

# Über ein neues, auf bakteriellem Wege gewinnbares, Aporrhegma.

Von

**D. Ackermann.**

(Aus dem physiologischen Institut zu Würzburg.)  
Der Redaktion zugegangen am 18. September 1910.)

Während es mir in meinen früheren Versuchen, aus einer einzigen Aminosäure,<sup>1)</sup> die mit einigen Nährsalzen und etwas faulem Pankreas versetzt bei sodaalkalischer Reaktion im Brutschrank gestanden hatte, nicht möglich gewesen war, basische Aporrhegmen zu gewinnen, bin ich bei dem Fäulnisversuch mit Histidin<sup>2)</sup> so vorgegangen, daß ich der Lösung noch Traubenzucker (5 g im Liter) und Witte-Pepton (2,5 g im Liter) zusetzte; dies war offenbar von Bedeutung, denn hier gelang es mir zum ersten Male, größere Mengen eines Aporrhegmas aus einer einzigen Aminosäure zu erhalten. In der Annahme, daß dieses Rezept sich nun auch für andere Aminosäuren eignen würde, habe ich mit demselben die Fäulnisversuche am Lysin und Arginin, bei welchen ich nicht das gewünschte Resultat erzielen konnte, wiederholt und außerdem einen solchen mit Glutaminsäure vorgenommen. Die Verarbeitung der Flüssigkeiten geschah stets nach dem bewährten Verfahren von F. Kutscher, ohne das man bei diesen Versuchen überhaupt nicht auskommen kann.

## Lysinfäulnis.

98 g d-Lysinchlorid werden mit 10 g Pepton Witte, 20 g Traubenzucker, einigen Tropfen Natriumphosphat und Magnesium-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 305 (1908) und Bd. LX, S. 482 (1909).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXV, S. 504 (1910).



Grammen, die ich, da sie etwas unsauber aussah, nach dem Abfiltrieren durch Schwefelwasserstoff in das Chlorid verwandelte, um sie dann mit Goldchlorid zu fällen. Auch hier handelte es sich um Pentamethyldiamin.

0,1051 g Substanz gaben	0,0532 g Au
0,1083 „ „ „	0,0546 „ „
Berechnet für $C_5H_{14}N_2 \cdot 2 HAuCl_4$ :	Gefunden:
Au = 50,4%	50,6%, 50,4%

Das alkoholische Filtrat des Pentamethyldiaminplatinates gab nun beim langsamen Einengen in Alkohol und Wasser lösliche Krystallfitter, in welchen ich ein Salz der  $\epsilon$ -Aminocaprönsäure vor mir zu haben hoffte: denn auch das nächst niedere Homologe derselben, die  $\delta$ -Aminovaleriansäure, bildet ein in Alkohol lösliches Platinat und ferner hat das Goldsalz der  $\delta$ -Aminovaleriansäure sowohl wie das, welches ich aus dem in Rede stehenden Platinat gewinnen konnte, einen niedrigen Schmelzpunkt und eine große Löslichkeit in Wasser. Meine Analysen dieser Verbindungen erlauben mir aber noch nicht den Schluß, daß ich wirklich  $\epsilon$ -Aminocaprönsäure in Händen habe, deren Bildung bei der Lysinfältnis ja so wahrscheinlich ist.

### Argininfältnis.

56 g d-Arginincarbonat wurden mit 10 g Natriumchlorid, 10 g Witte-Pepton, 20 g Traubenzucker, einigen Tropfen Natriumphosphat und Magnesiumsulfat in 4 l Wasser gelöst und mit einer faulen Pankreasflocke 23 Tage bei 36° belassen. dann wurde von den Gewebeflocken abfiltriert, wobei durch Sprung des Saugkolbens ca.  $\frac{2}{3}$  der Gesamtmenge verloren ging, sodaß höchstens 20 g Arginincarbonat als Ausgangsmaterial in Anrechnung zu bringen sind. Die weitere Verarbeitung war bis zur Gewinnung der kohlen-sauren Basen aus der Phosphorwolframsäurefällung genau dieselbe wie bei der Lysinfältnis; der Sirup der kohlen-sauren Basen wurde aber nun mit Salpetersäure schwach angesäuert und solange Silbernitratlösung zugegeben, bis eine Probe der Gesamtflüssigkeit gegen Barytwasser geprüft einen deutlich braunen Niederschlag gab. Jetzt fällte ich mit gesättigter Barytlösung im Überschuß,

