

Über Peptone.

Von

M. Siegfried.

Der Redaktion zugegangen am 18. April 1903.

Mit Hilfe der Eisenmethode¹⁾ sind bis jetzt 6 verschiedene, durch Enzyme entstehende Peptone isoliert worden.

1. Trypsin-Fibrinpepton α oder Antipepton α $C_{10}H_{17}N_3O_5$.
2. Trypsin-Fibrinpepton β oder Antipepton β $C_{11}H_{19}N_3O_5$.
3. Pepsin-Fibrinpepton α $C_{21}H_{34}N_6O_9$.
4. Pepsin-Fibrinpepton β $C_{21}H_{35}N_6O_{10}$.
5. Pepsin-Glutinpepton $C_{23}H_{39}N_7O_{10}$.
6. Trypsin-Glutinpepton β $C_{19}H_{30}N_6O_9$.

Die angegebenen Formeln sind diejenigen einfachsten Formeln, welche sich aus den Analysenwerten berechnen. Die angeführten Peptone sind sämtlich ausgesprochene Säuren, die Lackmus intensiv rot färben und mit Carbonaten unter Verdrängung der Kohlensäure Salze bilden. Auf die angegebenen Formeln bezogen sind es einbasische Säuren oder, mit anderen Worten, die Formeln sind die Äquivalentformeln der Säuren. Auch bei der Papayotinverdauung entstehen, wie Herr Tittmann im hiesigen Laboratorium gefunden hat, Peptone, die ausgesprochene Säuren sind.

Die Darstellung ist in allen Fällen genau nach den von mir früher gegebenen Vorschriften erfolgt. Die Ausführung der Methode erfordert große Sorgfalt und ist zeitraubend; die Resultate sind sicher. Bei verschiedenen Darstellungen werden dieselben Körper erhalten, die auch nach wiederholtem Umfällen gleich bleiben. Diese Umfällungen müßten, wenn Gemenge vorlägen, verschiedene Produkte

¹⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 164.

liefern, da bei ihnen ein wesentlicher Teil der Substanz in den Mutterlaugen bleibt und es ganz unwahrscheinlich ist, daß die Bestandteile der Gemenge gleiche Löslichkeit hätten. Für die Charakterisierung der Peptone hat sich neben der Bestimmung der Zusammensetzung und des Äquivalentgewichtes vor allem die Bestimmung des spezifischen Drehungsvermögens bewährt.

Die von mir den

Trypsin-Fibrinpeptonen α und β oder
Antipeptonen α und β

zugeschriebene Zusammensetzung und Eigenschaften sind von Fr. Müller (S. 265) voll bestätigt worden. Für die Einheitlichkeit dieser Verbindungen ist durch die Ermittlung der Konstanz des optischen Drehungsvermögens ein neuer Beweis erbracht worden. Hierbei hat sich die weiter zu verfolgende interessante Tatsache ergeben, daß beim wiederholten Umfällen aus wässriger Lösung das spezifische Drehungsvermögen allmählich und bedeutend ansteigt, daß es aber nach Umfällen aus wässriger Lösung, der eine Spur Essigsäure zugesetzt ist, sofort wieder auf den ursprünglichen, konstanten Wert zurücksinkt. Analoge Beobachtungen hat Herr Borkel (S. 300) beim Pepsin-Fibrinpepton gemacht. Für Antipeptone α , aus «Witte-Pepton» dargestellt, hatte ich früher¹⁾ bei 2 verschiedenen Präparaten die Werte $[\alpha]_D^{20} = -18,45^{\circ}$ und $= -19,69^{\circ}$ gefunden, während Herr Müller (S. 278) sowohl für Antipepton α aus Witte-Pepton als aus Fibrin $[\alpha]_D^{20} = -24,5$ festgestellt hat. Die von mir seiner Zeit mitgeteilte Beobachtung, daß Fibrin-Antipeptone, die über ein Jahr aufgehoben worden waren, ein wesentlich höheres Drehungsvermögen besaßen, findet in der oben besprochenen Veränderung beim Umfällen aus wässriger Lösung ihre Erklärung. Hingegen weist das gegenüber dem des Trypsin-Fibrinpeptons β um ca. 10° niedrigere Drehungsvermögen des Antipeptons β aus Witte-Pepton darauf hin, daß beide verschieden sind, und daß möglicherweise das aus Witte-Pepton

¹⁾ l. c. S. 179.

dargestellte Antipepton β ein Gemenge optisch isomerer Peptone war.

