

Das Verhalten einiger Peptide gegen Organextrakte.

Von

Emil Abderhalden und Yutaka Teruuchi.

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 15. März 1906.)

Durch die Untersuchungen von Emil Fischer und Emil Abderhalden¹⁾ ist gezeigt worden, daß die künstlichen Peptide sich gegen Pankreassaft recht verschieden verhalten, und daß deren Spaltung von mancherlei Bedingungen abhängig ist. Es ließ sich die große Gruppe der bis jetzt dargestellten synthetischen Produkte in solche trennen, welche vom Pankreasferment gespalten werden, und in solche, welche dessen Einwirkung widerstehen. Andererseits haben wir²⁾ gezeigt, daß der tierische Organismus und zwar speziell der des Hundes auch Peptide abbaut, welche dem Trypsin unzugänglich sind. Offenbar müssen die Gewebe, vielleicht schon die Darmwand, Fermente enthalten, welche eine ausgedehntere Wirkung entfalten als die des Pankreassaftes. Uns interessierte vor allem die Frage, ob es gelingt, aus den Organen Fermente zu gewinnen, welche auch Peptide spalten, die der Pankreassaft unverändert läßt, und vor allem, ob sich nach dieser Richtung Unterschiede zwischen den verschiedenartigen Organen nachweisen lassen. Bis jetzt haben wir nur die Wirkung des Leberextraktes untersucht und gefunden, daß dieses Glycyl-glycin und Leucyl-glycin in ihre Komponenten zerlegt. Wir beabsichtigen, diese Untersuchungen auf die Ex-

¹⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, Über das Verhalten verschiedener Polypeptide gegen Pankreassaft und Magensaft, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 52, 1905.

²⁾ Emil Abderhalden und Yutaka Teruuchi, Über den Abbau einiger Aminosäuren und Peptide im Organismus des Hundes, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 159, 1906.

trakte resp. Preßsäfte anderer Organe auszudehnen, und hoffen auf diesem Wege einen Einblick in den intermediären Eiweißstoffwechsel zu gewinnen. Von besonderem Interesse wird es sein, diese Fragen auch auf verschiedene Tierarten auszudehnen, und vor allem auch unter pathologischen Bedingungen die Fermentwirkungen nach dieser Richtung hin zu prüfen. Es besteht hier gar kein Zweifel, daß die von Emil Fischer dargestellten Peptide die Grundlage für unsere ganze weitere biologische Erforschung des Zellstoffwechsels und speziell des Eiweißstoffwechsels geben werden, und daß es mit deren Hilfe gelingen wird, die Rolle der einzelnen Organe bei all diesen Prozessen klar zu legen. Schließlich möchten wir noch darauf hinweisen, daß es für uns von größter Wichtigkeit sein wird, die beim Abbau der Peptide entstehenden Produkte genau zu verfolgen, um so einen Einblick in die Bildung des Harnstoffs zu erhalten, und was uns noch viel wichtiger erscheint, in das Verhalten der nach der Abspaltung der Aminogruppe verbleibenden Kohlenstoffketten, denen ohne Zweifel bei den eventuellen Transformationen in Zucker resp. Fett die größte Bedeutung zukommt. Mit Versuchen nach dieser Richtung ist der eine von uns in Gemeinschaft mit A. Schittenhelm beschäftigt.

Der Versuchsplan war folgender: Die zu untersuchenden, reinen Peptide wurden dem Organextrakt, das keine Spur von Fäulnis zeigte und durch reichlichen Zusatz von Toluol vor solcher geschützt wurde, zugegeben, und dann nach einiger Zeit das Gemisch der Dialyse unterworfen. Sie wurde so lange fortgesetzt, bis eine Probe des Dialysates einen nur sehr geringen Trockenrückstand hinterließ. Nun dampften wir das gesamte Dialysat unter vermindertem Druck bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur zur Trockene ein und veresterten den Rückstand. Bei der Einleitung der trockenen gasförmigen Salzsäure wurde darauf geachtet, daß die Temperatur nicht über $40-50^{\circ}$ stieg. Bei beiden Versuchen schied sich sehr bald Glykokollesterchlorhydrat ab. In dessen Mutterlauge suchten wir nach unverändertem Peptid, d. h. in dem einen Fall nach Glycyl-glycin und im zweiten nach Leucyl-glycin, das nach den Erfahrungen bei der Spaltung mit Pankreasferment unter Umständen