filtrierte den braunen Niederschlag ab, wusch ihn mit kaltem Wasser und verrührte ihn mit Salzsäure und Schwefelsäure; dadurch wurde das Silber als Chlorsilber, der Baryt als Baryumsulfat niedergeschlagen; von diesen Niederschlägen saugte ich ab und füllte das Filtrat mit Phosphorwolframsäure, wodurch ich einen erheblichen Niederschlag bekam. In der Erwartung, in diesem Niederschlag vielleicht das von A. Kossel<sup>1)</sup> jüngst aus Heringsmilch gewonnene Agmatin, das sich vom Arginin nur durch das Fehlen von  $\text{CO}_2$  unterscheidet, zu haben, zersetzte ich ihn durch Verrühren mit Baryumhydroxydlösung, saugte vom Niederschlag ab, leitete in das Filtrat Kohlensäure im Überschuß ein und saugte ab, der Baryumcarbonatniederschlag wurde mehrmals mit Wasser ausgekocht, worauf ich die so gewonnenen Waschwässer mit dem ersten Filtrat zusammen zum dünnen Sirup eindampfte. Das Agmatin bildet ein in Wasser ziemlich schwerlösliches Carbonat und hätte sich in dieser Form ausscheiden müssen, tat dies aber auch nach mehreren Tagen nicht, nur etwas Baryumcarbonat zeigte sich, von dem unter Waschen des Niederschlages mit kochendem Wasser abfiltriert wurde; jetzt engte ich wieder ein, machte salzsauer und konnte durch Fällung mit wässriger Goldchloridlösung ein schwerlösliches Salz gewinnen, das aber nicht das Chloraurat des Agmatins, sondern das des Tetramethyldiamins war.

0,0996 g Substanz gaben 0,0508 g Au  
 0,0977 " " " " 0,0500 " "

	Berechnet für	Gefunden:
Tetramethyldiaminchloraurat	Agmatinchloraurat	
$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 \cdot 2\text{HAuCl}_4$ :	$\text{C}_5\text{H}_{14}\text{N}_4 \cdot 2\text{HAuCl}_4$ :	
Au = 51,3%	48,7%	50,9%, 51,2%

Die Erfahrung, daß unter Umständen ein Teil des Tetramethyldiamins mit Silbernitrat und Baryt niedergeschlagen wird, hatte ich schon früher in Gemeinschaft mit P. Mey<sup>2)</sup> gemacht.

Das Filtrat der Silberfällung wurde mit Salzsäure vom Silber, mit Schwefelsäure vom Baryt befreit, worauf ich die

<sup>1)</sup> A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. LXVI, S. 257 (1910).

<sup>2)</sup> D. Ackermann und P. Mey, Zentralblatt f. Bakteriologie etc., I. Abteilung, Bd. XLII, 1906, S. 629.

nun gewonnene Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäure fällte. Die Fällung wurde in bekannter Weise in eine Lösung der kohlsauren Basen verwandelt und nun mit alkoholischer Pikrinsäure versetzt. Der Niederschlag, der 2,4 g wog, war Tetramethyldiamin-pikrat: um das zu erweisen, führte ich ihn mit Salzsäure und Äther in das Chlorid und dann in das Goldsalz über, welches analysiert wurde.

0,1141 g Substanz gaben	0,0583 g Au
0,1083 „ „	0,0556 „ „
0,3135 „ „	0,0722 „ CO <sub>2</sub> und 0,0564 g H <sub>2</sub> O

Berechnet für C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> · 2HAuCl <sub>4</sub> :	Gefunden:
Au = 51,3%	51,1%, 51,3%
C = 6,3%	6,3%
H = 1,8%	2,0%

Die nach dem Abfiltrieren der 2,4 g Tetramethyldiamin-pikrat verbleibende Flüssigkeit säuerte ich mit Salzsäure an und befreite sie durch Ausäthern von der überschüssigen Pikrinsäure, die salzsaure Lösung wurde zum Sirup eingengt und mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt. Hierbei entstand ein körniger Niederschlag, den ich absaugte und nach dem Lösen in warmem Wasser mit Schwefelwasserstoff zersetzte. Das so gewonnene Chlorid gab mit Goldchlorid ein sehr leicht lösliches Salz von nicht unbeträchtlicher Menge, es waren 5,3 g Chloraurat der  $\delta$ -Aminovaleriansäure.

0,1197 g Substanz gaben	0,0521 g Au
0,1175 „ „	0,0509 „ „
0,2995 „ „	0,1402 „ CO <sub>2</sub> und 0,0776 g H <sub>2</sub> O

Berechnet für C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> · HAuCl <sub>4</sub> :	Gefunden:
Au = 43,1%	43,5%, 43,3%
C = 13,1%	12,8%
H = 2,7%	2,9%

Damit hatte ich zum erstenmal die Abstammung der  $\delta$ -Aminovaleriansäure vom Arginin auf direktem Wege bewiesen, während ich früher diese Tatsache nur indirekt hatte erschließen können.

