

Neue Beiträge zur Kenntnis der Zusammensetzung und des Stoffwechsels der Keimpflanzen.

Von
E. Schulze.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaktion zugegangen am 27. März 1906.)

Die Untersuchungen, deren Ergebnisse ich im folgenden mitteile, schließen sich den von N. Castoro und mir ausgeführten Arbeiten an, über welche in dieser Zeitschrift¹⁾ in zwei Abhandlungen Bericht erstattet worden ist. In der ersten dieser beiden Abhandlungen wurden in der Einleitung einige Aufgaben erwähnt, die bei Fortführung der Untersuchungen über die Zusammensetzung der Keimpflanzen noch zu erledigen waren. Eine dieser Aufgaben war die Erweiterung unserer Kenntnisse über die in den genannten Objekten sich vorfindenden Monoaminosäuren. Zur Lösung dieser Aufgabe haben E. Winterstein und ich eine Arbeit ausgeführt, die unter dem Titel «Untersuchungen über die aus den Keimpflanzen von *Lupinus albus* und *Vicia sativa* darstellbaren Monoaminosäuren» in dieser Zeitschrift²⁾ zur Publikation gelangte; es gelang uns, neben den in jenen Pflanzen früher schon aufgefundenen Aminosäuren noch drei Stoffe solcher Art, nämlich α -Pyrrolidincarbonsäure, Isoleucin und Tryptophan (Indolaminopropionsäure) nachzuweisen.³⁾ Man darf annehmen, daß diese drei Körper ebenso wie Aminovaleriansäure, Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Arginin, Lysin und Histidin primäre Produkte der mit dem Keimungsvorgang verbundenen Eiweißspaltung sind.

Der obigen Aufgabe schließt sich eine andere an: Seitdem man weiß, daß in den Keimpflanzen die primären Produkte der Eiweißspaltung eine Umwandlung erleiden, die schließ-

¹⁾ Bd. XXXVIII, S. 199—258 und Bd. XLIII, S. 170—198.

²⁾ Bd. XLV, S. 38—60.

³⁾ Doch wurde Pyrrolidincarbonsäure nicht mit völliger Sicherheit nachgewiesen.

lich zur Bildung von Asparagin oder Glutamin führt, ist zu fragen, was bei dieser Umwandlung zunächst entsteht. Es ist für möglich zu erklären, daß jene primären Produkte unter Ammoniakbildung rasch desamidiert werden, aber es ist auch denkbar, daß sie einem Abbau unterliegen, bei welchem u. a. basische Stickstoffverbindungen entstehen, wie man sie beim Eiweißabbau als sekundäre Produkte erhalten hat. Als solche nenne ich das Ornithin, das Guanidin, das Tetramethyldiamin, das Pentamethyldiamin, das Phenyläthylamin und das Oxyphenyläthylamin.¹⁾ Auf diese Stoffe war bei Fortführung unserer Untersuchungen Rücksicht zu nehmen. Für wahrscheinlich hielten wir von vornherein ein häufigeres Auftreten des früher schon bei *Vicia sativa* von uns gefundenen Guanidins, sowie die Bildung von Ornithin aus Arginin in den Keimpflanzen. Weniger wahrscheinlich erschien es uns a priori, daß man in den Keimpflanzen Tetramethyldiamin, Pentamethyldiamin und Phenyläthylamin antreffen werde, da diese Basen unter den Abbauprodukten der Eiweißstoffe bisher nur gefunden worden sind, wenn bei der Zersetzung Bakterien im Spiele waren; insbesondere konnte man kaum erwarten, eine beträchtliche Menge von Phenyläthylamin in denjenigen Pflänzchen zu finden, in welchen die Muttersubstanz dieser Base, nämlich das Phenylalanin, noch in ansehnlicher Quantität enthalten ist. Doch haben wir die Keimpflanzen auch auf diese drei Basen untersucht. Eine Untersuchung der Pflänzchen auf Oxyphenyläthylamin haben wir dagegen bis jetzt nicht ausgeführt, da nach den vorliegenden Angaben die Isolierung dieser Base schwierig ist und umständliche Operationen erfordert.²⁾

Wenn die im vorigen genannten Basen in den Keim-

¹⁾ Bekanntlich liefert das Arginin bei hydrolytischer Spaltung Ornithin, bei der Oxydation Guanidin. Bei Einwirkung von Bakterien entsteht aus dem Ornithin Tetramethyldiamin, aus dem Lysin Pentamethyldiamin. Bei der Fäulnis des Leims hat man Phenyläthylamin als Spaltungsprodukt des Phenylalanins, bei der Pankreasautolyse Oxyphenyläthylamin als Spaltungsprodukt des Tyrosins erhalten.

²⁾ Auch wird diese Base fehlen, wenn Homogentisinsäure aus dem Tyrosin entsteht.

pflanzen enthalten waren, so mußten sie sich in den durch Phosphorwolframsäure in den Extrakten hervorgebrachten Niederschlägen vorfinden. Aus diesen Niederschlägen haben wir früher schon eine Anzahl von Basen, nämlich Arginin, Lysin, Histidin und Cholin, in einem Falle auch Betain und Guanidin isoliert. Daß aber neben diesen Basen sich noch andere in den Niederschlägen vorfinden würden, konnte nach früher von uns gemachten Beobachtungen für nicht unwahrscheinlich erklärt werden. Es galt also, die bei Zerlegung der Phosphorwolframsäureniederschläge erhaltenen Basenlösungen möglichst eingehend zu untersuchen. Als Material für unsere Versuche verwendeten wir etiolierte Keimpflanzen von *Lupinus albus*, *Soja hispida*, *Pisum sativum* und *Cucurbita Pepo*. Die dabei erhaltenen Resultate sind im ersten Abschnitt dieser Abhandlung mitgeteilt.

Die im zweiten Abschnitt gemachten Mitteilungen beziehen sich auf die Frage, ob in den Keimpflanzen Polypeptide vorkommen. Im dritten und vierten Abschnitt finden sich einige Nachträge zu Angaben, die früher über die Zusammensetzung der Keimpflanzen von uns gemacht worden sind.

Bei Ausführung eines Teils der Versuche, deren Ergebnisse ich im folgenden mitteile, wurde ich von den Herren O. Hiestand und J. Kürsteiner unterstützt. Ich spreche diesen beiden Herren für ihre Mitwirkung meinen besten Dank aus.

I. Beiträge zur Kenntnis der in den Keimpflanzen sich vorfindenden organischen Basen.

Die in den Keimpflanzen enthaltenen Basen lassen sich im allgemeinen leichter zur Abscheidung bringen und auch leichter trennen, als die neben ihnen sich findenden Monoamino-säuren. Man kann die Basen durch Phosphorwolframsäure, freilich nicht ohne Verlust, aus den Extrakten fällen und besitzt auch Mittel zur Zerlegung des in den bezüglichen Niederschlägen enthaltenen Stoffgemenges. Wie wir zur Erreichung dieses Zieles verfahren, soll hier möglichst kurz insoweit beschrieben werden, als darüber allgemeine Angaben sich machen lassen; ich brauche dann weiter unten bei Mitteilung der für

Die einzelnen Objekte erhaltenen Ergebnisse über die zur Anwendung gekommenen Trennungsmethoden nur noch wenig zu sagen.

Die in den Keimpflanzenextrakten durch Phosphorwolframsäure hervorgebrachten Niederschläge sind stets ammoniakhaltig. Da sie zugleich auch Kali einschließen, so hielten wir es für wünschenswert, die Entfernung des Ammoniaks aus den bei Zerlegung der Niederschläge erhaltenen Lösungen ohne Anwendung von Wärme zu bewerkstelligen. In der Regel wurden die in Wasser verteilten Niederschläge nach Zusatz der zu ihrer Zerlegung erforderlichen Quantität zerriebenen Baryumhydroxyds mit einem, durch eine kleine Turbine getriebenen Rührwerk so lange behandelt, bis der Geruch des Ammoniaks verschwunden war, und ein über der Flüssigkeit aufgehängter Streifen von feuchtem roten Lackmuspapier sich nicht mehr blau färbte. Dann wurde die Basenlösung durch Filtration vom Unlöslichen getrennt, zur Entfernung des darin noch enthaltenen Baryumhydroxyds mit Kohlensäure behandelt, hierauf mit Salpetersäure genau neutralisiert, im Wasserbade stark eingeeengt und nun mit Silbernitrat versetzt, bis eine Probe der Flüssigkeit auf Zusatz von Barytwasser eine gelbe oder bräunliche Fällung gab. Durch das Silbernitrat wurde in den Lösungen, auch ohne Zusatz von Barytwasser, stets ein Niederschlag hervorgebracht, der zuweilen ziemlich gering, in anderen Fällen aber stärker war. Dieser Niederschlag schloß Nucleinbasen (Alloxurbasen) ein. Er wurde abfiltriert; näher untersucht wurde er nur dann, wenn seine Quantität eine ansehnliche war. Aus dem Filtrat von diesem Niederschlage fällten wir dann unter Befolgung der von Kossel und Kutscher gegebenen Vorschrift durch Barytwasser zuerst das Histidin, dann das Arginin als Silberverbindungen aus. Die letztere Base ließ sich aus dem als «Argininfraktion» zu bezeichnenden Teile des Niederschlages fast immer ohne jede Schwierigkeit isolieren. Sie wurde in bekannter Weise zuerst in das Nitrat, dann in die Verbindung mit Kupferniträt übergeführt; beide Verbindungen waren in der Regel sehr leicht zum Krystallisieren zu bringen. Anders war es nur bei der Verarbeitung von Phosphorwolframsäureniederschlägen, die nur eine äußerst geringe

Menge von Arginin eingeschlossen; die in der «Argininfraktion» sich findenden Beimengungen machten dann zuweilen im Verhältnis zum Arginin der Quantität nach so viel aus, daß das Auskrystallisieren der oben genannten Argininverbindungen nur sehr langsam vor sich ging. Zu jenen Beimengungen kann bekanntlich auch das Guanidin gehören. Die Trennung dieser Base vom Arginin suchten wir auf dem von Kutscher und seinen Mitarbeitern¹⁾ angegebenen und auch von M. Schenck²⁾ eingeschlagenen Wege zu erreichen.

Weit mehr Schwierigkeiten, als bei der Darstellung des Arginins, traten uns bei der Isolierung des Histidins entgegen, da die «Histidinfraktion» des Silberniederschlags offenbar weit mehr Beimengungen einschloß, als die «Argininfraktion». Zur Reindarstellung des Histidins haben wir diese Base entweder nach der Vorschrift von Kossel und Patten³⁾ mit Quecksilbersulfat gefällt oder wir führten sie in freien Zustand über, versetzten die bezügliche Lösung mit Quecksilberchlorid, zersetzten den Niederschlag durch Schwefelwasserstoff und dunsteten das Filtrat von Schwefelquecksilber zur Krystallisation ein. Der zuletzt beschriebene Weg gab im allgemeinen die besten Resultate.

Im Filtrat vom Argininsilberniederschlage finden sich die durch Silbernitrat und Barytwasser nicht fällbaren Basen vor. Zu denselben gehören das Lysin und das Cholin; aber auch Ornithin, Tetramethyldiamin, Pentamethyldiamin und Phenyläthylamin müssen, falls sie überhaupt vorhanden sind, in diesem Filtrat enthalten sein. Wir befreiten das letztere durch Zusatz von Salzsäure vom gelösten Silber, neutralisierten es mit Schwefelsäure, engten das Filtrat vom Baryumsulfat stark ein und versetzten es sodann zur Wiederausfällung der Basen mit Phosphorwolframsäure, nachdem es zuvor mit Schwefelsäure stark angesäuert worden war. Aus der bei Verarbeitung des Niederschlags erhaltenen Basenlösung suchten wir in manchen Fällen das Lysin in bekannter Weise als Pikrat zu isolieren;

¹⁾ Zentralblatt für Physiologie, Bd. XVIII, Nr. 8 (Anmerkung 1 auf der zweiten Seite).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 39.

³⁾ Wochenschrift für Brauerei, 1905, Nr. 16.

dieses Pikrat wurde sodann durch Schütteln mit Salzsäure und Äther zerlegt, das dabei erhaltene Chlorid in das Chloroplatinat übergeführt. Bei Ausführung der im folgenden beschriebenen Versuche, für welche Lupinen-, Sojabohnen-, Kürbis- und Erbsen-Keimpflanzen als Objekte dienten, schlugen wir jedoch einen anderen Weg ein. Wir neutralisierten die bei Verarbeitung jener Phosphorwolframsäureniederschläge erhaltenen Basenlösungen mit Salzsäure, dunsteten sie im Wasserbade ein und unterwarfen die in dieser Weise gewonnenen Chloride, nachdem sie im Exsikkator vollständig ausgetrocknet worden waren, einer wiederholten Extraktion mit kaltem absoluten Alkohol; in einigen Fällen ließen wir auch noch eine Behandlung mit heißem absoluten Alkohol folgen. Die alkoholischen Extrakte wurden eingedunstet, die Verdampfungsrückstände in Wasser gelöst und nun einer fraktionierten Fällung mit Mercurichlorid unterworfen. Die von der letzten Fällung abgegossenen oder abfiltrierten Lösungen, denen das Fällungsmittel im Überschuß zugesetzt war, wurden stark eingeeengt, um die darin enthaltenen Quecksilberdoppelsalze, insoweit sie schwer löslich in Wasser waren, noch durch Krystallisation zu gewinnen. Die von den Krystallen abgegossene Mutterlauge enthielt stets nur eine geringe Substanzmenge: weitaus der größte Teil der in Form salzsaurer Salze in die alkoholische Lösung eingegangenen Basen gab also mit Mercurichlorid schwer lösliche Doppelsalze. Die letzteren wurden aus Wasser unter Zusatz von etwas Mercurichlorid umkrystallisiert, dann mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Unter den dabei erhaltenen Chloriden fand sich stets salzsaures Cholin in großer Menge vor.

In dem bei Behandlung der Chloride mit absolutem Alkohol ungelöst gebliebenen Rest waren Lysin, Ornithin, Tetramethylen-diamin und Pentamethylen-diamin vorzugsweise zu suchen; in kleiner Menge konnten die Chloride dieser Basen jedoch in die alkoholische Lösung eingegangen sein. Jener Rückstand bestand in allen Fällen zum größeren Teil aus anorganischen Salzen, insbesondere Chlorkalium; organische Basen fanden sich darin nur in relativ geringer Menge vor. Zur Trennung der oben genannten Basen von den anorganischen Substanzen suchten wir

die Löslichkeit ihrer Chloride in Methylalkohol sowie ihre Fällbarkeit durch Mercurichlorid unter Zusatz von Alkali¹⁾ zu benutzen. Genauere Angaben über den von uns eingeschlagenen Weg und über die zum Nachweis der einzelnen Basen angestellten Versuche mache ich hier nicht, da wir bei Untersuchung der verschiedenen Objekte nicht immer in der gleichen Weise verfahren; ich verweise auf die weiter unten darüber gemachten Mitteilungen. Doch sei gleich hier erwähnt, daß wir von den genannten Basen nur Lysin nachzuweisen vermochten.

Nach Lysin und den anderen oben genannten Basen suchten wir auch in der Flüssigkeit, die nach dem Auskrystallisieren der oben erwähnten Quecksilberdoppelsalze übrig geblieben war. Diese Flüssigkeit untersuchten wir auf Guanidin. Zur Prüfung der Extrakte auf Phenyläthylamin suchten wir den Umstand zu verwerten, daß das Chlorid dieser Base in wässriger Lösung mit Mercurichlorid eine krystallinische Fällung gibt, die sich in Alkohol auflöst.

An dieser Stelle will ich noch einige Bemerkungen über die Art und Weise machen, in welcher die Phosphorwolframsäureniederschläge dargestellt wurden. Wenn man Keimpflanzenextrakte nach und nach mit einer zur vollständigen Ausfällung der Basen ausreichenden Phosphorwolframsäuremenge versetzt, so zeigt sich, daß die verschiedenen Fraktionen der Niederschläge ungleiches Aussehen besitzen. Zuletzt fallen feinpulverige Niederschläge aus, die erst gewisse Zeit nach dem Zusatz des Reagens sich bilden. Da diese Niederschläge, soweit unser Wissen reicht, fast nur anorganische Basen, insbesondere Kali enthalten, so haben wir sie unberücksichtigt gelassen; wir fügten den Flüssigkeiten Phosphorwolframsäure nur so lange zu, als dieses Reagens sofort eine Fällung hervorbrachte. Um so weit als möglich zu verhüten, daß die später zugesetzten Phosphorwolframsäureportionen auf die zuerst hervorgebrachten Fällungen lösend wirkten, haben wir vielfach die ersten Fällungen abfiltriert und erst den Filtraten die zur weiteren Ausfällung er-

¹⁾ Wie E. Winterstein (Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 77) gezeigt hat, kann man dieses Verfahren zur Ausfällung des Lysins und einiger anderer Basen benutzen.

forderliche Quantität des Reagens zugesetzt. Vor dem Zusatz der Phosphorwolframsäure wurden die Extrakte stets von den durch Bleiessig fällbaren Substanzen befreit; in manchen Fällen haben wir der Ausfällung durch Bleiessig eine solche durch Tannin vorausgehen lassen. Die Filtrate von den Bleiessigniederschlägen wurden stets mit Schwefelsäure stark sauer gemacht (das dabei niederfallende Bleisulfat entfernten wir durch Filtration); doch enthielten die Flüssigkeiten vor dem Zusatz der Phosphorwolframsäure wohl in keinem Falle mehr als 2—3% Schwefelsäure. Die Niederschläge wurden mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen. Zur Zerlegung wurden die Niederschläge stets in Wasser verteilt und mit Baryumhydroxyd zusammen gerieben, dann so behandelt, wie oben angegeben worden ist.

Monoaminosäuren fanden wir in diesen Niederschlägen niemals vor. Es ist bekannt, daß das Phenylalanin mit Phosphorwolframsäure eine schwer lösliche Verbindung liefert und daß auch andere Monoaminosäuren gefällt werden, wenn man sie in genügender Quantität in 5%iger oder noch stärkerer Schwefelsäure auflöst und dann das genannte Reagens zusetzt;¹⁾ unter den Bedingungen aber, wie sie in unseren Versuchen bei Darstellung der Phosphorwolframsäureniederschläge obwalteten, wurden Monoaminosäuren offenbar nicht gefällt.

