

## **Bildung von Prolin bei der Verdauung von Gliadin.**

Von

**Emil Fischer und E. S. London.**

(Der Redaktion zugegangen am 13. Juli 1911.)

Die Menge von Prolin, die man bei der Verdauung von Eiweißkörpern mit Pankreassaft oder mit Pepsinsalzsäure und Pankreatin bisher erhielt, war sehr gering im Vergleich zu der Menge, die bei der Hydrolyse mit Säuren oder Alkalien entsteht. Wir haben deshalb nochmals einen solchen Verdauungsversuch mit Gliadin, das von der Pasewalker Stärkefabrik aus Weizen bereitet war, in folgender Weise ausgeführt. Durch Anlegung einer Fistel beim Hunde in der Mitte des Darmtrakts und durch Fütterung mit Gliadin wurde ein Chymus gewonnen, der die durch den normalen Verdauungssaft entstandenen Spaltprodukte des Gliadins samt den entsprechenden Enzymen in ihrem natürlichen Zustand und Zwischenverhältnis enthielt. Dieser Chymus wurde dann unter Toluolzusatz während 8 bis 9 Monaten im Brutschrank bei 37° gehalten und die nun filtrierte Flüssigkeit bei 40° eingetrocknet. Das in St. Petersburg dargestellte Präparat war eine amorphe, in großen Stücken dunkelbraune, nach dem Zerreiben gelbbraune Masse von eigentümlichem, nicht unangenehmem Geruch, die sich in Wasser zum größten Teile leicht und mit dunkelbrauner Farbe löste. Die in Berlin ausgeführte chemische Untersuchung ergab folgendes.

Bei dreimaligem Auskochen mit der vierfachen Menge absoluten Alkohols ging ungefähr die Hälfte in Lösung. Der beim Verdampfen des Alkohols verbleibende Rückstand wurde mit Wasser behandelt, wobei fettige Substanzen zurückblieben. Ihre Menge betrug ungefähr 20% des alkohollöslichen Teiles. Zum Nachweis des Prolins im wasserlöslichen Teile mußte die Estermethode herangezogen werden, weil die Trennung mit Alkohol hier nicht zum Ziele führt. Um aber sekundäre Wirkung der Salzsäure zu verhindern, wurde die Veresterung in

der Kälte unter Eiskühlung ausgeführt und bei der Verdampfung der alkoholischen Salzsäure unter stark vermindertem Druck die Temperatur des Bades nicht über  $35^{\circ}$  gesteigert. Damit die Veresterung unter diesen Umständen vollständig sei, mußte allerdings die Operation wiederholt werden. Für die Untersuchung auf Prolin diente der bis  $100^{\circ}$  unter 0.2 mm Druck abdestillierte Teil. Die aus den Estern hergestellten Aminosäuren wurden mit Alkohol ausgekocht, der Alkohol verdampft, der Rückstand wieder mit absolutem Alkohol aufgenommen und diese Operation mehrmals wiederholt, bis kein alkoholunlöslicher Teil mehr zurückblieb.

50 g ursprüngliches Chymuspräparat gaben 1.4 g in Alkohol leicht lösliche Aminosäure. Rechnet man sie als Prolin, wie es öfters bei der Hydrolyse von Proteinen geschehen ist, so würde das 2,8% entsprechen. Wir haben das Produkt dann weiter ins Kupfersalz verwandelt und dieses durch Alkohol in zwei Teile getrennt. Der unlösliche betrug 0.62 g, der lösliche 0.98 g. Betrachtet man den löslichen Teil als reines aktives Prolinkupfer, so würde das 1,55% aktivem Prolin entsprechen. Wir haben daraus das reine krystallisierte Salz dargestellt und 0,19 g isoliert, das den richtigen Kupfergehalt Cu 21,56% (ber.: Cu 21,79%) hatte. Die Mutterlaugen enthielten noch viel l-Prolinkupfer, das aber nicht mehr ganz rein herauskrystallisierte.

Der in Alkohol unlösliche Teil des Kupfersalzes bestand zum größten Teil aus racemischem Prolinkupfer, von dem durch Umkrystallisieren aus Wasser 0,4 g rein erhalten wurden.

0,04741 g lufttrockene Substanz verloren bei  $107^{\circ}$  und 12 mm Druck 0,00505 g.

$(C_5H_8O_2N)_2 Cu + 2 H_2O$  (327,75) Ber.:  $H_2O$  10,99

Gef.:  $H_2O$  10,65.

0,04236 g Substanz getrocknet bei  $107^{\circ}$  und 12 mm Druck gaben 0,01147 g CuO.

$(C_5H_8O_2N)_2 Cu$  (291,72) Ber.: Cu 21,79%

Gef.: Cu 21,63%.

Um die Frage zu entscheiden, ob neben freiem Prolin auch Polypeptide desselben in dem Chymusprodukt enthalten

sind, haben wir ein anderes Präparat mit Baryumhydroxyd durch 3 $\frac{1}{2}$ tägiges Erhitzen auf 100° nach E. Fischer und R. Boehner<sup>1)</sup> völlig hydrolysiert und racemisiert und dann das Prolin als Kupfersalz isoliert. Aus 50 g wurde zunächst ein alkoholischer Auszug hergestellt und nach dem Verdampfen des Alkohols der fettige Bestandteil durch Auslaugen mit Wasser entfernt. Die so erhaltenen 20 g gaben 0,534 g reines analysiertes dl-Prolinkupfer. Außerdem wurden noch 0,3 g nicht mehr ganz reines Kupfersalz isoliert. Die Menge an Prolin war also geringer als bei der direkten Isolierung nach der Estermethode. Das liegt an der Schwierigkeit, kleine Mengen Prolin, auch wenn es racemisch ist, durch bloße Krystallisation von den anderen Aminosäuren völlig zu trennen.

Bedenkt man die Unsicherheit der quantitativen Bestimmung so kleiner Mengen Prolin, so ergeben sich folgende Schlüsse:

1. Die Menge, die nach der vollständigen Hydrolyse mit Baryt isoliert werden kann, ist nicht größer als diejenige, die ohne Hydrolyse nach der Estermethode erhalten wird.

2. In dem Trockenrückstand vom Darmchymus des mit Gliadin gefütterten Hundes war nach der langen Verdauung im Brutraum der Gehalt an freiem Prolin annähernd von der gleichen Größenordnung, wie ihn Abderhalden und Samuely<sup>2)</sup> in dem Gliadin (aus Weizenmehl) nach der völligen Hydrolyse mit Säuren festgestellt haben. Sie fanden nämlich 2,4% Gesamtprolin, wobei die Menge des aktiven Prolins aus dem Gewicht des amorphen, also noch unreinen Kupfersalzes berechnet wurde.

Nach diesen Beobachtungen darf man annehmen, daß bei der lang anhaltenden Verdauung des Gliadins das Prolin vollständig oder doch zum allergrößten Teil in Freiheit gesetzt wurde. Dadurch gewinnt die Ansicht, daß die Aminosäure in den Proteinen präformiert ist, eine neue Stütze.

Schließlich sagen wir Herrn Dr. Wilhelm Schneider für die Hilfe bei den chemischen Versuchen besten Dank.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 65, S. 118 (1910).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 44, S. 276 (1905).