

## **Weiterer Beitrag zur Kenntnis von Derivaten von Monoaminosäuren.**

**Pikrolonate des Glykokolls, des d-Alanins und  
des dl-Leucins.**

Von  
**Emil Abderhalden und Arthur Weil.**

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 20. März 1912.)

Die von Steudel<sup>1)</sup> zum erstenmal zur Charakterisierung von Diaminosäuren verwandte Pikrolonsäure hat schon wiederholt gute Dienste bei der Identifizierung von Lysin, Arginin und Histidin geleistet. Beim letzteren ist allerdings zu beachten, daß das freie Histidin ein Monopikrolonat liefert, während, wie der eine von uns und Einbeck<sup>2)</sup> feststellten, sowohl das Histidinmonochlorhydrat und das Dichlorhydrat zum Dipikrolonat führen. Brigl<sup>3)</sup> hat unter Steudels Leitung diese Beobachtung bestätigt. Zur Isolierung der Monoaminosäuren stehen uns im allgemeinen keine so guten Methoden zur Verfügung, wie zur Gewinnung der genannten drei Verbindungen aus Gemischen von Aminosäuren. Die Monoaminosäuren haben zum großen Teil sehr ähnliche Eigenschaften. Vor allem beeinflussen sie sich gegenseitig stark in ihrer Löslichkeit, besonders, wenn dem Gemisch von Aminosäuren Unreinheiten beigemischt sind. Wohl kennen wir sehr charakteristische Derivate für einzelne Monoaminosäuren, doch versagen diese, sobald Gemische ver-

<sup>1)</sup> H. Steudel, Das Verhalten der Hexonbasen zur Pikrolonsäure. Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 219, 1902/03.

<sup>2)</sup> Emil Abderhalden und Hans Einbeck, Über den Abbau des Histidins im Organismus des Hundes, Diese Zeitschrift, Bd. 62, S. 331, 1909.

<sup>3)</sup> P. Brigl, Über das Verhalten des Histidins gegen Pikrolonsäure. Diese Zeitschrift, Bd. 64, S. 337, 1910.

schiedener Aminosäuren vorliegen. So ist es leicht, Glykokoll z. B. als  $\beta$ -Naphthalinsulfoderivat abzuscheiden, wenn diese Aminosäure allein vorliegt. Hat man es mit mehreren Monoaminosäuren zu tun, dann stößt die Krystallisation des bei der Einwirkung von  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorid gebildeten Produktes auf große Schwierigkeiten. In den meisten Fällen gelingt es nicht, irgend ein Derivat ganz rein zu erhalten. Aus diesen Gründen ist es erwünscht, möglichst viele Derivate von Monoaminosäuren zu kennen. Vielleicht glückt es doch, für bestimmte Monoaminosäuren Derivate zu erhalten, die schließlich zu quantitativen Methoden führen.

Wir haben das Verhalten einiger Monoaminosäuren gegenüber der Pikrolonsäure geprüft. Es ergab sich, daß die bis jetzt untersuchten Aminosäuren schwer lösliche Verbindungen liefern. Leider verhalten sich alle ähnlich, so daß wenig Aussicht besteht, die eine oder andere Aminosäure mit Hilfe ihres Pikrolonates aus einem Gemisch von Aminosäuren abzutrennen.

Bei der Gewinnung der Pikrolonate beobachteten wir, daß unter bestimmten Bedingungen zwei Moleküle der Aminosäure mit einem Molekül Pikrolonsäure reagieren. Ähnliche Beobachtungen haben wir auch schon bei der Gewinnung des Glykokollpikrates nach Levene<sup>1)</sup> gemacht. Gewöhnlich reagiert nur ein Molekül Glykokoll mit einem Molekül Pikrinsäure, doch erhält man unter noch nicht genau bekannten Bedingungen Produkte, die ein anderes Aussehen zeigen und andere Eigenschaften haben. Bei der Zerlegung eines derartigen Präparates wurden fast 2 Moleküle Glykokoll auf ein Molekül Pikrinsäure gefunden.

#### Glykokoll-Pikrolonat.

Wir gaben stets zu einer kochenden, möglichst konzentrierten wässerigen Lösung des Glykokolls eine konzentrierte Lösung von reiner, umkrystallisierter Pikrolonsäure in 96% igem Alkohol hinzu und kochten noch einige Minuten weiter. Wir nahmen im Anfang unserer Versuche stets die auf je 1 Molekül

<sup>1)</sup> P. A. Levene, Glycocoll Picrate. The Journal of Biol. Chemistry. Vol. 1. p. 413, 1906.

