

# Ueber Antipepton.

Von  
**M. Siegfried.**

## II. Mittheilung.

(Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.)

Der Redaction zugegangen am 6. März 1902.)

Die weitere Verfolgung der in der ersten Mittheilung<sup>1)</sup> angegebenen Reaction hat zu einer sicheren Methode der Peptondarstellung geführt, welche sich seit ihrer vorläufigen Veröffentlichung<sup>2)</sup> auch in den Händen meiner Mitarbeiter bewährt hat.

### I. Darstellung von Antipepton $\alpha$ und $\beta$ .

#### A. Die Methode.

Die Proteinsubstanz wird in der 10–20fachen auf Trockensubstanz berechneten Menge Sodalösung von 0,3%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  gelöst bzw. suspendirt, in am besten verschlossenen Glasgefäßen mit Chloroform und Thymol im Brutofen angesetzt. Andern Tags gibt man die Enzymlösung dazu und digerirt ununterbrochen bei Körpertemperatur 2–8 Wochen, wobei täglich am besten mehrmals kräftig umgeschüttelt wird. Inzwischen wird öfters die Verdauungskraft der Lösung geprüft: ist sie gering geworden, so wird von Neuem Trypsinlösung hinzugegeben. Es empfiehlt sich, möglichst stark wirksame Trypsinlösungen, die dabei möglichst wenig andere Bestand-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift. Bd. XXVII. S. 335.

<sup>2)</sup> Ber. d. deutschen chemischen Ges., Bd. 33. S. 2851.

theile der Pankreasdrüse enthalten, zu verwenden. Ich habe hierzu die wirksamsten Präparate G. Grübler's in Dresden als geeignet gefunden und angewendet.

Im Interesse der Ausbeute unterbricht man die Verdauung nicht eher, als sich durch Sättigen einer Probe mit Ammonsulfat ergibt, dass nur noch geringe Mengen von Albumosen vorhanden sind. Die Verdauungsflüssigkeit wird mit Schwefelsäure neutralisirt und andern Tags filtrirt. Durch Eintragen krystallisirten Ammonsulfats unter kräftigem Umrühren wird die Lösung bei gewöhnlicher Temperatur gesättigt, andern Tags filtrirt. Zu dem Filtrate wird so lange eine Mischung von 3 Theilen gesättigter Ammonsulfatlösung und 1 Theil concentrirter Schwefelsäure gegeben, als noch ein Niederschlag oder eine Trübung entsteht. Andern Tags wird filtrirt. Gibt das Filtrat weder auf Zusatz der Mischung von Ammonsulfatlösung und Schwefelsäure noch auch von ammoniakalischer gesättigter Ammonsulfatlösung eine Ausscheidung oder Trübung, so wird die saure Reaction durch ammoniakalische gesättigte Ammonsulfatlösung bis zur ganz schwach sauren abgestumpft. Andernfalls wird noch so lange ammoniumsulfatgesättigte Schwefelsäure oder ammoniumsulfatgesättigtes Ammoniak hinzugegeben, bis nach Filtriren der Punkt erreicht ist, bei welchem weder durch Erhöhung der sauren Reaction noch durch deren Verminderung eine Ausscheidung erfolgt. In die mit ammoniumsulfatgesättigtem Ammoniak neutralisirte und mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung wird unter Umrühren so lange eine mit Ammonsulfat gesättigte Lösung von Eisenammoniakalaun eingetragen, als noch eine Fällung entsteht. Dieser

### *I. Eisenniederschlag*

wird am nächsten Tage auf glattem Filter abfiltrirt, nach völligem Abtropfenlassen heruntergenommen, verrieben und abgenutscht, unter Vermeidung der Entstehung von Rissen. Nach Auswaschen mit gesättigter Lösung von Ammonsulfat wird er wieder verrieben, von Neuem abgenutscht und mit gesättigter Lösung von Ammonsulfat ausgewaschen. Darauf wird er in Wasser verrieben, zu der Suspension wird Ammoniak

bis zur alkalischen Reaction gegeben, wobei sich der Niederschlag vorübergehend zum grössten Theile löst; dann wird concentrirtes Ammoniak hinzugefügt, bis die Flüssigkeit stark nach Ammoniak riecht. Diese Mischung wird mehrere Stunden bei  $40^{\circ}$  digerirt, filtrirt, der Niederschlag mit Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wird mit starker Schwefelsäure neutralisirt und bei gewöhnlicher Temperatur mit Ammonsulfat unter Umrühren gesättigt. Andern Tags wird so lange ammoniumsulfatgesättigte Schwefelsäure hinzugegeben, als noch eine Ausscheidung von Albumosen erfolgt. Die am nächsten Tage filtrirte Lösung darf weder beim Erhöhen noch beim Vermindern der sauren Reaction eine Trübung zeigen. Ist dies der Fall, wird mit ammoniumsulfatgesättigtem Ammoniak neutralisirt, mit Schwefelsäure angesäuert und durch Eintragen einer mit Ammonsulfat gesättigten Lösung von Eisenammoniakalaun unter kräftigem Umrühren der Eisenniederschlag gefällt. Derselbe wird nach 24 Stunden wie oben beschrieben abfiltrirt, abgenutscht und ausgewaschen. Darauf wird er mit Wasser verrieben, mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction versetzt, die Mischung wird auf Körpertemperatur erwärmt und unter gutem Umrühren mit gepulvertem Barythydrat bis zum kleinen Ueberschuss des letzteren vermischt. Das Filtrat vom Baryumsulfat und Eisenoxydhydrat wird durch etwas Ammoncarbonat vom Baryt befreit und im Vacuum eingedampft. Die Temperatur der eindampfenden Lösung soll nicht über  $40^{\circ}$  steigen; ebenso darf das Heizwasser, in dem der Kolben sich befindet, nicht wärmer als  $40^{\circ}$  sein, wenn die Peptonlösung soweit eingedampft ist, dass die Flüssigkeit im Kolben tiefer steht als das Niveau des Heizwassers. Der helle Syrup wird in 12%iger Essigsäure gelöst, zu der Lösung wird so lange Alkohol gegeben, bis die zunächst entstehende Trübung grade noch beim Umrühren verschwindet. Diese Lösung wird in absoluten Alkohol unter schnellem Rühren gegossen, und zwar wird für je 20 ccm. der Lösung 1 Liter absoluter Alkohol genommen. Das ausgefällte schneeweisse Antipepton  $\beta$  wird abgesaugt, sorgfältig mit absolutem Alkohol und schliesslich wasserfreiem Aether gewaschen und über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

*Die Zwischenfällung.*

Das Filtrat von dem Eisenniederschlage I wird mit dem zehnten Theile derjenigen Menge ammoniumsulfatgesättigter Eisenammoniaklösung versetzt, welche zur Ausfällung des ersten Eisenniederschlages erforderlich war, und mit concentrirtem wässerigen Ammoniak grade neutralisirt. Von dem entstandenen Eisenniederschlage, der hauptsächlich Antipepton  $\alpha$  mit etwas Antipepton  $\beta$  enthält, wird filtrirt.

*Der II. Eisenniederschlag.*

In das Filtrat von der Zwischenfällung wird feingepulvertes Eisenammoniakalaun eingerührt und die saure Reaction mit concentrirtem wässerigen Ammoniak abgestumpft, aber nicht neutralisirt. Dies Einrühren von Eisenammoniakalaun und Abstumpfen mit Ammoniak wird abwechselnd so lange wiederholt, bis nach Absetzenlassen des Eisenniederschlages eine Probe nur noch eine schwache Biuretreaction gibt. Niemals darf die Reaction neutral oder gar alkalisch werden.

Bei Anstellung der Biuretreaction ist zu berücksichtigen, dass das Pepton durch warme starke Natronlauge zersetzt wird, sodass man oft in verdünnten Lösungen keine Biuretreaction erhält, auch wenn sich noch reichlich Pepton in der Lösung befindet, sofern ein grösserer Ueberschuss von der concentrirten Natronlauge, deren Anwendung bei ammoniumsulfatgesättigten Lösungen erforderlich ist, ohne Kühlung zugesetzt wird.

