

## Weitere Beiträge zur Kenntnis der Glutaminsäure und der Pyrrolidoncarbonsäure.

Von

**Emil Abderhalden und Karl Kautzsch.**

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. August 1910.)

Vor kurzem haben wir auf die Möglichkeit hingewiesen, daß in den Eiweißstoffen Pyrrolidoncarbonsäure vorhanden sein könnte.<sup>1)</sup> Nach den bisher üblichen Methoden mußte sie dem Nachweis entgehen, weil sie außerordentlich leicht zu Glutaminsäure aufgespalten wird. Um die Pyrrolidoncarbonsäure unter den Abbauprodukten von Eiweißstoffen auffinden zu können, ist es einmal notwendig, die Hydrolyse mit möglichst indifferenten Mitteln durchzuführen. In Betracht kommt nur der fermentative Abbau. Ferner war es notwendig, möglichst charakteristische Derivate der Pyrrolidoncarbonsäure kennen zu lernen, um sie von den übrigen Aminosäuren und speziell von der Glutaminsäure abzutrennen. Wir haben schon in der ersten Mitteilung eine Anzahl von Salzen beschrieben, die aber alle zur Unterscheidung und Trennung von Pyrrolidoncarbonsäure und Glutaminsäure nicht sehr geeignet sind.

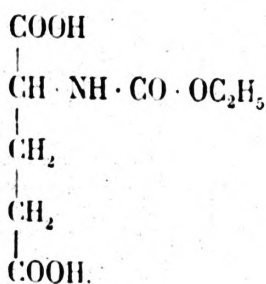
Der wesentlichste Unterschied zwischen Glutaminsäure und Pyrrolidoncarbonsäure ist, daß die erstere eine Aminogruppe und zwei Carboxyle aufweist, während die Pyrrolidoncarbonsäure nur eine Carboxylgruppe und, was das Wichtigste ist, an Stelle der Aminogruppe eine Iminogruppe besitzt. Auf

---

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und Karl Kautzsch, Zur Kenntnis der Glutaminsäure und der Pyrrolidoncarbonsäure, Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, S. 447 (1910). — Vgl. auch Emil Abderhalden und Akikazu Suwa, Synthese von Polypeptiden. Derivate der Pyrrolidoncarbonsäure. Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XLIII, S. 2151 (1910).

diesem letzteren Unterschiede begründeten wir Methoden zur Trennung der beiden genannten Säuren. Da die Pyrrolidoncarbonsäure keine Aminogruppe besitzt, so ist sie zur Bildung mancher Derivate, die der Glutaminsäure zukommen, nicht befähigt.<sup>1)</sup>

Wir haben zunächst die Carbäthoxylglutaminsäure dargestellt:



Wir gewannen sie durch Kuppeln von Glutaminsäure mit Chlorkohlensäure-Äthyl. Von dem Kuppelungsprodukt stellten wir das zweibasische Kupfer-, Silber- und Baryumsalz dar. Die beiden erst erwähnten Salze sind in Wasser schwer löslich. Das Kupfersalz ist selbst in heißem Wasser nur wenig löslich. Es ist daher gut geeignet zur Trennung vom pyrrolidoncarbonsauren Kupfer. Die Löslichkeit des carbäthoxylglutaminsauren Kupfers wird allerdings durch das gleichzeitige Vorhandensein von anderen Kupfersalzen und speziell von pyrrolidoncarbonsaurem Kupfer beeinflusst, jedoch ist der Löslichkeitsunterschied immer noch groß genug, um die beiden Verbindungen zu trennen.

Zur Trennung der Pyrrolidoncarbonsäure von der Glutaminsäure dürfte weiterhin die Anwendung der Carbaminsäurereaktion nach Siegfried<sup>2)</sup> sehr geeignet sein.

Wie wir uns durch Versuche an einem Gemisch von Glutaminsäure und Pyrrolidoncarbonsäure unter Anwendung von

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu auch Emil Abderhalden und Casimir Funk. Weiterer Beitrag zur Kenntnis der partiellen Hydrolyse von Proteinen. Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, S. 436 (1910).

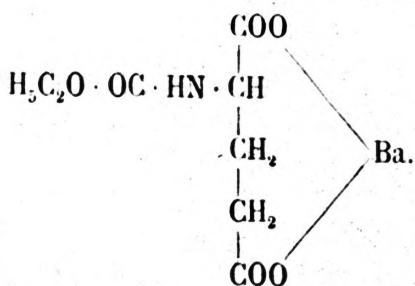
<sup>2)</sup> Vgl. hierzu die einschlägigen Arbeiten von M. Siegfried und Mitarbeitern: vor allem M. Siegfried, Über die Bindung von Kohlensäure durch amphotere Amidokörper, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 85 (1905); Bd. XLVI, S. 401 (1905); ferner M. Siegfried und H. Schmitz, ebenda, Bd. LXV, S. 295 (1910).

Barythydrat überzeugen konnten, erhält man nach den Angaben von Siegfried in gewünschter Weise die Glutaminsäure als carbaminoglutarsaures Baryumsalz im Niederschlag, während die Pyrrolidoncarbonsäure aus dem Filtrate nach Neutralisieren und Einengen leicht gewonnen werden kann. Selbstverständlich läßt sich auf diesem Wege auch die Frage entscheiden, ob und wieviel Glutaminsäure vorgebildet vorhanden ist. Gleichzeitig wird sich vielleicht auch feststellen lassen, wieviel Prolin sich bei der Verdauung mit Trypsin + Erepsin aus den verschiedenen Proteinen gewinnen läßt. Untersuchungen nach dieser Richtung sind im Gange.