durch asymmetrische Spaltung in aktives Peptid (d-Leucyl-glycin) übergegangen sein konnte. Diese Vermutung war um so mehr gerechtfertigt, als wir nur l-Leucin auffinden konnten. Zum Nachweis dieser Peptide benutzten wir die leichte Überführbarkeit der Ester in Anhydride.¹⁾ Es ist uns nicht gelungen, durch die Auflösung der Esterchlorhydrate in Alkohol, und nach der Befreiung der Ester mit der genau berechneten Menge Natriumalkoholat, nach dem Abdestillieren des Alkohols und der Ester der einfachen Aminosäuren im Destillationsrückstand Anhydride zur Abscheidung zu bringen. Wir halten unsere Versuche nach dieser Richtung noch nicht für abgeschlossen und werden sie unter Anwendung größerer Peptidmengen wieder aufnehmen. Wir bemerken noch, daß bei Versuchen mit Leucyl-leucin ebenfalls eine Spaltung des Peptids nachgewiesen werden konnte, und zwar schon nach einem Tage. Selbstverständlich haben wir stets Kontrollversuche ausgeführt und zwar in der Art, daß dieselbe Menge des angewandten Organextraktes ohne Peptid in genau derselben Weise behandelt wurde. In keinem Falle konnte Glykokoll oder Leucin aufgefunden werden. Schließlich haben wir noch Organextrakt aufgeköcht, dann Leucyl-glycin zugesetzt und nun das Gemisch, wie beschrieben, bearbeitet. Das Peptid konnte über seinen Ester als Anhydrid wieder gewonnen werden, auch blieb die Lösung optisch inaktiv, d. h. sie behielt eine minimale Drehung nach links während des ganzen Versuches bei.

Experimenteller Teil.

1. Leucyl-glycin.

100 g Rinderleber wurden fein zerhackt und mit 250 ccm destilliertem Wasser unter Zusatz von Toluol zwei Stunden verrührt und dann koliert. Die erhaltene Flüssigkeit (530 ccm) wurde gut gemischt und nun in zwei gleiche Teile geteilt. Der eine diente zur Kontrolle, zum anderen wurde das Peptid zugegeben und zwar 5 g. Beide Lösungen wurden mit Toluol überschichtet und 3 Tage im Brutraume aufbewahrt. Nun dialy-

¹⁾ Emil Fischer und Emil Abderhalden, Bildung eines Di-peptids bei der Hydrolyse des Seidenfibroins, Berichte der Deutschen chem. Gesellsch., Jg. XXXIX, S. 752, 1906.

sierten wir gegen destilliertes Wasser so lange, als in einer Probe des Dialysates sich noch ein wägbarer Rückstand nachweisen ließ. Die gesamten Flüssigkeitsmassen wurden vereinigt und unter vermindertem Druck bei einer Temperatur des Wasserbades von 35—40° eingeengt. Es schieden sich, nachdem das Flüssigkeitsvolumen auf etwa 100 ccm vermindert war, Krystalle aus, die sich als Leucin erwiesen. Im ganzen gewannen wir in drei Fraktionen 1,3 g Leucin, das aus heißem Wasser unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert wurde. Es zersetzte sich gegen 297° (korr.) und gab folgende Zahlen.

0,1759 g Substanz gaben 0,3540 g CO₂ und 0,1581 g H₂O

Berechnet für C₆H₁₃NO₂:

Gefunden:

54,96% C und 9,92% H.

54,88% C und 9,98% H.

Das isolierte Leucin erwies sich als ziemlich einheitliches l-Leucin. Eine Lösung von 0,3762 g Leucin in 20% Salzsäure, die das Gesamtgewicht 4,6976 g hatte, drehte Natriumlicht bei 20° in 1 dm-Rohr 1,24° nach rechts. Das spezifische Gewicht war 1,104. Somit

$$[\alpha]_D^{20} = + 14,04^\circ.$$

Die Mutterlauge vom Leucin wurde zur Trockene verdampft, der Rückstand mit 25 ccm absolutem Alkohol aufgenommen, und nun trockene gasförmige Salzsäure unter Vermeidung von stärkerer Erwärmung bis zur Sättigung eingeleitet. Nach dem Impfen mit einem Kryställchen von Glykokollesterchlorhydrat erfolgte beim Stehen auf Eis sehr bald reichliche Krystallisation. Die Mutterlauge dieser Abscheidung wurde eingeengt und erstarrte dann nach kurzer Zeit. Im ganzen wurde 1,0 g Glykokollesterchlorhydrat in völlig reinem Zustande gewonnen. Es schmolz bei 146° (korr.).

0,1924 g Substanz gaben 0,2439 g CO₂ und 0,1262 g H₂O

Berechnet für C₄H₁₀NO₂Cl:

Gefunden:

34,43% C und 7,18% H.

34,58% C und 7,28% H.

Die Mutterlauge vom Glykokollesterchlorhydrat wurde in der schon erwähnten Weise auf Peptidester verarbeitet. Es gelang nicht, Leucyl-glycinanhydrid in wägbaren Mengen zu isolieren. Es ist noch unentschieden, was aus dem d-Leucyl-glycin, das offenbar intermediär nach Abspaltung des l-Leucins ent-

