

Weiterer Beitrag zur Kenntnis der α -Aminobuttersäure und ihrer Derivate.

Von
Emil Abderhalden und Erich Wurm.

Mit einer Kurvenzeichnung im Text.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)
(Der Redaktion zugegangen am 23. September 1912.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ ist bereits bemerkt worden, daß die α -Aminobuttersäure gegen kochende, rauchende Salzsäure nicht ganz beständig ist. Wir haben weitere Versuche angestellt, um zu prüfen, ein wie großer Teil des Aminostickstoffs unter den Bedingungen, unter denen im allgemeinen Proteine mit Salzsäure vollständig hydrolysiert werden, abgespalten wird. Diese Feststellung war deshalb von so großer Wichtigkeit, weil eine erhebliche Spaltung von α -Aminobuttersäure beweisen würde, daß die bisherigen negativen Resultate beim Aufsuchen von α -Aminobuttersäure unter den Spaltprodukten von Proteinen nichts gegen das Vorkommen dieser Aminosäure in Eiweißstoffen aussagen. Unsere Befunde zeigen, daß zwar stets beim Kochen reiner α -Aminobuttersäure Ammoniak abgespalten wurde, doch ist dessen Menge gering. Der größte Teil der Aminobuttersäure bleibt unverändert.

Wir haben weiterhin die optisch-aktiven Formyl-Aminobuttersäuren (die l- und d-Form) genauer untersucht. Wir hatten große Schwierigkeiten bei der Darstellung der reinen Verbindungen zu überwinden gehabt. Es stellte sich heraus, daß die leichte Abspaltbarkeit der Formylgruppe die Ursache der nicht stimmenden Analysenresultate war. Wir haben die leichte

¹⁾ Emil Abderhalden und Hsing Lang Chang, Weiterer Beitrag zur Kenntnis der Polypeptide, an deren Aufbau α -Aminobuttersäure beteiligt ist. Diese Zeitschrift, Bd. 77, S. 471, 1912.

Verseifbarkeit studiert und Bedingungen ausfindig gemacht, die gestatten, die Formylkörper in reinem Zustand zu erhalten.

Schließlich haben wir dl-Aminobuttersäure und Glycyl-dl-Aminobuttersäure an Kaninchen verfüttert (vom ersteren 5 g, vom letzteren 7 g). Es ließen sich im Harn weder die verfütterten Substanzen noch ihre Komponenten auch nur in Spuren nachweisen.

Verhalten der α -Aminobuttersäure gegen hydrolysierende Agenzien.

Bei diesen Versuchen wurde stets so vorgegangen, daß 1 g (genau abgewogen) dl-Aminobuttersäure mit rauchender Salzsäure 6 Stunden lang unter Rückfluß gekocht wurde. Dann wurde die Flüssigkeit unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst und die Lösung genau auf 100 ccm aufgefüllt. In 25 ccm wurde dann das gebildete Ammoniak dadurch bestimmt, daß es mit Natronlauge in vorgelegte $1/10$ -n-Schwefelsäure überdestilliert und die überschüssige Säure mit $1/10$ -n-Natronlauge zurücktitriert wurde. Als Indikator diente stets das Natriumsalz der Alizarinsulfosäure. Aminobuttersäure selbst spaltet, wie durch Versuche festgestellt wurde, bei der Destillation mit Natronlauge keinen Stickstoff ab.

I. 1 g Aminobuttersäure und 5 ccm konzentrierte Salzsäure.

Verbraucht 1,06 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure. Daraus ergibt sich der Ammoniakstickstoff gleich 4,37% des Gesamtstickstoffs.

II. 1 g Aminobuttersäure und 10 ccm konzentrierte Salzsäure.

Verbraucht 1,30 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure. Ammoniakstickstoff gleich 5,36% des Gesamtstickstoffs.

III. 1 g Aminobuttersäure und 60 ccm konzentrierte Salzsäure.

Dieser Menge lag die Annahme zugrunde, daß die Aminobuttersäure zu etwa 5% in einem Protein vorhanden sei. Dann sind 60 ccm die übliche (dreifache) der zu Hydrolysen angewandten Säuremenge.

Verbraucht 3,1 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure. Ammoniakstickstoff gleich 12,81% des Gesamtstickstoffs.

Wir haben in gleicher Weise auch d-Alanin und l-Leucin untersucht und gefunden, daß beide Aminosäuren gegen kon-

zentrierte Salzsäure völlig beständig sind, also kein Ammoniak abspalten.

Endlich wurde 1 g Aminobuttersäure mit 60 ccm absolutem Alkohol übergossen und trockenes Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet. Die Flüssigkeit wurde zur Trockne verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst, auf 100 ccm aufgefüllt und das Ammoniak bestimmt.

Verbraucht wurden 2,20 ccm $1/10$ -n-Schwefelsäure. Ammoniakstickstoff gleich 2,27% des Gesamtstickstoffs.

Darstellung der aktiven Formyl- α -aminobuttersäure.

Zur Darstellung der freien aktiven Aminobuttersäuren ist es nicht nötig, die Formylkörper in reinem Zustand zu isolieren, da dies große Schwierigkeiten macht. Sie verlieren nämlich schon bei längerem Stehen mit kaltem Wasser zum Teil Ameisensäure. Zur Feststellung ihrer Eigenschaften haben wir die Formylkörper auf folgende Weise ziemlich rein erhalten.

