

## Die Monoaminosäuren des Legumins.

Von

**Emil Abderhalden** und **Boris Babkin**, St. Petersburg.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 1. März 1906.)

Nach Ritthausen aus weißen Bohnen dargestelltes Legumin wurde in der wiederholt geschilderten Weise mit Säuren hydrolysiert. Wir verwendeten bei dem einen Versuche konzentrierte Salzsäure und beim anderen 25%ige Schwefelsäure. Das Resultat war in beiden Fällen in qualitativer Hinsicht genau dasselbe. In den Mengenverhältnissen ergaben sich Unterschiede, die jedoch innerhalb der Fehlergrenzen der angewandten Methoden liegen. Die Aminosäuren wurden, wie üblich, in Form ihrer Ester isoliert. Bei dem einen Versuche wurden sie aus den Hydrochloraten durch Zusatz von Alkali und Kaliumcarbonat in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen. Bei einem zweiten Versuch wurden die zur Trockne verdampften Esterchlorhydrate in Äthylalkohol gelöst, das Volumen der Flüssigkeit genau bestimmt und in einem aliquoten Teile der Salzsäuregehalt festgestellt, und nun durch Zusatz der berechneten Menge von Natriumäthylat die Ester in Freiheit gesetzt.<sup>1)</sup> Die Ausbeuten an Aminosäuren waren in diesem Falle eher etwas geringer, als bei dem ersteren Versuche. Das Legumin zeigt qualitativ dieselben Bausteine wie die übrigen bis jetzt untersuchten Eiweißkörper. In den Mengenverhältnissen der einzelnen Aminosäuren gleicht es dem Conglutin.<sup>2)</sup> Wir geben in der folgenden Zusammenstellung die auf 100 g asche- und wasserfreies Legumin berechneten Werte an einzelnen Aminosäuren wieder.

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und Otto Rostoski, Beitrag zur Kenntnis des Bence-Jones'schen Eiweißkörpers. Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 125, 1905.

<sup>2)</sup> Emil Abderhalden und J. B. Herrick, Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung des Conglutins aus Samen von Lupinus. Diese Zeitschrift, Bd. XLV, S. 479, 1905.

Glykokoll	1,0 g
Alanin	2,8 „
Aminovaleriansäure	1,0 „
Leucin	8,2 „
Prolin	2,3 „
Phenylalanin	2,0 „
Glutaminsäure	16,3 „
Asparaginsäure	4,0 „
Tyrosin	2,8 „

Das Legumin zeigt, wie schon betont, eine große Ähnlichkeit in seiner Zusammensetzung mit dem Conglutin. Wir streben mit der Aufklärung möglichst zahlreicher und verschiedenartiger Proteine an, ganz allmählich die Möglichkeit zu schaffen, an Stelle der auf zum Teil rein physikalischen Eigenschaften beruhenden Einteilung der Eiweißkörper mehr und mehr eine solche nach chemischen Gesichtspunkten zu setzen. Unsere Untersuchungen haben bis jetzt das wichtige Resultat gezeitigt, daß die verschiedenartigsten Eiweißkörper dieselben Bausteine besitzen. Diese sind allerdings in recht verschiedenem Mengenverhältnis vorhanden und können natürlich in der Art ihrer Verknüpfung all die zahlreichen Verbindungen hervorbringen, die uns die Proteine in so mannigfaltiger Gestalt erscheinen lassen. Es sind zurzeit auch Untersuchungen über weitere Keratinsubstanzen, so des Ovokeratins von seiten Dr. Ebstein's und des Eigelbalbumins von seiten Dr. Hunter's im Gange. Es soll demnächst über ihre Resultate berichtet werden.

#### Experimenteller Teil.

Der Gang der Untersuchung war derselbe, wie er im hiesigen Institut sich allmählich herausentwickelt hat. Da derselbe schon wiederholt beschrieben worden ist, gehen wir hier auf Einzelheiten nicht mehr ein. Es läßt sich ohnehin eine schematische Darstellungsweise der Ausführung der Hydrolysen und der anschließenden Veresterung und namentlich der Isolierung der Aminosäuren nicht geben. Die Methoden wechseln von Fall zu Fall, auch bei der Hydrolyse ein und desselben Proteins. Vor allem bietet die Trennung der nach der Destillation der Aminosäuren noch recht erheblichen Gemische der einzelnen Eiweißspaltprodukte oft bedeutende Schwierigkeiten. Es

sei hier nur die Hydrolyse mit 25%iger Schwefelsäure eingehender geschildert.

