

Über neue Verbindungen der Glutaminsäure.

Von
Peter Bergell.

(Der Redaktion zugegangen am 12. Sept. 1918.)

Von Acylverbindungen der Glutaminsäure sind die Benzoylderivate am längsten bekannt. Sie wurden von E. Fischer¹⁾ zur Spaltung der racemischen Glutaminsäure in ihre optischen Komponenten benutzt. Die optisch aktiven Benzoylglutaminsäuren sind in Wasser relativ leicht löslich (in 21 Teilen bei 20°, in 2 Teilen bei 100°). Siegfried²⁾ erhielt die ziemlich schwerlösliche 4-Nitrotoluol-2-sulfoverbindung und Neuberg³⁾ und Manasse stellten die Verbindung von d-Glutaminsäure mit α -Naphthylisocyanat her und geben an, daß diese Reaktion eine quantitative Ausbeute gibt. Dagegen wurde bisher angenommen, daß β -Naphthalinsulfochlorid weder mit Glutaminsäure noch mit Asparaginsäure ein isolierbares Derivat ergibt, während das β -Naphthalinsulfoasparagin von E. Königs und von P. Bergell dargestellt wurde.

Es wurde nun gefunden, daß sich die β -Naphthalinsulfo-glutaminsäure unter bestimmten Bedingungen leicht gewinnen läßt, da sie zwar in Wasser löslich, in konzentrierten Salzlösungen jedoch schwer löslich ist. Bei Verwendung von Toluolsulfochlorid, das neuerdings E. Fischer und Lipschütz⁴⁾ zur Herstellung von Aminosäurederivaten erfolgreich anwandten,

¹⁾ E. Fischer, Chem. Ber., Bd. 32, S. 2451 (1899).

²⁾ M. Siegfried, Diese Zeitschr., Bd. 43, S. 68 (1904).

³⁾ Neuberg u. Manasse, Chem. Ber., Bd. 38, S. 2364 (1905).

⁴⁾ Emil Fischer u. Werner Lipschütz, Chem. Ber., Bd. 48, S. 360 (1915).

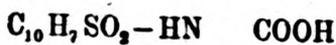
wurden ähnliche Verhältnisse festgestellt und die analoge Verbindung erhalten. Da die beiden neuen Verbindungen unter Umständen für Nachweis und Isolierung oder weitere Verkettung der Glutaminsäure wichtig sein können, sollen sie hier kurz beschrieben werden.

Von Wichtigkeit ist, daß bei diesen Synthesen die vorhandene Alkalimenge gering bleibt und über ein Molekül nicht hinausgeht, sodaß die wäßrige Lösung der sauren Natronsalze mit den betreffenden Chloriden zur Reaktion gelangt. Spätere, noch nicht abgeschlossene Versuche ergaben, daß die Ausbeute bei der Darstellung der β -Naphthalinsulfoglutaminsäure wesentlich erhöht wird, wenn die vorhandene Alkalimenge bei Beginn und in den ersten Phasen unter einem Molekül, auf ca. $\frac{1}{2}$ Mol. gehalten wird. Bei analoger Versuchsanordnung wurde auch ein entsprechendes Derivat der Asparaginsäure leicht erhalten, dessen Analyse jedoch noch nicht vorliegt.

Experimenteller Teil.

10 g freie natürliche Glutaminsäure, die aus rohem Mononatriumsalz durch Ausfällen mit 1 Mol. HCl gewonnen war, wurde mit 12 g β -Naphthalinsulfochlorid in Äther und $3 \times$ ein Mol. NaOH, das fraktioniert nach jemaligem 3-stündigen Schütteln zugefügt wurde, in gewohnter Weise reagiert¹⁾. Die abgetrennte wäßrige Schicht wird filtriert und mit HCl angesäuert. Es fällt ein weißes Öl, das sich beim längeren Stehen zum Teil wieder löst. Um die Verbindung zur Kristallisation zu bringen, genügt der Zusatz von Kochsalz bis zu $\frac{1}{4}$ Sättigung. Nach längerem Stehen in der Kälte tritt Kristallisation ein. Es wird scharf abgesaugt und sofort zweimal hintereinander unter Verwendung von Tierkohle aus wenig heißem Wasser umkristallisiert. Auf diese Weise gelingt es stets, eine harte sandige Kristallmasse zu erhalten. Unter dem Mikroskop erscheint sie als aus Nadeln und sehr spitzen Blättern zusammengesetzt. Im Kapillarröhrchen erhitzt schmilzt sie bei 165° (unkorr.). Sie ist kristallwasserfrei. Zur Analyse wurde sie bei 100° getrocknet.