Es wird angegeben, daß unter Umständen auch Kohlenhydrate in die Phosphorwolframsäureniederschläge eingehen. In den von uns dargestellten Niederschlägen konnten wir jedoch

¹⁾ Man vergleiche die Angaben von E. Schulze und E. Winterstein (diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 210), von Levene und Beatty (ibidem, Bd. XLVII, S. 147) und von E. Fischer (Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, Bd. XXXIX, S. 547). E. Fischer sagt in seiner Abhandlung, daß die von E. Schulze und E. Winterstein für die Fällbarkeit des Glykokolls angegebene Verdünnungsgrenze (5%) nicht mehr gültig sei, wenn die Lösungen längere Zeit stehen. Ich weise darauf hin, daß E. Winterstein und ich in einer Anmerkung in unserer Abhandlung schon angegeben haben, daß bei längerem Stehen einiger mit Phosphorwolframsäure versetzten Monoaminosäurelösungen krystallinische Verbindungen sich ausschieden. Unsere damaligen Versuche wurden im übrigen in der Weise ausgeführt, daß wir die wässerigen Monoaminosäurelösungen mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure ansäuerten und sodann Phosphorwolframsäure zusetzten.

Stoffe solcher Art nicht nachweisen (die bei Zerlegung der Niederschläge erhaltenen Lösungen reduzierten auch nach dem Kochen mit Salzsäure nicht die Fehling'sche Lösung).

Im folgenden teile ich nun die Resultate mit, die bei Untersuchung der verschiedenen, in den Überschriften der einzelnen Abschnitte genannten Objekte erhalten wurden.

A. Etiolierte Keimpflanzen von *Lupinus albus*.

a) 18—19 tägige Pflänzchen.

Die bei 60° getrockneten und fein zerriebenen Keimpflanzen wurden zweimal mit kochendem 90—92%igen Weingeist extrahiert. Den weingeistigen Auszug verarbeiteten wir in früher beschriebener Weise auf Aminosäuren. Die vom Aminosäurengemenge (Rohprodukt) abfiltrierte Mutterlauge, bei deren Aufsammlung wir Verluste möglichst zu vermeiden suchten, wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und sodann zur Ausfällung der Basen mit Phosphorwolframsäure versetzt.

Der bei der Alkoholextraktion als Rückstand verbliebene Teil der Pflänzchen enthielt noch eine beträchtliche Quantität organischer Basen. Dieser Rückstand wurde mit heißem Wasser extrahiert. Da der wässrige Auszug sehr reich an Asparagin war, so wurde er so stark eingengt, daß der größte Teil des genannten Amids auskristallisierte. Die durch Abgießen, bezw. Abfiltrieren von den Krystallen getrennte Mutterlauge wurde von den durch Tannin und durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit, hierauf mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure versetzt.

Zur Darstellung der Basen, auf welche die nachfolgenden Angaben sich beziehen, dienten also zwei Phosphorwolframsäureniederschläge. Der eine derselben enthielt Basen, die in den weingeistigen Auszug eingegangen waren, der zweite dagegen die bei der Alkoholextraktion im Rückstand verbliebenen Basen. Dieser Rückstand stammte von nicht weniger als 11 kg lufttrockner Keimpflanzen her. Nur ungefähr die Hälfte dieses Quantum, also ca. 5½ kg, wurde zur Darstellung des auf organische Basen untersuchten Alkoholextraktes verwendet.

1. Basen aus dem Alkoholextrakt.

Die bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags erhaltene Basenlösung gab mit Silbernitrat und Barytwasser eine der Quantität nach nicht bedeutende Fällung. Histidin und Arginin konnten darin nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden. Aus der bei Zerlegung der Histidinfraktion erhaltenen Flüssigkeit suchten wir durch Fällung mit Quecksilbersulfat reineres Histidin zu gewinnen; doch lieferte die bei Verarbeitung des betreffenden Niederschlags erhaltene, mit Salzsäure schwach angesäuerte Lösung beim Eindunsten nur eine geringe Menge eines braun gefärbten Sirups, aus welchem Krystalle sich nicht ausschieden. Ganz ähnlich war es mit dem Arginin. Als wir die bei Verarbeitung der Argininfraktion des Niederschlags erhaltene Lösung mit Salpetersäure neutralisierten und dann eindunsteten, erhielten wir einen der Quantität nach nicht bedeutenden Sirup, der auch bei längerem Stehen keine Arginin-nitratkrystalle lieferte. Auch Guanidin war nicht darin nachzuweisen.

Die im Filtrat vom Argininsilberniederschlag noch vorhandenen Basen fällten wir durch Phosphorwolframsäure wieder aus. Die bei Zerlegung dieses Niederschlags erhaltene Basenlösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und sodann zum Sirup eingedunstet. Im Exsikkator verwandelte sich dieser Sirup in eine Krystallmasse, deren Trockengewicht ungefähr 30 g betrug. Diese Krystallmasse löste sich vollständig in kaltem absoluten Alkohol, woraus zu schließen ist, daß sie Chloride des Lysins, Ornithins, Tetramethyldiamins und Pentamethyldiamins nicht einschloß. Die durch Verdunsten der alkoholischen Lösung wieder gewonnenen Chloride wurden nun in Wasser gelöst und einer fraktionierten Fällung mit Mercurichlorid unterworfen. Die ersten Fraktionen des Niederschlags schienen amorph zu sein: sie verwandelten sich nach kurzer Zeit in eine, an den Wandungen des Glasgefäßes anhaftende, fast pflasterartige Masse. Die späteren Fraktionen des Niederschlags waren krystallinisch. Die letzteren wurden abfiltriert, getrocknet und hierauf mit Alkohol behandelt, um zu prüfen, ob durch dieses Lösungsmittel

das Quecksilberdoppelsalz des Phenyläthylamins ausgezogen werden könne. Die dabei erhaltene alkoholische Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Wasser aufgenommen, die Lösung mittels Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann wieder eingedunstet. Wir erhielten so ein geringes Quantum eines Sirups, aus welchem kein Phenyläthylaminchlorid auskrystallisierte. Da dieser Sirup ferner auf Zusatz von Natronlauge nicht den Geruch des Phenyläthylamins entwickelte, so ist anzunehmen, daß diese Base sich nicht vorfand.

Der bei der Alkoholextraktion ungelöst gebliebene Teil der krystallinischen Quecksilberdoppelsalze wurde aus kochendem Wasser unter Zusatz von etwas Mercurichlorid umkrystallisiert und dabei in zwei Fraktionen zerlegt. Die Krystalle zeigten zwar das Aussehen des Cholinquecksilberchlorids; keine der beiden Fraktionen lieferte aber bei der Zersetzung mittels Schwefelwasserstoff ein salzsaures Salz, welches für reines Cholinchlorid erklärt werden konnte. Wir lösten daher die salzsauren Salze in kaltem absoluten Alkohol, versetzten die Lösung mit alkoholischer Platinchloridsolution und krystallisierten das so erhaltene Chloroplatinat wiederholt aus Wasser um. Wir erhielten auf diesem Wege ein Doppelsalz, welches gleich dem Cholinplatinchlorid beim langsamen Auskrystallisieren aus wässriger Lösung schöne orangerote Tafeln bildete; sein Platingehalt entsprach dem von der Formel des Cholinplatinchlorids geforderten Werte (31,6% Pt), wie aus folgenden Angaben hervorgeht:¹⁾

a) 0,2260 g Substanz gaben 0,0710 g Pt = 31,42% Pt

b) 0,2020 „ „ „ 0,0633 „ „ = 31,34% „

Bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoffs lieferte dieses Chloroplatinat ein im Aussehen und Verhalten dem Cholinchlorid gleichendes Chlorid. Dasselbe krystallisierte in langen zerfließlichen Nadeln, die sich in kaltem absoluten Alkohol auflösten; seine wässrige Lösung gab die Reaktionen des Cholins.²⁾ Beim Erhitzen mit sehr konzentrierter Kalilauge entwickelte das

¹⁾ Das Salz wurde vor der Analyse bei 100° getrocknet.

²⁾ Man vergleiche die über die Reaktionen des Cholins in dieser Zeitschrift, Bd. XI, S. 369, von mir gemachten Angaben.

Salz den Geruch des Trimethylamins. Es kann daher nicht bezweifelt werden, daß die in der beschriebenen Weise aus den Keimpflanzen dargestellte Base Cholin war. Es sei dabei erwähnt, daß ich diese Base schon früher in den gleichen Keimpflanzen gefunden habe.¹⁾

Die bei der fraktionierten Ausfällung der salzsauren Salze durch Mercurichlorid zuerst erhaltenen Fraktionen schlossen das mit dem Namen Lupanin belegte Alkaloid ein, welches in den Samen von *Lupinus albus* teils in optisch aktiver, teils in racemischer Form, als d- u. i-Lupanin gefunden worden ist.²⁾ Zur Darstellung dieses Alkaloids zerlegten wir jene Fraktionen, die ohne Zweifel auch etwas Cholin, vielleicht auch noch irgend eine andere Substanz einschlossen, durch Schwefelwasserstoff; die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Flüssigkeit wurde stark eingeeengt, mit Natronlauge alkalisch gemacht und sodann im Scheidetrichter mit Chloroform geschüttelt. Die in die Chloroformschicht übergegangene Base führten wir nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels in das salzsaure Salz über. Letzteres war leicht zum Krystallisieren zu bringen; es bildete glänzende Prismen, die sich sowohl in Wasser, wie in Alkohol leicht lösten. Die wässrige Lösung erwies sich im Polarisationsapparat als rechtsdrehend. Das durch wiederholtes Umkrystallisieren gereinigte Salz schmolz bei 126° (unkorr.), während für das Chlorid des d-Lupanins als Schmelzpunkt 127° angegeben wird. Der Formel des eben genannten Salzes $C_{15}H_{24}N_2O, HCl + 2H_2O$ entspricht ein Chlorgehalt von 11,05% und ein Krystallwassergehalt von 11,25%. Diesen Zahlen liegen die bei der Analyse unseres Salzes erhaltenen Resultate sehr nahe, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist.

0,2580 g Substanz verloren bei 100—105° C. 0,0290 g = 11,24%
an Gewicht und gaben 0,1165 g AgCl = 11,12% Cl.

Das Salz brachte auf der Zunge einen anfangs salzigen, dann intensiv bitteren Geschmack hervor. Seine wässrige Lösung gab folgende Reaktionen:

¹⁾ Landw. Versuchsstationen, Bd. XLVI, S. 61.

²⁾ Roscoe-Schorlemmer, Organische Chemie, Bd. VIII, S. 498.

Mit Phosphorwolframsäure	weiße	Fällung
› Phosphormolybdänsäure	gelbliche	›
› Kaliumquecksilberjodid	weißliche	›
› Kaliumwismutjodid	rote	›
› Jodjodkalium	braune	›
› Mercurichlorid	starke weiße, anscheinend amorphe Fällung	
› Goldchlorid	› hellgelbe,	›

Zum Vergleich stellten wir aus ungekeimten Samen von *Lupinus albus* ein Lupaninpräparat dar, in dem wir 1360 g der fein zerriebenen, getrockneten Samen wiederholt mit salzsäurehaltigem Alkohol behandelten, den vom Ungelösten abfiltrierten Auszug der Destillation unterwarfen, den Verdampfungsrückstand in Wasser aufnahmen, die wässrige Lösung durch Filtration von Fett usw. trennten, dieselbe sodann stark einengten, mit Natronlauge übersättigten und behufs Extraktion des Alkaloids im Scheidetrichter mit Chloroform schüttelten. Die nach dem Abdestillieren des Chloroforms zurückgebliebene Base wurde in das salzsaure Salz übergeführt. Wir reinigten das anfangs stark braun gefärbte Produkt durch wiederholtes Umkrystallisieren. Das in dieser Weise erhaltene salzsaure Lupanin stimmte im Aussehen mit dem aus den Keimpflanzen erhaltenen Salze vollständig überein und gab die gleichen Reaktionen, wie das letztere.

Die im vorigen mitgeteilten Versuchsergebnisse beweisen, daß in den etiolierten Keimpflanzen von *Lupinus albus* Lupanin sich vorfand und zwar in ansehnlicher Quantität. Offenbar gehört dieses Alkaloid nicht zu den Stickstoffverbindungen, die während der Entwicklung der Keimpflanzen aufgezehrt werden. Die Möglichkeit ist aber nicht ausgeschlossen, daß die genannte Base in den Pflänzchen partiell umgewandelt wird. Diese Frage würde sich nur entscheiden lassen, wenn es möglich gewesen wäre, sowohl in den ungekeimten Samen wie in den Keimpflanzen den Gehalt an Lupanin quantitativ zu bestimmen.

Die im vorigen gemachten Angaben beziehen sich auf die durch Quecksilberchlorid fällbaren Basen. Die nach möglichst vollständiger Gewinnung der Quecksilberdoppelsalze übrig gebliebene Mutterlauge untersuchten wir auf Guanidin. Sie wurde vom Quecksilber befreit und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Dieses Reagens brachte nur einen geringen Nieder-

schlag hervor, ein Beweis dafür, daß die Flüssigkeit nur noch eine kleine Menge von organischen Basen enthielt. Die bei Zerlegung des Niederschlags mittels Baryumhydroxyds erhaltene Basenlösung wurde, nachdem sie zur Entfernung des Baryts mit Kohlensäure behandelt worden war, mit Salpetersäure neutralisiert und sodann stark eingengt. Sie lieferte ein krystallisiertes Nitrat in sehr kleiner Menge, doch besaß dieses Produkt nicht die Eigenschaften des Guanidinnitrats. Auch in der davon abgegossenen Mutterlauge konnte Guanidin nicht nachgewiesen werden.

2. Basen aus den in Alkohol unlöslichen Teilen der Keimpflanzen.

Wie früher erwähnt worden ist, haben wir im ganzen 11 kg tuftrockene Keimpflanzen von *Lupinus albus* mit Alkohol extrahiert. Der dabei verbliebene, in Alkohol unlösliche Rückstand wurde nicht auf einmal, sondern in mehreren Portionen verarbeitet. Doch wurden die «Lysinfraktionen» der Phosphorwolframsäureniederschläge für die genauere Untersuchung aus allen Portionen zusammengenommen.

Die bei Zerlegung der Phosphorwolframsäureniederschläge erhaltenen, mit Salpetersäure neutralisierten Basenlösungen gaben mit Silbernitrat Fällungen, die der Quantität nach nicht bedeutend waren und nicht näher untersucht wurden. Aus den Filtraten von diesen Niederschlägen fällten wir nach bekannter Vorschrift zuerst das Histidin, dann das Arginin aus. Aus der Histidinfraktion suchten wir nach dem Verfahren von Kossel und Patten (*loc. cit.*) reines Histidin zu gewinnen. Dies gelang auch, wenigstens in einem Falle, recht gut.¹⁾ Als wir die bei Zerlegung des Quecksilbersulfatniederschlags erhaltene Histidinlösung mit Salzsäure schwach sauer machten und hierauf stark einengten, schieden sich aus derselben zuerst tafelförmige Krystalle aus, welche im Aussehen dem Monochlorid des Histidins glichen und einen, der Formel dieses Salzes entsprechenden Chlorgehalt besaßen, wie aus folgenden Angaben hervorgeht:

¹⁾ In einem anderen Falle erhielten wir auf dem gleichen Wege kein reines Histidinchlorid; es war diesem Salze eine andere, ziemlich schwer in Wasser lösliche Substanz beigemischt.

0,1690 g Substanz gaben 0,1159 g AgCl = 16,93% Cl.

Die Theorie verlangt 16,95% Cl.

Die von den tafelartigen Krystallen abgegossene Mutterlauge lieferte nach dem Einengen eine krystallinische Ausscheidung, die wahrscheinlich aus einem Gemenge des Monochlorids mit dem Dichlorid des Histidins bestand. Das daraus nach bekanntem Verfahren dargestellte Histidinsilber gab bei der Analyse folgende Resultate:

Präparat a) 0,2270 g Substanz gaben 0,1274 g Ag = 56,12% Ag

» b) 0,2410 » » » 0,1345 » » = 55,81% »

Die Theorie verlangt 55,77% Ag.

Es sei hier erwähnt, daß das Vorkommen von Histidin in den etiolierten Keimpflanzen von *Lupinus albus* früher schon von uns bewiesen worden ist. Die Ausbeute an dieser Base war, ebenso wie früher, auch in diesem Falle nur eine geringe; aus 5 kg lufttrockener Keimpflanzen erhielten wir nur ungefähr 0,75 g salzsaures Histidin.

Die Darstellung von Arginin aus der «Argininfraktion» des Silberniederschlags machte in keinem Falle Schwierigkeiten. Wir führten diese Base zunächst in das Nitrat über, welches stets leicht zum Krystallisieren zu bringen war. Es wurde später in Argininkupferniträt umgewandelt; diese Verbindung krystallisierte stets in der charakteristischen Form. Einen Beweis dafür, daß dieses Salz in reinem Zustande gewonnen werden konnte, geben, außer seinem Schmelzpunkt (113°), die folgenden Bestimmungen des Kupfergehaltes:

1. 0,2755 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0403 g CuO = 11,69% Cu

2. 0,3205 » » (» 100° » ») » 0,0475 » » = 11,84% »

Nach der Theorie enthielt die wasserfreie Verbindung 11,89% Cu.

Die Ausbeute an Arginin war bei den verschiedenen von uns untersuchten Kulturen 18—19 tägiger etiolierter Pflänzchen stets ungefähr die gleiche; sie betrug 0,07% vom Gewicht der Pflanzentrockensubstanz.¹⁾

Die im Filtrat vom Argininsilberniederschlag noch enthaltenen Basen wurden wieder durch Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die bei Zerlegung dieses Niederschlages erhaltene Basen-

¹⁾ Zwei Bestimmungen ergaben die gleiche Zahl.

lösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und sodann eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelten wir, nachdem er durch wochenlanges Stehen im Exsikkator so vollständig wie möglich ausgetrocknet war, mit kaltem absoluten Alkohol, worin er sich zum größten Teile löste. Zurück blieb eine in dem genannten Lösungsmittel unlösliche, fast ungefärbte krystallinische Masse, deren Quantität jedoch nicht bedeutend war; sie betrug nur etwa 0,1% vom Gewicht der als Ausgangsmaterial verwendeten lufttrockenen Keimpflanzen. Als wir diese Substanz, die ich mit B bezeichnen will, mit Methylalkohol unter Zusatz von einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure behandelten, löste sie sich darin nur zum kleineren Teile auf. Der Rückstand bestand in der Hauptsache aus anorganischer Substanz, insbesondere Chlorkalium, schloß aber auch eine durch Quecksilberchlorid und Natronlauge fällbare Base ein, deren Quantität jedoch zur näheren Untersuchung nicht ausreichte. Da zu vermuten war, daß in die methylalkoholische Lösung auch ein wenig Chlorkalium eingegangen war, so wurde diese Lösung eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Wasser aufgenommen, die Flüssigkeit sodann zur Ausfällung der Basen mit Mercurichlorid und Barytwasser versetzt (das Filtrat von diesem Niederschlage gab, nach Entfernung des Quecksilbers, mit Phosphorwolframsäure eine so schwache Fällung, daß die darin noch vorhandenen Basen unberücksichtigt bleiben konnten). Der Quecksilberniederschlag wurde in Wasser verteilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Lösung lieferte beim Eindunsten einen Sirup, aus welchem bald Krystalle sich abschieden. Er wurde in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit einer alkoholischen Platinchloridsolution versetzt. Dabei entstand ein sehr kleiner, langsam sich abscheidender Niederschlag, der sich in heißem Wasser löste; die Lösung lieferte beim Verdunsten zwei in ihrem Aussehen verschiedene Arten von Krystallen, beide in so geringer Menge, daß eine nähere Untersuchung nicht möglich war. Die von diesem Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit mehr Weingeist versetzt, um Lysinplatinchlorid zur Ausscheidung zu bringen. Dies gelang jedoch nicht — wahrscheinlich deshalb,

weil die Lösung etwas zu viel Wasser enthielt und weil das Lysin noch unrein war. Die Lösung wurde daher nach dem Abdunsten des Weingeists mittels Schwefelwasserstoff vom Platin befreit und sodann zur Krystallisation eingeengt, das so erhaltene Produkt von der Mutterlauge befreit, hierauf in wenig Wasser gelöst, die Lösung wieder mit alkoholischer Platinchloridsolution versetzt. Aus dieser Lösung schieden sich, nachdem noch Weingeist zugefügt worden war, binnen 24 Stunden glänzende Prismen aus, die im Aussehen mit Lysinplatinchloridkrystallen vollkommen übereinstimmten und wie die letzteren im Exsikkator bald undurchsichtig wurden. Sie schmolzen im Kapillarröhrchen fast gleichzeitig mit einem Lysinplatinchloridpräparat unserer Sammlung. Das zuerst bei 100° , dann noch bei 125° getrocknete Doppelsalz gab bei der Analyse folgendes Resultat:

0,2200 g Substanz gaben 0,0770 g Pt = 35,00% Pt.

