

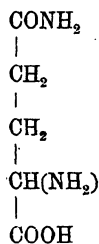
Die Konstitution des Glutamins.

Von

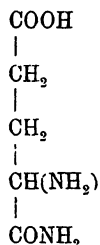
H. Thierfelder.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen.)
(Der Redaktion zugegangen am 22. März 1921.)

Glutamin läßt sich leicht durch Erhitzen mit Alkalien oder Barytwasser unter Ammoniakentwicklung in Glutaminsäure überführen, ist also das Monamid dieser Säure.



I.



II.

Ob ihm aber die Formel I oder II zukommt, ist nicht sicher entschieden und die Bezeichnung als α -Amino-propan- γ -carbonsäure- α -[carbonsäureamid] (Formel II), wie sie sich im Literaturverzeichnis der organischen Chemie 1910 und 1911 S. 196 findet, zum mindesten nicht bewiesen. Wahrscheinlicher ist sogar die Formel I, welche H. Schiff¹⁾ annimmt und damit begründet, daß das Glutamin keine Biuretreaktion gibt, sondern auf Zusatz von Kalilauge und sehr wenig Kupfersulfat mit rein blauer Farbe in Lösung geht. Nach Schiff verhalten sich so die Verbindungen, in denen die die NH_2 -Gruppe tragenden Kohlenstoffatome weder benachbart noch an dasselbe Kohlenstoffatom gebunden sind, während diejenigen, in

¹⁾ Liebig, Ann. der Chemie Bd. 310, S. 42 (1900).

denen sie benachbart sind (Oxamidtypus, Formel II), eine rot-violette Biuretreaktion geben.

Einen Beweis für die Formel I wird man in dem Ausbleiben der Biuretreaktion nicht sehen können. Er würde erbracht sein, wenn es gelänge, das Glutamin in das Amid der Hydantylpropionsäure überzuführen. Für diese Umwandlung kam das Verfahren in Betracht, mit Hilfe dessen Grimaux¹⁾ und Guareschi²⁾ aus Asparagin das Hydantylelessigsäureamid erhielten. Grimaux schmolz 2 Teile Asparagin mit 1 Teil Harnstoff 12 Stunden bei 125°, kochte mit wenig Wasser und Tierkohle und filtrierte. Beim Erkalten kristallisierte die Verbindung aus. In dieser einfachen Weise gelingt es nicht, das Hydantylpropionsäureamid aus Glutamin zu gewinnen. Die Versuche wurden aber nicht weiter fortgesetzt, da inzwischen eine andere Reaktion zum Ziele geführt hatte. Sie ist zuerst von Komatsu³⁾ angegeben, aber erst von T. B. Johnson und Nicolet⁴⁾ richtig gedeutet worden und besteht darin, daß α -Aminosäuren beim Erhitzen mit Rhodanaten, Essigsäureanhydrid und Eisessig in Thio-2-Acetyl-1-Hydantoine übergehen, aus denen durch Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure Thiohydantoine entstehen. Diese lassen sich durch Erhitzen mit wäßriger Monochloressigsäure in Hydantoine überführen.

Johnson und Mitarbeiter haben diese Reaktion mit Erfolg auf Glykokoll⁴⁾, Alanin⁵⁾, Phenylalanin⁶⁾ und Tyrosin⁶⁾ angewendet. Vermutlich werden alle einbasischen α -Aminosäuren sich so verhalten. Die zweibasischen Glutaminsäure⁷⁾ und Asparaginsäure⁸⁾ geben die Reaktion nicht, sie erfahren dabei eine Zersetzung unter Bildung von Ammoniak. Dagegen tritt sie bei Asparagin auf. Johnson und Guest⁸⁾ führten

¹⁾ Ann. de chim. et de phys. [5] Bd. 11, S. 400 (1877).

²⁾ Gazz. chim. ital. Bd. 5, S. 245 (1875) und Bd. 6, S. 370 (1876).

³⁾ Chem. Zentralbl. 1911, Bd. 2, S. 537.

⁴⁾ Journ. Amer. Chem. Soc. Bd. 33, S. 1973 (1911), ref. Chem. Zentralbl. 1912, Bd. 1, S. 1104.

