

Weiterer Beitrag zur Kenntnis des Verlaufs der fermentativen Polypeptidspaltung.

Von

Emil Abderhalden und Alfred Gigon.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. August 1907.)

Der eine von uns hat kürzlich in Gemeinschaft mit A. H. Koelker¹⁾ auf die große Bedeutung der aus den in der Natur vorkommenden aktiven Aminosäuren aufgebauten Polypeptide für die Verfolgung des Verlaufs ihres fermentativen Abbaus hingewiesen. Durch einfache Beobachtung des optischen Verhaltens der Lösung eines bestimmten optisch-aktiven Polypeptids bei Fermentzusatz läßt sich der Abbau von Stufe zu Stufe verfolgen. Wir benützten diese Methode zunächst, um einige peptolytische Fermente verschiedener Herkunft auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. Wir haben ferner speziell mit d-Alanyl-d-Alanin eine größere Reihe von Versuchen mit Hefepreßsaft ausgeführt, um bei verschiedener Fermentkonzentration und gleichbleibender Dipeptidmenge den zeitlichen Verlauf der Fermenthydrolyse festzustellen. Die erhaltenen Resultate dienten als Grundlage zu einer exakteren Vergleichung der einzelnen Werte.²⁾

Im folgenden haben wir die Versuche fortgesetzt und zwar nach zwei Richtungen. Einmal interessierte uns der zeitliche Fermentabbau bei gleichbleibender Fermentmenge und wechselnder Konzentration des Dipeptids; und ferner studierten wir eingehend den Einfluß der sich bildenden Spaltprodukte und von Aminosäuren überhaupt auf den Verlauf der Fermenthydrolyse von optisch aktiven Polypeptiden. Wir verwendeten in erster Linie die in der Natur vorkommenden optisch-aktiven Aminosäuren. Wir können als eindeutiges Resultat anführen, daß diese ohne Ausnahme den Verlauf des fermentativen

¹⁾ Emil Abderhalden und A. H. Koelker, Die Verwendung optisch-aktiver Polypeptide zur Prüfung der Wirksamkeit proteolytischer Fermente, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 294, 1907.

²⁾ Emil Abderhalden und Leonor Michaelis, Der Verlauf der fermentativen Polypeptidspaltung, Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 326, 1907.

Abbaus des angewandten Glycyl-l-tyrosins durch Hefepreßsaft hemmten und zwar in ganz ausgesprochener Weise. Von größtem Interesse ist der Befund, daß die Antipoden der in der Natur vorkommenden Aminosäuren entweder gar keinen Einfluß auf den zeitlichen Verlauf der Fermenthydrolyse zeigten oder aber einen viel geringeren als die entsprechenden in den Proteinen enthaltenen optisch-aktiven Aminosäuren. Die Racemkörper der Aminosäuren zeigten ein verschiedenes Verhalten. Jedenfalls hemmten sie im allgemeinen weniger stark als die in der Natur vorkommende Komponente allein, jedoch weit mehr als die andere Hälfte des Racemkörpers für sich. Interessant ist das Verhalten des Glykokolls, das anscheinend gar keinen Einfluß auf den zeitlichen Verlauf der Fermenthydrolyse gehabt hat.

Wir geben im folgenden einen Überblick über die einzelnen Versuche und werden am Schlusse die erhaltenen Resultate diskutieren. Erwähnt sei noch, daß wir einige Versuche bei gleichbleibender Dipeptidmenge und wechselnder Fermentmenge ausgeführt haben. Sie seien hier an erster Stelle zusammengestellt.

I. Dipeptidkonzentration konstant, Fermentmenge wechselnd.

1. Versuch mit **d-Alanyl-d-Alanin**.

a) 0,45 g Dipeptid + 6 ccm Hefepreßsaft.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	— 1,38°
10	— 0,60°
20	— 0,19°
40	+ 0,08°
60	+ 0,10°

b) 0,45 g Dipeptid + 4 ccm Hefepreßsaft + 2 ccm physiologische Kochsalzlösung.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	— 1,38°
10	— 0,84°
25	— 0,22°
35	+ 0,01°
60	+ 0,10°

c) 0,45 g Dipeptid + 3 ccm Hefepreßsaft + 3 ccm physiologische Kochsalzlösung.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	— 1,38°
15	— 0,78°
30	— 0,27°
45	+ 0,01°
60	+ 0,10°

d) 0,45 g Dipeptid + 2 ccm Hefepreßsaft + 4 ccm physiologische Kochsalzlösung.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	— 1,38°
15	— 1,01°
30	— 0,62°
45	— 0,30°
60	+ 0,01°
80	+ 0,10°

2. Versuche mit Glycyl-l-tyrosin.

0,05 g Glycyl-l-tyrosin
+ 4 ccm Hefepreßsaft
+ 2 ccm Wasser

0,05 g Glycyl-l-tyrosin
+ 3 ccm Hefepreßsaft
+ 3 ccm Wasser

0,05 g Glycyl-l-tyrosin
+ 2 ccm Hefepreßsaft
+ 4 ccm Wasser

Zeit Minuten	Abgelesener Winkel	Zeit Minuten	Abgelesener Winkel	Zeit Minuten	Abgelesener Winkel
0	+ 0,36°	0	+ 0,37°	0	+ 0,39°
8	+ 0,31°	13	+ 0,31°	13	+ 0,33°
41	+ 0,28°	44	+ 0,27°	36	+ 0,31°
74	+ 0,27°	74	+ 0,27°	66	+ 0,29°
105	+ 0,27°	117	+ 0,25°	115	+ 0,26°
141	+ 0,25°	150	+ 0,23°	143	+ 0,27°
175	+ 0,26°	183	+ 0,22°	176	+ 0,25°
225	+ 0,21°	223	+ 0,22°	206	+ 0,23°
280	+ 0,20°	273	+ 0,22°	240	+ 0,23°
321	+ 0,19°	303	+ 0,22°	273	+ 0,21°
352	+ 0,18°	333	+ 0,20°	303	+ 0,21°
		393	+ 0,19°	388	+ 0,21°
		451	+ 0,16°	424	+ 0,21°
		503	+ 0,15°	457	+ 0,19°
		568	+ 0,12°	487	+ 0,17°
		598	+ 0,10°	523	+ 0,18°
				554	+ 0,17°
				588	+ 0,17°
				618	+ 0,16°
				666	+ 0,15°

Das Ergebnis dieser Versuche deckt sich im wesentlichen mit den Resultaten der früher mitgeteilten analogen Untersuchung. Zur besseren Übersicht geben wir im folgenden eine Zusammenfassung der Versuche mit Glycyl-l-tyrosin.