Glykokoll berechnete Menge Pikrolonsäure. Später jedoch berechneten wir auf 2 Moleküle Glykokoll 1 Molekül Pikrolonsäure, da sich gezeigt hatte, daß die Vereinigung beider in diesem Mengenverhältnis erfolgt. Um diese Beobachtung sicher zu stellen, identifizierten wir das erhaltene Pikrolonat zunächst durch die Elementaranalyse. Ferner trennten wir Glykokoll und Pikrolonsäure durch Ansäuern der wässerigen Lösung mit Schwefelsäure und Ausäthern der Pikrolonsäure und stellten die Mengen beider fest. Endlich suchten wir mit Hilfe der ebullioskopischen und kryoskopischen Methode das Molekulargewicht zu bestimmen.

2 g Glykokoll, in etwa 5 ccm Wasser gelöst, werden kochend mit 3,5 g Pikrolonsäure versetzt, die in etwa 15 ccm heißem Alkohol gelöst sind. Nach dem Erkalten scheiden sich nach einigen Stunden im Eisschrank filzige, zu seideglänzenden Büscheln vereinigte Krystalle ab, die abgesaugt und aus absolutem Alkohol umkrystallisiert werden. Zur Analyse wurden sie im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet.

0,1624 g Substanz geben 0,2419 g  $\text{CO}_2$  und 0,0621 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

0,1680 g geben 28,2 ccm N ( $18^\circ$  761 mm).

0,1946 g verbrauchten nach Kjeldahl 18,8 ccm  $\text{N}_{10}\text{-H}_2\text{SO}$ .

Berechnet für

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$  (339,15):  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5 \cdot 2 \cdot (\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)$  (414,2):

C 42,46%

C 40,55%

H 3,86%

H 4,38%

5 N 20,65% (Dumas)

6 N 20,29%

3 N 12,39% (Kjeldahl)

4 N 13,53%

Gefunden:

C 40,62%

H 4,28%

N 19,72% (Dumas)

N 13,52% (Kjeldahl)

1,05 g Glykokollpikrolonat, in etwa 200 ccm Wasser gelöst, werden mit Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Aus der wässerigen Lösung wird die Schwefelsäure quantitativ mit Baryt gefällt. Das Filtrat wird zur Trockene verdampft, ebenso die ätherische Lösung.

Berechnet für 1 Molekül Glykokoll + 1 Molekül Pikrolonsäure: 0,91 g Glykokoll + 3,14 g Pikrolonsäure.

Berechnet für 2 Molekül Glykokoll + 1 Molekül Pikrolonsäure: 1,46 g Glykokoll + 2,59 g Pikrolonsäure.

Gefunden: 1,3 g Glykokoll + 2,51 g Pikrolonsäure.

1,044 g Substanz in 50 cem Wasser gelöst und wie oben verarbeitet.

Berechnet für 1 Molekül + 1 Molekül: 0,813 g Pikrolonsäure  
 2                    + 1                    0,666 g

Gefunden: 0,698 g Pikrolonsäure.

Die Molekulargewichtsbestimmung führte zu folgenden Ergebnissen: Bei der kryoskopischen Bestimmung konnten wir als Lösungsmittel nur Wasser verwenden und fanden hier als Molekulargewichte 129 und 149. Es scheint also, daß Glykokollpikrolonat in Wasser stark dissoziiert ist. Bei der Bestimmung der Siedepunktserhöhung fanden wir in absolutem Alkohol, der über wasserfreiem Kupfersulfat getrocknet und destilliert war, folgende Werte (Konstante für Alkohol 11,5):

Lösung g	Substanz g	Konzentration	$\delta$	Gef. Molekulargewicht	
14.0	0.2486	1.77	0,061°	333	Berechnet für 1 Mol. Pikrolonsäure + 2 Mol. Glykokoll: 414,2.
13.05	0.2556	1.96	0,052°	433	
14.15	0.1136	0.80	0,022°	419	
14.15	0.3350	2.36	0,063°	430	
14.15	0.4486	3.17	0,085°	429	

F: Glykokollpikrolonat schmilzt gegen 205° (unkorr.) und zeigt gegen 208° (unkorr.) Aufschäumen mit Zersetzung. Es krystallisiert aus verdünntem Alkohol in orangefarbenen, seidenglänzenden, weichen Nadeln, die beim Trocknen hellgelb werden.

Es löst sich schwer in kaltem Wasser und kaltem Alkohol: leichter in den heißen Lösungsmitteln: es ist unlöslich in Äther, Aceton, Chloroform, Phenol.

