

# Über den Abbau einiger Polypeptide durch die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen des Rinderblutes.

Von

Emil Abderhalden und Wilfred H. Manwaring, New York.

---

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. März 1908.)

---

In früheren Arbeiten ist von dem einen von uns in Gemeinschaft mit Deetjen<sup>1)</sup> nachgewiesen worden, daß die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen des Pferdeblutes unzweifelhaft Fermente enthalten, die manche Polypeptide und vor allem Glycyl-l-tyrosin energisch spalten. Das Plasma desselben Blutes zeigte unter gleichen Bedingungen keine Einwirkung auf Glycyl-l-tyrosin und manche andere Dipeptide, wohl aber zeigte sich eine Hydrolyse bei der Anwendung komplizierterer Polypeptide. Es war nun von Interesse festzustellen, ob wir in dieser Beobachtung einen allen Blutarten gemeinsamen Befund vor uns haben, und vor allem interessierte uns die Frage, ob auch Eiweiß als solches angegriffen wird, und ob das Blut in der genannten Beziehung sein Verhalten ändert, wenn dem Tiere, dem das Blut entnommen wird, vorher längere Zeit artfremdes Blut und überhaupt artfremde Stoffe, speziell Eiweißstoffe, zugeführt worden sind. Auf diese letzteren Probleme können wir zurzeit eine abschließende Antwort nicht geben. Es fehlt uns vorläufig noch die genügende Erfahrung über das Verhalten des Blutes und speziell des Plasmas unter

---

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden und H. Deetjen, Über den Abbau einiger Polypeptide durch die Blutkörperchen des Pferdes, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 334, 1907, und Weitere Studien über den Abbau einiger Polypeptide durch die roten Blutkörperchen und die Blutplättchen des Pferdeblutes, Ebenda, Bd. LIII, S. 280, 1907.

normalen Verhältnissen. Die folgenden Beobachtungen sollen nach dieser Richtung eine Lücke ausfüllen.

Die unten mitgeteilten Versuche sind genau so ausgeführt, wie die von Deetjen und dem einen von uns mitgeteilten. Die roten Blutkörperchen wurden auch hier durch Zentrifugieren und Waschen mit Kochsalzlösung vom Plasma befreit und schließlich dreimal durch eine 25 cm hohe Watteschicht filtriert. Die filtrierten Blutkörperchen wurden dann noch dreimal mit 0,9%iger Kochsalzlösung zentrifugiert. Die mikroskopische Untersuchung der nach der Wright-Romanowskischen Methode behandelten Präparate ergab, daß Fibrin, Blutplättchen und polynucleäre Leukocyten nicht vorhanden waren und nur ganz vereinzelte mononucleäre Leukocyten. Die Blutplättchen gewannen wir durch fraktioniertes Zentrifugieren.

Die Versuche ergaben: Die angewandten Polypeptide wurden von den roten Blutkörperchen gespalten. Die Blutplättchen bewirkten auch eine Hydrolyse, jedoch nicht in allen Fällen. Die ungleichmäßigen Resultate sind nach den Erfahrungen mit den Blutplättchen des Pferdeblutes höchst wahrscheinlich auf die große Empfindlichkeit der peptolytischen Fermente dieser Elemente zurückzuführen. Es war schwer, die Blutplättchen rein zu erhalten. Wir waren genötigt, sie oft zu zentrifugieren. Es ist wohl möglich, daß sie durch all diese Manipulationen an Wirksamkeit eingebüßt haben. Wir setzen unsere Versuche nach dieser Richtung fort.

### 1. Versuche mit roten Blutkörperchen.

Bei allen Versuchen wurden 10 ccm der Suspension von roten Blutkörperchen zu der Lösung einer gewogenen Menge des Polypeptids in Wasser hinzugefügt. Das Gemisch verblieb dann nach Zusatz von Toluol 5—7 Tage im Brutraum. Die Verarbeitung auf die Spaltprodukte erfolgte in genau derselben Weise, wie es schon wiederholt geschildert worden ist. Zur Entfernung des Eiweißes verdünnten wir die Proben mit Wasser auf 250 ccm. War nicht alles gelöst — z. B. bei Anwesenheit von Tyrosin —, so wurde filtriert. Nun wurde die Flüssigkeit mit 50 g Kaolin behandelt, dann abgenutscht und der Filter-

rückstand mit 100 ccm kochendem Wasser ausgewaschen. Es genügte nunmehr ein kurzes Aufkochen mit Tierkohle, um noch die letzte Spur von Eiweiß aus der Lösung zu entfernen. Wir erhielten nach dem Filtrieren eine völlig eiweißfreie, absolut farblose Flüssigkeit, die sich ohne Schwierigkeiten unter vermindertem Druck eindampfen ließ.

Da der weitere Gang der Untersuchung schon wiederholt ausführlich geschildert worden ist, begnügen wir uns mit der summarischen Mitteilung der Resultate.

### Serie I.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser und 10 ccm rote Blutkörperchen. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,65 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°); 0,30 g salzsaures d-Alanin;  $[\alpha]_D^{20} = + 9,2^\circ$ ; 0,15 g Alanyl-glycinanhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 3,8^\circ$  in Wasser gelöst. Aus der Mutterlauge wurden noch 0,1 g Anhydrid gewonnen.

2. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,20 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,15 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 8,5^\circ$ . An Anhydriden wurden erhalten 0,24 g:  $[\alpha]_D^{20} = + 4,2^\circ$ , ferner 0,10 g:  $[\alpha]_D^{20} = + 1,0^\circ$  in Wasser gelöst, der Rest, 0,5 g, war optisch inaktiv.

3. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm rote Blutkörperchen + 10 ccm Wasser. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,20 g l-Tyrosin (F. 305°); 0,20 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°). Anhydrid konnte in reinem Zustande nicht isoliert werden.

4. Diglycyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 1,0 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,20 g reines Glycinanhydrid.

### Serie II.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,75 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) + 0,20 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 9,8^\circ$ . Aus dem Destillationsrückstand gewannen wir 0,64 g Anhydrid, davon zeigten 0,20 g  $[\alpha]_D^{20} = + 4,1^\circ$ , der Rest war optisch inaktiv.

2. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,31 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,10 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 8,1^\circ$ ; 0,12 g Alanyl-glycinanhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 3,7^\circ$  in Wasser gelöst, ferner 0,45 g inaktives Anhydrid.

3. Diglycyl-glycin: 2g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 1,75 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,1 g reines Glycinanhydrid.

### Serie III.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,45 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,25 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 9,0^\circ$ . Ferner 0,15 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 4,8^\circ$  und 0,15 g inaktives Anhydrid.

2. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,25 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,15 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 8,5^\circ$ . An Anhydriden wurden 0,88 g erhalten, davon waren 0,15 g optisch aktiv.

3. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,27 g l-Tyrosin, 0,15 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°). Reines Anhydrid konnte nicht isoliert werden.

4. Diglycyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 1,25 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,22 g reines Glycinanhydrid.



## Serie IV.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 3 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,56 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), 0,30 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 8,5^\circ$  und 0,25 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 3,8^\circ$  in wässriger Lösung. Ferner 0,25 g inaktives Anhydrid.

2. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,50 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), 0,30 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 9,8^\circ$  und 0,18 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 3,9^\circ$  in Wasser gelöst. Ferner 0,30 g inaktives Anhydrid.

3. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser und 10 ccm rote Blutkörperchen. 3 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,25 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), 0,15 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 8,7^\circ$ . Ferner 0,98 g Anhydrid, davon 0,25 g optisch aktiv.

4. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,26 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), 0,18 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 7,5^\circ$ , aktives Anhydrid 0,20 g:  $[\alpha]_D^{20} = + 4,8^\circ$  und 0,86 g inaktives Anhydrid.

5. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm Wasser + 10 ccm rote Blutkörperchen. 2 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,35 g l-Tyrosin und 0,5 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,15 g Anhydrid.

6. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm Wasser und 10 ccm rote Blutkörperchen. 3 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,40 g l-Tyrosin und 0,62 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°). Ferner 0,1 g Anhydrid (nicht ganz rein).

7. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 20 ccm Wasser + 10 ccm Blutkörperchen. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,45 g l-Tyrosin und 0,55 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>). Anhydrid konnte nicht isoliert werden.

## 2. Versuche mit Blutplättchen.

Zu den folgenden Versuchen wurden je 0,1—2 ccm der Blutplättchensuspension verwendet. Stets wurde eine geringe Menge Plasma zugefügt.

### Serie I.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 2 ccm Blutplättchensuspension. 7 Tage im Brutraum.

Isoliert: Keine Aminosäuren, nur ungespaltenes Dipeptid als inaktives Anhydrid.

2. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 0,1 ccm Blutplättchensuspension. Auch hier war nach 7 Tagen eine Spaltung nicht nachweisbar.

3. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm Wasser + 2 ccm Blutplättchensuspension. 7 Tage im Brutraum. Hier war auch keine Hydrolyse erfolgt.

4. Diglycyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 2 ccm Blutplättchensuspension. 7 Tage im Brutraum.

Isoliert: 1,0g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>) und 0,30 g Glycinanhydrid.

### Serie II.

Analoge Versuche mit Glycyl-l-tyrosin ergaben hier ein negatives Resultat.

### Serie III.

Glycyl-l-tyrosin war auch hier nur spurenweise gespalten worden.

### Serie IV.

2 g Diglycyl-glycin + 10 ccm Wasser + 0,25 ccm Blutplättchensuspension.

Isoliert nach 5 Tagen 0,75 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>) und 0,30 g Glycinanhydrid.

### Serie V.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 0,8 ccm Blutplättchensuspension. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,55 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), 0,30 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20} = + 9,8^\circ$ . Ferner 0,20 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 4,2^\circ$  in wässriger Lösung, ferner 0,15 g inaktives Anhydrid.

2. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 2 ccm Blutplättchensuspension.

Isoliert: 0,11 g salzsaure Aminosäuren (Glykokoll + Alanin). Das Gemisch drehte + 4,8°. Glykokoll wurde qualitativ als Esterchlorhydrat nachgewiesen. 1,38 g Anhydrid.

#### Serie VI.

Diglycyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 2 ccm Oxalatplasma ohne Blutplättchen.

Isoliert nach 5 tägigem Stehen im Brutraum 0,50 g Glykokollesterchlorhydrat und 0,40 g Anhydrid.