

# Weiterer Beitrag zur Kenntnis des Verlaufs der fermentativen Polypeptidspaltung.

## V. Mitteilung.

Von

**Emil Abderhalden** und **A. H. Koelker.**

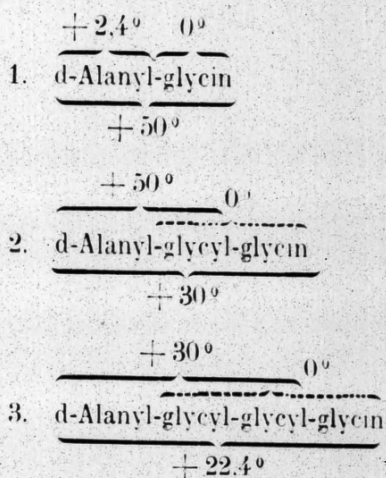
Mit 2 Kurvenzeichnungen.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. März 1908.)

In unserer letzten Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir Versuche begonnen, um festzustellen, an welcher Stelle die peptolytischen Fermente optisch-aktive Polypeptide angreifen. Wir wählten Kombinationen, deren Spaltprodukte unter sich ein verschiedenes optisches Verhalten zeigen und auch anders drehen als das ursprüngliche Polypeptid selbst. Wir hatten l-Leucyl-glycyl-d-alanin und Glycyl-d-alanyl-glycin mit einem Gemisch von Pankreassaft und Darmsaft gespalten. Diese Untersuchung haben wir fortgesetzt und auf die folgenden Polypeptide ausgedehnt: d-Alanyl-glycin, d-Alanyl-glycyl-glycin, d-Alanyl-glycyl-glycyl-glycin. Wir suchten einmal die Frage zu entscheiden, an welcher Stelle das Ferment zuerst diese Polypeptide angreift. Diese Fragestellung gilt für die letzteren beiden Polypeptide. d-Alanyl-glycyl-glycin zeigt  $[\alpha]_D^{20} = + 30,0^\circ$ , während d-Alanyl-glycin  $50^\circ$  nach rechts dreht, und Glycyl-glycin optisch inaktiv ist. Hier war aus dem optischen Verhalten nach Zusatz der Fermentlösung leicht zu entscheiden, welche Aminosäure zuerst abgespalten wird. Schon etwas schwieriger liegen die Verhältnisse beim Tetrapeptid. d-Alanyl-diglycyl-glycin hat  $[\alpha]_D^{20} = + 22,4^\circ$ . Würde Glykokoll abgespalten, dann würde

zunächst d-Alanyl-glycyl-glycin entstehen, das  $+30^{\circ}$  dreht. Würde jedoch zuerst d-Alanin frei, dann müßte die Drehung abnehmen, weil das zunächst entstehende Tripeptid Diglycyl-glycin kein Drehungsvermögen besitzt. Am besten überblickt man diese Verhältnisse am folgenden Schema:



Diese drei Polypeptide wurden in der bekannten Weise durch Kuppelung von d-Brompropionylchlorid mit Glykokoll resp. Glycyl-glycin resp. Diglycyl-glycin dargestellt. Das d-Alanyl-diglycyl-glycin ist neu dargestellt worden. Seine Gewinnung und Eigenschaften werden wir an anderer Stelle mitteilen. Angeführt sei hier nur das optische Verhalten des Tetrapeptids.

0,4085 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 5,4007 g.  $d_{4}^{20^{\circ}} = 1,026$ .  $\alpha = 1,74^{\circ}$  nach rechts im 1 dm-Rohr bei Natriumlicht. Mithin  $[\alpha]_{D}^{20^{\circ}} = +22,4^{\circ} \pm 0,3^{\circ}$ .

Wir haben gleichzeitig in Parallelversuchen bei allen drei Polypeptiden

1. bei gleichbleibender Fermentmenge die Menge des angewendeten Polypeptids geändert und

2. bei gleichbleibender Polypeptidmenge verschiedene Fermentmengen verwendet.

