

Notiz über das Vorkommen von Rechts-Asparagin in der Natur.

Von

Hans Pringsheim.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

Der Redaktion zugegangen am 31. Januar 1910.)

Die α -Aminosäuren sind bisher in der Natur immer im optisch-aktiven Zustande aufgefunden worden. Wenn wir von zwei Fällen, auf die wir im weiteren zu sprechen kommen, absehen, so zeigen die bis dato vorliegenden Untersuchungen, daß das natürliche Vorkommen der α -Aminosäuren auf die eine der beiden möglichen optisch-aktiven Komponenten beschränkt zu sein scheint. Dem natürlichen Vorkommen dieser einen Komponente entspricht ihr Vorhandensein in den Abbauprodukten des Eiweißes, ihre Bevorzugung durch niedrigere Organismen als Stickstoffquelle wie ihre, nach den bisherigen Resultaten, ausschließliche Abspaltbarkeit aus den Polypeptiden durch die Fermente hochorganisierter Tiere und Pflanzen.

Die beiden bisher in der Literatur auftauchenden Angaben, welche von dieser Regel abweichen, beziehen sich auf das angebliche Vorkommen von d-Tyrosin in bleichen Schößlingen der Zuckerrüben¹⁾ und von d-Asparagin in Wickenkeimlingen.²⁾ Besonders die letzte dieser beiden Beobachtungen ist in zahlreiche Veröffentlichungen übergegangen. Bei dem großen Interesse, das die α -Aminosäuren wegen ihrer Beziehung zum Eiweiß verdienen, verlohnt eine Kritik der beiden genannten von der allgemeinen Regel abweichenden Befunde sehr wohl der Mühe.

Ob von Lippmann wirklich den optischen Antipoden des

¹⁾ E. von Lippmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XVII (1884), S. 2839.

²⁾ A. Piutti, Gazzetta Chimica Italiana, Bd. XVII (1887), S. 182.

l-Tyrosins unter den Händen hatte, bleibt zweifelhaft.¹⁾ Er erwähnt nicht, daß das Produkt durch Analyse, durch Schmelzpunkt und Löslichkeit mit dem gewöhnlichen Tyrosin verglichen wurde. Weiterhin stimmte die Drehung nicht mit der von E. Fischer¹⁾ beobachteten überein.

Bezüglich des natürlichen Vorkommens von d-Asparagin muß von vornherein befremden, daß diese Antipode in Wickenkeimlingen neben dem gewöhnlichen l-Asparagin vorkommen soll. Dieser Befund würde also das Vorhandensein von beiden Komponenten des Asparagins in den Keimlingen voraussetzen. Liest man nun nach, auf welche Weise Piutti der Nachweis des d-Asparagins neben l-Asparagin gelang, so erfährt man, daß er im Fabrikbetriebe 6500 kg trockene Wickenkeimlinge auf Asparagin verarbeitete, daß er daraus 20 kg Asparagin erhielt und daß er aus diesen 20 kg Asparagin schließlich durch successive Krystallisation ca. 300 g d-Asparagin isolierte, auf das er durch den dieser Komponente zukommenden süßen Geschmack aufmerksam gemacht wurde. Diese Art der Trennung war nur möglich, weil das d-Asparagin in Wasser löslicher als das l-Asparagin ist. Man kann also racemisches Asparagin durch Krystallisation in die beiden optischen Komponenten trennen. Setzen wir nun voraus, daß l-Asparagin durch siedendes Wasser, dessen Verwendung in dem fabrikmäßigen Extraktionsverfahren sicher nicht vermieden worden ist, racemisiert wird, so haben wir alle Bedingungen aufgeklärt, unter denen aus dem ursprünglich in den Keimlingen aller Wahrscheinlichkeit nach ausschließlich vorhandenen l-Asparagin das d-Asparagin gewonnen werden konnte. Bezüglich des Extraktionsverfahrens verweist Piutti auf eine spätere Abhandlung; ich habe aber keine weiteren Angaben darüber auffinden können.

Wie im experimentellen Teil geschildert wird, gelingt es nun mit verhältnismäßiger Leichtigkeit, das l-Asparagin durch Kochen mit Wasser zu racemisieren. Die Löslichkeitsunterschiede von d- und l-Asparagin in Wasser sind derartig große.

