

## Die Monoaminosäuren des Glutens.

Von

**Emil Abderhalden** und **Fernand Malengreau.**

---

(Aus dem I. chemischen Institute der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. Juli 1906.)

---

Der Weizenkleber enthält bekanntlich in Alkohol lösliche und unlösliche Eiweißarten, von denen die letzteren unter dem Namen Glutencasein oder wohl besser, um die irreführende Bezeichnung Casein zu umgehen, Gluten zusammengefaßt werden. Vorläufig besitzen wir keine Kennzeichen, welche es uns ermöglichen, die Frage zu entscheiden, ob das Gluten im gewöhnlichen Sinn als einheitliches Protein aufzufassen ist, oder ob es vielmehr ein Gemisch von vielleicht ganz verschiedenartigen Eiweißsubstanzen darstellt. Diese Erörterung ist ausnahmslos bei allen bis jetzt untersuchten Proteinen angebracht, und wir heben diese Unsicherheit immer wieder hervor, um den Eindruck zu vermeiden, als ob wir glaubten, chemisch einheitliche Körper zu unseren Untersuchungen vor uns zu haben. Selbstverständlich haben wir uns überzeugt, daß die untersuchten Eiweißarten nach ein und derselben Darstellung stets ganz ähnliche und zum Teil fast identische Resultate bei der Aufspaltung mit Säuren gaben, so daß wir nach den bis jetzt allgemein üblichen Begriffen ein «einheitliches» Produkt vor uns hatten. Unsere Untersuchungen haben mehr biologisches Interesse, indem sie zeigen sollen, in welchem Verhältnis die verschiedenartigen Proteine zu einander stehen. Erst bei einer sehr großen Zahl von Untersuchungen wird es möglich sein, neue Gesichtspunkte zu gewinnen. Wir hoffen jedoch auch, von diesen nach einem einheitlichen Plane ausgearbeiteten Untersuchungen aus, die manche Beobachtungen in sich schließen, deren Mitteilung aus Mangel an genügend scharfen Beweisen wir für

noch unangebracht halten, am raschesten die noch bestehenden Lücken in der Erforschung der einzelnen Bausteine ausfüllen zu können. Im vorliegenden Falle war es von besonderem Interesse, die alkohollöslichen Bestandteile des Weizenklebers mit den unlöslichen zu vergleichen. Von ersteren ist das Gliadin<sup>1)</sup> eingehender untersucht.

Die folgende Übersicht gibt die erhaltenen Resultate verglichen mit dem Gliadin wieder:

Auf 100 g aschefreies, bei 100° getrocknetes Protein kommen

	beim Gluten:	beim Gliadin:
Glykokoll	0,41	0,68
Alanin	0,30	2,66
Aminovaleriansäure	nicht gefunden	0,33
Leucin	4,10	6,0
Prolin	3,97	2,4
Glutaminsäure	24,0	31,5
Asparaginsäure	0,64	1,24
Phenylalanin	1,0	2,6
Tyrosin	1,9	2,37
Tryptophan	nicht bestimmt	ca. 1%
Serin	» »	0,12
Lysin	2,15 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>
Histidin	1,16 <sup>2)</sup>	1,2 <sup>2)</sup>
Arginin	4,4 <sup>2)</sup>	2,75 <sup>2)</sup>

#### Experimenteller Teil.

420 g Gluten (dargestellt von Dr. Grübler, Dresden) mit einem Aschegehalt von 0,57% und einem Wasserverlust von 9,6% bei 100° wurden mit 2½ l 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Die Lösung des Proteins ging verhältnismäßig langsam von statten und nach dem Filtrieren der abgekühlten Lösung hinterblieben 40 g einer schwarz gefärbten Substanz («Huminstoffe»). Aus dem Filtrat dieses offenbar zum Teil durch den Gehalt des verwandten Eiweißkörpers an Kohlehydraten bedingten Produktes entfernten wir

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und Franz Samuely, Die Zusammensetzung des Gliadins des Weizenmehls, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 276, 1905.

<sup>2)</sup> A. Kossel und F. Kutscher, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper, Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 165 (207), 1900.

die Schwefelsäure quantitativ mit einer konzentrierten Barytlösung. Der scharf abgenutzte und abgepreßte Baryumsulfatniederschlag wurde so lange mit Wasser angerieben und ausgekocht, bis eine Probe des Filtrats keine Färbung mit Millons Reagens mehr gab. Die vereinigten Filtrate wurden nun so lange eingengt, bis eine Krystallhaut entstand. Beim Abkühlen auf Eis vervollständigte sich die Tyrosinabscheidung. Zur völligen Reinigung krystallisierten wir das gewonnene Tyrosin unter Anwendung von Tierkohle wiederholt aus heißem Wasser um. Die Mutterlaugen des Tyrosins wurden vereint eingengt, bis das Filtrat der jeweiligen Abscheidung keine Reaktion mit Millons Reagens mehr gab. Diese letzten Mutterlaugen wurden der Hauptmutterlauge der ersten rohen Tyrosinabscheidung zugefügt und mit dieser weiter auf Glutaminsäure und die übrigen Aminosäuren verarbeitet. Isoliert wurden 6,5 g analysenreines Tyrosin = 1,9%.