Angewandte Menge Glycyl-l-tyrosin in g	Menge des Hefe- preßsaftes in ccm	Rückgang der Drehung		Dauer in Minuten
		von	bis	
0,05	2	+ 0,39°	+ 0,15°	666
0,05	3	+ 0,37°	+ 0,15°	503
0,05	4	+ 0,36°	+ 0,18°	352

Auffallend ist die Beobachtung, daß wiederholt die Hydrolyse stockte, wenigstens war oft längere Zeit ein Rückgang des Drehungsvermögens nicht festzustellen. Der ganze Verlauf der Hydrolyse war ein schubweiser. Wir führen diesen Umstand auf die Bildung übersättigter Lösungen von abgespaltenem Tyrosin zurück. Sobald dieses aus der Lösung ausfiel, ging die Hydrolyse wieder weiter. Wiederholt konnten wir die Abscheidung des Tyrosins direkt beobachten. Manche unserer Versuche sind durch das Auskrystallisieren von Tyrosin direkt vereitelt worden, indem entweder das Tyrosin diffus ausfiel, und dann die Lösung sich trübte, oder aber die Krystallisation erfolgte auf den Deckgläsern des Polarisationsrohres, wodurch natürlich weiteres Ablesen verunmöglicht wurde. Wir werden auf die Erscheinung des ruckweisen Verlaufes der Hydrolyse bei Anwendung von Glycyl-l-tyrosin noch unten zurückkommen.

II. Konstante Fermentmenge und wechselnde Konzentration des Dipeptids.

Hier sind alle Versuche mit Hilfe von Glycyl-l-tyrosin ausgeführt worden. Mit Ausnahme des Versuches 1 ist bei allen übrigen krystallisiertes, ganz reines Dipeptid verwendet worden.¹⁾ Es zeigte $[\alpha]_{20}^D = + 46,27^\circ$ in wässriger Lösung. In allen Ver-

¹⁾ Vgl. die demnächst von Emil Abderhalden und Berthold Oppler an dieser Stelle erscheinende Mitteilung.

suchen mit Ausnahme des ersten, den wir mit Pankreassaft durchführten, benützten wir Hefepreßsaft. Bevor dieser verwendet wurde, ließen wir ihn stets 1—2 Tage im Brutraum stehen, hierauf verdünnten wir ihn mit dem 1—2fachen Volumen Wasser und schüttelten ihn dann zur Entfärbung mit wenig Tierkohle. Der filtrierte Preßsaft war dann meist ganz klar und farblos. Wir bewahrten die Lösung dann im Eiskasten auf. Für jede zu vergleichende Versuchsserie verwandten wir den gleichen Preßsaft. Vom Glycyl-l-tyrosin stellten wir uns eine Lösung einer genau abgewogenen Menge in Wasser her und benützten dann ein bestimmtes Volumen der Stammlösung zu den einzelnen Versuchen. Bei der überwiegenden Anzahl der Versuche wurde ein 6 ccm haltendes Rohr benützt; ist den Versuchen ein * beigegeben, dann bedeutete dies, daß ein Rohr von 7 ccm Inhalt und **, daß ein solches mit 7¹/₂ ccm Inhalt zur Anwendung kam. Die Auffüllung des Rohres erfolgte stets mit der entsprechenden, genau abgemessenen Menge destillierten Wassers.

Versuch 1.¹⁾

a) 1,2 ccm Lösung (= 0,0962 g Glycyl-l-tyrosin) + 3,8 ccm Wasser + 1 ccm aktivierter Pankreassaft.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,60°
17	+ 0,48°
38	+ 0,48°
58	+ 0,47°
79	+ 0,46°
99	+ 0,46°
120	+ 0,44°
140	+ 0,44°
159	+ 0,42°
194	+ 0,39°
229	+ 0,33°
264	+ 0,31°
299	+ 0,30°
331	+ 0,30°
361	+ 0,29°

¹⁾ Die Ausführung dieses Versuches verdanken wir Herrn Casimir Funk.

Hier wurde der Versuch unterbrochen und die Flüssigkeit im Polarisationsrohr über Nacht im Eisschrank aufbewahrt.

Am Morgen war die Drehung	+ 0,25°
Nach 37 Minuten	+ 0,25°
» 77 »	+ 0,23°
» 109 »	+ 0,18°
» 140 »	+ 0,18°
» 174 »	+ 0,15°
» 207 »	+ 0,13°
» 241 »	+ 0,09°
» 276 »	+ 0,06°
» 310 »	+ 0,05°
» 347 »	+ 0,04°
» 385 »	+ 0,03°

b) 2,5 ccm Stammlösung (= 0,2005 g Glycyl-1-tyrosin) + 2,5 ccm Wasser + 1 ccm Pankreassaft.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 1,37°
25	+ 1,30°
60	+ 1,06°
113	+ 1,01°
158	+ 0,98°
190	+ 0,91°
210	+ 0,88°
255	+ 0,87°
290	+ 0,87°
322	+ 0,86°
337	+ 0,82°
369	+ 0,81°
403	+ 0,79°
433	+ 0,75°
467	+ 0,74°
505	+ 0,72°
536	+ 0,70°
558	+ 0,70°
Über Nacht im Eisschrank aufbewahrt	
0	+ 0,70°
32	+ 0,70°
157	+ 0,70°

c) 3,7 ccm Stammlösung = 0,2967 g
Glycyl-l-tyrosin + 1,3 ccm
 Wasser + 1 ccm Pankreassaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 1,60°
17	+ 1,49°
38	+ 1,43°
58	+ 1,35°
79	+ 1,35°
102	+ 1,33°
150	+ 1,30°
197	+ 1,20°
247	+ 1,18°
300	+ 1,12°
351	+ 1,10°
381	+ 1,08°
455	+ 1,05°
521	+ 1,03°

d) 5 ccm Stammlösung = 0,4009 g
Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm
 Pankreassaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 2,90°
39	+ 2,65°
91	+ 2,54°
141	+ 2,26°
199	+ 2,26°
263	+ 2,26°
318	+ 2,26°
379	+ 2,16°
436	+ 2,09°
496	+ 2,02°
556	+ 1,97°
Über Nacht im Eisschrank	
0	+ 1,97°
88	+ 1,81°
142	+ 1,80°
202	+ 1,67°
331	+ 1,66°
Ohne Veränderung	

Versuch 2.

a) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin**^{*}
 + 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,69°
10	+ 0,65°
47	+ 0,42°
81	+ 0,25°
115	+ 0,17°
145	+ 0,07°
178	+ 0,00°

b) 0,2 g **Glycyl-l-tyrosin**
 + 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesener Winkel
0	+ 1,29°
11	+ 1,20°
48	+ 0,90°
83	+ 0,89°
128	trübe

Versuch 3.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
9	+ 0,61°
36	+ 0,57°
72	+ 0,50°
101	+ 0,44°
136	+ 0,34°
167	+ 0,31°
195	+ 0,29°
230	+ 0,26°
256	+ 0,22°
286	+ 0,18°
327	+ 0,19°
400	+ 0,18°
457	+ 0,13°
490	+ 0,11°
527	+ 0,08°
565	+ 0,04°
600	+ 0,03°
630	+ 0,03°

b) 0,3 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesener Winkel
0	+ 1,77°
12	+ 1,73°
44	+ 1,63°
76	+ 1,55°
104	trübe

Über Nacht im Brutraum aufbewahrt. Am Morgen war die Drehung + 0,03°.