¹ Emil Fischer u. Peter Bergell, Chem. Ber., Bd. 35, S. 3779 (1902).



Mol. 337



0,1627 g Substanz gaben 0,3174 g CO_2 u. 0,0671 g H_2O

0,1985 " " " nach Carius 0,1371 g BaSO_4

0,1544 " " " 5,8 ccm N (21°, 759 mm)

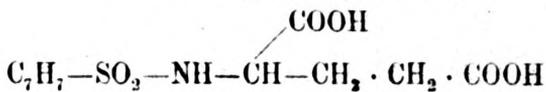
Ber.: C = 53,42% H = 4,45% N = 4,17% S = 9,52%

Gef.: C = 53,20% H = 4,58% N = 4,32% S = 9,48%

Die Substanz war völlig aschefrei.

Die neue Verbindung ist in Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform und Benzol auch in der Wärme schwer löslich. In kaltem Aceton ist sie leicht löslich. Sie bietet sowohl in bezug auf Ausbeute wie auf Kristallisation häufig Schwierigkeiten. Speziell ist sie aus Alkohol wie aus verdünntem Alkohol äußerst schwer zur Kristallisation zu bringen. Selbst beim langsamen Verdunsten alkoholischer Lösungen kristallisiert sie in undeutlichen Schuppen. Auch aus verdünnten wäßrigen Lösungen fällt sie zuerst auch in reiner Form ölig aus. Meist fällt die Hauptmenge als Öl zu Boden und scheiden sich dann aus der überstehenden Lösung mehrere Millimeter lange schöne Kristalle aus. Doch ist sie, wie erwähnt, in reiner Form aus heißem Wasser stets schnell zur Kristallisation zu bringen. Gegen Verunreinigungen ist sie äußerst empfindlich. Zur Darstellung verwendet man daher zweckmäßig keinen Überschuß von Naphthalinsulfochlorid. Wird nämlich beim Aussalzen β -Naphthalinsulfosäure oder naphthalinsulfosaures Natron mit niedergeschlagen, so werden die Löslichkeiten oft derart beeinflusst, daß die Reindarstellung Schwierigkeiten bietet. (So ist mir die Isolierung noch einmal völlig mißlungen, nachdem mir die Verbindung bereits aus zweimaliger Darstellung bekannt war. Ich wollte nach dem Aussalzen aus alkoholischer Lösung umkristallisieren und hatte schließlich eine stickstofffreie Substanz [naphthalinsulfosaures Natron] in der Hand.) Bei genauer Befolgung obiger Vorschrift gelingt die Isolierung stets bei Verwendung leidlich reiner Glutaminsäure.

Toluolsulfoglutaminsäure.