0,1667 g Substanz gaben 0,3630 g CO<sub>2</sub> und 0,0903 g H<sub>2</sub>O.

Berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>:

Gefunden:

59,66% C und 6,07% H.      59,39% C und 6,02% H.

Die Mutterlauge vom Tyrosin verdampften wir bis zur Sirupkonsistenz und leiteten nun zur Abscheidung der Glutaminsäure gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung ein. Nach dem Abkühlen auf Eis erstarrte bald die ganze Masse krystallinisch. Sie wurde auf einem Koliertuchfilter abgenutzt und sehr scharf abgepreßt. Die noch ziemlich braun gefärbte Krystallmasse wurde aus heißer Salzsäure unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert und zur Vervollständigung der Abscheidung nochmals Salzsäure in die Lösung eingeleitet. Im ganzen wurden 70 g salzsaure Glutaminsäure erhalten.

0,1789 g Substanz gaben 0,2131 g CO<sub>2</sub> und 0,0907 g H<sub>2</sub>O,

Berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>4</sub>Cl:

Gefunden:

32,69% C und 5,45% H.      32,49% C und 5,63% H.

Die beim Umkrystallisieren des Glutaminsäurechlorhydrates verbleibende Mutterlauge wurde mit dem ursprünglichen Filtrate der ersten Abscheidung vereinigt und nun die ganze Masse zur Isolierung der einzelnen Monoaminosäuren unter vermindertem Druck zum Sirup eingengt und durch Zugabe von Alkohol

und Einleiten von trockener, gasförmiger Salzsäure, wie schon oft beschrieben, verestert. Die Ester wurden nach dreimaliger Veresterung mit Natronlauge und Kaliumcarbonat in Freiheit gesetzt und in Äther aufgenommen.

Die Destillation der Ester gab folgende Fraktionen:

Fraktion I:	bis 60°	des Wasserbades	und 12 mm	Druck	=	9 g
›	II: 60	› 100°	›	›	›	= 14
›	III:	› 105°	› Ölbad	›	›	= 29
›	IV:	› 210°	›	›	›	= 15

Die Verarbeitung der einzelnen Fraktionen erfolgte nach den schon oft in dieser Zeitschrift angeführten Methoden. Um Wiederholungen zu vermeiden, seien nur die wesentlichsten Punkte hier angeführt. Fraktion I—III wurden sofort durch Kochen mit Wasser verseift. Bei der IV. Fraktion wurde zunächst durch Ausschütteln mit Äther der Phenylalaninester abgetrennt, der nach mehrmaligem Auswaschen der ätherischen Lösung mit Wasser ganz rein erhalten wurde. Der übrige Teil dieser Fraktion mit den wässerigen Auszügen wurde mit Baryt verseift. Erhalten wurden 3,4 g Phenylalanin. Es zeigte alle Eigenschaften dieser Verbindung. Leider verhinderte ein Unfall die Ausführung der Analyse.

Die verseiften Fraktionen I, II und III wurden zunächst zur Gewinnung des Prolins einzeln unter vermindertem Druck zur Trockene verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht. Sämtliche alkoholischen Auszüge wurden vereinigt, unter vermindertem Druck verdampft, und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Durch Kochen der wässerigen Lösung mit überschüssigem Kupferoxyd erhielten wir das Kupfersalz des Prolins, das durch Eindampfen zur Trockene und Auskochen des Rückstandes mit absolutem Alkohol in die in Alkohol lösliche aktive Kupferverbindung und die unlösliche racemische getrennt wurde. Nur das letztere Kupfersalz diente zur Analyse:

0,5465 g lufttrockenes racemisches Kupfersalz verloren bei 120°  
0,0555 g Wasser.

0,4910 g bei 120° getrocknetes Prolinkupfer gaben 0,1340 g CuO.

Berechnet für $(C_5H_8NO_2)_2Cu + 2H_2O$ :	Gefunden:
10,99% $H_2O$	10,16% $H_2O$ und 21,77% Cu.
und für $(C_5H_8NO_2)_2Cu$ :	21,81% Cu.

Eine zweite Analyse einer weiteren Krystallfraktion hatte das gleiche Resultat:

0,1800 g bei 120° getrocknetes Kupfersalz ergaben 0,0492 g CuO = 21,83% Cu.

Die Ausbeute betrug 10 g aktives Prolin und 3,5 g racemisches.

