

Chemische, physikalische und biologische Studien über die aus den drei Monoaminomonocarbonsäuren: Glykokoll, d-Alanin und l-Leucin darstellbaren strukturisomeren Tripeptide.

Von

Emil Abderhalden und Andor Fodor.

Mit 30 Kurvenzeichnungen im Text.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. August 1912.)

Den folgenden Untersuchungen lagen mehrere Fragestellungen zugrunde. Einmal interessierte es uns, die physikalischen und chemischen Eigenschaften aller strukturisomeren Polypeptide kennen zu lernen, die aus den drei Monoaminomonocarbonsäuren: Glykokoll, d-Alanin und l-Leucin darstellbar sind. Unterscheiden sich die aus diesen drei Aminosäuren aufgebauten Tripeptide in ihren Eigenschaften so scharf, daß sie auf Grund ihres Verhaltens gegenüber bestimmten Lösungs- und Fällungsmitteln usw. voneinander getrennt werden können? Diese Frage war für uns deshalb von so großer Bedeutung, weil der eine von uns (A.) wiederholt beim stufenweisen Abbau von Proteinen verschiedener Art Produkte isolieren konnte, die nach den Resultaten der Elementaranalyse, der totalen Hydrolyse und ihren Eigenschaften ohne Zweifel als Polypeptide angesprochen werden durften, an deren Aufbau eine bestimmte Anzahl bekannter Aminosäuren beteiligt war. Unentschieden blieb die Frage, ob das isolierte Produkt einheitlich war und ferner, in welcher Reihenfolge die einzelnen Aminosäuren sich folgten. Da es in den meisten Fällen unmöglich war, die isolierten Verbindungen zu krystallisieren, so mußte versucht werden, sie durch Fällung zu reinigen. Es gelang in vielen Fällen, auf diesem Wege zu zeigen, daß ein scheinbar ganz einheitliches Produkt doch aus einem Gemisch von strukturisomeren Verbindungen bestand. Die Verfolgung des Drehungsvermögens der einzelnen Fraktionen war in den meisten Fällen wegleitend. Eine Mitteilung der in mehrjähriger Arbeit gewonnenen Resultate erübrigt sich, weil im allgemeinen nur diejenigen Befunde wertvoll sind, denen bestimmt charakterisierte, sicher einheitliche Verbindungen zugrunde liegen.

Zu der großen Schwierigkeit, die durch den Umstand gegeben ist, daß ohne Zweifel die verschiedenartigsten Abbauprodukte von Proteinen ähnliche Eigenschaften aufweisen, kommt noch hinzu, daß es vorläufig fast unmöglich ist, die Gewinnung eines bestimmten Produktes so exakt zu beschreiben, wie es notwendig wäre, um das gleiche Produkt unter den gleichen Bedingungen stets wieder zu erhalten. Die einzelnen Operationen sind so zahlreich und so wechselnd und ferner über einen so großen Zeitraum verteilt, daß es schwer, ja ganz unmöglich ist, den einfachsten Weg zu beschreiben, um die Produkte einer partiellen Hydrolyse zu trennen. Alle nach dieser Richtung unternommenen Untersuchungen stellen tastende Versuche dar. Es fehlt zurzeit eine bestimmte Methodik. Es hängt oft an einer Kleinigkeit, ob eine Krystallisation gelingt oder nicht. Ebenso glückt es oft, durch Fällung zu einheitlichen Verbindungen zu gelangen, während in anderen Fällen immer wieder Gemische ausfallen. Unsere Kenntnisse sind viel zu gering, um zurzeit einzelne Polypeptide auf Grund ihrer Eigenschaften ohne weiteres aus dem bei der Hydrolyse eines Proteins auftretenden Gemische von Spaltprodukten abtrennen zu können. Zeichnet sich auch ein bestimmtes Polypeptid im reinen Zustand durch eine bestimmte Eigenschaft vor allen anderen aus, so wird es doch im allgemeinen nicht gelingen, es auf Grund dieses speziellen Verhaltens zu gewinnen, weil die einzelnen Abbauprodukte sich in ihren Eigenschaften auffallend stark beeinflussen. In Alkohol unlösliche Körper lösen sich, wenn Gemische vorliegen, z. B. spielend leicht in diesem Lösungsmittel. Ja selbst die synthetisch dargestellten Polypeptide zeigen je nach dem Grade der Reinheit ganz verschiedene Eigenschaften. Oft gewinnt man den Eindruck, als würden Isomeren ganz besonderer Art vorliegen, indem ganz reine Polypeptide, die z. B. sich in Alkohol spielend lösten, nach mehrmaligem Eindampfen ihrer Lösung plötzlich in Alkohol vollständig unlöslich werden. Es gibt Polypeptide und vor allem Diketopiperazine, die sich aus keinem Lösungsmittel in Krystallform erhalten lassen, die jedoch beim Sublimieren prachttvolle Krystalle ergeben.

Das Studium einer ganzen Reihe von strukturisomeren Polypeptiden mußte eindeutig ergeben, ob unsere Vermutung, daß im allgemeinen strukturisomere Polypeptide sich durch ihre Löslichkeitsverhältnisse wenig unterscheiden, zutreffend ist. Ferner mußte eine solche Untersuchung positive Anhaltspunkte für diejenigen Eigenschaften der einzelnen Polypeptide ergeben, in denen die Unterschiede groß genug sind, um eine Identifizierung zu ermöglichen. Als eine solche Eigenschaft ergab sich das optische Verhalten. Alle sechs aus den genannten Monoaminosäuren aufgebauten Tripeptide zeigen ein verschiedenes Drehungsvermögen. Würde man in der Natur oder bei der partiellen Hydrolyse eines Proteins oder Peptongemisches eine Verbindung in reinem Zustande abtrennen können, die die Bausteine Glykokoll, d-Alanin und l-Leucin besitzt und ferner das Molekulargewicht eines Tripeptids aufweist, so könnte man ihre Struktur auf Grund ihres spezifischen Drehungsvermögens feststellen. Es dürfte das isolierte Produkt allerdings nicht wesentlich racemisiert sein!

Vergleicht man die in der unten mitgeteilten Tabelle übersichtlich zusammengestellten Eigenschaften der einzelnen Tripeptide, dann erkennt man ohne weiteres, wie schwer es ist, aus dem Hydrolysat von Proteinen einheitliche, wohl charakterisierte Produkte zu gewinnen. Es wird verständlich, weshalb die weitere Forschung auf dem Gebiete der Eiweißchemie so auffallend langsame Fortschritte macht. Ja zurzeit erscheint es fast unmöglich, daß es mit den jetzigen Methoden gelingen könnte, ein Peptongemisch restlos in seine Bestandteile aufzulösen und schließlich ein lückenloses Bild aller Abbaustufen aus einem bestimmten Protein zu geben. Die Frage, ob alle Bausteine im Eiweißmolekül säureamidartig untereinander verknüpft sind, läßt sich einstweilen nur vermutungsweise beantworten. Sind Peptone ausschließlich Gemische von Polypeptiden oder erfolgen auch Spaltungen in noch unbekannter Richtung?

Die Feststellung, daß selbst sechs aus drei Aminosäuren aufgebaute strukturisomere Tripeptide nur schwer voneinander zu unterscheiden sind, zeigt ohne weiteres, wie außerordentlich vorsichtig man bei der

Identifizierung von Proteinen sein muß. Niemals wird man zwei Eiweißkörper als identisch oder auch nur als ähnlich ansprechen dürfen, weil sie analoge Eigenschaften zeigen. Auch die Resultate der totalen Hydrolyse können hier keine Entscheidung liefern. Alle sechs von uns dargestellten Tripeptide würden bei der totalen Hydrolyse genau die gleichen Bausteine in genau den gleichen Mengenverhältnissen geben. Bedenkt man, daß in den verschiedenen Eiweißarten im allgemeinen alle bisher bekannten Aminosäuren vorkommen und die Menge jeder einzelnen Aminosäure von Protein zu Protein wechselt, dann versteht man, weshalb einzig und allein durch strukturisomere Verschiedenheiten eine gewaltige Zahl verschiedenartiger Eiweißstoffe mit zum Teil ähnlichen, zum Teil aber auch ganz verschiedenen Eigenschaften möglich sind. Jede Pflanzen- und Tierart kann sehr wohl eigenartige Proteine besitzen, ja selbst jeder Zellart kann im gleichen Organismus wiederum Eiweiß besonderer Art zukommen. Unsere physikalischen Methoden sind einstweilen zu grob, um feinere Unterschiede aufzudecken, es sei denn, daß die Kolloidchemie hier Wandlung schaffe. Da jedoch jedes Kolloid und speziell das Eiweiß in den Eigenschaften vom Milieu in hervorragendem Maße abhängig ist, wird man kaum erwarten dürfen, ein klares Bild der Eigenschaften des genuinen Eiweißkörpers an Hand eines isolierten und gereinigten Proteins zu erhalten. Man wird höchstens eine Anzahl verschiedenartiger Proteine unter den gleichen Bedingungen vergleichen können. Schlüsse auf das Verhalten der Eiweißkörper in den einzelnen Zellen wird man jedoch aus diesen Studien kaum ziehen können.

Den Hauptfortschritt auf dem Gebiete der Eiweißchemie erwarten wir immer noch von weiteren Forschungen auf dem Gebiete der partiellen Hydrolyse. Es ist nicht ausgeschlossen, daß neue Methoden entdeckt werden, die rascher zum Ziel führen, als die zurzeit vorhandenen. Eine wesentliche Bereicherung bedeutet schon die Formoltitration nach Soerensen und die Bestimmung des Aminostickstoffs nach van Slyke. Diese Methoden gestatten rasch zu entscheiden, ob man es in einem bestimmten Falle mit einem Polypeptid zu tun hat oder einem Gemisch von freien Amino-

säuren. Ferner kann man leicht feststellen, ob nach erfolgter totaler Hydrolyse der erwartete Aminostickstoffwert vorhanden ist. Beide Methoden haben uns bei der Untersuchung der Spaltprodukte, die bei der partiellen Hydrolyse auftreten, schon ausgezeichnete Dienste erwiesen.

Schließlich wollen wir noch die Frage aufwerfen, ob es möglich wäre, mit den bisherigen Methoden ein künstliches Gemisch der sechs reinen, strukturierten Tripeptide in seine Komponenten zu zerlegen. Wir müssen die Möglichkeit einer solchen Trennung als wenig wahrscheinlich bezeichnen. Das Verhalten der Kupfersalze und die verschiedene Fällbarkeit mit Phosphorwolframsäure könnten vielleicht zur Abtrennung des einen oder anderen Tripeptids führen, wenn nicht die große Gefahr bestünde, daß im Gemisch die einzelnen Tripeptide sich in ihren Eigenschaften stark beeinflussen. Würde man nun ein solches Gemisch in der Natur antreffen, dann würde man finden, daß es mit Phosphorwolframsäure fällt. Der Niederschlag löst sich im Überschuß des Fällungsmittels. Das isolierte Produkt würde ein bestimmtes Drehungsvermögen haben. Immer wieder würde man ein Produkt mit gleichen physikalischen Eigenschaften erhalten. Das Molekulargewicht würde immer das gleiche sein. Die Elementaranalyse würde immer die gleichen Werte ergeben. Die totale Hydrolyse würde ferner zu genau den gleichen Aminosäuren führen, endlich würden die Ausbeuten an den einzelnen Bausteinen immer die gleichen sein, und schließlich würde auch z. B. das Verhältnis von N : Cu des dargestellten Kupfersalzes immer annähernd das gleiche bleiben. Der Schluß, daß hier ein einheitlicher Körper vorliegt, wäre gegeben. Kein einziger Eiweißkörper konnte bisher auch nur annähernd durch so viele Befunde charakterisiert werden und doch begegnet man noch häufig der Behauptung, daß die mit durchweg ganz rohen Methoden abgetrennten Proteine einheitlicher Natur seien. Das angeführte Beispiel des Verhaltens von sechs strukturierten Tripeptiden, die uns gleichsam als Modelle dienten, dürfte genügen, um zu zeigen, daß wir keinen einzigen der bis jetzt untersuchten Eiweißkörper als einheitlich ansprechen dürfen.

Es ist möglich, daß das eine oder andere der bis jetzt isolierten Proteine einheitlich ist, doch fehlen jegliche Beweise. Die Unsicherheit in der Beurteilung der Natur der zur Untersuchung gestellten Eiweißkörper kann manchen neueren Bestrebungen gegenüber nicht genug betont werden. Es gilt dies sowohl für die rein chemische Forschung, wie für die physikalische. Niemand kann zurzeit den Beweis führen, ob sogenanntes Eiweiß aus einer Verbindung besteht oder nicht vielmehr ein sehr komplexes Gemisch darstellt.

Das Studium des Verhaltens von Gemischen bekannter, wohl definierter Polypeptide wird noch in mancher Hinsicht von großem Interesse werden. Es sei nur einer Beobachtung gedacht, die der eine von uns (A.) gemacht hat. Einzelne Polypeptide, die mit Ammonsulfat aussalzbar sind, verlieren diese Eigenschaft, wenn man bestimmte andere, nicht aussalzbare Polypeptide zufügt. Nun beruhen manche Trennungen von Peptonen auf Aussalzung durch bestimmte Salzlösungen. Eine quantitative Trennung kann auch in solchen Fällen durch die Anwesenheit bestimmter Verbindungen verhindert sein und bei quantitativen Untersuchungen zu ganz unsicheren Schlüssen führen. Wir werden diese Studien fortsetzen.

Wir haben die vorliegende Untersuchung noch aus anderen Gesichtspunkten heraus unternommen. Der eine von uns (A.) hat wiederholt darauf hingewiesen, daß die optisch aktiven Polypeptide ein ganz vorzügliches Substrat zu qualitativen und quantitativen Fermentstudien abgeben.¹⁾ Es läßt sich im allgemeinen ganz scharf feststellen, an welcher Stelle Polypeptide zuerst angegriffen werden. Da das Drehungsvermögen aller Bruchstücke eines optisch-aktiven Polypeptids genau bekannt ist, läßt sich aus der eintretenden Drehungsänderung des Substrat-Ferment-Gemisches genau ableiten, in was für Teile das angewandte Polypeptid zerfällt. Man kann die erhobenen Resultate dazu verwenden, um Produkte, die man unter den Abbauprodukten von Proteinen ge-

¹⁾ Vgl. zu den hier erörterten Fragestellungen: Emil Abderhalden: Schutzfermente des tierischen Organismus. Ein Beitrag zur Kenntnis der Abwehrmaßregeln des tierischen Organismus gegen körperl-, blut- und zellfremde Stoffe. J. Springer, Berlin, 1912.

funden hat, zu identifizieren. Die Art des Abbaus durch ein bestimmtes Ferment könnte als weiterer Beweis für das Vorliegen eines bestimmten Polypeptids dienen. Außerdem kann man mit Hilfe der optischen Methode den Zeitpunkt genau festlegen, in dem ein bestimmter Abbau sein Maximum erreicht hat. Man kann dann die Fermentwirkung unterbrechen und die zu erwartenden Bruchstücke einzeln abscheiden und identifizieren.

Wir haben zunächst den Abbau der dargestellten Tripeptide mit Hilfe von Hefemazerationssaft studiert und gefunden, daß in allen Fällen der Abbau in ganz typischer Weise einsetzte. Stets wurde die Aminosäure abgespalten, die die Aminogruppe trug. In einigen Fällen war die Entscheidung der Art der Spaltung dadurch sehr erschwert, daß die möglichen Spaltprodukte sich im Drehungsvermögen nicht scharf genug unterschieden. Diese Fälle sind in der unten mitgeteilten Tabelle durch ein ? kenntlich gemacht. Hier müßte die Isolierung der Spaltprodukte Klarheit schaffen, doch reichte das uns zur Verfügung stehende Material in keinem Falle aus.

Preßsaft aus Leber zeigte eine analoge Spaltung, wie der Hefemazerationssaft, dagegen spaltete aktivierter Pankreassaft d-Alanyl-glycyl-l-leucin, l-Leucyl-d-alanyl-glycin und l-Leucyl-glycyl-d-alanin in anderer Weise. Wir dachten daran, daß die Konzentration des Substrates oder des Fermentes oder auch die Reaktion des Gemisches einen Einfluß auf die Art des Abbaus haben könnte. Wir haben deshalb besondere Versuche angestellt, um diese Möglichkeiten zu ergründen. Wir erhielten in allen Fällen immer die gleiche Art des Abbaus.

