

Über die Identifizierung der aus Proteinen der Nervensubstanz gewonnenen Aminosäure von der Zusammensetzung $C_6H_{13}NO_2$.

II. Mitteilung.

Von

Emil Abderhalden und Arthur Weil.

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

(Der Redaktion zugegangen am 18. Oktober 1913.)

Nachdem wir vor kurzem die von uns bei der totalen Hydrolyse der Proteine aus Nervensubstanz aufgefundene neue Aminosäure mit größter Wahrscheinlichkeit als d-n- α -Aminocaprinsäure identifiziert hatten,¹⁾ versuchten wir weiter durch Verarbeitung größerer Mengen von Nervengewebe und weitgehendste Fraktionierung die neue Substanz möglichst rein von den beigemengten Isomeren zu erhalten. Es gelang uns, ausgehend von ca. 20 kg Rückenmark, nach der Verseifung der bei 80—105° und 0,1 mm bei einer Außentemperatur von 100—130° übergehenden Esterfraktion Norleucinfraktionen zu erhalten, deren spezifische Drehungen sehr gut mit derjenigen der synthetischen d-n- α -Aminocaprinsäure übereinstimmten. Die Werte für $[\alpha]_D^{20}$ der aus dieser Esterfraktion gewonnenen fünf Aminosäurefraktionen waren nach einmaligem Umkrystallisieren in Wasser und 20%iger Salzsäure untersucht folgende:

Fraktion	Lösungsmittel	$[\alpha]_D^{20}$	Analytische Belege		
			g Substanz	g Lösung	α im 2 dm-Rohr
1	Wasser	- 3,87°	0,2465	21,2223	- 0,09
2	„	- 5,05°	0,2450	22,4596	- 0,11
3	„	- 4,68°	0,3048	23,7798	- 0,12
4	„	+ 1,68°	0,2189	18,4799	+ 0,04
5	„	+ 2,56°	0,2387	20,3558	+ 0,06

¹⁾ Emil Abderhalden u. Arthur Weil, Über eine neue Aminosäure von der Zusammensetzung $C_6H_{13}NO_2$, gewonnen bei der totalen Hydrolyse der Proteine aus Nervensubstanz. Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 39 (1913).

Fraktion	Lösungs- mittel	$[\alpha]_D^{20^\circ}$	Analytische Belege		
			g Substanz	g Lösung	α im 2 dm-Rohr
1	20% HCl	+ 10,55°	0,2797	23,4254	+ 0,28
2	desgl.	+ 9,62°	0,3814	27,1731	+ 0,30
3	»	+ 18,45°	0,3203	24,7643	+ 0,53
4	»	+ 22,51°	0,1123	20,7819	+ 0,27
5	»	+ 19,90°	0,1333	21,0167	+ 0,28

d- α -Amino-n-capronsäure zeigt in Wasser $[\alpha]_{20^\circ}^D = + 4,5^\circ$ und in Salzsäure gelöst + 21^{0,1})

Die Stickstoffanalysen nach Kjeldahl ergaben für alle fünf Fraktionen Werte von 10,57—10,78%. Hieraus, sowie aus den spezifischen Drehungen zu schließen, scheinen also Fraktion 1—3 Gemische von l-Leucin und Norleucin zu sein, während Fraktion 4 und 5 aus fast reinem Norleucin bestehen.

Zur weiteren Identifizierung stellten wir von der vierten und fünften Fraktion die β -Naphthalinsulfoverbindung dar und verglichen diese mit der von uns dargestellten, bis jetzt noch nicht beschriebenen β -Naphthalinsulfo-d-n- α -aminocapronsäure.

Beide β -Naphthalinsulfoverbindungen wurden nach den von E. Fischer und Peter Bergell²⁾ gegebenen Vorschriften dargestellt. Die Aminosäure wurde in der berechneten Menge $n/1$ -NaOH gelöst. Dann wurden 2 Moleküle β -Naphthalinsulfochlorid in Äther gelöst hinzugefügt. Unter andauerndem Schütteln wurde im Verlaufe von 4 Stunden in einstündigen Intervallen noch dreimal die gleiche Portion $n/1$ -NaOH hinzugegeben, und hierauf die abgetrennte wässrige Lösung mit Salzsäure angesäuert. Das sofort ausfallende Rohprodukt wurde aus der etwa hundertfachen Menge 20%igen Alkohols umkrystallisiert und zur Analyse im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeuten betragen 78—89% der Theorie.

