

aus Alkohol nicht gelang, im Hochvakuum getrocknet. Fast weisses Pulver, das sich leicht in Alkohol löst und in dieser Lösung mit Bleiacetat eine goldgelbe Fällung liefert. Die klare alkoholische Lösung wird an der Luft unter Ausscheidung des Disulfides getrübt. Farblos löslich in Alkalien und in konz. Schwefelsäure mit tief violetter Färbung.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---

### 155. Über Chinonreaktionen

von G. Woker und I. Antener.

(3. IX. 37.)

Kürzlich<sup>1)</sup> haben wir die durch Dunkelfärbung gekennzeichnete Komplikation erwähnt, die dem Nachweis der Ascorbinsäure im Gewebe durch Chinhydronebildung mittelst Chinon im Wege steht. Die dort erwähnten Versuche betreffend die meist violettbraune bis violette Farbreaktion mit Eiweisskörpern, die bei der Mischung derselben mit Chinon in trockenem Zustand auftritt sowie die dunkel-purpur-braune Verfärbung von chinonhaltigen Lösungen zahlreicher Eiweisskörper beim Stehen, legte die Annahme besonders nahe, dass das Gewebe-eiweiss für die bis zur vollkommenen Schwärzung sich steigernde Dunkelfärbung von Gewebeschnitten in einem mit Chinondämpfen erfüllten Raum verantwortlich zu machen ist.

Wir prüften zunächst, mit negativem Resultat, ob die Oxyphenyl-, die Kohlehydrat-gruppe oder der leicht abspaltbare Schwefel für die Farbreaktion der Eiweisskörper in Betracht zu ziehen sei. Auch an eine bestimmte, wie bei der Biuretreaktion, in der Polypeptidstruktur begründete Gruppierung konnte beim Suchen nach der Trägerin der erwähnten Farbreaktion gedacht werden. Unsere Versuche zeigten jedoch, dass die krystallinischen Aminosäuren selbst die Farbreaktion mit dem Chinon verursachen und dass sich ihre konstitutive Eigenart im Ausfall und der Intensität derselben wieder spiegelt. Die Zusammenfügung der einzelnen Aminosäuren zur Eiweissmolekel müsste also zu einer, bei den an Eiweisslösungen angestellten Versuchen auch beobachteten Mischfärbung führen, die wohl dem Anteil an farbgebenden Aminosäuren in dem betreffenden Eiweiss entsprechen könnte. Immerhin sind durch eine Summationswirkung der einzelnen gefärbten Aminosäurekomponenten in der Eiweissmolekel die dunkelbraunen bis schwarzen Farbtöne noch nicht erklärt, welche gerade Gewebeschnitte in einer chinonhaltigen

---

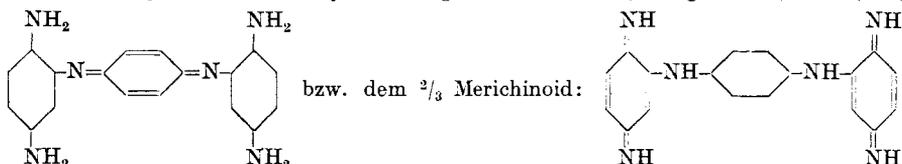
<sup>1)</sup> Helv. 20, 737 (1937).

Atmosphäre annehmen. Wir vermuteten, dass Ammoniak bei dieser Farbänderung beteiligt sein könnte, — sei es im Gewebe vorgebildetes Ammoniak, sei es im Gefolge einer, im Wesen der Wechselwirkung zwischen Aminosäuren und Chinon begründeten, Desaminierung (s. im folgenden). Wir stellten daher eine 0,01-mol. Ammoniaklösung und von dieser eine Anzahl weitere Verdünnungen her und versetzten je 5 cm<sup>3</sup> derselben mit 5 cm<sup>3</sup> einer 0,01-mol. wässrigen Chinonlösung.

Schon nach 10 Minuten zeigte die Stammlösung eine olivebraune Färbung, die sich nach 30 Minuten zu Schwarzbraun vertiefte. Die daraus durch Versetzen mit der gleichen Menge Wasser hergestellte nächste Verdünnung hatte nach 10 Minuten eine hellolivebraune, nach 30 Minuten eine braune Farbe angenommen, die sich bei den 3 folgenden, jeweils gegenüber der vorhergehenden hälftigen Verdünnungen allmählich bis zu einem Gelb abschwächte, das noch eben dunkler als das Kontrollgläschen mit der Chinonlösung gleicher Konzentration war. Der Gehalt an Ammoniak in diesem Grenzgläschen betrug 0,000053 g.