Versuch 4.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,65°
6	+ 0,61°
45	+ 0,60°
75	+ 0,52°
106	+ 0,51°
145	+ 0,49°
182	+ 0,43°
228	+ 0,40°
325	+ 0,40°

b) 0,15 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 1,07°
9	+ 1,01°
39	+ 0,97°
72	+ 0,93°
102	+ 0,89°
135	+ 0,85°
172	+ 0,85°
202	+ 0,80°
232	+ 0,76°

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
363	+ 0,41°	262	+ 0,74°
393	+ 0,41°	289	+ 0,74°
426	+ 0,30°	405	+ 0,68°
456	+ 0,33°	457	+ 0,64°
490	+ 0,36°	509	+ 0,58°
525	+ 0,32°	542	+ 0,52°
565	+ 0,32°	578	+ 0,52°
		595	+ 0,52°

Nachts im Brutraum aufbewahrt. Am andern Morgen fanden wir wieder $\alpha = + 0,52^\circ$, nach 52 Minuten trat Trübung ein.

Versuch 5.

a) 0,075 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft

c) 0,15 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,47°	0	+ 0,67°	0	+ 0,96°
7	+ 0,45°	9	+ 0,64°	7	+ 0,92°
40	+ 0,45°	47	+ 0,59°	53	+ 0,91°
67	+ 0,40°	77	+ 0,56°	83	+ 0,87°
136	+ 0,33°	110	+ 0,54°	114	+ 0,82°
186	+ 0,29°	146	+ 0,54°	148	+ 0,82°
221	+ 0,27°	180	+ 0,50°	184	+ 0,82°
256	+ 0,25°	220	+ 0,50°	218	+ 0,81°
286	+ 0,24°	280	+ 0,48°	252	+ 0,80°
321	+ 0,22°	310	+ 0,47°	388	+ 0,81°
361	+ 0,22°	395	+ 0,42°	498	+ 0,81°
396	+ 0,20°	426	+ 0,42°	542	+ 0,74°
7 ¹⁶ abends		470	+ 0,43°	6 ⁴³ abends	
442	+ 0,18°	520	+ 0,41°	581	+ 0,68°
7 ³¹ morgens		565	+ 0,38°	Nachts im Brutraum aufbewahrt.	
	+ 0,00°	615	+ 0,36°	7 ²⁸ morgens trübe.	
		6 ⁵⁷ abends			
		647	+ 0,33°		
		7 ⁵¹ morgens			
			+ 0,00°		

Versuch 6.

a) 0,05 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		c) 0,15 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft	
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,33°	0	+ 0,68°	0	+ 0,95°
10	+ 0,21°	6	+ 0,56°	6	+ 0,82°
35	- 0,06°	21	+ 0,23°	16	+ 0,67°
		30	+ 0,20°	25	+ 0,45°
		40	+ 0,00°	36	+ 0,25°
		51	trübe	46	trübe

Versuch 7.

a) 0,05 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		c) 0,15 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft	
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,33°	0	+ 0,63°	0	+ 0,97°
6	+ 0,29°	6	+ 0,55°	6	+ 0,84°
16	+ 0,15°	17	+ 0,37°	16	+ 0,69°
24	+ 0,09°	27	+ 0,25°	28	+ 0,45°
34	- 0,01°	37	+ 0,17°	39	+ 0,35°
41	- 0,06°	47	+ 0,00°	49	+ 0,25°
		55	trübe	59	+ 0,09°
				66	trübe

Die Resultate dieser Versuchsserie sind eindeutig. Sie zeigen ohne weiteres die hemmende Wirkung der sich bildenden Abbauprodukte auf den zeitlichen Ablauf der Hydrolyse. Auch hier erfolgte der Abbau oft in Schüben, d. h. während längerer Zeit war ein Fortschreiten der Hydrolyse nicht zu bemerken.

Um einen klaren Einblick über die Beziehungen von Eiweißabbauprodukten zum Verlauf der Fermenthydrolyse zu erhalten, haben wir die folgenden Versuche ausgeführt.

III. Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin durch Hefepreßsaft bei Zusatz von Monoaminosäuren.

1. Glykokoll.

Serie A.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
6	+ 0,60°
36	+ 0,45°
67	+ 0,39°
99	+ 0,32°
138	+ 0,24°
171	+ 0,16°
198	+ 0,09°
227	+ 0,04°

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g
Glykokoll

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,67°
6	+ 0,60°
35	+ 0,56°
66	+ 0,50°
108	+ 0,35°
140	+ 0,30°
176	+ 0,19°
199	+ 0,17°
216	+ 0,17°

Serie B.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,64°
7	+ 0,56°
21	+ 0,34°
31	+ 0,25°
41	+ 0,16°
51	+ 0,08°
61	+ 0,00°

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g
Glykokoll

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,62°
6	+ 0,56°
15	+ 0,43°
25	+ 0,31°
36	+ 0,20°
46	+ 0,12°
56	+ 0,07°
66	+ 0,00°

Serie C.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft*

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
6	+ 0,57°
26	+ 0,50°
59	+ 0,36°

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g
Glykokoll *

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,67°
4	+ 0,62°
22	+ 0,49°
39	+ 0,45°

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
71	+ 0,28°	52	+ 0,39°
119	+ 0,18°	76	+ 0,31°
132	+ 0,15°	86	+ 0,28°
155	+ 0,12°	113	+ 0,24°
174	trübe	133	+ 0,16°
		153	+ 0,14°
		173	+ 0,05°
		187	trübe

2. Alanin.

Serie A.

a) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin**
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
6	+ 0,60°
36	+ 0,45°
67	+ 0,39°
99	+ 0,32°
138	+ 0,24 ⁵
171	+ 0,16°
198	+ 0,09°
227	+ 0,04°

b) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin**
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g
d-Alanin

