

# Die Bildung von $\gamma$ -Aminobuttersäure aus d-Glutaminsäure unter dem Einfluß von Mikroorganismen.

Von

**Emil Abderhalden, Georg Fromme und Paul Hirsch.**

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. April 1913.)

Vor kurzem teilte der eine von uns (A.) gemeinsam mit Karl Kautzsch<sup>1)</sup> mit, daß die Estermethode zur Auffindung von  $\gamma$ -Aminobuttersäure ausgezeichnet geeignet ist und jedenfalls rascher und müheloser zum Ziel führt, als die Methodik, die Ackermann, dem der Nachweis der genannten Aminosäure gelang, anwandte. Es konnte damals keine  $\gamma$ -Aminobuttersäure unter den Abbaustufen der d-Glutaminsäure nachgewiesen werden. Es wurde hervorgehoben, daß dieser Befund keineswegs das Resultat des Versuches von Ackermann<sup>2)</sup> in Zweifel ziehen darf. Schon der Umstand, daß die damaligen Versuche bei einer anderen Temperatur durchgeführt wurden, konnte Unterschiede bedingen. Wir haben den Versuch unter den von Ackermann angegebenen Bedingungen noch zweimal mit je 50 g d-Glutaminsäure wiederholt. Das Resultat war jedesmal ein vollständig negatives, trotzdem diesmal der Versuch bei 37° durchgeführt wurde, und ferner die angewandte Glutaminsäure bis zu 50% abgebaut war.

Wir haben den Versuch, doch noch  $\gamma$ -Aminobuttersäure als Abbaustufe von d-Glutaminsäure aufzufinden, nicht aufgegeben. Schließlich waren unsere Bemühungen von Erfolg ge-

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und Karl Kautzsch, Fäulnisversuche mit d-Glutaminsäure und Studien über die  $\gamma$ -Aminobuttersäure. Diese Zeitschrift, Bd. 81, S. 294, 1912.

<sup>2)</sup> D. Ackermann, Über ein neues, auf bakteriellem Wege gewinnbares Aporrhagma. Diese Zeitschrift, Bd. 69, S. 273 (1910).

krönt. Wir geben nur diesen Versuch an, weil durch diese Mitteilung der Befund von Ackermann bestätigt wird, und etwaige Zweifel, die im Gefolge der ersten Mitteilung aufgetreten sind, beseitigt werden. Unsere Erfahrungen zeigen mit aller Deutlichkeit, daß es unbedingt erforderlich ist, bei derartigen Versuchsungen genau mitzuteilen, welche Mikroorganismen beim Versuche vorhanden waren. Wir glauben nicht, daß andere Ursachen, als eine verschiedenartige Flora die Ursache der ganz ungleichen Befunde waren. Jedenfalls ist die  $\gamma$ -Aminobuttersäure kaum ein Abbauprodukt der Glutaminsäure, das regelmäßig auftritt, man müßte denn schon die Annahme machen, daß sie immer nur in Spuren gebildet und gleich weiter zersetzt wird.

Die folgenden Daten geben ganz kurz die Versuchsanordnung und die Aufarbeitung des Fäulnisgemisches wieder. Wir können uns kurz fassen, weil in der früheren Mitteilung die ganze Methodik sehr ausführlich geschildert ist.

Zweimal je 25 g d-Glutaminsäure, 5 g Kochsalz, 10 g Traubenzucker, 10 g Wittepepton, einige Tropfen Magnesiumsulfat- und Natriumsulfatlösung in 1 l Wasser gelöst, wurden nach Alkalischemachen mit der für 1-COOH-Gruppe der Glutaminsäure berechneten Menge Soda mit etwas verfaultem Pankreasgewebe versetzt und 6 Wochen bei Brutschranktemperatur faulen gelassen. Es wurde darauf geachtet, daß die Reaktion immer alkalisch blieb.

Die bakteriologische Untersuchung, die wir der Güte des Herrn Dr. Bierast im hygienischen Institut verdanken, ergab Anwesenheit von verschiedenen Hefen und grampositiven Kokken (teils Diplokokken, teils Staphylokokken) in der Fäulnisflüssigkeit.

### Aufarbeitung der Fäulnisflüssigkeit.

#### Versuch I.

Die nach altem Käse riechende Flüssigkeit wurde filtriert und im Meßkolben genau auf 2 l aufgefüllt. In aliquoten Teilen wurden Stickstoffbestimmungen ausgeführt.

