

# Über die Einwirkung von salpetriger Säure auf Lysin

von

Leo Szydłowski.

Aus dem chemischen Institute der Universität Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 12. Juli 1906.)

Über Aufforderung des Herrn Prof. Skraup habe ich die Einwirkung der salpetrigen Säure auf Lysin untersucht.

Es war zu erwarten, daß aus Lysin, als einer  $\alpha$ - $\epsilon$ -Diamino-*n*-Capronsäure, bei der Einwirkung der salpetrigen Säure auf dasselbe eine Dioxycapronsäure entstehen würde, entsprechend der allgemeinen Methode zur Darstellung der Dioxysäuren aus Aminosäuren. Und da das verwendete Lysin ein aktives, aus Kasein in üblicher Weise gewonnenes Produkt war, so war ferner anzunehmen, daß auch die daraus erhaltene Dioxysäure optisch aktiv sein würde. Eine solche zu erhalten war auch der ursprüngliche Zweck der vorliegenden Arbeit. Als Ausgangsmaterial wurde Lysinpicrat genommen, aus demselben das Chlorhydrat dargestellt und durch die Behandlung einer wässrigen Lösung des letzteren mit Silbernitrit eine Dioxysäure darzustellen versucht. Da hiebei schlechte Ausbeuten eintraten, so wurde das Chlorhydrat des Lysins mittels Silbersulfat in das Sulfat übergeführt und dieses mit Baryumnitrit umgesetzt.

Wie aber die folgenden Versuche gezeigt haben, geht der Vorgang auch hier nur zum Teil in der beabsichtigten Richtung vor sich. Die Dioxysäure bildet sich nur in geringer Quantität, sie konnte auch nicht rein dargestellt werden und wurde nur in Form ihres Calciumsalzes analysiert, welches auch nicht ganz frei von Calciumnitrat war. Dagegen ist es gelungen,

einen anderen Körper zu isolieren, der nach den Analysen und der Entstehungsweise mit aller Sicherheit als eine Amino-oxyacaprönsäure anzusprechen ist.

Außer den vorerwähnten Verbindungen wurde noch eine dritte gefunden, die der Analyse zufolge auch eine Amino-oxyacaprönsäure sein könnte, jedoch alkalische Reaktion besitzt und einen tieferen Schmelzpunkt als die zuerst erwähnte Amino-oxyacaprönsäure. Die Natur dieses Körpers konnte, da dieser nur in geringer Quantität gewonnen wurde, nicht näher untersucht werden.

Weiter ist noch hervorzuheben, daß nach den Ergebnissen der durchgeführten Versuche die Zersetzung des Lysinsulfats mit Baryumnitrit nahezu vollständig ist.

E. Fischer und F. Tiemann<sup>1</sup> sowohl wie C. Neuberg<sup>2</sup> haben eine Amino-oxyacaprönsäure beschrieben, die aus der Glukosaminsäure durch Reduktion entsteht.

Fischer und Tiemann gaben den Schmelzpunkt mit 220 bis 230°, Neuberg und Wolff mit 190 bis 200° an; der meiner Substanz liegt bei 200 bis 201°.

Sollte Identität bestehen, so wäre, da nach Fischer die erwähnte Säure eine  $\alpha$ -Aminoverbindung ist, festgestellt, daß die  $\varepsilon$ -CH<sub>2</sub>-Gruppe des Lysins leichter angegriffen wird wie die in der  $\alpha$ -Stellung.

Die Untersuchung des Drehungsvermögens der beschriebenen Körper konnte wegen Mangels an Substanz nicht ausgeführt werden. Dieselbe durchzuführen wie auch eine eingehendere chemische Untersuchung der Körper mir vorbehaltend, teile ich im folgenden die gewonnenen Resultate mit.

### Darstellung des Lysins.

Das Lysin habe ich nach einem von Prof. Skraup mir mitgeteilten Verfahren aus Kasein dargestellt, welches den Vorteil bietet, daß man ohne weitere Rücksicht auf die anderen Nebenbasen, das Lysin aus dem Phosphorwolframsäureniederschlag im Wege des Pikrates darstellen kann.

<sup>1</sup> E. Fischer und F. Tiemann, Ber. der Deutschen chem. Ges., 27, I., p. 144 (1894).

<sup>2</sup> C. Neuberg, 35, IV., p. 4015 (1902).