Preßsaft von einer normalen menschlichen Pankreasdrüse ergab die gleiche Spaltung, wie der Leberpreßsaft. Ebenso verhielt sich Preßsaft aus der Pankreasdrüse eines Falles von Diabète broncé, eines gewöhnlichen Diabetes melitus¹⁾ und einer Basedowschen Krankheit. Bemerkenswert ist die rasche Spaltung der angewandten Polypeptide durch den Pankreaspreßsaft bei Diabetes.

Aus diesen Beobachtungen scheint hervorzugehen, daß die Zelfermente die Tripeptide stets in der gleichen Art ab-

¹⁾ Dieser Fall ist nur qualitativ geprüft worden.

bauen. Es entstehen somit in diesen Fällen immer die gleichen Abbaustufen. Ein anderes Verhalten zeigt nur der aktivierte Pankreassaft. Er spaltet in anderer Richtung. Dieses Verhalten ist geeignet, um in zweifelhaften Fällen Pankreassaft scharf von den sogenannten intracellulären Fermenten zu trennen. Es wird von großem Interesse sein, festzustellen, ob bei anderen Polypeptiden analoge Unterschiede gegenüber den Zellfermenten sich ergeben.

Im Anschluß an eine Beobachtung von Euler¹⁾ haben wir geprüft, ob Phosphate den Abbau durch bestimmte Fermentlösungen beschleunigen. Wir fanden beim Hefemazerationssaft keinen Einfluß, dagegen war eine sehr beträchtliche Beschleunigung wahrnehmbar, als wir Pankreas- und Leberpreßsaft verwendeten. Diese Beobachtungen müssen erweitert werden, bevor bestimmte Schlüsse und neue Fragestellungen an sie geknüpft werden können.

Schließlich haben wir die Darstellung von stereoisomeren Polypeptiden noch unternommen, um Substrate zu erhalten, die es ermöglichen, bestimmte Lebewesen, vor allem Mikroorganismen zu unterscheiden und auf ihre Eigenart zu prüfen. Es wäre wohl denkbar, daß ein bestimmtes Lebewesen ein bestimmtes Tripeptid abbaut und die anderen strukturisomeren Tripeptide unberührt läßt. Ferner wäre es denkbar, daß zwei verschiedene Bakterien ein bestimmtes Tripeptid zwar gemeinsam abbauen, jedoch den Abbau in verschiedener, ganz typischer Weise durchführen. Wir halten derartige Untersuchungen für außerordentlich wichtig. Sie würden ohne Zweifel mancherlei Einblicke in die Eigenart des Stoffwechsels der einzelnen Mikroorganismen eröffnen und uns in den Stand setzen, manche dieser Lebewesen direkt zu erkennen. Wir haben vorläufig *Bact. coli* und den *Typhusbacillus* untersucht. Auffallenderweise wurde kein einziges der untersuchten fünf Tripeptide (nicht geprüft wurde l-Leucyl-glycyl-d-alanin) abgebaut. Als Nährlösung verwandten wir die Fränkensche Lösung. Als

¹⁾ Vgl. hierzu: Hans Euler, Verhalten der Kohlenhydratphosphorsäureester im Tierkörper. Diese Zeitschrift, Bd. 79, S. 375 (395), 1912.

einzigste Stickstoffquelle wurden die Tripeptide zugesetzt. Versuche, die etwa 5 Jahre zurückliegen, hatten bereits gezeigt, daß viele Mikroorganismen Polypeptide nur schwer angreifen. Es wäre sehr verlockend, auf breiterer Grundlage die angeregten Fragestellungen zu verfolgen. Leider fehlen uns die Mittel, um derartige Untersuchungen mit Erfolg durchzuführen.

Die vorliegenden Untersuchungen waren nur möglich, weil der Vorstand des Rockefeller Institute for medical Research dem einen von uns (A.) in liebenswürdigster Weise Mittel zur Verfügung stellte. Es ist uns eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank abzustatten.

Die folgende Tabelle gibt die hauptsächlichsten Resultate der ganzen Untersuchung wieder. Sie enthält die physikalischen und chemischen Eigenschaften der dargestellten Verbindungen und ferner die Art der Spaltung durch die einzelnen Fermentlösungen. Es sei noch hinzugefügt, daß alle Tripeptide mit Ausnahme von l-Leucyl-d-alanyl-glycin (l-Leucyl-glycyl-d-alanin haben wir nicht geprüft) mit Phosphorwolframsäure fallen. Die Fällung löst sich leicht im Überschuß des Fällungsmittels. Einzig der Niederschlag mit d-Alanyl-glycyl-l-leucin löst sich etwas schwerer.

Eine weitere Tabelle zeigt in übersichtlicher Weise, in welcher Weise die Tripeptide von den einzelnen Fermentlösungen abgebaut wurden. Sie zeigt, wie die Art des Abbaus aus der Änderung des Drehungsvermögens erschlossen wurde.

Endlich sei noch erwähnt, daß wir uns mit der Frage nach der Aktivierung von Fermenten beschäftigt haben. Es wird allgemein angenommen, daß das Trypsinzymogen durch die Entero-kinase des Darmsaftes aktiviert wird. Es schien uns nicht ausgeschlossen, daß manche Aktivatoren in der Art wirken, daß sie das Substrat als solches so verändern, daß es durch das sog. Fermentzymogen nunmehr abgebaut werden kann. Man müßte in diesem Falle von einer Aktivierung des Substrates sprechen und den Begriff der Fermentvorstufe fallen lassen. Bis jetzt konnten wir (vgl. Versuche S. 37) eine primäre Veränderung eines Substrates durch die Entero-kinase nicht feststellen. Immerhin erscheint es uns von

Tabelle I.

	F. P. (unkorr.)	Löslichkeitsverhältnisse	Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} =$	Literatur
Chloracetyl-d-alanyl- l-leucin	169°	Wasser: k. sl., h. s. l. Alkohol: s. l. Äther: z. s. l. Essigäther: k. sl., h. l. Petroläther: u.	- 51,58° in Alkohol	—
Chloracetyl-l-leucyl- d-alanin	136—7°	Wasser: k. z. l., h. s. l. Alkohol: s. l. Äther: k. sl., h. z. sl. Essigäther: k. z. s., h. l. Petroläther: u.	- 41,52° in Alkohol	—
α -d-Brompropionyl-glycyl- l-leucin	152°	Wasser: k. z. l. Alkohol: s. l. Äther: k. sl., h. z. l. Essigäther: k. sl., h. l. Petroläther: u.	+ 14,71° in Alkohol	—
α -d-Brompropionyl-l-leucyl- glycin	154—5°	Wasser: k. sl., h. s. Alkohol: s. l. Äther: k. und h. sl. Essigäther: k. sl., h. l. Petroläther: u.	- 24,84° in Alkohol	—
α -d-Bromisocapronyl- d-alanyl-glycin	129°	Wasser: k. sl., h. l. Alkohol: s. l. Äther: k. sl., h. l. Essigäther: k. z. sl., h. l. Petroläther: u.	- 2,52° in Alkohol	—
α -d-Bromisocapronyl- glycyl-d-alanin.	188° (korr.)	Wasser: k. sl., h. l. Alkohol: nicht Äther: bestimmt Essigäther: u. Petroläther: u.	+ 20,4° in Alkohol	E. Fischer und J. Steingröver, Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 365, S. 167 (1909)

Abkürzungen:

k. = kalt

h. = heiß

s. = sehr

z. = ziemlich

sl. = schwer löslich

l. = leicht löslich

u. = unlöslich

Tabelle I. — Fortsetzung.

Tripeptid	Zer- setzungs- punkt (unkorr.)	Löslichkeits- verhältnisse	Spezi- fische Drehung [α] _D ²⁰ =	Atom- verhältnis Cu : N des amorphen Cu-Salzes	Biuret- reak- tion	Fermentative Spaltung erfolgt			
						bei An- wendung von Hefe- mazera- tionsaft in	bei Anw. von mit Darmsaft aktiviert. Pankreas- präp. in	bei Anw. v. mensch- lichem Pankreas- prelsaft in	bei Anw. von nor- malem Pankreas- prelsaft und von solchem bei Dia- betes und Morbus Basedowii
Glycyl- d-alanyl- l-leucin	239—40°	H ₂ O : k. z. l., h. s. l. C ₂ H ₅ OH : u. (absol.)	— 89,86° in H ₂ O	1 Cu : 4 N	stark	Glykokoll + d-Alanyl- l-leucin	?	?	?
Glycyl- l-leucyl- d-alanin	235—36°	H ₂ O : k. s. l. C ₂ H ₅ OH : u.	— 59,04° in H ₂ O	1 Cu : 4 N	stark	Glykokoll + l-Leucyl- d-alanin	?	?	?
d-Alanyl- glycyl- l-leucin	243°	H ₂ O : k. s. l. C ₂ H ₅ OH : u.	— 11,20° in H ₂ O	1 Cu : 4 N	stark	d-Alanin + Glycyl- l-leucin	d-Alanyl- glycin + l-Leucin	d-Alanin + Glycyl- l-leucin	d-Alanin + Glycyl-l-leucin (Diabetes)
d-Alanyl- l-leucyl- glycin	246—47°	H ₂ O : k. s. l. C ₂ H ₅ OH : u.	— 30,41° in H ₂ O	1 Cu : 4 N	stark	d-Alanin + l-Leucyl- glycin	d-Alanin + l-Leucyl- glycin	d-Alanin + l-Leucyl- glycin	d-Alanin + l-Leucyl- glycin (Diabet. u. Basedow)
l-Leucyl- d-alanyl- glycin,	252—53°	H ₂ O : k. sl., h. z. l. C ₂ H ₅ OH : u.	— 17,31° in H ₂ O	1 Cu : 3 N	schwach	l-Leucin + d-Alanyl- glycin	l-Leucin + d-alanin ? Glykokoll	l-Leucin + d-Alanyl- glycin	l-Leucin + d-Alanyl- glycin (Basedow)
l-Leucyl- glycyl- d-alanin ¹⁾	249°	H ₂ O : l. löslich C ₂ H ₅ OH : u.	+ 20,3° in H ₂ O	Nicht fest- gestellt	violett- blaue Färbung	l-Leucin + Glycyl- d-alanin ²⁾	l-Leucyl- glycin + d-alanin ²⁾	—	norm. menschl. Pankreaspre- saft spalten in gleicher Weise

¹⁾ E. Fischer und J. Steingröver, loc. cit.

²⁾ Emil Abderhalden und A. H. Kölker, Weiterer Beitrag zur Kenntnis des Verlaufs der fermentativen Poly-peptidspaltung unter verschiedenen Bedingungen, Diese Zeitschrift, Bd. 54, S. 363 (1908), und Bd. 55, S. 416 (1908).

Tabelle II.

I.	$\overbrace{-89,86^\circ}^{\text{Glycyl-d-alanyl-l-leucin}}$ $\underbrace{-50^\circ}_{\text{Glycyl}} \quad \underbrace{-10,34^\circ}_{\text{-l-leucin}}$	} Bei diesen beiden Tripeptiden ist der Verlauf der Spaltung, sichtbar gemacht im optischen Rohr, nicht scharf erkennbar, da die Spaltungsprodukte, ebenso wie die Tripeptide selbst, linksdrehend oder nur wenig rechtsdrehend sind. Die Spaltprodukte (Dipeptide) unterliegen bereits der weiteren Spaltung, bevor noch die völlige Spaltung des Tripeptids zu denselben erreicht ist, wodurch der Verlauf der Spaltung verdeckt wird.
	$\overbrace{-89,86^\circ}^{\text{Glycyl-d-alanyl-l-leucin}}$ $0^\circ \quad \underbrace{-17,21^\circ}_{\text{-l-leucin}}$	
II.	$\overbrace{-59,04^\circ}^{\text{Glycyl-l-leucyl-d-alanin}}$ $\underbrace{-35,09^\circ}_{\text{Glycyl}} \quad \underbrace{+2,7^\circ}_{\text{-l-leucyl}}$	
	$\overbrace{-59,04^\circ}^{\text{Glycyl-l-leucyl-d-alanin}}$ $0^\circ \quad \underbrace{+10^\circ}_{\text{-d-alanin}}$	

III.	$\overbrace{-11,20^\circ}^{\text{d-Alanyl-glycyl-l-leucin}}$ $+50,2^\circ \quad \underbrace{-10,34^\circ}_{\text{-l-leucin}}$	} aktiviert. Pankreas- präparat.
------	---	--

	$\overbrace{-11,20^\circ}^{\text{d-Alanyl-glycyl-l-leucin}}$ $+2,7^\circ \quad \underbrace{-35,09^\circ}_{\text{-l-leucin}}$	} Hefesaft, Leber- Pankreas- preßsäfte.
--	--	--

IV.	$\overbrace{-30,41^\circ}^{\text{d-Alanyl-l-leucyl-glycin}}$ $\underbrace{-17,21^\circ}_{\text{d-Alanyl}} \quad 0^\circ$	} nicht gefunden.
-----	--	----------------------

	$\overbrace{-30,41^\circ}^{\text{d-Alanyl-l-leucyl-glycin}}$ $+2,7^\circ \quad \underbrace{+85,99^\circ}_{\text{-l-leucyl}}$	} Hefesaft, Leber- Pankreas- preßsäfte, aktiv. Pan- kreaspräp.
--	--	---

V.	$\overbrace{-17,31^\circ}^{\text{l-Leucyl-d-alanyl-glycin}}$ $+10^\circ \quad 0^\circ$	} aktiviert. Pankreas- präparat.
----	--	--

	$\overbrace{-17,31^\circ}^{\text{l-Leucyl-d-alanyl-glycin}}$ $\underbrace{-10,34^\circ}_{\text{l-Leucyl}} \quad \underbrace{+50,2^\circ}_{\text{-d-alanyl}}$	} Hefesaft, Leber- Pankreas- preßsäfte.
--	--	--

VI.	$\overbrace{+20,3^\circ}^{\text{l-Leucyl-glycyl-d-alanin}}$ $+85,99^\circ \quad \underbrace{+2,7^\circ}_{\text{-d-alanin}}$	} aktiviert. Pankreas- präparat.
-----	---	--

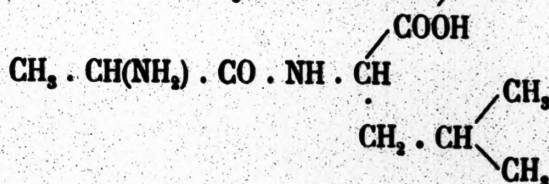
	$\overbrace{+20,3^\circ}^{\text{l-Leucyl-glycyl-d-alanin}}$ $\underbrace{-10,34^\circ}_{\text{l-Leucyl}} \quad \underbrace{-50^\circ}_{\text{-glycyl}}$	} Hefe- preßsaft.
--	---	----------------------

Wichtigkeit, daß in jedem einzelnen Falle die Bedeutung und die Wirkungsart der sog. Aktivatoren und vor allem ihr Angriffspunkt genau studiert wird.

Experimenteller Teil.

Glycyl-d-alanyl-l-leucin.

d-Alanyl-l-leucin.¹⁾



10 g l-Leucin (1 Mol.) wurden in 76,3 ccm n-NaOH (1 Mol.) gelöst und unter starker Kühlung mit 15,9 g d-Brompropionylchlorid (1,2 Mol.) und portionenweiser Zufügung von 114,4 ccm n-NaOH (1,5 Mol.) gekuppelt. Das nach dem Ansäuern ausgefallene Öl wurde wiederholt in Äther gelöst und mit Petroläther ausgefällt und mit letzterem verrieben. Es erstarrte schließlich bei starker Kühlung mittels Kältegemisches zu einer harten krystallinischen Masse, die jedoch bei gewöhnlicher Temperatur wieder in den sirupösen Zustand überging. Ebenso verhielt sich jener Anteil des öligen Kupplungsproduktes, der aus dem ätherischen Extrakte des Kochsalzrückstandes gewonnen wurde. Letzterer hinterblieb beim Eindampfen der schwachsalzsauren Flüssigkeit unter stark vermindertem Druck.

