

# Ueber das Vorkommen von Glutamin in grünen Pflanzentheilen.

Von  
**E. Schulze.**

Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.  
(Der Redaction zugegangen am 20. October 1894.)

Zur Ausführung der im Folgenden beschriebenen Untersuchung wurde ich durch Herrn Professor W. Palladin aus Charkow veranlasst. Bei Gelegenheit eines mehrwöchentlichen Aufenthalts in Zürich theilte mir derselbe mit, dass von ihm selbst wie von Borodin weder in den Pflanzen aus der Familie der Caryophyllaceen noch in den Farnkräutern (Filices) Asparagin gefunden worden sei; er knüpfte daran die Vermuthung, dass in diesen Pflanzen statt des genannten Amids Glutamin sich vorfinde<sup>1)</sup>.

Die Richtigkeit dieser Vermuthung ist durch die im Folgenden beschriebenen Versuche bewiesen, deren Ausführung z. Th. noch während der Anwesenheit des Herrn W. Palladin in meinem Laboratorium erfolgte. In diesen Versuchen gelang es sowohl aus Farnkräutern als aus *Saponaria officinalis*, einer bekanntlich zur Familie der Caryophyllaceen gehörenden Pflanze, Glutamin abzuscheiden.

Verwandt mit den Caryophyllaceen sind die Chenopodiaceen, zu denen die Rübe (*Beta vulgaris*) gehört — diejenige Pflanze, aus deren fleischiger Wurzel zuerst Glutamin isolirt worden ist. Es schien angezeigt, zu prüfen, ob auch in den Blättern dieser Pflanze Glutamin sich bilden kann. Das Experiment gab auch hier ein positives Resultat.

Ueber die Einzelheiten dieser Versuche geben die nachfolgenden Mittheilungen Auskunft.

<sup>1)</sup> M. vgl. auch Palladin's in russischer Sprache erschienene Schrift «Ueber den Einfluss des Sauerstoffs auf den Eiweisszerfall in den Pflanzen», Warschau, 1890.

### A. Glutamin aus Farnkräutern.

Als Versuchsobject diente hauptsächlich der Adlerfarn (*Pteris aquilina*). Junge, in der ersten Hälfte des Juni eingesammelte Exemplare dieser Pflanze wurden theils sofort verarbeitet, theils zuvor 24—72 Stunden lang, mit den abgeschnittenen Stengeln in Wasser gestellt, im Dunkeln gelassen, um sie etwas reicher an Eiweisszersetzungsproducten zu machen<sup>1)</sup>. Dann wurden sie mittelst eines Wiegemessers zerkleinert und hierauf mit Wasser von 40—50° C. extrahirt. Den braun gefärbten Extract versetzte ich mit etwas Gerbsäure, dann mit Bleiessig, so lange noch eine Fällung entstand. Der vom Bleiniederschlag abfiltrirte klaren und farblosen Flüssigkeit fügte ich eine wässrige Mercurinitrat-Lösung zu. Es entstand ein starker weisser Niederschlag, welcher auf einem Filter gesammelt, mit Wasser gut ausgewaschen und schliesslich zwischen Fliesspapier abgepresst wurde; dann vertheilte ich ihn in Wasser und leitete Schwefelwasserstoff im Ueberschuss ein. Die durch Filtration vom Schwefelquecksilber getrennte Flüssigkeit wurde mit Ammoniak neutralisirt und sodann im Wasserbade bei gelinder Wärme (bei circa 50° C.)<sup>2)</sup> auf ein geringes Volumen eingedunstet; da sie während des Eindunstens nach und nach wieder saure Reaction annahm, so wurden von Zeit zu Zeit einige Tropfen Ammoncarbonat-Lösung zugefügt. Aus der auf eine genügende Concentration gebrachten Flüssigkeit begann bald nach dem Erkalten die Ausscheidung von Krystallen; dieselbe erfolgte nach und nach in so reichlichem Maasse, dass eine breiartige Masse entstand. Die Krystalle wurden durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der Mutterlauge befreit und sodann

<sup>1)</sup> An den in der beschriebenen Weise behandelten Pflanzen von *Pteris aquilina* beginnen nach kürzerer oder längerer Zeit die Spitzen der Wedel trocken zu werden; ich habe daher die Pflanzen nur kurze Zeit (höchstens 72 Stunden) im Dunkeln belassen und sie zum Theil gleich nach dem Einsammeln verarbeitet. Alle für die Versuche verwendeten Pflanzen waren über dem Boden abgeschnitten und also frei von Wurzeln.