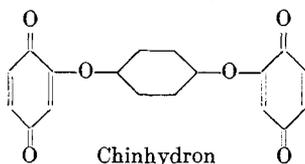
Wir haben also, — abgesehen von der im Gefolge der Wasserstoffakzeptorfunktion des Chinons bei der Dehydrierung der Aminosäuren auftretenden und sich den übrigen Farbreaktionen beimischenden Bildung des Chinhydrons<sup>1)</sup>, — offenbar bei der Einwirkung von Chinon auf freie und in die Eiweissmolekel eingebaute Aminosäuren mit zweierlei Farbreaktionen zu rechnen: Einerseits mit der Eigenreaktion der Aminosäuren und zwar insbesondere der ursprünglich als *Kosel'sche* Hexonbasen bezeichneten Aminosäuren Histidin, Lysin und Arginin, ferner der Grundsubstanz des letzteren, dem

<sup>1)</sup> Nach Art des Aufbaus der bei der analogen Reaktion zwischen Chinonimid und p-Phenylendiamin auftretenden *Bandrowski'schen* Base (s. B. 27, 480 (1894), Monatshefte f. Chem. Bd. 10); s. auch Erdmann, Zeitschr. f. angew. Chemie 1894, 424; G. Woker, Die Katalyse II, spez. Tl. 2. Abt., 2. Hälfte, Atmungsfermente, Bd. XXVII/XXVIII der Sammlung „Die Chem. Analyse“, Verlag Ferdinand Enke (Stuttgart 1931), S. 262/263)



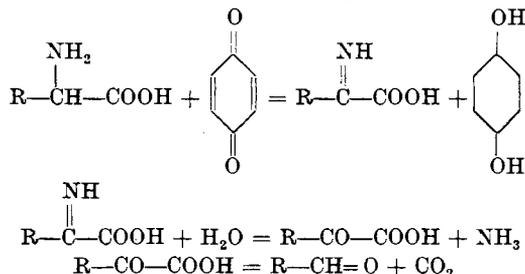
Formel von *Bandrowski* ( $\frac{1}{3}$  Merichinoid):

könnte man nachfolgende Formel für das Chinhydron ins Auge fassen:

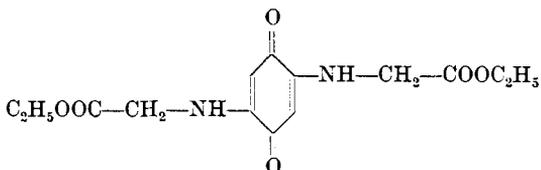


Ornithin und dem daraus durch Ammoniakabspaltung unter Ringchluss entstehenden Prolin sowie bei Eiweisskörpern einer der Art und Menge farbgebender Aminosäuren entsprechenden Mischfärbung; andererseits mit einer allmählich sich verstärkenden sekundären Reaktion der genannten Stoffe mit Chinon, die mit der zunehmenden Ammoniakabspaltung aus den Aminosäuren durch dieses Reagens in Zusammenhang stehen dürfte. Die besonders kräftige Reaktion des Histidins könnte eine Folge seiner starken Neigung zur Ammoniakbildung<sup>1)</sup> sein.

Eine desaminierende Wirkung des Chinons auf Aminosäuren, bei welcher, wie bei der *Strecker'schen* Reaktion<sup>2)</sup> (Einwirkung von Alloxan auf Aminosäuren) unter Kohlendioxyd- und Ammoniakabspaltung der um 1 C ärmere Aldehyd entsteht (während das Alloxan über sein Pinakon, das Alloxantin nach dessen Reaktion mit Ammoniak in Murexid übergeht), entsprechend der Stufenfolge<sup>3)</sup>:



war nach den Untersuchungen von *W. Traube*<sup>4)</sup> anzunehmen, wenngleich die Reaktion offenbar nicht quantitativ verläuft. Es ist dies auch nicht zu erwarten, da *Emil Fischer* und *Schrader*<sup>5)</sup> bei der Einwirkung von Chinon auf Glykokoll- und Alanin-äthylester, neben der Bildung von Hydrochinon, den Diäthylester des Diglycinochinons und denjenigen des Dialaninochinons erhielten:



Diäthylester des Di-glycino-chinons (rote Krystalle, in alkoholischer Kalilauge mit blauvioletter Färbung in Lösung gehend. In verdünnter, wässriger Natronlauge mit tieferer Farbe löslich, die beim Erwärmen dunkelbraun wird, während sich gleichzeitig Ammoniak abspaltet)

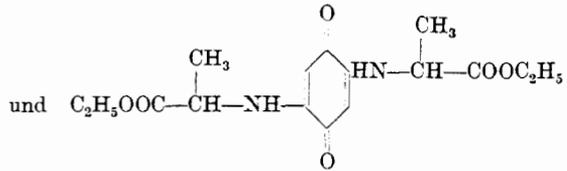
<sup>1)</sup> *György* und *Röhler*, *Bioch. Z.* **173**, 334 (1926).