Der so erhaltene Eisenniederschlag II wird auf glattem Filter abfiltrirt, verrieben, abgenutscht, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, darauf in reichlichen Mengen gesättigter Ammonsulfatlösung durch kräftiges Rühren suspendirt und unter Zusatz von concentrirter Schwefelsäure gelöst. In die schnell durchrührte Lösung wird so lange concentrirtes wässeriges Ammoniak gegeben, bis die Reaction eben noch deutlich sauer ist. Der so umgefällte Eisenniederschlag II wird andern Tags abfiltrirt, abgenutscht, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, in der Reibschale verrührt, wieder abgenutscht, mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, in Wasser verrührt, durch Zusatz von etwas Schwefelsäure gelöst.

In diese Lösung wird unter Erwärmen auf 40° feingepulverter Aetzbaryt eingerührt unter Vermeidung eines grösseren Ueberschusses des letzteren. Das mit den Waschwassern vereinigte Filtrat vom Baryt-Eisenniederschlage wird durch Ammoncarbonat vom Baryt befreit und im Vacuum eingedampft. Die Fällung des in Essigsäure gelösten Peptons geschieht in gleicher Weise wie die des Antipeptons  $\beta$ . Es wird so das Antipepton  $\alpha$  als schneeweisses Pulver erhalten. Zur Analyse werden die Peptone bei 65—70° bis zum constanten Gewichte getrocknet.

### B. Bemerkungen zu der Methode.

Bei der Verdauung des Eiweisses kommt es darauf an, möglichst wenig Bestandtheile der Pankreasdrüse zu dem Eiweiss zu bringen, gleichzeitig aber eine kräftige Enzymwirkung zu erzielen, um viel Pepton und wenig Albumosen zu erhalten. Die besten Ausbeuten habe ich bei 1—2 monatlicher Verdauung erhalten.

Wie zuerst Morochewetz<sup>1)</sup> gezeigt hat, verschwindet bei sehr energischer Trypsinwirkung schliesslich die Biuretreaction; so verschwinden Peptone auch bei langandauernder Selbstverdauung des Pankreassaftes vom Hunde.<sup>2)</sup> Für meine Darstellungen der Antipeptone unter Verwendung wirksamster Trypsinpräparate kam diese Thatsache nicht merklich zur Geltung. Nach meinen in dieser Richtung hin angestellten Versuchen sind die Antipeptone ausserordentlich widerstandsfähig gegen Trypsin. Schon früher<sup>3)</sup> habe ich selbst nach zweimonatlicher wirksamer Trypsinverdauung noch Antipepton nachweisen können. Dieselbe Widerstandsfähigkeit, in Folge deren die durch das Fehlen der Tyrosingruppe scharf gekennzeichneten Peptone den Namen Antipeptone mit Recht führen, habe ich bei den jetzt von mir dargestellten Antipeptonen beobachtet. Diese Widerstandsfähigkeit gegen Trypsin ist um so charakteristischer für die Antipeptone, als dieselben von

<sup>1)</sup> Morochewetz, Mal's Jahresbericht 1886, S. 271.

<sup>2)</sup> M. Siegfried, Ber. d. deutschen chem. Ges., Bd. 33, S. 3567.

<sup>3)</sup> M. Siegfried, DuBois Reymond-Archiv, 1894, S. 416.

anderen hydrolysirenden Agentien, namentlich Alkalien, relativ leicht zersetzt werden.

Sehr wirksame von Grüber bezogene Trypsinpräparate gaben selbst nach monatelanger Autodigestion ihrer Lösungen in 0,2% Soda mit Chloroform im Brutofen kräftige Biuretreaction. Da diese Präparate viel wirksamer gegen Fibrin waren als die gleichen Mengen Pankreasdrüse, so liegt die Vermuthung nahe, dass die Wirkung der Pankreasdrüse und des Secretes derselben auf biuretgebende Substanzen nicht auf der Gegenwart eines Enzyms, sondern mehrerer beruht, von denen das eine unter gewissen Umständen leichter zerstört wird, als das andere.

In allen Phasen der Methode soll die Temperatur nicht höher als 40° sein. Dampft man die Peptonlösungen auf dem Wasserbade ein, so färben sie sich bräunlich und es entstehen Albumosen, d. h. biuretgebende, durch Ammonsulfat aussalzbare Stoffe. Diese Umwandlung findet namentlich bei der sauren Reaction, welche beim Eindampfen der ammoniakalischen Peptonlösungen auf dem Wasserbade entsteht, statt. Hingegen werden durch Eindampfen im Vacuum die Peptone farblos und albumosefrei erhalten.

Das Aussalzen mit Ammonsulfat geschieht nicht nach der Vorschrift Kühne's durch Sättigen in der Siedehitze bei neutraler, alkalischer und saurer Reaction, wobei die Albumosen nicht vollständig gefällt werden. Der nicht umgefällte erste Eisenniederschlag enthält stets reichliche Mengen der Eisenverbindungen von Albumosen, während der zweite Eisenniederschlag direkt ganz frei von Albumosen ist. Nach Zersetzung des ersten Eisenniederschlages durch Ammoniak und Sättigen mit Ammonsulfat sind die Albumosen bei vorsichtiger Arbeit völlig durch ammoniumsulfatgesättigte Schwefelsäure zu beseitigen. Es scheinen in dem ursprünglichen Verdauungsgemische Substanzen vorzukommen, welche die vollständige Ausfällung der Albumosen verhindern. Hiermit steht im Einklang, dass je verdünnter die ursprüngliche ammoniumsulfatgesättigte, Albumosen enthaltende Peptonlösung ist, um so vollständiger die Ausfällung der Albumosen durch Schwefelsäure geschieht.

Auf das Auswaschen der voluminösen Eisenniederschläge ist die grösste Sorgfalt zu verwenden. Es ist unbedingt nothwendig, dieselben von der Nutsche zu nehmen, zu verreiben und wieder abzunutschen und auszuwaschen. Ferner geschieht die Umfällung des zweiten Eisenniederschlages zu dem Zwecke, etwa dem Auswaschen entgangene Reste anderer Substanzen zu beseitigen.

Die Trennung der Peptone  $\alpha$  und  $\beta$  von einander durch fractionirte Eisenfällung beruht auf dem Umstande, dass Antipepton  $\beta$  ohne, Antipepton  $\alpha$  nur mit Abstumpfen gefällt wird. Setzt man zu der Lösung von Antipepton  $\beta$  in gesättigter Ammonsulfatlösung tropfenweise ammonsulfatgesättigte Lösung von Eisenammoniakalaun, so entsteht ein voluminöser Niederschlag. In der Lösung von Antipepton  $\alpha$  in gesättigter Ammonsulfatlösung entsteht auf gleiche Weise weder Trübung noch Niederschlag. Die Fällung des Antipeptons  $\beta$  ist jedoch nicht ganz vollständig, namentlich wenn die ammonsulfatgesättigte Peptonlösung nicht verdünnt genug ist. Ferner löst ein Ueberschuss von Eisenammoniakalaun wieder den Niederschlag auf. Diese geringen Mengen von Antipepton  $\beta$ , welche sich dem zweiten Eisenniederschlage beimengen, werden durch die Fällung in Alkohol entfernt, da Antipepton  $\beta$  ebenso wie Antipepton  $\alpha$  in diesem Alkohol nicht unbeträchtlich löslich ist. Will man ganz sicher gehen, so fällt man das Antipepton mehrere Male mit Alkohol um. Um die Gefahr der Verunreinigung des Antipeptons  $\alpha$  durch etwas Antipepton  $\beta$  zu beseitigen, wird die

### *Zwischenfällung*

vorgenommen, bei welcher die Reste des Antipeptons  $\beta$  mit Antipepton  $\alpha$  ausgefällt werden. Die hier beschriebenen Antipeptone sind noch ohne Zwischenfällung dargestellt.

## C. Resultate.

### *I. Pepton aus Eisenniederschlag I.*

Darstellung I. Ausgangsmaterial Witte-Pepton.

1. 0,1796 g S. g. 0,3182 g  $\text{CO}_2$  = 48,31% C u. 0,1150 g  $\text{H}_2\text{O}$  = 7,07% H
2. 0,1782 " " 24,2 ccm. N bei 16° u. 746 mm. Bar. N = 15,48%.

Das Pepton wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit Alkohol verdünnt und in Alkohol verrührt.