Sicher sind andere Derivate der Glutaminsäure — speziell die Benzoylverbindung — ebenfalls geeignet zur Trennung von der Pyrrolidoncarbonsäure.

Die Carbäthoxylglutaminsäure bietet noch anderweitig Interesse. Während die Glutaminsäure mit Ausnahme einiger Schwermetallsalze lediglich einbasische Salze liefert, bildet die Carbäthoxylverbindung leicht zweibasische Salze.

Die Carbäthoxylglutaminsäure liefert mit Baryumcarbonat das zweibasische carbäthoxylglutaminsaure Baryumsalz:



Ferner gewannen wir das zweibasische Silbersalz,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_6\text{NAg}_2$ , und das zweibasische Kupfersalz,  $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_6\text{NCu}$ .

Jedenfalls läßt sich auf Grund der leichteren Befähigung zur Bildung zweibasischer Salze bei der Carbäthoxylglutaminsäure in Gegensatz zu der Glutaminsäure erkennen, daß die Aminogruppe in letzterer Verbindung die Säurenatur der einen Carboxylgruppe stark beeinträchtigt.

Wir haben ferner noch die Bildung der Pyrrolidoncarbonsäure aus Glutaminsäure beim Erhitzen genauer verfolgt. Über diese Reaktion haben bereits Menozzi und

Appiani,<sup>1)</sup> und ferner, allerdings nur ganz kurz, Haitinger<sup>2)</sup> berichtet.

Unsere Untersuchungen führten, kurz zusammengefaßt, zu folgenden Ergebnissen: Wenn man die Glutaminsäure auf 150 bis 160° zum Schmelzen erhitzt, so entweicht nur ziemlich langsam die für ein Molekül berechnete Menge Wasser. Das dabei in sehr guter Ausbeute erhaltene Produkt zeigt, wie bereits Menozzi und Appiani angeben, **Linksdrehung**. Jedoch beobachteten wir, daß das durch Fraktionierung aus Wasser erhältliche Produkt eine bedeutend stärkere Linksdrehung aufweist, als die genannten Forscher bei ihrem Präparate fanden: sie gaben als den höchsten Drehungswert an:  $[\alpha]_D = -7,21^\circ$ .

Die von uns beobachteten höchsten Werte für die Drehung in wässriger Lösung sind:  $[\alpha]_D = -11,3^\circ$  und  $-11,5^\circ$ . Sowohl in äthylalkoholischer als auch in methylalkoholischer Lösung ist das Drehungsvermögen nach 0° bzw. nach rechts verschoben. Die Feststellung des höchsten Drehungswertes ist mit Schwierigkeiten verknüpft, weil stets auch die inaktive Form entsteht. Die linksdrehende Form ist sowohl in Äthyl- und Methylalkohol als auch in Wasser — diese Lösungsmittel kommen zum Umkrystallisieren hauptsächlich in Betracht — leichter löslich als die inaktive Pyrrolidoncarbonsäure. Wie aus unseren Aufspaltungsversuchen der linksdrehenden Pyrrolidoncarbonsäure zur rechtsdrehenden Glutaminsäure (vgl. weiter unten) unter Verfolgung der Drehungsänderung hervorgeht, dürfte der oben angegebene Drehungswert von  $-11,5^\circ$  einem reinen Präparate entsprechen.

Erhitzt man die Glutaminsäure auf 180 bis 190° oder auch auf 200 bis 220°, so erhält man Produkte, die nach Umlösen reine, zum größten Teil inaktive Pyrrolidoncarbonsäure und zwar bei zweckmäßigem Erhitzen in sehr guter

<sup>1)</sup> A. Menozzi e G. Appiani, «Sopra alcuni derivati dell' acido glutammico». Rendiconti della R. Acad. dei Lincei. Vol. VII, 1891, fasc. 1<sup>o</sup>. pag. 33. «Sopra un nuova acido derivato dell' acido glutammico», Gazzetta chimica italiana, Bd. XXII (II), S. 105 (1892); ferner «Sopra alcuni derivati dell' acido glutammico, Acidi piroglutammici e piroglutammidi. Gazz. chim. italiana, Vol. XXIV (I), p. 370 (1894).

<sup>2)</sup> Haitinger, Wiener Monatshefte, Bd. III, S. 228.

Ausbeute liefern. Fast immer gewinnt man dabei Präparate, die auch Linksdrehung aufweisen. Die inaktive Pyrrolidoncarbonsäure erhält man natürlich auch durch (kurzes) Erhitzen der linksdrehenden Form auf ca. 190°.

