

und stellt eine farblose, ziemlich leichtbewegliche Flüssigkeit von schwachem Geruch dar.

0.1763 g Sbst.: 0.5842 g CO<sub>2</sub>, 0.1471 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>. Ber. C 90.67, H 9.33. Gef. C 90.35, H 9.33.

$d_4^{25} = 1.027$ ,  $n_D^{25} = 1.5636$ . Mol.-Refr. C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>  $\sqrt[3]{}$  54.24. Gef. Mol.-Refr. 54.48.

Für das genaue Studium der Dehydrierung des Hexahydro-benznaphthens und die Isolierung des reinen Benznaphthens (XVI) reichte die uns zur Verfügung stehende Menge noch nicht aus. Wir möchten daher, ohne jetzt schon auf die vorläufigen Versuche einzugehen, die Beschreibung auf einen späteren Zeitpunkt verschieben.

### 301. K. Poller: Über die Farbenreaktion von Sakaguchi.

[Aus d. Physiolog.-chem. Institut d. Universität Würzburg.]

(Eingegangen am 7. August 1926.)

Im Jahre 1924 teilte S. Sakaguchi<sup>1)</sup> eine neue Farbenreaktion für sämtliche Eiweißkörper mit, die dadurch noch wesentlich an Wert gewinnt, daß sie nur durch eine einzige Amino-säure des Protein-Moleküls bedingt ist, nämlich das Arginin (X), welches auch in freier Form in gleicher Weise reagiert.

Die Reaktion wird ausgeführt, indem man zu etwa 2 ccm einer 1-proz. Eiweiß- oder Arginin-Lösung, die mit 15-proz. NaOH stark alkalisch gemacht wurde, zuerst einige Tropfen einer 0.1-proz.  $\alpha$ -Naphthol-Lösung (in 70-proz. Alkohol) und dann einige Tropfen einer ca. 5-proz. Natriumhypochlorit-Lösung zügibt. Nach kurzer Zeit färbt sich die Flüssigkeit deutlich weinrot. Die Farbe wird nicht so intensiv bzw. kann wegen Braunfärbung nicht einwandfrei erkannt werden, wenn die NaOCl-Lösung durch den Einfluß des Lichtes oder zu langes Stehen zu schwach geworden ist, oder wenn die Naphthol-Lösung nicht aus reinem weißen  $\alpha$ -Naphthol hergestellt wurde. Die Natriumhypochlorit-Lösung fand ich beim Aufbewahren im Dunkeln ca. 4—5 Wochen brauchbar. Ein Überschuß von Naphthol oder NaOCl muß vermieden werden, da sonst im ersten Fall eine störende, bräunliche Färbung und im zweiten ein baldiges Verblässen der Rotfärbung eintritt.

Sakaguchi hat nun eine ganze Reihe von Eiweißkörpern mit seiner Probe untersucht, von denen das Edestin dank seinem hohen Arginin-Gehalt die Färbung ganz besonders intensiv ergab. Ich fand auch das Elastin als positiv. Von diesem Eiweißkörper hatten ursprünglich E. Bergh<sup>2)</sup> und S. G. Hedin<sup>3)</sup> das Fehlen des Arginins behauptet, bis A. Kossel und Fr. Kutscher<sup>4)</sup> auch im Elastin das Vorhandensein dieser Amino-säure auf präparativem Wege erwiesen. Diese Angabe wird durch den von mir beobachteten positiven Ausfall der Farbenreaktionen nach Sakaguchi bestätigt.

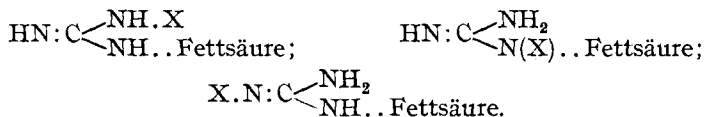
Sakaguchi dehnte seine Untersuchungen auch auf arginin-ähnliche Körper aus, fand seine Reaktion aber nur noch positiv bei  $\alpha$ -Guanidino-n-buttersäure (VII) und Glykocyamin (V), während sie negativ ausfiel bei Guanidin (XI), Glykocyamidin (XV), Nitro-arginin (XVIII),

<sup>1)</sup> S. Sakaguchi, Journ. Biochem. 5, 13, 133 [1925]; C. 1925, IV 1547, 1926, I 1419.