Das so umgefällte Präparat gab folgende Werthe:

3. 0,1658 g S. g. 0,2913 g CO<sub>2</sub> = 47,91% u. 0,1044 g H<sub>2</sub>O = 6,93% H  
 4. 0,1848 » » » 24,6 ccm. N bei 15° u. 750 mm. Bar. N = 15,30%.

Dieses umgefällte Pepton wurde in verdünnter Essigsäure gelöst und in Alkohol verrührt.

5. 0,1740 g S. g. 23,7 ccm. N bis 20° u. 754 mm. Bar. N = 15,38.

Darstellung II. Ausgangsmaterial Witte-Pepton.

6. 0,1784 g S. g. 0,3161 g CO<sub>2</sub> = 48,32% C u. 0,1108 g H<sub>2</sub>O = 6,90%  
 7. 0,1873 » » » 0,3334 » » » = 48,53% » » 0,1106 » » = 6,56%  
 8. 0,1815 » » » 25,8 ccm. N bei 24° u. 754 mm. Bar. N = 15,75%  
 9. 0,1880 » » » 26,5 » » 21° » 750 » » = 15,71%.

Darstellung III. Ausgangsmaterial Fibrin.

10. 0,1719 g S. g. 0,3069 g CO<sub>2</sub> = 48,69% C u. 0,1096 g H<sub>2</sub>O = 7,08% H  
 11. 0,1705 » » » 22,3 ccm. N bei 16° u. 748 mm. Bar. N = 14,93%.

Nr.	Gefundene Procente.											Berechnete Proc. für C <sub>11</sub> N <sub>3</sub> H <sub>19</sub> O <sub>5</sub>
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
C	48,31	—	47,91	—	—	48,32	48,53	—	—	48,69	—	48,35
H	7,07	—	6,93	—	—	6,90	6,56	—	—	7,08	—	6,97
N	—	15,48	—	15,30	15,38	—	—	15,75	15,71	—	14,93	15,38

Aus den Analysen ergibt sich somit für das Pepton aus dem Eisenniederschlag I, das Antipepton β, die Zusammensetzung:



Da bei verschiedenen Darstellungen die gleiche Zusammensetzung für das erhaltene Produkt ermittelt wurde, und ferner, weil diese Zusammensetzung durch Umfällen der Substanz (Analysen 1—5) nicht geändert wurde, ist sie als erwiesen für das Antipepton β anzusehen. Die Umfällung ist deshalb maassgebend, weil bei ihr ein wesentlicher Theil des Antipeptons in den alkoholischen Mutterlaugen bleibt.

Molekulargewichtsbestimmungen nach der Methode der Erniedrigung des Gefrierpunktes von Wasser im Beckmann'schen

Apparate ergaben die der einfachen Formel entsprechende Molekulargrösse des bei 70° getrockneten Antipeptons  $\beta$ .

I. Bestimmung des umgefällten Peptons aus Darstellung I.

(Analysen 3 und 4.)

L = 10	$\Delta_1 = 0.250$	$s_1 = 0.3433$	$M_1 = 259$
K = 1.89	$\Delta_2 = 0.470$	$s_2 = 0.6520$	$M_2 = 262.$

II. Bestimmung des Peptons aus Darstellung III.

(Analysen 10 und 11.)

L = 11.5490	$\Delta_1 = 0.226$	$s_1 = 0.3922$	$M_1 = 284$
K = 1.89	$\Delta_2 = 0.422$	$s_2 = 0.7981$	$M_2 = 307$
	$\Delta_3 = 0.567$	$s_3 = 1.0960$	$M_3 = 316.$

Im Mittel ergaben diese Bestimmungen demnach das Molekulargewicht: **286**, während die Formel  $C_{11}N_3H_{19}O_5$  verlangt: **273**.

Ein neuerdings von Herrn F. Müller im hiesigen Laboratorium aus Fibrin dargestelltes analysenreines Antipepton  $\beta$  ergab nach dessen Bestimmung ebenfalls die einfache Molekulargrösse.

Ich habe schon früher<sup>1)</sup> darauf hingewiesen, dass die Bestätigung dieses Molekulargewichtes noch von dem Studium der Zersetzungsprodukte zu erwarten ist (vergl. w. u.). Es ist jedoch auf die Ergebnisse dieser Bestimmungen schon deshalb Gewicht zu legen, weil keine der überhaupt ausgeführten Bestimmungen weder bei Antipepton  $\beta$  noch  $\alpha$  andere Werthe gaben, während die gleichen Bestimmungen für Antipepton aus Gelatine, welches von den aus Fibrin und Witte-Pepton dargestellten verschieden ist, ein grösseres Molekulargewicht ergeben haben und zugleich andere Thatsachen in diesem Falle zu der Annahme eines höheren Molekulargewichts zwingen.

Das Antipepton  $\beta$  ist, auf die einfache Molekularformel bezogen, eine einbasische Säure, wie aus seinem Zinksalz und Barytsalz hervorgeht. Diese Salze werden durch kurzes Kochen der wässerigen Peptonlösung mit alkalifreiem Zinkoxyd bzw. mit frisch gefälltem Baryumcarbonat, Filtriren, Einengen und Fällen mit Alkohol erhalten. Zur Darstellung der Baryum-

1) Ber. d. deutschen chem. Ges., Bd. 33, S. 3568.

salze kann man auch die Peptonlösung mit überschüssigem Barytwasser versetzen und sofort Kohlensäure einleiten, aufkochen, filtriren, einengen und mit Alkohol fällen. Durch lange Einwirkung von Barythydrat schon bei gewöhnlicher Temperatur werden die Peptone allmählich zersetzt. Die Salze werden bei 70° bis zum constanten Gewichte getrocknet, oder im Vacuum über Schwefelsäure.

I. Zinksalze.

Aus Antipepton β. Darstellung I.

1. 0.2090 g S. g. 0,0291 ZnO.

Aus Antipepton β. Darstellung II.

2. 0.1853 g S. g. 0,0242 g ZnO.

3. 0,2211 26,9 ccm. tr. N bei 20° u. 748 mm. Bar.

Aus Antipepton β. Darstellung III.

4. 0,1982 g S. g. 0,3164 g CO<sub>2</sub> u. 0,1032 g H<sub>2</sub>O.

5. 0,1920 23,0 ccm. tr. N bei 730 mm Bar. u. 13°.

Gefunden:

Ber. f. (C<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>H<sub>18</sub>)<sub>2</sub> Zn:

	I	II	III	IV	V	
C	—	—	—	43,54 %	—	43,32 %
H	—	—	—	5,80 „	—	5,91
N	—	—	13,95 „	—	13,73 „	13,78
Zn	11,18 „	10,49 %	—	—	—	10,73

II. Baryumsalze.

Aus Antipepton β. Darstellung I.

1. 0,4478 g S. g. 0,1527 g BaSO<sub>4</sub>.

Aus Antipepton β. Darstellung II.

2. 0,1718 g S. g. 0,0588 g BaSO<sub>4</sub>.

3. 0,2209 „ „ „ 22,9 ccm. tr. N bei 758 mm. Bar. u. 20°.

Aus Antipepton β. Darstellung III.

4. 0,2198 g S. g. 0,0746 g BaSO<sub>4</sub>.

Gefunden:

Ber. f. (C<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>H<sub>18</sub>)<sub>2</sub> Ba:

	I	II	III	IV	
Ba	20,04 %	20,12 %	—	19,95 %	20,16 „
N	—	—	12,05 %	—	12,33 „

## Peptone aus Eisenniederschlag II.

### Darstellung I. Ausgangsmaterial Witte's Pepton.

1. 0,1713 g S. g. 0,2930 g CO<sub>2</sub> u. 0,1017 g H<sub>2</sub>O = 46,64% C u. 6,59% H.  
 2. 0,1704            25,5 ccm. N bei 759 mm. Bar. u. 27° N = 16,45

Das Antipepton wurde in Wasser gelöst und mit Alkohol wieder gefällt.

