

Neue Reagentien zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren

Von

Helga Wittmann

Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie
der Universität Graz

(Eingegangen am 17. Juni 1964)

Es wird über 1,8-Trimethylenchinoisatin (II) und 1,9-Mesoxalylcarbazol (III), die sich als empfindliche Reagentien zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren erweisen, berichtet.

1,8-Trimethylenequinisatin (II) and 1,9-mesoxalylcarbazole (III) have been found to be sensitive reagents for the detection of amino acids on paper chromatograms.

Bei der thermischen Zersetzung von 4-Hydroxy-3-chlor-3-nitro-carbostyryl entsteht, wie die Untersuchungen von *Th. Kappe* und *E. Ziegler*¹ an Chlornitromalonylverbindungen zeigten, Chinisatin (I). Diese Verbindung erzeugt auf der Haut eine violette Färbung und zeigt in ihrer Konstitution große Ähnlichkeit mit dem schon lange als Reagens auf Aminosäuren verwendeten Ninhydrin. Da auch andere o-Diketoverbindungen, wie das *Folin*-Reagens² (Na- β -Naphtho-chinonsulfonat) oder o-Diacetylbenzol³ und Dehydroascorbinsäure⁴, zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren geeignet sind, war es naheliegend, dasselbe mit I zu versuchen.

Die mit einer 0,4proz. Lösung von I in Butanol—2 *n*-Essigsäure (95:5) besprühten Chromatogramme von Aminosäuren geben nach 5 Min. bei 100° nur sehr schwach rötlich gefärbte Flecke. Die Reaktion von I mit den Aminosäuren zeigt große Ähnlichkeit mit der des Isatins, denn

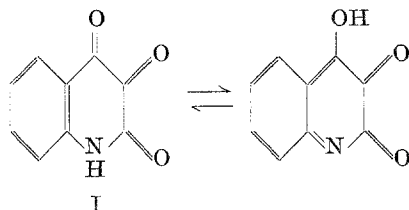
¹ *Th. Kappe* und *E. Ziegler*, *Mh. Chem.* **95**, 415 (1964).

² *O. Folin*, *J. Biol. Chem.* **51**, 377 (1922).

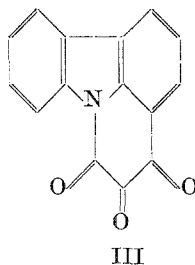
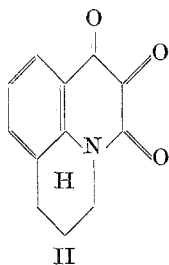
³ *R. Riemschneider* und *C. Weygand*, *Mh. Chem.* **86**, 201 (1955).

⁴ *R. Pohloudek-Fabini* und *W. Fürtig*, *J. Chromatogr.* **13**, 139 (1964).

auch dieses gibt mit Aminosäuren nur eine blaßblaue Färbung und wird vor allem für den Nachweis von Prolin und Hydroxyprolin verwendet. Man könnte nun annehmen, daß im Chinisatin (I) durch eine tautomere Verschiebung des am Stickstoff gebundenen Wasserstoffes keine echte o-Dicarbonylverbindung vorliegt und daher die Reaktion mit den Aminosäuren unterbleibt.



Für die folgenden Versuche wurden zwei weitere Verbindungen, die ebenfalls am hiesigen Institut^{1, 5} synthetisiert worden sind, herangezogen. Es sind dies das 1,8-Trimethylenchinisatin (II) und 1,9-Mesoxalylcarbazol (III). Diese beiden Verbindungen haben kein bewegliches Wasserstoffatom am Stickstoff, weshalb man erwarten kann, daß sie sich gegenüber Aminosäuren anders als Chinisatin (I) verhalten sollten.



0,2proz. Lösungen von II und III geben beim Besprühen von Papierchromatogrammen der Aminosäuren nach 5 Min. bei 100° *blaue* Farbflecke, die es gestatten, mit Ausnahme von Leu, Val, Phe, Tyr, Pro, Try und Hypro, 1 µg der Aminosäuren so deutlich nachzuweisen, daß man sicherlich noch kleinere Mengen davon sichtbar machen könnte (siehe Tab. 1). Außerdem weisen die Farbflecke große Haltbarkeit auf und sind auch nach Wochen noch deutlich sichtbar.

Aus Tab. 1 ist ersichtlich, daß 1,8-Trimethylenchinisatin (II) und 1,9-Mesoxalylcarbazol (III) sehr empfindliche Reagentien zum papierchromatographischen Nachweis von Aminosäuren darstellen. Nach Angabe von *R. Pohloudek-Fabini* und *W. Fürtig*⁴ kann man mittels Dehydroascorbinsäure, mit Ausnahme von Glutaminsäure (1 µg), Amino-

⁵ *E. Ziegler* und *Th. Kappe*, *Mh. Chem.* **95**, 59 (1964).

Tabelle 1. μg Aminosäure, die sich mit II und III deutlich nachweisen lassen

Aminosäure	II a	II b	III a	III b
Alanin	2	1	1	1
Arginin	3	1	1	1
Asparaginsäure	3	1	1	1
Asparagin	3	1	1	1
Cystin	10	1	1	1
Cystein	5	1	1	1
Glutaminsäure	2	1	1	1
Glutamin	3	1	1	1
Glycin	2	1	1	1
Histidin	3	1	1	1
Hydroxyprolin	—	—	15	20
Leucin	3	1	1	1
Lysin	3	1	1	1
Methionin	10	1	1	1
Ornithin	3	1	1	1
Phenylalanin	3	1	1	1
Prolin	3	3	5	5
Serin	3	1	1	1
Tryptophan	10	1	1	1
Tyrosin	3	1	1	1
Valin	3	1	1	1

II a und III a: 0,2proz. Lösung in Butanol—2*n*-Essigsäure (95:5).

II b und III b: 0,2proz. Lösung in Äthanol.

säuren nur in Konzentrationen von 2—3 μg und einige (Phe, Tyr, Try) bis 10 μg nachweisen. Für Prolin und Hydroxyprolin liegt die Nachweisgrenze bei 25 μg . Auch *o*-Diacetylbenzol³ gibt nur deutliche Farbflecke bei größeren Aminosäurekonzentrationen; für Asp, Leu, Thr und Val sogar 20—50 μg . Ein Vergleich mit dem gebräuchlichsten Reagens auf Aminosäuren, dem Ninhydrin, zeigt, daß II und III diesem völlig gleichwertig sind.