Der in Alkohol unlösliche Teil der Fraktion I bestand zum größten Teil aus Glykokoll, das als Esterchlorhydrat abgeschieden wurde. Es schmolz bei 144° (korr.).

0,1562 g Substanz gaben 0,1970 g CO<sub>2</sub> und 0,1011 g H<sub>2</sub>O.

Berechnet für C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>2</sub>Cl: Gefunden:

34,41% C und 7,17% H. 34,39% und 7,19% H.

Die letzte Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrates wurde mit der entsprechenden aus Fraktion II vereinigt.

Die II. Fraktion ergab nach dem fraktionierten Krystallisieren: 2,1 g Leucin. Zur Charakterisierung wurde eine Probe in das Kupfersalz verwandelt.

0,2150 g Kupfersalz gaben 0,0534 g CuO.

Berechnet für (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Cu: Gefunden:

19,6% Cu. 19,8% Cu.

Aus der Mutterlauge des Leucins gewannen wir Alanin. Sein Kupfersalz gab folgende Zahlen:

0,2207 g Substanz gaben 0,0720 g Cu.

Berechnet für (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Cu: Gefunden:

26,41% Cu. 26,30% Cu.

Seine Menge betrug 1,2 g.

Aus der Mutterlauge des Alanins, das sich gegen 296° (korr.) zersetzte, gewannen wir eine Substanz, die den Schmelzpunkt 238° (unkorr.) zeigte. Ihre Menge betrug 1,7 g. Wie die Darstellung des Esterchlorhydrates und dessen Eigenschaften beweisen, lag Glykokoll vor.

Die Mutterlauge des Glykokollesterchlorhydrates vereinigten wir mit der entsprechenden aus Fraktion II und dampften beide bis zur Trockene ein. Nun setzten wir die Ester mit Natronlauge und Kaliumcarbonat in Freiheit und nahmen sie in Äther auf. Beim Verdampfen des Äthers hinterblieb ein so kleiner Rückstand, daß eine weitere Verarbeitung ohne Aussicht war.

Die Hauptmenge des Leucins fand sich in Fraktion III. Wir isolierten hier 12,0 g.

0,1525 g Substanz gaben 0,3068 g CO<sub>2</sub> und 0,1400 g H<sub>2</sub>O.

Berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>: Gefunden:

54,96% C und 9,92% H. 54,87% C und 10,20% H.

Die IV. Fraktion enthielt Asparaginsäure und Glutaminsäure. Letztere wurde als Hydrochlorat isoliert und letztere aus dessen Mutterlauge nach Entfernung der Salzsäure mit Bleioxyd. Ein Teil der Asparaginsäure wurde ferner direkt aus dem gebildeten asparaginsauren Baryt gewonnen, der sich nach dem Verseifen dieser Fraktion mit Baryt am Boden des Gefäßes ausgeschieden hatte. Im ganzen wurden aus dieser Fraktion 2,2 g Asparaginsäure und 1,5 g Glutaminsäurechlorhydrat isoliert.

Erstere gab folgende Zahlen:

0,1634 g Substanz gaben 0,2166 g  $\text{CO}_2$  und 0,0779 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

Berechnet für  $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_4\text{N}$ :

Gefunden:

36,09% C und 5,26% H.

36,15% C und 5,30% H.

Endlich wurde auch hier der bei der Destillation der Ester verbleibende Rückstand, wie üblich, durch Kochen mit Baryt behandelt. Im wesentlichen fanden wir nur geringe Mengen von Leucin und Glutaminsäure. Letztere wurde als salzsaures Salz abgeschieden. Seine Menge betrug 9 g.

Die Mutterlauge des Glutaminsäurechlorhydrates wurde mit Bleioxyd gekocht und so von der Salzsäure befreit. Beim Einengen der vom gelösten Blei befreiten Lösung erhielten wir noch einige Krystallisationen, deren Aussehen uns schon bewies, daß Gemische und keine einheitlichen Substanzen vorlagen. Da ihre Menge gering war, verzichteten wir auf eine weitere Identifizierung. Die Gesamtausbeute an Glutaminsäure betrug 19,1%. Bei einer zweiten Bestimmung der Glutaminsäure, bei welcher 100 g Gluten mit der dreifachen Menge rauchender Salzsäure hydrolysiert worden waren, gewannen wir auf 100 g aschefreies Protein berechnet 24,0 g Glutaminsäure.

Nachtrag: In der Arbeit des einen von uns mit Fritz Pregl (Die Monoaminosäuren des krystallisierten Eialbumins, diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 30, 1905) sind bei der Zusammenfassung der Resultate die Ausbeuten an Alanin und Leucin unrichtig wiedergegeben. Alanin 2,1 g ist zu ersetzen durch 8,1 g und die Angabe Leucin 6,1 g durch 7,1 g.

Emil Abderhalden.