40 g Formyl-dl-aminobuttersäure und 120 g wasserfreies Brucin (1 Mol.) wurden in 2 Liter absolutem Alkohol gelöst. Nach kurzem Stehen und besonders beim Reiben fiel das Brucinsalz der Formyl-l-aminobuttersäure aus. Es wurde abgesaugt und mit kaltem Alkohol gewaschen. Es wog etwa 80 g. Die Mutterlauge wurde eingedampft, der Rückstand in 160 ccm Wasser gelöst und mit 153 ccm n-Natronlauge das Brucin gefällt. Nach 10 Minuten langem Stehen in Eis wurde das Brucin abgesaugt, gut ausgewaschen und das Filtrat durch erschöpfendes Extrahieren mit Chloroform und Äther von den letzten Spuren Brucin befreit. Die wässrige Lösung wurde mit n-Salzsäure genau neutralisiert und im Vakuum bei einer 35° nicht übersteigenden Temperatur zur Trockne verdampft. Der Formylkörper wurde nun durch Auskochen mit absolutem Alkohol vom Kochsalz getrennt. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt zweimal mit wasserfreier Ameisensäure erhitzt und diese wiederum abdestilliert. Um die letzten Spuren Kochsalz zu entfernen, verrieben wir den Rückstand mit Alkohol, dem mit geglühtem Kupfersulfat das Wasser völlig entzogen worden war. Da der aktive Formylkörper

auch in Alkohol spielend löslich ist, mußte dieser wiederum völlig verdampft werden, was zur Vermeidung einer eventuellen Alkohololyse bei gewöhnlicher Temperatur durchgeführt wurde. Zur Isolierung des optischen Antipoden verfahren wir mit den bei der Spaltung ausgefallenen Krystallen in derselben Weise, wie beschrieben. Die Eigenschaften beider Körper sind — natürlich bis auf die Drehung — genau die gleichen. Beide sind in kaltem Wasser, in Methyl- und Äthylalkohol sehr leicht löslich. Sie lösen sich sehr schwer in Aceton und sind in Chloroform, Essigester, Äther und Petroläther unlöslich. Aus Alkohol gewinnt man sie in unregelmäßigen Schuppen.

Beim Erhitzen im offenen Kapillarrohr schäumt die Substanz, ohne zu schmelzen, von 125° an unter vollständiger Abspaltung der Formylgruppe. Ein Schmelzen unter Verfärbung findet erst bei 304°, dem Schmelzpunkt der aktiven Aminobuttersäure, statt. Im geschlossenen Kapillarrohr wird die Verbindung schon gegen 100° weich, zersetzt sich aber erst bei 126° (korr.).

1. Formyl-d-aminobuttersäure.

10,27 mg Substanz geben 6,78 mg H₂O und 17,12 mg CO₂.

9,38 mg Substanz geben 0,923 ccm Stickstoff bei 710 mm Druck und 20°. (Mikroanalyse nach Pregl.)

Auf C₅H₉NO₃ berechnet: C = 45,77%, H = 6,92%, N = 10,7%.

Gefunden: C = 45,47%, H = 7,39%, N = 10,7%.

0,3232 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 7,5102 g. Spez. Gew.: 1,022. Drehung bei Natriumlicht im 1-dm-Rohr 1,22° nach links. $[\alpha]_{20}^D = -27,74^\circ$.

2. Formyl-l-aminobuttersäure.

0,1300 g Substanz geben 0,2193 g CO₂ und 0,0770 g H₂O.

0,1137 g Substanz. Verbraucht 8,7 ccm ¹/₁₀-n-Schwefelsäure.

Berechnet für C₅H₉NO₃: C = 45,77%, H = 6,92%, N = 10,7%.

Gefunden: C = 46,01%, H = 6,62%, N = 10,72%.

0,3230 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 7,094 g. Spez. Gew.: 1,023. Drehung bei Natriumlicht im 1-dm-Rohr $1,30^\circ$ nach rechts. $[\alpha]_{20}^{D} = +27,98^\circ$.

Die aus diesen Körpern gewonnenen freien Säuren zeigten die spezifischen Drehungen von $+8,12^\circ$ resp. $-7,86^\circ$.

Optische Verfolgung der Abspaltung der Formylgruppe bei der Formyl-l-aminobuttersäure.

8 g reine Formyl-l-aminobuttersäure wurden in 200 ccm Wasser gelöst. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert, gleichzeitig aber durch Zutropfen von frischem Wasser immer wieder ergänzt. Von Zeit zu Zeit wurde eine Probe herausgenommen und die Drehung festgestellt. Wie aus der Tabelle, und noch besser aus der Kurvenzeichnung hervorgeht, nahm die Drehung in gleichen Zeiten nicht um gleichviel ab, sondern richtete sich ungefähr nach dem Massenwirkungsgesetz.

Anfangsdrehung:	$+1,18^\circ$
Nach $\frac{1}{2}$ Stunde;	$+1,05^\circ$
» $1\frac{1}{4}$ »	$+0,92^\circ$
» $1\frac{3}{4}$ »	$+0,77^\circ$
» $2\frac{1}{4}$ »	$+0,70^\circ$
» $2\frac{3}{4}$ »	$+0,65^\circ$
» $3\frac{1}{4}$ »	$+0,57^\circ$
» $3\frac{3}{4}$ »	$+0,50^\circ$
» $4\frac{3}{4}$ »	$+0,35^\circ$
» $5\frac{3}{4}$ »	$+0,29^\circ$
» $7\frac{1}{4}$ »	$+0,21^\circ$
» 9 »	$+0,09^\circ$