Wir haben schließlich noch zu bemerken, daß wir bei unseren sehr zahlreichen Darstellungsversuchen wiederholt beim Erhitzen der Glutaminsäure auf höhere Temperatur, besonders auf 180 bis 200°, auch ein Präparat in keiner Menge isolieren konnten, das einige Grade nach **rechts** drehte.<sup>1)</sup> Die Stickstoffbestimmung eines derartigen Präparates gab einen auf Pyrrolidoncarbonsäure stimmenden Wert. Bei unseren früheren Versuchen hatten wir zufälligerweise ein nach rechts drehendes Produkt in Händen gehabt.<sup>1)</sup>

Wir haben endlich, wie oben schon kurz angedeutet, die Aufspaltung der Pyrrolidoncarbonsäure zu Glutaminsäure verfolgt. Wir konnten dabei feststellen, daß die Spaltung bereits durch verdünnte Salzsäure bei 37° in wenigen Tagen erfolgt. Die inaktive Pyrrolidoncarbonsäure lieferte dabei inaktive Glutaminsäure bzw. inaktives Glutaminsäurechlorhydrat; die linksdrehende Pyrrolidoncarbonsäure gab rechtsdrehende Glutaminsäure. Hieraus ist zu schließen, daß der rechtsdrehenden Glutaminsäure die linksdrehende Pyrrolidoncarbonsäure entspricht.

## Experimenteller Teil.

### Darstellung von Pyrrolidoncarbonsäure.

Die zu den folgenden Versuchen benutzte Glutaminsäure war durch Salzsäurehydrolyse aus Gliadin gewonnen worden.

### Linksdrehende Pyrrolidoncarbonsäure.

d-Glutaminsäure wird im Ölbad auf 150—160/165° erhitzt, gemessen mittels eines in die Substanz eingetauchten Normalthermometers. Nach etwa  $\frac{3}{4}$  Stunden beginnt die Substanz zu schmelzen, wobei deutlich ein Herabsinken der Temperatur

<sup>1)</sup> Eine rechtsdrehende Pyrrolidoncarbonsäure von  $[\alpha] = +7^\circ$  erhielten Menozzi und Appiani aus Rechts-Pyroglutamid durch Kochen mit Barytwasser. (Gazzetta chimica italiana, Bd. XXIV (I), S. 382 (1894); l. c.)

um einige Grade zu beobachten ist; nach etwa 2 Stunden (für 50 g) ist die für 1 Molekül berechnete Menge Wasser entwichen. Die nur schwach gefärbte Schmelze erstarrt beim Erkalten krystallinisch. Im Kapillarrohr schmilzt dieses Produkt unscharf gegen  $145^{\circ}$ . Die Drehungsbestimmung eines derartigen Produktes ergab:

0,5626 g Substanz, in Wasser zu 10,5836 g Gesamtgewicht gelöst, drehten bei einem spezifischen Gewicht von 1,01 im 1 dm-Rohr  $0,54^{\circ}$  nach links, mithin

$$[\alpha]_D = -10,06^{\circ}.$$

Über die Fraktionierung eines linksdrehenden Rohpyrrolidoncarbonsäurepräparates möge folgendes Beispiel ein Bild geben:

10 g Glutaminsäure wurden  $1\frac{1}{2}$  Stunden auf  $150-160^{\circ}$  erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde aus 25 ccm heißen Wassers umkrystallisiert. Die zunächst abgeschiedenen Krystalle, knapp 1 g, zeigten den Schmelzpunkt einer noch etwas unreinen, inaktiven Pyrrolidoncarbonsäure (gegen  $181^{\circ}$  nach vorheriger Erweichung). Die spezifische Drehung in wässriger Lösung betrug ca.  $-1^{\circ}$ .

Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade auf etwa die Hälfte eingengt. Die Menge der ausgeschiedenen Krystalle, die bei  $100^{\circ}$  getrocknet wurden, betrug 3,6 g. Sie zeigten fast den nämlichen Schmelzpunkt, den Menozzi und Appiani<sup>1)</sup> für ihre linksdrehende Pyrrolidoncarbonsäure angaben. Die Substanz schmolz bei  $158-160^{\circ}$  (korr.  $158,5-160,5^{\circ}$ ) nach kurz vorheriger Erweichung. Das Drehungsvermögen betrug:

$$[\alpha]_D = -8,8^{\circ}.$$

0,5393 g Substanz, in Wasser zu 9,5391 g Gesamtgewicht gelöst, drehten bei einem spezifischen Gewicht von 1,01 im 1 dm-Rohr  $0,50^{\circ}$  nach links. Wurde dieses Produkt aus Wasser umkrystallisiert, so erhielt man ein Präparat, das bereits eine spezifische Drehung von nur ca.  $-5^{\circ}$  zeigte. Das

<sup>1)</sup> A. Menozzi und G. Appiani gaben an: Schmelzp.  $160-161^{\circ}$ , nachdem bei  $159^{\circ}$  Veränderung eintrat (Gazzetta chim. ital., Bd. XXII (II), S. 105 (1892), vgl. l. c.) und ferner Schmelzp.  $162^{\circ}$  (Gazzetta chim. ital., Bd. XXIV (I), S. 370-391 (1894), l. c.).

starke Herabsinken des Drehungsvermögens beobachtet man ebenfalls bei Anwendung von Alkohol als Umlösungsmittel.

Durch Eindampfen der Mutterlauge der oben erwähnten 3,6 g bis auf wenige Kubikzentimeter wurden noch 2,1 g Pyrrolidoncarbonsäure erhalten.

Die spezifische Drehung betrug:

$$[\alpha]_D = -11,27^\circ.$$

0,5223 g Substanz wurden in Wasser zum Gesamtgewicht 9,2911 g gelöst;  $d = 1,01$ ,  $\alpha = -0,64^\circ$  im 1 dcm-Rohr.