¹⁾ Je höher im allgemeinen die Drehung in salzsaurer Lösung ausfällt, um so geringer ist diejenige in Wasser. Vielleicht deutet dieses Verhalten auf ein nicht ganz reines, durch eine isomere Verbindung verunreinigtes Präparat hin.

²⁾ Emil Fischer und Peter Bergell, Berichte d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Bd. 35, S. 3779 (1902).

Alle dargestellten β -Naphthalinsulfoverbindungen waren in absolutem Äthylalkohol und in Äther leicht löslich. Sie lösten sich in etwa 100 Teilen kochendem 20% igem Alkohol und waren fast unlöslich in Wasser. Das optische Verhalten und die Schmelzpunkte seien in einer Tabelle zusammengestellt.

β -Naphthalinsulfo-	$[\alpha]_D^{20^\circ}$	F (unkorrigiert)	
		erreicht	schmilzt
-l-Leucin ¹⁾	—	60°	67°
-d-n- α -Aminocaprinsäure .	— 22,54°	146°	149°
-Norleucin aus Fraktion 4 .	— 26,87°	144°	146°
» » » 5 .	— 19,61°	111°	119°

Analytische Belege.

1. β -Naphthalinsulfo-d-n- α -aminocaprinsäure.

0,1451 g Substanz gaben 0,3190 g CO₂ und 0,0804 g H₂O.

10,55 mg » » 0,398 ccm N [775 mm, 15°].

Berechnet für C ₁₆ H ₁₉ NO ₄ S [321,23]:	Gefunden:
C 59,76%	C 60,01%
H 5,96%	H 6,20%
N 4,36%	N 4,56%

0,2171 g Substanz in 0,7 ccm ⁿ/₁-NaOH gelöst und zu 10,9031 g wässriger Lösung aufgefüllt, $d = 1,025$, drehen im 1 dm-Rohr — 0,46° . $[\alpha]_D^{20^\circ} = -22,54^\circ$.

2. β -Naphthalinsulfo-norleucin [4. Fraktion].

0,1241 g Substanz gaben 0,2715 g CO₂ und 0,0682 g H₂O.

10,41 mg » » 0,393 ccm N [772 mm, 15°].

9,79 » » 0,353 » » [773 » 15°].

Berechnet für C ₁₆ H ₁₉ NO ₄ S [321,23]:	Gefunden:
C 59,76%	C 59,67%
H 5,96%	H 6,15%
N 4,36%	N 4,56 und 4,35%

¹⁾ E. Fischer und Peter Bergell, l. c.

0,1786 g Substanz in 0,55 ccm $n/1$ -NaOH gelöst und zu 11,0810 g wässriger Lösung aufgefüllt, drehen im 1 dm-Rohr $-0,44^{\circ}$. $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = -26,87^{\circ}$. $d = 1,016$.

3. β -Naphthalinsulfo-norleucin [5. Fraktion].

0,0786 g Substanz in 0,2 ccm $n/1$ -NaOH gelöst und zu 11,0810 g wässriger Lösung aufgefüllt, drehen im 1 dm-Rohr $-0,14^{\circ}$. $d = 1,006$. $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = -19,61^{\circ}$.

Nach diesen Befunden unterliegt es wohl keinem Zweifel mehr, daß die aus Nervensubstanz gewonnene Aminosäure der Zusammensetzung $C_6H_{13}NO_2$ α -Aminonormalcapronsäure ist. Diese Verbindung findet sich, wie neuere Versuche sehr wahrscheinlich machen, auch noch in anderen Eiweißstoffen. Weitere Untersuchungen sind im Gange. Sehr wahrscheinlich ist noch ein weiteres Leucinisomeres in der sogenannten Leucinfraction enthalten.

Anmerkung. Aus einer ganzen Anzahl von Proteinen ist eine Aminosäure der Zusammensetzung $C_4H_9NO_2$ isoliert worden. Es liegt offenbar α -Aminobuttersäure vor. Es ist bis jetzt nicht gelungen, ihre Struktur einwandfrei festzustellen. Die Mitteilung von Foremann¹⁾ veranlaßt diese Mitteilung. Foremann teilt mit, daß er aus Casein eine Aminobuttersäure gewonnen habe. Es fehlen jedoch Angaben, welche die Annahme des genannten Forschers rechtfertigen, die von ihm gewonnene Verbindung sei mit α -Aminoisobuttersäure identisch.

Emil Abderhalden.

¹⁾ Frederick William Foremann, Die Prolinfraktion bei der Hydrolyse des Caseins. Isolierung von Aminobuttersäure. Bioch. Zeitschr., Bd. 56, S. 1 (1913).