

Über das Verhalten einiger Polypeptide gegen Pankreassaft.

Von

Emil Fischer und Emil Abderhalden.

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

(Der Redaktion zugegangen am 13. März 1907.)

Seit unserer ersten ausführlichen Mitteilung¹⁾ über den gleichen Gegenstand haben wir Gelegenheit gehabt, noch neun optisch aktive, mithin einheitliche Dipeptide, die seitdem entdeckt worden sind, auf ihr Verhalten gegen Pankreassaft zu prüfen. Die allgemeinen Ergebnisse sind völlig bestätigt worden. Bezüglich der Untersuchungsmethoden verweisen wir auf das früher Gesagte, nur in betreff des Fermentes wollen wir bemerken, daß ausschließlich frischer Pankreassaft von einem Pankreasfistelhund benutzt wurde, von dessen Wirksamkeit wir uns stets durch einen Kontrollversuch überzeugten. Das Resultat unserer Beobachtung fassen wir wiederum in einer Tabelle zusammen.

Hydrolysierbar:	Nicht hydrolysierbar:
d-Alanyl-d-Alanin	d-Alanyl-l-Alanin
d-Alanyl-l-Leucin	l-Alanyl-d-Alanin
l-Leucyl-l-Leucin	l-Leucyl-glycin
	l-Leucyl-d-Leucin
l-Leucyl-d-Glutaminsäure	d-Leucyl-l-Leucin

Wie man aus dieser Zusammenstellung ersieht, bestehen die hydrolysierbaren Dipeptide ausschließlich aus den in der Natur vorkommenden Aminosäuren. Sobald diese Bedingung nicht mehr erfüllt wird, rückt das Dipeptid in die rechte Spalte der nicht hydrolysierbaren Formen. Man kann daraus einen einfachen Rückschluß auf die Natur mancher racemischer Dipeptide ziehen. Werden sie partiell hydrolysiert, so müssen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 52, 1905.

sie zur Hälfte aus einem Dipeptid mit natürlichen Aminosäuren bestehen. Wir haben das bestätigt gefunden bei dem Leucyl-leucin, das früher nur in einer racemischen Form bekannt war. Dieses Präparat wurde, wie wir früher angegeben haben, von Pankreassaft nicht angegriffen. Nachdem wir neuerdings gefunden haben, daß l-Leucyl-l-Leucin durch diesen hydrolysiert wird, mußten wir jenen Racemkörper als die Kombination von l-Leucyl-d-Leucin und d-Leucyl-l-Leucin betrachten, und dieser Schluß ist in der Tat durch chemische Beobachtungen, die an anderer Stelle publiziert werden, bestätigt worden.

Ein zweites Beispiel bieten die beiden Racemformen des Alanyl-Leucins, von denen nur die Verbindung A partiell hydrolysiert wird.¹⁾ Unsere frühere Vermutung, daß sie die leicht spaltbare Form d-Alanyl-l-Leucin enthält, wird durch die neuen Beobachtungen gleichfalls gestützt.

Die Konfiguration des Moleküls ist aber nicht der einzige Faktor, der für die Wirkung des Pankreassaftes in Betracht kommt, vielmehr üben auch die Struktur der Aminosäuren und endlich die Reihenfolge, in der sie verkettet sind, einen merkbaren Einfluß aus, wie schon in der ersten Abhandlung betont wurde. Desgleichen wird die frühere Erfahrung, daß das racemische Leucyl-glycin nicht angreifbar ist, durch das Verhalten des aktiven l-Leucyl-glycins bestätigt.

1. Hydrolysierbare Polypeptide.

d-Alanyl-d-Alanin.²⁾

1 g in 10 ccm Wasser gelöst, mit Toluol und 3 ccm Pankreassaft bei 37° aufbewahrt. Der Verlauf der Hydrolyse läßt sich bequem an der Änderung der Drehung beobachten, da das d-Alanin in wässriger Lösung fast gar nicht dreht und der Pankreassaft auch nur eine schwache optische Wirkung hat. Für die Bestimmung des Drehungsvermögens solcher Lösungen haben wir stets eine Probe mit der Pipette herausgenommen, dann

¹⁾ l. c., S. 54.

²⁾ Emil Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXIX, S. 465, 1906.

zur Zerstörung des Fermentes und Entfernung einer kleinen Menge Protein aufgekocht, filtriert und bei gewöhnlicher Temperatur im 1 dm-Rohr geprüft. Beim Beginn des Versuches drehte die Lösung im 1 dm-Rohr $1,62^{\circ}$ nach links.

Drehung am	2. Tage	—	$1,59^{\circ}$
„	3. „	—	$1,32^{\circ}$
„	5. „	—	$1,02^{\circ}$
„	8. „	—	$0,72^{\circ}$
„	12. „	—	$0,45^{\circ}$
„	15. „	—	$0,43^{\circ}$
„	17. „	—	$0,41^{\circ}$

Die Lösung wurde nun zur Trockene verdampft, der Rückstand verestert und die in Freiheit gesetzten Ester destilliert. Das Destillat hinterließ beim Eindampfen einen Rückstand von 0,5412 g salzsaurem Alanin.