<sup>2)</sup> *Strecker*, *A.* **123**, 363 (1862).

<sup>3)</sup> R bedeutet den Rest der betreffenden Aminosäure.

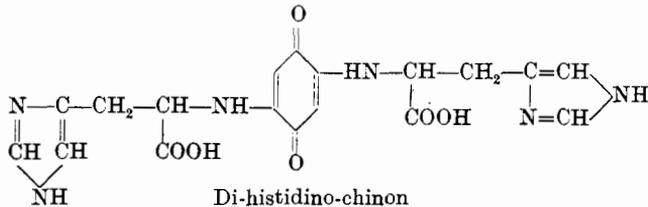
<sup>4)</sup> *W. Traube*, *B.* **44**, 3145 (1911).

<sup>5)</sup> *Emil Fischer* und *Schrader*, *B.* **43**, 525 (1910).

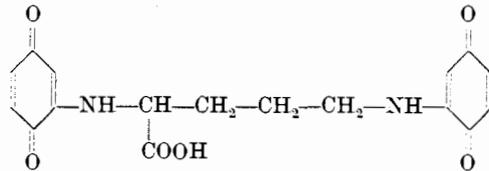


Diäthylester des Di-alanino-chinons (hellrote Krystalle, in Alkali mit feurig roter, in Violette spielender Farbe löslich, die nach einiger Zeit schmutzig braun wird, unter Bildung eines schmutzig gelb bis braunroten Niederschlags).

Auch in unserm Fall könnte die Farbenreaktion der Aminosäuren mit dem Chinon in der Bildung entsprechender Verbindungen ihre Ursache besitzen. Für das Histidin z. B. wäre danach das folgende Reaktionsprodukt anzunehmen:



Doch würde die Tatsache, dass insbesondere Diaminosäuren und deren Derivate: Lysin, Ornithin, Arginin und Verbindungen, die — wie das Histidin — ausser einer NH<sub>2</sub>-Gruppe, noch über eine NH-Gruppe verfügen, zur Farbenreaktion mit dem Chinon befähigt sind, auch die Annahme von Formeln nahelegen, bei welchen, umgekehrt wie in den nach dem *Emil Fischer-Schrader*'schen Typus zusammengesetzten Verbindungen, eine Aminosäuremolekel zwischen 2 Chinonmolekeln eingebaut ist. So könnte z. B. bei der Einwirkung von Chinon auf Ornithin die folgende Verbindung resultieren:

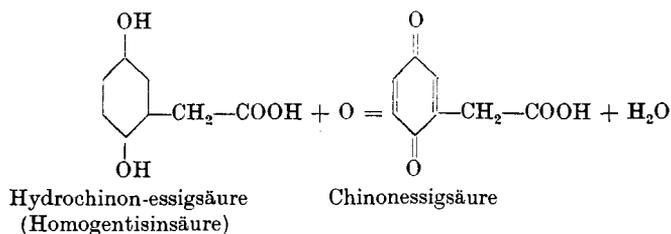


Die desaminierende Wirkung von Chinon auf Aminosäuren, in Verbindung mit der, durch die dunkle Verfärbung gekennzeichneten, äusseren Erscheinung, legt ferner die Prüfung der Frage nahe, ob Beziehungen zur natürlichen Melaninbildung und der mit dieser zusammenhängenden Wirkung der Tyrosinase gegeben sein könnten?

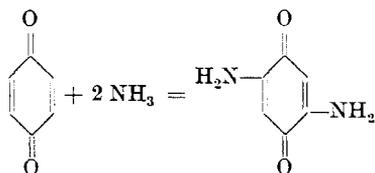
Die Melaninbildung umfasste ursprünglich lediglich die Schlussphase einer Reihe von Veränderungen, die sich unter dem Einfluss der Tyrosinase an der Tyrosinmolekel vollziehen. Ein Zwischenprodukt des Prozesses, die Homogentisinsäure (Hydrochinon-essigsäure) und der mit ihrer Bildung verbundene eigentümliche Umlagerungsvorgang,

hatte hier zunächst das Hauptinteresse auf sich konzentriert. Erst später wurde der in einer Desaminierung und Decarboxylierung der Seitenkette<sup>1)</sup>, die genau wie bei der *Strecker'schen* Reaktion und der ihr analogen Chinonwirkung auf Aminosäuren, neben Ammoniak zu dem um 1 C ärmeren Aldehyd führt, die gebührende Beachtung geschenkt und in ihrer allgemeinen Bedeutung bei der Einwirkung der Tyrosinase erkannt.

