

2. Briasco, J. D. and Murray, J. J. *Appl. Chem. (London)* **2** (1952) 187.
3. Pentegova, V. A., Motl, O. and Herout, V. *Collection Czech. Chem. Commun.* **26** (1961) 1362, p. 1372.
4. Büchi, G., Feairheller, S. H., de Mayo, P. and Williams, R. E. *Proc. Chem. Soc.* **1963** 214.
5. Pliva, J., Horák, M., Herout, V. and Šorm, F. *Die Terpene I*, Berlin 1960, S. 64.
6. Šýkora, V., Herout, V. and Šorm, F. *Collection Czech. Chem. Commun.* **23** (1958) 2181.
7. Herout, V., Kološ, T. and Pliva, J. *Collection Czech. Chem. Commun.* **18** (1953) 886.
8. Brown, H. C., Moritani, I. and Okamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **78** (1956) 2193.
9. Norin, T. and Westfelt, L. *Acta Chem. Scand.* **17** (1963) 1828.
10. Gupta, A. S. and Dev, S. J. *Chromatog.* **12** (1963) 189.
11. Herout, V. and Šantavý, F. *Collection Czech. Chem. Commun.* **19** (1954) 118.
12. Rao, M. V. R. K., Rao, G. S. K. and Dev, S. *Tetrahedron Letters* **1960** No. 27, 27.
13. Soffer, M. D., Günay, G. E., Korman, O. and Adams, M. B. *Tetrahedron Letters* **1963** 389.

Received February 20, 1964.

A Simple Test for Amines

NILS LÖFGREN and
CARL AXEL WACHTMEISTER

*Institute of Organic Chemistry, University of
Stockholm, Stockholm, Sweden*

At this institute, a general test for amines has been found valuable and has been used successfully at student courses during the past twelve years.

To 0.03 ml (base) or 20–30 mg (base or salt) of the sample in a test tube is added 0.06 ml (2 drops) of water, 1 ml of diethyl ether and 300–500 mg of anhydrous sodium carbonate. The tube is stoppered and is shaken vigorously for half a minute. The clear ethereal solution is decanted carefully into a small test tube containing 1 ml of a saturated solution of anhydrous oxalic acid in dry diethyl ether (8 g/100 ml). An immediate precipitate

— often crystalline — indicates the presence of an amine or a salt of an amine in the unknown sample.

The test gives positive results with any amines — aliphatic, aromatic or heterocyclic — provided the base is not too weak or of too low solubility in ether. Thus even such weak bases as *m*- and *p*-chloroaniline or *p*-nitrophenylhydrazine give a positive reaction, whereas extremely weak bases like *o*-nitroaniline, 2,4-dichloroaniline, 2,4-dinitrophenylhydrazine, diphenylamine, and carbazole do not react.

Due to the salting out effect of the sodium carbonate, several strongly hydrophilic amines such as ethylenediamine and ethanolamine give distinctly positive reactions.

Received February 26, 1964.

α -Keto- δ -guanidinovaleriansäure und γ -Hydroxy- α -ketoglutarsäure in grünen Teilen und Samen von *Phlox* Pflanzen

GERHARD BRANDNER und
ARTTURI I. VIRTANEN

*Laboratorium der Stiftung für Chemische
Forschung, Biochemisches Forschungsinstitut,
Helsinki, Finnland*

Im Zusammenhang mit Untersuchungen des Stoffwechsels der Aminosäuren bei *Phlox decussata*¹ untersuchten wir auch das Vorkommen von Ketosäuren, da sie durch enzymatische reduktive Transaminierung mit Aminosäuren im Gleichgewicht stehen können.

Nach Isolierung der Ketosäuren aus Blättern oder Samen von *Phlox decussata* und Umsetzung mit Dinitrophenylhydrazin zu den Hydrazonen erhielten wir daraus durch Hydrogenolyse mit Zinn in alkoholischer Salzsäure (4°; 12 Stunden) die entsprechenden Aminosäuren,² die wir durch Papier- und Dünnschichtchromatographie auftrennten. Hierbei fanden wir neben den in den Pflanzen allgemein vorkommenden Ketosäuren: Glyoxylsäure (= 1. Glykokoll), Brenztraubensäure (= 2. Alanin), Hydroxybrenztraubensäure (= 8.

Acta Chem. Scand. **18** (1964) No. 2

Serin), Oxalessigsäure (= 16. Asparaginsäure), α -Ketoglutarinsäure (= 17. Glutaminsäure) folgende neue oder selten in Pflanzen gefundene Ketosäuren: α -Ketoisovaleriansäure (= 3. Valin), *p*-Hydroxyphenyl-brenztraubensäure (= 7. Tyrosin), α -Keto- δ -guanidinovaleriansäure (= 14. Arginin) und γ -Hydroxy- α -ketoglutarinsäure (= 84. γ -Hydroxyglutaminsäure). Ausserdem wurden einige, mit Butanol-Essigsäure-Wasser wandernde Flecke und ein nach Ninhydrinbehandlung gelbgefärbter Fleck X in der Nähe des Hydroxyprolin-Fleckes auf Papierchromatogramm gefunden (Abb. 1).

