

γ -Hydroxyglutaminsäure in *Linaria vulgaris* Miller

SHIN-ICHI HATANAKA

Laboratorium der Stiftung für chemische
Forschung, Biochemisches Institut,
Helsinki, Finnland

γ -Hydroxyglutaminsäure wurde vor einigen Jahren von Virtanen und Hietala aus *Phlox decussata* als freie Aminosäure isoliert¹. Sie haben das Vorkommen von γ -Hydroxyglutaminsäure dazu nur in *Linaria vulgaris* auf papierchromatographischer Basis wahrscheinlich gemacht. Es scheint, dass diese Aminosäure im Pflanzenreich wenig verbreitet ist. Vorliegende Mitteilung bestätigt durch einige zusätzliche Versuche die Anwesenheit dieser Aminosäure in *Linaria vulgaris*.

Papierchromatographische Resultate. Zweidimensionale Papierchromatogramme (Butanol-Essigsäure-Wasser 630:100:270 und Phenol-Wasser/NH₃ 1 000:365) zeigten, dass die Anfang September gesammelten Pflanzen eine sehr kleine Menge einer Aminosäure X enthielten, die genau wie γ -Hydroxyglutaminsäure wandert. Die R_F -Werte der Aminosäure X wurden bestimmt und mit denen von authentischer γ -Hydroxyglutaminsäure verglichen.

Azidität und Hydrolyse-Beständigkeit. Die saure Aminosäurefraktion wurde nach der von Virtanen und Hietala beschriebenen Methode aus dem 80 %igem Äthanol-Extrakt der Pflanzen gewonnen. Sie enthielt neben Glutaminsäure und Asparaginsäure auch die zu bestimmende Aminosäure. Nach 24 stündigem Erhitzen dieser Fraktion auf 110°C in 6 N Salzsäure war die Aminosäure unverändert.

Ionenaustausch-Chromatographie an Dowex 1 \times 8 200/400. Die saure Aminosäuren-

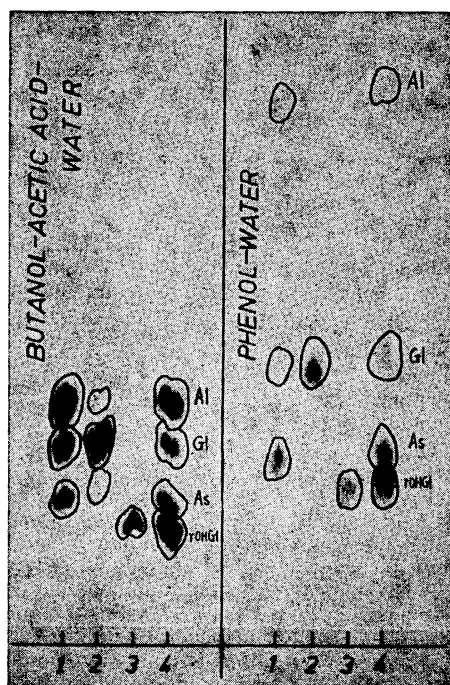


Abb. 1. Das chromatographische Verhalten von γ -Hydroxyglutaminsäure aus *Linaria vulgaris*.

Lösungsmittel: links 1–4 Butanol-Essigsäure-Wasser rechts 1–4 Phenol-Wasser(NH₃)
1 und 4: authentische Proben,
Al: Alanin; Gl: Glutaminsäure,
As: Asparaginsäure, γ OHGl: γ -Hydroxyglutaminsäure
2: nach Reduktion der Aminosäure X mit HJ und rotem P.
3: Aminosäure X.

Lösungsmittel	Glutaminsäure	R_F -Werte	
		γ -Hydroxyglutaminsäure	Aminosäure aus <i>Linaria</i>
But.-Eisess.-Wasser 630 : 100 : 270	0,11	0,07	0,07
Phenol-Wasser/NH ₃ 1 000 : 365	0,30	0,17	0,17

Papier Whatman No. 4, Zimmertemperatur, absteigende Methode.

fraktion wurde durch eine Dowex I-Säule geschickt. Entsprechend dem Ergebnis eines Vorversuches mit einem Gemisch authentischer Glutamin-, Asparagin- und γ -Hydroxyglutaminsäuren wurden Glutaminsäure und Asparaginsäure mit 0,5 N Essigsäure eluiert und danach die zu bestimmende Aminosäure mit 1 N Essigsäure.