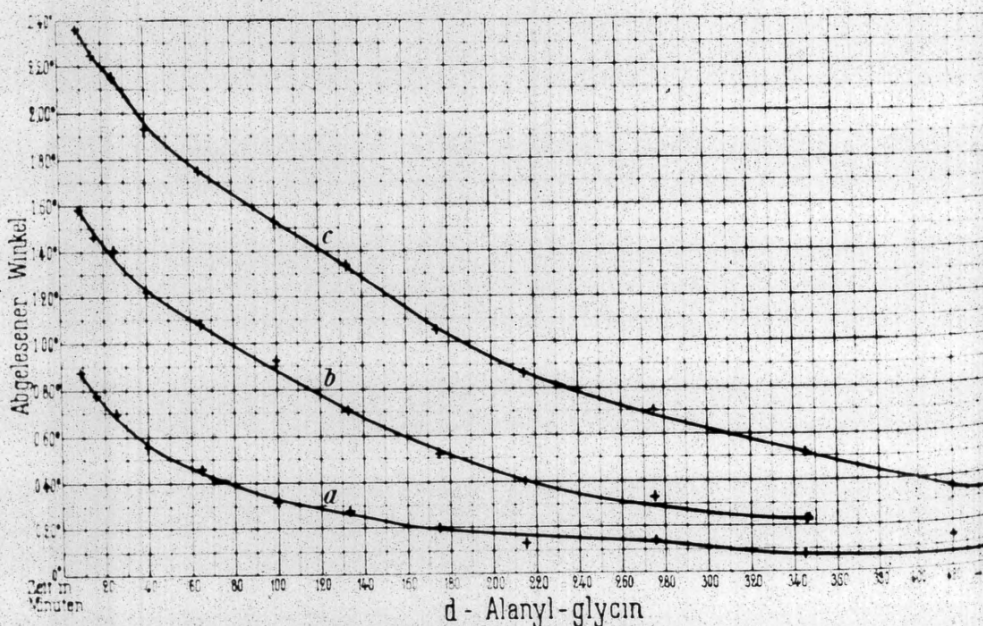
Die folgenden Übersichten geben die erhaltenen Resultate wieder:

## I. Gleiche Fermentmenge, wechselnde Polypeptidmenge.

## 1. Spaltung des d-Alanyl-glycins mit Hefepreßsaft.

	a)	b)	c)
	1,66 ccm Stamm-	3,32 ccm Stamm-	4,98 ccm Stamm-
	lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol.	lösung = $\frac{2}{1000}$ -mol.	lösung = $\frac{3}{1000}$ -mol.
	1,0 ccm Hefepreßsaft	1,0 ccm Hefepreßsaft	1,0 ccm Hefepreßsaft
	3,84 ccm Wasser	2,18 ccm Wasser	0,52 ccm Wasser
Zeit in Minuten	Abgelesener Winkel in Graden		
9	+ 0,81 (+ 0,88) <sup>1)</sup>	+ 1,51 (+ 1,58)	+ 2,29 (+ 2,36)
16	+ 0,71 (+ 0,78)	+ 1,39 (+ 1,46)	+ 2,18 (+ 2,25)
25	+ 0,63 (+ 0,70)	+ 1,33 (+ 1,40)	+ 2,08 (+ 2,15)
40	+ 0,49 (+ 0,56)	+ 1,15 (+ 1,22)	+ 1,86 (+ 1,93)
65	+ 0,37 (+ 0,46)	+ 1,01 (+ 1,08)	+ 1,68 (+ 1,75)
100	+ 0,25 (+ 0,32)	+ 0,85 (+ 0,92)	+ 1,46 (+ 1,53)
133	+ 0,21 (+ 0,28)	+ 0,64 (+ 0,71)	+ 1,27 (+ 1,34)
175	+ 0,13 (+ 0,20)	+ 0,45 (+ 0,52)	+ 0,98 (+ 1,05)
215	+ 0,06 (+ 0,13)	+ 0,33 (+ 0,40)	+ 0,80 (+ 0,87)
275	+ 0,06 (+ 0,13)	+ 0,26 (+ 0,33)	+ 0,63 (+ 0,70)
345	+ 0,01 (+ 0,08)	+ 0,16 (+ 0,23)	+ 0,45 (+ 0,52)
420	+ 0,12 (+ 0,19)	+ 0,06 (+ 0,13)	+ 0,28 (+ 0,35)
455	+ 0,01 (+ 0,08)	- 0,02 (+ 0,05)	+ 0,25 (+ 0,32)
22 Stund.	+ 0,02 (+ 0,09)	- 0,00 (+ 0,07)	+ 0,04 (+ 0,11)