10 g unreines glutaminsaures Natron werden in ca. 50 ccm Wasser gelöst und mit wenig mehr als 1 Mol. Salzsäure versetzt. Die ausgeschiedene Glutaminsäure wird abgesaugt und mit wenig Wasser gewaschen. Darauf wird mit 50 ccm Wasser übergossen und 30 ccm n-NaOH hinzugefügt, wobei alles in Lösung geht. Alsdann werden 10 g Toluolsulfochlorid in Äther hinzugefügt und in einer Schüttelflasche auf der Maschine 1 1/2 Stunden geschüttelt. Darauf wird nochmals die gleiche Menge Natronlauge und nach weiteren 3 Stunden Schütteldauer zum dritten Male NaOH hinzugefügt und geschüttelt. Zum Schluß wird die wäßrige Schicht abgetrennt, durch ein Faltenfilter filtriert und mit 25 % iger Salzsäure im Überschuß versetzt. Beträgt die Flüssigkeitsmenge nach dieser Versuchsanordnung mehr als 150 ccm, so bleibt die Lösung beim Ansäuern klar. Wurde in konzentrierter Lösung gearbeitet, entsteht eine ölige Fällung. Wird jedoch Kochsalz in einer Menge hinzugefügt, die noch keine Halbsättigung verursacht, so fällt reichlich weißes Öl aus, das zunächst nicht zur Kristallisation zu bringen ist. Erst nach zweitägigem Stehen trat Kristallisation ein. Ist man bereits im Besitz von Impfkristallen, so ist Kristallisation sofort zu erzielen. Nachdem der gesamte Niederschlag fest geworden, wird scharf abgesaugt, aber nicht nachgewaschen. Die feuchte Masse, deren Trockengewicht ca. 5 g betrug, wird nun sofort mit 25 ccm heißen Wassers unter Verwendung von etwas Tierkohle umkristallisiert. Die Lösung bleibt beim Erkalten klar. Beim Reiben und stärkeren Abkühlen ist aber jetzt sofort Kristallisation zu erzielen. Eine kleine Menge wird auf diese Weise zur Kristallisation gebracht und die Hauptmenge mit einigen Kristallen geimpft, worauf im Laufe einiger Stunden in langsam fortschreitender Kristallisation die ganze Masse erstarrt. Nach 24 Stunden wird abgesaugt und die Substanz getrocknet. Ihre Menge betrug 4,2 g. Im Kapillarröhrchen erhitzt schmolz die Substanz bei 115–117° (unkorr.) Den gleichen Schmelzpunkt

zeigte eine aus unreinerem Ausgangsmaterial hergestellte Substanz. In reinem Wasser ist die Verbindung auch in der Kälte löslich, in Salzwasser ist sie schwer löslich. Alkohol löst sie äußerst leicht, und scheidet sie sich aus alkoholischen und verdünnten alkoholischen Lösungen sehr schwer kristallin ab. Selbst durch Abkühlen erzielte Kristallisation wird bei längerem Stehen wieder ölig. In Äther, Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff ist die Verbindung schwer löslich, in Aceton leichtlöslich, in Benzol unlöslich.

Unter dem Mikroskop erscheinen die oben beschriebenen aus Wasser sich abscheidenden Kristallisationen als kurze weiche Nadeln, die sich wollig zusammenlagern und verfilzen. Zur Analyse wurden 2 g Substanz nochmals aus 8 ccm heißen Wassers umkristallisiert. Sie löst sich leicht beim Kochen, scheidet sich aber nach einstündigem Stehen nicht ab; auch beim Reiben mit dem Glasstab tritt keine Kristallisation ein. Nach dem Impfen scheiden sich Kristalle ab, deren Menge sich sehr langsam verstärkt. Nach 12 Stunden war die Masse zu einem festen Brei erstarrt. Sie wird abgesogen und getrocknet, wobei 1,2 g hinterbleiben, während 0,8 g von den 9 ccm Wasser in Lösung gehalten wurden. Die so umkristallisierte Substanz zeigte den gleichen Schmelzpunkt wie zuvor, nämlich 115—117°. Sie diente zur Analyse.

0.1969 g Substanz gaben 0.1513 g BaSO₄
 0.1447 " " " 5,7 ccm N (14°; 776 mm)
 0.1819 " " " 0,3200 g CO₂ und 0,0830 g H₂O.

C₁₂H₁₅SO₆N: Mol. 301.

Ber.: C	47,84%	H	4,98%	N	4,65%	S	10,6%
Gef.: C	47,98%	H	5,07%	N	4,74%	S	10,55%

Verhalten von β -Naphthalinsulfoglutaminsäure neben β -Naphthalinsulfoglycin im Harn.