<sup>2)</sup> E. Bergh, H. 25, 337 [1898]. <sup>3)</sup> S. G. Hedin, H. 25, 344 [1898].

<sup>4)</sup> A. Kossel und Fr. Kutscher, H. 25, 551 [1898].

Kreatin (XIII), Nitro-guanidin (XVII), Hydantoinsäure, Thiohydantoinsäure und Biuret. Er zieht daraus den Schluß, daß die Verbindung die Fähigkeit, die Farbenreaktion zu geben, verliert, wenn ein Wasserstoff-Atom des Guanidin-Restes, wie er im Arginin vorliegt, mit einer Atomgruppe X substituiert ist.



Ich habe nun noch eine Reihe biologisch wichtiger Körper auf die Farbenreaktion geprüft und versuchte zuerst festzustellen, ob das Versagen der Reaktion beim Kreatin (XIII) wirklich auf die völlige Besetzung der einen Aminogruppe zurückzuführen sei, indem ich das Alakreatin (VI) nach Baumann<sup>5)</sup> aus  $\alpha$ -Alanin und Cyanamid darstellte (Schmp. 228°; N gef. 31.9 und 31.75, ber. 32.0). Die Farbenreaktion war in der Tat positiv. Daß übrigens die Reaktion nicht geschädigt wird, wenn statt des Fettsäure-Restes ein Radikal ohne Carboxyl substituiert ist, ergab sich aus dem stark positiven Ausfall der Probe beim Agmatin (IX) und Galegin (VIII), welche mir beide in analysenreiner Form zur Verfügung standen.

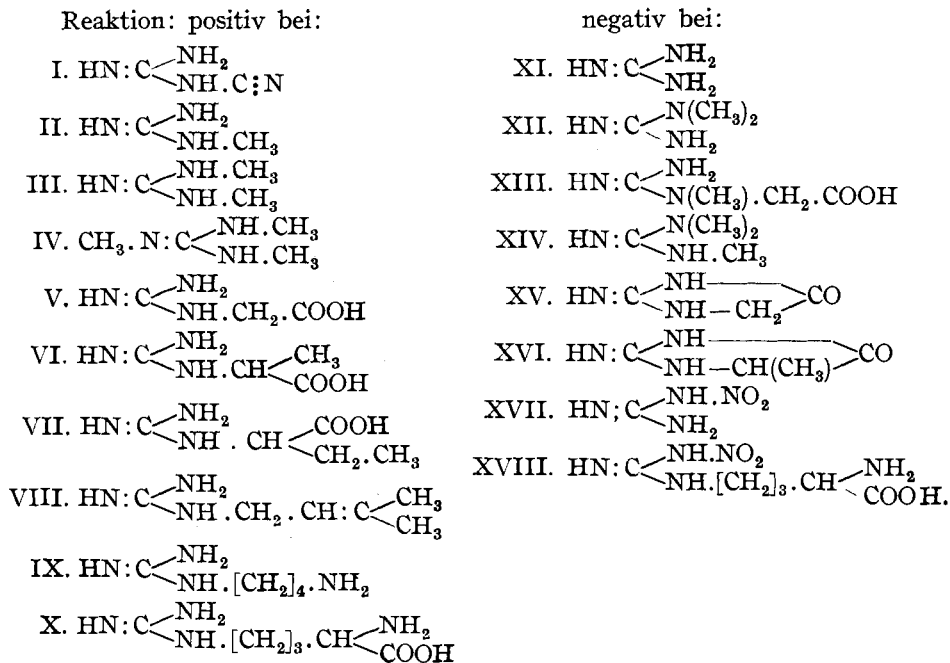
Für biochemische Zwecke präparativ besonders wertvoll ist nun die Tatsache, daß auch Monomethyl-guanidin (II) intensive Rotfärbung gibt. (Synthetisch aus Methylamin und Cyanamid, Reinigung über das Chloraurat. Au gef. 47.50, 47.57, ber. 47.74.) Dies wurde auch von F. A. Hoppe-Seyler im hiesigen Institut bei der Prüfung von Harnen mit der Probe festgestellt.