Die folgende Tabelle veranschaulicht den Abbau des d-Alanyl-glycins noch übersichtlicher.



<sup>1)</sup> Die eingeklammerten Zahlen stellen das Drehungsvermögen nach

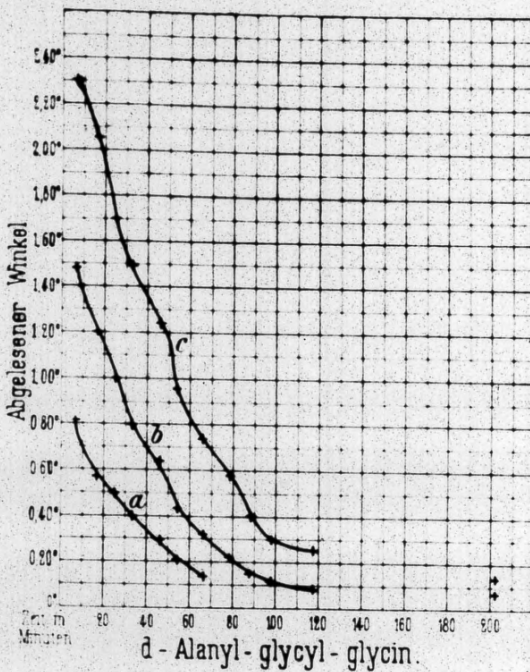
2. Spaltung des d-Alanyl-glycyl-glycins mit Hefepreßsaft.

Zeit in Minuten	a)	b)	c)
	1,66 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 1,0 ccm Hefepreßsaft 3,84 ccm H <sub>2</sub> O	3,32 ccm Stamm- lösung = $\frac{2}{1000}$ -mol. 1,0 ccm Hefepreßsaft 2,18 ccm H <sub>2</sub> O	4,98 ccm Stamm- lösung = $\frac{3}{1000}$ -mol. 1,0 ccm Hefepreßsaft 0,52 ccm H <sub>2</sub> O
	Abgelesener Winkel in Graden		
7	+ 0,75 (+ 0,82)	+ 1,41 (+ 1,48)	+ 2,24 (+ 2,31)
17	+ 0,50 (+ 0,57)	+ 1,13 (+ 1,20)	+ 1,99 (+ 2,06)
25	+ 0,43 (+ 0,50)	+ 0,93 (+ 1,00)	+ 1,63 (+ 1,70)
33	+ 0,33 (+ 0,40)	+ 0,73 (+ 0,80)	+ 1,42 (+ 1,49)
46	+ 0,22 (+ 0,29)	+ 0,57 (+ 0,64)	+ 1,17 (+ 1,24)
54	+ 0,14 (+ 0,21)	+ 0,37 (+ 0,44)	+ 0,89 (+ 0,96)
66	+ 0,07 (+ 0,14)	+ 0,25 (+ 0,32)	+ 0,66 (+ 0,73)
79	+ 0,12 (+ 0,19)	+ 0,15 (+ 0,22)	+ 0,51 (+ 0,58)
88	+ 0,07 (+ 0,14)	+ 0,08 (+ 0,15)	+ 0,33 (+ 0,40)
98	+ 0,07 (+ 0,14)	+ 0,05 (+ 0,12)	+ 0,23 (+ 0,30)
117	+ 0,06 (+ 0,13)	+ 0,02 (+ 0,09)	+ 0,18 (+ 0,25)
202	+ 0,03 (+ 0,10)	+ 0,00 (+ 0,07)	+ 0,06 (+ 0,13)
347	- 0,01 (+ 0,06)	- 0,01 (+ 0,06)	+ 0,05 (+ 0,12)

