Wir hielten es für wünschenswerth, noch einige Bestimmungen des specifischen Drehungsvermögens dieser Aminosäure auszuführen. Wir verwendeten dazu drei aus Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Lupinus albus* dargestellte Präparate: zum Vergleich wurde dann noch ein bei Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure erhaltenes Phenylalaninpräparat untersucht. Die Bestimmungen lieferten folgende Resultate:

Präparat I. aus *Lupinus luteus*.

1. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,2010 g Substanz enthielt, drehte bei 16° C. im 200 mm.-Rohr 4,7° S. V. nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -40,2^\circ$.

2. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,2050 g Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 4,8° nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -40,3^\circ$.

Präparat II. aus *Lupinus luteus*.

Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,1990 g Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 4,5° nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -38,9^\circ$.

Präparat III. aus *Lupinus albus*.

Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,2020 g Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 4,5° nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -38,1^\circ$.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 85. Auch das von E. Fischer (diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 172) aus Casein dargestellte Phenylalanin war linksdrehend.

Präparat IV. aus Conglutin.

Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,2020 g Substanz enthält, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen $4,5^\circ$ nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -38,1^\circ$.

Wie aus den vorstehenden Mittheilungen zu ersehen ist, zeigten die vier Präparate nur ziemlich geringe Unterschiede im specifischen Drehungsvermögen. Am stärksten war das letztere bei dem einen der aus *Lupinus luteus* dargestellten beiden Präparate, am geringsten bei den Präparaten, die aus *Lupinus albus* und aus Conglutin gewonnen waren. Zu beachten ist dabei, dass wegen der Schwerlöslichkeit des Phenylalanins in kaltem Wasser nur Lösungen von relativ geringer Concentration hergestellt werden konnten und dass in Folge davon die Versuchsfehler nicht unbeträchtlich gewesen sein werden.¹⁾

Etwas niedriger als die oben angegebenen Werthe ist die von E. Schulze (loc. cit.) früher für das specifische Drehungsvermögen einer wässrigen Phenylalaninlösung angegebene Zahl ($[\alpha]_D = -35,3^\circ$). Diese Differenz lässt sich erklären, wenn man annimmt, dass dem für die Bestimmung verwendeten Präparat etwas racemisches Phenylalanin beigemischt war.

Das aus Casein dargestellte Phenylalanin zeigte nach der von Emil Fischer²⁾ gemachten Mittheilung ein schwankendes Drehungsvermögen, was sich auf die Beimengung racemischer Substanz zurückführen lässt.

D. Tyrosin.

Tyrosin ist von E. Schulze und seinen Mitarbeitern aus 10 Pflanzenarten isolirt worden, meistens aber nur in sehr kleiner Menge. Von den dabei erhaltenen Präparaten haben wir diejenigen, welche aus den Keimpflanzen von *Cucurbita Pepo* und aus dem Saft der Kartoffelknollen dargestellt worden waren, für die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens verwendet. Zu diesem Zweck lösten wir die Präparate in

¹⁾ Möglich ist auch, dass der Reinheitsgrad der untersuchten Präparate nicht genau der gleiche war.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 172.

4%iger Salzsäure, weil nach den vorliegenden Angaben das Tyrosin in Salzsäure von dieser Concentration ein stärkeres Drehungsvermögen zeigt, als in 20%iger Salzsäure. Die Bestimmungen lieferten folgende Resultate:

— Präparat I. aus Cucurbita Pepo.

Eine Lösung, welche in 10 ccm. 0,3652 g Substanz enthielt, drehte bei 16° C. im 200 mm.-Rohr 3,1° S. V. nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -14,6^\circ$.

Präparat II. aus Solanum tuberosum.

Eine Lösung, welche in 10 ccm. 0,416 g Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Versuchsbedingungen 3,6° nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -14,9^\circ$.

Das specifische Drehungsvermögen dieser beiden Präparate war höher, als dasjenige, welches man bei Untersuchung von Tyrosinpräparaten, die bei der Zersetzung von Eiweissstoffen durch Säuren erhalten waren, gefunden hat. Für ein in unserer Sammlung befindliches Präparat solcher Art fanden wir unter den gleichen Versuchsbedingungen $[\alpha]_D^{16} = -11,6^\circ$; Emil Fischer¹⁾ fand für Tyrosin, welches aus Casein dargestellt worden war, $[\alpha]_D^{20} = -12,56^\circ$, für ein anderes Präparat $[\alpha]_D^{20} = -13,2^\circ$.

