

# Weitere Versuche über den Abbau von Polypeptiden durch die Preßsäfte von Zellen und Organen.

Von

Emil Abderhalden und Filippo Lussana, Bologna.

(Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. März 1908.)

Durch eine Reihe von Arbeiten aus dem hiesigen Institut ist der Nachweis erbracht worden, daß die verschiedenartigsten Organe Fermente besitzen, welche Polypeptide spalten. Während beim Pankreassaft die Beobachtung gemacht worden ist, daß er im aktiven Zustande nicht alle Polypeptide angreift, sondern eine Abhängigkeit z. B. gegenüber deren Struktur zeigt, gelang es bei den aus Organen dargestellten Preßsäften keine entsprechenden Unterschiede zu finden — wenigstens qualitativ nicht. Der Pankreassaft spaltet z. B. Glycyl-dl-alanin nicht, wohl aber dl-Alanyl-glycin. Die bis jetzt untersuchten Organpreßsäfte griffen im allgemeinen beide Dipeptide an. Auch die roten Blutkörperchen enthalten Fermente, welche beide Dipeptide spalten, wobei allerdings deutlich zu bemerken ist, daß in gleichen Zeiten dl-Alanyl-glycin rascher und ausgiebiger zerlegt wird als Glycyl-dl-alanin. Es schien uns von Interesse, weitere Erfahrungen auf diesem Gebiete zu sammeln, um allmählich einen Überblick über die Verbreitung der peptolytischen Fermente im gesamten tierischen Organismus zu erhalten. Vor allem war es wertvoll, einzelne Zellen auf ihre Wirksamkeit gegenüber Polypeptiden zu prüfen. Wir verwendeten die Zellen der Linse. Sie wurden auf folgende Weise gewonnen. Linsen aus Schweineaugen wurden ganz frisch herauspräpariert und sofort aufgefäsert und mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert. Dann wurden die Linsenzellen mit Quarzsand zerrieben und nach Vermengung mit Kieselgur die ganze Masse unter der hydraulischen Presse ausgepreßt. Die bis 50 Atmosphären Druck abfließende Flüssigkeit wurde nicht verwen-

det. sondern erst der von 50—300 Atmosphären Druck auspreßbare Saft. Wir haben ferner mit Gehirnschubstanz analoge Versuche ausgeführt. Die Gehirnschubstanz stammte von eben geschlachteten Kälbern. Sie wurde zunächst rein mechanisch von Blutgefäßen befreit, dann solange mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis kein Blut mehr vorhanden war. Versuche, Ganglien- resp. Gliazellen für sich zu isolieren, mißglückten bis jetzt, und so verwendeten wir für die orientierenden Versuche den zwischen 50—300 Atmosphären Druck auspreßbaren Preßsaft. Auch hier war die gereinigte Hirnschubstanz mit Quarzsand zerrieben und dann mit Kieselgur vermengt worden.

Untersucht wurden die folgenden Polypeptide: dl-Alanyl-glycin, Glycyl-dl-alanin, Glycyl-l-tyrosin und Diglycyl-glycin. Der Gang der Untersuchung war genau derselbe wie bei den früheren entsprechenden Versuchen. Es seien deshalb nur die Resultate summarisch angeführt.

### 1. Versuche mit Linsenpreßsaft.

#### Serie 1.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Wasser + 5 ccm Linsenpreßsaft. 4 Tage im Brutraum.<sup>1)</sup>

Isoliert: 0,15 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,10 g salzsaures d-Alanin,  $[\alpha]_D^{20} = + 7,5^{\circ}$ . An Anhydriden wurden gewonnen: 0,15 g Alanyl-glycinanhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = + 3,8^{\circ}$  in wässriger Lösung und 0,88 g inaktives Anhydrid.

2. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 5 ccm Linsenpreßsaft. 4 Tage im Brutraum.

Es war keine Spaltung erfolgt.

3. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm Wasser + 5 ccm Linsenpreßsaft. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,1 g l-Tyrosin + 0,11 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), ferner 0,50 g Anhydrid.

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

Isoliert: 0,35 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), ferner 0,46 g Glycinanhydrid und ein sirupöser Rückstand.

<sup>1)</sup> Bei allen Versuchen wurde Toluol zugesetzt.

## Serie 2.

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

Isoliert: 0,55 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>) und 0,30 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20^o} = + 9,6^o$ . Ferner: 0,25 g Anhydrid:  $[\alpha]_{20^o}^D = + 4,8^o$ , 0,10 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20^o} = + 1^o$  und 0,54 g inaktives Anhydrid (unrein).

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

Isoliert: 0,45 g Glykokollesterchlorhydrat, 0,20 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20^o} = + 7,8^o$  und 0,25 g Anhydrid  $[\alpha]_D^{20^o} = + 4,5^o$  in Wasser gelöst. Außerdem wurden noch 0,67 g unreines, inaktives Anhydrid erhalten.

3. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 3 ccm Linsenpreßsaft. 4 Tage im Brutraum. Eine Spaltung war nicht mit Sicherheit nachweisbar. 0,05 g salzsaures Alanin + Glykokoll isoliert.

4. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 10 ccm Wasser + 5 ccm Linsenpreßsaft. 6 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,07 g Glykokollesterchlorhydrat. Spuren von Alanin. Kein optisch aktives Anhydrid.

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

Isoliert: 0,25 g l-Tyrosin, 0,35 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>) und 0,25 g Anhydrid.

6. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 10 ccm Wasser + 3 ccm Linsenpreßsaft. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,28 g l-Tyrosin, 0,30 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>). Reines Anhydrid wurde nicht gewonnen.

7. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 5 ccm Linsenpreßsaft + 5 ccm Wasser. 2 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,20 g l-Tyrosin, 0,25 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144<sup>o</sup>) und 0,35 g Anhydrid.

8. Diglycyl-glycin: 2 g + 20 ccm Wasser + 5 ccm Linsenpreßsaft. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,75 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,68 g Glycinanhydrid.

9. Diglycyl-glycin: 2 g + 15 ccm Wasser + 5 ccm Linsenpreßsaft. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,88 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,55 g Glycinanhydrid.

## 2. Versuche mit Preßsaft aus Gehirnsubstanz.

### 1. Serie.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g Dipeptid + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage bei 37° aufbewahrt.

Isoliert: 0,10 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,10 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_{20}^D = +7,5^\circ$ , ferner 0,24 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20} = +3,5^\circ$  in Wasser gelöst und 1,20 g inaktives Anhydrid.

2. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,10 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,09 g salzsaures d-Alanin. Die wässrige Lösung drehte nach rechts. An Anhydriden wurden 1,4 g gewonnen, davon drehte die erste Fraktion (0,22 g) nach rechts in wässriger Lösung.

3. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum. Keine Spaltung beobachtet.

4. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum. Nur Spuren von l-Tyrosin und von Glykokollesterchlorhydrat beobachtet.

5. Diglycyl-glycin: 2 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,18 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 1,7 g Destillationsrückstand.

6. Diglycyl-glycin: 2 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,17 g Glykokollesterchlorhydrat und 1,8 g Destillationsrückstand.

### 2. Serie.

1. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 20 ccm Preßsaft. 3 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,25 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°), 0,15 g salzsaures d-Alanin  $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = + 9,6^{\circ}$  und 0,20 g Anhydrid:  $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = + 3,5^{\circ}$  in Wasser gelöst. Außerdem 0,85 g inaktives Anhydrid.

2. dl-Alanyl-glycin: 2 g + 10 ccm Preßsaft. 4 Tage im Brutraum.

Isoliert: 0,21 g Glykokollesterchlorhydrat (F. 144°) und 0,12 g salzsaures d-Alanin:  $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = + 7,9^{\circ}$ . Ferner 1,2 g Anhydrid, davon 0,18 g optisch aktiv:  $[\alpha]_D^{20^{\circ}} = + 4,8^{\circ}$  in Wasser gelöst.

3. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 15 ccm Preßsaft. 4 Tage im Brutraum. Keine Spaltung beobachtet.

4. Glycyl-dl-alanin: 2 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum. Nur Spuren einer Spaltung nachweisbar.

5. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 15 ccm Preßsaft. 4 Tage im Brutraum. Spuren von Tyrosin und Glykokollesterchlorhydrat.

6. Glycyl-l-tyrosin: 1 g + 15 ccm Preßsaft. 5 Tage im Brutraum. Keine Spaltung beobachtet.

Aus den vorliegenden Versuchen ergibt sich, daß der Preßsaft aus Linsenzellen dl-Alanyl-glycin, Glycyl-l-tyrosin und Diglycyl-glycin gespalten hat. Glycyl-dl-alanin wurde nicht deutlich angegriffen. Der Preßsaft aus Gehirns substanz griff nur dl-Alanyl-glycin und Diglycyl-glycin an, jedoch nicht Glycyl-l-tyrosin und Glycyl-dl-alanin. Hierzu ist zu bemerken, daß der Gehirnpreßsaft beim Stehen im Brutraum nach einiger Zeit eine flockige Fällung zeigte. Es ist nicht ausgeschlossen, daß mit ihr Ferment niedergerissen worden ist. Der positive Ausfall des Versuches bei dl-Alanyl-glycin und Diglycyl-glycin spricht allerdings nicht für eine solche Annahme. Bestätigen weitere Versuche die gemachten Beobachtungen, dann würde der Gehirns substanz eine Sonderstellung zuzuweisen sein, denn bis jetzt haben alle Organpreßsäfte Glycyl-l-tyrosin lebhaft gespalten, eine Ausnahme machte bis jetzt nur das Plasma des Blutes.