Verwendet wurden Phosphorwolframate, welche aus 1·5 kg Kasein nach erfolgter Hydrolyse, Esterifikation und Entfernung der Ester durch Ausschütteln mit Ätheralkohol seinerzeit von Prof. Skraup erhalten worden waren. Sie wurden in üblicher Weise auf die freien Diaminverbindungen verarbeitet.

Letztere wurden in eben der doppelten Menge Wasser gelöst und auf ein Teil des in Lösung befindlichen Syrups 0·3 Teile Pikrinsäure eingetragen, die in der Wärme sich leicht auflöst, beim Stehen in der Kälte fällt dann das rohe Pikrat gut kristallisiert aus, dessen Menge meist etwas größer ist als das der zugefügten Pikrinsäure. Wird mehr Pikrinsäure zugefügt, so ist die Ausfällung erheblicher, aber mit viel Harz verunreinigt.

Das Pikrat wurde mehrmals aus heißem Wasser unter Anwendung von Tierkohle umkristallisiert. Ausbeute 50 g aus den 1·3 kg Kasein.

Für die Elementaranalyse wurde eine Probe des Präparates noch zweimal umkristallisiert und im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

- I. 0·2014 g Substanz gaben 0·2780 g CO<sub>2</sub> und 0·0812 g H<sub>2</sub>O.  
 II. 0·1538 g Substanz gaben 0·2185 g CO<sub>2</sub> und 0·0625 g H<sub>2</sub>O.  
 III. 0·1966 g Substanz gaben 33·5 cm<sup>3</sup> N bei 24·5° C. und 728 mm.

In 100 Teilen:

	Berechnet für <u>C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>9</sub>N<sub>5</sub></u>	Gefunden		
		I	II	III
C .....	38·36	38·14	38·74	—
H .....	4·57	4·52	4·55	—
N .....	18·70	—	—	18·78

### Darstellung des Chlorhydrats.

Bei der Darstellung desselben wurde im wesentlichen nach den Angaben von E. Fischer<sup>1</sup> vorgegangen, und zwar

<sup>1</sup> E. Fischer und F. Weigert, Ber. der Deutschen chem. Ges., 35, III. (1902).

wurde das Lysinpikrat kochend heiß mit konzentrierter Salzsäure zersetzt, die abgeschiedene Pikrinsäure abgesaugt, das Filtrat ausgeäthert (5- bis 6mal), am Wasserbade bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft und schließlich im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure eindunsten gelassen. Jedoch wurde beobachtet, daß bei der Anwendung der berechneten Menge der Salzsäure, beziehungsweise eines geringen Überschusses derselben bessere Ausbeute zu erhalten ist als bei einem großen Überschusse<sup>1</sup> von Salzsäure, wie es in der obigen Arbeit von E. Fischer vorgeschrieben ist.

Der abgesaugte Chlorhydrat wurde mit Alkohol, beziehungsweise mit Äther-Alkohol (1 : 1) nachgewaschen. Das Auswaschen mit Wasser ist in dem Falle unmöglich infolge außerordentlich großer Löslichkeit der Substanz in Wasser. Das Chlorhydrat wurde schließlich im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet und aufbewahrt. An der Luft bei längerem Stehen zerfließt die Substanz.

Ausbeute aus 46·0 g Pikrat zirka 15·2 g Chlorhydrat (56·6%), Schmelzpunkt 192 bis 193°.

### Bestimmung des Drehungsvermögens des Lysinchlorhydrats.

1. 0·4914 g Substanz wurden in 17·0489 g H<sub>2</sub>O (17·06 cm<sup>3</sup>) gelöst. Konzentration der Lösung war 2·88.

$d = 1·0090$ ,  $t = 21·0°$ , bei 10 cm<sup>3</sup> Länge der Schicht war  $a = +0·450$ .

Daraus  $[\alpha]_D = +15·5$ .<sup>2</sup>

2. Indem bei der Darstellung des Chlorhydrats nur etwa 56% der Theorie erhalten wurden, so war es wünschenswert zu bestimmen, welches Drehungsvermögen eine durch Salzsäure zersetzte Pikratlösung zeigen würde, d. h. eine Lösung, in welcher die ganze Menge des aus Lysinpikrat zu erhaltenden Chlorhydrats enthalten war. Es wäre nämlich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der fehlende Teil des Chlorhydrats

<sup>1</sup> In der obigen Arbeit angegeben: 5 g Pikrat in 75 cm<sup>3</sup> Wasser kochend, heiß zu lösen und mit 12·5 cm<sup>3</sup> konzentrierter Salzsäure zersetzen, nach der Berechnung dagegen wären in dem Falle nur zirka 2·3 cm<sup>3</sup> einer 36prozentigen Säure notwendig.