$$\begin{array}{c}
 + 30,0^{\circ} \\
 \hline
 \text{d-Alanyl-glycyl-glycin} \\
 \hline
 + 50,0^{\circ} \quad + 0,00^{\circ} \\
 \hline
 + 2,4^{\circ} \quad + 0,00^{\circ} \quad + 0,00^{\circ}
 \end{array}$$

Das Drehungsvermögen nimmt in allen drei Versuchen beständig ab. Es muß somit zunächst d-Alanin abgespalten worden sein, denn wäre Glykokoll zuerst frei geworden, dann hätte d-Alanyl-glycin vorübergehend entstehen müssen. Nun dreht d-Alanyl-glycin 50° nach rechts. Seine Entstehung hätte sich durch ein Ansteigen des Drehungsvermögens der Lösung anzeigen müssen.

Berücksichtigung des Drehungsvermögens des Hefepreßsaftes dar, während die übrigen Zahlen dem direkt abgelesenen Winkel entsprechen.



### 3. Spaltung von d-Alanyl-diglycyl-glycin mit Hefepreßsaft.

+ 22,4°

d-Alanyl-glycyl-glycyl-glycin

+ 30°

+ 50°

0°

+ 2,40°

0°

0°

0°

0°

a)

0,83 ccm Stamm-  
lösung =  $\frac{1}{2000}$ -mol.  
1,0 ccm Hefepreßsaft  
4,67 ccm Wasser

b)

1,66 ccm Stamm-  
lösung =  $\frac{1}{1000}$ -mol.  
1,0 ccm Hefepreßsaft  
3,84 ccm Wasser

c)

3,33 ccm Stamm-  
lösung =  $\frac{2}{1000}$ -mol.  
1,0 ccm Hefepreßsaft  
2,17 ccm Wasser

Zeit  
in Minuten

Abgelesener Winkel in Graden

8	+ 0,42 (+ 0,49)	+ 0,59 (+ 0,66)	+ 1,34 (+ 1,41)
17	+ 0,28 (+ 0,35)	+ 0,36 (+ 0,43)	+ 1,16 (+ 1,23)
23	+ 0,25 (+ 0,32)	+ 0,29 (+ 0,36)	+ 0,90 (+ 0,97)
31	+ 0,20 (+ 0,27)	+ 0,20 (+ 0,27)	+ 0,83 (+ 0,90)
46	+ 0,14 (+ 0,21)	+ 0,05 (+ 0,12)	+ 0,52 (+ 0,59)
56	+ 0,11 (+ 0,18)	+ 0,00 (+ 0,07)	+ 0,43 (+ 0,50)
66	+ 0,13 (+ 0,20)	- 0,01 (+ 0,06)	+ 0,26 (+ 0,33)
78	+ 0,11 (+ 0,18)	- 0,05 (+ 0,02)	+ 0,13 (+ 0,20)

Auch hier ist allem Anschein nach die Spaltung zunächst so verlaufen, daß d-Alanin frei wurde.

Zum Vergleiche seien hier nebeneinander als Beispiel die mit  $\frac{1}{1000}$ -Molekül Polypeptid ausgeführten Versuche aufgeführt. Der Hefepreßsaft war in allen Fällen genau derselbe. Es ist nur der korrigierte Winkel angegeben.