Die Theorie verlangt für Lysinplatinchlorid einen Plattingehalt von 35,05%.

Aus diesen Versuchsergebnissen ist zu schließen, daß Lysinplatinchlorid vorlag. Zur Stütze dieser Annahme kann auch noch der Umstand dienen, daß aus der wässerigen Lösung des salzsauren Salzes, welches aus der vom Chloroplatinat abgegossenen Mutterlauge sich gewinnen ließ, auf Zusatz von Natriumpikrat ein pikrinsaures Salz sich ausschied, das im Aussehen mit Lysin-pikrat übereinstimmte.

Die Ausbeute an Lysin war sehr gering. — Das Gewicht des salzsauren Salzes, aus welchem das Lysinplatinchlorid dargestellt wurde, betrug nur ungefähr 0,5 g (kaum 0,005% vom Gewicht der als Ausgangsmaterial verwendeten lufttrocknen Keimpflanzen). Da die nach dem Auskrystallisieren dieses Chlorids übrig gebliebene Mutterlauge Ornithin enthalten konnte, so wurde sie mit Natronlauge alkalisch gemacht und sodann mit Benzoylchlorid geschüttelt, um die genannte Base in die in kaltem Wasser bekanntlich sehr wenig lösliche Ornithursäure überzuführen; aus der so behandelten Flüssigkeit schied sich aber nach dem Zusatz von Salzsäure keine in ihren Eigenschaften der Ornithursäure gleichende Substanz aus:¹⁾

¹⁾ Früher schon versuchten wir vergeblich, aus Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* Ornithin abzuscheiden.

Es war denkbar, daß der oben beschriebene schwache Niederschlag, welcher durch alkoholische Platinchloridsolution in der wässerigen Lösung der Chloride hervorgebracht wurde, ein wenig Ornithinplatinchlorid einschloß. Doch bestand dieser Niederschlag größtenteils aus in Wasser ziemlich schwer löslichen Platindoppelsalzen, während das Ornithinplatinchlorid sich leicht in Wasser löst. Gesetzt aber, daß man in diesem Niederschlage auf irgend einem Wege etwas Ornithin hätte nachweisen können, so würde dieser Befund doch wegen der geringen Quantität des ganzen Niederschlags ohne Bedeutung gewesen sein. Daß Ornithin zu den normalen Stoffwechselprodukten der Keimpflanzen gehört, würde man nur behaupten können, wenn man diese Base in einer nicht gar zu geringen Quantität in den Keimpflanzen nachgewiesen hätte; bei Auffindung einer nur minimalen Ornithinmenge würde gegen jene Behauptung der Einwand erhoben werden können, daß diese minimale Menge während der Verarbeitung der Keimpflanzenextrakte sich aus Arginin gebildet habe.

Wäre das Lysin von Tetra- und Pentamethyldiamin begleitet gewesen, so würden Chloroplatinate dieser Basen in dem durch alkoholische Platinchloridsolution in der wässerigen Lösung der Chloride hervorgebrachten Niederschlage enthalten gewesen sein. Dieser Niederschlag reichte, wie schon mehrfach erwähnt ist, zur genaueren Untersuchung nicht hin; das Gewicht der daraus dargestellten Chloride betrug nur 0,04 g, eine Quantität, die für ganz unbedeutend erklärt werden muß, wenn man bedenkt, daß zur Darstellung des betreffenden Basengemenges nicht weniger als 11 kg lufttrockner Keimpflanzen verwendet worden waren. Die Auffindung einer minimalen Menge von Tetra- und Pentamethyldiamin würde aber nicht zu der Schlußfolgerung berechtigen, daß diese Basen als normale Stoffwechselprodukte in den Keimpflanzen auftreten; denn man würde den Einwand machen können, daß dieselben an verletzten Stellen der Wurzeln oder anderer Teile der Pflänzchen durch Einwirkung von Bakterien auf normale Eiweißzersetzungsprodukte gebildet worden seien.

Aus den im vorigen gemachten Angaben ist zu ersehen,

daß wir Ornithin, Tetramethyldiamin und Pentamethyldiamin in den etiolierten Keimpflanzen von *Lupinus albus* nicht nachzuweisen vermochten. Es liegt somit kein Grund für die Annahme vor, daß diese drei Basen als normale Stoffwechselprodukte in jenen Keimpflanzen auftreten.

Ich gehe zur Mitteilung der Resultate über, die wir bei Untersuchung des in kaltem absoluten Alkohol löslichen Teils der Chloride (Substanz A.) erhielten. Beim Verdunsten der bezüglichen alkoholischen Lösung blieb ein Sirup, der bei längerem Stehen im Exsikkator Krystalle absetzte; nach und nach verwandelte er sich, und zwar dem Anschein nach fast vollständig, in eine strahlig-krystallinische Masse. Die Krystalle stimmten im Aussehen mit salzsaurem Lupanin überein und besaßen einen intensiv bitteren Geschmack. Als die wässrige Lösung dieses Produktes der fraktionierten Fällung mit Mercurichlorid unterworfen wurde, traten Erscheinungen auf, wie sie auch bei der fraktionierten Fällung der aus dem alkoholischen Keimpflanzenextrakt erhaltenen Basen beobachtet wurden; zuerst entstand ein dem Anschein nach ganz amorpher Niederschlag, der sich bald in eine dichte, an den Glaswandungen fest anhaftende Masse verwandelte, später kamen krystallinische Niederschläge. Die letzteren wurden aus Wasser umkrystallisiert. Das dabei erhaltene Produkt, welches im Aussehen dem Cholinquecksilberchlorid glich, lieferte bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoff ein salzsaures Salz, welches nicht für reines Cholinchlorid erklärt werden konnte. Es wurde daher in absolutem Alkohol gelöst und in das Chloroplatinat übergeführt. Letzteres stimmte nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Wasser sowohl im Aussehen wie im Platingehalt mit Cholinplatinchlorid überein. Die Platinbestimmung in dem bei 100° getrockneten Doppelsalz gab folgende Resultate:

a) 0,2000 g Substanz gaben 0,0626 g Pt = 31,30% Pt

b) 0,2090 „ „ „ 0,0657 „ „ = 31,44% „

Die Theorie verlangt für Cholinplatinchlorid einen Platingehalt von 31,6%.

Das aus diesem Chloroplatinat dargestellte salzsaure Salz krystallisierte in langen, zerfließlichen Nadeln; es gab die Reak-

tionen des Cholinchlorids.¹⁾ Beim Erhitzen mit sehr konzentrierter Natronlauge entwickelte es den Geruch des Trimethylamins. Schließlich wurde auch noch das Golddoppelsalz dargestellt; eine darin ausgeführte Goldbestimmung gab folgendes Resultat:

0,3190 g Substanz gaben 0,1425 g Au = 44,67% Au.

Die Theorie verlangt 44,5% Au.

Diese Versuchsergebnisse lassen keinen Zweifel darüber, daß Cholin vorlag. Daß daneben auch Lupanin vorhanden war, kann im Hinblick auf die oben gemachten Angaben kaum bezweifelt werden, obwohl wir diese Base hier nicht isoliert haben (bei dem Versuche, sie aus den ersten Fraktionen des Mercurichloridniederschlags nach demjenigen Verfahren zu isolieren, welches bei Untersuchung der aus dem alkoholischen Keimpflanzenextrakt gewonnenen Basen mit Erfolg angewendet wurde, ging durch einen Zufall die Substanz verloren).

Wir untersuchten auch noch die nach Ausscheidung der Quecksilberdoppelsalze der Basen übrig gebliebene Flüssigkeit, sowie die beim Umkrystallisieren dieser Salze erhaltene Mutterlauge. Beide Flüssigkeiten wurden vereinigt, mit Hilfe von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt, wobei ein der Quantität nach nicht bedeutender Niederschlag entstand. Die bei Zerlegung dieses Niederschlages erhaltene Basenlösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und eingedunstet, der Verdampfungsrückstand zur Entfernung etwa noch vorhandener Reste von Cholin- und Lupaninchlorid mit absolutem Alkohol behandelt. Den dabei ungelöst gebliebenen Rückstand lösten wir in Wasser und versetzten die Lösung mit Quecksilberchlorid und Natronlauge. Der so erhaltene Niederschlag wurde nach dem Abfiltrieren und Auswaschen durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Lösung eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Methylalkohol behandelt. Der beim Verdunsten der methylalkoholischen Lösung verbliebene Rückstand wog nur 0,2 g. Er wurde in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit einer alkoholischen Platinchloridlösung versetzt. Dabei entstand nur eine schwache weiß-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 369.

liche, unkrystallinische Ausscheidung. Tetra- und Pentamethylen-diamin können in dieser Substanz nicht enthalten gewesen sein; möglich aber ist, daß sie eine kleine Quantität von Lysin eingeschlossen hat. Darauf deutete der Umstand hin, daß aus der mit Platinchlorid versetzten Lösung, nachdem noch etwas Alkohol zugefügt worden war, eine im Aussehen dem Lysinplatinchlorid gleichende Verbindung in sehr kleiner Menge auskrystallisierte.

Wie aus den im vorigen gemachten Angaben zu ersehen ist, haben wir aus den etiolierten Keimpflanzen von *Lupinus albus* Arginin, Histidin, Lysin, Cholin und Lupanin isolieren können. Die beiden zuletzt genannten Basen fanden sich sowohl in den bei Behandlung der zerriebenen Pflänzchen mit heißem Alkohol erhaltenen Extrakten als auch in dem ungelöst gebliebenen Rückstände der Pflänzchen vor, während Arginin, Histidin und Lysin sich nur aus diesem Rückstände gewinnen ließen. Der Quantität nach prävalierten Cholin und Lupanin. Lysin konnte nur in sehr kleiner Menge isoliert werden; größer war die Ausbeute an Arginin und Histidin. Doch war der Prozentgehalt der Pflänzchen auch an diesen beiden Basen nur ein sehr niedriger. Dies steht im Einklang mit früher gemachten Beobachtungen, sowie mit der Annahme, daß die beim Abbau der Eiweißstoffe in den genannten Keimpflanzen entstehenden Hexonbasen sich nicht anhäufen, weil sie im Stoffwechsel der Pflänzchen dem Verbrauche unterliegen.

Außer den von uns isolierten Basen fanden wir noch einige andere Stoffe ähnlicher Art in den Pflänzchen vor, aber nur in so kleiner Menge, daß es nicht möglich war, sie genauer zu untersuchen.

b) 9—10 tägige Pflänzchen.

Wie aus den im vorigen gemachten Angaben zu ersehen ist, konnte in den 18—19tägigen etiolierten Pflänzchen Guanidin nicht nachgewiesen werden. Da es für möglich zu erklären war, daß diese Base in Keimpflanzen von geringerem Alter sich vorfand, später aber umgewandelt wurde, so haben wir noch 9—10 tägige etiolierte Pflänzchen untersucht. Dieselben wurden in frischem Zustande zerkleinert, hierauf mit Wasser von ca. 90°

übergossen. Nach Verlauf von einigen Stunden wurde die Flüssigkeit mittels eines Seihtuches vom Ungelösten getrennt, sodann von den durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit, hierauf im Wasserbade stark eingeengt, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den Niederschlag behandelten wir so, wie es oben angegeben worden ist. Die dabei erhaltene Argininfraktion untersuchten wir auf eine Beimengung von Guanidin. Die bei Verarbeitung dieser Fraktion erhaltene Argininlösung wurde mit Salpetersäure neutralisiert und sodann bis zur Sirupkonsistenz eingeengt. Der Sirup verwandelte sich bald in eine Krystallmasse, die das Aussehen des Argininnitrats zeigte. Sie wurde in heißem Wasser gelöst, die Lösung mit Kupferkarbonat im Überschuß versetzt. Die filtrierte Flüssigkeit lieferte nach dem Einengen bald Krystalle von Kupferargininnitrat. Die nach dem Auskrystallisieren dieser Verbindung übrig gebliebene Mutterlauge wurde mittels Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und sodann mit einer kalt gesättigten Lösung von Natriumpikrat versetzt. Dabei entstand keine Fällung, woraus auf die Abwesenheit von Guanidin zu schließen ist.

Schon vor längerer Zeit suchten wir auch aus einem alkoholischen Extrakt, aus getrockneten Keimpflanzen von *Lupinus albus* Guanidin nach demjenigen Verfahren darzustellen, welches für die Gewinnung dieser Base aus den Keimpflanzen von *Vicia sativa* sich als das Geeignetste erwiesen hatte;¹⁾ das Resultat war aber negativ. Wir vermochten also Guanidin in keiner der von uns untersuchten Kulturen von *Lupinus albus* nachzuweisen.

Bei Untersuchung der 9—10tägigen Pflänzchen auf Guanidin bestimmten wir auch zugleich die Ausbeute an Arginin. Sie betrug ungefähr 0,3% der Pflanzentrockensubstanz und war somit etwas größer, als die früher aus 4—6 tägigen Pflänzchen der gleichen *Lupinus*art erhaltene Ausbeute. Da sie aber nicht genau angegeben werden konnte, weil der Trockengehalt der für den Versuch verwendeten frischen Pflänzchen nicht genau bestimmt worden war, so wurde ein zweiter Versuch mit Pflänzchen gleichen Alters angestellt. Dabei erhielten wir folgendes Resultat:

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 215.

234,9 g Pflanzentrockensubstanz lieferten 1,22 g Argininkupfernitrat
 = 0,731 g oder 0,31% Arginin.

Ein dritter Versuch gab folgendes Resultat:

130 g Pflanzentrockensubstanz gaben 0,54 g Argininkupfernitrat
 = 0,25% Arginin.

Dieser Befund macht es sehr wahrscheinlich, daß eine früher für den Arginingehalt 6 tägiger Pflänzchen von uns angegebene Zahl (0,13%)¹⁾ zu niedrig ist. Wenn man diese Zahl aus der damals von uns aufgeführten kleinen Tabelle wegläßt, dagegen die jetzt von uns gefundene in die Tabelle aufnimmt, so lautet letztere folgendermaßen:

	Ausbeute an Arginin	
Ungekeimte Samen	0,019%	
2tägige Keimpflanzen	0,10%	
4 „ „	{ 0,22% 0,28% }	im Mittel 0,25%
9—10 „ „	{ 0,31% 0,25% }	
18—19 „ „	{ 0,12% 0,14% }	0,13%

Diese Zahlen zeigen, daß in der ersten Periode der Keimung das Arginin an Menge zunimmt, später aber wieder abnimmt. Ich will hier auch noch darauf aufmerksam machen, daß die Ausbeute an Arginin aus 18—19 tägigen Keimpflanzen nach den weiter oben gemachten Angaben in zwei Fällen nur 0,07% der Pflanzentrockensubstanz betrug, also noch etwas niedriger war, als die in der Tabelle angegebene Mittelzahl.

B. Etiolierte Keimpflanzen von *Soja hispida*.

Von diesem Material hatten wir nur eine relativ geringe Quantität zur Verfügung, nämlich 450 g 3 wöchentliche und 250 g 2 1/2 wöchentliche Keimpflanzen (gewogen nach dem Trocknen). Die Pflänzchen waren im Wintersemester 1903—04 in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen und nach der Ernte bei ca. 60° C. getrocknet worden. Wir hatten die Absicht, im folgenden Jahre ein größeres Quantum solcher Pflänzchen zu ziehen, doch gelang es uns damals nicht, Sojasamen von genügend guter

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 253.

Qualität zu erhalten. Erwähnt sei hier noch, daß Keimpflanzen von *Soja hispida* schon vor längerer Zeit von uns untersucht¹⁾ worden sind, und daß wir darin Cholin mit völliger Sicherheit nachweisen konnten, während die Isolierung von Arginin damals nicht gelang.

Ehe ich die bei Untersuchung dieser Keimpflanzen erhaltenen Resultate mitteile, will ich einige Angaben über die in den ungekeimten Sojasamen enthaltenen Basen machen. Um über diese Basen Aufschluß zu erhalten, extrahierten wir ca. 3 kg ungekeimter Samen, nachdem dieselben zerkleinert und zur Entfernung des Fetts mit Äther behandelt worden waren, mit kaltem Wasser. Aus dem durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten Extrakt fällten wir die Basen durch Phosphorwolframsäure; der so erhaltene Niederschlag wurde in der weiter oben schon beschriebenen Art und Weise behandelt. Es gelang uns, eine kleine Quantität von Arginin zu isolieren. Wir führten letzteres in Argininkupferniträt über. Diese Verbindung krystallisierte in der charakteristischen Form. Die Krystalle schmolzen bei 113° und gaben bei der Analyse folgendes Resultat:

0,2100 g bei 100° entwässerte Substanz gaben 0,0310 g CuO
= 11,80% Cu.

Das bei Zerlegung der Kupferverbindung erhaltene Niträt gab die Argininreaktionen. Die Ausbeute war nicht groß; aus 1350 g lufttrockenem Samen erhielten wir 0,630 g Argininniträt. Daraus berechnet sich für die Samen ein Arginingehalt von 0,033%.