<sup>2)</sup> Da das Glutamin sich schon beim Kochen mit Wasser langsam zersetzt, so ist es angezeigt, das Eindunsten der glutaminhaltigen Lösungen bei schwacher Wärme vorzunehmen.

mit kaltem Wasser behandelt. Der weitaus grösste Theil derselben ging in Lösung; zurück blieb in sehr geringer Menge eine in kaltem Wasser sehr schwer lösliche Substanz, welche höchstwahrscheinlich Tyrosin war (sie erschien nach dem Auflösen in verdünnter Salzsäure und Wiederausfällen mittelst Ammoniaks unter dem Mikroskop in feinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln und gab sowohl die Hofmann'sche wie die Piria'sche Reaction). Aus der davon abfiltrirten Flüssigkeit krystallisirte nach dem Eindunsten eine Substanz, welche im Aussehen und im Verhalten mit Glutamin übereinstimmte<sup>1)</sup>. Nach dem Trocknen bildete sie eine weisse, aus sehr feinen prismatischen Krystallen bestehende Masse, welche sich leicht in kochendem, nicht ganz leicht in kaltem Wasser auflöste; in einer gesättigten wässerigen Glutaminlösung war sie unlöslich. In 95procentigem Weingeist löste sie sich nicht; in heissem verdünnten Weingeist war sie löslich und krystallisirte daraus beim Erkalten der Flüssigkeit in feinen Nadeln. Beim Erwärmen der wässerigen Lösung mit Kupferoxydhydrat entstand eine lasurblaue Flüssigkeit, aus welcher nach dem Erkalten eine krystallinische Kupferverbindung sich ausschied. In dieser Verbindung wurde ein Kupfergehalt gefunden, welcher der Formel des Glutaminkupfers ( $C_5H_9N_2O_3$ ), Cu entspricht, wie folgende Angaben beweisen<sup>2)</sup>:

1. 0,5560 gr. Substanz, bei 105° getrocknet, gaben 0,1265 gr. Cu O.
2. 0,5780 gr. Substanz, in der gleichen Weise getrocknet, gaben 0,1310 gr. Cu O.

	Gefunden:		Berechnet:
	1.	2.	
Cu	18,15	18,08	17,94 %.

<sup>1)</sup> Nach dem Umkrystallisiren war sie frei von Tyrosin; ihre wässerige Lösung gab beim Erhitzen mit Millon's Reagens keine Färbung.

<sup>2)</sup> Um das Glutamin wieder gewinnen zu können, führte ich die Kupferbestimmung in folgender Weise aus: Die fein zerriebene Kupferverbindung wurde in Wasser vertheilt und mit Schwefelwasserstoff behandelt. Nachdem die Flüssigkeit mitsammt dem Niederschlage im Wasserbade auf ein geringes Volumen eingedunstet worden war, wurde das Schwefelkupfer abfiltrirt, ausgewaschen, getrocknet, im Tiegel geglüht, dann mit Salpetersäure erhitzt; in der so erhaltenen Kupferlösung bestimmte ich das Kupfer durch Ausfällen mittelst Natronlauge als Kupferoxyd.

Beim Erwärmen mit Natronlauge zersetzte sich diese Substanz unter Ammoniakentwicklung. Dass auch durch verdünnte Salzsäure Ammoniak abgespalten wurde, war leicht zu constatiren, indem man die Substanz mit der genannten Säure erhitzte, die Flüssigkeit nach dem Erkalten mit Natronlauge neutralisirte und dann Nessler'sches Reagens zusetzte; es entstand ein starker braungelber Niederschlag<sup>1)</sup>).

Wenn auch schon aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen sich schliessen liess, dass die vorliegende Substanz Glutamin war, so habe ich doch aus derselben zur Bestätigung dieser Schlussfolgerung noch Glutaminsäure dargestellt. Zu diesem Zweck wurden ungefähr  $2\frac{1}{2}$  gr. der Krystalle mit Barytwasser erhitzt, bis keine Ammoniakentwicklung mehr zu bemerken war, dann wurde der Baryt durch Schwefelsäure ausgefällt und die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit im Wasserbade auf ein geringes Volumen eingedunstet. Die nach einiger Zeit sich ausscheidenden Krystalle trennte ich von der Mutterlauge, löste sie in Wasser und sättigte die Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es entstand eine lasurblaue Flüssigkeit, aus welcher sich, nachdem sie im Wasserbade etwas concentrirt worden war, bald nach dem Erkalten ein sehr schwer lösliches Kupfersalz in blauen Krystallen ausschied. Eine darin ausgeführte Kupferbestimmung gab ein Resultat, welches der von Ritthausen für das glutaminsaure Kupfer aufgestellten Formel  $= C_5H_7NO_4Cu + 2\frac{1}{2} H_2O$  entspricht, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist<sup>2)</sup>:

0,8440 gr. Substanz gaben 0,2665 gr. CuO.

	Gefunden:	Berechnet:
Cu	25,20	24,96 %.