0,2444 g salzsaures Alanin drehten, in 5 ccm Wasser gelöst, im 1 dm-Rohr Natriumlicht $0,42^{\circ}$ nach rechts.

$$[\alpha]_{20}^D = +9,0^{\circ}.$$

Nach der Änderung des Drehungswinkels war am 8. Tage etwas mehr als die Hälfte und später ungefähr $\frac{3}{4}$ des Dipeptides gespalten.

d-Alanyl-l-Leucin.¹⁾

1 g Substanz, 10 ccm Wasser, 3 ccm Pankreassaft, Toluol. Die Lösung drehte $1,45^{\circ}$ nach links im 1 dm-Rohr. Nach 24 stündigem Stehen im Brutraum war die Drehung auf $-1,0^{\circ}$, nach 2 Tagen auf $-0,85^{\circ}$ und nach 3 Tagen auf $-0,70^{\circ}$ gesunken. Schon am zweiten Tage konnte man am Boden des Gefäßes die Ausscheidung von Leucinkristallen beobachten. Ihre Menge betrug am 4. Tage 0,2115 g. Beim Einengen der Lösung wurden noch 0,1527 g gewonnen. Gesamtausbeute also 0,364 g oder ungefähr 55% der Theorie.

0,1807 g Substanz gaben 0,3610 g CO_2 und 0,1590 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:	Gefunden :
54,96% C und 9,92% H.	54,48% C und 9,78% H.

¹⁾ E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XL., 1907.

l-Leucyl-l-Leucin.¹⁾

1 g gelöst in 60 ccm Wasser, dazu 3 ccm Pankreassaft und Toluol. Drehung der ursprünglichen Lösung im 1 dm-Rohr $0,13^\circ$ nach rechts. Nach 5-tägigem Stehen bei 37° war die Drehung auf 0° gesunken und nach 9 Tagen in $0,08^\circ$ nach links verwandelt.

Durch Veresterung des Verdampfungsrückstandes der gesamten Lösung und Destillation der freien Ester wurden 0,3110 g Leucin erhalten.

0,2110 g Substanz gaben 0,4230 g CO_2 und 0,1881 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:	Gefunden:
54,96% C und 9,92% H.	54,68% C und 9,90% H.

l-Leucyl-d-Glutaminsäure.²⁾

1,5 g Substanz, 80 ccm Wasser, 5 ccm Pankreassaft und Toluol. Die ursprüngliche Lösung drehte im 1 dm-Rohr $1,4^\circ$ nach rechts. Nach dreitägigem Stehen bei 37° war sie auf $+0,50^\circ$, nach 10 Tagen auf $+0,31^\circ$ und nach 14 Tagen auf $+0,21^\circ$ herabgegangen. Das letztere entspricht einer fast vollständigen Hydrolyse, denn die beiden Komponenten des Dipeptids drehen in wässriger Lösung entgegengesetzt und ungefähr gleich stark.

Zur Trennung der Aminosäuren diente wiederum die Estermethode. Aus den Hydrochloraten wurden die Ester mit Natriumäthylat in Freiheit gesetzt. Die alkoholische Lösung wurde unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand bei 0,35 mm Druck in einem Bade von 100° destilliert. Das Destillat enthielt den Leucinester, aus dem in bekannter Weise die freie Aminosäure bereitet wurde. Ihre Menge betrug allerdings nur 0,2111 g. Der Grund der verhältnismäßig kleinen Ausbeute ist uns nicht bekannt.

0,1620 g Substanz gaben 0,3244 g CO_2 und 0,1442 g H_2O .

Berechnet für $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$:	Gefunden:
54,96% C und 9,92% H.	54,56% C und 9,89% H.

¹⁾ E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXIX, S. 2918, 1906.

²⁾ Noch nicht veröffentlicht.

2. Nicht hydrolysierbare Polypeptide.**d-Alanyl-l-Alanin.¹⁾**

1 g Substanz, 10 cem Wasser, 3 cem Pankreassaft und Toluol. Die Drehung der Lösung im 1 dm-Rohr betrug zu Beginn des Versuches $+ 6.2^{\circ}$ und nach 14 tägigem Stehen im Brutschrank $+ 5.7^{\circ}$. Alanin ließ sich nicht nachweisen.

l-Alanyl-d-Alanin.²⁾

1 g Substanz, 7 cem Wasser, 3 cem Pankreassaft und Toluol. Die Lösung drehte im 1 dm-Rohr 6.75° nach links und diese Drehung war nach 20 Tagen unverändert. Es ließ sich auch kein Alanin isolieren. Die Wiederholung des Versuches gab das gleiche Resultat.

l-Leucyl-glycin.³⁾

1 g Substanz, 15 cem Wasser, 3 cem Pankreassaft und Toluol. Die Lösung drehte im 1 dm-Rohr 5.12° nach rechts und nach 15 Tagen war die Drehung unverändert. Auch ließ sich weder Glykokoll noch Leucin mit der Estermethode nachweisen.

l-Leucyl-d-Leucin.⁴⁾

1 g Substanz, 80 cem Wasser, 3 cem Pankreassaft und Toluol. Die Lösung drehte im 1 dm-Rohr 0.84° nach rechts. Die Drehung zeigte nach 14 tägigem Stehen bei 37° keine Abnahme. Auch war durch die Estermethode kein Leucin nachweisbar.

d-Leucyl-l-Leucin.⁵⁾

1 g Substanz, 80 cem Wasser, 3 cem Pankreassaft und Toluol. Drehung beim Beginn des Versuches 0.96° nach links im 1 dm-Rohr und nach 14 Tagen $- 0.90^{\circ}$. Leucin ließ sich nicht nachweisen.

¹⁾ E. Fischer und Karl Raske, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXXIX, S. 3993, 1906.

²⁾ E. Fischer und Karl Raske, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Jg. XXXIX, S. 3989, 1906.

³⁾ E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Jg. XXXIX, S. 2911, 1906.

⁴⁾ Noch nicht publiziert.

⁵⁾ Noch nicht publiziert.