1. d-Alanyl-glycin		2. d-Alanyl-glycyl-glycin		3. d-Alanyl-diglycyl-glycin	
1,66 ccm $\frac{1}{1000}$ -mol.-Lösung		1,66 ccm $\frac{1}{1000}$ -mol.-Lösung		1,66 ccm $\frac{1}{1000}$ -mol.-Lösung	
1,0 ccm Hefepreßsaft 3,84 ccm Wasser		1,0 ccm Hefepreßsaft 3,84 ccm Wasser		1,0 ccm Hefepreßsaft 3,84 ccm Wasser	
Zeit in Minuten	Abgelesener Winkel	Zeit in Minuten	Abgelesener Winkel	Zeit in Minuten	Abgelesener Winkel
9	+ 0,88°	7	+ 0,82°	8	+ 0,66°
16	+ 0,78°	17	+ 0,57°	17	+ 0,43°
<b>25</b>	+ <b>0,70°</b>	<b>25</b>	+ <b>0,50°</b>	<b>23</b>	+ <b>0,36°</b>
40	+ 0,56°	33	+ 0,40°	31	+ 0,27°
<b>65</b>	+ <b>0,46°</b>	46	+ 0,29°	46	+ 0,12°
100	+ 0,32°	54	+ 0,21°	56	+ 0,07°
133	+ 0,28°	<b>66</b>	+ <b>0,14°</b>	<b>66</b>	+ <b>0,06°</b>
175	+ 0,20°	79	+ 0,19°	78	+ 0,02°
215	+ 0,13°	88	+ 0,14°		
275	+ 0,13°	98	+ 0,14°		
345	+ 0,08°	117	+ 0,13°		
420	+ 0,19°	202	+ 0,10°		
455	+ 0,08°	347	+ 0,06°		
22 Stund.	+ 0,09°				

Ein Blick auf diese Zusammenstellung ergibt, daß die Drehung bei gleichen molekularen Polypeptidmengen und gleichen Fermentmengen beim Tripeptid rascher als beim Dipeptid und beim Tetrapeptid rascher als beim Tripeptid zurückgegangen ist. Sobald weitere Erfahrungen vorliegen, wird es sich lohnen, genauer festzustellen, auf welcher Ursache diese Erscheinung beruht. Vor allem wird es nötig sein, die entsprechenden Versuche mit Polypeptiden anzustellen, welche das d-Alanin an anderer Stelle enthalten und ferner mit solchen, welche mehrere optisch aktive Aminosäuren aufweisen. Es scheint uns möglich zu sein, wenn einmal ein größeres Material vorliegt, zu entscheiden, ob die Hydrolyse zunächst in allen drei Fällen so

verläuft, daß ausschließlich d-Alanin abgespalten wird und erst später vielleicht bei dem Tri- und Tetrapeptid die Hydrolyse auch in der Glycinkette einsetzt.

Wir beabsichtigen ferner die gleichen Versuche mit Säuren und Alkalien durchzuführen und die erhaltenen Resultate mit den vorliegenden zu vergleichen.

## II. Gleiche Polypeptidmengen, wechselnde Fermentmengen.

### 1. Spaltung von d-Alanyl-glycin mit Hefepreßsaft.

Zeit in Minuten	a)	b)	c)
	2,0 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 0,5 ccm Hefepreßsaft 4,0 ccm Wasser	2,0 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 1,5 ccm Hefepreßsaft 3,0 ccm Wasser	2,0 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 2,0 ccm Hefepreßsaft 2,5 ccm Wasser
Abgelesener Winkel in Graden			
12	+ 0,77 (+ 0,80)	+ 0,63 (+ 0,74)	+ 0,56 (+ 0,70)
31	+ 0,68 (+ 0,71)	+ 0,47 (+ 0,58)	+ 0,40 (+ 0,54)
45	+ 0,57 (+ 0,60)	+ 0,39 (+ 0,50)	+ 0,32 (+ 0,46)
62	+ 0,60 (+ 0,63)	+ 0,31 (+ 0,42)	+ 0,24 (+ 0,38)
86	+ 0,50 (+ 0,53)	+ 0,20 (+ 0,31)	+ 0,14 (+ 0,28)
118	+ 0,46 (+ 0,49)	+ 0,11 (+ 0,22)	+ 0,05 (+ 0,19)
190	+ 0,33 (+ 0,36)	- 0,07 (+ 0,10)	- 0,01 (+ 0,13)
230	+ 0,29 (+ 0,32)	- 0,01 (+ 0,00)	- 0,08 (+ 0,06)
300	+ 0,24 (+ 0,27)	- 0,10 (+ 0,01)	- 0,12 (+ 0,02)
20 Stund.	+ 0,09 (+ 0,12)	- 0,13 (- 0,02)	- 0,14 (+ 0,00)