Als Zwischenprodukte bei der Bildung des Tetramethyldiamins kommen sowohl das Ornithin, wie das Agmatin in Frage, beide hatte ich in diesem Versuch nicht isolieren können, man

wird deshalb aber nicht ohne weiteres schließen dürfen, daß sie sich überhaupt nicht gebildet hätten: vom Ornithin ist das deshalb unberechtigt, weil ich bei einem früheren Argininfäulnisversuch es hatte isolieren können, das Agmatin ist aber neuerdings von Kutscher und Engeland<sup>1)</sup> auch im *secale cornutum* aufgefunden worden, einem Pilz, von dem wir jetzt wissen, daß er reich an Aporrhegmen ist, also offenbar einen den Eiweißfäulnisbakterien in gewisser Hinsicht ähnlichen Stoffwechsel hat. Da aus der Abspaltung von Ornithin bei der Fäulnis des Arginins der Schluß gemacht werden muß, daß die betreffenden Mikroorganismen die von A. Kossel und H. D. Dakin<sup>2)</sup> entdeckte Arginase enthalten, liegt der Gedanke nahe, den Versuch zu machen, ob diese auch auf Agmatin wirke und hier Tetramethyldiamin abzuspalten imstande sei, ein Versuch, den ich übrigens nicht auszuführen gedenke.

Was die Bildung der  $\delta$ -Aminovaleriansäure angeht, so ist dieselbe wahrscheinlich auf das Ornithin zu beziehen, bewiesen ist dies jedoch nicht; man könnte sich ebensogut vorstellen, daß die  $\alpha$ -ständige Amidogruppe bei der Fäulnis vom intakten Arginin abgesprengt werde und die so entstehende Guanidovaleriansäure der Wirkung der Arginase oder eines ähnlichen Fermentes unterliege.

Geht man aber von Ornithin als Muttersubstanz für die  $\delta$ -Aminovaleriansäure aus, so wäre der einzige Grund für die leichtere Abspaltbarkeit der  $\alpha$ -Amidogruppe in der Tatsache zu suchen, daß bei Fettsäuren überhaupt das Kohlenstoffatom, welches der Carboxylgruppe am nächsten steht, auch am reaktionsfähigsten ist.<sup>3)</sup> — Nebenher mag erwähnt werden, daß in der großen Reaktionsfähigkeit dieses  $\alpha$ -Kohlenstoffatoms wohl auch der Schlüssel zum Verständnis dafür gesucht werden muß, warum die belebte Natur gerade die  $\alpha$ -Aminosäuren so zahlreich aufzuweisen hat.

<sup>1)</sup> Sitzungsber. d. Ges. z. Bef. d. ges. Naturw., Marburg 1910, und Zentralbl. f. Physiologie, Bd. XXIV, Nr. 11.

<sup>2)</sup> A. Kossel und H. D. Dakin, Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 321 (1904); Bd. LXII, S. 181 (1904).

<sup>3)</sup> Posener, Lehrbuch der synthetischen Methoden, Leipzig 1903, S. 201.

Ich habe mich nun noch bemüht, das nächst niedere Homologe dieser  $\omega$ -Aminosäure auf folgende Weise zu gewinnen.

### Glutaminsäurefäulnis.

Auch die Glutaminsäure hatte ich früher<sup>1)</sup> schon einmal vergeblich unter Anwendung des alten Nährbodenrezeptes, also ohne Zucker und Eiweiß, auf ihre Fähigkeit, basische Aporrhagmen zu bilden, untersucht. Ein neuer Versuch mit dem besseren Rezept fiel günstiger aus.

50 g Glutaminsäure wurden mit 10 g Kochsalz, 20 g Traubenzucker, 10 g Pepton Witte, einigen Tropfen Magnesiumsulfat und Natriumsulfat in 4 l Wasser gelöst und bei sodaalkalischer Reaktion nach Zusatz einer faulen Pankreasflocke 40 Tage bei 36° stehen gelassen.

Die nun folgende Verarbeitung war dieselbe wie in den ersten beiden Versuchen bis zur Gewinnung des Sirups an kohlen-sauren Basen. Dieser zeigte Alkaloidfällungsmitteln gegenüber dasselbe Verhalten wie die  $\delta$ -Aminovaleriansäure. Er gab nämlich mit Pikrinsäure keine Fällung, ferner nach dem Ansäuern mit etwas Salzsäure mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung keine Fällung, wohl aber, wenn außer dem Quecksilberchlorid noch alkoholische Natriumacetatlösung zugegeben war. Auch Edelmetallsalzen gegenüber zeigte sich dieselbe Analogie. Der salzsauer gemachte Sirup gab mit alkoholischer Platinchloridlösung eine Fällung, die sich in Wasser spielend leicht löste, mit Goldchlorid entstand ein ganz leicht lösliches Goldsalz. — Alle diese Reaktionen deuteten auf eine  $\omega$ -Aminosäure, die sich denn auch auf folgende Weise gewinnen ließ.