3. 0,1489 g S. g. 0,2537 g CO<sub>2</sub> = 46,46% C u. 0,0885 g H<sub>2</sub>O = 6,60 H.  
 4. 0,1448            21,3 ccm. N bei 750 mm. Bar. u. 21° N = 16,51

### Darstellung II. Ausgangsmaterial Witte's Pepton.

5. 0,2549 g S. g. 0,4335 g CO<sub>2</sub> = 46,38% C u. 0,1614 g H<sub>2</sub>O = 7,04% H.  
 6. 0,2330 g S. g. 33,8 ccm. N bei 18,5° u. 754 mm. Bar. = 16,49% N.

### Darstellung III. Ausgangsmaterial Fibrin.

7. 0,1850 g S. g. 0,3147 g CO<sub>2</sub> = 46,39% C u. 0,1120 g H<sub>2</sub>O = 6,72% H.  
 8. 0,1869            26,6 ccm. N bei 756 mm. Bar. u. 17° N = 16,36

Das alkoholische Filtrat von dem ausgefällten Pepton wurde im Vacuum eingedampft, der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und in Alkohol gefällt.

9. 0,1938 g S. g. 0,3329 g CO<sub>2</sub> = 46,84% C u. 0,1213 g H<sub>2</sub>O = 6,93% H.  
 10. 0,1797            25,4 ccm. tr. N bei 745,5 mm. Bar. u. 17° N = 16,32

### Darstellung IV. Ausgangsmaterial Fibrin.

Der Eisenniederschlag I von dieser Darstellung war vor der Ausarbeitung der Methode verarbeitet worden: das Filtrat von diesem Eisenniederschlage war aufgehoben worden und wurde zur Darstellung des Antipeptons  $\alpha$  verwendet.

11. 0,1672 g S. g. 0,2842 g CO<sub>2</sub> = 46,35% C u. 0,0985 g H<sub>2</sub>O = 6,52% H.  
 12. 0,1782            24,4 ccm. tr. N bei 747 mm. Bar. u. 17° N = 15,84  
 13. 0,2192            30,6                            748                            20° N = 16,01

Gefundene Procente													Ber. Proc. für C <sub>10</sub> N <sub>3</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub>	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
C	46,64	—	46,46	—	46,38	—	46,39	—	46,84	—	46,35	—	—	46,33
H	6,59	—	6,60	—	7,04	—	6,72	—	6,93	—	6,52	—	—	6,56
N	—	16,45	—	16,51	—	16,49	—	16,36	—	16,32	—	15,84	16,01	16,21

Aus diesen Analysen ergibt sich für das Pepton aus dem Eisenniederschlage II, das Antipepton  $\alpha$ , die Formel:



Weil die gleiche Zusammensetzung bei verschiedenen Darstellungen erhalten wurde, und weil diese Zusammensetzung auch beim Umfällen mit Alkohol, bei welchem ein beträchtlicher Theil des Antipeptons in der Mutterlauge bleibt, und beim fractionirten Fällen constant bleibt, ist diese Zusammensetzung für das Antipepton  $\alpha$  erwiesen.

Der einfachen Formel entspricht das Molekulargewicht 259. Dieses wurde durch Ermittlung der Gefrierpunktserniedrigung in wässriger Lösung gefunden. Zur Bestimmung diente Antipepton  $\alpha$  aus Witte-Pepton, Darstellung I, umgefällt, bei 70° getrocknet.

L = 10	$\Delta_1 = 0,425$	$s_1 = 0,6460$	$M_1 = 286$
K = 1,89	$\Delta_2 = 0,535$	$s_2 = 0,8432$	$M_2 = 298$

Auch das Antipepton  $\alpha$  ist, wie aus den Salzen hervorgeht, eine einbasische Säure auf die einfache Molekularformel bezogen. Diese Salze wurden ebenso wie die des Antipeptons  $\beta$  dargestellt.

### I. Zinksalze.

Aus Antipepton  $\alpha$ . Darstellung I.

1. 0,2253 g S. g. 0,3272 g ZnO.
2. 0,2501 " " 30,2 ccm. tr. N bei 20° u. 756,5 mm. Bar.

Aus Antipepton  $\alpha$ . Darstellung III.

3. 0,1441 g S. g. 0,0199 g ZnO.

Aus Antipepton  $\alpha$ . Darstellung IV.

4. 0,2472 g S. g. 0,0348 g ZnO.
5. 0,1697 " " 20,6 ccm. tr. N bei 755 mm. Bar. u. 15°.

Gefunden:					Ber. f. $(C_{10}H_{16}N_3O_5)_2 Zn$	
	I	II	III	IV	V	
Zn	11,67%	—	11,33%	11,31%	—	11,25%
N	—	13,96%	—	—	14,29%	14,44

### II. Baryumsalze.

Aus Antipepton  $\alpha$ . Darstellung I.

1. 0,1842 g S. g. 0,0660 g BaSO<sub>4</sub>.
2. 0,2070 " " 23,4 ccm. tr. N bei 15° u. 746 mm. Bar.

Aus Antipepton  $\alpha$ . Darstellung III.3. 0,2097 g S. g. 0,0736 g BaSO<sub>4</sub>.

Gefunden:			Ber. f. (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> Ba
I	II	III	
Ba	21,09 %	—	20,66 %
N	—	13,15 %	—
			21,03 %
			12,86 %

II. Eigenschaften der Antipeptone  $\alpha$  und  $\beta$ .

Die Antipeptone  $\alpha$  und  $\beta$  sind durch Alkohol gefällt lockere, schneeweisse Pulver; sie sind nicht zerfliesslich, aber ausserordentlich leicht löslich in Wasser und gesättigter Ammonsulfatlösung. In 96%igem Alkohol sind sie schwer löslich, etwas leichter in heissem als in kaltem; beim Erkalten heiss gesättigter alkoholischer Lösungen scheidet sich ein Theil des gelöst gewesenen Peptons in mikroskopischen durchsichtigen Körnchen aus, die keine Krystallflächen erkennen lassen. In eben geschmolzenem Phenol sind sie ziemlich leicht löslich und scheinen aus diesen Lösungen unverändert abgeschieden zu werden. Bei den vorläufigen Versuchen sind sie noch nicht krystallisirt erhalten worden.

Sie sind schwefelfrei, d. h. nach dem Verschmelzen mit Aetznatron und Salpeter, Eindampfen der Lösung der Schmelze mit Salzsäure, Lösen in Wasser entsteht auf Zusatz von Baryumchlorid keine Ausscheidung von Baryumsulfat, vorausgesetzt, dass sie bei ihrer Darstellung durch völlig kalkfreies Barythydrat ganz sulfatfrei gemacht worden sind. Sie sind, wenn reine Reagentien verwendet werden, völlig aschefrei.

Die Lösungen der Antipeptone reagiren sauer. Scharf blaues Lackmuspapier wird scharf ziegelroth gefärbt. Die Natron- und Barytsalze reagiren alkalisch. Sie schmecken nicht bitter, sondern säuerlich und hinterlassen einen angenehmen, an Fleischextract erinnernden Geschmack.

Die Antipeptone werden schon durch Erhitzen auf 100° langsam, bei höherer Temperatur schneller zersetzt. So lieferte das Antipepton  $\alpha$ , das bei 70° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet die Werthe C = 46,64%, N = 16,45% (s. S. 174, Analysen 1 und 2) gab, nach 4 stündigem Erhitzen auf 120°

die Werthe  $C = 48,93\%$  und  $N = 13,61\%$ . Die Peptone halten hartnäckig Alkohol zurück, der über Schwefelsäure im Vacuum nur sehr langsam, schneller bei  $65-70^\circ$  entweicht. Es hat beinahe den Anschein, als sei der Alkohol nach Art von Krystallalkohol gebunden.

Die Antipeptone erfahren schon beim Eindampfen auf dem Wasserbade, namentlich wenn die Reaction nativ sauer ist, eine Veränderung unter Bildung von Albumosen, d. h. von biuretgebenden, durch Ammonsulfat aussalzbaren Substanzen. Hierbei wird die zuerst völlig farblose Lösung bräunlich. Hingegen bleiben die über Schwefelsäure getrockneten Peptone bei  $70^\circ$  völlig farblos und enthalten nach dem Trocknen keine durch Ammonsulfat fällbaren Substanzen.