Es war zu prüfen, ob das aus Pflanzen dargestellte Tyrosin sein Drehungsvermögen änderte, wenn es nochmals einer Reinigung unterworfen wurde. Wir lösten daher das aus Kartoffelknollen dargestellte Tyrosin in verdünnter Salzsäure, erhitzten die Lösung im Wasserbade und fügten dann Ammoniakflüssigkeit bis zum Eintreten neutraler Reaction hinzu. Die schon in der Wärme, vollständiger beim Erkalten, sich ausscheidenden Krystalle wurden abfiltrirt und mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat mit Nessler'schem Reagens keine Ammoniakreaction mehr gab; dann wurden sie noch einmal in verdünnter Salzsäure gelöst, wieder mit Ammoniak ausgefällt, wieder auf dem Filter zuerst mit kaltem Wasser bis zur Entfernung des Chlorammoniums, schliesslich mit Weingeist ausgewaschen. In dem in dieser Weise ge-

1) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 32, S. 3646.

reinigten, vollkommen weissen und aschenfreien Präparat, welches im Schmelzpunkt und im Aussehen unter dem Mikroskop keine Verschiedenheit von reinem Tyrosin¹⁾ zeigte, wurde eine Stickstoffbestimmung mit folgendem Resultat ausgeführt:

0.2500 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 17.2 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 15° und 724 mm. Druck = 0.01918 g N.

Berechnet für

	$C_9H_{11}NO_3$:	Gefunden:
N	7.73 %	7.67 %

Bei der Untersuchung dieses Präparates im Polarisationsapparat erhielten wir folgendes Resultat:

Eine Lösung in 4%iger Salzsäure, welche in 10 ccm. 0,5030 g Substanz enthielt, drehte bei 16° C. 4,7° S. V. nach links; demnach ist $[\alpha]_D^{16} = -16,1^\circ$.

Das Drehungsvermögen des aus Kartoffelknollen dargestellten Tyrosins wurde also, nachdem das bezügliche Präparat der beschriebenen Reinigungsoperation unterworfen worden war, noch etwas höher gefunden. Es liegen keine Anhaltspunkte für die Annahme vor, dass dieses Präparat Beimengungen enthielt, durch welche sein Drehungsvermögen erhöht wurde. So scheint man denn zur Erklärung dieses hohen Drehungsvermögens fast annehmen zu müssen, dass den beim Kochen von Eiweissstoffen mit Säuren erhaltenen Präparaten racemisches Tyrosin beigemischt war und dass durch diese Beimengung ihr spezifisches Drehungsvermögen erniedrigt wurde. Auch E. Fischer (loc. cit.) hält dies für möglich. Wir weisen auch noch darauf hin, dass dieser Forscher bei der Spaltung von racemischem Tyrosin in die optisch activen Componenten ein rechtsdrehendes Präparat erhielt, für welches $[\alpha]_D^{20} = +16,4^\circ$ gefunden wurde.²⁾ Dieses Präparat drehte also ebenso stark nach rechts, wie das aus Kartoffelknollen dargestellte Tyrosin nach links. Diese Thatsache könnte als eine Stütze für die

1) Letzteres war durch Kochen von Eiweissstoffen mit Säure dargestellt.

2) Allerdings hält E. Fischer es für möglich, dass dieses Produkt, welches in der Krystallform, im Schmelzpunkt und in der Zusammensetzung mit Tyrosin übereinstimmte, sein stärkeres Drehungsvermögen vielleicht der Beimengung eines sehr ähnlichen isomeren Körpers verdankte.

oben ausgesprochene Vermuthung betrachtet werden.¹⁾ Auch sei hier noch erwähnt, dass Tyrosinpräparate, die in unserem Laboratorium aus Käse dargestellt worden sind, ein schwankendes und zugleich so niedriges specifisches Drehungsvermögen zeigen, dass auf eine Beimengung von racemischem Tyrosin geschlossen werden muss.