Als Molekulargewichte hatten sich bei den früher mitgeteilten Bestimmungen in allerdings nicht scharfen Werten die den Äquivalentformeln entsprechenden Größen ergeben. Ich hatte jedoch darauf hingewiesen,¹⁾ daß diese Größen durch das Studium der Spaltungsprodukte kontrolliert werden sollten. Das einfache Molekulargewicht wäre nicht anzunehmen, wenn unter den Spaltungsprodukten Arginin aufgefunden würde, da dieses 4 Atome N, die Äquivalentformeln der Antipeptone 3 Atome N enthalten: man müßte denn eine synthetische Bildung des Arginins durch die Einwirkung der Säure annehmen. Herr Müller (S. 280) hat bei der Spaltung des Trypsin-Fibrinpeptons α und ich (S. 285) bei derjenigen des Trypsin-Fibrinpeptons β u. a. Arginin erhalten. Es sind jetzt ausgedehntere physikalisch-chemische Untersuchungen der von meinen Mitarbeitern und mir dargestellten Peptone im Gange; die auch die Molekulargröße der Peptone sicher stellen dürften.

Schon die Tatsache, daß bei der tryptischen Verdauung von Fibrin zwei Antipeptone, die Trypsin-Fibrinpeptone α und β , entstehen, entspricht nicht der Annahme einer Antigruppe im Eiweißmolekül durch Kühne. Unhaltbar wird diese Annahme durch den Nachweis (S. 320), daß das Glutin nicht dieselben oder eins der Fibrin-Antipeptone bei der tryptischen Verdauung liefert, sondern mindestens zwei, wesentlich von diesen verschiedene Peptone. Auch diese widerstehen hartnäckig der weiteren Zerspaltung durch Trypsin.

Die Anschauung Kühnes ist also dahin zu modifizieren, daß bei der Einwirkung von Trypsin auf Eiweiß ein Teil desselben unter Bildung von Amidosäuren und Basen leicht zersetzt wird, und daß hierbei Peptone gebildet werden, welche die Tyrosingruppe nicht enthalten und der weiteren Aufspaltung durch Trypsin hartnäckig widerstehen.

1) l. c., S. 180.

Pepsinpeptone.

Auch bei den Verdauungsgemischen, welche durch Einwirkung von Pepsin auf Eiweiß entstehen, lassen sich die Albumosen nicht vollständig durch Sättigen mit Ammonsulfat nach Kühnes letzter Vorschrift bei neutraler, saurer und neutraler Reaktion entfernen. Denn auch hier erhält man aus dem nach der Eisenmethode aus der nach Kühne albumosenfrei gemachten Lösung gefällten Eisenniederschlage noch Reste von Albumosen, die sich jetzt völlig aussalzen lassen.

P. Mühle,¹⁾ der auf meine Veranlassung, noch ehe die Eisenmethode in allen Einzelheiten vollständig ausgearbeitet war, die Untersuchung des Amphopeptons Kühnes begonnen hatte, hat dann 2 Pepsinpeptone, die Pepsinpeptone α und β heißen mögen, isoliert. Dem Pepsinpepton α kommt die Äquivalentformel $C_{21}H_{34}N_6O_9$, dem Pepsinpepton β $C_{21}H_{36}N_6O_{10}$ zu. Als Ausgangsmaterial diente Mühle Witte-Pepton und Fibrin. Die Zusammensetzung des Pepsin-Fibrinpeptons α ist von C. Borkel (S. 291 ff.) bestätigt worden, ferner der Übergang des Pepsinpeptons β in α unter Wasserabspaltung sehr wahrscheinlich gemacht. Diese Pepsinpeptone sind unlöslich in absolutem Alkohol und sehr schwer löslich in 96%igem Alkohol. Ihre Einheitlichkeit, bzw. die Einheitlichkeit des Pepsinpeptons α ist zunächst durch die Konstanz der Zusammensetzung und des Äquivalentgewichtes beim Umfällen durch Mühle, dann von Borkel unter Bestätigung dieser Konstanz durch den Nachweis des konstanten optischen Drehungsvermögens sicher gestellt. Nicht ausgeschlossen ist, daß außer diesen beiden Pepsinpeptonen noch andere bei der peptischen Verdauung des Fibrins entstehen. Das Pepsinpepton α ist aber das oder ein Amphopepton im Sinne Kühnes, und zwar nicht ein Gemenge von sog. Hemipepton und von Antipepton, sondern eine einheitliche Verbindung, aus der bei der tryptischen Verdauung unter Abspaltung von Basen oder wenigstens sicher einer Base, dem Arginin, und Amidosäuren, darunter des gesamten

¹⁾ P. Mühle, Diss. Leipzig, 1901.

abspaltbaren Tyrosins, die beiden Antipeptone oder Trypsinpeptone α und β entstehen. (S. 304 ff.)