Sie geben folgende Reactionen:

1. Millon'sche Reaction stets negativ. Es entsteht beim Zufügen des Reagens ein Niederschlag, der beim Kochen bräunlich, nie aber röthlich wird.
2. Molisch'sche Reaction, negativ.
3. Biuretreaction, stark positiv.
4. Ferrocyankalium und Essigsäure geben weder Niederschlag noch Trübung, auch nicht nach dem Zusatze des gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung.
5. Bleiessig fällt in verdünnten Lösungen nicht.
6. Pikrinsäure erzeugt, in grösseren Mengen zugesetzt, eine geringe Trübung, welche beim Erwärmen verschwindet, beim Abkühlen wieder auftritt.
7. Gerbsäure erzeugt in nicht sehr verdünnten Lösungen eine Fällung, die in viel Essigsäure löslich ist.
8. Metaphosphorsäure gibt weder Fällung noch Trübung.
9. Sublimat gibt eine ganz schwache Trübung.
10. Phosphorwolframsäure fällt in concentrirteren Lösungen einen voluminösen Niederschlag, in stark verdünnten nicht. Es besteht hier ein scharfer Unterschied zwischen der Fällbarkeit der Hexonbasen und den Antipeptonen. Der Grad der Verdünnung, bei der die Fällung durch Phosphorwolframsäure ausbleibt, ist bei verschiedenen käuflichen Phosphorwolframsäuren und solchen nach Drechsel's

Methode dargestellten verschieden. Stets tritt jedoch der Unterschied im Verhalten der Antipeptone gegenüber dem der Basen hervor. Verdünnt man gleich concentrirte Lösungen beider gleichmässig mit einander, bis in der Peptonlösung durch Phosphorwolframsäure kein Niederschlag mehr entsteht, so gibt die ebenso verdünnte Basenlösung noch starken Niederschlag mit Phosphorwolframsäure.

Die Antipeptone sind optisch activ, linksdrehend.

Antipepton  $\beta$  aus Witte-Pepton:

10,7724 g S. im Exsiccator getrocknetes, also auch noch etwas Alkohol enthaltendes Pepton wurde im Masskölbchen auf 100 ccm. gelöst. Gleichzeitig wurden 0,5303 g bei 70° zur Gewichtsconstanz getrocknet und lieferten 0,4834 g. Es entsprechen also 10,7724 g der angewandten Substanz 9,7994 g.

Die Lösung drehte im Halbschattenapparate im 10 ccm.-Rohre bei 16° um 2,10° nach links, also

$$[\alpha]_{D}^{16} = -21,43.$$

Von dieser Lösung wurden 50 ccm. auf 100 verdünnt, also

$$c = 4,8997 \quad t = 16^{\circ} \quad L = 2 \quad a = -2,29^{\circ}$$

$$[\alpha]_{D}^{16} = -23,37.$$

Von dieser Lösung wurden wieder 50 ccm. auf 100 ccm. verdünnt.

$$c = 2,4498 \quad t = 16^{\circ} \quad L = 2 \quad a = -1,13^{\circ}$$

$$[\alpha]_{D}^{16} = -23,06.$$

Von der ursprünglichen, also 9,7994%igen Lösung wurden 20 ccm. mit 20 ccm. Salzsäure D 1,12 vermischt und sofort polarisirt.

$$c = 4,8997 \quad t = 16^{\circ} \quad L = 2 \quad a = -2,05^{\circ}$$

$$[\alpha]_{D}^{16} = -20,92.$$

Wenn auch die Polarisation sofort geschah, so ist nicht ausgeschlossen, dass durch die Salzsäure bereits eine geringe Zersetzung eingetreten war.

Die vereinigten wässerigen Lösungen, welche zu diesen Bestimmungen verwendet waren, wurden mit dem gleichen Volumen Salzsäure 1,12 und 20 g Zinnchlorür vermischt, mit

der salzsauren zur Polarisation verwendeten Lösung vereinigt und 10 Stunden am Rückflusskühler erhitzt. Nach Verdünnen mit Wasser und Entzinnen mit Schwefelwasserstoff wurde das Filtrat vom Schwefelzinn eingeeengt und auf 250 cem. aufgefüllt. Diese Lösung drehte im 10 cm.-Rohr um

**0,38° nach rechts.**

Es berechnet sich hiernach für die Drehung der erhaltenen Spaltungsprodukte, wären sie in 100 cem. gelöst:  $\alpha = + 0,94^\circ$ . Da bei der Ausführung der oben angeführten Polarisationen Substanz verloren gehen musste, so ist das Drehungsvermögen der 9,7994%igen Lösung im 10 cem.-Rohr von  $2,05^\circ$  nach **links** durch die Spaltung in mehr als  $0,94^\circ$  nach **rechts** umgeschlagen.

Als Drehungsvermögen für Antipepton  $\alpha$  aus Witte-Pepton wurde gefunden:

$$c = 9.4870 \quad t = 20^\circ \quad L = 1 \quad \alpha = - 1.75$$

$$[\alpha_D]^{20} = - 18.45.$$

Hierbei wurde die Concentration der Lösung durch Eindampfen bei  $50^\circ$  und Trocknen bei  $70^\circ$  bestimmt.

Ein anderes Präparat Antipepton  $\alpha$  aus Witte-Pepton gab einen ähnlichen Werth:

$$c = 4.470 \quad t = 18^\circ \quad L = 1 \quad \alpha = - 0.88$$

$$[\alpha_D]^{18} = - 19.69.$$

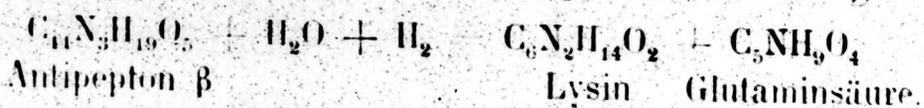
Hingegen haben die Bestimmungen mit Fibrinantipeptonen höhere Werthe ergeben, die jedoch erst, da die verwendeten Präparate über ein Jahr aufgehoben waren, an frischen Präparaten nachgeprüft werden sollen. Jedenfalls aber besitzen die aus Witte-Pepton und aus Fibrin dargestellten Antipeptone ein verschiedenes Drehungsvermögen. Somit liegt die Annahme nahe, dass Witte-Pepton nicht aus Fibrin hergestellt wird. Die gegentheilige Annahme wird vielfach, wie mir scheint, überhaupt nicht begründeter Weise gemacht.

Das Studium der optischen Activität verspricht ein scharfes Kriterium für die Reinheit der Peptone und für die Charakteristik derselben und ihrer Muttersubstanzen, der verschiedenen Eiweisskörper, zu werden. Für Antipepton aus Gelatine

hat sich bereits bei den Präparaten verschiedener Darstellungen ein in engen Grenzen constantes Drehungsvermögen nachweisen lassen, das auch beim Umfällen constant blieb, worüber demnächst berichtet werden soll.

### III. Spaltungen der Antipeptone.

Die Spaltungen sind in erster Linie unternommen worden, um die durch die Molekulargewichtsbestimmungen gegebenen Molekulargrößen zu kontrolliren. Denn sollte es gelingen, als Spaltungsprodukt Arginin aufzufinden, so wäre das einfache Molekulargewicht ausgeschlossen, da das Arginin 4, die einfachen Antipeptonformeln jedoch nur 3 N-Atome enthalten. Der andere Zweck der Spaltungen war ein weitergehender. Wenn den Antipeptonen die einfache Molekularformel zukommt, so lag die Hoffnung nicht gar zu ferne, durch sie den Weg zur Erkenntniß der Constitution derselben zu eröffnen. Hierbei war nicht zu erwarten, dass z. B. das Antipepton  $\beta$ , selbst wenn die durch die Molekulargewichtsbestimmungen gefundene Molekulargröße richtig ist, etwa bei einer Spaltung unter gleichzeitiger Reduction glatt nach folgender Gleichung zerfiel:



Denn viel näher, als die Vorstellung, dass das Eiweissmolekül etwa nur aus Anhydriden von Amidosäuren und Basen besteht, liegt die Annahme, dass bei der Spaltung der Protein- stoffe durch Mineralsäuren auch Kohlenstoffketten und Kohlenstoff-Stickstoff-Verkettungen gespalten werden, dass diese Spaltungen theils an dieser, theils an jener Stelle ansetzen, sodass die entstehenden Spaltungsprodukte in Summa viel mehr C-Atome enthalten, als das ursprüngliche Eiweissmolekül.