Nach den vorstehenden Angaben beläuft sich also die Ausbeute an Pyrrolidoncarbonsäure auf fast 80% der theoretisch möglichen.

Wir fanden, daß, wenn die bereits auf  $160^\circ$  erhitzt gewesene Substanz noch kurze Zeit, ca.  $\frac{1}{4}$  Stunde auf etwa  $180^\circ$  erhitzt wird, ein Präparat mit hoher Linksdrehung erhalten werden kann. Ein solches Produkt zeigte z. B. eine spezifische Drehung von

$$[\alpha]_D = -11,52^\circ.$$

0,4347 g Substanz, in Wasser zu 9,3674 g Gesamtgewicht gelöst, drehten bei einem spezifischen Gewicht von 1,01 im 1 dcm-Rohr  $-0,54^\circ$ .

Die linksdrehende Pyrrolidoncarbonsäure ist in Essigester nur sehr schwer, in Chloroform kaum löslich, in Toluol, Äther und Aceton unlöslich, in Wasser, Äthyl- und Methylalkohol ist sie dagegen sehr leicht löslich. Sie reagiert stark sauer. Sie schmeckt sauer, ohne den faden Nachgeschmack der Glutaminsäure aufzuweisen.

Drehungsbestimmungen der in wässriger Lösung linksdrehenden Pyrrolidoncarbonsäure in Äthylalkohol und in Methylalkohol.

Zu den folgenden Untersuchungen diente ein Produkt, das in wässriger Lösung eine spezifische Drehung von  $-11,27^\circ$  zeigte.

Drehung in Methylalkohol:

0,5380 g Substanz, in Methylalkohol zu 8,0243 g Ge-

samtgewicht gelöst, drehten bei einem spezifischen Gewicht von 0,810 im 1 dem-Rohr  $+0,23^\circ$ ; daraus berechnet sich:

$$[\alpha]_D = +4,24^\circ.$$

Drehung in Äthylalkohol:

0,2609 g Substanz wurden in 99,5%igem Äthylalkohol zu 6,6447 g Gesamtgewicht gelöst; die Lösung drehte bei einem spezifischen Gewicht von 0,815 im 1 dem-Rohr  $+0,12^\circ$ . Daraus ergibt sich:

$$[\alpha]_D = +3,75^\circ.$$

### Inaktive Pyrrolidoncarbonsäure.

Wird die Glutaminsäure auf  $180-200^\circ$  und auch bis  $220^\circ$  erhitzt, so erhält man zur Hauptsache inaktive Pyrrolidoncarbonsäure. Die Umwandlung geht in diesem Falle bereits in einer  $\frac{1}{2}$  Stunde vor sich. Das stark braungefärbte Produkt wird durch Umkrystallisieren aus Alkohol oder aus Wasser unter Anwendung von viel Tierkohle gereinigt. Die Pyrrolidoncarbonsäure scheidet sich in prismatischen, tafelförmigen, oft sehr derben Krystallen ab. Aus den Mutterlaugen kann man entweder durch Einengen oder bei der alkoholischen Lösung auch durch Versetzen mit etwas Äther fast immer Produkte isolieren, die auch einige Grade nach links drehen. Von unseren zahlreichen Versuchen möge hier ein Beispiel angeführt sein:

30 g Glutaminsäure werden  $1\frac{1}{2}$  Stunden auf  $180-200^\circ$  erhitzt. Die dicke, sirupöse, dunkelgefärbte Masse krystallisierte nach Erkalten nach einigem Stehen völlig. Man löst aus 70 cem heißen Wassers unter Anwendung von Tierkohle um. Eine Probe der Lösung ergab eine spezifische Drehung von  $[\alpha]_D = -1,1^\circ$ . (Eine 12,0%ige wässrige Lösung drehte im 1 dem-Rohr  $-0,14^\circ$ .) Die zunächst ausgeschiedene Krystallmasse betrug, getrocknet, fast 16 g; das Produkt war völlig inaktiv und zeigte den richtigen Schmelzpunkt  $181-182^\circ$ . Das Filtrat der 16 g wies eine spezifische Drehung  $[\alpha]_D = -2,39^\circ$  auf:

0,4640 g Substanz, 6,2890 g Lösung,  $d = 1,02$ ,  $\alpha = -0,18^\circ$  im 1 dem-Rohr.

Aus dem Filtrat schieden sich beim Einengen 3,1 g weißer



Krystalle ab. Sie waren fast inaktiv (Drehung in 4,4%iger Lösung im 1 dcm-Rohr 0,01—0,02° nach links).

Das Filtrat der 3,1 g wies noch eine spezifische Drehung von  $= -3,7^\circ$  auf (0,4320 g Substanz, 4,6840 g Lösung drehten im  $\frac{1}{2}$  dcm-Rohr  $= -0,17^\circ$ ).

Die Ausbeute an umkrystallisierter Substanz betrug im vorerwähnten Falle etwas über 70% der Theorie. Eine recht gute Ausbeute an inaktiver Pyrrolidoncarbonsäure erzielte man, wenn man unter Rühren die Glutaminsäure ca. 10 Minuten lang auf 170—180° erhitzt und dann die Temperatur 10 Minuten noch bis 220° steigert. Wenn man nur auf 180—190° erhitzt, so sind zur Erzielung reichlicher Mengen inaktiver Pyrrolidoncarbonsäure mehrere Stunden erforderlich.