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
10	+ 0,61°
42	+ 0,50°
73	+ 0,43°
106	+ 0,37°
146	+ 0,37°
181	+ 0,36°
212	+ 0,35°
246	+ 0,35°
278	+ 0,34°
316	+ 0,23°
349	+ 0,16°

Serie B.

a) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin** + 1 cm Hefepreßsaft.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,68°
6	+ 0,56°
21	+ 0,23°
30	+ 0,20°
40	+ 0,00°
51	trübe

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g d-Alanin		c) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g l-Alanin		d) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g dl-Alanin	
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,61°	0	+ 0,64°	0	+ 0,62°
5	+ 0,55°	5	+ 0,55°	4	+ 0,52°
15	+ 0,45°	15	+ 0,33°	14	+ 0,36°
26	+ 0,26°	25	+ 0,15°	24	+ 0,21°
35	+ 0,23°	34	+ 0,01°	35	+ 0,11°
46	+ 0,11°	44	- 0,05°	47	- 0,05°
54	+ 0,05°				
65	- 0,07°				

Serie C.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft.

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
6	+ 0,55°
17	+ 0,37°
27	+ 0,25°
37	+ 0,17°
47	+ 0,00°
55	trübe

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g d-Alanin		c) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g l-Alanin		d) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,2 g dl-Alanin	
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,65°	0	+ 0,61°	0	+ 0,66°
7	+ 0,55°	10	+ 0,44°	5	+ 0,58°
17	+ 0,48°	20	+ 0,26°	16	+ 0,43°
27	+ 0,34°	30	+ 0,15°	26	+ 0,33°
38	+ 0,30°	37	+ 0,09°	35	+ 0,22°
48	+ 0,24°	44	0,00°	47	+ 0,05°
58	trübe	49	0,00°	56	0,00—0,03° etwas trübe

Serie D.

a) 0,1 g Glycyl-
l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft**

b) 0,1 g Glycyl-
l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + 0,1 g
d-Alanin + 0,1 g
l-Alanin**

c) 0,1 g Glycyl-
l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + 0,2 g
dl-Alanin**

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,60°	0	+ 0,57°	0	+ 0,57°
4	+ 0,51°	4	+ 0,52°	4	+ 0,54°
17	+ 0,46°	19	+ 0,47°	27	+ 0,50°
30	+ 0,39°	39	+ 0,41°	45	+ 0,41°
45	+ 0,34°	59	+ 0,39°	80	+ 0,33°
63	+ 0,25°	79	+ 0,30°	102	+ 0,25°
80	+ 0,19°	109	+ 0,24°	140	+ 0,16°
95	+ 0,15°	133	+ 0,15°	164	+ 0,13°
112	+ 0,08°	157	+ 0,11°	186	+ 0,12°
127	+ 0,06°	177	+ 0,11°	215	+ 0,00°
140	+ 0,01°	201	+ 0,03°		

3. Valin.

Serie A.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Abgelesene
Minuten Drehung

0	+ 0,63°
6	+ 0,55°
17	+ 0,37°
27	+ 0,25°
37	+ 0,17°
47	+ 0,00°
55	trübe

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + 0,1 g d-Valin

Zeit Abgelesene Drehungs-
Minuten Spaltung vermögen
des d-Valins
abgezogen

0	+ 0,77°	+ 0,67°
12	+ 0,64°	+ 0,57°
22	+ 0,57°	+ 0,50°
33	+ 0,52°	+ 0,45°
43	+ 0,49°	+ 0,42°
53	+ 0,43°	+ 0,36°
66	+ 0,36°	+ 0,29°
76	+ 0,31°	+ 0,24°
86	+ 0,24°	+ 0,17°
96	+ 0,20°	+ 0,13°
107	+ 0,15°	+ 0,08°
117	+ 0,08°	+ 0,01°
127	trübe	

Serie B.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g dl-Valin		c) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,2 g dl-Valin	
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,64°	0	+ 0,63°	0	+ 0,66°
7	+ 0,56°	5	+ 0,57°	7	+ 0,59°
21	+ 0,34°	15	+ 0,47°	16	+ 0,54°
31	+ 0,25°	29	+ 0,36°	26	+ 0,49°
41	+ 0,16°	39	+ 0,31°	39	+ 0,44°
51	+ 0,08°	53	+ 0,25°	55	+ 0,38°
61	+ 0,00°	65	+ 0,19°	69	+ 0,31°
		76	+ 0,12°	84	+ 0,31°
		91	+ 0,00°	102	+ 0,31°
				122	+ 0,20°
				132	+ 0,20°
				152	+ 0,18°
				179	+ 0,06°
				197	+ 0,05°

4. Leucin.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g l-Leucin		
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungsvermögen des l-Leucins hinzuaddiert
0	+ 0,66°	0	+ 0,50°	+ 0,60°
10	+ 0,51°	5	+ 0,50°	+ 0,60°
21	+ 0,38°	15	+ 0,47°	+ 0,57°
31	+ 0,29°	25	+ 0,40°	+ 0,50°
45	+ 0,12°	36	+ 0,38°	+ 0,48°
55	+ 0,06°	46	+ 0,38°	+ 0,48°
66	- 0,03°	66	+ 0,30°	+ 0,40°
		95	+ 0,21°	+ 0,31°
		108	+ 0,19°	+ 0,29°
		128	+ 0,14°	+ 0,24°
		148	+ 0,07°	+ 0,17°
		208	+ 0,07°	+ 0,17°
		228	+ 0,02°	+ 0,12°

c) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + 0,1 g d-Leucin

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungs- vermögen des d-Leucins abgezogen
0	+ 0,85°	+ 0,65°
8	+ 0,77°	+ 0,57°
18	+ 0,64°	+ 0,44°
27	+ 0,56°	+ 0,36°
37	+ 0,46°	+ 0,26°
48	+ 0,37°	+ 0,17°
58	+ 0,31°	+ 0,11°
70	+ 0,27°	+ 0,07°
80	+ 0,17°	— 0,03°
91	+ 0,17°	— 0,03°

d) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + ca. 0,2 g dl-Leucin

Es gelang nicht, die 0,2 g Leucin
vollständig in Lösung zu bringen

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	trübe
7	+ 0,63°
17	+ 0,58°
27	+ 0,51°
37	+ 0,49°
47	+ 0,40°
57	+ 0,39°
67	+ 0,39°
77	+ 0,37°
87	+ 0,30°
99	+ 0,28°
106	+ 0,15°

5. Serin.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
4	+ 0,61°
18	+ 0,40°
36	+ 0,25°
51	+ 0,09°
66	+ 0,05°
71	+ 0,00°

