

dissolved (without previous purification) in 400 ml of aqueous NaHCO_3 solution (containing 8.5 g (0.10 mole) of NaHCO_3). A small amount of FeCl_3 was added as a combined catalyst and indicator and oxygen bubbled through the mixture until the violet colour disappeared (about two hours). After acidification (dil. H_2SO_4) and removal of small amounts of polymeric material by filtration the product was extracted with ether (6×75 ml). The ether solution was dried with anhydrous Na_2SO_4 and the solvent evaporated (*in vacuo*). 1.3 g (27 %) of crude acid (mixture of monomer and polymer) with m. p. $60-70^\circ$ was obtained; after treatment with benzene for some minutes at room temperature it left an insoluble viscous substance. Evaporation of the solvent yielded 0.8 g (16.5 %) of dry acid (monomer) with m. p. $75-77^\circ$. This product was now recrystallized from benzene-cyclohexane and obtained as transparent yellow prisms with m. p. $76.5-77.5^\circ$. (Found: Equiv. wt. 151.1; C 31.96; H 3.92; S 42.72; Mol. wt. 146. Calc. for $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2\text{S}_2$ (150.22): Equiv. wt. 150.2; C 31.98; H 4.03; S 42.68; Mol. wt. 150).

β, β' -Dimercapto-isobutyric acid. 0.5 g of (I) or the related polymer (insoluble in benzene) was dissolved in 20 ml of 4 M ammonia, and the solution sucked through a layer of zinc powder four times. The reaction mixture was neutralized with dil. H_2SO_4 and the precipitated zinc mercaptide filtered. The acid was liberated and extracted with ether. Evaporation of the solvent gave the dimercapto acid, which crystallized after being kept for some days at -15° . M. p. $57-60^\circ$. (Found: Equiv. wt. 75.7. Calc. for $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2\text{S}_2$ (152.22): 76.1).

The authors are indebted to Professor Arne Fredga for valuable discussions. A grant from the Swedish Natural Science Research Council is gratefully acknowledged.

- Schotte, L. *Arkiv Kemi* 9 (1956) No. 24.
- Schotte, L. *Arkiv Kemi* 9 (1956) No. 37.
- Jansen, E. F. *J. Biol. Chem.* 176 (1948) 657.
- Corse, J. and Jansen, E. F. *J. Am. Chem. Soc.* 77 (1955) 6632.
- Bullock, M. W., Brockman Jr., J. A., Patterson, E. L., Pierce, J. V., von Saltza, M. H., Sanders, F. and Stokstad, E. L. R. *J. Am. Chem. Soc.* 76 (1954) 1828.
- Glattfeld, J. W. E. and Schneider, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* 60 (1938) 415.
- Claesson, G. *Acta Chem. Scand.* 9 (1955) 178.
- Fredga, A. *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.* 12A (1938) No. 27.

Received April 21, 1956.

Ein Beispiel für die Variationsmöglichkeiten in der Zusammensetzung der freien Aminosäuren in einer Pflanzenart

BARBARA BRAMESFELD und
ARTTURI I. VIRTANEN

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

Im Sommer 1954 isolierten Virtanen, Uksila und Matikkala¹ α -Amino- γ -hydroxy-pimelinsäure aus *Asplenium septentrionale*. Das Pflanzenmaterial war in den Monaten Mai, Juni, Juli und August gesammelt und gesondert auf seinen Aminosäuregehalt geprüft worden. Alle Alkoholextrakte zeigten im zwei-dimensionalen Papierchromatogramm (Butanol-Essigsäure- H_2O und Phenol-Ammoniak) die in Fig. 1 A dargestellte Zusammensetzung. Vom gleichen Standort wurde im August 1955—Juni und Juli waren aussergewöhnlich trocken — *Asplenium septentrionale* geerntet und der Alkoholextrakt dieses Materials ergab das Chromatogramm in Fig. 1 B, auf dem zwischen Asparaginsäure und Glutaminsäure ein Ninhydrinpositiver Fleck sichtbar ist.

Die Trennung dieser Aminosäure von Asparaginsäure und Glutaminsäure gelang zum Teil an Dowex 50 (200—400 mesh) mit 0.2 M Natriumcitratpuffer pH 3,48². Die Lage der Aminosäure im Chromatogramm deutete auf die von Steward *et al.*³ aus *Adiantum pedatum* und von Virtanen und Berg⁴ aus *Phyllitis scolopendrium* isolierte γ -Hydroxy- γ -methylglutaminsäure hin.

Die Reduktion mit 66 % HJ ($d = 1.9$) und rotem Phosphor bei 130°C für 4 Stdn. ergab Methylglutaminsäure. Nach Oxydation mit KMnO_4 in saurer Lösung erhielten wir im Chromatogramm einen gelben Flecken im Bereich der neutralen Aminosäuren, den wir bisher nicht identifiziert haben. Die reine Substanz enthält Kristallwasser, welches durch Erhitzen auf 105°C für 16 Stdn. mit $\frac{1}{2}$ H_2O pro Mol. bestimmt wurde. Dies stimmt mit dem von Steward nach Elementaranalyse gefundenen Wert überein.