### 2. Spaltung von d-Alanyl-glycyl-glycin mit Hefepreßsaft.

Zeit in Minuten	a)	b)	c)
	3,3 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 0,5 ccm Hefepreßsaft 2,7 ccm Wasser	3,3 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 1,5 ccm Hefepreßsaft 1,7 ccm Wasser	3,3 ccm Stamm- lösung = $\frac{1}{1000}$ -mol. 2,0 ccm Hefepreßsaft 1,2 ccm Wasser
Abgelesener Winkel in Graden			
6	+ 0,75 (+ 0,78)	+ 0,68 (+ 0,79)	+ 0,63 (+ 0,77)
11	+ 0,67 (+ 0,70)	+ 0,52 (+ 0,63)	+ 0,49 (+ 0,63)
18	+ 0,60 (+ 0,63)	+ 0,32 (+ 0,43)	+ 0,31 (+ 0,45)
25	+ 0,47 (+ 0,50)	+ 0,23 (+ 0,34)	+ 0,19 (+ 0,33)
36	+ 0,35 (+ 0,38)	+ 0,11 (+ 0,22)	+ 0,02 (+ 0,16)
45	+ 0,22 (+ 0,25)	+ 0,03 (+ 0,14)	- 0,02 (+ 0,12)
61	+ 0,10 (+ 0,13)	- 0,13 (- 0,02)	- 0,15 (- 0,01)
83	+ 0,02 (+ 0,05)	- 0,14 (- 0,03)	- 0,18 (- 0,04)
135	+ 0,05 (+ 0,08)		

## 3. Spaltung von Alanyl-diglycyl-glycin mit Hefepreßsaft.

Zeit in Minuten	a)	b)	c)
	0,206 g Tetrapeptid 0,5 ccm Hefepreßsaft 6,0 ccm Wasser	0,206 g Tetrapeptid 1,5 ccm Hefepreßsaft 5,0 ccm Wasser	0,206 g Tetrapeptid 2,0 ccm Hefepreßsaft 4,5 ccm Wasser
Abgelesener Winkel in Graden			
6	+ 0,82 (+ 0,85)	+ 0,57 (+ 0,68)	+ 0,54 (+ 0,68)
14	+ 0,68 (+ 0,71)	+ 0,40 (+ 0,51)	+ 0,40 (+ 0,54)
24	+ 0,62 (+ 0,65)	+ 0,22 (+ 0,33)	+ 0,21 (+ 0,35)
34	+ 0,49 (+ 0,52)	+ 0,09 (+ 0,20)	+ 0,07 (+ 0,21)
44	+ 0,43 (+ 0,46)	+ 0,04 (+ 0,15)	- 0,01 (+ 0,03)
66	+ 0,24 (+ 0,27)	- 0,09 (+ 0,02)	- 0,11 (+ 0,03)
80	+ 0,18 (+ 0,21)	- 0,10 (+ 0,01)	- 0,10 (+ 0,04)
105	+ 0,12 (+ 0,15)	- 0,11 (+ 0,00)	- 0,15 (- 0,01)
151	+ 0,06 (+ 0,09)	- 0,13 (- 0,02)	- 0,17 (- 0,03)
180	+ 0,05 (+ 0,08)		
375	+ 0,02 (+ 0,05)	- 0,13 (- 0,02)	- 0,14 (- 0,00)

Anhangsweise sei noch ein Versuch, d-Alanyl-glycyl-glycin mit Pankreas- + Darmsaft zu spalten, mitgeteilt.

2,0 ccm Stammlösung =  $\frac{1}{2000}$ -mol. des Tripeptids

0,9 » Pankreassaft

0,1 » Darmsaft

3,5 » Wasser.