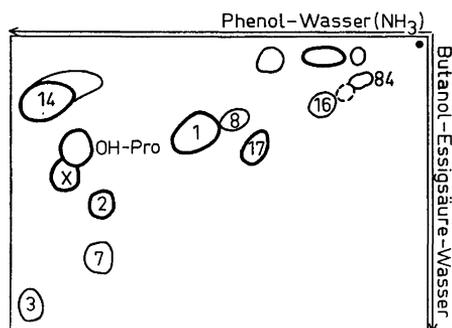


Abb. 1. Zweidimensionales Chromatogramm von Aminosäuren gebildet aus den Ketosäuren in *Phlox decussata* nach Umsetzung mit Dinitrophenylhydrazin und durch Hydrogenolyse der Hydrazonen. 1. Gly, 2. Ala, 3. Val, 7. Tyro, 8. Ser, 14. Arg, 16. Asp, 17. Glu, 84. γ -OH-Glu, X. unbek. gelb. Fleck.

Eine basische Aminosäure (Abtrennung mit Dowex 1 \times 8, Acetatform) war nach Hydrogenolyse in grosser Konzentration vorhanden. Die Verbindung gab mit dem Guanidin-Reagenz nach Sakaguchi (8-Hydroxychinolin/NaOBr) dieselbe intensive Orange-Färbung wie Arginin. Im chromatographischen Vergleich mit Arginin zeigten sie dieselben R_F -Werte. Die Ketosäure wurde somit chromatographisch mit α -Keto- δ -guanidinovaleriansäure identifiziert. Sie scheint nicht früher in höheren Pflanzen gefunden worden zu sein, wohl aber in animalischen Organismen.

Arginin kommt auch in kleinen Mengen als freie Aminosäure in *Phlox decussata* vor (vgl. unsere frühere Mitteilung,¹ Abb. 1, ganz links, oben, die mit Fragezeichen

markierte Aminosäure). γ -Hydroxyglutaminsäure, welche vor zehn Jahren in diesem Laboratorium aus *Phlox* isoliert wurde,³ und die entsprechende Ketosäure, γ -Hydroxy- α -ketoglutarinsäure, deren Bildung durch Transaminierung im Homogenat derselben Pflanze bewiesen werden konnte,³ sind in jüngster Zeit zum Gegenstand zunehmenden Interesses geworden. Goldstein und Adams⁴ haben die Transaminierung von *threo*- und *erythro*- γ -Hydroxy-L-glutamat mit einem weitgehend gereinigten Enzympräparat aus Rattenleber eingehend untersucht. Adams und Goldstein⁵ haben die enzymatische Synthese des γ -Hydroxyglutamats aus Δ^1 -Pyrrolin-3-hydroxy-5-carboxylat gefunden und den Mechanismus der Reaktion erklärt.

Die wahrscheinliche Biosynthese der γ -Hydroxy- α -ketoglutarinsäure aus Glyoxylsäure und Brenztraubensäure (Virtanen)⁶ wurde mit einem Enzym aus Rattenleber realisiert (Kuratomi und Fukunaga)⁷ und auch in Pflanzenextrakten bewiesen (Payes und Laties).⁸ Payes und Laties⁹ haben bewiesen, dass γ -Hydroxy- α -ketoglutarat ein effektiver kompetitiver Hemmstoff mehrerer Enzyme des Tricarboxylsäurecyclus ist und auch eine Zwischenstufe in der cyclischen, von Pyruvat katalysierten Oxidation des Glyoxylats sein kann.

Diese Untersuchung wurde zum Teil von U. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, unterstützt.

1. Brandner, G. und Virtanen, A. I. *Acta Chem. Scand.* **17** (1963) 2563.
2. Alfthan, M. und Virtanen, A. I. *Acta Chem. Scand.* **9** (1955) 186.
3. Virtanen, A. I. und Hietala, P. K. *Acta Chem. Scand.* **9** (1955) 175.
4. Goldstein, A. und Adams, E. *J. Biol. Chem.* **237** (1962) 3476.
5. Adams, E. und Goldstein, A. *J. Biol. Chem.* **235** (1960) 3504.
6. Virtanen, A. I. *Festschrift Arthur Stoll*, Basel 1956, S. 565.
7. Kuratomi, K. und Fukunaga, K. *Biochim. Biophys. Acta* **43** (1960) 562.
8. Payes, B. und Laties, G. G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **13** (1963) 179.
9. Payes, B. und Laties, G. G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **10** (1963) 460.

Eingegangen am 11. März 1964.