Schließlich wollen wir noch durch ein Beispiel, bei dem die Drehung successiv verfolgt wurde, ein Bild über den Verlauf der Bildung der verschiedenen Formen der Pyrrolidoncarbonsäure aus Glutaminsäure geben:

10 g Glutaminsäure wurden 25 Minuten auf 160—165° erhitzt. Die Temperatur wurde immer mittels eines in die Substanz eintauchenden Normalthermometers gemessen. Eine herausgenommene Probe ergab für  $[\alpha]_D = -9,6^\circ$ . Es wurde dann  $\frac{1}{2}$  Stunde auf 170—175° erhitzt, wonach noch reichliche Linksdrehung beobachtet wurde. Auch nach erneutem  $\frac{1}{2}$  stündigem Erhitzen auf 180—183° war noch Linksdrehung vorhanden. Nach weiterem  $\frac{1}{2}$  stündigem Erwärmen auf 186—195° erhielten wir inaktive Substanz. Eine Änderung der Drehung wurde dann auch beim Erhitzen auf 210° und schließlich auf 230—240° nicht mehr beobachtet.

Wir versuchten auch, die Darstellung der Pyrrolidoncarbonsäure durch Erhitzen in einer Lösung vorzunehmen, um Zersetzung möglichst zu vermeiden. Wir benutzten zu diesem Zwecke Glycerin und ferner Chinolin. Die Glutaminsäure wurde in letzterem suspendiert und dann kurze Zeit auf ca. 200—210° erhitzt. Es resultierte inaktive Pyrrolidoncarbonsäure, die sich aus der stark gefärbten Flüssigkeit auf Zusatz von etwas Alkohol und Äther krystallinisch abschied. Jedoch wird bei diesem Verfahren keine bessere Ausbeute erlangt, als bei zweck-

mäßigem Erhitzen der Substanz für sich, wie oben angegeben wurde.

Es sei bemerkt, daß die Glutaminsäure resp. auch die Pyrrolidoncarbonsäure beim Erhitzen mit Chinolin eine dunkelviolette Lösung gibt.

In manchen Fällen beobachteten wir die Bildung einer nach rechts drehenden Substanz. Sie trat meist nur in kleinen Mengen auf. Trotz aller Bemühungen ist es uns nicht geglückt, die Bedingungen ausfindig zu machen, unter denen sie regelmäßig entsteht. Ebenso wenig vermochten wir die Ausbeute an ihr zu steigern. Bei einem derartigen Versuche wurde die Glutaminsäure 4 Stunden auf 160—170° erhitzt. Das zunächst beim Umkrystallisieren aus Methylalkohol in geringer Menge abgeschiedene Produkt zeigte eine Drehung von  $[\alpha]_D = +4,24^\circ$ . (0,3541 g Substanz, in Wasser zu 7,5733 g Gesamtgewicht gelöst, drehten im  $\frac{1}{2}$  dm-Rohr  $+0,10^\circ$ . Eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ergab:

0,2510 g Substanz brauchten 19,35 ccm  $n_{10}$ -H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Berechnet für C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>N:                      Gefunden:

N = 10,85%                                      10,80%

Das Produkt schmolz bei 180—182°. Es war leicht löslich in heißem Alkohol und in Methylalkohol.

Wie schon erwähnt, hatten wir bei unserer ersten Untersuchung über Pyrrolidoncarbonsäure diese rechtsdrehende Substanz in Händen.

### Aufspaltung der Pyrrolidoncarbonsäure zu Glutaminsäure.

#### A. Versuch mit linksdrehender Pyrrolidoncarbonsäure.

Die zu diesem Versuche benutzte Pyrrolidoncarbonsäure war eine aus Alkohol umkrystallisierte Substanz, die eine spezifische Drehung von  $-9,38^\circ$  in wässriger Lösung zeigte.

0,4252 g Substanz wurden mit 5fachnormaler Salzsäure zu 7,6424 g Gesamtgewicht gelöst. Die Lösung drehte im 1 dm-Rohr  $+0,05^\circ$ . Wir beließen nun das Rohr im Brutschrank. Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde war noch keine Änderung zu konstatieren: nach 4 Stunden drehte die Lösung bereits  $+0,20^\circ$ , nach

6<sup>1</sup>/<sub>2</sub> St. + 0,24°, nach 22 St. + 0,60°, nach 24<sup>1</sup>/<sub>2</sub> St. + 0,68°, nach 69 St. + 1,26°, nach 72<sup>1</sup>/<sub>4</sub> St. + 1,30°, nach 93 St. + 1,43°. Nach 6—7 Tagen nahm die erreichte Drehung von + 1,61° nicht mehr zu.

Durch Einengen der Lösung konnte daraus reines Glutaminsäurechlorhydrat isoliert werden.