Der zähe Sirup (11 g) wurde mit der zehnfachen Menge 25-0/10igen wässerigen Ammoniaks bei Zimmertemperatur 5 Tage lang amidiert, die Lösung sodann im Vakuum eingedampft und der verbleibende Rückstand mit Wasser aufgenommen. Diese Lösung wurde mit Silbersulfat so lange geschüttelt, bis das gesamte Brom ausgefällt war. Das Filtrat von Bromsilber wurde nach dem Fällen des Silbers mit Schwefelwasserstoff und Vertreiben des Überschusses an diesem Gas durch einen Luftstrom mit Barytlösung quantitativ von der Schwefelsäure befreit. Das Filtrat vom Baryumsulfat wurde nach starkem Eindunsten bei 12 mm Druck mit soviel absolutem Alkohol versetzt, bis

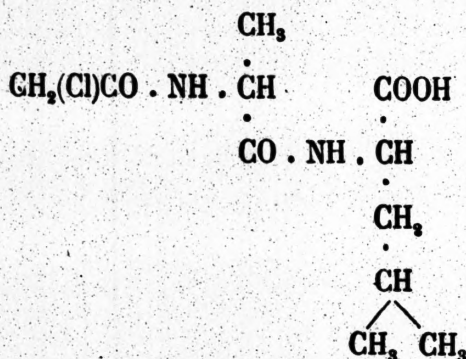
¹⁾ E. Fischer, Synthese von Polypeptiden, XVII. Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Jg. 40, S. 1754, 1907.

eine auch beim Kochen bleibende Trübung verblieb. Beim langsamen Abkühlen schied sich ein weißer krystallinischer Brei ab. Er wurde abgesaugt und gewaschen (5 g).

Bestimmung des Drehungsvermögens. 0,1160 g Substanz in H_2O gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 6,5872 g. $d = 1,004$. α (im $1/2$ -dm-Rohr) = $-0,15^\circ$. $[\alpha]_D^{20} = -16,96^\circ$.

Die Mutterlauge enthielt noch ca. 1 g des Dipeptids.

Chloracetyl-d-alanyl-l-leucin.



5 g des Dipeptids obiger Drehung wurden in 25 ccm n-Natronlauge (1 Mol.) gelöst und mit 3,5 g Chloracetylchlorid ($1\frac{1}{3}$ Mol.) und 37,1 ccm n-Natronlauge (1,5 Mol.) in der gewohnten Weise gekuppelt. Die filtrierte Lösung gab beim schwachen Übersäuern sofort eine farblose krystallinische Ausscheidung, die abgetrennt und ausgewaschen wurde. Ausbeute: 5 g. Das so erhaltene Produkt schmilzt bei 169° (unkorr.) zu einer klaren Flüssigkeit. Nach dem Umkrystallisieren aus siedendem Essigester und Auswaschen der beim Verdunsten erhaltenen Krystalle mit Petroläther steigt der Schmelzpunkt auf 175° (unkorr.). Das beim Ansäuern direkt ausfallende Produkt besteht aus mikroskopischen Blättchen. Eine aus heißem Alkohol umkrystallisierte Probe gibt jedoch schon makroskopisch sichtbare, vogelfederartig gruppierte und gekrümmte Nadeln. Beim Eindunsten der salzsauren Mutterlauge unter vermindertem Drucke (12 mm) schieden sich noch 0,5 g der gleichen Krystalle aus. Der feste Eindampfrückstand hingegen gab nach dem Ausziehen mit Essigester, Trocknen des Auszuges mit Magnesiumsulfat und Verdunsten des Lösungsmittels einen öligen Rückstand, der nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

Löslichkeitsverhältnisse:

- Äther : auch in der Wärme ziemlich schwer löslich.
- Essigäther : kalt schwer, heiß leicht löslich.
- Petroläther: unlöslich.
- Alkohol : sehr leicht löslich.
- Wasser : kalt schwer, heiß sehr leicht löslich.

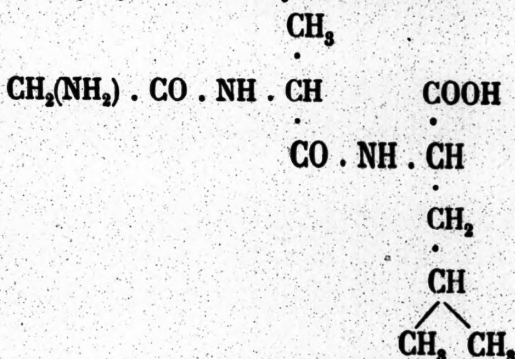
Analysen:

0,1096 g Substanz:	0,0542 g AgCl	
0,1221 g »	: 0,2142 g CO ₂	
	0,0751 g H ₂ O	
0,1211 g »	: 8,90 ccm ¹ / ₁₀ -n-H ₂ SO ₄ (Kjeldahl).	
Berechnet für C ₁₁ H ₁₉ N ₂ ClO ₄ (= 278,61):		Gefunden:
C 47,38%		47,84
H 6,87%		6,88
Cl 12,73%		12,23
N 10,06%		10,30

Optisches Verhalten:

0,4166 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst. Gesamtgewicht = 6,4154 g. d = 0,806; α (5 cm-Rohr) = -1,35°. [α]_D²⁰ = -51,58°.

Glycyl-d-alanyl-l-leucin:



4,5 g vom obigen bei 175° schmelzenden Chlorkörper wurden 6 Tage lang mit der 5 fachen Menge 25%igen Ammoniaks bei Zimmertemperatur amidirt. Nach dem Verdunsten der Lösung im Vakuum wurde mit ganz wenig Wasser wieder aufgenommen und die Lösung am Wasserbade mit absolutem Alkohol bis zur bleibenden Trübung versetzt. Beim Abkühlen im Eisschrank schied sich das Tripeptid in dicken, schnee-

weißen Flecken aus, die abgesaugt und ausgewaschen wurden (2,9 g). Das so gewonnene Produkt erwies sich als ein halogenfreier, geschmackloser, bei 239—40° (unkorr.) unter Aufschäumen und Braunfärbung schmelzender Körper (239° beginnendes Sintern und Bräunung). Derselbe löst sich bereits in kaltem Wasser ziemlich leicht auf, viel leichter jedoch in der Wärme. In absolutem Alkohol ist das Tripeptid vollständig unlöslich. Die wässrige Lösung reagiert gegen Lackmus schwachsaure. Biuretreaktion sehr stark.

Die Reinigung wurde durch Umkrystallisation aus Wasser versucht. Beim Verdunsten der wässrigen Lösung erhält man makroskopische, feine, farblose Nadeln als Ausscheidung, die konstant bei 239—40° unter Zersetzung schmelzen. Die Mutterlauge gibt beim vollständigen Verdunsten die gleichen Nadeln vom gleichen Schmelzpunkt.

Analysen:

0,1221 g Substanz: 0,2307 g CO₂

0,0874 g H₂O

0,0986 g > : 11,23 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄ (Kjeldahl).

Berechnet für C₁₁H₂₁O₄N₃ (= 259,19): Gefunden:

C 50,93 51,53

H 8,16 8,01

N 16,21 15,95

Optisches Verhalten:

0,2657 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung = 7,8205 g. d = 1,009; α (im 5-cm-Rohr) = — 1,54°.

[α]_D²⁰ = — 89,85°.

Kupferverbindung:

Beim längeren Kochen der wässrigen Tripeptidlösung mit überschüssigem Kupferoxyd erhält man nach dem Filtrieren eine blauviolette Lösung. Dieselbe hinterläßt beim Verdunsten eine hellblaue, amorphe, glasige Masse. Dieselbe ist in absolutem Alkohol ziemlich schwer löslich, leicht in verdünntem.

Analysen:

0,1382 g Substanz: 0,0241 CuO

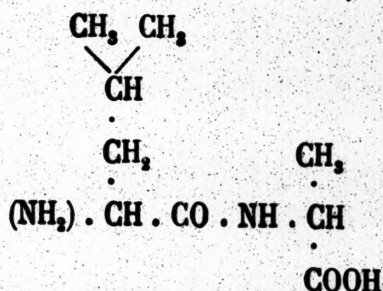
0,1286 g > : 11,30 ccm ⁿ/₁₀-H₂SO₄ (Kjeldahl).

Hieraus ergibt sich ein Atomverhältnis von 1 Cu : 4 N.
 Für 4 C₁₁H₂₁O₄N₃ · 3 CuO · 6 H₂O (= 1381,68).

Berechnet:	Gefunden:
13,81% Cu	13,93% Cu
12,17% N	12,31% N.

Glycyl-l-leucyl-d-alanin.

l-Leucyl-d-alanin.¹⁾



Zur Darstellung des d-Bromisocapronyl-d-alanins wurden 1,25 Mol. Alanin in 1,25 Mol. n-Natronlauge gelöst und mit 1 Mol. d-Bromisocapronylchlorid + 1,3 Mol. n-Natronlauge wie gewöhnlich gekuppelt. Beim Übersäuern gelangte sogleich ein öliges Produkt zur Ausscheidung, das mit Äther aufgenommen wurde. Die eingeeengte, vorher getrocknete ätherische Lösung wurde nun mit Petroläther versetzt und der ausgefallene trübe Sirup mit letzterem längere Zeit und wiederholt gewaschen.

Nach nochmaligem Umfällen mit Petroläther aus der essig-ätherischen Lösung erstarrte das zunächst wieder nur als zähes Öl ausfallende Produkt im evakuierten Exsikkator zu einer festen Krystallmasse. Sie wurde mit größeren Mengen Petroläthers gründlich gewaschen, abgesaugt und die Umfällung aus Essigäther wiederholt. Diesmal wurde jedoch durch eine ungenügende Hinzufügung von Petroläther die plötzliche Ausfällung vermieden und die Lösung der langsamen Verdunstung ausgesetzt. Hierbei gelangten schöne Nadeln vom d-Bromisocapronyl-d-Alanin zur Auskrystallisation, die abgesaugt, gewaschen und im evakuierten Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet wurden.

¹⁾ E. Fischer, Synthese von Polypeptiden, XV. Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Jg. 39, S. 2893, 1906.

Optische Bestimmung:

0,2525 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 0,2380 g. $d = 0,802$. α (im 5-cm-Rohr) = $+ 0,68^\circ$. $[\alpha]_D^{20} = + 20,95^\circ$.

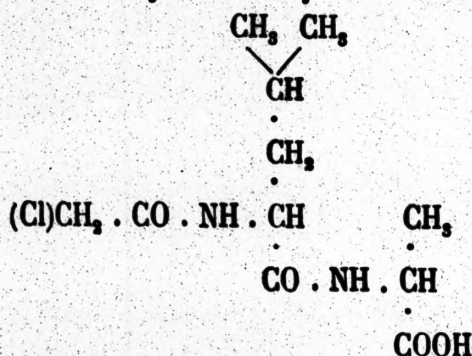
Die so erhaltenen Krystalle von d-Bromisocapronyl-d-alanin wurden mit der 5fachen Menge 25%igen Ammoniaks 5 Tage lang bei Zimmertemperatur amidiert und hernach, wie oben bei der Darstellung von d-Alanyl-l-leucin erwähnt, weiter verfahren. Das Filtrat vom Baryumsulfat wurde auch hier bei 12 mm eingedunstet und die stark konzentrierte Lösung mit überschüssigem absoluten Alkohol versetzt. Die im Eisschrank allmählich entstandene gelatinös erscheinende Ausscheidung wurde abgesaugt und mit absolutem Alkohol gewaschen (F. 240°). Durch Verdunstung der Mutterlauge wurden noch weitere 2 Fraktionen gewonnen, eine vom Schmelzpunkt 240° , die zweite zeigte F. = 235° .

Die bei 240° schmelzenden Fraktionen wurden in siedendem Methylalkohol aufgelöst. Beim langsamen Verdunsten erhält man schöne, schneeweiße feine Nadeln von F. $254-55^\circ$ (unkorr.), die von der Mutterlauge abgesaugt und mit kaltem Methylalkohol gewaschen wurden.

Optische Untersuchung:

0,1934 g Substanz in Methylalkohol gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 5,0505 g. $d = 0,790$. α (im 5-cm-Rohr) = $+ 0,30^\circ$. $[\alpha]_D^{20} = + 19,84^\circ$.

Chloracetyl-l-leucyl-d-alanin.



6,3 g l-Leucyl-d-alanin wurden in 32,3 ccm n-Natronlauge (1 Mol.) gelöst und in der gewohnten Weise mit 4,4 g Chlor-

acetylchlorid (1,25 Mol.) + 46,4 ccm n-Natronlauge (1,5 Mol.) gekuppelt. Beim Übersäuern entstand eine sirupöse Ausscheidung, von welcher die Lösung abdekantiert wurde. Letztere wurde hierauf bei 12 mm Druck vollständig eingedampft und der Trockenrückstand mit heißem Essigäther erschöpft. Der mit Magnesiumsulfat getrocknete Auszug gab beim Verdunsten ebenfalls einen sirupösen Rückstand.

Die beiden Anteile des sirupösen Kupplungsproduktes wurden hierauf getrennt und Äther mehrmals verrieben, wobei das Produkt krystallinisch wurde und abgesaugt werden konnte. Beide Anteile zeigten nach dem Auswaschen mit Äther und Trocknen $F. = 132^{\circ}$ (124° Sintern). Die Gesamtausbeute betrug 4,5 g. Behufs Reinigung wurde das Produkt aus heißem Essigäther umkrystallisiert. Beim langsamen Verdunsten schieden sich weiße Krystalle aus, die abgesaugt und mit Petroläther gewaschen wurden. $F. 136-137^{\circ}$. Beim Schmelzen entsteht eine klare Flüssigkeit. Bei ungefähr 130° tritt Sintern ein.

Die aus der alkoholischen Lösung durch Verdunstung gewonnenen Krystalle zeigen unter dem Mikroskope unscharfkantige Prismen.

Die ätherischen Waschflüssigkeiten hinterließen beim Eindunsten eine sirupöse Masse, die beim Verreiben mit Äther und Chloroform in ein halbfestes Produkt umgewandelt wurde. Dasselbe erstarrte zum Teil beim Verreiben mit Petroläther. Durch Umfällen dieser Masse aus ihrer essigätherischen Lösung mit Petroläther wurden weitere 1,2 g bei 136° schmelzender Krystalle gewonnen, die jedoch schon bei 100° zu sintern begannen.

Analysen.

Zur Analyse wurde die bei $136-137^{\circ}$ schmelzende Partie verwendet.

0,0951 g Substanz: 0,1652 g CO_2 ; 0,0587 g H_2O .
0,1138 g > 0,0570 g AgCl.
0,1041 g > 7,62 ccm $1/10$ -n- H_2SO_4 (Kjeldahl).

Berechnet für $C_{11}H_{19}N_2ClO_4$ (278,61):	Gefunden:
C 47,38%	47,38%
H 6,87%	6,91%
Cl 12,73%	12,38%
N 10,06%	10,25%

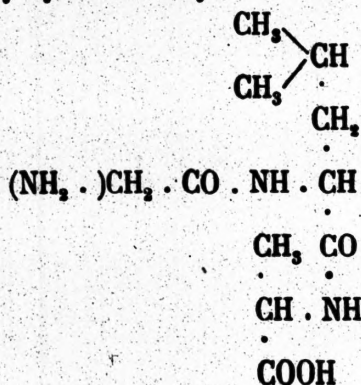
Optisches Verhalten:

0,2667 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 5,5569 g, $d = 0,803$; α (im 5-cm-Rohr) = $-0,80^\circ$. $[\alpha]_D^{20} = -41,52^\circ$.

Löslichkeitsverhältnisse:

Äther: kalt sehr schwer lösl., heiß ziemi. schwer lösl.,
 Essigäther: » ziemi. schwer lösl., » leicht löslich,
 Petroläther: unlöslich,
 Alkohol: sehr leicht löslich,
 Wasser: kalt ziemlich löslich, heiß sehr leicht löslich.

Glycyl-l-leucyl-d-alanin.



4 g des obigen Chlorkörpers wurden mit der fünffachen Menge 25%igen wässrigen Ammoniaks 5 Tage hindurch bei Zimmertemperatur amidiert. Die weitere Verarbeitung war die gleiche, wie beim vorherigen Tripeptid. Es wurden 2,5 g eines aus der wässrigen Lösung und Alkohol in großen weißen Flocken ausgefallenen Produktes gewonnen, das F. = 235 bis 236° unter dunkelbrauner Färbung, bald mit, bald ohne Gasentwicklung aufweist. Bei 221° tritt leichte Bräunung ein. Das Tripeptid ist bereits in kaltem Wasser spielend leicht löslich, unlöslich in absolutem Alkohol. Es zeigt sehr deutliche Biuretreaktion.