⁵⁾ Johnson, Journ. of Biol. Chem. Bd. 11, S. 97 (1912).

⁶⁾ Johnson und Nicolet, Amer. Chem. Journ. Bd. 49, S. 197 (1913).

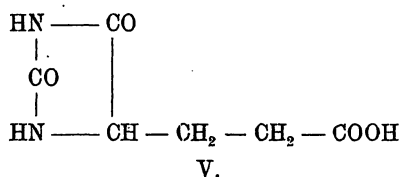
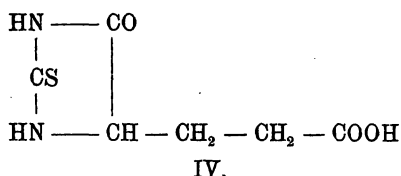
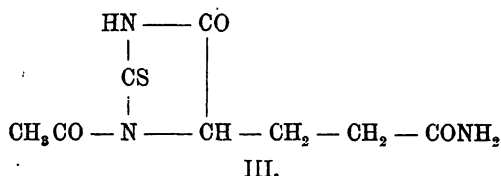
⁷⁾ Johnson und Guest, ebenda Bd. 47, S. 242 (1912).

⁸⁾ Johnson und Guest, ebenda Bd. 48, S. 103 (1912).

es über in [Thio-2-Acetyl-1-Hydantyl-5]-acetamid, aus dem sie dann weiter [Thio-2-Hydantyl-5]-essigsäure und Hydantyl-essigsäure erhielten.

Es war zu erwarten, daß das Glutamin, wenn ihm die Formel I zukommt, dem Asparagin entsprechend reagieren würde. Der Versuch hat gezeigt, daß das in der Tat der Fall ist¹).

Unter den von Johnson angegebenen Bedingungen wurde [Thio-2-Acetyl-1-Hydantyl-5]-propionamid (Formel III) erhalten, welches bei der Verseifung mit konzentrierter Salzsäure in [Thio-2-Hydantyl-5]-propionsäure (Formel IV) überging. Dieses ließ sich durch Entschwefelung mit Chloressigsäure in Hydantylpropionsäure (Formel V) verwandeln.

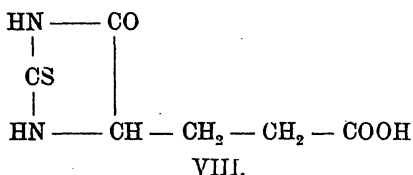
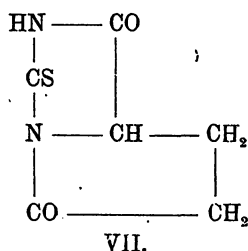
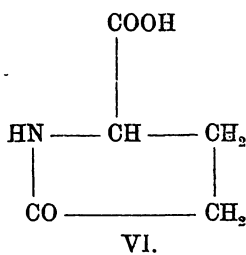


Die beiden letzteren Verbindungen waren schon bekannt. Thiohydantylpropionsäure ist von Johnson und Guest²) dargestellt worden durch Hydrolyse des Thiohydantoin's der

¹ Ich möchte nicht unterlassen zu bemerken, daß Johnson schon vor 9 Jahren aufgefodert hat, diese Reaktion zur Feststellung der Konstitution des Glutamins zu versuchen (Amer. Chem. Journ. Bd. 48, S. 103 [1912]). Ich fand das beim Einsehen seiner Originalarbeiten, die mir zunächst nur aus Referaten im Chemischen Zentralblatt bekannt gewesen waren.

²) Johnson und Guest, Amer. Chem. Journ. Bd. 47, S. 242 (1912).