In dieser allgemein desaminierenden und decarboxylierenden Wirkung auf Aminosäuren, die schon häufig zu gefärbten Produkten führt, liegt eine erste Beziehung zwischen Tyrosinase- und Chinonwirkung. Es geht jedoch der letzteren gerade die spezifische, zur Homogentisinsäure führende, Wirkung auf das Tyrosin ab; dagegen dürfte die Analogie in der zweiten, durch die Melaninbildung gekennzeichneten Phase wieder eine sehr weitgehende sein. Sie beginnt in dem Moment, wo sich die, im Anschluss an die vorausgegangene Desaminierung zur  $\alpha$ -Ketosäure, deren Decarboxylierung zu dem um 1 C ärmeren Aldehyd, dessen Oxydation und Umlagerung, gebildete Homogentisinsäure weiter zum entsprechenden Chinon oxydiert:

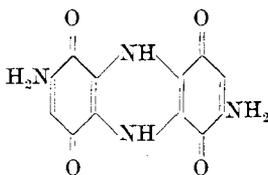


Das hier auf natürlichem Wege, unter dem Einfluss der Tyrosinase gebildete Chinon, wird bei unsern Versuchen durch das den Aminosäuren hinzugefügte Chinon ersetzt. Das eine wie das andere Chinon dürfte dann mit dem zuvor, bei der Desaminierung der Aminosäuren durch Tyrosinase oder Chinon, entstandenen Ammoniak unter Melaninbildung reagieren. Dahingestellt sei, ob man sich dabei die Reaktion des Ammoniaks mit dem Chinon selbst oder zuvor gebildetem Chinonimid, nach Art der vorher erwähnten *Emil Fischer-v. Schrader'schen* Reaktion, zwischen Glycin- und Alaninestern mit Chinon zu denken hat, wobei zunächst entstandenes Chinondiamin:



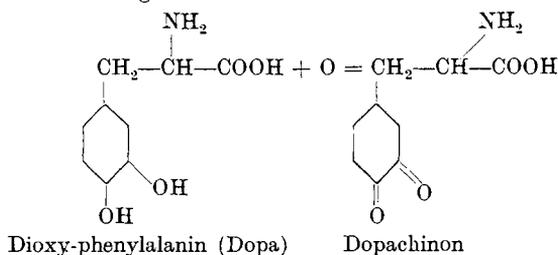
<sup>1)</sup> *Chodat* und *Schweizer*, Arch. Gen. [4] 35, 140 (1913); Bioch. Z. 57, 430 (1913); *Chodat*, Arch. Gen. [4] 39, 327 (1915); *Schweizer*, Tyrosinase et Desamination, Diss. Genève (1915); Bioch. Z. 78, 37 (1917); *Folpners*, Bioch. Z. 78, 180 (1917).

unter ständiger Vertiefung der Farbe, sich weiter zu kondensierten Ringsystemen oxydieren könnte, im einfachsten Fall zu:

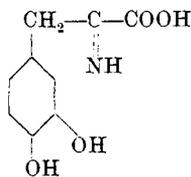


Doch können sich, wenn genügend Chinon und genügend Aminosäuren und damit Ammoniak zur Verfügung stehen, beliebig viele Chinondiaminmolekeln, in der angedeuteten Weise, oxydativ aneinanderlagern. Bei Herstellung einer Verdünnungsreihe mit Ammoniak oder mit Ammoniak abspaltenden Aminosäuren ist es begreiflich, dass sich, bei konstanter Chinonmenge, das verfügbare Ammoniak sehr bald in dieser Kondensationsreaktion erschöpft und dass dementsprechend der Kondensationsgrad um so geringer und damit die Färbung um so schwächer ausfällt, je stärker verdünnt Ammoniak bzw. Aminosäuren, zur Anwendung kommen.