#### d-Alaninpikrolonat.

Auch d-Alanin gibt mit Pikrolonsäure gut krystallisierende Verbindungen. Wir beobachteten hier zwei verschiedene Modifikationen. Einmal scheint eine Verbindung von 1 Molekül

Pikrolonsäure und 1 Molekül Alanin zu bestehen und ferner eine solche, die aus 2 Molekülen Alanin und 1 Molekül Pikrolonsäure besteht.

0,5 g Alanin, in etwa 10 ccm Wasser gelöst, werden mit 1,37 g Pikrolonsäure in 15 ccm verdünntem Alkohol versetzt. Die nach einiger Zeit ausfallenden Krystalle werden zweimal aus Alkohol umkrystallisiert.

0,1502 g Substanz geben 0,2387 g  $\text{CO}_2$  und 0,0609 g  $\text{H}_2\text{O}$   
 0,1187 g verbrauchten nach Kjeldahl 10,63 ccm  $\text{n}/_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$   
 Berechnet für  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5 \cdot \text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$  (353,18):

C = 44,17 %; H = 4,28 %; 3 N = 11,90 %.

Berechnet für  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5 \cdot 2 \times (\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2)$  (442,25):

C = 43,41 %; H = 5,01 %; 4 N = 12,67 %.

Gefunden: C = 43,34 %; H = 4,57 %; N = 12,54 %.

Es lag somit eine Verbindung vor, die aus 2 Molekülen d-Alanin und 1 Molekül Pikrolonsäure bestand. F. unscharf gegen  $145^\circ$  (unkorr.).

2 g d-Alanin in 20 ccm Wasser werden mit 2,3 g Pikrolonsäure in 10 ccm Alkohol versetzt. Die ausgeschiedenen Krystalle werden aus Alkohol umkrystallisiert.

1,6 g Substanz in 100 ccm Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert.

Berechnet für 1 Molekül Alanin + 1 Molekül Pikrolonsäure:  
 1,2 g Pikrolonsäure.

Berechnet für 2 Moleküle Alanin + 1 Molekül Pikrolonsäure:  
 0,96 g Pikrolonsäure.

Gefunden: 1,18 g Pikrolonsäure.

Es hatte sich ein aus 1 Molekül d-Alanin und 1 Molekül Pikrolonsäure bestehendes Produkt gebildet. Dieses Pikrolonat schmilzt gegen  $215^\circ$  und zersetzt sich unter Aufschäumen bei  $217^\circ$  (unkorr.). Es löst sich leicht in heißem Alkohol: schwer in Wasser und verdünntem Alkohol: es ist unlöslich in Äther, Aceton und Chloroform.

Spezifische Drehung des d-Alaninpikrolonats (1 Mol. d-Alanin + 1 Mol. Pikrolonsäure) in absolutem Alkohol.

0,2106 g Substanz in 6,2454 g Lösung,  $d = 0,8029$  drehen im  $\frac{1}{2}$  dm-Rohr bei filtriertem Gasglühlicht +  $0,15^\circ$  (+  $0,01^\circ$ ).

$[\alpha]_D^{20} = + 11,08^\circ$  (+  $0,74^\circ$ ).

## dl-Leucinpikrolonat.

2 g Leucin werden in etwa 100 ccm kochenden Wassers gelöst und zu der Lösung 2 g Pikrolonsäure, in 20 ccm heißen Alkohols gelöst, hinzugefügt. Die im Eisschrank ausgefallenen Krystalle werden abgesaugt und mit etwa 30 ccm absoluten Alkohols ausgekocht. Vom Ungelösten wird abfiltriert und das Filtrat auf dem Wasserbade etwas eingeengt. Nach dem Erkalten fallen bald grobe Krystalle aus, die zur Analyse im Exsikkator getrocknet werden.

0,1282 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 9,98 ccm  $n_{10}^{\circ}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Berechnet für C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> · C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> (395,2):	Gefunden:
5 N — 2 N = 3 N: 10,65 %.	10,90 %.

0,779 g in 50 ccm Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther extrahiert:

Berechnet für 1 Mol. Leucin + 1 Mol. Pikrolonsäure:  
0,521 g Pikrolonsäure.

Gefunden: 0,489 g.

Die wässrige Lösung enthält 0,0311 g N.

Ber. für 1 Mol. Leucin + 1 Mol. Pikrolonsäure: 0,0276 g N.

Leucinpikrolonat krystallisiert aus 96% igem Alkohol in länglichen, schmalen Prismen von grünlichgelber Farbe, die nach scharfem Trocknen in hellgelb übergeht.

Es löst sich leicht in warmem Alkohol, schwer in kaltem Wasser und ist unlöslich in Äther, Chloroform und Aceton:

F: Gegen 130° beginnende Erweichung, schmilzt gegen 150° unter Zersetzung und Gasbildung.