## Fäulnisflüssigkeit.

## Versuch I.

## Stickstoffgehalt der Gesamtmenge.

Gesamt-N nach Kjeldahl . . . . .	4,3711 g
Amino-N nach van Slyke . . . . .	2,3360 „
Ammoniak-N nach Krüger-Reich-Schittenhelm .	0,9527 „

## Versuch II.

## Stickstoffgehalt der Gesamtmenge.

Gesamt-N nach Kjeldahl . . . . .	3,8668 g
Amino-N nach van Slyke . . . . .	2,1920 „
Ammoniak-N nach Krüger-Reich-Schittenhelm .	0,5884 „

Wir verdampften unter vermindertem Druck zur Trockene. Der Rückstand wurde mit 250 ccm absolutem Alkohol versetzt und nun mit trockener gasförmiger Salzsäure verestert. Von dem anorganischen Rückstand wurde abgesaugt und die alkoholische Lösung der Esterchlorhydrate im Vakuum zur Trockene gebracht. Die Veresterung wurde nochmals wiederholt und hierauf wiederum unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde zur Entfernung von vorhandenen Fettsäuren mit Äther ausgeschüttelt. Die nach Abtrennung des Äthers zurückbleibenden Aminosäureesterchlorhydrate wurden in absolutem Alkohol gelöst. Die Lösung wurde im Meßkolben genau auf 100 ccm aufgefüllt und in einem aliquoten Teil davon eine Stickstoffbestimmung ausgeführt. (Stickstoffgehalt gleich 2,0875 g). Die alkoholische Lösung der Esterchlorhydrate versetzten wir mit 250 ccm Äther und setzten die Ester mit Ammoniak in Freiheit. Die ätherische Lösung wurde abfiltriert und mit Magnesiumsulfat getrocknet.

Nach Abdestillieren des Alkohols und des Äthers wurden die Aminosäureester einer fraktionierten Destillation unter vermindertem Druck unterworfen.

1. Fraktion: Druck ca. 12 mm. Bei 38° gingen ca. 6 g eines etwas nach Aminosäureester riechenden Öles über.

2. Fraktion: Druck ca. 12 mm. Zwischen 38 und 60° gingen ca. 3,7 g eines stark nach Aminosäureester riechenden Öles über. Die Hauptmenge destillierte bei 50°.

3. Fraktion: Druck ca. 12 mm. Zwischen 60 und 90° gingen 3,7 g Destillat über.

Wir steigerten allmählich die Außentemperatur bis auf 210°, doch erhielten wir keine weitere Fraktion mehr.

Der Ester der  $\gamma$ -Aminobuttersäure war, falls vorhanden, in der 3. Fraktion zu suchen. Zwar wurden sämtliche erhaltenen Fraktionen mehrere Stunden mit konzentrierter Salzsäure gekocht, doch beschränkten wir uns bei der Weiterverarbeitung auf die zwischen 60 und 90° überdestillierte Fraktion.

Nach Eindampfen im Vakuum wurde der ölige Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen und mit einer 10%igen absolut alkoholischen Platinchloridlösung versetzt. Nach einigem Stehen hatten sich orangegelbe, ziemlich große Nadelchen abgeschieden. Ausbeute 0,1 g.

Das Platinsalz schmolz bei 220° unter Aufschäumen und Schwarzfärbung.

Wurde eine geringe Menge des Platinales mit einer gleich großen Menge des Platinales der  $\gamma$ -Aminobuttersäure<sup>1)</sup> gemischt, so beobachteten wir den gleichen Schmelzpunkt.

0,0952 g Substanz gaben 0,0030 g Platin.

$(C_4H_9NO_2)_2H_2PtCl_6$ . Ber.: Pt = 31,65%,

Gef.: Pt = 31,51%.

## Versuch II.

In genau der gleichen Weise verarbeiteten wir die Fäulnisflüssigkeit von Versuch II.

Der Stickstoffgehalt der absolut alkoholischen Esterchlorhydratlösung betrug 2,0018 g.

Bei der fraktionierten Destillation unter ca. 11 mm Druck wurden folgende Fraktionen erhalten.

1. bis 50°: 5 g eines nach Aminosäureester riechenden Destillates;

2. zwischen 50 und 76°: 5 g eines öligen Destillates.

<sup>1)</sup> E. Abderhalden und K. Kautzsch, l. c.

Trotz Steigerung der Außentemperatur bis auf  $210^{\circ}$  erhielten wir keine weitere Fraktion.

Auch hier beschränkten wir uns auf die Aufarbeitung der 2. Fraktion. Bei gleicher Weiterverarbeitung, wie oben, erhielten wir 0,3 g Platinsalz. Es schmolz unter Zersetzung und Schwärzung bei  $220^{\circ}$ . Auch sein Mischschmelzpunkt mit Platinat der  $\gamma$ -Aminobuttersäure war der gleiche.

0,1588 g Substanz gaben 0,0500 g Platin.

$(C_4H_9NO_2)_2H_2PtCl_6$ . Ber.: Pt = 31,65%.

Gef.: Pt = 31,49%.

---