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + 0,1 g l-Serin

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungs- vermögen des l-Serins hinzuaddiert
0	+ 0,58°	+ 0,64°
7	+ 0,50°	+ 0,60°
17	+ 0,37°	+ 0,47°
27	+ 0,29°	+ 0,39°
37	+ 0,23°	+ 0,33°
48	+ 0,17°	+ 0,27°
60	+ 0,07°	+ 0,17°
70	+ 0,02°	+ 0,12°
80	— 0,02°	+ 0,08°
90	— 0,06°	+ 0,04°
100	— 0,09°	+ 0,01°

c) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,2 g dl-Serin

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63°
4	+ 0,57°
14	+ 0,50°
26	+ 0,39°
39	+ 0,29°
54	+ 0,25°
64	+ 0,15°
74	+ 0,15°
84	+ 0,02°
94	trübe

6. Isoserin.

Serie A.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,63
4	+ 0,61
18	+ 0,40
36	+ 0,25
51	+ 0,09
66	+ 0,05
71	+ 0,00

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g
d-Isoserin

Zeit Minuten	Abge- lesene Drehung	Drehungsver- mögen vom d-Isoserin abgezogen
0	+ 1,10°	+ 0,63°
17	+ 0,92°	+ 0,45°
29	+ 0,84°	+ 0,37°
42	+ 0,73°	+ 0,26°
50	+ 0,69°	+ 0,22°
64	+ 0,69°	+ 0,22°
90	+ 0,59°	+ 0,12°
111	+ 0,55°	+ 0,08°
131	+ 0,55°	+ 0,08°
150	+ 0,55°	+ 0,08°

Serie B.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,62°
10	+ 0,40°
25	+ 0,29°

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,2 g
dl-Isoserin

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,61°
7	+ 0,57°
17	+ 0,46°

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
41	+ 0,24°	32	+ 0,44°
63	+ 0,14°	50	+ 0,39°
93	+ 0,06°	69	+ 0,31°
110	+ 0,07°	89	+ 0,30°
138	+ 0,06°	105	+ 0,30°
164	+ 0,00°	120	+ 0,30°
		206	+ 0,18°
		246	+ 0,12°
		276	+ 0,13°
		301	+ 0,11°
		331	+ 0,11°
		361	+ 0,09°
		385	+ 0,05°
		437	+ 0,05°
		467	+ 0,05°

7. Phenylalanin.

Serie A.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,61°
8	+ 0,57°
19	+ 0,40°
32	+ 0,28°
42	+ 0,21°
57	+ 0,12°
74	+ 0,00°

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm
Hefepreßsaft + 0,1 g l-Phenylalanin

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungsver- mögen von l-Phenylalanin hinzuaddiert
0	+ 0,23°	+ 0,82°
8	+ 0,16°	+ 0,75°
18	+ 0,06°	+ 0,65°
28	+ 0,00°	+ 0,59°
38	- 0,07°	+ 0,52°
49	- 0,16°	+ 0,43°
59	- 0,18°	+ 0,41°
74	- 0,18°	+ 0,41°
86	- 0,18°	+ 0,41°
97	- 0,25°	+ 0,34°
117	- 0,32°	+ 0,27°
139	- 0,35°	+ 0,24°
169	- 0,58 bis 0,56°	+ 0,01 bis 0,03° etwas trübe

Serie B.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft		b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g d-Phenylalanin		c) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,1 g dl-Phenylalanin	
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Drehungsvermögen des d-Phenylalanins abgezogen	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,65°	0	+ 0,59°	0	+ 0,60°
5	+ 0,60°	7	+ 0,48°	9	+ 0,50°
15	+ 0,52°	22	+ 0,32°	22	+ 0,33°
27	+ 0,37°	33	+ 0,26°	32	+ 0,30°
42	+ 0,26°	43	+ 0,12°	42	+ 0,25°
57	+ 0,16°	55	+ 0,09°	52	+ 0,25°
76	+ 0,00°	65	+ 0,06°	62	+ 0,17°
		78	+ 0,03°	73	+ 0,17°
		88	+ 0,03°	87	+ 0,17°
		99	- 0,03°	104	+ 0,12°
		113	- 0,02°	125	+ 0,09°
				145	+ 0,02°
				155	+ 0,02 bis 0,00°

Versuch mit 0,2 g dl-Phenylal. konnte nicht ausgeführt werden, weil sofort Trübung der Lösung eintrat. Auch mit 0,1 g dl-Phenylal. gelang die Polarisation erst, nachdem die Lösung filtriert worden war.

8. Glutaminsäure.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft**		b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin + 1 ccm Hefepreßsaft + 0,05 g d-Glutaminsäure**		
Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungsvermögen der d-Glutaminsäure abgezogen
0	+ 0,70°	0	+ 0,70°	+ 0,55°
9	+ 0,51°	7	+ 0,55°	+ 0,47°
23	+ 0,20°	19	+ 0,54°	+ 0,46°
34	+ 0,00° (getrübt)	29	+ 0,54°	+ 0,46°
		49	+ 0,53°	+ 0,45°
		79	+ 0,53°	+ 0,45°
		105	+ 0,47°	+ 0,39°

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungsvermögen der d-Glutaminsäure abgezogen
128	+ 0,42°	+ 0,34°
153	+ 0,43°	+ 0,35°
186	+ 0,45°	+ 0,37°
321	+ 0,45°	+ 0,37°
4 Stunden später	+ 0,45°	+ 0,37°

9. Tryptophan.

a) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin**
+ 1 ccm Hefepreßsaft**

b) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin** + 1 ccm
Hefepreßsaft

+ 0,05 g **d-Tryptophan** **

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Drehungsver- mögen von d-Tryptophan hinzuaddiert
0	+ 0,59°	0	+ 0,46°	+ 0,59°
6	+ 0,54°	6	+ 0,41°	+ 0,51°
21	+ 0,35°	24	+ 0,30°	+ 0,40°
36	+ 0,28°	39	+ 0,20°	+ 0,30°
56	+ 0,17°	51	+ 0,15°	+ 0,25°
81	+ 0,06°	64	+ 0,10°	+ 0,20°
117	+ 0,02°	82	+ 0,06°	+ 0,16°
137	+ 0,00°	92	+ 0,01°	+ 0,11°
		106	+ 0,00°	+ 0,10°
		122	- 0,04°	+ 0,06°
		137	- 0,05°	+ 0,05°
		149	- 0,05°	+ 0,05°
		154	- 0,10°	+ 0,00°

10. Diaminotrioxydodecansäure.

a) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin**
+ 1 ccm Hefepreßsaft*

b) 0,1 g **Glycyl-l-tyrosin**
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,05 g
l-Diaminotrioxydodecansäure