#### I. Zersetzung von Antipepton $\alpha$ (aus Witte-Pepton).

I. 22 g Antipepton  $\alpha$  wurden mit 100 ccm. Salzsäure D. 1,12 und 50 g Zinnchlorür 10 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach Verdünnen mit Wasser wurde mit Schwefelwasserstoff entzint, das Filtrat vom Schwefelzinn eingeeengt und bei 60—70° mit Phosphorwolframsäure ausgefällt.

## a) Der Phosphorwolframsäureniederschlag

wurde in Wasser verrührt, unter mässigem Erwärmen auf dem Wasserbade unter Zusatz von Ammoniak gelöst. Zu dieser Lösung wurde Barythydrat in kleinem Ueberschusse gegeben, das Filtrat durch Kohlensäure vom Baryt befreit und im Vacuum eingedampft. Die ammoniakfreie Lösung des Rückstandes gab mit tropfenweise zugesetzter schwach ammoniakalischer Silbernitratlösung keine Fällung, aber mit Silbernitrat und ammoniakalischer Silberlösung, wie sich auch Argininlösungen verhalten. Nach Zusatz von Silbernitrat wurde filtrirt, im Vacuum eingedampft und der Rückstand nach der von mir<sup>1)</sup> angegebenen Methode weiter verarbeitet.

Es schieden sich erst Schmierer und undeutlich krystallisirte Massen aus, dann in lockeren Krystallen ein Silbersalz, das nach Umkrystallisiren die Zusammensetzung des Lysatin-silbernitrates besass.

- I. 0.2445 g S. g. 0.1650 g CO<sub>2</sub> u. 0.0878 g H<sub>2</sub>O.  
 II. 0.2544            39.1 ccm. tr. N bei 13° u. 748 mm. Bar.  
 III. 0.1707           0.0471 g Ag.

	Gefunden:	Ber. f. C <sub>6</sub> N <sub>3</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> · HNO <sub>3</sub> · AgNO <sub>3</sub> :
C	18.40%	18.36%
H	3.97	3.60
N	18.06	17.90
Ag	27.59	27.51

Um zu prüfen, ob etwa ein Gemenge von Lysin- und Argininsalz vorlag, wurde die Lösung des Salzes bei Zimmertemperatur mit fein gepulvertem Barythydrat gesättigt,<sup>2)</sup> der entstandene dunkle Niederschlag sofort abgesaugt und sorgfältigst mit Barytwasser gewaschen. Der Niederschlag wurde in Wasser suspendirt, nach Zusatz von Salzsäure und Schwefelsäure anhaltend geschüttelt, das Filtrat vom Chlorsilber und Baryumsulfat mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag mit 5%iger Schwefelsäure, die 5% Phosphorwolframsäure enthielt, ausgewaschen, in stark verdünntem Ammoniak gelöst. Nach

1) M. Siegfried, Ber. d. deutschen chem. Ges. Bd. 24, S. 418.

2) Hier und im Folgenden wurden die von Kossel und seinen Schülern ausgearbeiteten Methoden mehr oder weniger benutzt.

Ausfällen mit Barytwasser wurde das Filtrat durch Ammoncarbonat vom überschüssigen Baryt befreit und völlig eingedampft, der Rückstand mit Salzsäure eingedampft, in Wasser gelöst, dazu aus einer Bürette so viel Silbernitrat zugefügt, als noch Chlorsilber gefällt wurde, filtrirt und unter Zusatz des gleichen Volumens Silberlösung, das vorher zur Ausfällung des Chlorsilbers gebraucht war, eingeengt. Durch Alkohol und Aether wurde wieder ein Silbersalz von der Zusammensetzung des Lysatininsilbernitrates erhalten.

I. 0,1640 g S. g. 0,0455 g Ag.

II. 0,1018                    16,7 ccm. fr. N bei 24° u. 738 mm. Bar.

	Gefunden:	Berechnet:
Ag	27,74 %	27,51 %
N	18,31	17,90

Das schwarze Filtrat von der Silberbarytfällung wurde mit Salzsäure und Schwefelsäure versetzt und filtrirt. Phosphorwolframsäure erzeugte hier ebenfalls einen Niederschlag, aus dem jedoch nicht das sonst regelmässig erhaltene und aus Lysin so sicher darzustellende Platinsalz erhalten werden konnte. Da nach Sättigen mit Barythydrat sowohl Niederschlag als Filtrat schwarz wurden, hat sicher eine theilweise Zersetzung stattgefunden, so dass die Phosphorwolframsäurefällung aus dem Filtrate Zersetzungsprodukte des vermeintlichen Lysatinins oder auch nicht gefälltes Lysatinin enthalten haben dürfte.

Wenn auch dieser Befund, sowie die folgenden, welche zeigen, dass Argininsilbersalz nicht erhalten werden konnte, wohl aber ein Silbernitratsalz von der Zusammensetzung des Lysatininsilbers, während (s. w. u.) unter den Spaltungsprodukten des von den Antipeptonen aus Fibrin und Witte-Pepton verschiedenen Antipeptons aus Leim nicht Lysatinin, aber Arginin nachweisbar war, die Existenz des Lysatinins und dessen Entstehung durch Spaltung aus dem Antipepton  $\alpha$  wahrscheinlich machen, möchte ich doch den endgiltigen Nachweis des Lysatinins erst dann als gebracht ansehen, wenn grösseres Material die scharfe Charakterisirung der Base ermöglichen sollte. Im Uebrigen verweise ich auf die nachfolgende Mittheilung über Lysatinin.

Die Untersuchung der ersten schmierigen Silberausscheidung auf Lysin war leider unterblieben. Bei einer zweiten Spaltung (s. u.) wurde diese Base jedoch als Platinsalz isolirt.

b) Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag.

Nach Entfernung der Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure mit Barythydrat und genauem Ausfällen des Baryums im Filtrate mit Schwefelsäure wurde eingeengt, mit Thierkohle gekocht, filtrirt, eingeengt. Dieser salzsaure Syrup setzte auch nach 10 tägigem Stehen über Schwefelsäure keine Krystalle ab. Die alkoholische Lösung desselben wurde mit alkoholischem Ammoniak neutralisirt: die ursprünglich voluminöse Ausscheidung wurde über Nacht krystallinisch und enthielt nach dem Abfiltriren und Auswaschen mit Alkohol nur wenig Chlor. Nach dreimaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser unter Zusatz von Alkohol war die Substanz völlig chlorfrei.

0.2306 g S. erf. 16,83 cem.  $\frac{1}{10}$  N.-  $H_2SO_4 = 10,21\%$  N.

Für Amidobernsteinsäure berechnet sich:  $10,52\%$  N.

Nach dem Abdampfen mit Salzsäure krystallisirte die Säure in feinen, langen, zu Büscheln vereinigten Prismen.

*II. Spaltung von 10 g desselben Antipeptons mit Salzsäure und Zinnchlorür.*

a) Der Phosphorwolframsäureniederschlag.

Zu der Lösung der aus diesem Niederschlage erhaltenen Basen wurde so lange Silbernitrat gegeben, bis ein Tropfen der Lösung eben mit Barytwasser eine gelbliche Färbung zeigte, dann wurde mit Barythydrat bei gewöhnlicher Temperatur gesättigt und der schwarze Niederschlag sofort abgesaugt. Derselbe wurde in Wasser suspendirt, nach Zusatz von Schwefelsäure und Salzsäure kräftig geschüttelt. Das Filtrat wurde mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, dieser Niederschlag in sehr verdünntem Ammoniak gelöst. Nach Ausfällen mit Barythydrat und Entfernen des Ueberschusses des letzteren durch Kohlensäure wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit Silber-

nitrat versetzt. Durch allmählichen Zusatz von Alkohol wurden erst eine geringe Menge nicht krystallisirender Substanz, dann Krystalle abgeschieden. Die durch Aether vermehrten Krystalle wurden abfiltrirt und mit Alkohol gewaschen, bis eine Probe des Filtrates silberfrei war, mit Aether nachgewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Das Salz gab folgende Werthe:

I. 0,1888 g S. g. 0,0525 g Ag.

II. 0,1498                    24,2 ccm. tr. N bei 23° u. 748 mm. Bar.

	Gefunden:	Ber. f. Lysininsilbernitrat:	Für Argininsilbernitrat:
Ag	27,81 %	27,51 %	26,55 %
N	18,34 %	17,90 %	20,68 %

Das Filtrat von der Silberbarytfällung wurde mit Schwefelsäure und Salzsäure versetzt, filtrirt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Aus dieser Fällung liess sich leicht das Lysinplatinchlorid gewinnen. Bei der Darstellung dieses Salzes erhält man gelegentlich zuerst ölige Abscheidungen, die aber nach meinen Erfahrungen nur dann entstehen, wenn entweder zu wenig Platinchlorid oder zu wenig Alkohol vor dem Aetherzusatze verwendet war. Dieses Platinsalz sowie die später dargestellten wurden über Schwefelsäure bis zum constanten Gewichte getrocknet, wobei der Krystallalkohol nicht entweicht.