<sup>2</sup>  $[\alpha]_D$  in 1 bis 4prozentiger Lösung: +14·5—15·5. F. P. des Chlorhydrates 193°. Aus Beilstein: Ergänzungsband, III., p. 666.

(zirka 44%) andere optische Eigenschaften hätte als derjenige, welcher kristallinisch erhalten wurde. In der Tat aber wurde, wie die folgende Bestimmung zeigt, gefunden, daß das Drehungsvermögen das gleiche war.

1·4152 g Pikrat, entsprechend 0·8262 g Chlorhydrat, wurden in 21·13 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O gelöst und mit 7·56 cm<sup>3</sup> einer normalen Salzsäure (von Merck) kochend zersetzt, durch trockenes Filter filtriert und ausgeäthert. Konzentration 2·88.  $d = 1·0107$ ,  $t = 17·2^\circ$ , bei 10 cm<sup>3</sup> Länge der Schicht war  $a = +0·455$ . Daraus  $[\alpha]_D = +15·6$ .

### Darstellung der Dioxy- und Aminooxysäure.

Die wässerigen Lösungen des Sulfats, beziehungsweise Chlorhydrats wurden unter Eiskühlung und Anwendung eines Turbinenrührers tropfenweise mit Baryumnitritlösung, respektive mit fein zerriebenem Silbernitrit allmählich versetzt.<sup>1</sup> Nach dem Zusatz des gesamten Nitrits wurde die Lösung samt dem Niederschlage (BaSO<sub>4</sub>, respektive AgCl) unter fortgesetztem Rühren erwärmt und schließlich auf dem Wasserbade bis zum Aufhören der (übrigens schwachen) Gasentwicklung erhitzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und im Filtrate überschüssiges Metall mit geringem Überschuß der Schwefelsäure, respektive Salzsäure ausgefällt, wobei die eventuell entstandenen Salze der Dioxy- und Aminooxysäure zersetzt wurden, wieder filtriert und die Lösung mehrmals (10- bis 12mal) mit Äther geschüttelt, um dadurch die Dioxysäure zu trennen. Bei Anwendung des Baryumnitrits und der Schwefelsäure wurde sodann in der wässerigen Lösung der Überschuß an Schwefelsäure mit Barythydrat ausgefällt und überschüssiges Ba(OH)<sub>2</sub> mit Kohlensäure entfernt und filtriert. Bei Anwendung des Silbernitrits wurde das in Lösung gegangene Silber quantitativ mit Salzsäure ausgefällt. Die wässerigen Lösungen wurden schließlich auf dem Wasserbade zur Hälfte eingedampft und dann im Exsikkator im Vakuum eindunsten gelassen. Die weitere Verarbeitung sowohl der ätherischen Auszüge wie auch der wässerigen Lösungen ist bei jedem Versuche besonders beschrieben.

<sup>1</sup> Die Anordnung des Versuches war ähnlich derjenigen zur Darstellung des Chinons in Gattermann's »Praxis des org. Chemikers«, IV. Aufl., p. 227.

## Versuch I.

10 g Chlorhydrat wurde in das Sulfat übergeführt und mit 25 g Baryumnitrit, gelöst in 150  $cm^3$  Wasser, behandelt (berechnet wäre für 1 Molekül Sulfat 10·5 g Nitrit).

1. Aus dem ätherischen Auszuge wurde zirka 1·0 g Rückstand erhalten. Derselbe zeigte eine deutliche Salpetersäurereaktion, die auch nach längerem (2 bis 3 Wochen) Stehen im Vakuum über festem Ätzkali bestehen blieb, aber bedeutend schwächer wurde. Schließlich wurde zur Darstellung des Calciumsalzes die Substanz mit überschüssigem chlorfreien Kalk behandelt und nach der Entfernung des überschüssigen Kalks mit Kohlensäure die Lösung des Calciumsalzes im Vakuum verdunsten gelassen. Das Salz wurde dann noch mit kaltem Alkohol nachgewaschen, um das Calciumnitrat zu entfernen, was aber nicht vollständig gelang. Erhalten wurden zirka 0·2 g.

Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

0·1925 g Substanz gaben 0·2962 g  $CO_2$  und 0·0998 g  $H_2O$ .