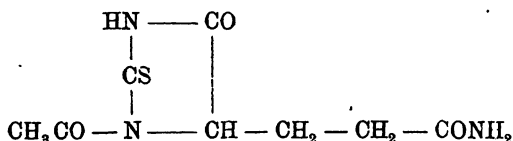
Pyrrolidoncarbonsäure (Formel VII), welches durch Einwirkung von Rhodanammonium, Essigsäureanhydrid und Eisessig auf Pyrrolidoncarbonsäure (Formel VI) entsteht. Die Hydantylpropionsäure (Formel VIII), welche Johnson und Guest¹⁾ aus der Thiohydantylpropionsäure durch Entschwefelung gewonnen haben, war schon vorher von Dakin²⁾ erhalten worden durch Eindampfen einer wäßrigen Lösung von Kaliumcyanat mit Glutaminsäure, Lösen des Rückstandes in 10%iger Salzsäure und 15 Minuten langes Kochen. Aus dem Filtrat kristallisiert nach dem Eindampfen das Hydantoin aus.



Mit diesen Verbindungen erwiesen sich die aus dem Glutamin erhaltenen identisch. Dem Glutamin kommt also die Formel I zu.

Versuche.

[Thio-2-Acetyl-1-Hydantyl-5]-propionamid.



Zu seiner Darstellung wurde d-Glutamin mit Rhodankalium in etwas über molekularer Menge fein zerrieben und mit der etwa fünffachen Menge Essigsäureanhydrid und der halben

¹⁾ Johnson und Guest, Amer. Chem. Journ. Bd. 47, S. 242 (1912).

²⁾ Amer. Chem. Journ. Bd. 44, S. 48 (1910).

Menge Eisessig im Kölbchen mit Steigrohr auf kochendem Wasserbad $\frac{1}{2}$ Stunde lang erhitzt. Während der ersten fünf Minuten erfolgte unter lebhafter Reaktion Lösung. Die Flüssigkeit nahm eine gelbbraune Farbe an. Die beim Abkühlen ausgeschiedenen Kristalle wurden am nächsten Tage abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen. Ihre Menge betrug in einer Reihe von Versuchen 22—30 % der theoretischen. Die Ausbeute war die gleiche, wenn statt Rhodankalium Rhodan ammonium verwendet wurde. Aus der Mutterlauge ließ sich nichts mehr gewinnen.

Die Substanz wurde aus heißem Wasser umkristallisiert. Sie kristallisiert in Nadeln und dicken Stäbchen, die oft pallisadenförmig zusammenliegen. In heißem Wasser und heißem Alkohol ist sie löslich, sehr wenig in kaltem, unlöslich in Äther und Chloroform, löslich in Pyridin. Eine 4,2 %ige Lösung in warmem Pyridin blieb bei Zimmertemperatur dauernd klar, eine 6,6 %ige trübte sich allmählich. Die wäßrige Lösung färbt blaues Lackmuspapier rot. Eine 4,2 %ige Lösung in Pyridin war optisch inaktiv. Es muß also bei der Darstellung eine Racemisierung eingetreten sein. Über das optische Verhalten des entsprechenden Asparaginderivates ist keine Angabe gemacht¹⁾. Der Schmelzpunkt liegt bei langsamem Erhitzen bei 209° unter Gasentwicklung.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° im Vakuum getrocknet.

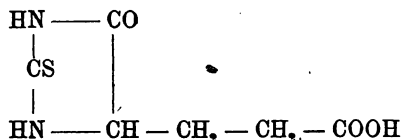
0,2102 g Substanz: 0,3236 g CO₂ und 0,0943 g H₂O.

0,063 g Substanz (nach Kjeldahl): 8,26 ccm n/10-Säure.

C₈H₁₁O₃N₃S (229,19). Ber.: 41,89 % C, 4,84 % H, 18,34 % N.

Gef.: 41,99 % C, 5,02 % H, 18,28 % N.

[Thio-2-Hydantyl-5]-propionsäure.



¹⁾ Anmerkung bei der Korrektur. Inzwischen habe ich festgestellt, daß eine 2 %ige Lösung von aus l-Asparagin dargestelltem [Thio-2-Acetyl-1-Hydantyl-5]-acetamid in Pyridin inaktiv ist.