¹⁾ Vgl. hierzu auch E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Jg. XXXII (1900), S. 3638, und Untersuchungen über Aminosäuren. Polypeptide und Proteine. Berlin 1906, S. 116.

daß es selbst beim Ausgehen von 9 g linksdrehendem Asparagin möglich ist, nach zwölfstündigem Sieden seiner wässerigen Lösung in der dritten Fraktion schon Linksdrehung in salzsaurer Lösung, d. h. ein Vorherrschen von d-Asparagin nachzuweisen. Berücksichtigt man demgegenüber, daß Piutti aus 20 kg Asparagin aus Wickenkeimlingen durch fraktionierte Krystallisation nur ca. 300 g d-Asparagin erhielt, so wird die Erklärung sehr wahrscheinlich gemacht, daß dieses d-Asparagin aus dem natürlichen l-Asparagin stammte, und daß es aus ihm durch Racemisierung gebildet und durch fraktionierte Krystallisation abgeschieden wurde.

Wir glauben daher, daß weder das Vorkommen von d-Tyrosin noch von d-Asparagin in der Natur bisher bewiesen wurde, und daß von der am Anfang genannten Regel bisher wenigstens keine haltbaren Ausnahmen bestehen.

Experimenteller Teil.

I. Versuchsreihe.

Verwandt wurden 10 g Asparagin von Kahlbaum, welches ein Molekül Krystallwasser enthielt und wie folgt analysierte.

0.1805 g Substanz: 0,2158 g CO₂, 0,1084 g H₂O.

0.1816 " " 27,2 ccm Stickstoffgas bei 12° und 765 mm Druck.

C₄H₁₀O₄N₂. Berechnet: C 32,0%, H 6,66%, N 18,66%.

Gefunden: C 32,6%, H 6,71%, N 17,90%.

Trotzdem die Kohlenstoff- und Stickstoffwerte nicht besonders gut mit der Theorie übereinstimmen, wurde vom Umkrystallisieren abgesehen, um nicht dadurch schon eine Racemisierung zu bewirken. Für die optische Bestimmung diente hier und in den weiteren Bestimmungen eine Lösung in zehnvolumenprozentiger Salzsäure.

Eine Lösung von 3,8820 g, welche 0,3740 g Asparagin + H₂O oder 0,3206 g wasserfreies Asparagin, d. h. 8,259% wasserfreies Asparagin enthielt und die das spezifische Gewicht 1,074 hatte, drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht 3,21° nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20}$ in zehnvolumenprozentiger Salzsäure + 36,19°. Die Drehung des l-Asparagins in zehnvolumenprozentiger Salz-

säure wurde von Champion und Pellet¹⁾ für die Natriumlinie $+ 37,27^{\circ}$ gefunden, sodaß schon das Kahlbaumsche Asparagin, wahrscheinlich auch infolge der Extraktion teilweise racemisiert war.

9 g dieses Asparagins wurden nun in 90 ccm destilliertem Wasser gelöst, und die Lösung in einem Jenaer Rundkolben, der vorher mit konzentrierter Salzsäure ausgekocht worden war, 12 Stunden am Rückflußkühler siedend erhalten. Dann wurde auf dem Wasserbade eingengt und über Nacht im Eisschrank stehen gelassen. Das Einengen war absichtlich so weit fortgesetzt worden, daß die erste Fraktion verhältnismäßig groß ausfiel, sie betrug nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator 6,05 g Asparagin.

Daß das Asparagin die theoretische Menge Krystallwasser enthielt und daß es beim Trocknen im Exsikkator kein Krystallwasser verlor, zeigte folgende Wasserbestimmung, die im luftverdünnten Raum mit Phosphorpentoxyd bei der Temperatur des siedenden Wassers ausgeführt wurde.²⁾ Dazu sei bemerkt, daß das Asparagin unter denselben Bedingungen bei der Temperatur des siedenden Alkohols auch nach mehrstündigem Trocknen sein Krystallwasser nur unvollkommen verliert.

0,4305 g Substanz: 0,0523 g H₂O.