In 100 Teilen:

	Berechnet für $Ca(C_6H_{11}O_4)_2$	Gefunden
C.....	43·07	41·96
H.....	6·65	5·69

Die Darstellung des Kupfersalzes wie auch des Silbersalzes gelang nicht, weil mit Kupferacetat keine Fällung entstand und die Fällung mit Silbernitrat sich rasch am Licht zersetzte. Die Fällungen wurden in einer Lösung des Baryumsalzes der Dioxysäure angestellt, welche in analoger Weise wie diejenige des Calciumsalzes dargestellt wurde.

2. Aus der wässrigen Lösung wurden zirka 5·0 g Rückstand erhalten. Derselbe gab eine deutliche Stickstoffreaktion, mit Phosphorwolframsäure wurde eine Fällung erhalten, was auf Anwesenheit von unzersetztem Lysin deutete. Infolgedessen wurde die Lösung mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Das Phosphorwolframat wurde abgesaugt, getrocknet. Es wog 2·7 g.

Aus dem Filtrate wurde die überschüssige Phosphorwolframsäure mit Baryumhydroxyd entfernt, Ätzbaryt mit Kohlensäure ausgefällt, filtriert und die Lösung eingedampft.

Der Rückstand wog 3·7 g.

Derselbe wurde in heißem (96prozentigem) Alkohol aufgenommen, vom gelbbraunen Rückstande abfiltriert und im Vakuum erkalten gelassen. Am nächsten Tage wurde eine reichliche Abscheidung von winzigen weißen Kugeln beobachtet, die abgesaugt und noch einmal aus heißem Alkohol umkristallisiert wurden. Diese zeigten eine alkalische Reaktion.

Die Substanz wurde in wenig Wasser gelöst und zur Lösung ungefähr das Dreifache an Alkohol zugesetzt. Dabei schied sich eine weiße amorphe Substanz ab. Dieselbe war neutral und hatte einen Schmelzpunkt von 197 bis 198°. Die Substanz wurde nochmals aus Wasser durch Eindunstenlassen im Vakuum abgeschieden und dabei wurde eine sehr deutliche Kristallisation in Nadeln beobachtet. Letztere wurden mit Alkohol angerührt und abgesaugt. **F. P. 200 bis 201°.** Ausbeute 0·35 g.

Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

I. 0·1788 g Substanz gaben 0·3192 g CO<sub>2</sub> und 0·1414 g H<sub>2</sub>O.

II. 0·1211 g Substanz gaben bei 19·4° und 740·0 mm 10·5 cm<sup>3</sup> Stickstoff.

In 100 Teilen:	Berechnet für <u>C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>O<sub>3</sub>N</u>	Gefunden	
		I	II
C .....	48·92	48·68	—
H .....	8·92	8·86	—
N .....	9·54	—	9·88

Der Analyse zufolge ist der Körper eine Aminooxycapronsäure.

Die alkoholischwässrige Lösung wurde im Vakuum vollständig verdunstet, wobei sich außer einer amorphen gelblichen Substanz, die am Rande der Schale sich abgeschieden hatte, am Boden eine Schichte von einheitlich aussehenden, zitronengelben Kristallen zeigte. Diese wurden vorsichtig von der Substanz am Rande getrennt und aus zirka 50% Alkohol im

Vakuum auskristallisiert. F. P. 176 bis 178°. Reaktion alkalisch. Ausbeute 0·15 g. Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

I. 0·0560 g Substanz lieferten 0·0988 g CO<sub>2</sub> und 0·0456 g H<sub>2</sub>O.

II. 0·0703 g Substanz lieferten bei 19·0° und 728 mm 6·0 cm<sup>3</sup> Stickstoff.

In 100 Teilen:

	Gefunden	
	I	II
C .....	48·12	—
H .....	9·13	—
N .....	—	9·57

Nach der Analyse zu schließen, könnte der Körper ebenfalls eine Aminooxysäure sein. Damit steht aber nicht ganz im Einklange die alkalische Reaktion des Körpers, die keinesfalls von den Verunreinigungen stammt.

#### Versuch II.

3 g Chlorhydrat wie früher in Sulfat übergeführt und mit 4 g Baryumnitrit, in 50 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, behandelt (berechnet für 1 Molekül — zirka 3·11 g Nitrit).