Um diese Verbindung zu erhalten, wurde [Thio-2-Acetyl-1-Hydantyl-5]-propionamid mit der etwa 6fachen Menge konzentrierter Salzsäure 1 Stunde auf dem kochenden Wasserbad am Rückflußkühler erhitzt, die Lösung auf ein kleines Volumen eingedampft und mehrmals im Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt. Der beim Abdestillieren des Äthers hinterbleibende Rückstand kristallisierte allmählich seiner ganzen Menge nach. Ausbeute an Rohprodukt 95 % der theoretischen. Er wurde in sehr wenig warmem Wasser gelöst, die Lösung mit etwas Tierkohle behandelt, um eine leichte Opaleszenz zu beseitigen, filtriert und im Vakuum eingeengt. Es erfolgte Kristallisation in schönen Tafeln. Die Menge der reinen Verbindung betrug 80 % der berechneten. Sie ist in Wasser, sehr leicht in Alkohol und Äther löslich, läßt sich weder in wäßriger noch alkoholischer Lösung mit Phenolphthalein als Indikator titrieren. Eine 4,1 % ige alkoholische Lösung war optisch inaktiv. Die bis zum konstanten Gewicht getrocknete Substanz schmolz nicht ganz scharf bei 121° zu einem klaren Öl. Für die Analyse wurde im Vakuum bei Zimmertemperatur oder bei 80° getrocknet.

0,0721 g Substanz: 0,1022 g CO_2 und 0,0286 g H_2O .

0,0803 g " : 0,1139 g CO_2 und 0,0325 g H_2O .

0,0476 g " (nach Kjeldahl): 5,07 ccm n/10-Säure.

0,0461 g " (" "): 4,80 ccm n/10 Säure.

0,1119 g " (" Carius): 0,1383 g BaSO_4 .

0,1072 g " (" "): 0,1329 g BaSO_4 .

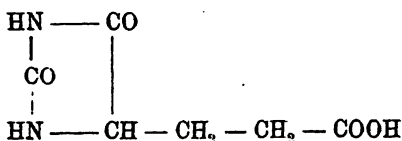
$\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_2\text{S}$ (188,15). Ber.: 38,27 % C, 4,21 % H, 14,89 % N, 17,04 % S.

Gef.: 38,66 % C, 4,44 % H, 14,92 % N, 16,98 % S.

38,69 % C, 4,53 % H, 14,59 % N, 17,03 % S.

Die von Johnson und Guest dargestellte Substanz kristallisierte in rhombischen Tafeln und schmolz bei 122° zu klarem Öl.

Hydantyl-5-propionsäure.



Zur Darstellung wurde [Thio-2-Hydantyl-5]-propionsäure mit der etwa 5fachen Menge 13%iger wäßriger Chloressig-

säure auf kochendem Wasserbad am Rückflußkühler 1—1½ Stunden erhitzt und die Lösung auf dem Wasserbad eingeeengt. Es schieden sich große harte Kristalle (hexagonale Rhomboeder) ab, die abgesaugt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen wurden. Die Menge betrug 73 % der berechneten. Die Substanz wurde aus Wasser umkristallisiert. In Äther ist sie kaum löslich, in kaltem Alkohol löst sie sich, aber sehr viel schwerer als die Thioverbindung. Die alkoholische Lösung läßt sich mit Phenolphthalein als Indikator nicht titrieren. Eine 2,33 % ige wäßrige Lösung zeigt keine optische Aktivität. Die lufttrockene Substanz verlor im Vakuum auch bei 100° nicht an Gewicht; sie schmolz bei 168° zu klarem Öl, nachdem schon einige Grad vorher der Schmelzprozeß begonnen hatte.

0,1573 g Substanz: 0,2410 g CO₂ und 0,0645 g H₂O.

0,0670 g Substanz (nach Kjeldahl): 7,73 ccm n/10-Säure.

C₆H₈O₄N₂ (172,08). Ber.: 41,84 % C, 4,69 % H, 16,28 % N
Gef.: 41,78 % C, 4,59 % H, 16,16 % N

Johnson und Guest geben an, daß die von ihnen dargestellte Verbindung in hexagonalen tafelförmigen Prismen kristallisiert und bei 165° zu einem klaren Öl schmilzt. Die inaktive Hydantylpropionsäure Dakins kristallisierte in großen Prismen und schmolz scharf bei 167—169°.