Ferner ließ sich aus den Samen Cholin darstellen, und zwar in folgender Weise: die im Filtrat vom Argininsilber-niederschlage noch enthaltenen Basen wurden, nachdem sie mit Phosphorwolframsäure wieder ausgefällt waren, in die salzsauren Salze verwandelt. Die wässrige Lösung dieser Salze wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand im Exsikkator vollständig ausgetrocknet, dann mit kaltem absoluten Alkohol wiederholt behandelt; dieser Behandlung ließen wir schließlich noch eine Extraktion mit kochendem absoluten Alkohol folgen. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden eingedunstet, der Ver-

¹⁾ Man vergleiche diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 405.

dampfungsrückstand in Wasser aufgenommen, die konzentrierte wässrige Lösung mit Mercurichlorid versetzt, so lange als dieses Reagens noch eine Fällung hervorbrachte. Nach längerem Stehen wurde die Mutterlauge von der krystallinischen Ausscheidung getrennt und im Wasserbade stark eingeengt, nachdem zuvor noch etwas Mercurichlorid zugefügt war; die nach dem Erkalten ausgeschiedenen Krystalle vereinigten wir mit der zuerst erhaltenen krystallinischen Ausscheidung. Die in dieser Weise gewonnenen Quecksilberdoppelsalze wurden nun mittels Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wurde eingedunstet, der krystallinische Verdampfungsrückstand im Exsikkator vollständig ausgetrocknet, dann mit kaltem absoluten Alkohol behandelt. Er löste sich darin zum größten Teile auf; zurück blieb eine sehr kleine Menge eines in kaltem absoluten Alkohol unlöslichen Salzes. Die alkoholische Lösung wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung in schwachem Überschuß versetzt, der dabei erhaltene Niederschlag abfiltriert, mit absolutem Alkohol gewaschen, dann zwischen Fließpapier abgepreßt und nun in Wasser gelöst. Die wässrige Lösung lieferte beim langsamen Eindunsten über Schwefelsäure schöne orangerote Tafeln, die im Aussehen mit Cholinplatinchlorid vollständig übereinstimmten. Der Plattingehalt dieses Doppelsalzes entsprach dem von der Formel des Cholinplatinchlorids geforderten Werte (31,6% Pt), wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

$$\begin{aligned} 0,2430 \text{ g des bei } 100^{\circ} \text{ getrockneten Salzes gaben } 0,0765 \text{ g Pt} \\ = 31,48\% \text{ Pt.} \end{aligned}$$

Bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoff gab dieses Chloroplatinat ein in langen dünnen Prismen krystallisierendes, zerfließliches, in absolutem Alkohol lösliches Chlorid, welches die Reaktionen des Cholinchlorids¹⁾ gab; beim Erhitzen mit sehr konzentrierter Alkalilauge entwickelte es den Geruch des Trimethylamins. Diese Versuchsergebnisse berechtigten zu der Schlußfolgerung, daß die in der beschriebenen Weise erhaltene Base Cholin war.

¹⁾ Man vergleiche in betreff dieser Reaktionen die Angaben in dieser Zeitschrift, Bd. XI, S. 369.

Es war von Interesse, die bei Verarbeitung der Samen erhaltene Ausbeute von Cholin zu bestimmen. Da man annehmen durfte, daß der in kaltem absoluten Alkohol lösliche Teil der bei Zerlegung der Quecksilberdoppelsalze erhaltenen Chlorhydrate nur aus salzsaurem Cholin bestand, so haben wir die bezügliche alkoholische Lösung eingedunstet und den krystallinen Verdampfungsrückstand, nachdem er im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet worden war, gewogen und als Cholinchlorid in Rechnung gestellt.¹⁾ Dabei ergaben sich folgende Zahlen:

1. 1540 g lufttrockene Samen lieferten 1,077 g Cholinchlorid
2. 1350 » » » » » 0,968 » » »

Aus einem Kilo lufttrockener Samen wurden also im Mittel 0,708 g Cholinchlorid = 0,6102 g oder 0,061% Cholin erhalten.

Wie oben erwähnt wurde, blieb beim Auflösen der aus den Quecksilberdoppelsalzen erhaltenen Chloride ein sehr kleiner Rückstand. Derselbe bestand höchstwahrscheinlich aus dem Chlorid des Betains, einer in den Samen schon öfter gefundenen Base. Das aus diesem salzsauren Salz dargestellte Chloraurat krystallisierte wie Betaingoldchlorid in glänzenden Blättchen. Das bei Zerlegung dieses Chloraurats mittels Schwefelwasserstoff erhaltene Chlorid gab die Reaktion des Betains. Die Quantität dieses Produktes betrug nur 1—2 cg und genügte daher nicht zur Ausführung analytischer Bestimmungen.

Ich gehe zur Mitteilung der Resultate über, die bei Untersuchung der 2¹/₂- und 3wöchentlichen Keimpflanzen erhalten wurden. Aus dem bei Behandlung der zerriebenen Pflänzchen mit Wasser erhaltenen, durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten Extrakt fällten wir die Basen durch Phosphorwolframsäure. Die bei Zerlegung des Niederschlages gewonnene, mit Salpetersäure neutralisierte Basenlösung gab mit Silbernitrat einen ziemlich starken Niederschlag, welcher höchstwahrscheinlich Alloxur-basen enthielt (die bei Zerlegung dieses Niederschlages erhaltene Flüssigkeit gab mit ammoniakalischem Silbernitrat eine

¹⁾ Diese Versuche wurden ausgeführt, ehe Stanek (Diese Zeitschrift, Bd. XLVI) sein Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Cholins beschrieben hatte.

starke, in Ammoniak unlösliche Fällung). Eine genauere Untersuchung dieses Produktes wurde nicht ausgeführt. Aus der von diesem Niederschlage abfiltrierten Flüssigkeit wurden durch Zusatz einer größeren Silbernitratmenge und Barytwasser Histidin und Arginin gefällt. Das Histidin suchten wir durch Fällung mit Quecksilbersulfat nach der Vorschrift von Kossel und Patten (loc. cit.) zu reinigen. Die bei Verarbeitung des Niederschlages erhaltene Histidinlösung lieferte, nachdem sie mit Salzsäure neutralisiert und stark eingeeengt worden war, tafelartige Krystalle, die offenbar aus dem Monochlorid des Histidins bestanden. Eine Chlorbestimmung lieferte folgendes Resultat:
 0,2290 g des über Schwefelsäure getrockneten Salzes gaben 0,1514 g AgCl
 = 16,35% Cl.

Die Theorie verlangt für Histidinchlorid 16,95% Cl.

Das aus diesem Chlorid nach bekanntem Verfahren dargestellte Histidinsilber gab bei der Analyse folgendes Resultat:
 0,3520 g der bei 100° getrockneten Substanz gaben 0,1969 g Ag
 = 55,94% Ag.

Die Theorie verlangt für Histidinsilber einen Gehalt von 55,77% Ag.

Das bei Verarbeitung der Argininfraktion des Silberniederschlags erhaltene Arginin wurde in das Nitrat übergeführt; letzteres war leicht zum Krystallisieren zu bringen. Die Krystalle wurden durch Aufstreichen auf eine Tonplatte von der in sehr geringer Menge vorhandenen Mutterlauge befreit und sodann zur Darstellung von Argininkupferniträt verwendet. Diese Verbindung krystallisierte in der charakteristischen Form; die Krystalle schmolzen bei 112—113°. Bei Bestimmung des Kupfergehaltes in dem durch Trocknen bei 100° entwässerten Produkt wurden folgende Zahlen erhalten:

0,2840 g Substanz gaben 0,0420 g CuO = 11,80% Cu.

Nach der Theorie enthält die Verbindung 11,89% Cu.

Die von den Krystallen getrennte Mutterlauge wurde in der früher angegebenen Weise auf Guanidin untersucht, jedoch mit ganz negativem Resultat.

Die im Filtrat vom Argininsilber noch vorhandenen Basen wurden, nach der Wiederausfällung durch Phosphorwolframsäure, in salzsaure Salze übergeführt. Die wässrige Lösung dieser Salze wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand

nach völligem Austrocknen im Exsikkator mit absolutem Alkohol behandelt (aus der dabei erhaltenen Lösung ließ sich, wie weiter unten mitgeteilt werden wird, Cholin darstellen). Den bei der Alkoholextraktion ungelöst verbliebenen Rückstand behandelten wir mit Methylalkohol. Dabei ging nur eine sehr geringe, zu einer näheren Untersuchung nicht ausreichende Substanzmenge in Lösung. Der in Äthyl- und Methylalkohol unlösliche Teil der salzsauren Salze bestand vorzugsweise aus anorganischer Substanz (Chlorkalium); doch schien noch eine organische Base in sehr kleiner Quantität beigemischt zu sein.

Die bei Behandlung der salzsauren Salze mit absolutem Alkohol erhaltene Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit Mercurichlorid im Überschuß versetzt. Dabei entstand eine starke krystallinische Ausscheidung. Die von letzterer abgegossene Mutterlauge wurde stark eingeeengt; die nach dem Erkalten sich ausscheidenden Krystalle vereinigten wir mit den zuerst erhaltenen Quecksilberdoppelsalzen und zersetzten dieselben sodann durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Lösung der Chloride wurde eingedunstet, der krystallinische Verdampfungsrückstand vollständig ausgetrocknet und sodann mit kaltem absoluten Alkohol behandelt. Er löste sich darin unter Hinterlassung eines sehr kleinen, wahrscheinlich aus salzsaurem Betain bestehenden Rückstandes. Die Lösung versetzten wir mit einer alkoholischen Platinchloridsolution. Der dabei erhaltene Niederschlag wurde abfiltriert, mit absolutem Alkohol ausgewaschen und sodann in Wasser gelöst. Die wässrige Lösung lieferte beim Verdunsten schöne orangerote Tafeln, die das Aussehen des Cholinplatinchlorids besaßen. Eine Platinbestimmung gab folgendes Resultat:

0,2130 g des bei 100° getrockneten Chloroplatinats gaben 0,0678 g Pt
= 31,81% Pt.

Die Theorie verlangt für Cholinplatinchlorid einen Gehalt von 31,6% Pt.

Bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoff lieferte dieses Chloroplatinat ein in langen dünnen Prismen krystallisierendes Chlorid, welches im Aussehen und Verhalten mit Cholinchlorid übereinstimmte (wie oben schon erwähnt worden ist, wurde

das Vorkommen von Cholin in den Keimpflanzen von Soja hispida von uns früher schon mit Sicherheit nachgewiesen).

Da in der alkoholischen Lösung, die zur Darstellung des im vorigen beschriebenen Chloroplatinates verwendet wurde, neben Cholinchlorid ein anderes Salz nicht aufzufinden war, so konnte man durch Wägung des im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Verdampfungsrückstandes Aufschluß darüber erhalten, wie groß die aus den Keimpflanzen darstellbare Cholinquantität war. Wir erhielten auf diesem Wege folgende Resultate:

2 $\frac{1}{2}$ wöchentliche Keimpflanzen.

200 g lufttrockene Pflänzchen (ohne Schalen) lieferten 0,400 g salzsaures Cholin = 0,345 g oder 0,173% Cholin.

3wöchentliche Keimpflanzen.

425 g lufttrockene Pflänzchen (ohne Schalen) lieferten 0,900 g salzsaures Cholin = 0,776 g oder 0,183% Cholin.

Vergleicht man diese Ausbeute an Cholin mit derjenigen, die aus den ungekeimten Samen erhalten wurde, so erhält man Aufschluß darüber, ob die Quantität des Cholins während der Entwicklung der Pflänzchen zugenommen hat, oder nicht. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die ungekeimten Samen unentschält, die Keimpflanzen dagegen ohne Schalen zur Verarbeitung gelangten. 100 Teile lufttrockener Samen enthielten fast genau 10 Teile Schalen (lufttrocken). Unter der für wahrscheinlich zu erklärenden Voraussetzung, daß das Cholin nur in den Kernen, nicht in den Schalen sich vorfand, kommt man unter Berücksichtigung der früher schon über die Ausbeute an Cholin gemachten Angaben zu dem Resultat, daß 900 g lufttrockene Samen ohne Schalen 0,6102 g oder 0,068% Cholin lieferten. Die Ausbeute war hier also weit geringer als bei den Keimpflanzen. Bei Vergleichung der bezüglichen Zahlen ist jedoch noch zu berücksichtigen, daß die Keimpflanzen während ihrer unter Lichtabschluß stattfindenden Entwicklung infolge der Oxydation von Kohlenhydraten usw. einen starken Substanzverlust erlitten, welcher eine Steigerung des Prozentgehaltes der Pflänzchen an Stickstoffverbindungen bewirken mußte. Die Größe dieses Substanzverlustes läßt sich berechnen, wenn man

die den vorliegenden Untersuchungen entsprechende Annahme macht, daß die in den Samen enthaltene absolute Stickstoffmenge während der Keimung eine Veränderung nicht erleidet. Die Stickstoffbestimmung ergab für die Sojasamen und Sojakeimpflanzen die folgenden, auf die schalenfreie Trockensubstanz sich beziehenden Zahlen.¹⁾

Ungekeimte Samen	6,43 % N
3wöchentliche Keimpflanzen	8,11 % N.

Unter der obigen Voraussetzung ist aus diesen Zahlen zu folgern, daß 100 Teile ungekeimte Samen 79,3 Teile 3wöchentliche Keimpflanzen geliefert haben. Berechnet man nun unter Zugrundelegung der für die Cholinausbeute früher mitgeteilten Zahlen die in diesen Gewichtsmengen enthaltenen Cholinquantitäten, so gelangt man zu folgendem Resultat:

		Gewichtsteile Cholin
79,3 Gewichtsteile 3wöchentl. Keimpflanzen	enthielten	0,145
100 „ „ ungekeimte Samen	„	0,068
		<hr/>
	Differenz	0,077

In den 3wöchentlichen Keimpflanzen wurde also mehr als doppelt so viel Cholin gefunden, wie in den ungekeimten Samen, woraus man auf eine Bildung dieser Base in den Keimpflanzen zu schließen hat.

Die vorstehenden Angaben beziehen sich auf lufttrockne Samen und Keimpflanzen; das Endresultat würde aber bei Umrechnung der Zahlen auf die Trockensubstanz der Untersuchungsobjekte sich kaum ändern, da der Feuchtigkeitsgehalt der Keimpflanzen von demjenigen der Samen nur wenig differierte. Auch würde es kaum einen Unterschied machen, wenn man statt des Cholingehalts der 3wöchentlichen Keimpflanzen denjenigen der 2¹/₂wöchentlichen Pflänzchen in die Rechnung einführte; denn wir haben, wie aus den früher gemachten Angaben

¹⁾ Analytische Belege:

Ungekeimte Samen:

- 1,1771 g Trockensubstanz gaben 0,07692 g oder 6,53 % N
- 1,3782 „ „ „ 0,0871 „ oder 6,32 % „ (Mittel: 6,43 % N).

Keimpflanzen:

- 1,0384 g Trockensubstanz gaben 0,0841 g oder 8,09 % N
- 0,9350 „ „ „ 0,0761 „ oder 8,13 % „ (Mittel: 8,11 % N).

zu ersehen ist, für den Cholingehalt der 2^{1/2}- und der 3wöchentlichen Pflänzchen fast die gleiche Zahl gefunden.

Wie von meinen Mitarbeitern und mir früher nachgewiesen worden ist,¹⁾ erleidet in den unter Lichtabschluß sich entwickelnden Keimpflanzen das Lecithin in starkem Maße eine Zersetzung. Wenn nun gleichzeitig der Gehalt der Pflänzchen an Cholin zunimmt, so darf es für sehr wahrscheinlich erklärt werden, daß diese Base als Spaltungsprodukt des Lecithins in den Pflänzchen auftritt.

Wie aus den im vorigen gemachten Mitteilungen sich ersehen läßt, haben wir aus den Keimpflanzen von Soja hispida drei Basen darstellen können, nämlich Arginin, Histidin und Cholin. Arginin und Cholin fanden sich, jedoch in geringerer Quantität, schon in den ungekeimten Samen vor. Während man annehmen darf, daß die zuletzt genannte Base, soweit sie nicht schon vor Beginn der Keimung vorhanden war, bei der Spaltung von Lecithin sich gebildet hatte, sind Arginin und Histidin als Produkte der gleichzeitig erfolgenden Zersetzung von Eiweißstoffen anzusehen.

C. 12tägige etiolierte Keimpflanzen von *Pisum sativum*.

Diese Keimpflanzen, von denen wir etwas mehr als 3 kg (gewogen nach dem Trocknen) zur Verfügung hatten, waren nicht reich an organischen Basen. Die Analyse zeigte, daß die aus einem mit Kupferoxyd erhitzten eiweißfreien Extrakte in den Phosphorwolframsäureniederschlag übergegangene Stickstoffmenge nur ca. 0,2% vom Gewicht der lufttrocknen Pflänzchen betrug; auch vermochten wir aus denselben nur relativ geringe Quantitäten von Basen zu isolieren. Diese Pflänzchen bildeten auch insofern kein besonders günstiges Material für unsere Untersuchung, als sie beim Trocknen sich ziemlich stark gefärbt hatten und infolge davon bei der Behandlung mit Wasser braun gefärbte Extrakte lieferten; auch die in den Extrakten durch Phosphorwolframsäure hervorgebrachten Niederschläge und die bei Zerlegung dieser Niederschläge erhaltenen Basen-

¹⁾ Ich verweise auf die in dieser Zeitschrift, Bd. XL, S. 116—119 sich findende Zusammenstellung der bezüglichen Angaben.

lösungen. waren stärker gefärbt, als dies bei den anderen von uns untersuchten Objekten der Fall war.

Ehe ich die bei Untersuchung dieser Pflänzchen erhaltenen Resultate mitteile, will ich einige Angaben über die in den ungekeimten Samen von *Pisum sativum* enthaltenen Basen machen. Aus den genannten Samen kann man, wie früher von uns gezeigt worden ist,¹⁾ Cholin und Trigonellin $C_7H_7NO_2$ darstellen. Die Trennung dieser beiden Basen läßt sich auf das Verhalten ihrer salzsauren Salze gegen kalten absoluten Alkohol gründen; das salzsaure Trigonellin löst sich darin nicht oder nur wenig auf, während salzsaures Cholin von dem genannten Lösungsmittel leicht aufgenommen wird.²⁾ Auch Arginin kommt in kleiner Menge in den genannten Samen vor. Allerdings konnten wir in einem früher von uns ausgeführten Versuche aus einem Kilogramm solcher Samen die genannte Base nicht gewinnen; aus einem anderen Muster solcher Samen konnte aber später Herr Rhamneck in meinem Laboratorium Arginin darstellen. Bei Verarbeitung von 4 kg der Samen erhielt er 2,5 g Arginin-nitrat. Die Ausbeute an Arginin betrug also ungefähr 0,044% vom Gewicht des lufttrocknen Ausgangsmaterials. Aus dem Nitrat wurde Argininkupfernitrat dargestellt, welches in der charakteristischen Form krystallisierte und bei 112° schmolz. Bei Bestimmung des Kupfers in der durch Trocknen bei 100° vom Krystallwasser befreiten Verbindung wurden folgende Resultate erhalten:

0,2770 g Substanz gaben 0,0408 g CuO = 11,84% Cu
 0,2753 „ „ „ 0,0403 „ „ = 11,70% „

Nach der Theorie soll die wasserfreie Verbindung 11,89% Cu enthalten.