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung	Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,58°	0	+ 0,62°
7	+ 0,52°	6	+ 0,59°
23	+ 0,42°	17	+ 0,57°
36	+ 0,35°	34	+ 0,47°
53	+ 0,23°	50	+ 0,42°
85	+ 0,12°	64	+ 0,38°
110	+ 0,03°	80	+ 0,36°
		110	+ 0,26°
		124	+ 0,23°

11. Aminobuttersäure.

a) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,71°
4	+ 0,66°
19	+ 0,55°
38	+ 0,47°
55	+ 0,35°
77	+ 0,25°
99	+ 0,20°
129	trübe

b) 0,1 g Glycyl-l-tyrosin
+ 1 ccm Hefepreßsaft + 0,05 g
dl- α -Aminobuttersäure

Zeit Minuten	Abgelesene Drehung
0	+ 0,72°
10	+ 0,66°
22	+ 0,60°
32	+ 0,57°
45	+ 0,55°
60	+ 0,48°
76	+ 0,41°
94	+ 0,36°
109	+ 0,32°
125	+ 0,30°
149	+ 0,20°
170	+ 0,18°
188	+ 0,15°
208	+ 0,10°
218	trübe

Um einen besseren Überblick über die erhaltenen Resultate zu geben, haben wir in der folgenden Zusammenstellung für jeden Versuch Vergleichswerte einander gegenübergestellt. Es gelang nicht in allen Fällen, die Drehung auf 0° zu bringen. Blieb bei einer Versuchsserie die Drehung, bevor sie 0° erreicht hatte, stehen, oder war Trübung eingetreten, so wählten wir zu der folgenden Übersicht einen Wert, der bei allen Versuchen einer bestimmten Serie erreicht wurde. Wir haben bei der Verwendung der optisch-aktiven Aminosäuren stets deren Drehungsvermögen bei der angewandten Konzentration unter Verwendung derselben Menge von Hefepreßsaft und Wasser, wie im Parallelversuch — also unter Weglassung des Glycyl-l-tyrosins — bestimmt und in Rechnung gebracht. Wir erhielten so Werte, welche mit dem Kontrollversuch ohne Aminosäurezusatz vergleichbar waren. Erwähnt sei noch, daß wir auch mit l-Tyrosin Versuche ausgeführt haben. Da sofort Trübung eintrat, so konnten die Versuche nicht zu Ende geführt werden. In dem Maße, in dem Tyrosin aus dem Glycyl-l-tyrosin abgespalten wurde,

fiel es offenbar auch aus, da die Lösung schon mit Tyrosin übersättigt war. Die wenigen Versuche, die wir besitzen, machen es wahrscheinlich, daß die Hydrolyse bei Zusatz von l-Tyrosin am Anfang verlangsamt wird, später dagegen erfolgt die Spaltung des Glycyl-l-tyrosins scheinbar in gleichen Zeiten, gleichgültig, ob Tyrosin von vornherein zugesetzt wird oder nicht. Es beruht dies gewiß darauf, daß beim Versuche ohne Tyrosinzusatz die Hemmung erst offenkundig wird, wenn gewisse Mengen von Tyrosin frei geworden sind. Ist die Lösung mit Tyrosin gesättigt, dann ist dasselbe Stadium eingetreten, wie in dem Falle, in dem Tyrosin von Anfang an zugesetzt war.

Zur besseren Orientierung führen wir die in den Proteinen vorkommenden Aminosäuren hier an:

Glykokoll
 d-Alanin
 l-Valin
 l-Leucin
 l-Serin
 l-Phenylalanin
 d-Glutaminsäure
 d-Tryptophan
 l-Diaminotrioxydodecansäure.

Von bis jetzt in den Proteinen noch nicht aufgefundenen Aminosäuren haben wir Isoserin und dl- α -Aminobuttersäure untersucht.

I. Versuche mit Glykokoll.

Serie A.

- a) ohne Zusatz dauerte es **171** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,63^\circ$ auf $+ 0,16^\circ$ gesunken war,
 b) mit Zusatz von 0,1 g **Glykokoll** dauerte es **199** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,67^\circ$ auf $+ 0,17^\circ$ gesunken war.

Serie B.

- a) ohne Zusatz dauerte es **61** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,64^\circ$ auf 0° herabgegangen war,
 b) $+ 0,1$ g **Glykokoll** dauerte es **66** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,62^\circ$ auf 0° herabgegangen war.

Serie C.

- a) ohne Zusatz dauerte es **155** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,63^\circ$ auf $+ 0,12^\circ$ herabgegangen war,

- b) $+ 0,1$ g **Glykokoll** dauerte es **153** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,67^\circ$ auf $+ 0,14^\circ$ herabgegangen war.

II. Versuche mit Alanin.

Serie A.

- a) ohne Zusatz dauerte es **171** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,63^\circ$ auf $+ 0,16^\circ$ herabgegangen war,
b) $+ 0,1$ g **d-Alanin** dauerte es **349** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,63^\circ$ auf $+ 0,16^\circ$ herabgegangen war.

Serie B.¹⁾

- a) ohne Zusatz dauerte es **51** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,68^\circ$ auf 0° gesunken war,
b) $+ 0,1$ g **d-Alanin** dauerte es **65** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,61^\circ$ auf $- 0,07^\circ$ gesunken war,
c) $+ 0,1$ g **l-Alanin** dauerte es **44** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,64^\circ$ auf $- 0,05^\circ$ gesunken war,
d) $+ 0,1$ g **dl-Alanin** dauerte es **47** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,62^\circ$ auf $- 0,05^\circ$ gesunken war.

Serie C.

- a) ohne Zusatz dauerte es **27** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,63^\circ$ auf $+ 0,25^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,1$ g **d-Alanin** dauerte es **48** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,65^\circ$ auf $+ 0,24^\circ$ gesunken war,
c) $+ 0,1$ g **l-Alanin** dauerte es **20** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,61^\circ$ auf $+ 0,26^\circ$ gesunken war,
d) $+ 0,2$ g **dl-Alanin** dauerte es **35** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,66^\circ$ auf $+ 0,22^\circ$ gesunken war.

Serie D.

- a) ohne Zusatz dauerte es **140** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,60^\circ$ auf $+ 0,01^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,1$ g **d-Alanin** $+ 0,1$ g **l-Alanin** dauerte es **201** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,57^\circ$ auf $+ 0,03^\circ$ gesunken war,
c) $+ 0,2$ g **dl-Alanin** dauerte es **215** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,57^\circ$ auf 0° gesunken war.

III. Versuche mit Valin.

Serie A.