I. 0,1766 g S. g. 0,0573 g Pt.

II. 0,2712                    12,2 ccm. tr. N bei 20° u. 736 mm. Bar.

	Gefunden:	Ber. f. $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4 \cdot C_2H_5OH$ :
Pt	32,45 %	32,37 %
N	5,07 %	4,67 %

#### b) Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-niederschlag.

Es wurde hier eine Methode angewendet, welche die Ausfällung von Amidobernsteinsäure bezw. Glutaminsäure als Eisenverbindung in verdünnt alkoholischer Lösung bezweckte, die aber vorläufig die Erwartungen, die ich nach einem Vorversuch mit Glutaminsäure und Asparaginsäure auf sie setzte, nicht ganz erfüllt hat. Die Abscheidung der Asparaginsäure erfolgte dann nach der von mir früher<sup>1)</sup> angegebenen Methode

<sup>1)</sup> M. Siegfried, Ber. d. deutschen chem. Ges. (1891). Bd. 24, S. 421.

als Silbersalz durch schwach ammoniakalische Silberlösung, und zwar durch abwechselnden Zusatz von Silbernitratlösung und ammoniakalische Silberlösung. Nach derselben Methode wurde in den späteren Versuchen die Glutaminsäure<sup>1)</sup> isolirt.

Das Silbersalz wurde in Wasser durch Zusatz von Salpetersäure gelöst und mit ammoniakalischer Silberlösung + Silbernitratlösung wieder gefällt. Es gab nach Trocknen bei 70° folgende Werte:

- I. 0.1804 g S. g. 0.1119 g Ag.  
 II. 0.2374                    7.6 ccm. N bei 18° u. 752 mm. Bar.

	Gefunden:	Ber. f. $C_4H_5NO_4Ag_2$
Ag	62,03 %	62,22 %
N	3,65 %	4,05 %

Es ist also sehr wahrscheinlich, dass bei der Zersetzung von Antipepton  $\alpha$  Amidobernsteinsäure entsteht.

## II. Zersetzung von Antipepton $\beta$ (aus Witte-Pepton).

22 g Antipepton  $\beta$  wurden 10 Stunden mit 200 ccm. 12,5%iger Salzsäure und 60 g Zinnchlorür gekocht.

### a) Der Phosphorwolframsäureniederschlag.

Die aus dem Niederschlage erhaltenen Basen wurden in Wasser gelöst, die Lösung wurde mit Silbernitrat versetzt, bis ein Tropfen mit Barytwasser eben Gelbfärbung gab, kalt mit Barythydrat gesättigt, der Niederschlag sofort abgesaugt. Niederschlag und Filtrat waren auch hier schwarz. Aus dem Niederschlage wurde, wie oben beschrieben, ein in Nadeln krystallisirendes Silbersalz in geringer Menge erhalten.

0.2251 g S. g. 0.0624 g Ag    27.72 %.

### b) Das Filtrat vom Silberniederschlag.

Aus diesem Filtrate wurde, wie oben angegeben, Lysinplatinchlorid, dessen Menge nach dem Umkrystallisiren 6,6 g

1) In ähnlicher Weise, durch Fällen mit Silbernitrat und Barytwasser, hat Kutscher (Die Endprod. d. Trypsinverd., Habilitationssch., 1899) die Asparaginsäure und Glutaminsäure abgeschieden.

betrug, erhalten. Es gab über Schwefelsäure, bis zum constanten Gewicht getrocknet, folgende Werthe:

I.	0,2113 g S. g.	0,0688 g Pt.	
II.	0,2129		9,5 ccm. N bei 746 mm. Bar. u. 22°.
III.	0,2599		0,1528 g CO <sub>2</sub> u. 0,0897 g 0,0897 g H <sub>2</sub> O.
	Gefunden:		Ber. f. C <sub>6</sub> N <sub>2</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> 2 HCl PtCl <sub>4</sub> + C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
C	16,03 %		15,95 %
H	3,83		3,69
N	4,93		4,67
Pt	32,56		32,37

b) Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-niederschlag.

Dieses Filtrat wurde mit überschüssigem Barythydrat versetzt, das Baryum durch Schwefelsäure genau ausgefällt und das Filtrat vom Baryumsulfat neutralisirt und mit  $\frac{1}{3}$  Volumen absoluten Alkohols vermischt, mit einer 25%igen alkoholischen Lösung von Eisenammoniak und etwas Ammoniak umgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit 25%igem Alkohol ausgewaschen, mit Baryt zersetzt. Nach Ausfällen des überschüssigen Baryts mit Ammoncarbonat und Eindampfen wurde der Rückstand in H<sub>2</sub>O gelöst und mit ammoniakalischer Silbernitratlösung und Silbernitratlösung ausgefällt. Durch Schwefelwasserstoff wurde aus diesem Salze eine Amidosäure gewonnen, die nach Umkrystallisiren aus Wasser unter Zusatz von Alkohol bei den Analysen auf Glutaminsäure stimmende Werthe gab. Die Substanz war bei 70° getrocknet:

1. 0,1770 g S. gaben 0,0996 g H<sub>2</sub>O und 0,2640 g CO<sub>2</sub>.
2. 0,1916

	Gefunden:	Ber. f. C <sub>5</sub> NH <sub>9</sub> O <sub>4</sub> :
C	40,68 %	40,78 %
H	6,27	6,18
N	9,48	9,54

Die Säure krystallisirte beim Eindampfen mit Salzsäure über Schwefelsäure vollständig in den für salzsaure Glutaminsäure charakteristischen, in starker Salzsäure schwer löslichen Krystallen.

Diese Spaltungen der Antipeptone aus Witte-Pepton mit Salzsäure und Zinnchlorür haben ergeben, dass hierbei Lysin

sowohl aus Antipepton  $\alpha$  als auch aus Antipepton  $\beta$  gebildet wird, dass Antipepton  $\beta$  ferner hierbei Glutaminsäure und Antipepton  $\alpha$  wahrscheinlich Amidobernsteinsäure liefert. Ferner entstanden aus beiden Peptonen eine oder mehrere Basen, die durch Silbernitrat und Barythydrat fällbar waren. Die Entscheidung, ob, den Analysen entsprechend, Lysatinin gebildet wird, behalte ich mir, bis ich diese Versuche mit mehr Material wiederholt habe, vor. Bei allen Zersetzungen wurde sorgfältigst auf Tyrosin gefahndet. In keinem Falle war auch nur eine Spur zu finden.

#### Spaltungen von Leimpepton.

Durch tryptische Verdauung von Gelatine wurde ein von den beschriebenen Antipeptonen verschiedenes Pepton dargestellt, über welches demnächst berichtet werden soll. Die Molekulargewichtsbestimmungen ergaben ein höheres Molekulargewicht, bei allen Präparaten und bei ein und demselben nach Umfällen. Nach den Metallwerthen der Zink- und Barytsalze, die aus verschiedenen Präparaten von constanter Zusammensetzung erhalten wurden, besitzt dieses Pepton, das ebenfalls den ausgesprochenen Charakter einer Säure hat, ein etwa doppelt so grosses Aequivalentgewicht wie Antipepton  $\alpha$ . Die fast vollständige Uebereinstimmung des optischen Drehungsvermögens — das Pepton dreht stark nach links — verschiedener Präparate im Verein mit der gleichen Zusammensetzung derselben berechtigt zu der Annahme, dass ein einheitlicher Körper vorliegt.