Zur Darstellung der Basen aus den Keimpflanzen behandelten wir die letzteren, nachdem sie bei ca. 60° getrocknet und sodann fein zerrieben worden waren,³⁾ mit kaltem Wasser

¹⁾ Landwirtschaftl. Versuchstationen, Bd. XLVI, S. 40.

²⁾ Doch ist eine scharfe Trennung der beiden Salze auf diesem Wege nicht zu erreichen; auch ist zur Erzielung eines guten Resultates wiederholte Anwendung dieses Trennungsverfahrens erforderlich.

³⁾ Ein kleines Quantum der Keimpflanzen wurde in frischem Zustande zerrieben und sodann mit kaltem Wasser extrahiert, das Extrakt hierauf in der gleichen Weise behandelt, wie die beim Extrahieren der getrockneten Keimpflanzen erhaltene Lösung.

und versetzten den mittels Bleiessig gereinigten und hierauf stark angesäuerten Extrakt mit Phosphorwolframsäure. Die bei Zerlegung des Niederschlages in bekannter Weise erhaltene, mit Salpetersäure neutralisierte Basenlösung gab auf Zusatz von Silbernitrat einen starken Niederschlag, der ohne Zweifel Alloxurbasen einschloß. Er wurde nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mittels Salzsäure und Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelsilber abfiltrierte Flüssigkeit lieferte, nachdem sie stark eingeeengt worden war, nadelförmige Krystalle eines salzsauren Salzes (oder eines Gemenges von mehreren Salzen solcher Art). Eine nähere Untersuchung dieses Produktes, dessen wässrige Lösung mit ammoniakalischem Silbernitrat eine in Ammoniak unlösliche Fällung gab, wurde nicht ausgeführt, da es in unserer Absicht liegt, die in den Keimpflanzen enthaltenen Alloxurbasen zum Gegenstande einer gesonderten Untersuchung zu machen.

Aus der von diesem Niederschlage abfiltrierten Flüssigkeit suchten wir, nachdem noch mehr Silbernitrat zugefügt worden war, durch Barytwasser zuerst das Histidin, dann das Arginin in bekannter Weise zu fällen.

Die Histidinfraktion des Niederschlages gab bei der Zerlegung eine dunkelgefärbte Flüssigkeit, aus der wir durch Fällung mit Quecksilbersulfat reines Histidin zu gewinnen suchten. Die bei Verarbeitung dieses Niederschlages erhaltene Histidinlösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und sodann stark eingeeengt. Wir erhielten dabei eine nicht bedeutende Quantität eines ziemlich dunkelgefärbten Sirups, der auch bei längerem Stehen keine Krystalle von Histidinchlorid lieferte. Wir suchten nun aus diesem Sirup nach bekanntem Verfahren Histidinsilber darzustellen; dabei erhielten wir ein zwar im Aussehen dieser Verbindung gleichendes, aber im Silbergehalt hinter der letzteren zurückbleibendes Produkt. Die Silberbestimmung lieferte folgendes Resultat:

0,234 g bei 100° getrocknete Substanz gaben 0,1180 g oder 50,5% Ag

Die Formel des Histidinsilbers verlangt einen Gehalt von 55,77% Ag.

Der Nachweis von Histidin gelang also nicht. Vielleicht fand sich in dem in der beschriebenen Weise erhaltenen Sirup

Histidinchlorid vor, wurde aber durch Beimengungen am Auskrystallisieren verhindert. Die Quantität dieses Produktes war so gering, daß weitere Versuche damit nicht angestellt werden konnten. Wir konnten also auch nicht entscheiden, ob darin eine der Substanzen enthalten war, die neuerdings von anderen Forschern bei Untersuchung verschiedener Objekte in der Histidinfraktion des Silberniederschlags als Beimengungen gefunden worden sind.

Die Argininfraktion des Silberniederschlags lieferte, als wir sie nach bekannter Vorschrift verarbeiteten, einen Sirup, aus welchem Argininnitrat nur langsam und in sehr kleiner Menge auskrystallisierte. Nach dem Abgießen der Mutterlauge wurde das Produkt auf eine Tonplatte gebracht, später in Argininkupferniträt übergeführt. Nach dem Umkrystallisieren aus Wasser zeigte diese Verbindung die charakteristische Form; die Krystalle schmolzen bei 113°. Das bei Zerlegung der Kupferverbindung mittels Schwefelwasserstoff erhaltene Nitrat gab die Reaktionen des Arginins. Diese Base ist demnach als nachgewiesen zu betrachten. Ihre Quantität war aber sehr gering; das Gewicht der von uns erhaltenen Argininkupfernitratkry stallen betrug nur ca. 0,2 g.

Die in der Mutterlauge vom Argininnitrat noch enthaltenen basischen Substanzen wurden wieder durch Silbernitrat und Barytwasser ausgefällt. Die bei Zerlegung des Niederschlags erhaltene Basenlösung gab auf Zusatz einer wässerigen Pikrinsäuresolution keine Fällung. Guanidin schien also nicht vorhanden zu sein.

Die im Filtrat vom Argininsilber sich vorfindenden Basen wurden, nach der Wiederausfällung durch Phosphorwolframsäure, in salzsaure Salze übergeführt. Die wässerige Lösung dieser Salze wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand nach möglichst vollständiger Austrocknung im Exsikkator zuerst mit kaltem, dann mit kochendem absoluten Alkohol behandelt. Die alkoholische Lösung lieferte Cholin und Trigonellin. Ehe ich die zu diesem Ergebnis führenden Versuche beschreibe, will ich die Resultate mitteilen, die bei der Untersuchung des in Alkohol unlöslichen Rückstands erhalten wurden. Dieser

Rückstand schloß anorganische Substanzen in bedeutender Quantität ein. Da er ziemlich stark braun gefärbt war und auch eine amorphe Substanz zu enthalten schien, so suchten wir zu einem reineren Produkt zu gelangen, indem wir die wässerige Lösung einer Wiederausfällung durch Phosphorwolframsäure unterwarfen, jedoch in solcher Weise, daß das zuletzt Niederfallende (vorzugsweise aus anorganischer Substanz bestehend) beseitigt wurde. Die bei Zerlegung des Niederschlags erhaltene Basenlösung wurde mit alkoholischer Pikrinsäuresolution neutralisiert und dann stark eingeeengt. Sie lieferte eine krystallinische Ausscheidung, die jedoch größtenteils aus Kaliumpikrat bestand. Die bei Zerlegung dieser Pikrate mit Salzsäure und Äther erhaltene Lösung der Chloride wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Methylalkohol behandelt. Nur ein kleiner Teil des Rückstandes ging in Lösung, während Chlorkalium zurückblieb. Die Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand wieder mit Methylalkohol behandelt. Da anzunehmen war, daß auch die so erhaltene Lösung nicht völlig frei von Chlorkalium war, so versetzten wir sie zur Fällung von Lysin etc. mit Mercurichlorid und Natronlauge. Der so erhaltene Niederschlag wurde dann durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Lösung hinterließ beim Eindunsten nur einen sehr geringen Rückstand. Die Lösung desselben in wenig Wasser wurde mit alkoholischer Platinchloridsolution versetzt, wobei eine Fällung nicht erfolgte. Der Versuch, aus dieser Flüssigkeit durch Zusatz einer größeren Menge von Weingeist Lysinplatinchlorid zur Ausscheidung zu bringen, blieb ohne Erfolg. Falls trotzdem Lysin vorhanden war, so kann seine Quantität doch nur eine äußerst geringe gewesen sein.

Die von den pikrinsauren Salzen abfiltrierte Flüssigkeit wurde durch Schütteln mit Salzsäure und Äther von Pikrinsäure befreit und dann eingedunstet. Der Verdampfungsrückstand gab an absoluten Alkohol noch eine geringe Substanzmenge ab. Der in Alkohol unlösliche Teil des Rückstands wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit Mercurichlorid und Natronlauge versetzt, die dadurch erzeugte Fällung, nach dem

Abfiltrieren und Auswaschen, durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Flüssigkeit lieferte beim Eindunsten nur einen sehr geringen Rückstand und gab mit Phosphorwolframsäure eine so schwache Fällung, daß darin nur Spuren organischer Basen sich vorgefunden haben können.

Aus den im vorigen gemachten Angaben ist zu schließen, daß der in Alkohol unlösliche Teil der salzsauren Salze weder Ornithin noch Tetra- und Pentamethyldiamin enthielt. Lysin war vielleicht in sehr kleiner Menge vorhanden, konnte jedoch nicht isoliert werden.

Aus der bei Behandlung der salzsauern Salze mit Alkohol entstandenen Lösung konnten, wie oben schon erwähnt wurde, Cholin und Trigonellin dargestellt werden, und zwar in folgender Weise: die alkoholische Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand im Wasser gelöst und sodann einer fraktionierten Fällung mit Mercurichlorid unterworfen. Dabei entstand zuerst eine anscheinend ganz amorphe, an den Wänden des Glasgefäßes als fast pflasterartige Masse sich ansetzende Fällung; später kamen krystallinische Niederschläge. Die letzteren wurden abfiltriert, getrocknet und sodann mit Alkohol behandelt, um zu prüfen, ob durch dieses Lösungsmittel ein Quecksilberdoppelsalz des Phenyläthylamins sich ausziehen lasse. Das Resultat war negativ (bei Untersuchung des alkoholischen Auszuges traten ganz die gleichen Erscheinungen ein, wie sie bei dem analogen Versuche an *Lupinus albus* beobachtet wurden; man vergleiche die darüber oben gemachten Mitteilungen). Die vom Alkohol nicht gelösten Quecksilberdoppelsalze wurden aus heißem Wasser umkrystallisiert und dabei in zwei Fraktionen zerlegt. Die bei Zersetzung dieser Fraktionen mittels Schwefelwasserstoff erhaltenen Chloride wurden, nach dem Eindunsten der bezüglichen Lösungen, im Exsikkator getrocknet und sodann mit kaltem absoluten Alkohol¹⁾ behandelt. Der größte Teil der Chloride ging in Lösung; zurück blieb ein kleines Quantum von Krystallen. Der alkoholische Auszug wurde wieder eingedunstet, der Ver-

¹⁾ Zur Verwendung kam absoluter Alkohol, der zuvor noch mit Ätzkalk behandelt und dann destilliert worden war.

dampfungsrückstand wieder nach völligem Austrocknen im Vacuumexsikkator in Alkohol aufgenommen, wobei noch eine sehr kleine Quantität von Krystallen ungelöst blieb. Die alkoholische Lösung versetzten wir mit einer alkoholischen Platinchlorid-Lösung, wobei ein starker Niederschlag entstand, der sich, nach dem Abfiltrieren und Auswaschen in Wasser, unter Zurücklassung einiger dunkelgefärbter Flocken löste. Die Lösung wurde zur Krystallisation verdunstet, das so erhaltene Produkt aus Wasser umkrystallisiert. Wir erhielten so ein aus orangeroten Tafeln bestehendes Chloroplatinat, welches im Aussehen mit Cholinplatinchlorid übereinstimmte. Die Platinbestimmung in dem bei 100° getrockneten Doppelsalze gab folgende Resultate:

1. 0,3440 g Substanz gaben 0,1085 g Pt = 31,54% Pt
2. 0,2730 „ „ „ 0,0855 „ „ = 31,32% „

Nach der Theorie enthält Cholinplatinchlorid 31,6% Pt.

Für die zweite der vorstehenden Bestimmungen wurde ein Präparat verwendet, welches aus der von der ersten Krystallisation abgegossenen Mutterlauge dargestellt worden war; da der Platingehalt auch dieses Präparates dem berechneten Werte sehr nahe liegt, so darf man annehmen, daß den Cholinplatinchloridkrystallen ein anderes Chloroplatinat nicht oder nur in unwesentlicher Quantität beigemischt war.¹⁾

Bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoff lieferte das Chloroplatinat ein in Prismen krystallisierendes, zerfließliches, in kaltem absoluten Alkohol lösliches Chlorid, welches die Reaktionen des Cholinchlorids gab. Bei der Zersetzung entwickelte es den Geruch des Trimethylamins. Zuletzt wurde noch das Golddoppelsalz dargestellt. Bei Bestimmung des Goldgehalts des bei 100° getrockneten Präparates ergab sich folgendes Resultat:

¹⁾ Doch lieferte die vom Chloroplatinat abgegossene Mutterlauge nach Entfernung des Platins mittels Schwefelwasserstoff ein salzsaures Salz, das sich nicht vollständig in kaltem absoluten Alkohol löste. Offenbar war hier noch etwas Trigonellinchlorid beigemischt. Dieses Salz löst sich bei Gegenwart von Cholinchlorid etwas in absolutem Alkohol, sodaß eine scharfe Trennung schwierig ist — ein Umstand, auf den ich, wie oben, schon aufmerksam gemacht habe.

0,3165 g Substanz gaben 0,1400 g = 44,23% Au.

Nach der Theorie enthält Cholingoldchlorid 44,5% Au.

Diese Versuchsergebnisse lassen keinen Zweifel darüber, daß Cholin vorlag.

Der krystallinische Rückstand, welcher bei Behandlung der aus den Quecksilberdoppelsalzen dargestellten Chlorhydrate mit kaltem absoluten Alkohol ungelöst blieb, erwies sich als salzsaures Trigonellin; ein Befund, der zu erwarten war, da in den ungekeimten Samen von *Pisum sativum* Trigonellin schon nachgewiesen worden ist. Jener Rückstand löste sich in kochendem 95%igem Alkohol; aus der Lösung schieden sich nach dem Erkalten tafelartige Prismen ab. Zur Darstellung eines Chloroplatinats wurde die Lösung der Krystalle in heißem Weingeist mit einer alkoholischen Platinchloridsolution vermischt, das dabei niederfallende Chloroplatinat später aus Wasser, worin es ziemlich leicht löslich war, umkrystallisiert. Es bildete nun schöne orangerote prismatische Krystalle. Bei Bestimmung des Platingehalts des bei 100° getrockneten Doppelsalzes erhielten wir folgende Resultate:

1. 0,3240 g Substanz gaben 0,0920 g Pt = 28,40% Pt

2. 0,2235 » » » 0,0633 » » = 28,32% »

Die Theorie verlangt für Trigonellinplatinchlorid, $(C_7H_8NO_2Cl_2)PtCl_4$, einen Gehalt von 28,45% Pt.

Die nahe Übereinstimmung des gefundenen mit dem berechneten Werte berechtigt zu dem Schluß, daß dem in der beschriebenen Weise von uns erhaltenen Trigonellinplatinchlorid ein anderes Chloroplatinat nicht beigemischt war.

Das Trigonellin ist dadurch ausgezeichnet, daß es zwei im Verhalten verschiedene Chloraurate gibt; das eine von ihnen, welches sich beim Versetzen einer Lösung von Trigonellinchlorid mit Goldchlorid ausscheidet, ist nach der Formel $C_7H_7NO_2, HCl, AuCl_3$ zusammengesetzt und schmilzt bei 198°. Krystallisiert man dieses Doppelsalz aus Wasser um, so erhält man ein nach der Formel $(C_7H_7NO_2)_4, 3 HCl, 3 AuCl_3$ zusammengesetztes basisches Salz, welches feine, nadelförmige Krystalle bildet und bei 185—186° unzersetzt schmilzt. Wir haben dieses zweite Salz in der angegebenen Weise darge-

stellt: dasselbe stimmte im Aussehen vollständig mit einem in unserer Sammlung befindlichen Präparat von basischem Trigonellingoldchlorid überein. Die Krystalle schmolzen bei 185 bis 186°. Eine Goldbestimmung in dem bei 100° getrockneten Doppelsalze gab folgendes Resultat:

0,2030 g Substanz gaben 0,0765 g Au = 37,69% Au.
Die Theorie verlangt 37,62% Au.

Diese Versuchsergebnisse beweisen, daß das in der beschriebenen Weise erhaltene salzsaure Salz Trigonellinchlorid war.

Cholin und Trigonellin wurden, wie aus den im vorigen gemachten Angaben sich ersehen läßt, aus den bei fraktionierter Fällung der salzsauren Salze mit Mercurichlorid erhaltenen Niederschlägen dargestellt. Nicht zur Verwendung kam dabei der erste dieser Niederschläge, der im Gegensatz zu den später erhaltenen Fraktionen dunkel gefärbt und dem Anschein nach amorph war. Doch wurde später auch dieser Niederschlag noch untersucht. Wir behandelten ihn mit kochendem Wasser, wobei er sich zum Teil auflöste. Die Lösung lieferte nach dem Einengen ein Quecksilberdoppelsalz, welches aus Wasser umkrystallisiert und hierauf durch Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Beim Verdunsten der vom Schwefelquecksilber abfiltrierten Lösung blieb ein Sirup, der sich in kaltem absolutem Alkohol unter Hinterlassung eines geringen unkrystallinischen Rückstands löste. Das beim Eindunsten dieser Lösung bleibende, bald krystallisierende Produkt konnte nach seinem Verhalten für salzsaures Cholin erklärt werden. Der bei der Behandlung mit heißem Wasser ungelöst gebliebene Teil jenes Niederschlages gab bei der Zersetzung durch Schwefelwasserstoff neben Schwefelquecksilber eine Lösung, die beim Verdunsten einen unkrystallinischen, braun gefärbten Sirup lieferte, welcher in kaltem Alkohol löslich war. Über die Natur dieses Produktes vermag ich Angaben nicht zu machen.

Schließlich untersuchten wir auch noch die nach Ausscheidung der Quecksilberdoppelsalze der Basen übrig gebliebene Flüssigkeit, nachdem sie mit der beim Umkrystallisieren dieser Quecksilberdoppelsalze erhaltenen Mutterlauge vereinigt worden war. Diese Flüssigkeit konnte Basen enthalten, welche, wie z. B.

das Guanidin, mit Mercurichlorid keine in Wasser schwer löslichen Verbindungen geben. Sie wurde mittels Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Dabei entstand nur ein schwacher Niederschlag, ein Beweis dafür, daß weitaus der größte Teil der im Filtrat vom Argininsilber noch erhaltenen Basen durch Mercurichlorid fällbar war. Jener Niederschlag wurde durch Baryt zersetzt, die dabei erhaltene Basenlösung mit Salzsäure neutralisiert und sodann eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelten wir mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und etwas Äther, um etwa vorhandenes Guanidinchlorid auszuziehen. Die Lösung wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand wieder mit dem gleichen Lösungsmittel behandelt. Das beim Eindunsten dieser zweiten Lösung erhaltene Produkt wurde in Wasser gelöst, dann fügten wir Natriumpikrat hinzu. Dabei entstand nur eine schwache Trübung, keine krystallinische Ausscheidung. Es ist also anzunehmen, daß Guanidin nicht vorhanden war.