Der angegebene Drehungswert  $\alpha = + 1,61^\circ$  ergibt auf Glutaminsäure umgerechnet  $[\alpha]_D = + 23,3^\circ$ . Demnach wären also der benutzten linksdrehenden Pyrrolidoncarbonsäure — unter Zugrundelegung des von uns gefundenen Wertes von  $[\alpha]_D = + 28,88^\circ$  für reine rechtsdrehende Glutaminsäure in 5fachnormaler Salzsäure — noch rund 19% inaktive Pyrrolidoncarbonsäure beigemischt gewesen. Es berechnet sich daraus für die linksdrehende Pyrrolidoncarbonsäure ein spezifischer Drehungswert von etwas über  $- 11^\circ$  — ein Drehungsvermögen, das den für unsere oben erwähnten Präparate angegebenen Werten  $[\alpha]_D = - 11,27^\circ$  und  $[\alpha]_D = - 11,6^\circ$  entspricht.

Bestimmung der spezifischen Drehung von reiner, aus Wasser umkrystallisierter rechtsdrehender Glutaminsäure in 5fachnormaler Salzsäure.

0,4370 g Substanz wurden mit 5fachnormaler Salzsäure zu 8,8408 g Gesamtgewicht gelöst; die Lösung drehte bei einem spezifischen Gewicht von 1,093 im 1 dm-Rohr = + 1,56°; daraus ergibt sich:  $[\alpha]_D = + 28,88^\circ$ .

### B. Versuch mit inaktiver Pyrrolidoncarbonsäure.

Die verwendete Substanz war reine, aus Wasser umkrystallisierte, inaktive Pyrrolidoncarbonsäure.

0,4230 g Substanz wurden in 5fachnormaler Salzsäure zu 8,4464 g Gesamtgewicht gelöst. Die Lösung war und blieb auch nach 8tägigem Stehen bei 37° inaktiv. Das hierbei entstandene inaktive Glutaminsäurechlorhydrat schmolz gegen 200°.

### Trennung von Pyrrolidoncarbonsäure und Glutaminsäure mittels der Carbaminosäurereaktion.<sup>1)</sup>

1 g Pyrrolidoncarbonsäure und 1 g Glutaminsäure wurden in 100 ccm Wasser gelöst. In die Lösung wurde, nachdem

<sup>1)</sup> Vgl. hierzu die Arbeiten Siegfrieds und seiner Schüler. l. c.

mit 100 ccm kalt gesättigter Barythydratlösung versetzt worden war, unter beständiger Eiskühlung Kohlensäure eingeleitet. Es wurden wieder 50 ccm einer gekühlten Barythydratlösung zugefügt, dann wurde Kohlensäure eingeleitet. Nun versetzten wir mit ca. 5 g pulverisierten Barythydrates und leiteten erneut Kohlensäure ein. Schließlich wurde nach Zusatz einiger Gramm Barythydrat geschüttelt und dann schnell abgesaugt.

Das Filtrat wurde erneut den nämlichen Operationen unterworfen. Die dann wieder vom Niederschlag abgesaugte Lösung unterzogen wir, um die Glutaminsäure vollständig abzuscheiden, nochmals dergleichen Behandlung. Der Niederschlag wurde schließlich mit etwas Barythydratlösung gewaschen. (Filtrat A.)

**Verarbeitung der Niederschläge auf Glutaminsäure.**

Die Niederschläge wurden vereinigt und in ca. 1½ l Wasser aufgenommen. Es wurde nun vorsichtig mit verdünnter Schwefelsäure unter Erwärmen auf dem Wasserbade neutralisiert. Das Filtrat schied beim Einengen Glutaminsäure ab. Die Ausbeute betrug fast 1 g. Die Substanz wurde auch noch als Chlorhydrat identifiziert.

**Verarbeitung des Filtrates (A) auf Pyrrolidoncarbonsäure.**

Das verdünnte Filtrat wurde mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert. Durch Eindampfen der Lösung auf dem Wasserbade erhielten wir die angewandte Pyrrolidoncarbonsäure zurück. Aus Methylalkohol umkrystallisiert, zeigte das Präparat den richtigen Schmelzpunkt gegen 182°; es besaß auch den charakteristischen Geschmack der Pyrrolidoncarbonsäure.

**Salze der Glutaminsäure und der Pyrrolidoncarbonsäure.**

**Glutaminsaures Silber.<sup>1)</sup>**

Zweibasisches Silbersalz,  $C_5H_7O_4Na_2$ .

Dieses Salz erhielten wir aus dem Baryumsalz der Glutaminsäure mittels Silbernitrate.

<sup>1)</sup> A. Menozzi und Appiani erhielten ein einbasisches glutaminsaures Silbersalz aus Glutaminsäure und Silbercarbonat, ein zweibasisches

5 g glutaminsaures Baryumsalz, in ca. 100 ccm Wasser gelöst, wurden mit der berechneten Menge 10%iger Silbernitratlösung versetzt. Das ausgefallene Produkt wurde bis auf einen geringen Anteil in etwa 200 ccm heißem Wasser gelöst und, da beim Erkalten keine Abscheidung eintrat, in der Wärme mit Methylalkohol bis zur Trübung versetzt. Nach Erkalten wurde vom ausgefallenen weißen Silbersalz abgesaugt.

0,1962 g Substanz, im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure bis zur Konstanz getrocknet, lieferten 0,1170 g Ag.

Berechnet für  $C_5H_7O_4NAg_2$ : Gefunden:

Ag = 59,83%. 59,63%.