Zwecks Reinigung wurde das Produkt in wenig Wasser gelöst und die Lösung am Wasserbade eingedunstet. Das

Tripeptid scheidet sich hierbei auf der Oberfläche in konzentrisch angeordneten, seidenglänzenden Nadeln aus, die so dicht aneinandergelagert sind, daß sie leicht dentritische Blättchen vortäuschen. Sowohl diese als auch der beim völligen Eindunsten der Mutterlauge hinterbleibende Rückstand zeigen $F. = 235-36^\circ$.

Analysen.

0,1591 g Substanz:	0,2950 g CO_2 ,	0,1158 g H_2O .
0,0979 g	11,12 ccm $1/10\text{-n-H}_2\text{SO}_4$.	
Berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_3$ (259,19):	Gefunden:	
C	50,93%	50,57%
H	8,16%	8,14%
N	16,21%	15,91%

Optisches Verhalten:

0,2415 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 9,8254 d = 1,006; α (in 1-dm-Rohr) = $-1,46^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -59,04^\circ$$

Kupferverbindung.

Die Darstellung geschah genau so, wie es beim Glycyl-d-alanyl-l-leucin beschrieben wurde. Die wässrige Lösung der Kupferverbindung ist rotviolett gefärbt. In absolutem Alkohol ist das Produkt ziemlich löslich, leichter in verdünntem Alkohol.

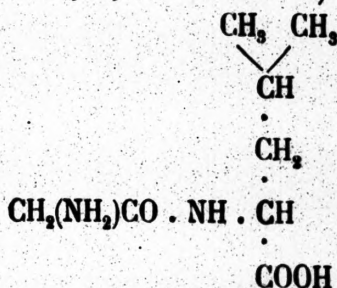
Analyse:

0,1395 g Substanz: 0,0244 g $\text{CuO} = 13,97\%$ Cu.

Vgl. den entsprechenden Wert bei der Kupferverbindung des Glycyl-d-alanyl-l-leucins.

d-Alanyl-glycyl-l-leucin.

Glycyl-l-leucin.¹⁾



1 Mol. l-Leucin wurde in 1 Mol. n-Natronlauge gelöst

¹⁾ Jos. Steingroever, Synthese einiger Polypeptide mit Beziehung zu dem Isobutyldiketopiperazin. Diss., Berlin (Chem. Inst. d. Univ.), 1907.

und wie vorher mit 1,25 Mol. Chloracetylchlorid + 1,5 Mol. n-Natronlauge unter starker Kühlung gekuppelt. Bei der Zugabe der berechneten Menge 5-fach normaler Salzsäure begann sofort die Ausscheidung des schön krystallisierenden Reaktionsproduktes, das nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank abgesaugt wurde. $F. = 132-133^{\circ}$. Nach einmaligem Auskrystallisieren aus Wasser wurde die optische Drehung bestimmt.

Optische Bestimmung.

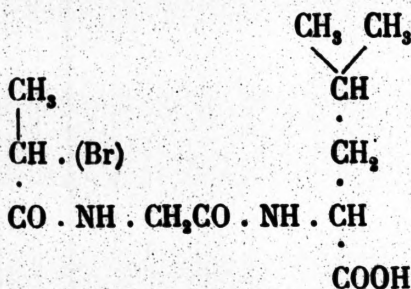
0,6228 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst. Gesamtgewicht der Lösung 6,1036 g, $d = 0,809$, α im 5 cm-Rohr $= -0,57^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -13,82^{\circ}$.

Die Amidierung erfolgte durch fünf Tage langes Stehenlassen bei Zimmertemperatur mit der 10fachen Menge 25%igen wässerigen Ammoniaks. Nach dem Eindampfen der ammoniakalischen Flüssigkeit im Vakuum zur Trockene wurde der Rückstand mit wenig heißem Wasser aufgenommen und die Lösung mit absolutem Alkohol bis zur bleibenden Trübung versetzt. Die bald entstandene, dicke weiße Krystallausscheidung wurde nach 12-stündigem Stehen in der Kälte abgesaugt.

Optische Untersuchung:

0,2281 g Substanz in Wasser gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 7,3646 g; $d = 1,008$, α (im 5-cm-Rohr) $= -0,55^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -35,23^{\circ}$.

d- α -Brompropionyl-glycyl-l-leucin:



6 g des Dipeptids (1 Mol.) wurden in 32 ccm (1 Mol.) n-Natronlauge gelöst und mit 6,5 g (1,2 Mol.) d- α -Brompropionylchlorid + 43 ccm (1,3 Mol.) n-Natronlauge gekuppelt. Beim vorsichtigen Übersäuern mit 5-fach n-Salzsäure gelangte ein farbloses harziges Produkt zur Ausscheidung, das behufs Be-

freierung von der eingeschlossenen Mutterlauge mit kaltem Wasser verrieben und damit gewaschen wurde. Das so behandelte Produkt erstarrte über Nacht im Exsikkator vollständig und wurde aus heißem Essigäther umkrystallisiert. Beim langsamen Verdunsten schieden sich schöne sternförmig angeordnete Nadeln ab, die sich sodann zu einem Brei vermehrten. Er wurde abgesaugt und von der Mutterlauge ausgewaschen. $F. = 145^{\circ}$ (unkorr.). Die Mutterlauge gab beim Versetzen mit Petroläther Krystalle von $F. = 130^{\circ}$, die aus Essigäther nochmals umkrystallisiert, bei 145° schmolzen.

Die vom ursprünglichen Harz abdekantierte schwach salzsaure Lösung gab beim Kratzen der Gefäßwand in der Kälte eine weiße Krystallabscheidung, die sich über Nacht im Eisschrank stark vermehrte. Die abgesaugte Krystallmasse zeigte nach dem Trocknen $F. = 147^{\circ}$.

Die Mutterlauge wurde unter vermindertem Druck bei 12 mm weiter eingedampft, wobei sich vom Kupplungsprodukt noch weitere Mengen ($F. = 145-147^{\circ}$) abgeschieden haben. Gesamtausbeute: 7 g. Die nochmalige Umkrystallisation aus Essigester ergab makroskopische, konzentrisch gruppierte Nadeln oder Prismen von $F. = 152^{\circ}$ [konstant] (unkorr.). Unter dem Mikroskope zeigte ein aus absolutem Alkohol gewonnener Anteil schöne rosettenförmig angeordnete scharfkantige, dünne und lange Prismen.

Analysen:

0,1015 g Substanz: 0,1526 g CO_2 , 0,0547 g H_2O .

0,1218 » » : 0,0691 » AgBr.

0,0982 » » : 6,30 ccm $\frac{1}{10}$ -n-Schwefelsäure.

Berechnet für $C_{11}H_{19}O_4N_2Br$ (= 323,12):		Gefunden:
C	40,85%	41,00%
H	5,92%	6,03%
Br	24,74%	24,14%
N	8,67%	8,99%

Löslichkeitsverhältnisse:

Essigäther : heiß leichtlöslich, kalt viel schwerer.

Petroläther: unlöslich.

Äther : kalt schwer, heiß etwas leichter.

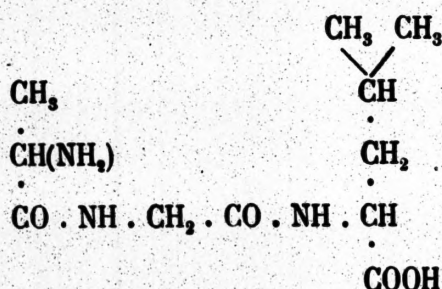
Alkohol : sehr leicht löslich.

H₂O : schon in der Kälte ziemlich leicht löslich.

Optisches Verhalten:

0,4730 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst: Gesamtgewicht der Lösung 6,1270 g, $d = 0,810$, α (im 5-cm-Rohr) = $+ 0,46^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = + 14,71^\circ$.

d-Alanyl-glycyl-l-leucin.



5 g des Bromkörpers wurden unter genau den gleichen Bedingungen wie die vorher beschriebenen Produkte amidiert. Beim Versetzen der vom Ammoniak im Vakuum völlig befreiten konzentrierten Tripeptidlösung mit absolutem Alkohol entstand nach einiger Zeit im Eisschrank eine weiße kristallinische Abscheidung, die nach längerem Stehen abgesaugt und gewaschen wurde. Ausbeute 3 g. Geschmackloses Pulver. Es ist in kaltem Wasser sehr leicht löslich, unlöslich in absolutem Alkohol. Das Produkt gibt ausgesprochene Biuretreaktion.

Bei der Verdunstung einer wässrigen Lösung am Wasserbade kristallisiert das Tripeptid an der Oberfläche der Lösung in seidenglänzenden Nadeln aus, die abgesaugt und getrocknet $F. = 243^\circ$ unter Gasentwicklung und Zersetzung aufweisen (bei 235° leichte Bräunung, bei $238\text{--}240^\circ$ Dunkelbraunfärbung).

Die Mutterlauge gibt beim vollständigen Verdunsten als Rückstand die gleich schmelzenden Krystalle.

Analysen:

0,1018 g Substanz: 0,1897 g CO₂, 0,0770 g H₂O.
 0,0808 „ „ : 9,47 ccm $\frac{1}{10}$ -n-H₂SO₄.

Berechnet für $C_{11}H_{21}O_4N_3$ (Mol.-Gew. = 259,19):	Gefunden:
C 50,93%	50,82%
H 8,16%	8,46%
N 16,21%	16,42%

Optisches Verhalten:

0,2468 g Substanz in Wasser gelöst: Gesamtgewicht der Lösung 11,5777 g; $d = 1,005$; α (im 1-dm-Rohr) = $-0,24^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -11,20^\circ$.

Kupferverbindung:

Sie wurde ebenso dargestellt, wie es bei den vorherigen Tripeptiden beschrieben wurde. Das Kupfersalz bildet eine blaue glasige Masse, die sich in Wasser mit ultramarinblauer Farbe auflöst. In absolutem Alkohol ist es schwer löslich, leichter in verdünntem.

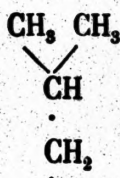
Analysen:

0,1157 g Substanz: 0,0204 g CuO = 14,09% Cu.

Vgl. den entsprechenden Wert der Kupferverbindung des Glycyl-d-alanyl-l-leucins.

d-Alanyl-l-leucyl-glycin.

l-Leucyl-glycin.¹⁾



8,1 g Glykokoll (1,2 Mol.) wurden in 106 ccm n-Natronlauge gelöst (1,2 Mol.) und mit 19 g d- α -Bromisocapronylchlorid (1 Mol.) und 115 ccm n-Natronlauge gekuppelt. Nach dem Übersäuern mit 5fach n-Salzsäure fiel ein hellgelbes zähes Öl aus, das nach dem Dekantieren der wässrigen Lösung mit Äther aufgenommen wurde. Die dekantierte Flüssigkeit wurde bei 12 mm eingedampft und der Rückstand ebenfalls mit Äther extrahiert. Der mit Magnesiumsulfat getrocknete ätherische Auszug wurde mit Petroläther versetzt, wobei wieder ein öliges Produkt zur Ausfällung gelangte. Nach Auflösen des Öls in

¹⁾ Emil Fischer, Synthese von Polypeptiden, XV., Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Jg. 39, S. 2893, 1906.

heißem Chloroform schied sich beim Abkühlen ein farbloses krystallinisches Produkt vom $F. = 117-118^{\circ}$ ab (1,5 g). Die Krystalle erwiesen sich als zum größten Teile racemisiertes d- α -Bromisocapronyl-glycin, da sie $[\alpha]_D^{20} = +28,07^{\circ}$ aufwiesen.

Die Chloroform-Mutterlauge wurde eingengt und die sirupöse Lösung mit Petroläther gefällt. Anfangs fiel das Produkt ölig hinaus, wiederholte man jedoch diese Art der Umfällung, so erstarrte es schließlich zu einem krystallinischen Brei, der abgesaugt werden konnte. $F. = 79-80^{\circ}$ (12 g).

Die Reinigung erfolgte durch Auflösen in heißem Wasser und Verdunsten der von einem öligen Anteil abfiltrierten Lösung im Vakuum. Hierbei gelangten schöne weiße Krystalle zur Ausscheidung. $F. = 82^{\circ}$ [unkorr.] Optische Bestimmung 0,3558 g Substanz in absolutem Alkohol; Gesamtgewicht 12,2125 g; $d = 0,801$; α im 1-dm-Rohr $= +1,48^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = +63,39^{\circ}$.

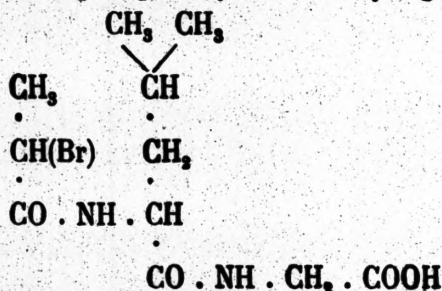
10 g des Bromkörpers wurden mit der 10-fachen Menge 25%igen Ammoniaks 5 Tage lang bei Zimmertemperatur amidiert. Die Isolierung des Dipeptids erfolgte nach der oben schon beschriebenen Silbersulfat-Methode. Das vom Baryumsulfatniederschlag abgetrennte Filtrat hinterließ beim Verdunsten im Vakuum einen Rückstand von 7 g, der in wenig Wasser gelöst wurde. Diese Lösung wurde am Wasserbade bis zur bleibenden Trübung mit Alkohol versetzt und der entstandene Krystallbrei abgesaugt (5 g).

Optische Untersuchung.

0,1356 g in Wasser gelöst; Gesamtgewicht der Lösung 6,7860 g. $d = 1,005$, α (im $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr) $= 0,85^{\circ}$;

$$[\alpha]_D^{20} = -84,56^{\circ}.$$

α -d-Brompropionyl-l-leucyl-glycin:



5 g l-Leucyl-glycin wurden in 27 ccm (1 Mol.) n-Natronlauge gelöst und mit 5,7 g (1,3 Mol.) d-Brompropionylchlorid

und 40 ccm n-Natronlauge (1,5 Mol.) gekuppelt. Nach dem Übersäuren mit 5fach n-Salzsäure entstand nach einigem Stehen unter Eiskühlung ein farbloser krystallinischer Niederschlag, der nach 16-stündigem Stehen in der Kälte abgesaugt wurde. Ausbeute $5\frac{1}{2}$ g; F. = 153—154°. Die Reinigung wurde aus heißem Essigäther unternommen. Beim Verdunsten der heißen Lösung kommt der Körper in schneeweißen Krystallen heraus, die bei 154—155° konstant schmelzen (schmelzen zu einer klaren Flüssigkeit. Sintern 1° vorher). Aus heißem Alkohol auskrystallisiert, zeigt die Substanz unter dem Mikroskope schöne seeigelförmig zusammengewachsene feine Nadeln.

Durch Verdunstung des salzsauren Filtrats im Vakuum, Extraktion des Rückstandes mit siedendem Äther (zur Entfernung der Bromfettsäure) und mit siedendem Essigäther erhält man durch Eindunsten des Essigätherauszuges einen öligen Rückstand, der nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

Löslichkeitsverhältnisse:

- Äther : kalt und heiß schwer löslich.
 Essigäther : kalt schwer, heiß leicht löslich.
 Petroläther: unlöslich.
 Alkohol : sehr leicht löslich.
 H₂O : kalt schwer, heiß sehr leicht löslich.

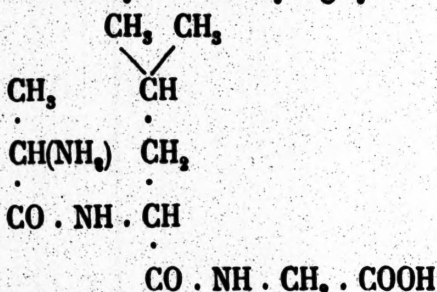
Analysen:

0,1438 g Substanz:	0,2157 g CO ₂ ,	0,0774 g H ₂ O.
0,1309 »	»	: 0,0755 » AgBr.
0,0998 »	»	: 6,05 ccm $\frac{1}{10}$ -n-H ₂ SO ₄ .
Berechnet für C ₁₁ H ₁₉ O ₄ N ₂ Br (= 323,12):	Gefunden:	
C	40,85 %	40,91 %
H	5,92 %	6,02 %
Br	24,74 %	24,54 %
N	8,67 %	8,49 %.