Ich beschließe damit die Mitteilungen über die bei Untersuchung der 12tägigen Keimpflanzen von *Pisum sativum* erhaltenen Resultate. Wie aus den von mir gemachten Angaben sich ersehen läßt, fanden sich in diesen Pflänzchen Hexonbasen nur in sehr kleiner Menge vor. Bestimmt nachgewiesen wurde nur das Arginin, die Reindarstellung von Histidin gelang nicht wegen der offenbar in starkem Maße vorhandenen Beimengungen, Lysin konnte nicht isoliert werden, und kann jedenfalls nur in sehr kleiner Menge vorhanden gewesen sein. Dieser Befund ist deshalb von Interesse, weil wir früher aus 6tägigen Keimpflanzen von *Pisum sativum* sowohl Arginin wie Histidin und Lysin leicht zu isolieren vermochten. Was die damals erhaltene Ausbeute betrifft, so lieferten 600 g lufttrockene Pflänzchen ungefähr 1,0 g Argininnitrat, 0,20 g Histidinchlorid und 0,50 g Lysinchlorid. Hätten die jetzt von uns untersuchten 12tägigen Pflänzchen Arginin in dem gleichen Maße enthalten, so hätten die für die Untersuchung verwendeten 3 kg dieses Materials nicht weniger als 5,0 g Argininnitrat liefern können, wir vermochten aber nur einige Dezigramme dieses Nitrats zu gewinnen. Diese Wahrnehmungen sind bemerkenswert, weil

sie einen neuen Beweis dafür liefern, daß in den Keimpflanzen die beim Eiweißzerfall entstehenden primären Produkte dem Verbrauch unterliegen. Man hat anzunehmen, daß die Bildung dieser Produkte während der ersten Keimungsperiode stärker ist als ihr Verbrauch und daß sie infolge davon in gewissem Grade sich in den Pflänzchen anzuhäufen vermögen, während später wegen der Zunahme des Verbrauchs und des Schwächerwerdens des Eiweißzerfalls der Gehalt der Pflänzchen an diesen Stoffen geringer wird.

Von den aus den Pflänzchen dargestellten Basen war das Cholin diejenige, welche in größter Quantität gefunden wurde. Das Trigonellin fand sich in weit kleinerer Menge vor als das Cholin. Beide Basen wurden, wie oben erwähnt worden ist, schon in den ungekeimten Samen von *Pisum sativum* gefunden. Man darf es für sehr wahrscheinlich erklären, daß in den Pflänzchen Cholin als Produkt des Zerfalls vom Licithin sich bildete und daß demnach seine Quantität während des Keimungsvorganges zunahm.

Das Vorhandensein von Guanidin, Ornithin, Phenyläthylamin, Tetramethyldiamin und Pentamethyldiamin konnte nicht nachgewiesen werden. Was die beiden zuletztgenannten Basen betrifft, so hätten dieselben, falls sie in den Pflänzchen enthalten waren, im Filtrat von den bei Untersuchung der «Lysinfraktion» erhaltenen Pikraten oder vielleicht auch im Gemenge mit salzsaurem Trigonellin als Chloride sich vorfinden müssen. Jenes Filtrat enthielt aber, wie wir fanden, nur Spuren von organischen Basen, wäre dem Trigonellin eine jener beiden Basen als Chlorid beigemischt gewesen, so würde das aus dem Chlorid dargestellte Chloroplatinat bei der Platinbestimmung nicht Zahlen gegeben haben, die auf die Formel des Trigonellinplatinchlorids stimmten, denn die Chloroplatinate der genannten beiden Basen sind weit reicher an Platin, als das Chloroplatinat des Trigonellins.

D. Etiolierte Keimpflanzen von *Cucurbita Pepo*.

Zu den früher schon von uns eingehend untersuchten Objekten gehören die Keimpflanzen von *Cucurbita Pepo*.¹⁾ Wir

¹⁾ Journal für prakt. Chemie, N. F., Bd. XX, S. 385, und Bd. XXXII, S. 433; ferner Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 59 und 365.

finden in denselben Glutamin, Asparagin, Leucin, Tyrosin, Arginin, Alloxurbasen, Cholin und Vernin. Das Vorhandensein von Phenylalanin wurde nicht bestimmt nachgewiesen, konnte aber für wahrscheinlich erklärt werden.

Die später von uns ausgeführten Versuche hatten den Zweck, unsere Kenntnisse über die in den genannten Keimpflanzen vorhandenen organischen Basen zu erweitern. Schon vor mehreren Jahren untersuchten wir Pflänzchen, deren Vegetationsdauer einige Wochen betragen hatte, auf Guanidin. Die Pflänzchen wurden nach dem Trocknen fein zerrieben und sodann mit heißem Weingeist extrahiert, die Extrakte nach demjenigen Verfahren behandelt, welches sich bei der Isolierung von Guanidin auf Keimpflanzen von *Vicia sativa* als geeignet erwiesen hatte.¹⁾ Das Resultat war aber negativ.

Später haben wir mehrere Kulturen solcher Keimpflanzen noch in anderer Weise auf Guanidin untersucht. Die Pflänzchen einer Kultur wurden nach der Ernte in Alkohol geworfen, nach längerem Verweilen unter letzterem in gelinder Wärme getrocknet und nun unter Hinzunahme des beim Abdestillieren des weingeistigen Auszuges verbliebenen Rückstandes verarbeitet. Die Pflänzchen einer anderen Kultur wurden in frischem Zustande zerkleinert und mit Wasser von ca. 90° C. übergossen; nach Verlauf einiger Stunden wurde die Flüssigkeit vom Ungelösten getrennt. Diese Flüssigkeit wurde ebenso wie der bei Verarbeitung der ersteren Kultur erhaltene Auszug von den durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit, hierauf im Wasserbade eingengt, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den in dieser Weise erhaltenen Niederschlag verarbeiteten wir nach dem früher beschriebenen Verfahren und prüften nun, ob in der Argininfraktion Guanidin als Beimengung sich finde. Die bei Zerlegung der Argininfraktion erhaltene Argininlösung wurde mit Salpetersäure neutralisiert und sodann zur Sirupkonsistenz eingengt. Der Sirup verwandelte sich bald in eine Kristallmasse, die das Aussehen von Argininnitrat besaß. Dieses Produkt wurde nun in Argininkupferniträt übergeführt. Die nach dem Auskrystallisieren dieser

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVII, S. 215.

Verbindung in geringer Menge verbliebene Mutterlauge wurde mittels Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und sodann mit einer gesättigten wässerigen Lösung von Natriumpikrat versetzt. Dabei entstand kein Niederschlag. Die Argininfraktion schloß also kein Guanidin ein.

Da bei Ausführung der im vorigen beschriebenen Versuche sich gezeigt hatte, daß man aus den Keimpflanzen von Cucurbita Pepo das Arginin bei Anwendung des Kossel-Kutscher'schen Isolierungsverfahrens leicht in reinem Zustand gewinnen kann, so wurde noch ein Versuch in solcher Weise ausgeführt, daß die Ausbeute an Arginin bestimmt werden konnte. Für diesen Versuch verwendeten wir Pflänzchen, deren Alter ungefähr drei Wochen betrug. Aus 250,5 g Trockensubstanz erhielten wir 0,994 g = 0,40% Arginin, berechnet aus dem Gewicht des bei Verarbeitung des Argininsilberniederschlags gewonnenen Argininnitrats. Letzteres konnte als fast ganz rein angesehen werden. Das daraus dargestellte Argininkupferniträt krystallisierte in der charakteristischen Form; die Krystalle besaßen, ohne noch einmal umkrystallisiert worden zu sein, den richtigen Schmelzpunkt (112°).

Um aus der Histidinfraktion des durch Silbernitrat und Barytwasser erhaltenen Niederschlags reines Histidin zu gewinnen, behandelten wir diese Fraktion mit Salzsäure, fällten aus der vom Chlorsilber abfiltrierten Flüssigkeit die Basen wieder durch Phosphorwolframsäure aus, zersetzten die Fällung durch Baryumhydroxid und fügten der dabei erhaltenen Basenlösung zur Ausfällung des Histidins Quecksilberchlorid zu. Die bei Zerlegung des Quecksilberchloridniederschlags mittels Schwefelwasserstoff erhaltene Lösung lieferte beim Eindunsten einen Sirup, aus welchem nur eine kleine Menge von Krystallen sich abschied. Demnach lag kein reines Histidinchlorid vor. Der Sirup wurde in Wasser gelöst, die Lösung mittel: Silbernitrat von der Salzsäure befreit, das Filtrat mit noch etwas Silbernitrat und Ammoniak versetzt. Dabei entstand ein starker weißer Niederschlag. Es war hier also eine Substanz vorhanden, die sich gegen Fällungsmittel wie Histidin verhielt; wahrscheinlich aber war sie durch andere Stoffe stark verunreinigt.

Die im Filtrat vom Argininsilberniederschlage noch vorhandenen Basen wurden, nach der Wiederausfällung durch Phosphorwolframsäure, in salzsaure Salze übergeführt. Letztere wurden nach dem Eindunsten ihrer wässerigen Lösung im Exsikkator vollständig ausgetrocknet und nun zuerst mit kaltem, dann mit heißem absolutem Alkohol behandelt. In der dabei erhaltenen Lösung fand sich salzsaures Cholin vor, wie aus den weiter unten gemachten Angaben hervorgeht. Den in Alkohol unlöslichen Teil der Chloride behandelten wir mit Methylalkohol unter Zusatz einiger Tropfen konzentrierter Salzsäure. Der beim Verdunsten der methylalkoholischen Lösung erhaltene, an Quantität nicht bedeutende Rückstand konnte Lysin einschließen. Doch bestand er ohne Zweifel nicht aus reinem Lysinchlorid. Eine Trennung der in diesem Rückstand enthaltenen Basen konnte bisher von uns noch nicht ausgeführt werden, schon deshalb nicht, weil dieser Rückstand nur in kleiner Quantität vorlag.

Die bei Behandlung der Chloride mit absolutem Alkohol erhaltene Lösung (vgl. die obige Angabe) wurde eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in wenig Wasser gelöst, die Lösung mit einer ziemlich konzentrierten heißen Quecksilberchlorid-Lösung versetzt. Dabei entstand ein langsam sich ausscheidender krystallinischer Niederschlag. Die davon abfiltrierte Flüssigkeit wurde unter Zusatz von noch etwas Quecksilberchlorid im Wasserbade auf ein kleines Volumen eingeengt, die dabei noch erhaltenen Krystalle nach dem Erkalten mit dem zuerst erhaltenen krystallinischen Niederschlage vereinigt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und sodann zwischen Fließpapier stark abgepreßt. Dieses Produkt wurde nun zerrieben, im Wasser verteilt und mittels Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrierte Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten einen krystallinischen Rückstand, der sich, nachdem er im Vacuumexsikkator bis zur Konstanz des Gewichts ausgetrocknet worden war, in kaltem absolutem Alkohol vollständig auflöste. Die Lösung gab auf Zusatz von alkoholischer Platinchloridlösung einen starken gelben Niederschlag, den wir abfiltrierten, mit etwas absolutem Alkohol auswuschen, zwischen

Fließpapier abpreßten und sodann in Wasser lösten. Diese Lösung lieferte beim langsamen Verdunsten ein in kleinen, orangeroten Tafeln krystallisierendes, im Aussehen dem Cholinplatinchlorid gleichendes Chloroplatinat. Eine Platinbestimmung in dem einmal aus Wasser umkrystallisierten und sodann bei 100° getrockneten Doppelsalz gab folgendes Resultat:

0,1510 g Substanz gaben 0,0480 g Pt = 31,78% Pt.

Die Theorie verlangt 31,6% Pt.

Der Rest des Chloroplatinats wurde mittels Schwefelwasserstoff zerlegt, das dabei erhaltene salzsaure Salz sodann in das Chloraurat übergeführt. Letzteres glich im Aussehen dem Cholingoldchlorid und stimmte im Goldgehalt mit letzterem überein, wie aus folgenden Angaben hervorgeht:

0,1810 g des bei 100° getrockneten Doppelsalzes gaben 0,0800 g Au
= 44,20% Au.

Die Theorie verlangt 44,5% Au.

Das durch Zerlegung dieses Chloraurats mittels Schwefelwasserstoff erhaltene salzsaure Salz krystallisierte in langen farblosen, zerfließlichen Nadeln; es gab die Reaktionen des Cholinchlorids.

Schließlich haben wir auch noch aus der von den Chloroplatinatkrystallen abgossenen Mutterlauge das salzsaure Salz wieder hergestellt und dasselbe sodann in das Chloraurat verwandelt. Auch dieses Präparat besaß einen der Theorie entsprechenden Goldgehalt, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

0,1750 g des bei 100° getrockneten Doppelsalzes gaben 0,0775 g Au
= 44,29% Au.

Diese Versuchsergebnisse führen zu der Schlußfolgerung, daß der in absolutem Alkohol lösliche Teil der salzsauren Salze nur aus Cholinchlorid bestand. Bei dieser Sachlage war es von Interesse, die Ausbeute an Cholin zu bestimmen. Aus 868 Stück Keimpflanzen, welche 250,5 g Trockensubstanz einschlossen, erhielten wir 0,375 g Cholinchlorid. Letzteres wurde gewogen, nachdem es im Vacuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz ausgetrocknet worden war.

Um nun entscheiden zu können, ob das Cholin während der Entwicklung der Pflänzchen an Menge zugenommen hatte, mußte noch die Cholinausbeute aus den ungekeimten Kürbissamen bestimmt werden. Für den bezüglichen Versuch verwendeten wir 701 Stück entschälte Samen im Gewicht von 300 g. Dieselben wurden zerstoßen und sodann durch Behandlung mit Petroläther vom größten Teil des fetten Öls befreit,¹⁾ hierauf mit Wasser extrahiert. Das Extrakt wurde von den durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit, sodann im Wasserbade eingeeengt, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den durch dieses Reagens erhaltenen Niederschlag verarbeiteten wir genau in der gleichen Weise, wie denjenigen, welcher im Keimpflanzenextrakt durch Phosphorwolframsäure hervorgebracht worden war. Dabei erhielten wir nur 0,115 g Cholinchlorid. Letzteres bestand aus langen zerfließlichen Nadeln und war offenbar fast völlig rein. Das daraus dargestellte Chloroplatinat krystallisierte in orangeroten Tafeln. Eine in diesem Präparat ausgeführte Platinbestimmung gab folgendes Resultat:

0,1280 g des bei 100° getrockneten Doppelsalzes gaben 0,0405 g Pt
= 31,68% Pt.

Die Theorie verlangt 31,6% Pt.

Berechnet man unter Zugrundelegung der im vorigen mitgeteilten Zahlen die Cholinausbeute pro tausend Stück ungekeimte Samen und tausend Stück Keimpflanzen, so ergibt sich folgendes:

1000 Stück Keimpflanzen (ohne Schale)	lieferten	0,432 g Cholinchlorid	
1000 » Samen	(» ») »	0,144 »	»
		Differenz	»
		0,288 g	»

Aus 1000 Keimpflanzen erhielten wir also ungefähr dreimal so viel Cholinchlorid als aus 1000 Samen. Daraus ist zu schließen, daß während der Entwicklung der Pflänzchen eine, wahrscheinlich mit dem Abbau des Lecithins in Zusammenhang stehende Zunahme der Cholinmenge erfolgt. Da wir nur die Ausbeute an Cholin ermittelt, nicht aber eine genaue Bestimmung des

¹⁾ In den fetthaltigen Auszug war kein Cholin eingegangen; denn dieser Auszug gab beim Schütteln mit Wasser an letzteres keine durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanz ab.

Cholingehalts der Samen und der Pflänzchen ausgeführt haben, so würden wir jene Schlußfolgerung nicht ziehen, falls nur eine geringe Differenz zwischen den aus Keimpflanzen und aus Samen erhaltenen Cholinquantitäten hervorgetreten wäre. Die Differenz ist aber so bedeutend, daß sie nicht auf Unvollkommenheiten des Verfahrens zurückgeführt werden kann; dies ist um so weniger möglich, als wir bei der Darstellung des Cholins aus Samen und aus Keimpflanzen möglichst gleichmäßig verfahren. Auch steht ja die obige Schlußfolgerung in Übereinstimmung mit dem an *Soja hispida* erhaltenen Resultat, sowie mit der Tatsache, daß in allen anderen von uns darauf untersuchten etiolierten Keimpflanzen eine relativ beträchtliche Cholinmenge vorgefunden wurde.

Aus den Keimpflanzen von *Cucurbita Pepo* konnten wir somit bis jetzt keine anderen Basen isolieren als Cholin, Hexon- und Alloxurbasen. Die Prüfung auf Guanidin gab ganz negative Resultate, wie aus den im vorigen gemachten Angaben zu ersehen ist. Auch muß es für höchst unwahrscheinlich erklärt werden, daß Tetra- und Pentamethyldiamin vorhanden waren. Hätten diese Basen sich vorgefunden, so würden sie doch wohl zum Teil in die bei Behandlung der Chloride mit heißem Alkohol entstandene Lösung eingegangen sein. In diesem Falle aber würden die bei Verarbeitung dieser Lösung erhaltenen Quecksilberdoppelsalze bei der Zerlegung nicht ein in kaltem absoluten Alkohol vollständig lösliches Chlorhydrat gegeben haben; auch würden wir bei Bestimmung des Platin- und Goldgehalts der aus diesem Chlorhydrat dargestellten Platin- und Golddoppelsalze des Cholins nicht Zahlen erhalten haben, die mit den aus den Formeln dieser Salze berechneten Werten gut übereinstimmten.

Bemerkungen zu den im Abschnitt I mitgeteilten Versuchsergebnissen.

Wie aus den in Abschnitt I gemachten Mitteilungen zu ersehen ist, haben wir in den von uns untersuchten vier Keimpflanzenarten weder Guanidin und Ornithin, noch Tetramethyldiamin, Pentamethyldiamin und Phenyläthylamin nachweisen können. Dieses negative Resultat bildet nicht einen sicheren Beweis für das

vollständige Fehlen jener Basen in den Untersuchungsobjekten; denn es ist denkbar, daß dieselben nur in Quantitäten sich vorfanden, die zum Nachweis nicht hinreichten. Doch würde höchstwahrscheinlich das Vorhandensein selbst recht kleiner Mengen jener Stoffe sich dadurch zu erkennen gegeben haben, daß die Reindarstellung anderer Basen erschwert worden wäre. So hätten wir z. B. ohne Zweifel reine Cholin- und Trigonellinsalze nicht so leicht darstellen können, wenn daneben Tetramethyldiamin, Pentamethyldiamin oder Phenyläthylamin sich vorgefunden hätte. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß die letzteren Basen ganz fehlten. Das Gleiche gilt auch für das Guanidin, dessen Nachweis in der Argininfraktion des Silberniederschlages doch wohl gelungen wäre, wenn es darin auch in kleiner Quantität sich vorgefunden hätte. Weniger sicher ist es, daß das Ornithin ganz fehlte, da eine kleine Quantität dieser Base neben Lysin wohl nicht ganz leicht nachzuweisen ist.