C₄H₈O₃N₂ + H₂O. Berechnet: H₂O 12,0 %.

Gefunden: > 12,15%.

Eine Lösung von 5,7605 g, welche 0,5442 g der ersten Fraktion des Asparagins oder 0,4700 g wasserfreies Asparagin, d. h. 8,159% wasserfreies Asparagin enthielt und die das spezifische Gewicht 1,073 hatte, drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht $3,11^{\circ}$ nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20}$ in zehnvolumenprozentiger Salzsäure $+ 35,53^{\circ}$. Die Drehung der ersten Fraktion war also schon um $0,66^{\circ}$ zurückgegangen.

Nach weiterem Eindampfen und Stehenlassen im Eis-

¹⁾ Compt. rend. de l'Acad., Bd. LXXXII (1876), S. 819.

²⁾ Bezüglich des Apparates vgl. Brahm und Wetzel in Abderhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Berlin 1909, Bd. I. S. 296, Fig. 429.

schränk über Nacht wurde eine zweite Fraktion von 0,5014 g Asparagin + H₂O gewonnen.

Die optische Bestimmung gab folgendes Resultat. Eine Lösung von 5,8270 g, welche 0,5014 g oder 0,4330 g wasserfreies Asparagin, d. h. 7,431 % wasserfreies Asparagin enthielt und die das spezifische Gewicht 1,071 hatte, drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht 2,73° nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20}$ in zehnvolumenprozentiger Salzsäure = + 34,32°. Die Drehung der zweiten Fraktion war also gegenüber der ursprünglichen um 1,87° zurückgegangen.

Nach weiterem Eindampfen und Stehenlassen im Eisschränk über Nacht wurde eine dritte Fraktion von 0,3283 g Asparagin + H₂O gewonnen.

Die optische Bestimmung gab folgendes Resultat. Eine Lösung von 5,3660 g, welche 0,3283 g oder 0,2835 g wasserfreies Asparagin, d. h. 5,283 % enthielt und welche das spezifische Gewicht 1,064 hatte, drehte das Natriumlicht im 1 dm-Rohr 0,86° nach links.

Mithin $[\alpha]_D^{20}$ in zehnvolumenprozentiger Salzsäure — 15,31°.

In der dritten Fraktion herrschte also das d-Asparagin in ausgesprochenem Maße vor. Es wird so verständlich, wie Piutti aus 20 kg Asparagin aus Wickenkeimlingen 300 g reines d-Asparagin erhalten konnte.

Daß in der dritten Fraktion wirklich Asparagin vorgelegen hatte und durch das Sieden der Asparaginlösung keine andere Veränderung als die Racemisierung vor sich gegangen war, sollte auf folgende Weise nachgewiesen werden.

Die zur Drehung benutzte Lösung wurde mit Hilfe von Silberoxyd von der Salzsäure befreit, die vom Chlorsilber abfiltrierte klare Lösung durch Schwefelwasserstoff entsilbert und nach dem Abfiltrieren des Schwefelsilbers stark eingedampft. Es schied sich wiederum Asparagin ab, welches den süßen Geschmack des Rechts-Asparagins in deutlicher Weise beim Vergleich mit Links-Asparagin zeigte, und das in salzsaurer Lösung wiederum stark nach links drehte. Für eine Analyse blieb jetzt keine genügende Substanzmenge übrig. Der Racemisierungsversuch wurde deshalb wiederholt.

Von den angewandten 9 g Asparagin wurden fast 7 g in den drei Fraktionen zurückgewonnen. Die restierenden 2 g waren aus Wasser nicht mehr zur Krystallisation zu bringen: bei Zusatz von Alkohol fiel ein Öl aus, welches nach längerem Stehen im Eisschrank erstarrte. Seine Lösung in zehnvolumenprozentiger Salzsäure drehte gleichfalls stark nach links.