Das zu den folgenden Zersetzungen verwendete Pepton ist auf meine Veranlassung nach der oben beschriebenen Methode von der chemischen Fabrik von Heyden in Radebeul dargestellt worden.

#### Versuch I.

18 g Leimpepton wurden mit 120 g Wasser, 60 g concentrirter Schwefelsäure und 60 g Stannosulfat 12 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach Verdünnen mit Wasser wurde durch Schwefelwasserstoff entzinnt, eingeeengt und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt.

### a) Der Phosphorwolframsäureniederschlag.

Die Basen wurden wie oben beschrieben, durch Silbernitrat und Barythydrat getrennt, und durch Phosphorwolframsäure abgeschieden.

Aus der Silberbarytfällung wurde ein Silbersalz von der Zusammensetzung des Argininsilbernitrates erhalten.

I. 0,2097 g S. gaben 0,0561 g Ag.

II. 0,2754 g S. gaben 48,4 ccm. fr. N b. 21° und 757 mm Bar.

	Gefunden:	Ber. f. $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot NO_3H \cdot NO_3Ag$ :
Ag	26,75%	26,55%
N	20,33	20,68

Aus dem Filtrate der Silberbarytfällung wurde Lysinplatinchlorid dargestellt, das umkrystallisirt und über Schwefelsäure getrocknet wurde.

Dieses Platinsalz verlor, nachdem es nach 2 Tagen Gewichtconstanz erreicht hatte, nach weiteren 2 Tagen über Schwefelsäure im Vacuum noch 0,0005 g an Gewicht. Auch auf die zuerst erreichte Constanz berechnet gab es einen etwas zu hohen Platinwerth:

0,1761 g S. gaben 0,0577 g Pt = 32,82%.

Ber. f.  $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4 + C_2H_5OH$  : 32,37%.

Dasselbe bei 110° getrocknet:

0,2804 g. 0,0998 g Pt = 35,59% Ber. f.  $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4$  : 35,07.

Das Platinsalz wurde nochmals umkrystallisirt und gab dann folgende Werthe:

Substanz im Vacuum getrocknet: 0,3887 g. bei 110° getrocknet:

0,3554 g gaben 0,1252 g Pt.

Gefunden Pt:

Berechnet:

I. 32,21%  $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4 + C_2H_5OH$  : 32,37%

II. 35,23%  $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4$  : 35,07%

Die Abnahme des vacuum getrockneten Salzes bei 110° war also etwas grösser (ber. 7,64%, gef. 8,56%), als 1 Molekül Alkohol entspricht.

### b) Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag

wurde mit Barythydrat ausgefällt, im Filtrate der Barytsalze das Baryum mit Schwefelsäure genau ausgefällt. Zu dem ein-

geengten Filtrate vom Baryumsulfate wurde Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaction, dann so lange abwechselnd Silbernitratlösung und ammoniakalische Silbernitratlösung gegeben, als noch ein Niederschlag entstand. Es wurden so 13,3 g exsiccatorgetrockenes Silbersalz erhalten. Dasselbe gab nach Trocknen bei 70°:

0.1670 g S. gaben 90.0991 g Ag = 59.34%.

Für glutaminsaures Silber berechnet sich 59,83%.

Das Silbersalz wurde in Wasser suspendirt, durch Salpetersäure gelöst, die Lösung mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und mit ammoniakalischer Silbernitrat- und Silbernitratlösung ausgefällt. Aus dem so umgefällten Silbersalze wurde die Säure dargestellt, welche nach Umkrystallisiren auf Glutaminsäure stimmende Werthe gab:

I. 0.2027 g S. gaben 0.1236 g H<sub>2</sub>O und 0.3049 g CO<sub>2</sub>  
 II. 0.1788                      14.8 cem. tr. N b. 17° und 750 mm. Bar.

	Gefunden:	Ber. f. C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub> :
C	41.02%	40.78%
H	6.77	6.18
N	9.61	9.54

Die Säure drehte so wohl in wässriger als salzsaurer Lösung die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts. Sie krystallisirte aus starker Salzsäure über Schwefelsäure in den für salzsaure Glutaminsäure charakteristischen, in concentrirter Salzsäure schwer löslichen Krystallen.

Das Filtrat vom glutaminsauren Silber wurde mit Schwefelammonium entsilbert, das Filtrat vom Schwefelsilber eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, dazu heisser Alkohol gegeben und die beim Erkalten anfallende Krystallisation in stark verdünntem Alkohol gegeben und in siedenden Alkohol gegossen. Beim Erkalten krystallisirte ein Koll aus, das nach Umkrystallisiren die folgenden Werthe gab. Ausbeute 2,8 g.

I. 0.1957 g S. bei 70° getrocknet gaben 0.1141 g H<sub>2</sub>O und 0.2305 g CO<sub>2</sub>  
 II. 0.1973                      70°                      32.8 cem. tr. N b. 20° u. 740 mm. Bar.

	Gefunden:	Ber. f. C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub> :
C	32.09%	31.96%
H	6.48	6.71
N	18.86	18.70

Bei der Zersetzung dieses Leimpeptons waren also entstanden: Lysin, Arginin, Glutaminsäure und Glykokoll.

Um zu prüfen, ob Lysin auch bei Spaltungen unter anderen Umständen gebildet wird, wurden im

#### Versuch II

10 g desselben Peptons mit 30 g Schwefelsäure und 60 g Wasser ohne Stannosulfat 12 Stunden gekocht. Beim Verdünnen mit Wasser schieden sich keinerlei unlösliche Substanzen aus. Auch hier wurde Lysinplatinchlorid erhalten:

0,2168 g S. gaben 0,0701 g Pt = 32,33% Ber. 32,37%.

#### Versuch III.

9 g desselben Peptons mit 25 g Jod, 8 g amorphen Phosphor und 20 ccm. Wasser 12 Stunden vor dem Rückflusskühler erhitzt.

Auch hier war Lysin entstanden, das als das charakteristische Platinsalz isoliert wurde.

0,2001 g S. gaben 0,0654 g Pt = 32,68% Ber. 32,37%.

#### Versuch IV.

Die Lösung von 5 g desselben Peptons in 100 ccm. Wasser wurde auf 50 g granuliertes Zink gegossen und bei gewöhnlicher Temperatur während 2 Tagen allmählich soviel Salzsäure gegeben, bis das Zink fast vollständig gelöst war. Darauf wurde eingedampft, in rauchender Salzsäure gelöst und 6 Stunden gekocht. Auch hier wurde das Lysinplatinsalz erhalten.

0,2389 g S. gaben 0,0778 g Pt = 32,57% Ber. 32,37%.

Es wäre verfrüht, schon jetzt bestimmte Schlüsse auf die Constitution der untersuchten Peptone ziehen zu wollen. Nur sei hervorgehoben, dass die Glutaminsäure und wahrscheinlich auch die Asparaginsäure bei der Spaltung der der Trypsinwirkung so hartnäckig widerstehenden Antipeptone entstehen, dieselben Säuren, deren Amiden eine so wichtige Rolle bei der Eiweissynthese in den Pflanzen nach O. Loew, B. Hansteen und E. Schulze zukommt. Ferner, dass bei der Spaltung der drei untersuchten Peptone Lysin erhalten

wurde. Das Arginin wurde als Spaltungsprodukt des Leimpeptons isolirt; ob es bei der Spaltung der Antipeptone  $\alpha$  und  $\beta$  nicht auftritt, hat sich bis jetzt nicht mit Sicherheit erweisen lassen. Kossel und Kutscher<sup>1)</sup> haben das Arginin bei der Spaltung aller von ihnen untersuchten Eiweisskörper nachgewiesen. Deshalb und aus den auf S. 180 erörterten Gründen ist die Beantwortung der Frage, ob das Arginin auch bei der Spaltung der Antipeptone  $\alpha$  und  $\beta$  entsteht, von besonderem Interesse. Sobald die bereits begonnene Herstellung neuen Materiales aus Fibrin beendigt sein wird, soll diese Frage definitiv beantwortet werden.

---

1) Kossel und Kutscher, Diese Zeitschr., Bd. XXXI, S. 165.