Die aus diesem Kupfersalz mittelst Schwefelwasserstoffs wieder abgeschiedene Säure glich im Aussehen und Verhalten

<sup>1)</sup> Zu bemerken ist, dass die wässrige Lösung des zur Verwendung gelangten Glutaminpräparats mit Nessler'schem Reagens nur äusserst schwache Gelbfärbung gab und also Ammoniak nur in einer nicht mehr in Betracht kommenden Quantität enthielt.

<sup>2)</sup> Die Kupferbestimmung wurde in diesem Falle ebenso ausgeführt, wie beim Glutaminkupfer.

völlig der Glutaminsäure. Sie krystallisirte in kleinen, in kaltem Wasser schwer löslichen Blättchen. Im Capillarröhrchen schmolz sie gleichzeitig mit einer aus Rüben-Glutamin dargestellten Glutaminsäure-Probe bei 204—205<sup>01</sup>). Aus einer Auflösung der Säure in heisser concentrirter Salzsäure schieden sich nach dem Erkalten Krystalle ab, welche im Aussehen mit salzsaurer Glutaminsäure übereinstimmten.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es zweifellos, dass die in der beschriebenen Weise aus *Pteris aquilina* dargestellte Substanz Glutamin war.

Ich habe viermal Pflanzen von *Pteris aquilina* in der beschriebenen Weise verarbeitet und aus den Extracten stets die im Vorigen beschriebene Substanz erhalten.

Ferner habe ich auch noch zwei andere Farnkräuter, nämlich *Aspidium filix mas* und *Asplenium filix femina* untersucht. Die über dem Boden abgeschnittenen Wedel derselben wurden mit den unteren Enden in Wasser gestellt und fünf Tage lang in einem dunklen Zimmer belassen<sup>2)</sup>); dann verarbeitete ich sie ganz ebenso, wie es oben für *Pteris aquilina* beschrieben worden ist. Aus den Niederschlägen, welche in den zuvor durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten Extracten durch Mercurinitrat hervorgebracht wurden, konnte ich auch hier eine Substanz isoliren, welche im Aussehen wie im Verhalten mit Glutamin übereinstimmte. Sie wurde sowohl beim Erwärmen mit Natronlauge wie mit verdünnter Salzsäure unter Abspaltung von Ammoniak zersetzt; aus der in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigten wässerigen Lösung schied sich nach dem Erkalten eine krystallinische Kupferverbindung

1) Da der Schmelzpunkt der Glutaminsäure je nach den Umständen (Art des Erhitzens etc.) variirt, so war es nöthig, die Bestimmung in der oben angegebenen Weise auszuführen, d. h. also zwei Capillarröhrchen, von denen das eine die auf ihre Identität mit Glutaminsäure zu prüfende Substanz, das zweite eine genau nach dem gleichen Verfahren aus Rüben-Glutamin dargestellte Glutaminsäure-Probe enthielt, gleichzeitig in die zum Erhitzen der Röhrchen dienende Schwefelsäure einzusenken und nun zu prüfen, ob die Proben gleichzeitig schmolzen.

2) Sie zeigten nach 5tägigem Verweilen im Dunklen noch ein normales Aussehen.

ab. Die Substanz löste sich nicht ganz leicht in kaltem Wasser; sie war unlöslich sowohl in einer gesättigten wässrigen Glutaminlösung<sup>1)</sup> als in Weingeist. Dass diese Substanz Glutamin war, kann wohl, wenn nicht für völlig sicher, doch wenigstens für sehr wahrscheinlich erklärt werden. Analytische Bestimmungen habe ich nicht ausführen können, weil die Quantität, in der ich die besprochene Substanz erhielt, in beiden Fällen nur eine geringe war.

### B. Glutamin aus *Saponaria officinalis*.

Für die Untersuchung verwendete ich junge 30—33 cm. hohe Pflanzen von *Saponaria officinalis*, welche im Mai dem Garten unseres Instituts entnommen waren. Sie wurden mit den abgeschnittenen Stengeln in Wasser gestellt und 5 Tage in einem dunklen Raume gelassen<sup>2)</sup>; dann verarbeitete ich sie ganz ebenso wie es oben für die Farnkräuter beschrieben worden ist. Aus dem Niederschlag, welchen Mercurinitrat in einem zuvor durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten wässrigen Extract hervorbrachte, liess sich leicht eine im Aussehen und Verhalten<sup>3)</sup> mit Glutamin übereinstimmende Substanz isoliren. Eine in der krystallinischen Kupferverbindung ausgeführte Kupferbestimmung ergab ein der Formel des Glutaminkupfers =  $(C_5H_9N_2O_3)_2Cu$  entsprechendes Resultat, wie folgende Angaben beweisen.

0,5855 gr. Substanz bei 105° getrocknet, gaben 0,1300 gr. CuO.