100 ccm Harn von 1,020 spez. Gewicht werden mit 1 g Glykokoll und 1 g Glutaminsäure in Form ihres sauren Natronsalzes versetzt. Die Lösung wird mit 6 g Naphthalinsulfochlorid in Äther unter dreimaligem Zusatz von 15 ccm n-NaOH auf der Schüttelmaschine in gewohnter Weise zur Reaktion ge-

bracht. Nach dem Absetzen wird die untere Schicht abgetrennt und filtriert. Es wird mit Salzsäure stark angesäuert, worauf ein Niederschlag fällt, der schnell kristallin wird. Er wird abgesaugt und mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. Er stellt rohes Naphthalinsulfoglycin dar. Filtrat und Waschwasser werden getrennt aufgefangen. Zum Filtrat wird noch weiter starke HCl zugegeben, die nur eine neue Trübung hervorruft, worauf Kochsalz hinzugefügt wird und einige Kristalle β -Naphthalinsulfoglutaminsäure eingetragen werden. Nach 24 Stunden hat sich ein geringer fester Niederschlag abgeschieden.

Das rohe β -Naphthalinsulfoglycin wird einmal aus 90%igem Alkohol umkristallisiert. Es schmilzt bei 138—140° und handelt es sich demnach um Mischkristalle. Nach Umkristallisieren aus viel heißem Wasser steigt der Schmelzpunkt auf 156°. Die ausgesalzene Fraktion, welche die Glutaminsäureverbindung enthalten soll, wird abgesogen und in 8 ccm heißen Wassers gelöst. Beim Erkalten fällt sofort ein Öl. Es wird Tierkohle hinzugefügt, geschüttelt und filtriert. Das klare Filtrat wird geimpft, worauf sofort Kristallisation eintritt, deren Menge allerdings gering ist. Die Kristalle werden nach 15 Stunden abgesogen. Sie schmelzen bei 164° und zeigen die Eigenschaften der β -Naphthalinsulfoglutaminsäure. Die Ausbeute ist allerdings sehr gering. Leichter gelingt die Trennung auf folgende Weise: Es wird sofort bei der ersten Fällung mit Salzsäure Kochsalz hinzugefügt. Der zuerst halb feste Niederschlag wird im Laufe von 24 Stunden fest, schließt aber noch Farbstoff und Verunreinigungen ein. Darauf wird abgesaugt und sofort in heißem Wasser gelöst und mit Tierkohle behandelt, das Filtrat wird wiederum ausgesalzen. Der so gereinigte Niederschlag wird nach dem Absaugen mit kaltem Wasser verrieben. Der hierbei ungelöste Teil wird aus verdünntem Alkohol umkristallisiert und zeigt nunmehr Schmelzpunkt und Eigenschaften des β -Naphthalinsulfoglycins. Der gelöste Teil wird wieder ausgesalzen und aus wenigen ccm Wasser umkristallisiert unter Benutzung einiger Impfkristalle β -Naphthalinsulfoglutaminsäure. Die erhaltenen Kristalle sind dann rein.

Es gelingt auf diese Weise allerdings, 1% der Glutaminsäure im Harn nachzuweisen neben einer gleichen Menge Glykokoll. Die Ausbeuten sind aber äußerst gering und steht hier die Methodik weit hinter den Ergebnissen bei anderen Aminosäuren zurück. Die Anwesenheit von β -Naphthalinsulfo-d-glutaminsäure übt sogar einen recht unangenehmen Einfluß auf die Darstellung der analogen Verbindung einer anderen Monoaminosäure, selbst des Glykokolls, aus. Sie ist sicher mit ein Grund, warum Gemische von β -Naphthalinsulfoverbindungen der Aminosäuren, wie sie z. B. bei der Bearbeitung der hydrolytischen Endprodukte der Proteine erhalten werden, nicht kristallisieren. Trotz ihrer Löslichkeit in kaltem Wasser begleitet sie die schwerlöslichen Kristallfraktionen.

Fügt man 1% d-Glutaminsäure allein einem normalen Harn zu, so läßt sich das Derivat in ähnlicher Weise wie oben beschrieben erhalten, doch ist die Ausbeute gleichfalls mangelhaft.