- a) ohne Zusatz dauerte es **47** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,63^\circ$ auf 0° gesunken war,

¹⁾ Dieser Versuch ist nicht ganz eindeutig, weil die Kontrollprobe nicht am gleichen Tage zur Untersuchung kam, an dem der Einfluß der Zusätze geprüft wurde.

- b) \pm 0,1 g **d-Valin** dauerte es **117** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,67° auf \pm 0,01° gesunken war.

Serie B.

- a) ohne Zusatz dauerte es **61** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,64° auf 0° gesunken war,
 b) \pm 0,1 g **dl-Valin** dauerte es **91** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,63° auf 0° gesunken war,
 c) \pm 0,02 g **dl-Valin** dauerte es **197** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,66° auf \pm 0,05° gesunken war.

IV. Versuche mit Leucin.

- a) ohne Zusatz dauerte es **45** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,66° auf \pm 0,12° gesunken war.
 b) \pm 0,1 g **l-Leucin** dauerte es **148** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,60° auf \pm 0,17° gesunken war,
 c) \pm 0,1 g **d-Leucin** dauerte es **48** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,65° auf \pm 0,17° gesunken war,
 d) \pm etwa 0,2 g **dl-Leucin** dauerte es **106** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,63° auf \pm 0,15° gesunken war.

V. Versuche mit Serin.

- a) ohne Zusatz dauerte es **71** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,63° auf 0° gesunken war,
 b) \pm 0,1 g **l-Serin** dauerte es **100** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,64° auf \pm 0,01° gesunken war,
 c) \pm 0,2 g **dl-Serin** dauerte es **84** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,63° auf \pm 0,02° gesunken war.

VI. Versuche mit Isoserin.

Serie A.

- a) ohne Zusatz dauerte es **51** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,63° auf \pm 0,09° gesunken war,
 b) \pm 0,1 g **d-Isoserin** dauerte es **111** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,63° auf \pm 0,08° gesunken war.

Serie B.

- a) ohne Zusatz dauerte es **138** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,62° auf \pm 0,06° gesunken war,
 b) \pm 0,2 g **dl-Isoserin** dauerte es **385** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,62° auf \pm 0,05° gesunken war.

VII. Versuche mit Phenylalanin.

Serie A.

- a) ohne Zusatz dauerte es **74** Minuten, bis die Drehung von \pm 0,61° auf 0,00° gesunken war,

- b) $+ 0,1$ g **l-Phenylalanin** dauerte es **169** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,82^\circ$ auf $+ 0,01^\circ$ gesunken war.

Serie B.

- a) ohne Zusatz dauerte es **76** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,65^\circ$ auf $0,00^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,1$ g **d-Phenylalanin** dauerte es **99** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,59^\circ$ auf $- 0,03^\circ$ gesunken war,
c) $+ 0,1$ g **dl-Phenylalanin** dauerte es **145** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,60^\circ$ auf $+ 0,02^\circ$ gesunken war.

VIII. Versuche mit d-Glutaminsäure.

- a) ohne Zusatz dauerte es **23** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,70^\circ$ auf $+ 0,20^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,05$ g **d-Glutaminsäure** dauerte es **128** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,55^\circ$ auf $+ 0,34^\circ$ gesunken war.

IX. Versuche mit d-Tryptophan.

- a) ohne Zusatz dauerte es **137** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,59^\circ$ auf $0,0^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,05$ g **d-Tryptophan** dauerte es **154** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,59^\circ$ auf 0° gesunken war.

X. Versuche mit l-Diaminotrioxydodecansäure.

- a) ohne Zusatz dauerte es **53** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,58^\circ$ auf $+ 0,23^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,05$ g **l-Diaminotrioxydodecansäure** dauerte es **124** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,62^\circ$ auf $+ 0,23^\circ$ gesunken war.

XI. Versuche mit Aminobuttersäure.

- a) ohne Zusatz dauerte es **99** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,71^\circ$ auf $+ 0,20^\circ$ gesunken war,
b) $+ 0,01$ g **dl-Aminobuttersäure** dauerte es **149** Minuten, bis die Drehung von $+ 0,72^\circ$ auf $+ 0,20^\circ$ gesunken war.

Ein Blick auf die vorliegende Übersicht zeigt:

1. daß Glykokoll den zeitlichen Ablauf der Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin mit Hefepreßsaft nicht oder nur in geringem Maße beeinflusst.

2. d-Alanin hemmt die Hydrolyse, l-Alanin dagegen scheint sie eher zu beschleunigen, dl-Alanin und d-+l-Alanin gemischt verlangsamen den zeitlichen Ablauf der Spaltung von Glycyl-l-tyrosin durch Hefepreßsaft, jedoch nicht in so hohem Maße, wie

die entsprechende Menge d-Alanin (bezogen auf die d-Alaninkomponente im Racemkörper).

3. Beim l-Valin besitzen wir noch keine Erfahrung über das Verhalten der l-Form. d-Valin hemmt die Hydrolyse, noch stärker wird sie durch den Racemkörper aufgehalten. Es läßt dies auf eine stark hemmende Wirkung des l-Valins schließen.

4. Ein ganz entsprechendes Resultat gab Leucin. l-Leucin hemmt sehr stark, der Racemkörper vielleicht etwas weniger und d-Leucin fast gar nicht.

5. Das Verhalten des Serins war genau dasselbe, wie das des Leucins. Es fehlt der Versuch mit d-Serin.

6. d-Isoserin hemmt, dl-Isoserin jedoch viel beträchtlicher. Über l-Isoserin fehlen Erfahrungen, es läßt jedoch die starke Hemmung durch dl-Isoserin darauf schließen, daß l-Isoserin stärker hemmen wird als d-Isoserin.

7. Auch Phenylalanin schließt sich in seinem Verhalten den übrigen untersuchten optisch-aktiven Aminosäuren in jeder Beziehung an.

8. d-Glutaminsäure, d-Tryptophan, l-Diaminotrioxydodecansäure und dl-Aminobuttersäure hemmten den zeitlichen Ablauf der Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin durch Hefepreßsaft.

9. Das bei der Hydrolyse des Glycyl-l-tyrosins sich bildende l-Tyrosin hemmt den weiteren Abbau dieses Dipeptids auch sehr stark.

Es haben somit alle untersuchten in den Proteinen vorkommenden optisch-aktiven Aminosäuren die Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin durch Hefepreßsaft stark gehemmt, während die entsprechenden Antipoden keine oder doch nur eine geringere Hemmung zeigten. Die Racemkörper nehmen eine Zwischenstellung ein.