Der Sirup der kohlen-sauren Basen wurde mit alkoholischem Platinchlorid gefällt, die krümelige Fällung saugte ich ab, löste sie in Wasser und beseitigte daraus das Platin durch Schwefelwasserstoff. Das so gewonnene Chlorid wurde durch Füllen mit Goldchlorid in ein leicht lösliches Chloraurat übergeführt, welches sich als das der  $\gamma$ -Aminobuttersäure erwies und in einer Menge von 2,1 g gewonnen wurde.

<sup>1)</sup> a. a. O.

Das im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Salz schmilzt bei 138°.

0,1014 g	Substanz	gaben	0,0450 g	Au
0,1906	»	»	0,0851	»
0,1906	»	»	0,0763	» CO <sub>2</sub> und 0,0469 g H <sub>2</sub> O
0,1942	»	»	0,0786	» » » 0,0482 »
0,1680	»	»	5,4 ccm	N bei B. = 736 mm und T. = 15°

Berechnet für C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub> · HAuCl<sub>4</sub>:

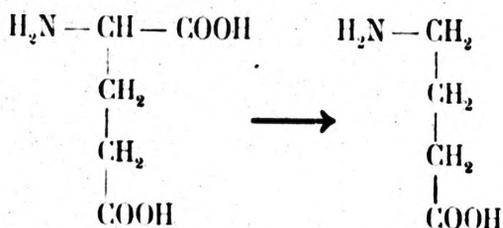
Gefunden:

Au = 44,5%	44,4%, 44,7%
C = 10,8%	10,9%, 11,0%
H = 2,3%	2,8%, 2,8%
N = 3,2%	3,7%

Die weitere Identifizierung der Substanz ist in der nächsten Mitteilung geschildert.

Die  $\gamma$ -Aminobuttersäure ist bereits von C. Schotten<sup>1)</sup> aus Piperylurethan dargestellt und damals als Piperidinsäure bezeichnet; eine andere Synthese dieser Säure ist später von Gabriel<sup>2)</sup> ausgeführt worden. Schotten gibt an, daß ein Kaninchen die große subcutan verabfolgte Gabe von 0,3 g  $\gamma$ -Aminobuttersäure ohne jede sichtbare Wirkung vertragen habe; danach ist jedenfalls auch dieses Aporrhagma ein ziemlich harmloser Körper, und von einer ptomainartigen Wirkung kann auch bei dieser «Fäulnisbase» nicht die Rede sein.

Die Bildung der  $\gamma$ -Aminobuttersäure



aus der Glutaminsäure ist, wie man sieht, nicht in analoger Weise erfolgt, wie die der andern bisher bekannten  $\omega$ -Aminosäure, nämlich der  $\delta$ -Aminovaleriansäure; diese entsteht aus dem Ornithin durch Abspaltung der  $\alpha$ -ständigen Amidogruppe, die Glutaminsäure aber muß eine CO<sub>2</sub>-Gruppe verlieren, um die  $\gamma$ -Aminobuttersäure zu liefern.

Ich habe nun auch versucht, aus Asparaginsäure auf

<sup>1)</sup> C. Schotten, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XVI, S. 643, 1883.

<sup>2)</sup> S. Gabriel, Ber. d. Deutch. chem. Ges., Bd. XXIII, S. 1771, 1890.

bakteriellem Wege das entsprechende basische Aporrhegma, das  $\beta$ -Alanin zu gewinnen, das wir durch Englands<sup>3)</sup> Arbeiten als einen Bestandteil des Fleischextraktes kennen, und ich habe auch ein schön krystallisierendes leicht lösliches Goldsalz isoliert, kann aber noch nicht angeben, ob es sich um  $\beta$ -Alanin dabei handelt. Wenn auch die Fälle der Abspaltung von  $\text{CO}_2$  oder der  $\alpha$ -ständigen Aminogruppe aus einer Aminosäure durch die Wirkung der Fäulnisbakterien sich mehren, so wird es doch nicht erlaubt sein, das Eintreten dieser Reaktion bei den andern Aminosäuren nun von vornherein stets für selbstverständlich zu halten und deshalb auf einen exakten Beweis zu verzichten. Es scheinen sich nämlich diesen Reaktionen manchmal Schwierigkeiten in den Weg zu stellen. So habe ich bei Fäulnisversuchen mit Glykokoll und Alanin vergeblich die erwarteten Basen Methylamin und Äthylamin durch Destillation zu gewinnen gesucht, obwohl ich jedesmal 50 g Aminosäure als Ausgangsmaterial wählte.

---

<sup>3)</sup> R. Engeland, Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, Bd. XVI. S. 658, 1908.