Weiter aber fand ich, daß das *symm.* Dimethyl-guanidin (III) und das *symm.* Trimethyl-guanidin (IV) deutlich positiv reagierten, ebenso das Dicyandiamid (I). Daß auch die beiden ersteren Körper positiv reagieren, steht nicht im Einklang mit Sakaguchis Ansicht, denn bei ihnen liegt nicht mehr der unversehrte Guanidin-Rest des Arginins vor. Hiernach tritt die Reaktion nur dann ein, wenn mindestens ein H-Atom des Guanidins wie im Arginin (X), Monomethyl-guanidin (II), Glykocyamin (V), Alakreatin (VI) usw. substituiert ist. Sind 2 H-Atome an einer Aminogruppe substituiert, so fällt die Probe negativ aus. Ich fand dies bestätigt bei dem *asymm.* Dimethyl-guanidin (XII) und *asymm.* Trimethyl-guanidin (XIV). Schließlich darf aber auch an einer Aminogruppe kein negativer Substituent hängen, wie beim Nitro-guanidin (XVII), Nitro-arginin (XVIII), Glykocyanidin (XV) und Alakreatinin (XVI), die sämtlich die Probe nicht gaben.

Daß eine Substitution an der Imidogruppe des Guanidin-Kernes auf die Reaktion nicht störend einwirkt, zeigt der positive Ausfall der Probe beim *symm.* Trimethyl-guanidin (IV).

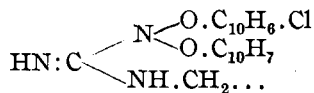
Demnach mußten Kreatin (XIII), *asymm.* Dimethyl-guanidin (XII) (synthetisch aus Cyanamid und Dimethylamin; Chloraurat: Schmp. 247°; Au gef. 46.35 und 46.39, ber. 46.2), *asymm.* Trimethyl-guanidin (XIV) usw. negativ reagieren, wovon ich mich überzeugt habe. Fehlt andererseits an den Aminogruppen, wie beim Guanidin (XI), jede Substitution, so versagt die Probe ebenfalls.

<sup>5)</sup> Baumann, A. 167, 83 [1873]; vergl. auch H. Ramsay, B. 41, 4388 [1908].



Daß in der Tat nur der Guanidin-Kern für das Eintreten der Farbenreaktion verantwortlich zu machen ist, bewies mir der negative Ausfall der Proben bei Harnstoff, Harnsäure, Allantoin, Allophan, Guanin, Hydantoin, Methyl-hydantoin, Cyanursäure, Histidin, Tryptophan, Asparagin, Tyrosin, Lysin, Ornithin und anderen Mono- und Diamino-säuren, einer Reihe Aminen und noch manchen anderen N-haltigen Körpern.

Während nun Sakaguchi für den roten Körper die Formel:



vorschlägt, kam ich unter Zugrundelegung seiner Analysen zu dem Schluß, daß je ein Naphthol an je eine Aminogruppe tritt.

Wertvolle Dienste leistet die Reaktion auch bei Untersuchungen auf Arginase-Wirkung, wenn man nach erfolgter Ferment-Einwirkung vor Anstellung der Probe das Eiweiß der Ferment-Lösung mit Sulfo-salicylsäure oder anderen Mitteln erschöpfend beseitigt. Untersuchungen mit dieser Methodik sind im Gange.

Hrn. Prof. Martin Schenck (Leipzig) bin ich für freundliche Überlassung von *symm.* Di- und Trimethyl-guanidin, sowie *asymm.* Trimethyl-guanidin zu besonderem Dank verpflichtet.