Diese Tatsachen, verbunden mit der Beobachtung, daß Glykokoll selbst, das bekanntlich kein asymmetrisches Kohlenstoffatom besitzt, offenbar keinen Einfluß auf die Ferment-

hydrolyse unter den gegebenen Bedingungen ausgeübt hat, legen den Schluß nahe, daß das hydrolysierende Ferment in direkte Beziehungen zu den genannten Eiweißabbauprodukten tritt. Es geht das Ferment offenbar eine Bindung nicht nur mit dem zu spaltenden Dipeptid, sondern auch mit den sich bildenden und künstlich zugesetzten Spaltprodukten ein. Hierbei spielt ohne Zweifel die Konfiguration eine große Rolle. Zu Glykokoll und zu den in der Natur nicht vorkommenden optisch aktiven Aminosäuren hat das Ferment keine oder doch nur eine geringe Affinität. Unsere Versuche sind nach dieser Richtung nicht ganz scharf, indem die verwendeten Aminosäuren zwar sehr rein, aber vielleicht doch nicht ganz optisch rein waren. Die beobachtete Hemmung bei Verwendung von in den Proteinen enthaltenen Aminosäuren ist so ausgeprägt, daß man geradezu aus der gefundenen Verzögerung der Hydrolyse auf die optische Reinheit einen Schluß ziehen kann. Je optisch reiner die Präparate waren, um so ausgesprochener waren die Resultate. Vollständig rein waren nach unseren Untersuchungen d- und l-Alanin. Letzteres schien die Hydrolyse durch Hefepreßsaft zu beschleunigen. Wir wollen eine Erklärung für diese Erscheinung nicht suchen, bevor wir nicht über weitere Erfahrungen verfügen. Es ist möglich, daß Beziehungen des l-Alanins zum abgespaltenen l-Tyrosin eine Rolle spielen und etwas weniger Ferment «abgelenkt» wird. Der Gedanke, daß die Fermente eine Verbindung mit dem Substrat, auf das sie einwirken, eingehen, ist schon oft geäußert worden, wir glauben jedoch nicht, daß für die Gruppe der proteolytischen Fermente so klare und eindeutige Experimente bisher beigebracht worden sind. Ganz besonders einleuchtend ist der Gedanke der Bindung des Fermentes auch mit den Spaltprodukten, wenn man den Verlauf der Hydrolyse von Glycyl-l-tyrosin verfolgt. Bald steht die Hydrolyse offenbar ganz still, dann geht sie oft nach Stunden plötzlich wieder weiter. Wie schon erwähnt, spricht vieles dafür, daß das abgespaltene Tyrosin übersättigte Lösungen bildet, und erst dann, wenn es ausfällt, ist wieder genügend Ferment zur Verfügung, um die Hydrolyse weiter zu leiten. Selbstverständlich ist der ent-

wickelte Erklärungsversuch der gemachten Beobachtungen einstweilen nur als eine Theorie aufzufassen. Selbstverständlich werden wir versuchen, durch weitere Versuche festzustellen, ob es sich wirklich um eine Bindung des Fermentes im erwähnten Sinne handelt, oder ob nicht vielleicht doch noch andere Erklärungsmöglichkeiten vorliegen. Erst wenn man die chemische Natur der Fermente kennen wird, wird es allerdings möglich sein, einen vollständig klaren Einblick in den Fermentprozeß und die beobachteten Erscheinungen zu erhalten.

Es wird nun unsere Aufgabe sein, zu prüfen, ob wir hier ganz allgemeine, auf alle entsprechenden optisch-aktiven Polypeptide anwendbare Gesetze vor uns haben. Versuche nach dieser Richtung, auch mit höheren Polypeptiden, sind im Gange. Wir werden ferner die vorliegenden Versuche mit optisch möglichst reinen Aminosäuren und Polypeptiden wiederholen. Wir hoffen in nächster Zeit über alle unsere Erfahrungen im Zusammenhang berichten und dann gemeinschaftlich mit Leonor Michaelis den Verlauf der Reaktion exakter festlegen zu können.

Wir möchten noch darauf hinweisen, daß unsere Versuche in ganz besonders klarer und eindeutiger Weise erkennen lassen, weshalb der Eiweißabbau *in vitro* so viel langsamer verläuft als im Magendarmkanal. Unter natürlichen Verhältnissen werden die Abbauprodukte sofort resorbiert, und damit wird das hemmende Moment beständig beseitigt oder doch stark eingeschränkt. Bei der Verwendung von Glycyl-l-tyrosin haben wir ein ganz ähnliches Phänomen vor uns. Die Resorption wird hier ersetzt durch das Ausfallen des abgespaltenen Tyrosins aus der Lösung. Unwillkürlich stellt sich der Anschauung, daß im Magendarmkanal Eiweiß in der kurzen Zeit der Verdauung bis zu den Aminosäuren abgebaut wird, die Vorstellung entgegen, daß die Proteine im allgemeinen *in vitro* erst nach Wochen und auch dann nicht vollständig von den Verdauungsfermenten hydrolysiert werden. Die Erfahrungen, die wir eben mitgeteilt haben, lassen uns verstehen, weshalb im Magendarmkanal der Abbau so rasch verlaufen kann. Wir dürfen nicht vergessen, daß bei unseren Versuchen ganz einfache Verhältnisse vorlagen. Wir hatten in der Lösung höchstens zwei Aminosäuren, welche

hemmt, nämlich das abgespaltene l-Tyrosin aus Glycyl-l-tyrosin und die zugesetzte Aminosäure. Beim Zerfall der Proteine unter Fermentwirkung entstehen unendlich viel mehr Produkte, welche Fermente in Beschlag nehmen können. In der Tat ist ja auch bei der Verdauung von Proteinen mit Pankreassaft in vitro in den ersten Tagen die Spaltung eine viel intensivere als später. Unzweifelhaft, und das möchten wir ganz besonders hervorheben, besteht zwischen der Verdauung in vitro und im Magendarmkanal in quantitativer Hinsicht ein ganz gewaltiger Unterschied.

Schließlich möchten wir noch hervorheben, daß die von uns angewandte Methode der Verwendung optisch-aktiver Polypeptide zur Verfolgung des Fermentverlaufs geeignet ist, auch nach anderer Richtung manche Frage zur Entscheidung zu bringen. Es sind bereits Versuche im Gange, um den Prozeß der Aktivierung der proteolytischen Fermente genauer zu verfolgen, und vor allem wird es unsere Aufgabe sein, den Einfluß derjenigen Faktoren genauer zu prüfen, welche, wie z. B. die Gallensäuren, die Fermentreaktion an und für sich beschleunigen. Sehr verlockend wird es auch sein, den bei verschiedenartiger Ernährung sezernierten Pankreassaft auf seinen Gehalt an peptolytischen Fermenten zu verfolgen.