486 g Legumin, mit einem Wassergehalt von 7,11% und einem Aschegehalt von 0,99%, wurden mit 3 l 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler erhitzt, dann nach Verdünnung mit dem gleichen Volumen Wasser und eingetretener Abkühlung auf Zimmertemperatur und dem Abfiltrieren von melaninartigen Substanzen — 53,0 g — mit einem geringen Überschuß von Baryt die Schwefelsäure entfernt. Der Baryumsulfatniederschlag wurde abzentrifugiert und so lange mit Wasser zerrieben und abgeschleudert, bis die Flüssigkeit mit Millon's Reagens keine Rotfärbung mehr gab. Nun wurde die gesamte Flüssigkeitsmenge auf ca. 3 l eingedampft, und nun der überschüssige Baryt ganz genau mit Schwefelsäure entfernt. Das erhaltene Filtrat dampften wir, wie gewohnt, zur Abscheidung des Tyrosins ein. An reinem Produkt wurden 11,0 g gewonnen.

0,1766 g Substanz gaben 0,3852 g  $\text{CO}_2$  und 0,0952 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$ :	Gefunden:
59,66 % C und 6,07 % H.	59,48 % C und 5,9 % H.

Die Mutterlauge vom Tyrosin dampften wir unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen ein, nachdem sie vorher energisch mit Tierkohle behandelt worden war, und leiteten bis zur Sättigung gasförmige Salzsäure ein. Nach längerem Stehen auf Eis und dem Einimpfen eines Kryställchens von Glutaminsäurechlorhydrat erstarrte die ganze Masse, die sich sehr rasch auf Koliertuch absaugen ließ. Sie wurde mit kaltem, salzsaurem Alkohol gewaschen, und nun die weiße Masse fein zerteilt im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Die Menge der als Hydrochlorat erhaltenen Glutaminsäure betrug 40,5 g. Wir haben hierzu zu bemerken, daß die Ausscheidung der Glutaminsäure als salzsaures Salz nur dann eine möglichst vollständige wird, wenn erstens die Flüssigkeit nicht zu sirupös und möglichst farblos ist. Auch ein zu hoher Sättigungsgrad mit Salzsäure scheint hemmend auf die Krystallisation zu wirken. Will man die Glutaminsäure möglichst quantitativ gewinnen, so muß die Mutterlauge der ersten Krystallisation noch einige Zeit stehen. Aus äußeren Gründen waren wir genötigt die Unter-

suchung zu beschleunigen. Wir dampften die Mutterlauge von dem Glutaminsäurechlorhydrat unter vermindertem Druck zum Sirup ein, übergossen den Rückstand mit  $1\frac{1}{2}$  l absolutem Alkohol und leiteten gasförmige, trockene Salzsäure bis zur Sättigung ein. Die Veresterung wurde noch zweimal wiederholt. Die Ester setzten wir bei diesem Versuche mit Alkali und Kaliumcarbonat in Freiheit. Die Destillation der Ester gab folgendes Resultat:

1.	0—60°	Temperatur des Wasserbades und	14 mm Druck	25,0 g
2.	60—100°	„ „ „ „	14 „ „	40,5 „
3.	—105°	„ „ Ölbad	0,5 „ —	55,5 „
4.	—180°	„ „ „ „	0,5 „ „	75,0 „

Rückstand im Destillationskolben 65 g.

Fraktion 1—3 wurde wie üblich durch Kochen mit der 7fachen Menge Wasser verseift. Aus Fraktion 4 wurde zunächst der Phenylalaninester entfernt, und die wässrige Lösung der übrigen Ester durch Kochen mit Baryt in die Aminosäuren selbst verwandelt. Schließlich wurde auch hier der nicht destillierte Rückstand mit Baryt gekocht und in der schon oft beschriebenen Weise Leucinimid und 21,6 g Glutaminsäure gewonnen.