Zeit	Abgelesener Winkel in Graden
20 Minuten	+ 0,46 (+ 0,51)
45 »	+ 0,42 (+ 0,47)
75 »	+ 0,55 (+ 0,60)
95 »	+ 0,64 (+ 0,69)
110 »	+ 0,65 (+ 0,70)
4 $\frac{1}{2}$ Stunden	+ 0,66 (+ 0,71)
5 »	+ 0,64 (+ 0,69)
5 $\frac{1}{2}$ »	+ 0,59 (+ 0,64)
6 $\frac{1}{2}$ »	+ 0,55 (+ 0,60)
7 $\frac{3}{4}$ »	+ 0,62 (+ 0,67)
22 $\frac{2}{3}$ »	+ 0,51 (+ 0,56)
26 $\frac{2}{3}$ »	+ 0,51 (+ 0,56)
27 $\frac{1}{2}$ »	+ 0,55 (+ 0,60)
29 $\frac{2}{3}$ »	+ 0,43 (+ 0,48)
32 »	+ 0,39 (+ 0,44)
47 »	+ 0,35 (+ 0,40)
56 »	+ 0,31 (+ 0,36)
70 »	+ 0,30 (+ 0,35)



Hier ist die Spaltung des Tripeptids in anderer Weise erfolgt als bei Anwendung von Hefepreßsaft. Bei letzterem ging die Drehung konstant zurück. Hier fällt das Drehungsvermögen zunächst etwas, um dann wieder stark anzusteigen und zuletzt wieder zu sinken. Bei Anwendung von Hefepreßsaft wurde offenbar hauptsächlich d-Alanin abgespalten, hier jedoch zunächst Glykokoll. Es entstand das stark nach rechts drehende d-Alanyl-glycin. Wir wollen weitere Versuche abwarten, ehe wir bestimmte Schlüsse ziehen. Es ist möglich, daß wir auf diesem Wege zu einer scharfen Unterscheidung der verschiedenartigen peptolytischen Fermente kommen, es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß die Fermentmenge einen Einfluß auf die Art des Abbaus der Polypeptide ausübt. Es fehlte bisher an einer ganz scharfen Methode zur Feststellung der Wirksamkeit einer bestimmten Fermentlösung. Wir werden in Zukunft unsere Fermentlösungen eichen und eine Normalfermentlösung aufstellen. Als eine solche können wir eine Fermentlösung bezeichnen, die in der Zeiteinheit ein bestimmtes Polypeptid um eine ganz bestimmte Größe abbaut. Es wird von Interesse sein, festzustellen, ob eine Fermentlösung, die für Dipeptide geeicht ist, auch für Tri- und Tetrapeptide usw. in Übereinstimmung mit anderen Fermentlösungen steht. Wir hoffen, durch weitere Untersuchungen mit voller Schärfe die Frage entscheiden zu können, ob die peptolytischen Fermente verschiedener Herkunft qualitativ und quantitativ gleiche Wirkung zeigen, wenn sie für ein bestimmtes Polypeptid eingestellt sind. Dann erwarten wir von unseren Versuchen die Ausarbeitung einer einwandfreien quantitativen Methode der Fermentbestimmung. Eine große Summe von Arbeit wird zu bewältigen sein, bis das gesteckte Ziel erreicht ist.

Aus der gleichen Fragestellung heraus ist der folgende Versuch ausgeführt worden. Wie schon mitgeteilt wurde, wird l-Leucyl-glycyl-d-alanin von Pankreassaft + Darmsaft so abgebaut, daß zunächst d-Alanin frei wird. Es entsteht l-Leucyl-glycin, das dann gleichfalls gespalten wird. Bei Anwendung von Hefepreßsaft verläuft die Spaltung in ganz anderer Weise. Es wird l-Leucin abgespalten und es entsteht vorübergehend