Bei Ausführung unserer Untersuchungen sind wir zu der Überzeugung gelangt, daß die aus Keimpflanzen oder anderen pflanzlichen Objekten, z. B. aus Kartoffelknollen, ¹⁾ zur Abscheidung gebrachten Basengemenge weniger kompliziert zusammengesetzt sind, als diejenigen, bei deren Bildung Bakterien mitgewirkt hatten. Zu den letzteren gehört z. B. das von E. Winterstein und seinen Mitarbeitern ²⁾ in unserem Laboratorium untersuchte Basengemenge aus gereiftem Emmenthaler Käse, in welchem auch Tetra- und Pentamethyldiamin nachgewiesen werden konnten. Die Trennung und Reindarstellung der Basen verursachte hier viel größere Schwierigkeiten als bei den von uns untersuchten pflanzlichen Objekten. Auch das bei der Selbstverdauung der Hefe entstehende Stoffgemenge schließt nach der Untersuchung von M. Schenck ³⁾ eine größere Anzahl von basischen Produkten ein, als wir sie in den von uns untersuchten Keimpflanzen zu finden vermochten.

¹⁾ Landwirtschaftl. Versuchsstationen, Bd. LIX, S. 331.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 28, Bd. XLI, S. 485 und Bd. XLVII, S. 28.

³⁾ Wochenschrift für Brauerei, 1905, Nr. 16.

II. Finden sich in den Keimpflanzen Polypeptide vor?

Bekanntlich entstehen bei der Spaltung der Eiweißstoffe durch Pankreasferment neben Monoaminosäuren und Hexonbasen auch Polypeptide, Komplexe, die durch das genannte Ferment nicht oder nur sehr langsam weiter gespalten werden, aber beim Erhitzen mit Säuren in einfachere Verbindungen zerfallen. Seitdem dies nachgewiesen worden ist, ist das Vorkommen solcher Polypeptide in Keimpflanzen, in denen Eiweißstoffe durch proteolytische Enzyme gespalten werden, für nicht unwahrscheinlich zu erklären. Auch scheinen einige von uns gemachte Beobachtungen Stützen für diese Vermutung zu liefern. So konnten z. B. E. Winterstein und ich¹⁾ unter den in Leguminosenkeimpflanzen sich findenden Produkten des Eiweißabbaues einige Stickstoffverbindungen nicht nachweisen, die bei der Spaltung pflanzlicher Eiweißsubstanzen durch Säuren zum Vorschein kommen: als solche nenne ich Glykokoll, Alanin und Glutaminsäure. Für diese Erscheinung würde man eine Erklärung haben, wenn man annimmt, daß diese Stoffe als Bestandteile von Polypeptiden in den Keimpflanzen sich vorfinden; in der gleichen Weise würde man auch das äußerst spärliche Vorkommen von α -Pyrrolidinkarbonsäure in den Pflänzchen erklären können. Noch auf eine andere Tatsache ist hier aufmerksam zu machen. Wenn man die in den Keimpflanzen auf Eiweißstoffe, Asparagin, Ammoniak, organische Basen und Monoaminosäuren fallenden Stickstoffmengen addiert und die Summe mit dem Gesamtstickstoff vergleicht, so bleibt ein ansehnliches Defizit, dessen Größe sich allerdings nicht genau angeben läßt, weil die zur quantitativen Bestimmung der verschiedenen Stickstoffverbindungen verwendbaren Methoden unvollkommen sind und weil man insbesondere die Quantität der in den Pflänzchen enthaltenen Monoaminosäuren nicht analytisch bestimmen, sondern nur abschätzen kann. Dieses Defizit betrug z. B. in 18—19tägigen Keimpflanzen von *Lupinus albus* nach den von N. Castoro und mir²⁾ gemachten Beobachtungen ungefähr 14% des Gesamt-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 38.

²⁾ Ibidem, Bd. XXXVIII, S. 232.

stickstoffs. Schon vor längerer Zeit habe ich die Vermutung ausgesprochen, daß diese Stickstoffmenge in der Hauptsache Verbindungen angehöre, die zwischen den ersten Hydrolyseprodukten der Eiweißstoffe und den krystallinischen Endprodukten der Spaltung in der Mitte stehen; diese Vermutung läßt sich bestimmter aussprechen, nachdem unter den Produkten der tryptischen Verdauung der Eiweißsubstanzen die Polypeptide aufgefunden worden sind.

Es schien angezeigt, die Versuche, welche zu diesem Ergebnis geführt hatten, zu wiederholen und noch durch Ausführung einiger anderer Bestimmungen zu ergänzen. Als Objekte verwendeten wir dazu 16—17 tägige Keimpflanzen von *Lupinus albus* und 12 tägige Keimpflanzen von *Pisum sativum*, gewachsen unter Lichtabschluß. In diesen Objekten bestimmten wir: 1. den Gesamtstickstoff, 2. die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge (nach Stutzer's Methode), 3. das Asparagin (nach Sachsse's Methode), 4. und 5. die Stickstoffmengen, die aus den eiweißfreien Extrakten in die durch Phosphorwolframsäure und durch Bleiessig hervorgebrachten Niederschläge eingingen, 6. den Stickstoffgehalt der mit kochendem 92% igen Weingeist hergestellten Extrakte. Die dabei erhaltenen Mittelzahlen, berechnet in Prozenten der Pflanzentrockensubstanz, teile ich in der folgenden Tabelle mit.

	16—17 tägige Keimpflanzen von <i>Lupinus albus</i>	12 tägige Keimpflanzen von <i>Pisum sativum</i>
Gesamtstickstoff	8,79%	4,88%
Stickstoff in Proteinstoffen	2,44%	2,68%
» im Asparagin	4,50%	1,30%
» » Phosphorwolframsäure- niederschlag	0,45%	0,20%
» » Bleiessigniederschlag	0,15%	0,21%
» » alkoholischen Extrakt	0,80%	0,81%

Fassen wir zunächst die für *Lupinus albus* erhaltenen Zahlen ins Auge, so finden wir, daß auf Eiweißsubstanzen, Asparagin und durch Phosphorwolframsäure aus eiweißfreiem Extrakt fällbare Verbindungen im ganzen 7,39% Stickstoff fallen. Subtrahiert man diese Zahl vom Gesamtstickstoff, so bleiben 1,40% Stickstoff übrig. Davon ist noch die auf Monoamino-

säuren fallende Stickstoffmenge abzuziehen, die sich nicht genau bestimmen läßt. Nimmt man an, daß sie 0,40% beträgt — eine Zahl, die ohne Zweifel hoch gegriffen ist, so bleibt noch ein Defizit von ungefähr 1,0% Stickstoff (= 12% des Gesamtstickstoffs). Daß die letztere Zahl etwas niedriger liegt, als diejenige, welche von uns früher auf gleichem Wege für 18—20-tägige Keimpflanzen der gleichen Lupinusart gefunden wurde, ist leicht erklärlich. Die 18—19-tägigen Pflänzchen waren, wie aus den in der zitierten Abhandlung gemachten Angaben zu ersehen ist, reicher an nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen und enthielten auch mehr Gesamtstickstoff (wahrscheinlich war das damals zur Darstellung der Keimpflanzen verwendete Samenmuster etwas stickstoffreicher, als das jetzt von uns benutzte).

In den 12-tägigen Keimpflanzen von *Pisum sativum* fielen auf Eiweißsubstanzen, auf Asparagin und auf die aus eiweißfreiem Extrakt durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen insgesamt 4,18% Stickstoff. Zieht man diese Zahl vom Gesamtstickstoff ab, so bleibt ein Rest von 0,70%. Nimmt man an, daß auf Monoaminosäuren in diesen Pflänzchen 0,20% Stickstoff fielen — eine Zahl, die schwerlich zu niedrig ist —, so bleibt ein Defizit von 0,50% Stickstoff = ca. 10% des Gesamtstickstoffs.

Auch in den jetzt von uns untersuchten Pflänzchen wird also die für den Gesamtstickstoff gefundene Zahl nicht vollständig von den Stickstoffmengen gedeckt, die den von uns nachgewiesenen einzelnen Verbindungen angehören; es bleibt bei beiden Objekten ein Defizit. Dieses Defizit ist, wenn man die absoluten Zahlen vergleicht, bei *Pisum sativum* bedeutend geringer als bei *Lupinus albus*, was aus dem weit höheren Gehalt des letzteren Objektes an Eiweißzerfallsprodukten sich leicht erklärt. Gibt man aber das Defizit in Prozenten der im ganzen auf nicht eiweißartige Verbindungen fallenden Stickstoffmenge an, so erhält man folgende Zahlen:

Keimpflanzen von <i>Lupinus albus</i>	15,7%
» » <i>Pisum sativum</i>	22,7%

Aus den im vorigen gemachten Angaben geht hervor, daß die Keimpflanzen außer den von uns nachgewiesenen Stickstoff-

verbindungen noch andere enthalten, die bisher nicht isoliert werden konnten. Man darf annehmen, daß die letzteren leicht in Wasser löslich sind, denn es gelang nicht, sie aus den zur Sirupkonsistenz eingedunsteten wässerigen Extrakten durch Krystallisation zu gewinnen. In kochendem 92%igen Weingeist sind sie vielleicht zum Teil, jedenfalls aber nicht vollständig löslich. Andernfalls müßte im weingeistigen Extrakte, in welchen auch Monaminosäuren, ein Teil der organischen Basen und ein kleiner Teil des Asparagins eingehen, eine jenes «Defizit» bedeutend übersteigende Stickstoffmenge sich vorfinden. Bei *Lupinus albus* betrug diese Stickstoffmenge aber nur 0,81%, während das «Defizit» ungefähr 1% ausmachte. Etwas anders liegt die Sache bei *Pisum sativum*; das Defizit betrug hier 0,50%, die im weingeistigen Extrakt vorgefundene Stickstoffmenge dagegen 0,80%: es scheint also, daß hier ein größerer Teil jener nicht näher bekannten Stickstoffverbindungen durch den Weingeist gelöst worden ist.

Der Niederschlag, welcher in den vom Eiweiß befreiten Extrakten durch Bleiessig hervorgebracht wurde, enthielt bei *Lupinus albus* 0,15%, bei *Pisum sativum* 0,21% Stickstoff. Da weder Monoaminosäuren noch organische Basen durch Bleiessig gefällt werden, so ist anzunehmen, daß jene bis jetzt nicht näher gekannten Stickstoffverbindungen zum Teil in den Bleiessigniederschlag eingehen. Mit der von mir ausgesprochenen Vermutung, daß diese Stickstoffverbindungen in der Hauptsache Polypeptide sind, würde außer ihrem Verhalten gegen Lösungsmittel auch ihre partielle Fällbarkeit durch Bleiessig in Einklang stehen: denn es wird angegeben, daß manche Polypeptide durch das genannte Reagens gefällt werden. Als Stütze für jene Vermutung läßt sich ferner folgendes anführen: es steht außer Zweifel, daß die in den Keimpflanzen sich vorfindenden Stickstoffverbindungen, abgesehen von einigen schon in den Samen enthaltenen Stoffen, wie Cholin, Betain, Trigonellin, Lupanin usw. in der Hauptsache Produkte des Eiweißabbaues sind. Man wird somit anzunehmen haben, daß auch jene ihrer Natur nach noch nicht näher gekannte Stoffe solche Produkte sind. Ist dies aber der Fall, dann muß es für das wahrscheinlichste erklärt

werden, daß man es mit Polypeptiden zu tun hat, d. h. mit Stoffen, die zwischen den ersten Hydrolyseprodukten und den krystallinischen Endprodukten der Spaltung stehen. Gegen diese Annahme kann nicht eingewendet werden, daß die in Frage stehenden Keimpflanzenbestandteile im Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag vorgefunden wurden, während Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure eine Eigenschaft gewisser Polypeptide ist. Denn es verhält sich mit dieser Fällbarkeit offenbar ebenso wie mit derjenigen mancher Monoaminosäuren,¹⁾ die in konzentrierter, mit Schwefelsäure stark angesäuerter Lösung mit dem genannten Reagens Fällungen geben, aber nicht in die Niederschläge eingehen, welche in den Keimpflanzenextrakten durch Phosphorwolframsäure hervorgebracht werden (letzteres gilt auch für das Phenylalanin, dessen reine wässrige Lösung schon bei starker Verdünnung mit Phosphorwolframsäure eine Fällung gibt). Sodann aber ist noch darauf aufmerksam zu machen, daß die Gruppe der Polypeptide wahrscheinlich aus einer großen Anzahl von Gliedern besteht, und daß diese Glieder je nach den stickstoffhaltigen Gruppen, aus denen sie aufgebaut sind, vermutlich Abweichungen in ihrem Verhalten zeigen. Auch erwähne ich noch, daß nach N. Zuntz²⁾ schon im Beginn der peptischen Verdauung der Eiweißstoffe neben Albumosen und Peptonen nicht näher bekannte Substanzen entstehen, die nicht die Biuretreaktion geben und durch Phosphorwolframsäure nur teilweise gefällt werden. Da man nicht annehmen kann, daß dies Monoaminosäuren sind, so scheint es sich hier um Polypeptide zu handeln.

Im Hinblick auf die im vorigen gemachten Angaben darf man es wohl für wahrscheinlich erklären, daß in den Keimpflanzen Polypeptide vorkommen. Um den sicheren Beweis dafür beizubringen, müßte man zeigen, daß die Extraktbestandteile, deren Identität mit Polypeptiden vermutet wird, beim

¹⁾ Ich verweise auf die Angaben, die E. Fischer vor kurzem (Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, Bd. XXXIX, S. 576) über das Verhalten der Polypeptide und der Monoaminosäuren gegen Phosphorwolframsäure gemacht hat.

²⁾ Hofmeister's Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie, Bd. II, S. 472.

Kochen mit Säuren Monoaminosäuren oder Hexonbasen liefern. Doch ist es nicht leicht, auf diesem Wege zu einer Entscheidung der Frage zu kommen; denn man besitzt keine Mittel, um die Extrakte, ehe man sie mit Säure kocht, von Monoaminosäuren sowie von Asparagin vollständig zu befreien. Auch würde ein Peptongehalt der Extrakte das Resultat unsicher machen. Allerdings kommen Peptone, so viel man bis jetzt weiß, in den Keimpflanzen nur in minimalen Mengen vor.

Ich will schließlich noch darauf aufmerksam machen, daß die in der obigen Tabelle angeführten Zahlen nur eine unvollkommene Vorstellung von der Verteilung des Gesamtstickstoffs auf die verschiedenen Stoffe und Stoffgruppen geben. So fehlt z. B. eine quantitative Bestimmung der auf Monoaminosäuren fallenden Stickstoffmenge. Auch schließen die für den «Stickstoff im Phosphorwolframsäureniederschlag» angegebenen Zahlen nicht den Alloxurbasenstickstoff vollständig ein; denn ein Teil dieser Basen kann in dem bei der Extraktion mit Wasser verbliebenen Rückstande enthalten oder auch beim Erhitzen der Extrakte mit Kupferhydroxyd nach Stutzer's Verfahren gefällt worden sein.

III. Zur Kenntnis der Umstände, welche auf die Asparaginbildung in den Keimpflanzen Einfluß haben.

In einer im Jahre 1904 publizierten Abhandlung hat D. Prianischnikow¹⁾ mitgeteilt, daß der Zutritt von Leuchtgas zu Keimpflanzen auf letztere einen Reiz ausübte, der eine stärkere Asparaginbildung in den Pflänzchen zur Folge hatte. Für die bezüglichen Versuche dienten Erbsen- und Bohnenkeimpflanzen verschiedenen Alters, von denen je eine Kultur im Gewächshause, die andere in der durch Leuchtgas verunreinigten Laboratoriumsluft gewachsen war. Die Pflänzchen der letzteren Kulturen waren reicher an Asparagin und zeigten

¹⁾ Berichte der Deutsch. botan. Gesellschaft. 1904, S. 38 und 39. Über den Einfluß des Leuchtgases auf die Gestaltung der Stengelteile etiolierter Keimpflanzen hat auch Nelubow (Tageblatt des XI. Naturforscherkongresses in St. Petersburg 1902, S. 190; Zitat bei Prianischnikow) berichtet.

auch ein anderes Aussehen, als die im Gewächshaus gezogenen Pflänzchen; ihre Stengel hatten nicht vertikale Stellung, sondern waren krumm und im Längenwachstum zurückgeblieben (bei 15tägigen Bohnenkeimpflanzen zeigten sich in der Länge der Stengel Unterschiede, die bis zu 21 cm gingen).

Im Hinblick auf diese Wahrnehmungen könnte man fragen, ob etwa die sehr starke Asparaginbildung, welche von mir und meinen Mitarbeitern bei Keimpflanzen der Papilionaceen, insbesondere der Lupinusarten beobachtet wurde, zum Teil durch die Einwirkung leuchtgashaltiger Luft auf die Pflänzchen hervorgerufen worden sei. Ich teile daher mit, daß die von uns untersuchten Keimpflanzen, soweit sie nicht im Freien gewachsen sind, mit sehr wenigen Ausnahmen in einem durch einen breiten Vorplatz von den Laboratoriumsräumen getrennten Zimmer unseres Institutes gezogen worden sind. In diesem Zimmer, welches eine Höhe von 4,1 m besitzt, befinden sich nur an der Decke ein Gasleitungsrohr und eine zur Beleuchtung dienende, aber nur selten benutzte Gaslampe. Der Geruch nach Leuchtgas war in diesem Zimmer niemals zu bemerken. Daß die minimalen Leuchtgasmengen, welche möglicherweise aus der Gasleitung in die Luft des Zimmers übergegangen sein können, einen merklichen Einfluß auf die Entwicklung der Keimpflanzen ausgeübt haben, war von vornherein für unwahrscheinlich zu erklären; wäre es anders, so müßte man ja die Gasbeleuchtung aus pflanzenphysiologischen Laboratorien oder anderen Instituten, in denen man mit keimenden Samen, Pflanzen usw. Versuche zu machen hat, ganz verbannen. Doch war es angezeigt, dies durch einen Versuch zu prüfen. Wir führten diesen Versuch im Sommer 1905 aus. In flache Gefäße, die eine 4—5 cm hohe Schicht von reinem Sand enthielten, wurde Samen von *Lupinus albus* ausgesät. Die Keimlinge wurden teils in dem beschriebenen Zimmer, teils in einem im Garten unseres Instituts befindlichen Gewächshause (ohne Gasleitung) zur Entwicklung gebracht. Das Zimmer war verdunkelt, das Fenster während des Versuchs geschlossen. Die im Gewächshaus aufgestellten Gefäße mit Pflanzen wurden durch darüber gestülpte undurchsichtige Hüllen vor dem Lichtzutritt geschützt. Nach

12tägiger Dauer der Vegetation wurden die Pflänzchen zu gleicher Zeit geerntet. Die Untersuchung zeigte zunächst, daß die im Zimmer und im Gewächshause gezogenen Pflänzchen im Aussehen keine Verschiedenheiten aufwiesen; daß das Längenwachstum der beiden Kulturen das gleiche war, ließ sich aus den Resultaten ersehen, die bei der Messung des hypokotylen Gliedes an einer größeren Anzahl von Pflänzchen erhalten wurden. (Die Länge dieses Gliedes betrug bei den Pflänzchen der einen wie der andern Kultur im Durchschnitt ungefähr 17 cm.) In den bei 60° getrockneten und sodann fein zerriebenen Pflänzchen wurde nun der Asparagingehalt nach Sachsse's Methode bestimmt; dabei erhielten wir die folgenden, auf die Pflanzentrockensubstanz sich beziehenden Zahlen:

Pflänzchen aus dem Gewächshause	18,75%
» » » Zimmer	18,74%

Eine Verschiedenheit im Asparagingehalt der beiden Kulturen ließ sich also auf diesem Wege nicht nachweisen.