Der Perjodat-test auf nachbarständige Hydroxy- und Aminogruppe war negativ. N-Bestimmung: gef. 8.03 %; theor. 7.53 %. Die Substanz verkohlt ab 165° . Papier-

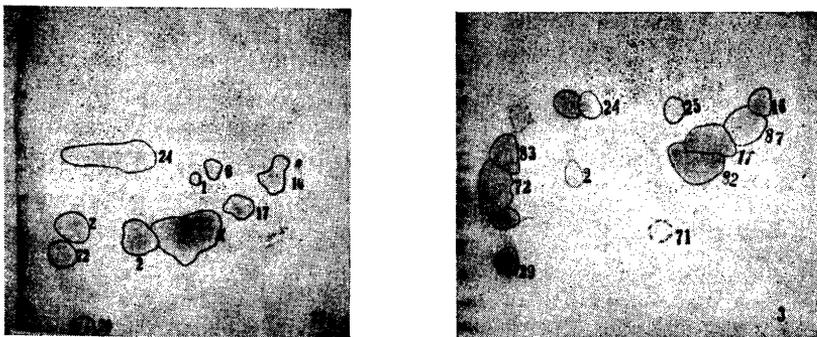


Fig. 1. Zwei-dimensionale Papierchromatogramme (Butanol-Essigsäure-H₂O und Phenol-NH₃) der freien Aminosäuren in *Asplenium septentrionale*.

A: Sommer 1954¹. B: August 1955.

1 = Glycin, 2 = Alanin, 8 = Serin, 16 = Asparaginsäure, 17 = Glutaminsäure, 24 = Glutamin, 29 = γ -Aminobuttersäure, 71 = α -Aminopimelinsäure, 72 = Acetyloronithin, x = 82 = α -Amino- γ -hydroxypimelinsäure, z = 83 = Laktone der α -Amino- γ -hydroxypimelinsäure, 87 = γ -Hydroxy- γ -methylglutaminsäure.

chromatographisch war die Aminosäure identisch mit der aus *Phyllitis scolopendrium* isolierten. Aus den Ergebnissen ist zu schliessen, dass es sich um γ -Hydroxy- γ -methylglutaminsäure handelt. Ein Versuch, die Aminosäure zu decarboxylieren, verlief sowohl mit *Escherichia coli* als auch mit einem Extract aus *Asplenium nidus*-Blatt negativ. Glutaminsäure wird unter gleichen Bedingungen von *Escherichia coli* quantitativ und von *Asplenium nidus*-Extract zum grössten Teil decarboxyliert. Wie Virtanen und Hietala⁵ gezeigt haben, wird auch γ -Hydroxyglutaminsäure von *Escherichia coli* decarboxyliert.

Da keine Spuren von dieser Aminosäure im Pflanzenmaterial von Mai, Juni, Juli und August 1954 papierchromatographisch zu finden waren, scheint es, dass die Aminosäure in den *Asplenium*-Proben des Sommers 1954 entweder total fehlte oder in so kleinen Mengen vorkam, dass sie keinen sichtbaren Flecken auf dem Chromatogramm bildete. Zu bemerken ist, dass γ -Methyl- γ -hydroxyglutaminsäure bedeutend schwächere Farbe mit Ninhydrin gibt als Glutaminsäure, γ -Hydroxyglutaminsäure und γ -Methylglutaminsäure. Unsere Befunde zeigen wie vorsichtig man sein

muss bei der Beurteilung der Aminosäurezusammensetzung einer Pflanzenart auf Grund der Befunde einer einzigen Wachstumsperiode.

Im Mai 1956 wurden nochmals *Asplenium septentrionale* Proben vom gleichen Standort in der Nähe Helsinkis und ausserdem eine kleine Menge *Aspl. septentrionale* aus Locarno (Schweiz) auf ihren Aminosäuregehalt untersucht. In beiden Proben liess sich γ -Hydroxy- γ -methylglutaminsäure nachweisen; es scheint also, dass γ -Hydroxy- γ -methylglutaminsäure meistens in *Aspl. septentrionale* vorkommt.

1. Virtanen, A. I., Uksila, E. and Matikkala, E. J. *Acta Chem. Scand.* **8** (1954) 1091.
2. Moore, S. and Stein, W. H. *J. Biol. Chem.* **192** (1951) 663.
3. Grobbelaar, N., Pollard, J. K. and Steward, F. C. *Nature* **175** (1955) 703.
4. Virtanen, A. I. and Berg, A.-M. *Acta Chem. Scand.* **9** (1955) 553.
5. Virtanen, A. I. and Hietala, P. K. *Acta Chem. Scand.* **9** (1955) 549.

Eingegangen am 17. April 1956.