Optisches Verhalten:

0,3102 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 6,0885 g, d = 0,806, α (im $\frac{1}{2}$ -dm-Rohr) = -0,51°; $[\alpha]_D^{20}$ = -24,84°.

d-Alanyl-l-leucyl-glycin:



4,2 g des Bromkörpers wurden in gewohnter Weise amidiert. Die mit überschüssigem Alkohol versetzte konzentrierte wässrige Tripeptidlösung begann nach einiger Zeit bei Eiskälte die weiße krystallinische Masse des Tripeptids auszuscheiden. Nach 24 Stunden wurde abgesaugt und gewaschen. Ausbeute: 2,7 g schneeweißes, geschmackloses Pulver. Das Tripeptid ist in kaltem Wasser sehr leicht löslich, unlöslich in absolutem Alkohol. Beim Eindunsten der wässrigen Lösung erhält man wunderschöne krystallinische Nadeln, die so gruppiert sind, wie bei den früher beschriebenen Tripeptiden angegeben wurde. Diese Krystalle haben $F. = 246-47^\circ$ und schmelzen unter Zersetzung und Dunkelbraunfärbung (bei 235° fängt die Braunfärbung an). Die eingedampfte Mutterlauge hinterläßt Krystalle vom genau gleichen Schmelzpunkt.

Das Tripeptid gibt sehr starke Biuretreaktion.

Analysen:

0,1073 g Substanz: 0,1990 g CO_2 , 0,0785 g H_2O .

0,0834 " " : 9,60 ccm $^{1/10}\text{-n-H}_2\text{SO}_4$.

Berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_3$ (= 259,19): Gefunden:

C	50,93%	50,58%
H	8,16%	8,18%
N	16,21%	16,13%

Optisches Verhalten.

0,2269 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 10,8426 g, $d = 1,005$, α (im 1-dm-Rohr) = $-0,64^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -30,43$.

Kupferverbindung.

Die Darstellung erfolgte in gewohnter Weise. Die wässrige Lösung der graublauen glasigen Masse ist violettrot gefärbt.

In absolutem Alkohol schwer löslich, in verdünntem Alkohol leichter.

Analyse:

0,1040 g Substanz: 0,0184 g CuO = 14,13% Cu.
Vgl. Kupferverbindung von Glycyl-d-alanyl-l-leucin.

l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

d-Alanyl-glycin:¹⁾

CH₃

CH · NH₂

CO · NH · CH₂ · COOH

10,4 g Glykokoll (1,3 Mol.) wurden in 138 ccm n-Natronlauge (1,3 Mol.) gelöst und mit 18 g d-Brompropionylchlorid (1 Mol.) und 138 ccm n-Natronlauge in der gewöhnlichen Weise gekuppelt. Nach Eindampfen der übersäuerten Lösung bei 12 mm Druck wurde der Rückstand mit siedendem Äther erschöpfend ausgekocht und der getrocknete Auszug des letzteren eingedunstet. Die konzentrierte ätherische Lösung gab nach dem Versetzen mit Petroläther eine ölige Fällung, die im Eisschrank nach wenigen Minuten krystallinisch zu erstarren begann. Nach 12 Stunden erstarrte das Öl vollständig und wurde mit Petroläther gewaschen und abgesaugt (15 g).

Optische Bestimmung:

0,2079 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 6,0022 g, $d = 1,005$, α (im 2-cm-Rohr) = $+ 0,26^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = + 37,33^\circ$.

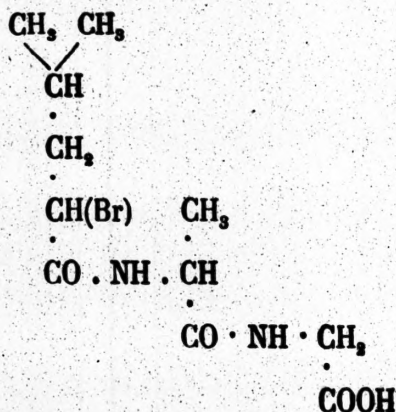
Die Amidierung erfolgte mit der 10fachen Menge 25%igen wässerigen Ammoniaks (5 Tage, Zimmertemperatur).

Das Dipeptid wurde nach der Silbersulfatmethode isoliert. Das sich hierbei ergebende Filtrat vom Baryumsulfatniederschlag wurde nach dem Verdunsten bei 12 mm mit wenig Wasser aufgenommen und die Lösung mit Alkohol versetzt. Bald begann die Krystallisation des Dipeptids (8,5 g).

¹⁾ E. Fischer, Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellsch., Jg. 41, S. 850 (1908).

Optische Bestimmung.

0,1930 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 6,2240 g, $d = 1,004$, α (im $1/2$ -dm-Rohr) = $+ 0,75^\circ$, $[\alpha]_D^{20} = + 48,33^\circ$.

 α -d-Bromisocapronyl-d-alanyl-glycin:

5 g des Dipeptids (1 Mol.) wurden in 34,3 ccm (1 Mol.) n-Natronlauge gelöst und mit 9,2 g (1,25 Mol.) d- α -Bromisocapronylchlorid und 51 ccm (1,5 Mol.) n-Natronlauge gekuppelt. Am Schluß wurde von wenig öligter Masse abfiltriert und mit 5-fach normaler Salzsäure vorsichtig übersäuert. Die sofort entstandene dicke weiße krystallinische Ausscheidung wurde nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank abgesaugt und ausgewaschen. Zur Reinigung wurde der Körper aus siedendem Essigäther umkrystallisiert. Beim langsamen Verdunsten der Lösung scheidet sich das Produkt in schönen Krystallen aus, die abgesaugt und mit Petroläther gewaschen wurden. Bei 129° schmilzt der Körper zu einer klaren Flüssigkeit (aus Essigäther konst.). In heißem Wasser gelöst, scheidet er sich beim Erkalten in hübschen sternförmig gruppierten Nadelchen aus, die ebenfalls bei 129° (unkorr.) schmelzen (Ausbeute 7 g).

Nach vollständigem Verdunsten des salzsauren Filtrats im Vakuum und Ausziehen des Rückstandes mit siedendem Essigäther und Fällen des getrockneten und eingengten Auszuges mit Petroläther erhält man eine krystallinische Ausfällung. Da dieselbe trotz längeren Waschens mit Petroläther klebrig blieb, so wurde sie aus heißem Wasser umkrystallisiert. Beim Verdunsten der wässerigen Lösung entstanden wenige

Zentigramm Krystalle, die abgesaugt, gewaschen und auf Ton gepreßt F. = 197° besaßen und 25° höher unter Braunfärbung zersetzt wurden.

Dieses Produkt wurde nicht weiter untersucht.

Löslichkeitsverhältnisse:

- Äther : kalt schwer, heiß etwas leichter löslich.
 Essigäther : kalt ziemlich schwer, heiß leicht löslich.
 Petroläther: unlöslich.
 Alkohol : leicht löslich.
 H₂O : kalt recht schwer, heiß leicht löslich.

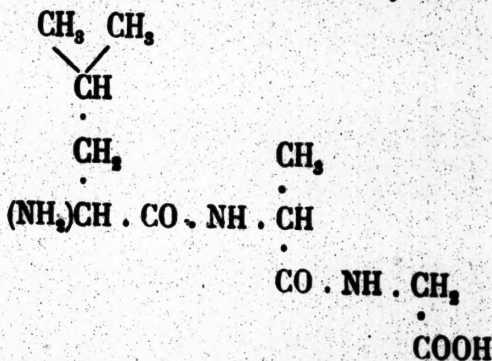
Analysen:

0,1017 g Substanz:	0,0604 g AgBr.	
0,1373 »	»	: 0,2050 g CO ₂ , 0,0735 g H ₂ O.
0,1124 »	»	: 6,99 ccm ¹ / ₁₀ -N-H ₂ SO ₄ .
Berechnet für C ₁₁ H ₁₉ O ₄ N ₂ Br (= 323,12):		Gefunden:
C	40,85 %	40,72 %
H	5,92 %	5,99 %
Br	24,74 %	25,26 %
N	8,67 %	8,71 %

Optisches Verhalten:

0,3143 g Substanz in absolutem Alkohol gelöst. Gesamtgewicht der Lösung: 6,3890 g, d = 0,806; α (in ¹/₂-dm-Rohr) = - 0,05°; [α]_D²⁰ = - 2,52°.

l-Leucyl-d-alanyl-glycin:



4 g des Bromkörpers wurden mit der 5-fachen Menge 25%igen Ammoniaks 5 Tage lang bei Zimmertemperatur amidiert. Beim Verdunsten der Lösung im Vakuum begann sehr

bald die weiße krystallinische Abscheidung des Tripeptids, die sich beim weiteren Eindampfen stark vermehrte. Der Rückstand wurde hierauf in heißem Wasser gelöst und die Lösung mit überschüssigem Alkohol versetzt, worauf sogleich eine voluminöse Ausscheidung begann. Dieselbe wurde nach 12-stündigem Stehen bei Eiskälte abgesaugt.

Das Tripeptid ist in kaltem Wasser schwer löslich, leichter in der Hitze. In absolutem Alkohol löst es sich nicht. Beim Eindunsten der wässerigen Lösung erhält man sehr schöne, makroskopisch sichtbare feine Nadeln, die sich an der Oberfläche ausscheiden. Dieselben färben sich bei 244° bräunlich und schmelzen unter starker Braunfärbung und Zersetzung bei $252\text{--}53^{\circ}$. Die Mutterlauge gibt beim vollständigen Eindunsten einen Rückstand mit dem identischen Schmelz- resp. Zersetzungspunkt.

Das Tripeptid gibt im Gegensatz zu den vorigen 4 Isomeren eine sehr schwache (gleiche Bedingungen!) Biuretprobe.

Analysen:

0,0748 g Substanz:	0,1379 g CO_2 ,	0,0552 g H_2O .
0,1160 »	: 13,53 ccm $n_{10}\text{-H}_2\text{SO}_4$.	
0,0906 »	: 8,90 » N nach Van Slyke	(735 mm, 24°).

Berechnet für $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_3$ (= 259,19);	Gefunden:
C 50,93%	50,28%
H 8,16%	8,25%
N 16,21%	16,34%
Amino-N: 5,40%	5,45%

Optisches Verhalten:

0,2389 g Substanz in Wasser gelöst. Gesamtgewicht der Lösung = 20,7410 g, $d = 1,003$; α (im 1-dm-Rohr) = $-0,20^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -17,31^{\circ}$.

Kupferverbindung.

Dieselbe ist eine blaugefärbte amorphe, glasige Masse, die aber im Gegensatz zu den 4 anderen Isomeren in absolutem Alkohol sehr leicht löslich ist. Diese Lösung ist, wie

auch die wässrige, tiefblau gefärbt. Beim Versetzen mit Äther gibt die alkoholische Lösung eine flockige Ausscheidung, die besonders analysiert wurde.

Analysen:	Gefunden:
0,1137 g Subst.: 0,0242 g CuO	= 17,01 % Cu.
0,1712 „ „ : 13,29 ccm n_{10} -H ₂ SO ₄ (Kjeldahl)	= 10,87 % N.

Das Atomverhältnis stellt sich somit als 3 N : 1 Cu heraus.
Für C₁₁H₂₁O₄N₃ · CuO · 2 H₂O (= 374,83 g). Ber.: 16,98 % Cu.
11,21 % N.

Das aus der absoluten alkoholischen Lösung mit Äther ausgefällte Produkt gab folgendes Resultat:

0,1404 g Substanz: 0,0324 g CuO = 18,44 % Cu.

Für C₁₁H₂₁O₄N₃ · CuO (= 338,79). Berechnet: 18,77 % Cu.

Darstellung der zu den biologischen Versuchen verwendeten Fermentlösungen.

I. Hefe — Mazerationsaft.¹⁾

50 g Trockenhefe wurden mit der dreifachen Wassermenge verrührt und das Gemenge 2—3 Stunden hindurch im Brutschrank bei 37° aufbewahrt. Durch Filtration (Faltenfilter) wurde ein klarer Saft gewonnen, der mit dem gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde (Saft A). Da dieser Saft noch ziemlich stark rotbraun gefärbt war und bei den optischen Versuchen im Brutschrank sehr bald ganz undurchsichtig wurde, so erwies es sich vorteilhafter, das ursprüngliche Filtrat mit der 2,5fachen Wassermenge zu verdünnen (Saft B). Der so gewonnene Saft ist außerordentlich aktiv. Zu manchen Zwecken wurde Saft B mit noch 1 Volumen physiologischer Kochsalzlösung (7 ‰) verdünnt: Saft B'.

II. Darstellung von Leberpreßsaft.

Eine ganz frische Schweineleber wurde, wie üblich, mit Sand zermahlen, mit Kieselgur vermengt und bei 250 Atmosphären ausgepreßt. Der durch ein braunes Gerinnsel und Fett-

¹⁾ Vgl. hierzu: A. v. Lebedew, Darstellung des aktiven Hefenpreßsaftes durch Maceration. Diese Zeitschrift, Bd. 73, S. 447 (1911).

tröpfchen getrübe Preßsaft wurde mit dem 3-fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und gleichzeitig durch eine Anzahl von Filtern filtriert. Auf diese Weise kommt man schneller zum Ziel als durch Zentrifugieren des Saftes. Das braunrot gefärbte Filtrat wurde nach 48-stündigem Verweilen im Brutschrank von koagulierten Eiweißkörpern durch eine Tonkerze abgetrennt. Der so gewonnene Saft (Saft L) war vollkommen klar und beim Aufbewahren im Eisschrank ziemlich haltbar.

III. Darstellung von aktiviertem Pankreassaft.

Es wurde eine 5⁰/₀ige wässrige Lösung eines angeblich zymogenen,¹⁾ unter stark vermindertem Druck bei niedrigerer Temperatur eingedampften Pankreassaftes, den wir der Güte des H. Prof. Dr. E. S. London, St. Petersburg, verdanken, bereitet (Saft P) und hierzu $\frac{1}{2}$ ⁰/₀ Darmsaftfermentpräparat gefügt. Die filtrierte Lösung stellt Saft D vor.

Bei Spaltungsversuchen mit Darmsaft für sich gelangte eine $\frac{1}{2}$ ⁰/₀ige wässrige Lösung des Darmsaftpräparates zur Anwendung (Saft D').

IV. Gewinnung des Pankreaspreßsaftes aus der Pankreasdrüse eines Diabetikers.

Aus der stark bronzebraun gefärbten Drüse wurde bei 300 Atmosphären ein Preßsaft bereitet. Der 25 ccm betragende Saft war selbst nach dem Verdünnen mit dem gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung tief fuchsinrot gefärbt. Die so verdünnte Lösung schied beim Stehen über die Nacht im Eisschrank ein rotbraunes Gerinnsel aus (offenbar das Pigment der pathologisch veränderten Drüse). Nach dem Filtrieren durch eine Hartfilterbatterie wurde ein klarer Saft erhalten, der aber noch so tief gefärbt war, daß er mit dem gleichen Volumen Kochsalzlösung verdünnt werden mußte (Saft K).

V. Gewinnung des Preßsaftes aus einer normalen Pankreasdrüse.

Die 78 g schwere Drüse gab beim Pressen bis 250 Atmosphären 11 ccm Saft ab und zwischen 250 und 300 Atmosphären 20 ccm.

¹⁾ Die Lösung erwies sich als aktiv.

Der Saft wurde mit dem gleichen Volumen einer physiologischen Kochsalzlösung verdünnt und durch gehärtete Filter filtriert. Tonkerze war nicht anwendbar, weil beim Filtrieren durch diese der Saft seiner Aktivität beraubt wurde.

Zur Verwendung kam der bei höherem Drucke ausgepreßte Saft (K').

VI. Gewinnung des Preßsaftes aus der Pankreasdrüse eines an Morbus Basedowii gestorbenen Patienten.

Die Drüse wies eine solche Saftarmut auf, daß ein Verreiben mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung erforderlich war. Die weitere Behandlung des Saftes geschah wie sub V und VI (Saft K'').

$$\begin{array}{c} [\alpha]_D^{30} = \\ - 35,09^\circ \quad \quad \quad + 10^\circ \\ \hline [\alpha]_D^{20} = - 59,04^\circ \end{array}$$

Spaltung von Glycyl-l-leucyl-d-alanin.