Glycyl-d-alanin, wie der folgende Versuch und ein Blick auf das folgende Schema zeigt:

$$\begin{array}{c}
 \overbrace{+ 20^{\circ}} \\
 \text{l-Leucyl-glycyl-d-alanin} \\
 \underbrace{+ 10^{\circ} \quad 0^{\circ} \quad + 2,4^{\circ}} \\
 \underbrace{+ 85^{\circ} \quad - 50^{\circ}}
 \end{array}$$

### Spaltung von l-Leucyl-glycyl-d-alanin mit Hefepreßsaft.

2,5 ccm Stammlösung =  $\frac{1}{2000}$ -mol. Tripeptid

1,0 „ Hefepreßsaft

3,0 „ Wasser.

Zeit in Minuten	Abgelesener Winkel in Graden
3	+ 0,16 (+ 0,23)
10	- 0,09 (- 0,02)
19	- 0,29 (- 0,22)
27	- 0,46 (- 0,39)
38	- 0,60 (- 0,53)
54	- 0,64 (- 0,57)
71	- 0,68 (- 0,61)
102	- 0,62 (- 0,55)
110	- 0,66 (- 0,59)
143	- 0,63 (- 0,56)
190	- 0,60 (- 0,53)
360	- 0,49 (- 0,42)

Die Drehung sinkt sofort und wird negativ. Das Glycyl-d-alanin hat in der vorliegenden Konzentration eine Drehung von  $-0,52^{\circ}$ . Dazu ist noch die Drehung des gebildeten l-Leucins hinzuzuaddieren ( $-0,10^{\circ}$ ). Es ist offenbar das Tripeptid quantitativ zwischen Leucin und Glycin gespalten worden. Bei Anwendung von Pankreas- und Darmsaft war die Drehung zunächst gestiegen und erst später abgefallen. Also auch hier ein Unterschied in dem Angriffspunkt bei den Fermenten verschiedener Herkunft!

Endlich wollen wir noch eine Aufgabe erwähnen, die wir uns gestellt haben. Zunächst wird es nötig sein, die erhaltenen Resultate mit größeren Polypeptidmengen zu wiederholen und durch direkte Isolierung der Spaltprodukte zu kontrollieren, ob der Veränderung des Drehungsvermögens in einem bestimmten

Zeitpunkte der aus der Drehungsänderung erschlossene Verlauf der Hydrolyse tatsächlich entspricht. Wir haben mehrmals beobachtet, daß zunächst aus einem Tripeptid ein Dipeptid entsteht, und erst dieses weiter gespalten wird. Bestätigt der direkte Versuch diesen Schluß, dann gibt uns unsere Methode ein Mittel an die Hand, um Produkte, die bei der partiellen Hydrolyse von Proteinen erhalten worden sind, einmal bis zu einer bestimmten Stufe weiter abzubauen und vor allem, ein derartiges Produkt mit einem synthetischen Polypeptid zu vergleichen. Vorausgesetzt, wir haben durch partielle Hydrolyse aus einem Protein ein Tripeptid gewonnen, daß bei der totalen Hydrolyse dieselben Bausteine und in denselben Mengen liefert, wie ein synthetisches Tripeptid. Es ist nun möglich, daß die beiden Produkte identisch sind, es ist jedoch auch denkbar, daß nur isomere Verbindungen vorliegen. Eine rasche Entscheidung dieser Frage ist möglich, wenn gleiche Mengen beider Produkte in gleicher Konzentration mit gleichen Mengen derselben Fermentlösung hydrolysiert werden. Die Verfolgung des optischen Verhaltens wird sofort Aufschluß geben, ob die beiden Verbindungen identisch sind oder nicht, ja in vielen Fällen wird man im letzteren Falle aus unseren Erfahrungen heraus direkt entscheiden können, in welcher Anordnung die einzelnen Bausteine sich folgen. So glauben wir, daß die vorliegende Methode eine bedeutsame Rolle beim Studium der partiellen Hydrolyse der Proteine spielen wird, und hoffen in nächster Zeit an einem Beispiel ihren praktischen Wert erweisen zu können.

---