Wir haben auch noch einen Versuch mit einem aus den Knollen von *Dahlia variabilis* dargestellten Tyrosinpräparat ausgeführt. Auch dieses Präparat zeigte ein relativ hohes specifisches Drehungsvermögen (es drehte noch etwas stärker als das aus Kartoffelknollen dargestellte Tyrosin). Wir theilen die betreffende Zahl hier nicht mit, weil dieses Präparat noch gefärbt, demnach auch nicht völlig rein war. Die Quantität dieses Präparates war nicht gross genug, um dasselbe Reinigungsoperationen, die ja immer mit Verlust verbunden sind, zu unterwerfen. Wir beabsichtigen jedoch, aus den genannten Knollen, welche ein gutes Material zur Darstellung von Tyrosin sind, demnächst noch einmal Tyrosin in etwas grösserer Menge darzustellen und dasselbe, nachdem es gut gereinigt worden ist, wieder auf sein specifisches Drehungsvermögen hin zu untersuchen.

Den im Vorigen gemachten Mittheilungen über das specifische Drehungsvermögen und einige andere Eigenschaften der aus Pflanzen dargestellten Aminosäuren wollen wir noch einige

1) In der Abhandlung von E. Schulze, E. Steiger und E. Bosshard in dieser Zeitschrift, Bd. IX. S. 63—126. ist auf S. 98 angegeben, dass für ein beim Kochen von Conglutin mit Salzsäure erhaltenes Tyrosinpräparat, gelöst in 4%iger Salzsäure, $[\alpha]_D = -15,6^\circ$ gefunden wurde. Es scheint jedoch, dass diese hohe Zahl auf einen Beobachtungsfehler zurückzuführen ist, da das Tyrosin gleicher Herkunft in 20%iger Salzsäure nur ebenso stark drehte, wie das von E. Fischer untersuchte Präparat (für welches in 4%iger Salzsäure $[\alpha]_D = -13,2^\circ$ gefunden wurde). Völlig sicher würde diese Schlussfolgerung allerdings nur dann sein, wenn für die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens in 4%iger und in 20%iger Salzsäure von E. Schulze, E. Steiger und E. Bosshard genau das gleiche Tyrosinpräparat verwendet wurde (ob dies der Fall war, lässt sich nicht mehr feststellen).

Angaben über die pflanzlichen Objekte, aus welchen nach den in unserem Laboratorium gemachten Erfahrungen diese Aminosäuren sich am besten gewinnen lassen, anfügen. Was zunächst das Leucin betrifft, so stellt man dasselbe am besten aus 6—7tägigen Keimpflanzen von *Vicia sativa* oder von *Lupinus albus* dar. Man extrahiert die getrockneten und zerriebenen Keimpflanzen mit Weingeist von ungefähr 92 Volumprocent und verarbeitet den Auszug in der früher schon mehrmals beschriebenen Art und Weise.¹⁾ Ob die 6—7tägigen Keimpflanzen bei Lichtzutritt oder bei Lichtabschluss erwachsen sind, ist gleichgültig (der Lichtabschluss übt erst in den späteren Entwicklungsstadien der Keimpflanzen auf den Stoffgehalt der letzteren einen bedeutenden Einfluss aus). Aeltere etiolirte Keimpflanzen der genannten Papilionaceen sind ein weit ungünstigeres Material für die Darstellung von Leucin, da sie diese Aminosäure in geringerer Quantität, daneben aber Aminovaleriansäure und Phenylalanin in mindestens ebenso grosser Menge enthalten.

Für die Darstellung von Aminovaleriansäure eignen sich am besten zwei- bis dreiwöchentliche etiolirte Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Lupinus albus*. Diese Objekte enthalten sehr wenig Leucin: wenn man sie in der früher beschriebenen Weise verarbeitet, so erhält man ein Aminosäuregemenge, das fast nur aus Aminovaleriansäure und Phenylalanin besteht, also aus zwei Aminosäuren, die sich verhältnissmässig leicht trennen lassen. Die Darstellung der Aminovaleriansäure wird noch erleichtert, wenn man die Keimpflanzen, ehe man sie trocknet, von den Cotyledonen befreit; denn das Leucin, falls sich solches überhaupt vorfindet, ist vorzugsweise in den Cotyledonen enthalten. Wenn in einer Keimpflanze neben Aminovaleriansäure Leucin in grösserer Quantität enthalten ist, so ist dadurch die Darstellung des zuerst genannten Körpers erschwert. Ein Verfahren, welches geeignet wäre, aus einem Gemenge von viel Leucin mit wenig Aminovaleriansäure den letzteren Körper rein darzustellen, konnten wir überhaupt nicht

¹⁾ Man vergleiche diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 248.

auffinden. Hat man dagegen wenig Leucin neben einer grösseren Quantität von Aminovaleriansäure, so ist die Trennung der beiden Körper möglich: so haben wir z. B. aus Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* die beiden Aminosäuren neben einander darstellen können (freilich nur mit bedeutendem Substanzverlust).