Wir haben auch noch das Asparagin gewogen, welches aus den Extrakten sich durch Krystallisation gewinnen ließ, um auf diesem Wege eine Kontrolle der nach Sachsse's Verfahren gefundenen Zahlen zu haben. Dieses Verfahren ist ja in Wirklichkeit nur ein Verfahren zur Bestimmung der Ammoniakmenge, die beim Kochen mit Salzsäure in den Extrakten sich bildet; wenn man daraus den Asparagingehalt der Untersuchungsobjekte berechnet, so geschieht dies unter der Voraussetzung, daß neben dem Asparagin andere, beim Kochen mit verdünnter Salzsäure unter Ammoniakbildung sich zersetzende Stickstoffverbindungen in den Extrakten nicht vorhanden waren — eine Voraussetzung, die wahrscheinlich in keinem Falle vollständig zutrifft. Da es nun denkbar ist, daß eine bei der Einwirkung leuchtgashaltiger Luft eintretende Änderung in der chemischen Zusammensetzung der Keimpflanzen weniger das Asparagin als andere, durch Salzsäure zersetzbare Stickstoffverbindungen betrifft, so schien es wünschenswert, auch noch die Ausbeute an Asparaginkrystallen zu bestimmen. Die Bestimmungen wurden in der in dieser Zeitschrift¹⁾ früher beschriebenen Art und Weise ausgeführt

¹⁾ Bd. XXIV, S. 113.

und gaben folgende, auf die Pflanzentrockensubstanz berechnete Resultate:

	Asparagin (wasserfrei)
Die Pflänzchen aus dem Gewächshause lieferten	15,55%
» » » » Zimmer »	14,75%

Die Ausbeute an Asparagin war also bei den aus dem Gewächshause stammenden Pflänzchen etwas größer; doch liegt die Differenz der Zahlen wohl innerhalb der Schwankungen, die bei solchen Bestimmungen hervortreten können.

Nach den im vorigen mitgeteilten Versuchsergebnissen waren die im Gewächshaus gezogenen Pflänzchen ebenso reich an Asparagin, als diejenigen, welche im Zimmer sich entwickelt hatten. Da auch das Aussehen der an den beiden verschiedenen Orten gezogenen Pflänzchen keine Verschiedenheiten aufwies, wie oben schon dargelegt worden ist, so hat man keinen Grund, anzunehmen, daß die Luft des für unsere Versuche benutzten Zimmers anders auf die Entwicklung und auf die chemische Zusammensetzung der Pflänzchen eingewirkt habe, als die vielleicht ein wenig reinere Luft des Gewächshauses.

Es sei hier noch daran erinnert, daß N. Castoro und ich¹⁾ auch in bezug auf den Arginingehalt bei zwei Kulturen 6tägiger Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, von denen die eine im Zimmer, die andere im Gewächshause gezogen worden war, eine wesentliche Verschiedenheit nicht konstatieren konnten. Wir erhielten bei der Untersuchung folgende Resultate:

Die Pflänzchen aus dem Gewächshause lieferten	2,18%	Arginin
» » » » Zimmer »	2,35%	»

Auf die kleine Differenz der Zahlen ist um so weniger Gewicht zu legen, als die im Gewächshause gezogenen Pflänzchen dieser Art unter Zutritt des Lichtes sich entwickelten. Freilich macht es bekanntlich während der ersten Keimungsperiode keinen großen Unterschied, ob man das Licht zutreten läßt oder nicht.

Es sei hier endlich noch darauf aufmerksam gemacht, daß ein sehr hoher Gehalt an Asparagin nicht nur bei etiolierten Keimpflanzen, sondern auch bei normalen, im Freien gewachsenen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 176.

Pflänzchen vorkommen kann. So fand z. B. N. Wassilieff¹⁾ in einer in meinem Laboratorium ausgeführten Untersuchung 14-tägiger, im Freien, in fruchtbarem Boden gewachsener Pflänzchen von *Lupinus albus* in den Cotyledonen 17,59%, in den Stengeln 21,12% Asparagin, obwohl diese Pflänzchen schon 5—6 Laubblättchen entwickelt und demgemäß ohne Zweifel im Assimilationsprozeß schon Kohlenhydrate in beträchtlicher Menge gebildet hatten. Starke Anhäufung von Asparagin kann also auch bei Pflänzchen eintreten, die sich unter ganz normalen Verhältnissen entwickeln.

Schließlich sei noch erwähnt, daß der Asparagingehalt der beiden 12-tägigen Keimpflanzenkulturen, auf welche die oben gemachten Angaben sich beziehen, ungefähr so hoch ist, wie man nach früher gemachten Beobachtungen erwarten konnte. Denn wir haben früher nach Sachsse's Methode in 16—17-tägigen etiolierten Keimpflanzen der gleichen *Lupinus*art ca. 21%, in 18—19-tägigen Pflänzchen gleicher Art ca. 25% Asparagin gefunden.

Analytische Belege zum Abschnitt III.

A. Im Gewächshause gezogene Pflänzchen.

a) Bestimmung des Ammoniakstickstoffs in einem mit Salzsäure gekochten Extrakt: Angewendet 4,615 g Trockensubstanz. Extrakt = 400 ccm; 100 ccm davon gaben 0,02410 g N.

b) Bestimmung des Ammoniakstickstoffs in einem nicht mit Salzsäure gekochten Extrakt: Angewendet 6,897 g Trockensubstanz. Extrakt = 90 ccm; 65 ccm davon gaben 0,00499 g N.

Aus der Differenz berechnet sich die oben für den Asparagingehalt der Pflanzentrockensubstanz angegebene Zahl.

c) Ermittlung der Ausbeute an Asparaginkrystallen: 7,00 g lufttrockene Substanz = 6,461 g Trockensubstanz gaben 1,142 g krystallisiertes Asparagin à 12% Krystallwasser.

B. Im Zimmer gezogene Pflänzchen:

a) Bestimmung des Ammoniakstickstoffs in einem mit Salzsäure gekochten Extrakt: Angewendet 4,645 g Trockensubstanz. Extrakt = 450 ccm; 100 ccm davon gaben 1. 0,02243 g N; 2. 0,02133 g N. (Im Mittel: 0,02188 g N.)

¹⁾ Landwirtschaftl. Versuchsstationen, Bd. LV, S. 45.

b) Bestimmung des Ammoniakstickstoffs in einem nicht mit Salzsäure gekochten Extrakt: Angewendet 3,817 g Trockensubstanz. Extrakt = 90 ccm; 75 ccm davon gaben 0,00416 g N.

c) Bestimmung der Ausbeute an Asparaginkristallen: 7,00 g lufttrockene Substanz = 6,503 g Trockensubstanz gaben 1,090 g kristallisiertes Asparagin à 12% Krystallwasser.

Für den Gehalt der Pflanzentrockensubstanz an wasserfreiem Asparagin berechnen sich aus diesen Zahlen die oben angegebenen Werte.

IV. Über die Argininbildung in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* (Nachtrag).

Wie früher von uns gezeigt wurde, erfährt in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* während der ersten Entwicklungsperiode der Arginingehalt eine sehr starke, später dagegen nur eine sehr langsame Zunahme. Zum Beweise entnehmen wir einer Tabelle, die in der von N. Castoro und mir publizierten Abhandlung¹⁾ zu finden ist, die nachfolgenden Zahlen:

Die schalenfreie Trockensubstanz lieferte:

6tägige Pflänzchen	2,35%	Arginin
11 »	3,23%	»
15—16 »	3,78%	»
19—20 »	3,84%	»

Aus den von uns ausgeführten Bestimmungen ließ sich ferner schließen, daß die Argininbildung in den Pflänzchen gleichen Schritt mit dem Eiweißzerfall hielt. Ganz anders war es mit der Asparaginbildung, welche noch in starkem Maße fort dauerte, als der Eiweißzerfall sehr schwach geworden und ein Eiweißverlust der Pflänzchen nicht mehr nachzuweisen war.

Daß die Argininbildung sich sehr stark verlangsamte, nachdem die Pflänzchen ein Alter von 15—16 Tagen erreicht haben, wurde aus den Resultaten geschlossen, die bei Untersuchung von je einer Kultur von 15—16tägigen, bzw. 19—20tägigen Pflänzchen erhalten wurden. Man kann es als einen Mangel betrachten, daß nur diese beiden Bestimmungen jener Schlußfolgerung zugrunde lagen. Wir haben daher später noch 15tägige und 24tägige Keimpflanzen von *Lupinus luteus* untersucht, die von früher her in unseren Händen waren.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 176.

In diesen Pflänzchen bestimmten wir die Argininmenge nach dem auch früher von uns angewendeten Verfahren und erhielten dabei folgende Resultate:

15tägige Pflänzchen.

17,72 g Pflanzentrockensubstanz lieferten 0,734 g Arginnitrat = 0,52114 g oder 2,94% Arginin.

24tägige Pflänzchen.

19,76 g Pflanzentrockensubstanz lieferten 0,860 g Arginnitrat = 0,6106 g oder 3,10% Arginin.

Die aus den 24tägigen Pflänzchen erhaltene Argininmenge war also nur um 0,16% höher, als diejenige, welche aus den 15tägigen Pflänzchen gewonnen worden war; die Differenz übersteigt wohl nicht die Fehlergrenze solcher Bestimmungen. Auch bei diesen Pflänzchen hatte also die Argininbildung sich, nachdem dieselben ein Alter von 15 Tagen erreicht hatten, sehr stark verlangsamt. Der Arginingehalt war hier aber in beiden Fällen geringer, wie bei den früher untersuchten Pflänzchen; worin die Ursache dafür liegt, vermag ich nicht anzugeben.

In Pflänzchen von gleichem Alter, die unter den gleichen Verhältnissen sich entwickelt hatten, ist früher der Asparagingehalt nach Sachsse's Methode bestimmt worden. Dabei ergaben sich folgende, auf die Pflanzentrockensubstanz sich beziehende Zahlen:¹⁾

15tägige Pflänzchen	24,5% Arginin
24 » » »	29,2% »

Der Asparagingehalt war also während der letzten Vegetationsperiode in den Pflänzchen bedeutend gestiegen,²⁾ trotzdem daß die letzteren während dieser Periode keinen Eiweißverlust erlitten hatten. Ihr Eiweißgehalt war sogar um einen,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, Seite 67. Diese Pflänzchen waren ebenso wie die früher untersuchten 20tägigen Pflänzchen in der letzten Vegetationsperiode ans Licht gebracht worden, um sie länger am Leben zu erhalten. Das Wachstum der ans Licht gebrachten Pflänzchen war aber ein geringes, weil sie durch den langen Aufenthalt im Dunkeln schon erschöpft waren.

²⁾ Dies wurde auch durch Wägung der aus den Extrakten durch Krystallisation gewonnenen Asparaginguantitäten nachgewiesen (man vergleiche die Angaben in der zitierten Abhandlung).

freilich nur sehr geringen, die Fehlergrenze der Bestimmungen kaum übersteigenden Betrag gestiegen, und zwar deshalb, weil die Pflänzchen in der letzten Periode dem Lichte ausgesetzt waren. Ob das gleiche auch für die Pflänzchen gilt, in denen wir jetzt die Argininmenge bestimmten, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, da wir wegen Mangels an Material bezügliche Bestimmungen nicht auszuführen vermochten, immerhin kann es für wahrscheinlich erklärt werden. Wenn trotzdem die Argininmenge noch eine, freilich nur äußerst geringe, Steigerung erfuhr, so ist dies leicht zu erklären, das Aufhören des Eiweißverlustes ist ja nicht gleichbedeutend mit Aufhören des Eiweißzerfalles; der letztere wird, so muß man annehmen, in gewissen Teilen der Pflänzchen fort dauern, solange letztere am Leben sind; dieser Eiweißverlust kann aber durch die in anderen Pflanzenteilen erfolgende Eiweißbildung aufgewogen werden. Falls nun das beim Eiweißzerfall entstandene Arginin nicht dem Verbräuche unterliegt, was ja für die Keimpflanzen von *Lupinus luteus* zu gelten scheint, so kann trotz Aufhören des Eiweißverlustes die Argininmenge noch eine Steigerung erfahren. Es ist aber hier noch einmal darauf hinzuweisen, daß die Differenz im Arginingehalt bei den jetzt untersuchten Pflänzchen die Fehlergrenze der Bestimmungen wohl nicht übersteigt; demnach kann nicht mit Sicherheit behauptet werden, daß in denselben während der letzten Vegetationsperiode die Argininmenge sich noch vermehrt hatte. Die jetzt erhaltenen Resultate stehen also in Übereinstimmung mit der Schlußfolgerung, die aus den früher ausgeführten Versuchen von mir abgeleitet worden ist.

Schlußbemerkungen.

Es war ein Hauptzweck der vorliegenden Untersuchung, die Keimpflanzen auf das Vorhandensein von Guanidin, Ornithin, Phenyläthylamin, Tetramethyldiamin und Pentamethyldiamin zu prüfen. Keine dieser Basen konnte in den von uns untersuchten Objekten aufgefunden werden; wir vermochten nur Arginin, Histidin, Lysin, Cholin, Trigonellin und Lupanin zu isolieren. Arginin konnte in allen Untersuchungsobjekten

nachgewiesen werden, in den meisten auch Histidin, während Lysin nur aus den Keimpflanzen von *Lupinus albus* isoliert wurde. Daß aber die zuletzt genannte Base auch in den übrigen Untersuchungsobjekten nicht völlig fehlte, darf wohl angenommen werden, da ihre Entstehung bei dem mit dem Keimungsvorgang verbundenen Eiweißabbau außer Zweifel steht. Daß der Gehalt der Pflänzchen an Arginin, Histidin und Lysin ein sehr niedriger war, entspricht der aus früher gemachten Beobachtungen von uns abgeleiteten Schlußfolgerung, daß die genannten Basen sich nicht anhäufen, weil sie im Stoffwechsel der Pflänzchen dem Verbräuche unterliegen — eine Schlußfolgerung, für welche die an *Pisum sativum* gemachten Beobachtungen einen neuen Beweis geliefert haben.

In allen unseren Untersuchungsobjekten konnte Cholin nachgewiesen werden, und zwar in relativ beträchtlicher Quantität. Daß diese schon in den ungekeimten Samen sich vorfindende Base während des Keimungsvorganges nicht verbraucht wird, sondern im Gegenteil an Menge zunimmt, ist aus den an *Soja hispida* und an *Cucurbita Pepo* gemachten Beobachtungen zu ersehen. Man wird kaum irren, wenn man annimmt, daß die Bildung von Cholin mit dem während des Keimungsvorganges erfolgenden Abbau der Lecithine zusammenhängt.

Auch das Lupanin und das Trigonellin, Bestandteile der Samen von *Lupinus albus* bzw. *Pisum sativum*, finden sich in etiolierten Keimpflanzen, deren Vegetationsdauer einige Wochen betragen hat, noch vor und gehören demnach nicht zu denjenigen Samenbestandteilen, die während des Keimungsvorganges aufgezehrt werden. Das Gleiche gilt für das Betain, welches nach einer früher von uns ausgeführten Untersuchung bei *Vicia sativa* sowohl in den Samen wie in den etiolierten Keimpflanzen sich findet. Ob die in den ungekeimten Samen enthaltenen Quantitäten dieser Basen während des Keimungsvorganges ganz unverändert bleiben oder ob sie eine geringe Abnahme erleiden, das ist eine Frage, die wir nur entscheiden könnten, wenn der Gehalt der Samen und der Keimpflanzen an diesen Basen quantitativ bestimmt worden wäre; solche Bestimmungen liegen aber bis jetzt nicht vor.

Aus dem negativen Resultat, das wir bei der Untersuchung der Pflänzchen auf Guanidin, Ornithin, Tetramethyldiamin, Pentamethyldiamin und Phenyläthylamin erhielten, läßt sich selbstverständlich nicht mit völliger Sicherheit der Schluß ziehen, daß diese Basen in jenen Objekten niemals auftreten; es wäre ja möglich, daß sie beim Abbau primärer Eiweißzersetzungsprodukte zwar entstehen, aber bald wieder umgewandelt werden und infolge davon in den Untersuchungsobjekten nicht in einer für ihren Nachweis genügenden Quantität enthalten sind. Zieht man aber in Betracht, daß wir diese Basen in keiner der von uns untersuchten vier Keimpflanzenarten fanden, obwohl wenigstens zwei von diesen Objekten in großer Quantität für die Untersuchung verwendet wurden, so muß es doch wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden, daß die genannten Basen im Stoffwechsel dieser Keimpflanzen gar nicht entstehen. Nicht unerwartet war uns die Abwesenheit von Tetramethyldiamin, Pentamethyldiamin und Phenyläthylamin, da man diese Basen unter den Produkten des Eiweißabbaues bisher nur gefunden hat, wenn eine Zersetzung durch Bakterien eingetreten war. Überraschender war es, daß wir Guanidin, dessen Vorkommen bei *Vicia sativa* früher schon von uns nachgewiesen worden ist, in keiner der jetzt untersuchten Keimpflanzenarten aufzufinden vermochten; man muß daraus schließen, daß diese Base nicht zu den normalen Stoffwechselprodukten der Keimpflanzen gehört und daß ihr Auftreten bei *Vicia sativa* auf besondere Umstände zurückzuführen ist.

Nach den bisher von uns gemachten Beobachtungen sind als Produkte des mit dem Keimungsvorgang verbundenen Eiweißabbaues folgende Stickstoffverbindungen zu nennen: Amino-valeriansäure, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, α -Pyrrolidincarbonsäure, Arginin, Lysin, Histidin, Asparagin, Glutamin und Ammoniak. Daß daneben auch Polypeptide sich vorfinden, ist zwar nicht sicher bewiesen, kann aber doch wohl für wahrscheinlich erklärt werden. Außer den genannten Stoffen treten auch Alloxurbasen, wahrscheinlich als Abbauprodukte des Nucleins, in den Keimpflanzen auf.