Aus dem schwachen Ausfall der nur in konzentrierteren Lösungen wahrnehmbaren Molischschen sehr empfindlichen Reaktion ist zu schließen, daß den Pepsinpeptonen ebenso wie den Trypsinpeptonen die Kohlehydratgruppe fehlt. Bei den bisherigen Spaltungen der Pepsinpeptone konnten reduzierende Substanzen nicht aufgefunden werden; neue unter verschiedenen Bedingungen anzustellende Spaltungsversuche sollen diese Frage definitiv beantworten.

Während von mir der Beweis erbracht ist, daß die Fibrin-Antipeptone schwefelfrei sind, wurden in den Präparaten der Pepsin-Fibrinpeptone mit Ausnahme des einen Präparates Pepsin-Fibrinpepton β (S. 299) geringe, ca. 0,5%, Schwefelmengen gefunden. Aber dieses eine Präparat beweist für das Pepsinpepton β die Schwefelfreiheit und da der Übergang dieses Peptons in das Pepton α sehr wahrscheinlich gemacht ist, so ist auch die Schwefelfreiheit des Pepsin-Fibrinpeptons α sehr wahrscheinlich. Nur ganz geringen Schwefelgehalt haben Scheermesser und Krüger bei ihrem Pepsin- und Trypsin-Glutinpepton gefunden. Es sei bemerkt, daß bei allen Schwefelprüfungen die Lösungen der Schmelzen wiederholt mit Salzsäure vollständig eingedampft wurden.

Die Verschiedenheit der aus ein und derselben Protein-substanz durch Pepsin und Trypsin entstehenden Peptone zeigt deutlich die verschiedene Wirkungsart dieser Enzyme. Man hatte erwarten können, daß aus Glutin, dem die Tyrosin-gruppe fehlt, durch Pepsin dieselben Peptone wie durch Trypsin gebildet würden. Dies ist aber nach den Untersuchungen von Scheermesser¹⁾ und Krüger (S. 320) nicht der Fall.

Schon früher²⁾ habe ich auf die Tatsache hingewiesen, daß die Antipeptone bei der Spaltung reichliche Mengen Glutaminsäure liefern, in Rücksicht auf die Bedeutung der Glutaminsäure bzw. Asparaginsäure für den Aufbau des Eiweißes in der Pflanze. Alle 6 angeführten Peptone liefern

1) W. Scheermesser, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 363.

2) M. Siegfried, Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 190.

bei der Spaltung Glutaminsäure. In dieser Beziehung ist es besonders bemerkenswert, daß auch ein von mir¹⁾ kürzlich isoliertes basisches Pepton, das Glutokyrin, welches durch Spaltung mit Salzsäure entsteht und der weiteren Zersetzung hartnäckig widersteht, Glutaminsäure als Spaltungsprodukt liefert.

Das Vorhandensein der Glutaminsäure- bzw. Asparaginsäure-Gruppe scheint für die Eisenreaktion maßgebend zu sein. Die Glutaminsäure und Asparaginsäure liefern in wässriger Lösung schwer lösliche Ferrisalze, die sich aber in gesättigter Ammonsulfatlösung leicht auflösen. Die Peptone fallen in gesättigter Ammonsulfatlösung durch Ferrisalze. Mit Hilfe derselben Reaktion hat nun O. Thiele im hiesigen Laboratorium²⁾ aus dem Harn die Uroferrinsäure isoliert und diese liefert, obgleich sonst scheinbar dem Eiweiß nicht sehr nahe stehend, als Spaltungsprodukt Asparaginsäure.

1) M. Siegfried, Ber. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss., Bd. 55, 1903, S. 63.

2) O. Thiele, Diese Zeitschr., Bd. XXXVII, S. 251.