II. Versuchsreihe.

Um in der neuen Versuchsreihe in der dritten Fraktion für die Drehungsbestimmung und die Analyse genügend Substanz zu erhalten, wurde das Abdampfen so geleitet, daß diese Fraktion größer als in der ersten Versuchsreihe ausfiel. Sie bestand daher jetzt aus 0,6 g Asparagin, während sie vorher nur 0,3 g enthalten hatte. Die natürliche Folge dieser Änderung der Versuchsbedingungen war, daß die Anhäufung des Rechtsasparagins in der dritten Fraktion noch nicht bis zu dem Grade vorgeschritten war, daß diese Komponente vorherrschte. Dementsprechend zeigte die dritte Fraktion noch schwache Rechtsdrehung in salzsaurer Lösung. Aber auch hier war der Drehungsrückgang gegenüber der zweiten Fraktion sehr bedeutend. Der Versuch verbürgt also auch hier die Racemisierung des Asparagins und die Anhäufung der rechtsdrehenden Komponente in den späteren Fraktionen. Durch Wasser- und Stickstoffbestimmung wurde nun nachgewiesen, daß die dritte Fraktion wirklich aus Asparagin bestanden hatte.

10 g des Kahlbaumschen Asparagins wurden in 100 ccm destillierten Wassers gelöst und 16 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Eindampfen und Aufbewahren im Eisschrank bestand die erste Fraktion aus 6,7 g, die zweite aus 0,6 g Asparagin.

Die optische Bestimmung der zweiten Fraktion gab folgende Werte. Eine Lösung von 4,2654 g, welche 0,3507 g oder 0,3086 g wasserfreies Asparagin, d. h. 7,235 % wasserfreies Asparagin enthielt und die das spezifische Gewicht 1,071 hatte, drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht $2,56^{\circ}$ nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20}$ in zehnvolumenprozentiger Salzsäure = +33,07°. Die Drehung der zweiten Fraktion war also gegenüber der ursprünglichen um $3,12^{\circ}$ zurückgegangen.

Die dritte Fraktion bestand aus 0,6 g.

Eine Stickstoffbestimmung gab folgende Werte:

0,1290 g Substanz: 19,5 ccm Stickstoffgas bei 17° und 762 mm Druck.

$C_4H_{10}O_4N_2$. Berechnet: N 18,66 %.

Gefunden: > 17,60 %.

Der Rest wurde aus Wasser unter Zusatz eines Tropfens Ammoniak umkrystallisiert. Es wurden 0,3 g zurückgewonnen, während die Mutterlauge in salzsaurer Lösung sehr schwach nach rechts drehte.

Die Analyse der zurückgewonnenen Substanz gab jetzt ziemlich gut stimmende Werte, die jedenfalls verbürgen, daß Asparagin vorgelegen hatte.

0,1127 g Substanz verloren im luftverdünnten Raum über Phosphor-
pentoxyd bei 100° 0,0141 g H_2O .

$C_4H_8O_3N_2 + H_2O$. Berechnet: H_2O 12,0 %.

Gefunden: > 12,51 %.

Der wasserfreie Rückstand gab bei der Stickstoffbestimmung folgende Werte.

0,0986 g Substanz: 17,8 ccm Stickstoffgas bei 15° und 748 mm Druck.

$C_4H_8O_3N_2$. Berechnet: N 21,21 %.

Gefunden: > 20,81 %.

Die Drehung wurde mikropolarimetrisch bestimmt. Eine Lösung von 1,5506 g, welche 0,0844 g oder 0,0743 g wasserfreies Asparagin, d. h. 4,79 % wasserfreies Asparagin enthielt und die das spezifische Gewicht 1,063 hatte, drehte im 1 dm-Rohr das Natriumlicht 0,19° nach rechts.

Mithin $[\alpha]_D^{20}$ in zehnvolumenprozentiger Salzsäure = + 3,73°. Die Drehung der dritten Fraktion war also gegenüber der ursprünglichen um 32,46° zurückgegangen.

Von den angewandten 10 g Asparagin wurden 7,9 g in den drei Fraktionen zurückgewonnen. Die restierenden 2,1 g waren nicht mehr zur Krystallisation zu bringen. Offenbar hatte eine teilweise Zersetzung stattgefunden, denn die Drehung der Mutterlauge war in wässriger Lösung fast ebenso stark nach links wie in salzsaurer Lösung nach rechts, während l-Asparagin in Wasser — 6,14°, in Salzsäure aber + 37,27° dreht.