Etiolirte 2—3 wöchentliche Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Lupinus albus* eignen sich nach den bis jetzt in unserem Laboratorium gemachten Erfahrungen auch am besten zur Darstellung von Phenylalanin. Man kann letzteres von der neben ihm sich vorfindenden Aminovaleriansäure durch Ueberführung in die schwer lösliche Kupferverbindung oder durch Ausfällung mit Phosphorwolframsäure¹⁾ trennen. Keimpflanzen von *Lupinus luteus* lieferten meistens eine etwas grössere Ausbeute an Phenylalanin, als Keimpflanzen von *Lupinus albus*; doch war auch bei dem ersteren Object die Ausbeute nicht immer gleich gross.

Tyrosin wurde in den Keimpflanzen fast immer nur in sehr kleiner Menge gefunden; relativ günstig für die Gewinnung dieser Aminosäure waren 2—3 wöchentliche etiolirte Keimpflanzen von *Cucurbita Pepo*. Auch der Saft der Kartoffelknollen enthält nur wenig Tyrosin. Geeigneter für die Darstellung von Tyrosin sind die Knollen von *Dahlia variabilis*²⁾ (in unserem Laboratorium wurden Knollen solcher Art untersucht, welche im Frühling der Erde entnommen waren und an denen schon Triebe sich zu bilden begonnen hatten).

Will man sich grössere Quantitäten von Leucin und Tyrosin verschaffen, so wird man selbstverständlich nicht Keimpflanzen oder pflanzliche Knollen als Material verwenden, sondern man wird Eiweissstoffe durch Säure zersetzen und aus den dabei erhaltenen Lösungen nach bekanntem Verfahren jene Aminosäuren abscheiden. Anders ist es, wenn man Phenylalanin und Aminovaleriansäure darstellen will:

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 210.

2) Wie früher schon von Leitgeb (Botanisches Centralblatt, 1888, S. 356) angegeben wurde.

diese beiden Aminosäuren lassen sich aus Keimpflanzen mit geringerem Arbeitsaufwand gewinnen als aus Eiweissstoffen, vorausgesetzt, dass man als Material für die Darstellung diejenigen Keimpflanzen wählt, die für diesen Zweck am geeignetsten sind (man vergleiche die oben gemachten Angaben). Es sei hier erwähnt, dass das Gleiche auch für das Arginin gilt. Will man sich eine grössere Quantität von Arginin verschaffen, so ist es bequemer, für diesen Zweck etiolirte Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, als die beim Kochen von Eiweissstoffen mit Säuren erhaltenen Flüssigkeiten zu verwenden. Zur Gewinnung von Phenylalanin, Aminovaleriansäure und Arginin kann man also mit Vortheil den in den Keimpflanzen sich abspielenden Eiweisszersetzungsprocess benutzen: man kann gewissermassen für sich die Pflanze arbeiten lassen. Das Gleiche gilt bekanntlich auch für die Gewinnung von Asparagin. Wenn man Keimpflanzen der Lupinen oder Wicken sich genügend lange bei Lichtabschluss entwickeln lässt, so kann man dadurch bewirken, dass in denselben der grösste Theil der Eiweissstoffe sich in Asparagin umwandelt, dessen Abscheidung aus den Keimpflanzen dann mit leichter Mühe gelingt. In der gleichen Weise kann man die Keimpflanzen des Kürbis, des Ricinus und einiger Cruciferen zur Gewinnung von Glutamin benutzen.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass der Gehalt der etiolirten Keimpflanzen an Phenylalanin, Aminovaleriansäure u. s. w. im Allgemeinen grösseren Schwankungen unterliegt als ihr Asparagingehalt. Man kann daher nicht mit Sicherheit darauf rechnen, immer die gleiche Ausbeute zu erhalten, wenn man zur Darstellung jener Stickstoffverbindungen die gleiche Keimpflanzenart in dem gleichen Entwicklungsstadium verwendet.