Reduktion mit Jodwasserstoffsäure. Da das auf diese Weise erhaltene Präparat noch eine geringe Menge Asparaginsäure enthielt, wurde die Aminosäure X aus einem mit Butanol-Eisessig-Wasser entwickelten Papierchromatogramm extrahiert. Die Reduktion des papierchromatographisch reinen Materials wurde in einem geschlossenen Glasrohr 4,5 Stdn mit 57 %igem HJ ($d = 1,70$) und rotem Phosphor bei 135–136°C ausgeführt. Nach anschließender Behandlung mit Amberlite IR-120 wurden die Reaktionsprodukte chromatographiert. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, erwies sich das Hauptprodukt als Glutaminsäure. Dieses Ergebnis beweist, dass die zu bestimmende Substanz eine Hydroxyglutaminsäure sein muss.

Vergleich mit β -Hydroxyglutaminsäure. Auf dem mit Butanol-Eisessig-Wasser entwickelten Chromatogramm wandert β -Hydroxyglutaminsäure etwas schneller als γ -Hydroxyglutaminsäure. Die Aminosäure X zeigte den gleichen R_F -Wert wie γ -Hydroxyglutaminsäure und liess sich somit deutlich von β -Hydroxyglutaminsäure unterscheiden.

Aus diesen experimentellen Resultaten lässt sich folgern, dass *Linaria vulgaris* — obwohl in geringer Menge — γ -Hydroxyglutaminsäure enthält.

Herrn Prof. Dr. A. I. Virtanen bin ich für sein Interesse und Wohlwollen zu besonderem Dank verpflichtet, und Fräulein K. Aalto sei bestens für ihre technische Hilfe gedankt.

1. Virtanen, A. I. und Hietala, P. K. *Acta Chem. Scand.* 9 (1955) 175.

Eingegangen am 2. Januar 1962.

Isolierung und Identifizierung von α -Aminoadipinsäure aus Erbsenkeimlingen (*Pisum sativum* L.)

SHIN-ICHI HATANAKA und
ARTTURI I. VIRTANEN

Laboratorium der Stiftung für chemische
Forschung, Biochemisches Institut,
Helsinki, Finnland

Wie im hiesigen Institut gezeigt werden konnte, ist das Vorkommen von α -Aminoadipinsäure als freie Aminosäure in höheren Pflanzen (z.B. in Erbsenkeimlingen, in Blättern von *Petasites officinalis*, *Fragaria excelsior*, den Samen und Keimlingen von *Vicia faba*, *Lupinus angustifolius*, *Phaseolus vulgaris* etc.) recht häufig.¹ Im Falle von *Pisum sativum* war diese Aminosäure ausschliesslich in jungen Keimpflanzen zu finden^{2,3}. Beweise für das Vorkommen von freier α -Aminoadipinsäure in Pflanzen gründen sich jedoch nur auf papierchromatographische Bestimmungen. Blass und Macheboeuf haben ihren Befund vom Vorkommen von α -Aminoadipinsäure und Hydroxyaminoadipinsäure in *Vibrio cholerae* zurückgezogen⁴. Da freie α -Aminoadipinsäure früher aus Pflanzen nicht isoliert und folglich auch nicht chemisch charakterisiert ist, war es wichtig die chromatographische Befunde jedenfalls in einem Fall durch Isolierung der Säure zu bestätigen. Vorliegende Mitteilung behandelt die Isolierung und Identifizierung von α -Aminoadipinsäure aus jungen Erbsenkeimlingen.

Beschreibung der Versuche und Ergebnisse. Etwa 3,4 kg Samen von *Pisum sativum* wurden über Nacht in Wasser gequollen und dann auf feuchtes Papier ausgesät. Nach drei- bis viertätiger Keimung bei Zimmertemperatur an einer ziemlich dunklen Stelle wurden die Keimlinge dreimal hintereinander mit 80 %igem Alkohol, insgesamt ca. 27 l, extrahiert. Der Extrakt wurde in Vacuum auf etwa 2 l konzentriert und dann durch Kationenaustauscher Amberlite IR-120 laufen gelassen (300 ml Amberlite pro 1 kg Samen). Danach wurde das Harz sorgfältig mit destilliertem Wasser gewaschen und die Aminosäuren mit 1 N Ammoniak eluiert, bis sich das Eluat als Ninhydrin-negativ erwies. Das Ammoniak-eluat wurde in Vacuum auf 260 ml eingengt. Die Aminosäuren der ammoniak-