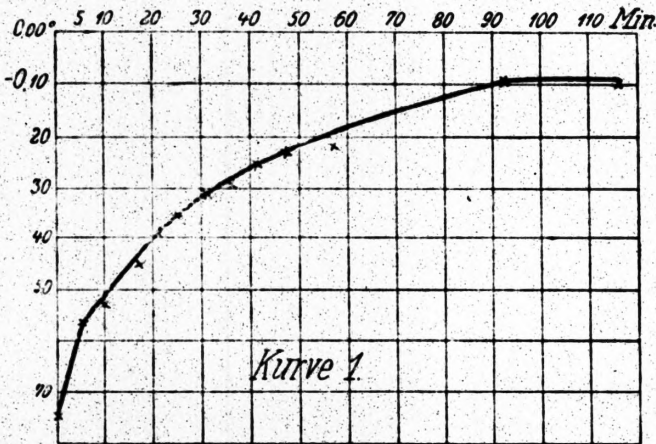
Stammlösung: 0,2120 g in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung (7‰).
(0,0817 Mol. im Liter.)

Mit Hefesaft B.

a) 5 ccm Stammlösung (= 0,1060 g) + 2,5 ccm Saft B + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2,5 ccm Saft B + 5,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b) α = konstant $- 0,02^\circ$.
0	$-0,75^\circ$	$-0,73^\circ$	
5	$-0,56^\circ$	$-0,54^\circ$	
10	$-0,53^\circ$	$-0,51^\circ$	
17	$-0,45^\circ$	$-0,43^\circ$	
21	$-0,39^\circ$	$-0,37^\circ$	
25	$-0,35^\circ$	$-0,33^\circ$	
31	$-0,31^\circ$	$-0,29^\circ$	(Hierzu Kurve 1.)
36	$-0,29^\circ$	$-0,27^\circ$	
41	$-0,25^\circ$	$-0,23^\circ$	
47	$-0,23^\circ$	$-0,21^\circ$	
57	$-0,22^\circ$	$-0,20^\circ$	
93	$-0,09^\circ$	$-0,07^\circ$	
116	$-0,10^\circ$	$-0,08^\circ$ (konst.)	



Mit Leberpreßsaft L.

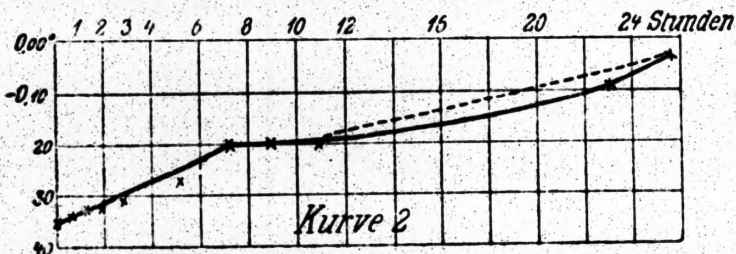
- a) 2 ccm Stammlösung (= 0,0424 g) + 1 ccm Saft L + 5 ccm physiologische Kochsalzlösung.
 b) 1 ccm Saft L + 7 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Stunden

b) $\alpha = \text{konstant } 0,00^\circ$.

0	— 0,35°
0,50	— 0,34°
1,25	— 0,32°
1,80	— 0,32°
2,75	— 0,31°
5,25	— 0,27°
7,25	— 0,19°
8,75	— 0,21°
10,75	— 0,20°
23,00	— 0,09°
25,50	— 0,03° (konst.)

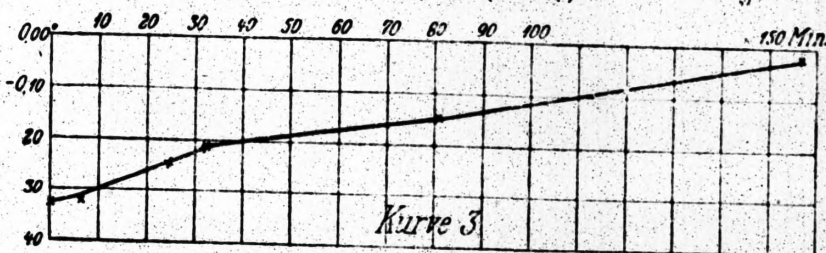
(Hierzu Kurve 2.)



Mit aktiviertem Pankreassaft D.

- a) 2 ccm Stammlösung (0,0424 g) + 2 ccm Saft D + 4 ccm physiologische Kochsalzlösung.
 b) 2 ccm Saft D + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b)
0	-0,72°	-0,32°	} -0,40°
6	-0,72°	-0,32°	
25	-0,65°	-0,25°	
32	-0,61°	-0,21°	
60	-0,59°	-0,19°	
81	-0,55°	-0,15°	
157	-0,42°	-0,02°	} -0,36°
228	-0,38°	-0,02° (konst.)	



Mit nicht aktiviertem Pankreassaft P.

a) 2 ccm Stammlösung (= 0,0424 g) + 2 ccm Saft P + 4 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2 ccm Saft P + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b)
0	-0,61°	-0,28°	-0,33°
7	-0,61°	-0,28°	-0,33°
87	-0,59°	-0,27°	-0,32°
350	-0,48°	-0,13°	-0,35°
480	-0,36°	-0,03°	-0,33°

Mit Darmsaft D'.

a) 2 ccm Stammlösung (0,0424 g) + 2 ccm Saft D' + 4 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2 ccm Saft D' + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung (optisch inaktiv).

a) Minuten

0	} -0,30°
13	
168	

Lösung a) wurde hierauf aufgeköcht und vom ausgefallenen Eiweiß abfiltriert.

c) 5 ccm des Filtrates + 2 ccm Saft P + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung. d) 2 ccm Saft P + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

c) Stunden	unkorr.	korr.	d)
0	-0,54°	-0,22°	-0,32°
0,37	-0,58°	-0,24°	-0,34°
2,00	-0,47°	-0,16°	-0,31°
4,00	-0,44°	-0,12°	-0,32°
17,00	-0,36°	-0,05°	-0,31°

Diese letzteren Versuche zeigen, daß die Wirkung des im Darmsaft enthaltenen Aktivators nicht auf einer Veränderung des Substrates durch den

letzteren beruht, da sonst die Spaltungsgeschwindigkeit des mit dem Aktivator längere Zeit in Berührung gewesenen Tripeptides erhöht sein müßte. (Vgl. Kurve 3.)

$$\begin{array}{r}
 [\alpha]_D^{20} = \\
 \begin{array}{r}
 - 50^\circ \qquad \qquad - 17,21^\circ \\
 \hline
 [\alpha]_D^{20} = - 89,86^\circ
 \end{array}
 \end{array}$$

Spaltung von Glycyl-d-alanyl-l-leucin.

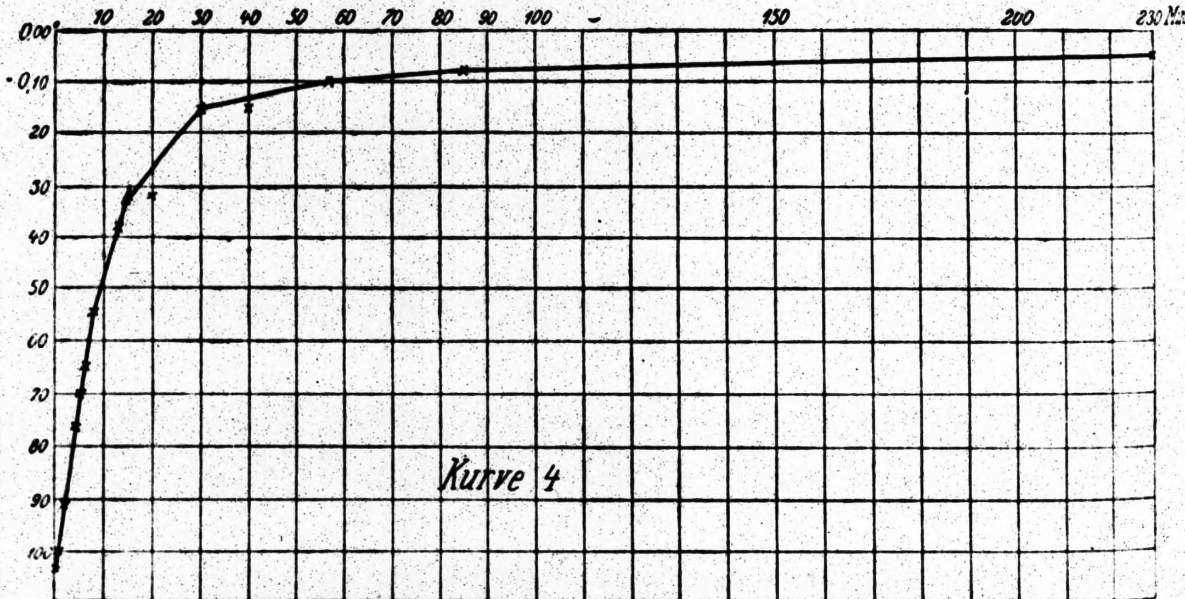
Stammlösung: 0,2276 g in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung.
(0,0878 Mol. im Liter.)

Mit Hefesaft B.

- a) 5 ccm Stammlösung (= 0,1138 g) + 2,5 ccm Saft B + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.
b) 2,5 ccm Saft B + 5,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b) $\alpha =$ konstant
0	-1,05°	-1,03°	-0,02°
1	-1,00°	-0,98°	
2	-0,93°	-0,91°	
4	-0,78°	-0,76°	
5	-0,72°	-0,70°	
6	-0,67°	-0,65°	
8	-0,57°	-0,55°	
13	-0,40°	-0,38°	
15	-0,35°	-0,33°	
16	-0,34°	-0,32°	
20	-0,34°	-0,32°	
30	-0,17°	-0,15°	
40	-0,17°	-0,15°	
57	-0,12°	-0,10°	
85	-0,10°	-0,08°	
230	-0,07°	-0,05° (konst.)	

(Hierzu Kurve 4.)

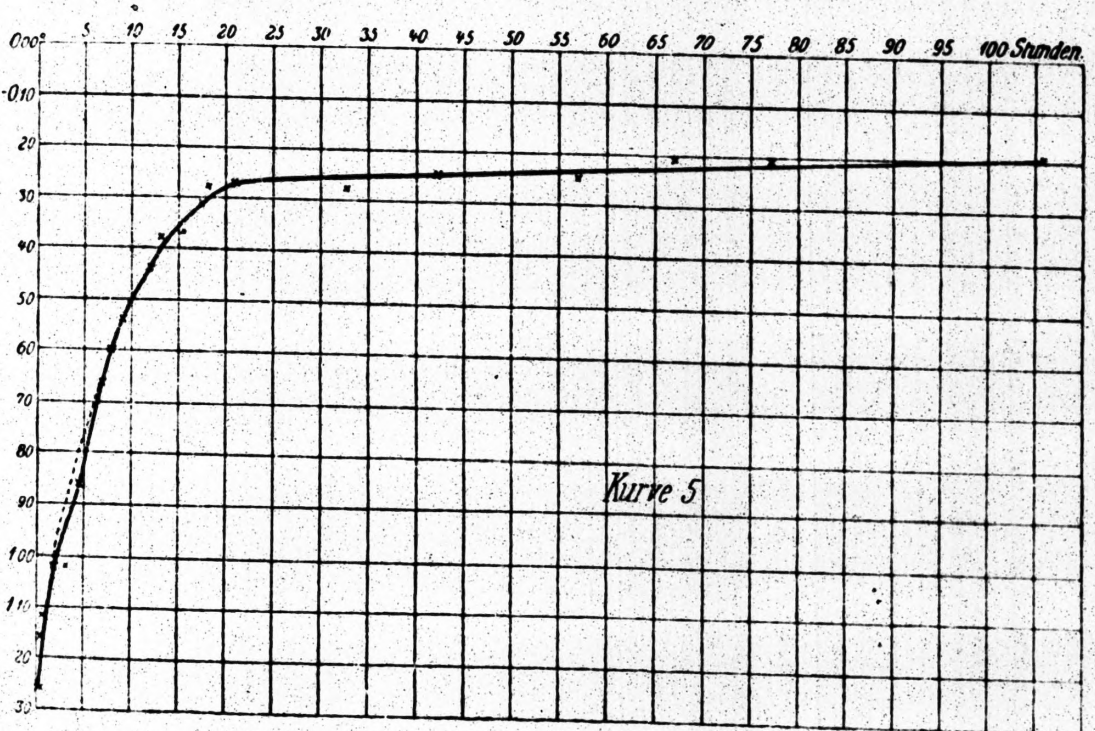


Mit Leberpreßsaft L.

- a) 5 ccm Stammlösung (= 0,1138 g) + 1 ccm Saft L + 2 ccm physiologische Kochsalzlösung.
 b) 1 ccm Saft L + 7 ccm physiologische Kochsalzlösung (konstant optisch inaktiv).

a) Stunden		Stunden	
0	-1,26°	12,10	-0,44°
0,33	-1,16°	13,10	-0,38°
0,75	-1,12°	15,50	-0,37°
1,60	-1,02°	17,50	-0,31°
2,30	-1,02°	18,80	-0,28°
2,90	-1,02°	20,90	-0,27°
4,50	-0,86°	32,65	-0,28°
6,90	-0,66°	42,15	-0,25°
8,00	-0,60°	57,15	-0,25°
Über die Nacht im Eis-		66,75	-0,21°
schränk aufbewahrt:		82,40	-0,21°
8,00	-0,60°	105,65	-0,19°
9,20	-0,54°	154,15	-0,08°

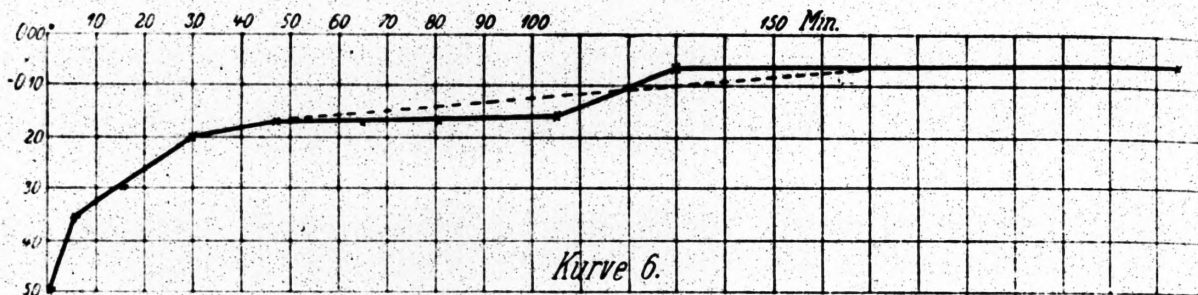
(Hierzu Kurve 5.)



Mit aktiviertem Pankreassaft D.

- a) 2,5 ccm der Stammlösung (= 0,0569 g) + 2 ccm Saft D + 3,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.
 b) 2 ccm Saft D + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b)
0	-0,84°	-0,49°	-0,35°
5	-0,70°	-0,35°	-0,35°
15	-0,63°	-0,30°	-0,33°
(Hierzu Kurve 6.) 30	-0,54°	-0,20°	-0,34°
47	-0,47°	-0,17°	-0,30°
65	-0,49°	-0,18°	-0,31°
81	-0,48°	-0,17°	-0,31°
105	-0,46°	-0,16°	-0,30°



$$[\alpha]_D^{20} = +50,2^\circ - 35,09^\circ$$

$$[\alpha]_D^{20} = -11,20^\circ$$

Spaltung von d-Alanyl-glycyl-l-leucin.

Stammlösung: 0,1991 g in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung
(0,0768 Mol. im Liter.)

Mit Hefesaft B.

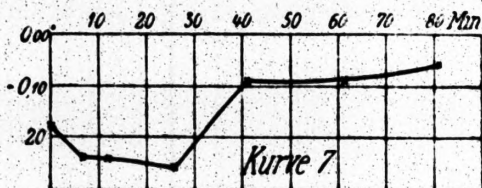
a) 5 ccm Stammlösung (= 0,0995 g) + 2,5 ccm Saft B + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2,5 ccm Saft B + 5,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten uncorr. korr. b) α = konstant - 0,02°.