Gefunden:	Berechnet:
17,72	17,94 %.

<sup>1)</sup> Damit der Versuch beweiskräftig ist, muss man selbstverständlich auf die Substanz-Probe ein Volumen gesättigter Glutamin-Lösung einwirken lassen, welches grösser ist, als das zur Lösung dieser Probe erforderliche Volumen reinen Wassers. In den vorliegenden Versuchen habe ich 5—6 mal so viel Glutaminlösung angewendet, als das zur Auflösung der Probe erforderliche Wasser-Volumen betrug.

<sup>2)</sup> Die Pflanzen zeigten nach dieser Behandlung noch ein ganz normales Aussehen.

<sup>3)</sup> M. vgl. in Betreff des Verhalten die oben auf S. 343—344 gemachten Angaben.

Als die Substanz mit Barytwasser bis zum Aufhören der Ammoniakentwicklung erhitzt und die restirende Flüssigkeit in der oben schon beschriebenen Weise behandelt wurde, resultirte ein im Aussehen und Verhalten mit Glutaminsäure übereinstimmendes Product. Die Säure krystallisirte in kleinen, in kaltem Wasser schwer löslichen Blättchen. Aus der mit Kupferoxydhydrat in der Wärme gesättigten Lösung derselben schied sich nach dem Erkalten ein sehr schwer lösliches Kupfersalz in blauen Krystallen aus. Die aus demselben wieder abgeschiedene Säure schmolz gleichzeitig mit einer genau in der gleichen Weise aus Rüben-Glutamin dargestellten Glutaminsäure-Probe bei  $204-205^{\circ}$ . Aus einer Auflösung der Säure in kochender Salzsäure schieden sich nach dem Erkalten Krystalle aus, welche im Aussehen der salzsauren Glutaminsäure glichen.

Diese Versuchsergebnisse berechtigen zu der Schlussfolgerung, dass die vorliegende Substanz Glutamin war.

### C. Glutamin aus Blättern von *Beta vulgaris*.

Junge, noch im Wachsthum begriffene Blätter der Runkelrübe (*Beta vulgaris*) wurden mit den abgeschnittenen Stielen in Wasser gesteckt und fünf Tage lang im Dunklen gelassen; dann verarbeitete ich sie ebenso wie die anderen oben genannten Objecte. Aus dem Niederschlag, welchen Mercurinitrat in einem zuvor durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten wässerigen Extracte hervorbrachte, liess sich auch in diesem Falle leicht Glutamin isoliren. Dasselbe glich im Aussehen vollständig dem Glutamin anderer Herkunft und gab die oben angegebenen Reactionen dieses Amids. Die Analyse der krystallinischen Kupferverbindung gab folgende Resultate:

1. 0,4130 gr Substanz (bei  $105^{\circ}$  getrocknet) gaben beim Glühen im Sauerstoffstrom 0,0920 gr. Cu O.
2. 0,250 gr. Substanz (bei  $105^{\circ}$  getrocknet) gaben 37,6 ccm. Stickstoffgas bei  $20^{\circ}$  und 726 mm. Quecksilberdruck.

	Gefunden:	Berechnet für $(C_6H_9N_2O_3)Cu$ :
Cu	17,77	17,94 <sup>o</sup> .
N	16,00	15,85

Eine Darstellung von Glutaminsäure aus dieser Substanz habe ich nicht ausgeführt, da die mitgetheilten Versuchsergebnisse schon beweisen, dass Glutamin vorlag.

Das Glutamin ist früher von E. Bosshard und mir<sup>1)</sup> aus den Wurzeln von *Beta vulgaris* und aus den etiolirten Keimlingen von *Cucurbita pepo*, von A. v. Planta<sup>2)</sup> aus den Wurzelknollen von *Stachys tuberosa* und von S. Frankfurt<sup>3)</sup> aus den etiolirten Keimlingen von *Helianthus annuus* isolirt worden; nach v. Gorup-Besanez<sup>4)</sup> findet es sich auch neben Asparagin in den etiolirten Keimpflanzen von *Vicia sativa*. In grünen Pflanzentheilen war es früher noch nicht nachgewiesen worden. Man darf wohl vermuthen, dass es ausser in denjenigen Objecten, aus welchen es bisher dargestellt werden konnte, noch in manchen anderen Pflanzen statt des Asparagins oder auch neben dem letzteren sich vorfindet und dass daher seine Verbreitung in den Pflanzen eine beträchtliche ist.

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 16, S. 312 und Bd. 18, S. 300. Landw. Versuchstationen, Bd. 29, S. 295, sowie Journ. f. prakt. Chemie N. F., Bd. 32, S. 438.

<sup>2)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 1699.

<sup>3)</sup> Landwirthsch. Versuchstationen, Bd. 43, S. 145.

<sup>4)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 10, S. 780.