Fraktion 1 enthielt 3,0 g Glykokoll und 4,25 g Alanin. Ersteres war als Esterchlorhydrat gewonnen. Fraktion 2 wurde zum Teil gemeinsam mit Fraktion 3 verarbeitet. Aus beiden wurden 9,2 g Prolin gewonnen, ferner 6,2 g Alanin, 32,5 g Leucin und 4,2 g Aminovaleriansäure. Aus Fraktion 2 gewannen wir außerdem noch 1,0 g Glykokoll.

Glykokollesterchlorhydrat: Schmelzpunkt  $144^{\circ}$  (korr.).

0,1825 g Substanz gaben 0,2299 g  $\text{CO}_2$  und 0,1225 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}$ :

Gefunden:

34,43% C und 7,18% H.

34,35% C und 7,45% H.

Alanin: Zersetzungspunkt:  $293^{\circ}$  (korr.).

0,1941 g Substanz gaben 0,2869 g  $\text{CO}_2$  und 0,1376 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$ :

Gefunden:

40,45% C und 7,86% H.

40,31% C und 7,8% H.

Leucin: Zersetzungspunkt  $297^{\circ}$  (korr.).

0,1700 g Substanz gaben 0,3414 g  $\text{CO}_2$  und 0,1537 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ :

Gefunden:

54,96% C und 9,92% H.

54,79% C und 10,05% H.

**Aminovaleriansäure:**0,1118 g Substanz gaben 0,2112 g CO<sub>2</sub> und 0,0968 g H<sub>2</sub>O.Berechnet für C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>:

Gefunden:

51,28% C und 9,40% H.

51,51% C und 9,62% H.

**Prolin:**0,6211 g racemisches Prolinkupfer verloren bei 120° 0,0675 g H<sub>2</sub>O.

0,2489 g bei 120° getrocknetes Prolinkupfer ergaben 0,0692 g CuO.

Berechnet für:

Gefunden:

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Cu + 2H<sub>2</sub>O = 10,99% H<sub>2</sub>O.10,8% H<sub>2</sub>O.C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Cu

21,8% Cu.

22,21% Cu.

Aus der Fraktion 3 wurden noch 2 g Glutaminsäure gewonnen, ferner 16,0 g Asparaginsäure und 8 g Phenylalanin. Serin war allem Anschein nach vorhanden. Leider stimmten die Analysen des isolierten Produktes nur ungenau auf diese Oxyaminosäure.

**Glutaminsäure:**0,1869 g Substanz gaben 0,2794 g CO<sub>2</sub> und 0,1038 g H<sub>2</sub>O.Berechnet für C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>:

Gefunden:

40,81% C und 6,12% H.

40,77% C und 6,17% H.

**Asparaginsäure:**0,2006 g Substanz gaben 0,2660 g CO<sub>2</sub> und 0,0971 g H<sub>2</sub>O.Berechnet für C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>:

Gefunden:

36,09% C und 5,26% H.

36,14% C und 5,33% H.

**Phenylalanin:**0,1529 g Substanz gaben 0,3652 g CO<sub>2</sub> und 0,0905 g H<sub>2</sub>O.Berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>:

Gefunden:

65,45% C und 6,66% H.

65,14% C und 6,57% H.

Die Ausbeute an Phenylalanin ist deshalb eine so geringe, weil in diese Fraktion, offenbar deshalb, weil das Vacuum am Schluß der Destillation der Fraktion 3 kein sehr gutes mehr war, Leucinester mit herüber destilliert war und mit dem Phenylalaninester zusammen gewonnen wurde.

Anmerkung: Den Gehalt des Conglutins aus Samen von *Lupinus luteus* an Glutaminsäure haben wir in einer früheren Mitteilung bedeutend zu niedrig angegeben. Bei einer Wiederholung der Bestimmung stellten wir das Glutaminsäurechlorhydrat direkt aus der salzsauren Hydrolysenflüssigkeit dar und erhielten auf 100 g trockenes, aschefreies Conglutin berechnet 19,5 g Glutaminsäure.

Emil Abderhalden.