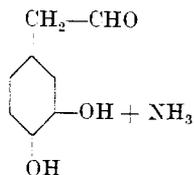
Die Melaninbildung ist nicht an zugesetzte oder im System, unter dem Einfluss von Tyrosinase und ähnlichen oxydativen Prinzipien sich bildende p-chinoide Substanzen gebunden. Auch o-Chinon, bzw. aus Phenolen mit 2 oder mehr o-ständigen Hydroxylen sich bildende o-chinoide Stoffe vermögen, unter analogen Bedingungen, mit vorgebildetem oder aus Aminosäuren in Freiheit gesetztem Ammoniak unter Braun- bis Schwarzfärbung zu reagieren. Vor allem steht die das Dioxy-phenylalanin zum entsprechenden o-Chinon oxydierende Dopa-oxydase mit der Melaninbildung in Zusammenhang und die Dunkel-färbungen der Haut bei der *Adison'schen* Krankheit dürften wohl auf eine analoge Oxydation des Adrenalins zum entsprechenden o-Chinon und die Desaminierung von Aminosäuren durch dasselbe zurückzuführen sein. Bei der Tätigkeit der Dopa-oxydase würde es sich z. B. um die folgenden Stufen handeln:



Durch intramolekulare Dehydrierung der Aminosäure zur Iminosäure, unter dem Einfluss der beiden C=O-Gruppen des Dopachinons, kommt es zunächst zu der intermediären Bildung der dem Dioxy-phenylalanin entsprechenden Iminosäure:



Die Dioxy-phenyl-iminopropionsäure erfährt nun durch Decarboxylierung und hydrolytische Desiminierung, entsprechend den früheren Angaben, die Umwandlung zum Dioxy-phenyl-acetaldehyd



und mit der Bildung des Ammoniaks und dessen Wechselwirkung mit den gebildeten orthochinoiden Substanzen sind die Bedingungen erfüllt, die auch hier zu Melaninen führen.

Im Anschluss an die Desaminierung freier und in der Eiweissmolekel gebundener Aminosäuren durch p- und o-chinoide Substanzen stellt sich weiter die Frage, ob und in welchem Umfang auch 2 oder mehr gewöhnliche Ketogruppen zu analogen Wirkungen befähigt sein können? Durch die *Strecker'sche* Reaktion (l. c.) mit Alloxan sowie die von *W. Traube* (l. c.) gefundene Wirkung von Isatin auf Aminosäuren ist schon lange bewiesen, dass derartige Gruppierungen in der Tat Desaminierungen bedingen können. Wir prüften in dieser Hinsicht weiter die Wirkung des Triketo-hydrindendrhydrats. Dieses als Ninhydrin von *Abderhalden* zur Graviditäts- und Krebsdiagnose und, hierdurch angeregt, von anderer Seite zu zahlreichen weiteren sinnreichen Anwendungen benutzte Reagens, bewirkt bekanntlich beim Kochen von Eiweisslösungen und sämtlichen Eiweiss-abbauprodukten eine um so tiefere blauviolette Färbung, je höher der Spaltungsgrad des Eiweiss ist. Am stärksten reagieren dementsprechend die krystallinischen Aminosäuren. Während bei den meisten bisherigen Anwendungen des Ninhydrins Mischungen von Aminosäuren, entsprechend der Zusammensetzung der geprüften Eiweiss-abbaugemische vorgelegen haben, hat unlängst *Cherbuliez*<sup>1)</sup> die Färbungen einer Anzahl einzelner Aminosäuren mit Ninhydrin untersucht und eine grosse Variabilität in der erhaltenen Farbreaktion festgestellt. Leider sind uns jedoch die interessanten Befunde erst nach Abschluss unserer einschlägigen Versuche zur Kenntnis gekommen.