1. Aus dem ätherischen Auszuge wurde ein Rückstand von 0·02 g erhalten, der weder Baryum noch Schwefelsäure, auch keine Salpetersäure und keinen Stickstoff enthielt. Mit Phosphorwolframsäure entstand ebenfalls keine Fällung. Daraus läßt sich mit Wahrscheinlichkeit annehmen, daß der Rückstand reine Dioxysäure war, dieselbe kristallisierte aber nicht.

2. Die wässrige Lösung wurde in derselben Weise, wie bei dem ersten Versuche verarbeitet und es wurde auch eine ähnliche Substanz in geringer Menge erhalten, die aber nicht untersucht wurde.

Das unzersetzte Lysin lieferte 2·2 g Phosphorwolframat, was etwa 0·22 g organischer Substanz entspricht.

#### Versuch III.

0·96 g Chlorhydrat wurden mit 1·37 g Silbernitrit behandelt (berechnet 1·35 g Nitrit).

Der ätherische Auszug hinterließ einen spurenweisen Rückstand.

Das unzersetzte Lysin lieferte 1·8 g Phosphorwolframat, was etwa 0·18 g organischer Substanz entspricht.

Die wässrige Lösung, wie früher verarbeitet, lieferte eine ähnliche Substanz in geringer Quantität (0·17 g).

#### Versuch IV.

1 g Chlorhydrat wurde mit 7·0 g Silbernitrit behandelt (berechnet für 2 Moleküle Nitrit 1·4 g).

Der ätherische Auszug hinterließ 0·1 g Rückstand, der salpetersäurehaltig war.

#### Einfachere Methode zur Darstellung der Dioxy- und Amino-oxysäuren.

Auf Grund der Ergebnisse der beschriebenen Versuche läßt sich die Darstellung der Säuren aus Lysinpikrat wohl folgenderweise vereinfachen:

1. Da das Drehungsvermögen einer mit Salzsäure zersetzten und vollständig ausgeätherten Lysinpikratlösung gleich ist demjenigen einer Lösung des kristallisierten Chlorhydrates, dieselbe Konzentration der Lösungen vorausgesetzt, so kann die Darstellung des kristallisierten Chlorhydrats, beziehungsweise Sulfats, was mit großem Verlust an Substanz verbunden ist, unterlassen werden und die mit Schwefelsäure zersetzte und ausgeätherte Pikratlösung direkt mit Baryumnitrit behandelt werden.

2. Da nach dem Versuche I bei Anwendung von 25 g Baryumnitrit auf 11 g Sulfat (erhalten aus 10 g Chlorhydrat) nur 2·7 g Phosphorwolframat erhalten wurden, was etwa 0·2 bis 0·3 g unzersetzter organischer Substanz entspricht, so ist die Annahme begründet, daß bei fortgesetzter Einwirkung des Nitrits auch dieser Rest des Lysins zersetzt wurde und auf diese Weise die umständliche Ausfällung mit Phosphorwolframsäure unterbleiben könnte.

Folglich lautet jetzt die Methode der Darstellung folgendermaßen: Lysinpikrat wird in möglichst wenig <sup>1</sup> heißem Wasser

---

<sup>1</sup> Pikrat löst sich bei 21 bis 22° in 180 bis 190 Teilen Wasser (Lawrow), bei 100° in etwa 10 Teilen.

gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure im geringen Überschuß kochend zersetzt, nach dem Erkalten die abgeschiedene Pikrinsäure abgesaugt und dann so lange ausgeäthert, bis der Äther keinen Rückstand mehr hinterläßt (wozu etwa zehn Ausschüttlungen notwendig sind), dann mit Baryumnitrit in beschriebener Weise behandelt, und zwar auf je 10 g Sulfat mindestens 25 g Nitrit, und am Wasserbade das Ganze erwärmt. Jetzt wird eine kleine Probe herausgenommen, in derselben überschüssiges Baryumnitrit mit Natriumcarbonat ausgefällt, filtriert und mit Phosphorwolframsäure geprüft. Entsteht dabei eine weiße Fällung, so ist die Behandlung mit Baryumnitrit zu wiederholen (mit z. B. 5 g Nitrit) und nach der Beendigung derselben und wiederholtem Erwärmen am Wasserbade, die Probe mit Phosphorwolframsäure in oben beschriebener Weise zu wiederholen. Entsteht jetzt kein oder nur sehr geringer Niederschlag, welcher eventuell zu vernachlässigen wäre, so ist die Zersetzung beendet und die wässrige Lösung kann jetzt nach dem Ausäthern verdampft und in früher beschriebener Weise weiter verarbeitet werden.

---