### Glutaminsäure und Silbercarbonat.

Über das aus Glutaminsäure durch Einwirkung von Silbercarbonat erhältliche einbasische Silbersalz berichteten bereits Menozzi und Appiani.<sup>1)</sup> Wir konnten aus der sehr verdünnten wässerigen, mit Silbercarbonat versetzten Glutaminsäurelösung das Silbersalz auf Zusatz von etwa dem gleichen Volumen absoluten Alkohols in schönem, weißem Zustande abscheiden. Das Salz ist in Wasser schwer löslich; aus heißem Wasser scheidet es sich beim Erkalten amorph ab. Nach mehrtägigem Belassen am Licht färbt es sich schwach bräunlich.

### Pyrrolidoncarbonsaures Silber $C_5H_6O_3NAg$ .

3 g Pyrrolidoncarbonsäure, in ca. 100 ccm Wasser gelöst, werden mit der berechneten Menge  $Ag_2CO_3$  (=  $\frac{1}{2}$  Mol.) in der Hitze versetzt. Es fand Kohlensäureentwicklung und, zunächst Lösung statt. Beim Erkalten schied die filtrierte Lösung schwach graugefärbte, tafel- bzw. prismenartige Krystalle ab. Sie wurden abgesaugt und im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute ca. 1,4 g. Die Mutterlauge ergab nach mehrtägigem Stehen noch eine weitere Menge weißen krystallisierten Silbersalzes.

Salz aus dem Ammonsalz mittels Silbernitrat (Gazzetta chimica italiana, Bd. XXIV (I), S. 370 (1894), vgl. l. c.). — J. Habermann beschrieb ebenfalls ein zweibasisches Silbersalz, «Zur Kenntnis der Glutaminsäure», Liebigs Annalen, Bd. CLXXIX, S. 248 (1875).

<sup>1)</sup> F. Anderlini, «Sull'acido piroglutammico», Gazzetta chimica italiana, Bd. XIX, S. 99—102 (1889).

Das pyrrolidoncarbonsaure Silber ist schwer löslich in Wasser.

0,3240 g Substanz, im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure zur Konstanz getrocknet, ergaben 0,1480 g Ag.

Berechnet für  $C_5H_6O_3NAg$ :      Gefunden:

Ag = 45,76%.      45,68%.

Wird (inaktive) Pyrrolidoncarbonsäurelösung mit Silbernitrat versetzt, so gibt diese Lösung im Gegensatz zur Glutaminsäure mit einigen Tropfen Ammoniak keine Fällung. Wird die Glutaminsäure der gleichen Behandlung unterworfen, so erhält man eine wolkige, weißliche, sich bald bräunlich färbende, auf Zusatz von etwas mehr Ammoniak sich wieder lösende Fällung. Sie geht bereits bei Gegenwart einiger Tropfen einer Lösung von Pyrrolidoncarbonsäure und Silbernitrat in Lösung.

#### Pyrrolidoncarbonsaures Kupfer.

Kupferoxydsalz der inaktiven Pyrrolidoncarbonsäure: Die wässrige Lösung wurde mit überschüssigem, gefälltem Kupferoxyd gekocht. Das blau gefärbte Filtrat wurde auf dem Wasserbade eingeeengt, wobei sich ein blaugrünes Kupfersalz abschied. Es wurde abgesaugt. Es hinterblieb ein schönes, hellblau gefärbtes Salz. Das getrocknete, wasserfreie Salz ist grünlich gefärbt. Bei ca.  $170^\circ$  wird das Salz bereits mißfarben, jedoch ohne merkliche Zersetzung zu erleiden.

0,1813 g Substanz, bei ca.  $160^\circ$  getrocknet, gaben 0,0446 g CuO.

Berechnet für  $(C_5H_6NO_3)_2Cu$ :      Gefunden:

Cu = 19,90%.      19,66%.

Das frisch dargestellte, ungetrocknete Salz löst sich un schwer in heißem Wasser. Die verdünnte, wässrige Lösung ist hell blaugrünlich gefärbt. Auf Zusatz von viel Alkohol oder von Alkohol und Äther fällt daraus das Kupfersalz als voluminöser, hellblauer Niederschlag aus.

Kupferoxydsalz der linksdrehenden Pyrrolidoncarbonsäure: Es wurde in üblicher Weise dargestellt. Aus der wässrigen Lösung fällt es auf Zusatz von Alkohol und Äther als flockiger, hellblauer Niederschlag. Das beim Eindampfen abgeschiedene, getrocknete Salz ist grün gefärbt. Das Salz ist bereits in kaltem Wasser leicht löslich.

## Pyrrolidoncarbonsaures Blei.

Die wässrige Lösung von inaktiver Pyrrolidoncarbonsäure wurde mit Bleicarbonat gesättigt. Die Lösung gibt auf Zusatz von Alkohol eine weiße, sich bald zusammenballende Fällung, die leicht in Wasser löslich ist.

Das Bleisalz der linksdrehenden Pyrrolidoncarbonsäure zeigt dasselbe Verhalten.

## Glutaminsaures Zink.

Glutaminsäure, in heißem Wasser gelöst, wurde portionsweise mit Zinkcarbonat versetzt. Es trat zunächst reichliche  $\text{CO}_2$ -Entwicklung und Lösung ein.