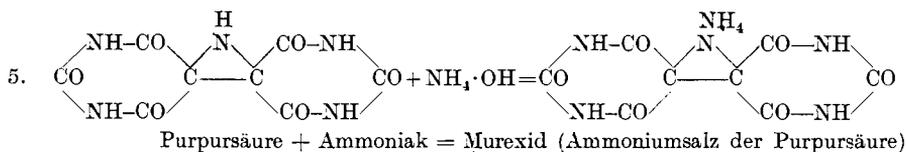
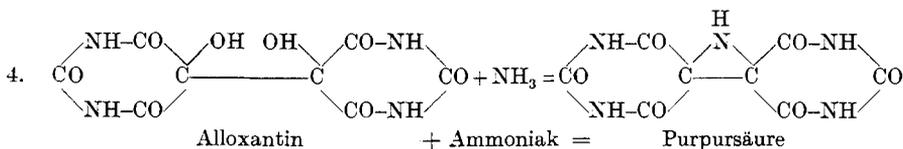
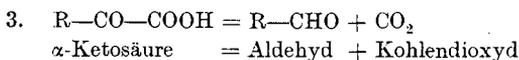
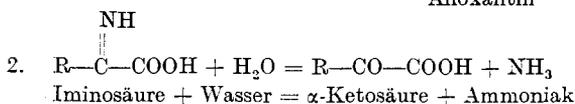
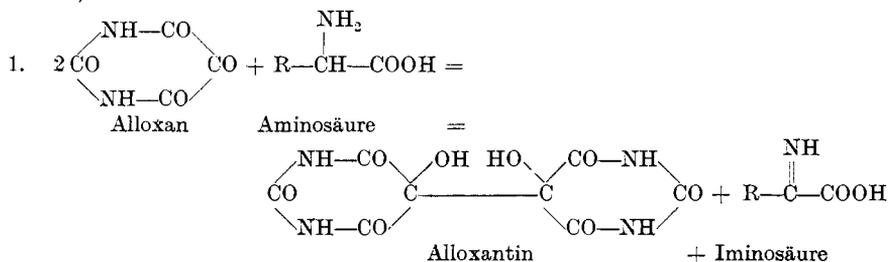
In Abweichung von der bisherigen Anwendung des Ninhydrins (1 Minute währendes Sieden) haben wir, in Anpassung unserer Versuche mit dieser Substanz an die beim Chinon eingehaltenen Temperaturbedingungen, bei gewöhnlicher Temperatur gearbeitet. Wenn es sich trotzdem qualitativ um prinzipiell analoge Reaktionen handelt, was zwar wahrscheinlich, aber zur Stunde nicht bewiesen ist, so ist von vornherein zu erwarten, dass nur die am intensivsten mit Chinon reagierenden Aminosäuren unter diesen Bedingungen auch zur Wechselwirkung mit dem Ninhydrin gelangen. In der Tat stellten

<sup>1)</sup> Helv. 17, 1440 (1934).

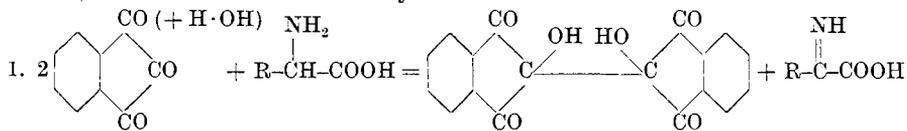
wir beim Histidin eine intensiv gelbe, beim Arginin und Prolin violettblaue kräftige Farbreaktionen mit Ninhydrin in der Kälte fest. Immer vorausgesetzt, dass die bei gewöhnlicher Temperatur erhaltenen Reaktionen mit denen in der Siedehitze prinzipiell zu vergleichen sind, wären wir damit der Aufklärung der Ninhydrinreaktion ziemlich nahe gerückt. Auch die braunrote Färbung mit Ammoniak, die einerseits der Melaninbildung bei den Chinonen, andererseits der von *Strecker* (l. c.) festgestellten Murexidbildung bei der Einwirkung von Alloxan auf Aminosäuren entsprechen dürfte, zeigt, dass hier eine tiefe, innere Wesensverwandtschaft besteht.

Der Analogie mit der *Strecker*'schen Reaktion würde z. B. die folgende Formulierung gerecht:

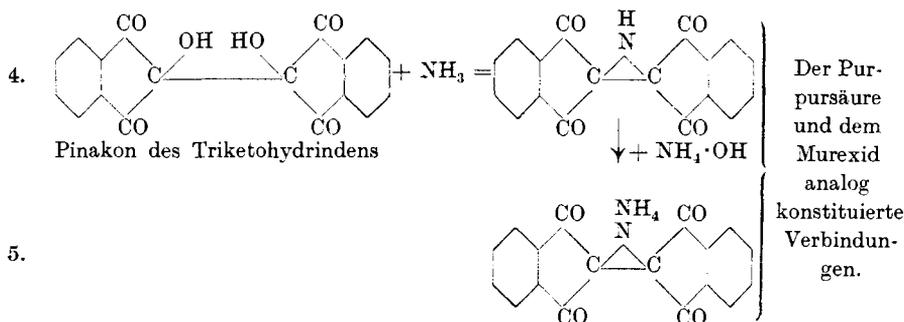
a) *Strecker*'sche Reaktion:



b) Reaktion zwischen Ninhydrin und Aminosäuren:



2. und 3. wie bei a).