0	-0,20°	-0,18°
7	-0,26°	-0,24°
12	-0,26°	-0,24°
26	-0,28°	-0,26°
41	-0,11°	-0,09°
61	-0,11°	-0,09°
81	-0,08°	-0,06° konstant.

(Hierzu Kurve 7.)



Mit Leberpreßsaft L.

a) 5 ccm Stammlösung (= 0,0995 g) + 1 ccm Saft L + 2 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 1 ccm Saft L + 7 ccm physiologische Kochsalzlösung.
(Konstant optisch inaktiv.)

a) Stunden		Stunden	
2,00	-0,19°	49,33	-0,29°
5,50	-0,20°	72,50	-0,29°
9,00	-0,20°	97,33	-0,25°
24,20	-0,23°	121,00	-0,23°
33,50	-0,30°	147,33	-0,19°

Kurve 8.

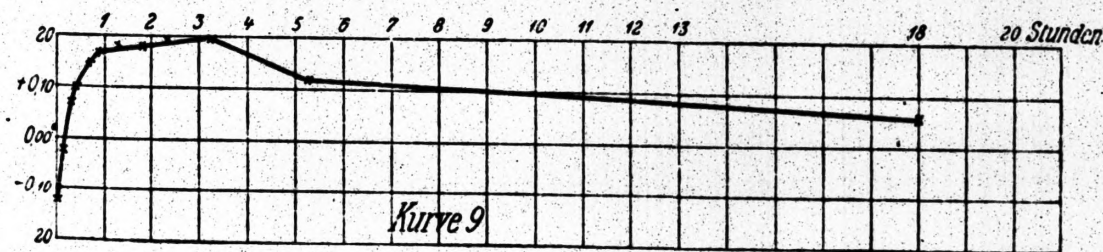
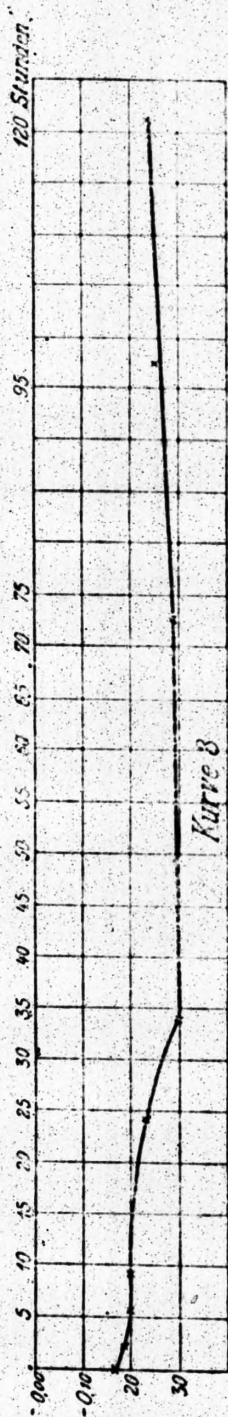
Mit aktiviertem Pankreassaft D.

a) 5 ccm Stammlösung (= 0,0995 g) + 2 ccm Saft D + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2 ccm Saft D + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Stunden	unkorr.	korr.	b)	
0	-0,41°	-0,12°	} konstant = -0,29°	
0,15	-0,31°	-0,02°		
0,30	-0,22°	+0,07°		
0,43	-0,19°	+0,10°		
0,70	-0,14°	+0,15°		
0,93	-0,12°	+0,17°		
1,35	-0,11°	+0,18°		
1,85	-0,12°	+0,17°		
2,35	-0,08°	+0,19°		-0,27°
3,25	-0,09°	+0,20°		-0,29°
5,25	-0,09°	+0,12°	-0,21°	
18,05	-0,16°	+0,06°	-0,22°	
21,15	-0,18°	+0,03°	-0,21°	
25,25	-0,18°	+0,03°	-0,21°	
27,75	-0,18°	+0,03°	-0,21°	
42,25	-0,17°	+0,03°	-0,20°	
51,45	-0,17°	+0,01°	-0,18°	
66,25	-0,23°	-0,03°	-0,20°	

(Hierzu Kurve 9.)



$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-17,21 + 85,99}{[\alpha]_D^{20} - 30,41}$$

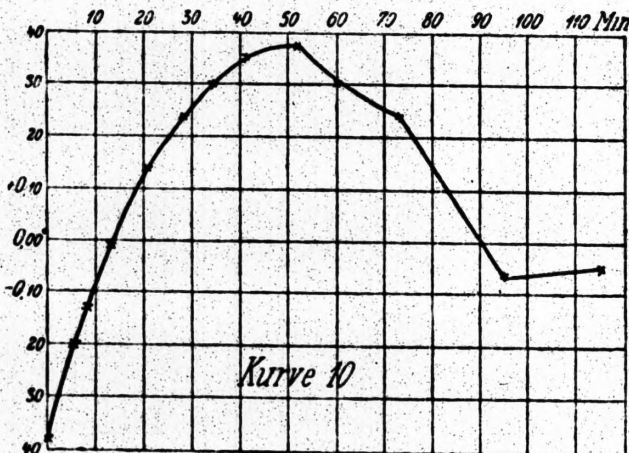
Spaltung von d-Alanyl-l-leucyl-glycin.

Stammlösung: 0,2040 g in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung
(= 0,0787 Mol. im Liter).

Mit Hefesaft B.

- a) 5 ccm Stammlösung (= 0,1020 g) + 2,5 ccm Saft B + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.
b) 2,5 ccm Saft B + 5,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b) $\alpha =$ konstant $-0,02^\circ$ $-0,38^\circ$ (ber.)
0			
5	$-0,22^\circ$	$-0,20^\circ$	
8	$-0,15^\circ$	$-0,13^\circ$	
13	$-0,03^\circ$	$-0,01^\circ$	
20	$+0,12^\circ$	$+0,14^\circ$	
28	$+0,22^\circ$	$+0,24^\circ$	
33	$+0,28^\circ$	$+0,30^\circ$	
41	$+0,34^\circ$	$+0,36^\circ$	(Hierzu Kurve 10.)
51	$+0,36^\circ$	$+0,38^\circ$	
60	$+0,28^\circ$	$+0,30^\circ$	
73	$+0,22^\circ$	$+0,24^\circ$	
95	$-0,09^\circ$	$-0,07^\circ$	
115	$-0,07^\circ$	$-0,05^\circ$	

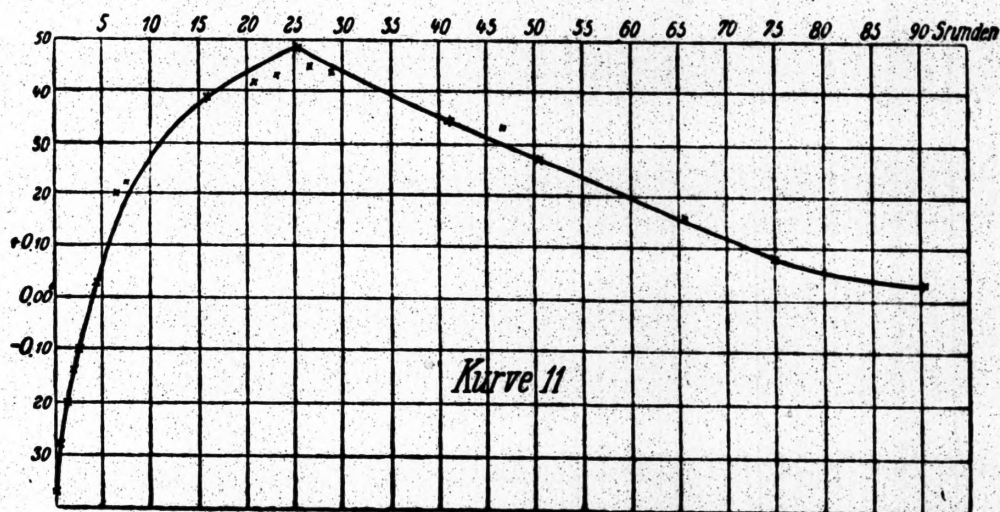


Mit Leberpreßsaft L.

a) 5 ccm Stammlösung (= 0,1020 g) + 1 ccm Saft L + 2 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) Lebersaft L ist konstant optisch inaktiv.

a) Stunden		Stunden		
	0	- 0,37°	20,80	+ 0,42°
	0,50	- 0,28°	23,25	+ 0,43°
	1,40	- 0,20°	25,33	+ 0,49°
	2,00	- 0,14°	26,75	+ 0,45°
	2,60	- 0,10°	28,90	+ 0,44°
(Hierzu	4,40	+ 0,03°	41,23	+ 0,34°
Kurve 11.)	6,66	+ 0,20°	46,70	+ 0,33°
	7,66	+ 0,22°	50,50	+ 0,27°
	15,80	+ 0,39°	65,70	+ 0,16°
	16,70	+ 0,36°	75,00	+ 0,08°
	18,30	+ 0,36°	90,75	+ 0,03°
	19,60	+ 0,39°		

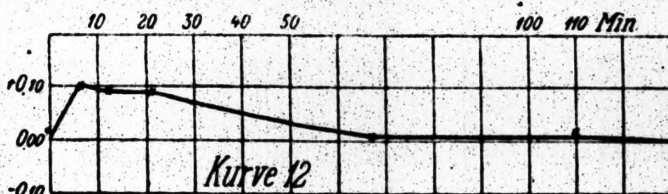


Die folgenden 2 Versuche wurden mit Hefesaft B bei größeren Verdünnungen ausgeführt. Sie ergeben die Unabhängigkeit des Ortes der Spaltung von der Konzentration.

a) 2,5 ccm Stammlösung (= 0,0510 g) + 2,5 ccm Saft B + 3 ccm physiologische Kochsalzlösung. (0,0197 Mol. im L.)

b) wie oben = konst. - 0,02°.

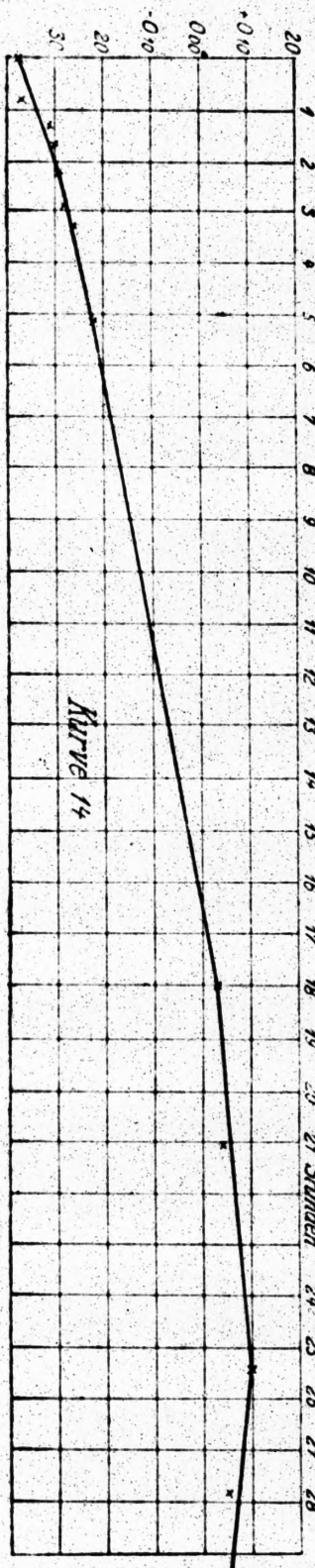
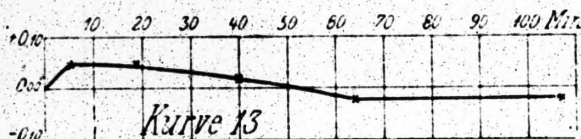
a) Minuten	korr.
0	0,00°
6	+ 0,12°
12	+ 0,11°
21	+ 0,11°
42	+ 0,02°
66	+ 0,01°
110	+ 0,02°
180	- 0,01°



- a) 1,25 ccm Stammlösung (= 0,0255 g) + 2,5 ccm Saft B + 4,25 ccm physiologische Kochsalzlösung. 0,0098 Mol. im L.)
 b) wie oben.

a) Minuten	korr.
0	—
5	+0,05°
18	+0,05°
40	+0,02°
64	-0,02°
107	-0,02°

(Hierzu Kurve 13.)



Mit aktiviertem Pankreassaft D.

- a) 5 ccm Stammlösung + 2 ccm Saft D + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung.
 b) 2 ccm Saft D + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Stund.	unkorr.	korr.	b)	
0	-0,66°	-0,37°	} konstant = -0,29°	
0,09	-0,68°	-0,39°		
0,20	-0,68°	-0,39°		
0,40	-0,67°	-0,38°		
0,80	-0,67°	-0,38°		
1,30	-0,60°	-0,31°		
1,72	-0,59°	-0,30°		
2,20	-0,56°	-0,29°		-0,27°
2,88	-0,57°	-0,28°		-0,29°
3,30	-0,55°	-0,26°		-0,29°
5,13	-0,44°	-0,23°	-0,21°	
18,00	-0,18°	+0,04°	-0,22°	
21,10	-0,17°	+0,04°	-0,21°	
25,50	-0,11°	+0,10°	-0,21°	
27,80	-0,16°	+0,05°	-0,21°	
42,20	-0,16°	+0,04°	-0,20°	
51,40	-0,21°	-0,03°	-0,18°	

(Hierzu Kurve 14.)

$$\begin{array}{c}
 [\alpha]_D^{20} = \\
 \underbrace{+ 10^\circ \quad + 50,02^\circ}_{[\alpha]_D^{20} = - 17,31^\circ}
 \end{array}$$

Spaltung von l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

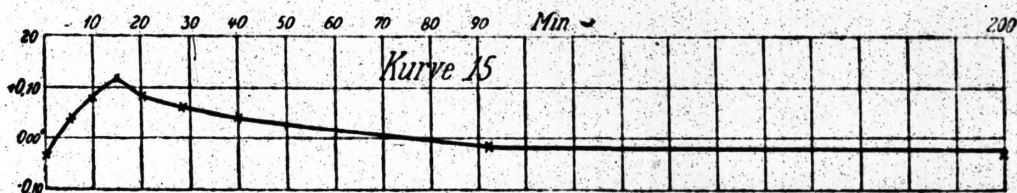
Stammlösung: 0,2120 g in 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung
(= 0,0327 Mol. im Liter).

Mit Hefesaft B.

a) 5 ccm Stammlösung (= 0,0424 g) + 2,5 ccm Hefesaft B + 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2,5 ccm Hefesaft B + 5,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b) konstant = -0,02°
0	-0,06°	-0,04°	
5	+0,02°	+0,04°	
10	+0,06°	+0,08°	
15	+0,10°	+0,12°	
20	+0,06°	+0,08°	
28	+0,04°	+0,06°	
40	+0,02°	+0,04°	
55	+0,06°	+0,08°	
92	-0,04°	-0,02°	
200	-0,05°	-0,03°	



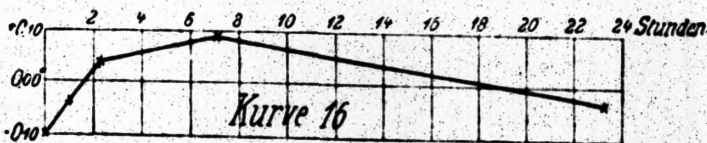
Mit Leberpreßsaft L.

a) 5 ccm Stammlösung (= 0,0424 g) + 1 ccm Saft L + 2 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 1 ccm Saft L + 7 ccm physiologische Kochsalzlösung (konst. optisch inaktiv)

a) Stunden korr.