Nachdem die für 1 Molekül berechnete Menge Zinkcarbonat zugesetzt war, fand plötzlich krystallinische Abscheidung statt. Eine Probe ergab dann bei weiterem Zusatz von  $\text{ZnCO}_3$  keine Einwirkung mehr. Von den ausgeschiedenen Krystallen wurde noch heiß abgesaugt. Eine Zinkbestimmung gab auf folgende Zusammensetzung:  $(\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4\text{N})_2\text{Zn} \cdot \text{ZnO}$ , stimmende Werte.

|  |           |
|--|-----------|
| 0,4442 g Substanz ergaben 0,1656 g $\text{ZnO}$ .                                      |           |
| Berechnet für $(\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_4\text{N})_2\text{Zn} \cdot \text{ZnO}$ : | Gefunden: |
| Zn = 29,77 %.  | 29,92 %.  |

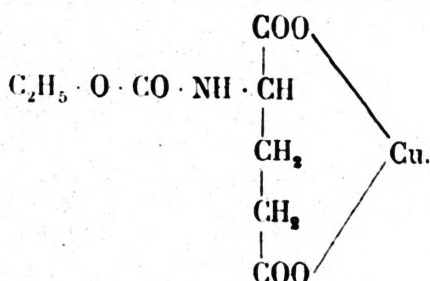
## Carbäthoxylglutaminsäure.

Zu einer Lösung von 20 g Glutaminsäure in 136 ccm (= 1 Mol.) Normalnatronlauge werden, während man andauernd mit Eis kühlt, innerhalb einer halben Stunde in kleinen Portionen unter Schütteln 19,7 g Chlorkohlensäureäthyl (=  $1\frac{1}{3}$  Mol.) gefügt. Es resultiert schließlich eine etwas öligmilchige Flüssigkeit. Sie wird portionsweise während 45 Minuten mit einer für das Chlor berechneten Menge Sodalösung, 9,7 g in 50 g Wasser gelöst, ebenfalls unter Kühlung und Schütteln versetzt. Die nur noch wenig ölige, trübe Flüssigkeit wird dann mit einem geringen Überschuß von 5 fachnormaler Salzsäure angesäuert. Die dann nach Filtration durch ein Faltenfilter geklärte Lösung wird unter stark vermindertem Druck bei etwa  $50^\circ$  zur Trockene verdampft. Der weiße Rückstand wird wiederholt, in allem

mit etwa 200 ccm Essigester, ausgekocht, und die Lösung mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet.

Nach Verdampfen der Flüssigkeit hinterbleibt in reichlicher Menge ein farbloses Öl. Beim Belassen im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure nimmt es bald einen ziemlich festen Habitus an. Das Produkt ist in Wasser unschwer löslich. Zur Untersuchung auf charakteristische Derivate führten wir diese Substanz direkt in einige Salze über und zwar einerseits ins Kupfersalz, andererseits mittels Baryumcarbonat in das Baryumsalz und schließlich in das Silbersalz.

#### Carbäthoxylglutaminsaures Kupferoxydsalz:



Die wässrige Lösung des oben erwähnten Öles wurde mit überschüssigem, gefälltem Kupferoxyd gekocht. Das ziemlich intensiv blau gefärbte Filtrat schied beim Einengen auf dem Wasserbade ein amorphes, grün gefärbtes Kupfersalz in blättchenförmigem Zustande ab.

0.1870 g Substanz, bei 120° getrocknet, gaben 0,0533 g CuO.

Berechnet für  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_6\text{NCu}$ :

Cu = 22,67%.

Gefunden:

22,77%.

Das Kupfersalz löst sich in Wasser nur sehr schwer; in Alkohol und Äther ist es unlöslich. Auch im Gemisch mit pyrrolidincarbonsaurem Kupfer ist es in Wasser nur schwer löslich.

#### Carbäthoxylglutaminsaures Baryumsalz.

Die wässrige Lösung der oben erwähnten Carbäthoxylglutaminsäure wurde mit Baryumcarbonat im Überschuß auf dem Wasserbad erhitzt. Das Filtrat wurde noch in der Hitze mit etwas Alkohol bis zur eben beginnenden, öligen Fällung versetzt. Beim Belassen im Eisschrank schied sich weißes, festes Baryumsalz ab. Bei ca. 120° getrocknet, lieferte das



Produkt auf  $C_8H_{11}O_6NBa$  und 1 Molekül Krystallwasser stimmende Zahlen.

0,3950 g Substanz, bei  $120-130^\circ$  getrocknet, gaben beim Abrauchen mit Schwefelsäure 0,2456 g  $BaSO_4$ .

Berechnet für  $C_8H_{11}O_6NBa + H_2O$ :      Gefunden:  
Ba = 36,89%.      36,60%.

Das carbäthoxylglutaminsaure Baryumsalz ist unschwer löslich in Wasser.

### Carbäthoxylglutaminsaures Silbersalz.

Die wässrige Lösung des Baryumsalzes wurde mit einer 10%igen Silbernitratlösung in der Hitze versetzt. Die filtrierte Lösung schied beim Erkalten ein voluminöses, weißes, in Wasser schwer lösliches Silbersalz ab.

I. 0,2424 g Substanz, im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet, gaben 0,1207 g Ag.

II. 0,3373 g Substanz lieferten 0,1671 g Ag.

Berechnet für  $C_8H_{11}O_6NAg_2$ :      Gefunden:  
Ag = 49,88%.      I. 49,79%.      II. 49,57%.