Ferner haben wir, in Verfolgung unserer Arbeiten über die Ascorbinsäure und Dehydro-ascorbinsäure<sup>1)</sup>, die Dehydro-ascorbinsäure in ihrer Einwirkung auf Aminosäuren geprüft, ebenfalls beim Histidin vor allem, mit stark positivem Resultat. Da wir jedoch inzwischen aus uns freundlich von Hrn. Prof. *Abderhalden* zugestellten Publikationen „Über den Einfluss von Vitamin C (Ascorbinsäure) auf Aminosäuren“<sup>2)</sup> gesehen haben, dass dieses Gebiet von so berufener Seite schon in Angriff genommen ist und beim Histidin zur Auffindung einer seinem Nachweis dienenden Reaktion geführt hat, so haben wir unsere einschlägigen Versuche nicht mehr weiter fortgesetzt. Dagegen lassen wir einige weitere Reaktionen der Ascorbinsäure mit *Agostini's* Goldreagens (Tetrachloraurisäure), *Nessler's* Reagens, sowie den Reagentien von *Knapp* und *Nylander*, im Vergleich mit den entsprechenden Reaktionen des Cysteins, des Gluthathions, der Nucleinsäure, des Uracils, einer Anzahl Fermente und Organpräparate, sowie des Adrenalins in Bälde folgen.

### Experimenteller Teil.

#### 1. Ornithin (Dihydrochlorid).

Von einer frisch bereiteten 0,01-mol. Ornithinlösung wird in der gewöhnlichen Weise eine Verdünnungsreihe von 9 Gläschen hergestellt und zu je 5 cm<sup>3</sup> der betreffenden Ornithinlösungen 5 cm<sup>3</sup> einer frischen 0,01-mol. Chinonlösung hinzugefügt.

Nach 30 Minuten hatten die Verdünnungen 2, 3, 4 und 5, welche 0,00432 g, 0,00216 g, 0,00108 g und 0,00054 g Ornithin in den 5 cm<sup>3</sup> Lösung enthielten, hellpurpur bis kirschrote Färbungen angenommen. Eine wesentliche Herabsetzung der Färbung zu orange bis hellrot trat erst bei der 6. Verdünnung (0,00027 g in 5 cm<sup>3</sup>) ein und nahm in der 7. und 8. Verdünnung (0,000135 und 0,0000675 g in 5 cm<sup>3</sup>) noch weiter zu gelb bis orange ab. Das 9. Gläschen, welches 0,0000337 g in 5 cm<sup>3</sup> enthielt, war nur wenig dunkler als die hellgelb gefärbte Chinonkontrolle und kann folglich als Grenze für die Farbreaktion angenommen werden. Eine Ausnahme bildete auch die stärkste Konzentration (0,00865 g Ornithin in 5 cm<sup>3</sup>). Sie zeigte nur eine blassgelbe Farbe, offenbar weil sich hier die Acidität des Hydro-

<sup>1)</sup> Helv. **20**, 144, 732 (1937).

<sup>2)</sup> Wiener Klin. Wochschr. **1937**, Nr. 21; Fermentforschung, **15**, 285, 360 (1937).

chlorids (freie Ornithinbase stand uns nicht zur Verfügung) in einer Farbverschiebung nach Gelb bemerkbar machen kann. Eine analoge Erscheinung wird uns auch beim Lysindichlorid begegnen, während die freien Basen sämtlich eine allmähliche Abschwächung mit dem Grad der Verdünnung bei ihrer Wechselwirkung mit dem Chinon zeigen.

## 2. Arginin (Base).

Die Verdünnungsreihe wurde, ausgehend von 0,01-mol. Argininlösung, in derselben Weise hergestellt wie beim Ornithin und auch sonst wie dort beschrieben gearbeitet. Schon nach 10 Minuten zeigte das erste, 0,0087 g in 5 cm<sup>3</sup> Lösung enthaltende Gläschen eine dunkelpurpurrote, das 2. eine purpurrote, das 3. eine kirschrote, das 4. eine dunkelorange bis hellkirschrote, das 5. eine hellorange, das 6. eine hellorange bis gelbe, das 7. eine gegenüber der grün-gelben Chinonkontrolle schwach orangestichig erscheinende Färbung.

Nach 30 Minuten war das 1. Gläschen dunkelpurpurrot geblieben, jedoch mit einem Stich ins Braune. Das 2. Gläschen war dunkelpurpurrot, das 3. kirschrot bis dunkelkirschrot, das 4. kirschrot, das 5. hellkirschrot, das 6. hellsalmrot bis salmrot, das 7. blassalmrot bis hellorange, das 8. blassorange, das 9. noch etwas heller und das 10. Gläschen war noch eben wahrnehmbar dunkler als die rein gelbgrün gefärbte Chinonkontrolle. Die dieser Verdünnung entsprechende Grenzkonzentration betrug 0,000018 g Arginin in 5 cm<sup>3</sup>.