Bei fraktionierter Zufügung des Alkalis in kleineren Portionen würde die Reaktion wahrscheinlich günstiger verlaufen, worüber noch Versuche ausstehen.

HOPPE-SEYLER'S ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

E. ABDERHALDEN-Halle, SVANTE ARRHENIUS-Stockholm, G. v. BUNGE-Basel, A. ELLINGER-Frankfurt a. M., G. EMBDEN-Frankfurt a. M., H. EULER-Stockholm, EMIL FISCHER-Berlin, H. FISCHER-Wien, R. GOTTLIEB-Heidelberg, W. v. GULEWITSCH-Moskau, O. HAMMARSTEN-Upsala, S. G. HEDIN-Upsala, V. HENRIQUES-Kopenhagen, G. HOPPE-SEYLER-Kiel, O. KESTNER-Hamburg, F. KNOOP-Freiburg i. Br., L. KREHL-Heidelberg, Wm. KÜSTER-Stuttgart, CARL TH. MÖRNER-Upsala, F. v. MÜLLER-München, J. P. PAWLOW-St. Petersburg, C. A. PEKELHARING-Utrecht, F. PREGL-Graz, W. E. RINGER-Utrecht, E. SALKOWSKI-Berlin, M. SIEGFRIED-Leipzig, S. P. L. SÖRENSEN-Kopenhagen, H. STEUDEL-Berlin, H. THIERFELDER-Tübingen, H. WIELAND-München, R. WILLSTÄTTER-München, A. WINDAUS-Göttingen, E. WINTERSTEIN-Zürich, R. v. ZEYNEK-Prag

herausgegeben von

A. KOSSEL,

Professor der Physiologie in Heidelberg.

Einhundertundvierter Band:

Fünftes und sechstes Heft.

(Ausgegeben am 15. April 1919.)

Mit 1 Tafel und 2 Figuren im Text.

**STRASSBURG UND BERLIN
VERLAG VON KARL J. TRÜBNER**

1919.

EINHUNDERTUNDVIERTER BAND, FÜNFTES UND SECHSTES HEFT.

Inhalt.

	Seite
Féulgen, R. Ein optisch-inaktives Natriumsalz der Nucleinsäure (mit 2 Figuren im Text.)	189
Hintzelmann, Ulrich. Über den mikrokristallographischen Nach- weis von Jod im Blute (mit 1 Tafel)	211
Winterstein, E. Über eine einfache Darstellung von Rohrzucker aus pflanzlichen Objekten	217
Mayr, Otto. Zur Ermittlung des Acetons im Harn	220
Melsenheimer, Jakob. Die stickstoffhaltigen Bestandteile der Hefe	229
Schenck, Martin. Zur Kenntnis der Gallensäuren. V. Mitteilung	284

Für die nächsten Hefte sind Arbeiten eingegangen von:

S. P. L. Sørensen, F. Valentin, H. Thierfelder und E. v. Cramm,
E. Hirschberg und H. Winterstein, E. Winterstein (3), H. v. Euler
und R. Blix, A. Ewald (2), H. Pringsheim und H. Magnus, H. Prings-
heim und A. Magnus-Merkatz, S. Edlbacher.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie
erscheint in Bänden von 6 Heften. Preis des Bandes 18 Mark.

Kurze Notizen oder Bemerkungen zu anderen Arbeiten werden in
der Regel am Schluß des Heftes und außerhalb der Reihenfolge des Ein-
gangsdatums mitgeteilt. — Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte
Arbeiten, sowie Referate über bereits publizierte Arbeiten werden nicht
aufgenommen.

Das Honorar beträgt für den Druckbogen 40 Mark. Von jeder Arbeit
werden dem Verfasser 75 Separat-Abdrücke gratis geliefert.

In bezug auf die Rechtschreibung der Fachausdrücke sind bis auf
weiteres die Publikationen der Deutschen chemischen Gesellschaft maß-
gebend. In zweifelhaften Fällen wird der etymologische und internationale
Standpunkt vor dem phonetischen bevorzugt.