## 3. Prolin (Base).

Wie bei den beiden soeben besprochenen Aminosäuren wurde von einer 0,01-mol. Stammlösung an Prolin ausgegangen, dieselbe fortlaufend, jeweilen hälftig, verdünnt und zu je 5 cm<sup>3</sup> der einzelnen Verdünnungen 5 cm<sup>3</sup> der 0,01-mol. Chinonlösung hinzugefügt.

Die himbeerrote bis hellviolette Farbe im ersten Gläschen, schwächte sich bis zum 3. Gläschen zu hellhimbeer- bis, blasshimbeerrot ab, das 4. Gläschen war helllila bis blasslila, das 5. hellmauve bis hellsalmfarben und das 6., welches nach 10 Minuten langem Stehen der Gemische die Grenze darstellte, war nur mehr blass salmrot gefärbt. Nach 30 Minuten hatte sich die Farbe im 1. Gläschen zu dunkelhimbeerrot vertieft, in den folgenden 3 Gläschen zeigte sie eine allmähliche Abschwächung über himbeerrot zu blasshimbeerrot. In der 5. Verdünnung war die Farbe hellmauve, in der 6. hellmauve bis hellsalm, im 7. und 8. Gläschen, welches letzteres der Empfindlichkeitsgrenze entsprach, fand allmählig eine noch weitere Herabsetzung der Färbung statt. Die Chinonkontrolle war blassorange gefärbt. Der Empfindlichkeitsgrenze der Reaktion entsprach ein Prolingehalt von 0,000042 g in 5 cm<sup>3</sup> Lösung.

#### 4. Lysin-dichlorhydrat.

Nach 10 Minuten zeigten die, wie im vorigen beschrieben, hergestellten Verdünnungen das folgende Bild:

- |                                |                                    |
|--------------------------------|------------------------------------|
| 1. Gläschen (0,01-mol. Lösung) | blass gelbgrün (Aciditätseinfluss) |
| 2. „                           | blass salm-orange                  |
| 3. „                           | hellsalmfarben                     |
| 4. „                           | hellsalmfarben bis hellkirschrot.  |

Von da an schwächt sich die Farbe wiederum infolge der zunehmenden Verdünnung ab über hellsalmfarben zu blassorange bis gelb. Das 9. Gläschen war nach 10 Minuten noch etwas dunkler als die blassgelbe Kontrolle.

Nach 30 Minuten war die Farbe im 1. Gläschen noch unverändert, infolge der hemmenden Säurewirkung, im 2. war sie hellsalm, im 3. hellkirschrot. Von da an nahm sie, mit jeder weiteren Verdünnung, über hellsalm bis hellkirschrote Farben zu hellorangen bis hellgelben Tönen ab. Die 10. Verdünnung, welche in 5 cm<sup>3</sup> Lösung 0,00001837 g Lysin-dichlorhydrat enthielt, entspricht der Empfindlichkeitsgrenze.

#### 5. Histidin (Base).

Hier war das 1. Gläschen, der, wie beschrieben, hergestellten Verdünnungsreihe nach 10 Minuten hellkirschrot gefärbt. Mit steigender Verdünnung schwächte sich die Farbe allmählig ab über salmfarben bis hellkirschrot, salm, hellorange bis zu hellgelben Tönen beim 7. und 8. Gläschen.

Nach 30 Minuten war das 1. Gläschen kirschrot, das 2. hellkirschrot bis kirschrot und das 3. hellkirschrot gefärbt. Die 4. Verdünnung war salmfarben, die 5. hellorange, um bis zum 11. Gläschen, das mit einem Gehalt von 0,0000064 g in 5 cm<sup>3</sup> Lösung die Empfindlichkeitsgrenze darstellte, allmählig bis zu Gelb abzunehmen. Die Kontrolle war etwas heller, reingelb.

#### 6. Glutathion.

Zum Vergleich mit den erwähnten elementaren Aminosäuren haben wir noch ein einfaches Polypeptid, das Glutathion, in derselben Weise wie bei jenen, mit einer frisch hergestellten 0,01-mol. Chinonlösung geprüft. Wir erhielten mit der 0,01-mol. Stammlösung des Glutathions (5 cm<sup>3</sup>) eine leuchtende Orangefärbung, die in den nächsten Verdünnungen über orange, gelb-orange zu hellgelb allmählig abnahm. Nach 10 Minuten und nach 30 Minuten war sich das Farbenbild der Verdünnungsreihe ziemlich gleich geblieben. In beiden bezeichnete die 9. Verdünnung (0,0000649 g in 5 cm<sup>3</sup> Lösung) die Grenze.

Bern, Laboratorium für physikalisch-chemische Biologie  
der Universität.