0	-0,10°
1	-0,04°
2,20	+0,04°
2,66	+0,04°
5,10	+0,02°
7,10	+0,09°
23,10	-0,03°

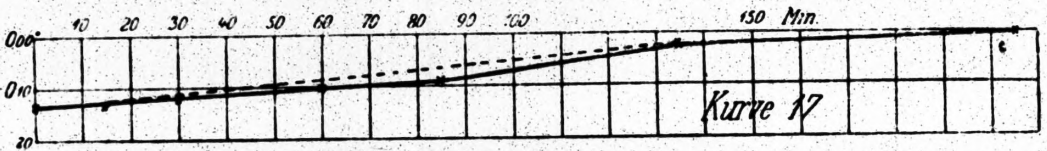


Mit aktiviertem Pankreassaft D.

a) 5 ccm Stammlösung + 2 ccm Saft D + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung.

b) 2 ccm Saft D + 6 ccm physiologische Kochsalzlösung.

a) Minuten	unkorr.	korr.	b)
0	-0,53°	-0,13°	} = -0,40°
15	-0,53°	-0,13°	
30	-0,52°	-0,12°	
60	-0,50°	-0,10°	
85	-0,49°	-0,09°	
135	-0,42°	-0,02°	
203	-0,36°	-0,00°	-0,36°
320	-0,34°	-0,00°	-0,34°
340	-0,28°	-0,02° (konst.)	-0,26°



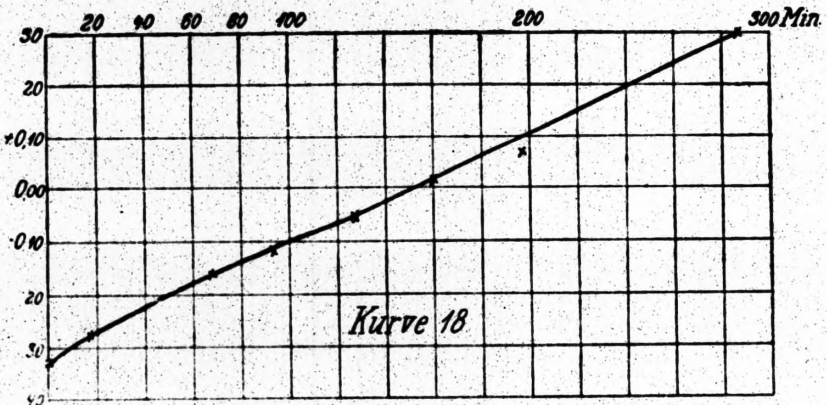
Spaltungen mit Pankreaspreßsäften.

I. Mit normalem Pankreaspreßsaft K'.

Spaltung von d-Alanyl-l-leucyl-glycin.

5 ccm der Stammlösung (= 0,1020 g) + 3 ccm physiologische Kochsalzlösung + 1 ccm Saft K' (letzterer ist konst. optisch inaktiv).

Minuten	
0	-0,33°
17	-0,28°
67	-0,16°
93	-0,12°
127	-0,06°
160	+0,01°
197	+0,07°
287	+0,30°



Spaltung von d-Alanyl-glycyl-l-leucin.

5 ccm der Stammlösung (0,0995 g) + 3 ccm physiologische Kochsalzlösung
+ 1 ccm Saft K'.

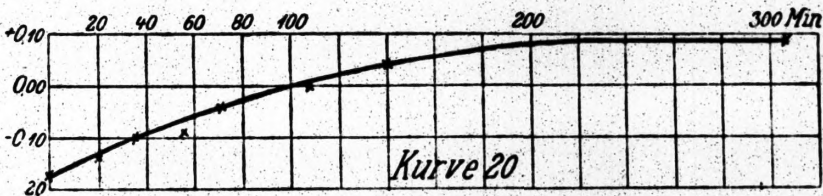
Minuten		Minuten	
0	-0,13°	125	-0,09°
15	-0,15°	158	-0,07°
38	-0,17°	195	-0,07°
65	-0,10°	285	-0,06°
92	-0,08°		



Spaltung von l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

8 ccm einer 1%igen Lösung des Tripeptids in physiolog. Kochsalzlösung
+ 1 ccm K'.

Minuten		Minuten	
0	-0,17°	71	-0,04°
20	-0,14°	107	-0,01°
35	-0,10°	140	+0,04°
55	-0,09°	305	+0,08°



II. Mit Pankreaspreßsaft K eines Diabetikers.

Spaltung von Glycyl-d-alanyl-l-leucin.

2,5 ccm Stammlösung (0,0569 g) + 5,5 ccm physiologische Kochsalzlösung
+ 1 ccm Saft K (letzterer ist konst. optisch inaktiv).

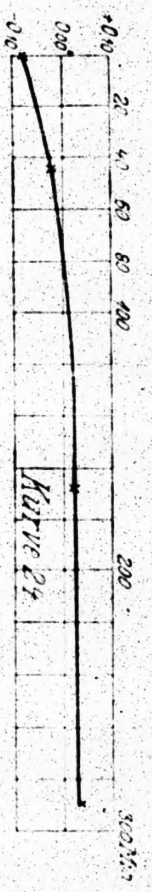
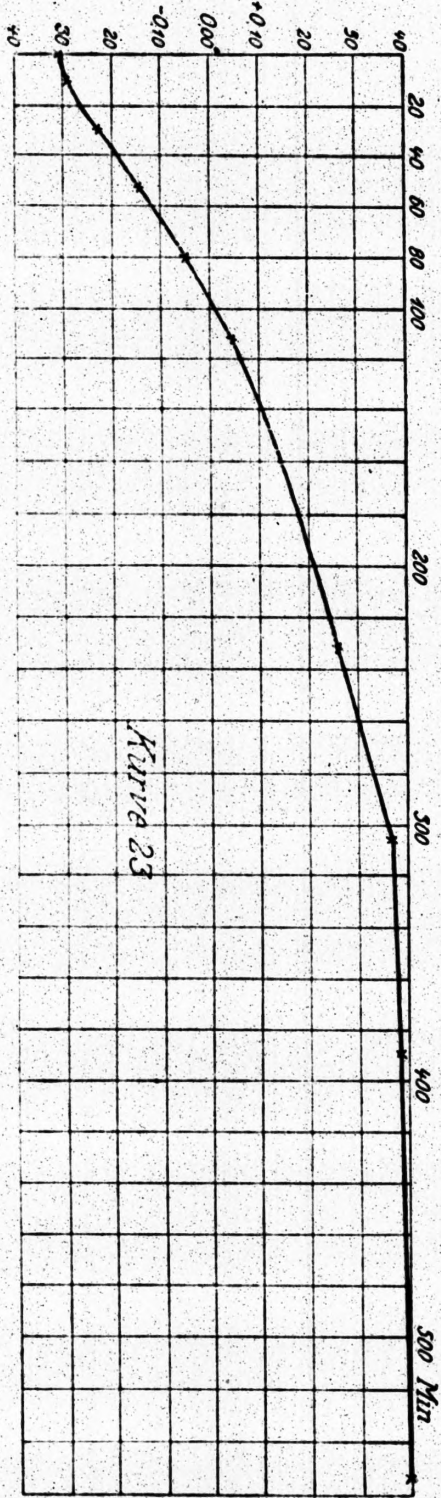
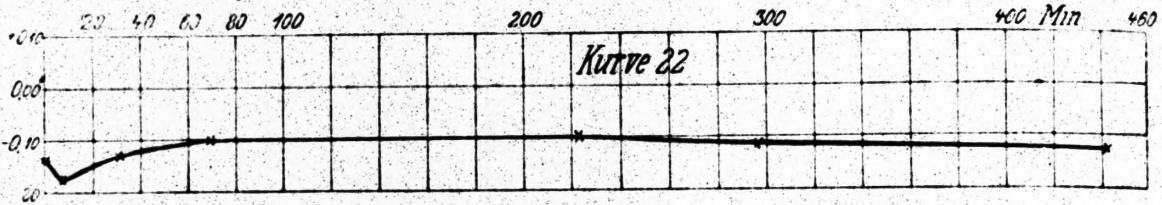
Minuten		Minuten	
0	-0,47°	116	-0,12°
20	-0,34°	175	-0,13°
35	-0,27°	295	-0,14°
55	-0,14°	518	-0,10°
73	-0,15°		

Spaltung von d-Alanyl-glycyl-l-leucin.

5 ccm Stammlösung (0,0995 g) + 3 ccm physiologische Kochsalzlösung
+ 1 ccm K.

Minuten		Minuten	
0	-0,14°	102	-0,10°
7	-0,18°	222	-0,10°
17	-0,13°	297	-0,08°
32	-0,13°	442	-0,07°
70	-0,10°		

(Hierzu
Kurve 22.)



Spaltung von d-Alanyl-l-leucyl-glycin.

A. 5 ccm Stammlösung (= 0,1020 g)
+ 3 ccm physiol. Kochsalzlösung
+ 1 ccm K.

B. 2,5 ccm Stammlösung (= 0,0510 g)
+ 5 ccm physiol. Kochsalzlösung
+ 1 ccm K.

A. Minuten

0	-0,31°
11	-0,29°
30	-0,22°
53	-0,14°
79	-0,05°
111	+0,04°
231	+0,25°
306	+0,37°
390	+0,38°
453	+0,40°

(Hierzu Kurve 23.)

B. Minuten

0	-0,08°
8	-0,02°
23	-0,03°
44	-0,03°
168	+0,02°
288	+0,03°
488	+0,00°

(Hierzu Kurve 24.)

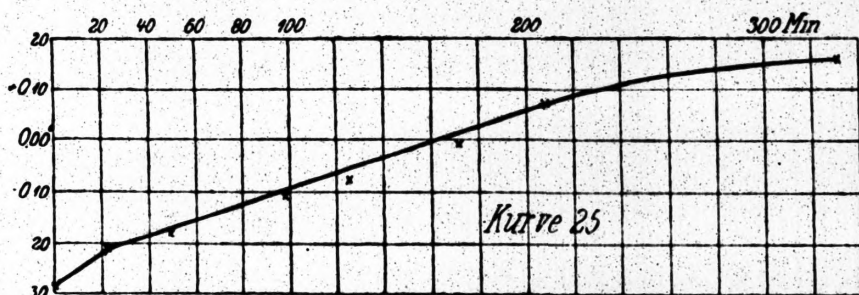
III. Mit Pankreaspreßsft K'' eines Basedow-Patienten.

Spaltung von d-Alanyl-l-leucyl-glycin.

5 ccm Stammlösung (= 0,1020 g) + 3 ccm physiologische Kochsalzlösung
+ 1 ccm Saft K'' (dieser ist konst. optisch inaktiv).

Minuten

0	- 0,29°	
21	- 0,21°	
49	- 0,18°	
98	- 0,11°	(Hierzu
125	- 0,08°	Kurve 25.)
172	- 0,01°	
207	+ 0,07°	
332	+ 0,16°	

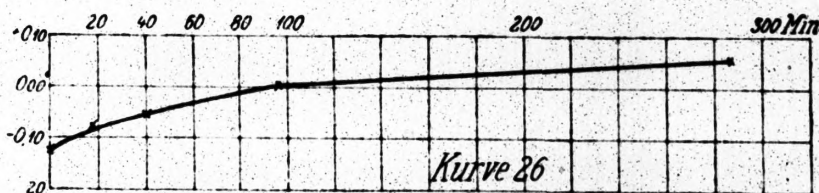


Spaltung von l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

8 ccm einer 1%igen Tripeptidlösung in physiolog. Kochsalzlösung
+ 1 ccm physiolog. Kochsalzlösung + 1 ccm Saft K''.

Minuten

0	- 0,12°
17	- 0,08°
40	- 0,05°
195	- 0,00°
285	+ 0,05°



Einfluß von Natriumphosphat auf die Geschwindigkeit der Spaltungen.

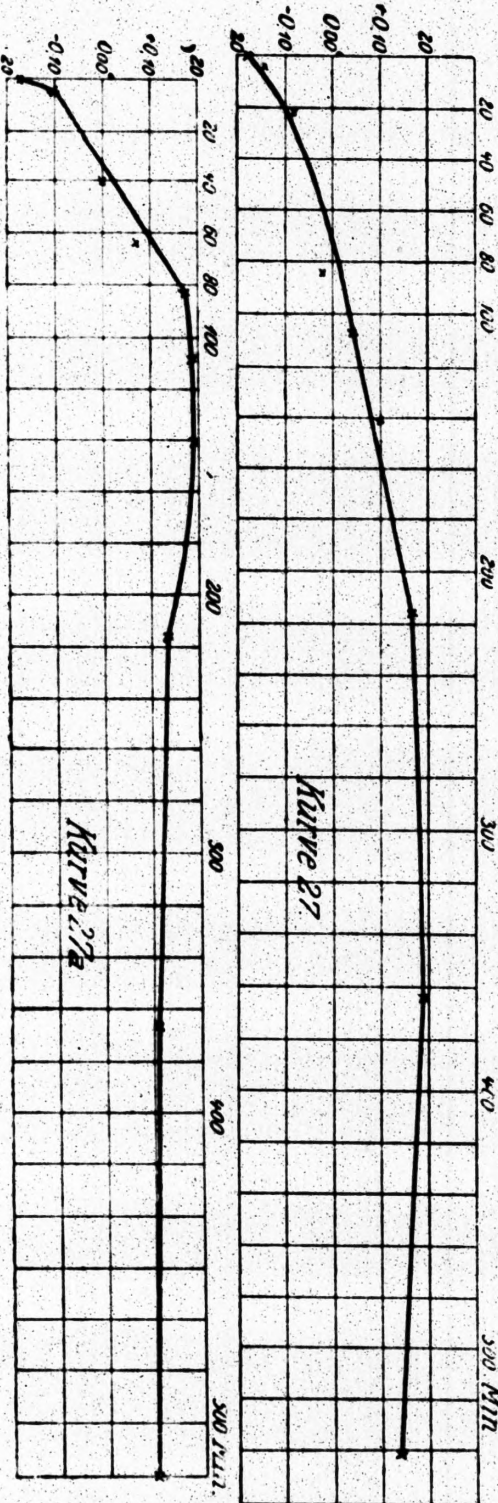
I. Hefesaft.

Spaltung von l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

A. 8 ccm einer 1%igen Tripeptidlösung in physiologischer Kochsalzlösung + 1 ccm Saft B'.

B. 8 ccm einer 1%igen Lösung des Tripeptids in einer gegen Lackmus neutralisierten Lösung von physiologischer Kochsalzlösung + 2% NaH_2PO_4 . Hierzu 1 ccm Saft B'.

Minuten	A.	B.
0	-0,13°	-0,14°
3	-0,10°	-0,10°
6	-0,10°	-0,08°
9	-0,11°	-0,10°
19	-0,06°	-0,06°
32	+0,01°	-0,01°
73	+0,02°	-0,00°



II. Leberpreßsaft.

Spaltung von l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

A. Eine 1%ige Lösung des Tripeptids in physiologischer Kochsalzlösung wurde bereitet. 8 ccm hiervon + 1 ccm Leberpreßsaft L.

B. 8 ccm einer 1%igen Lösung des Tripeptids in einer gegen Lackmus neutralisierten Lösung von physiologischer Kochsalzlösung + 2% NaH_2PO_4 . Hierzu 1 ccm Leberpreßsaft L.

C. 8 ccm der Phosphat-Kochsalzlösung + 1 ccm L. (Leberpreßsaft L ist optisch inaktiv.)

Min.	A.	Min.	B.	C.
0	-0,17°	0	-0,17°	} $\alpha = 0,00^\circ$
4	-0,14°	4	-0,10°	
22	-0,08°	41	0,00°	
84	-0,02°	64	+0,17°	
107	+0,04°	84	+0,18°	
141	+0,10°	107	+0,19°	
216	+0,17°	141	+0,19°	
366	+0,19°	216	+0,14°	
541	+0,14°	366	+0,11°	
		541	+0,10°	

(Hierzu Kurven 27 u. 27a.)

III. Pankreaspreßsaft K' (normal).

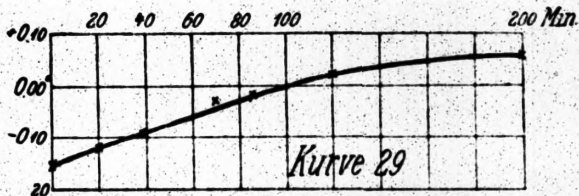
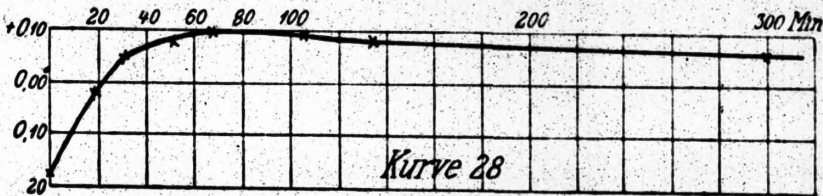
Spaltung von l-Leucyl-d-alanyl-glycin.

A. 8 ccm einer 1%igen Tripeptidlösung in physiologischer Kochsalzlösung + 1 ccm Saft K'.

B. 8 ccm einer 1%igen Lösung des Tripeptids in einer gegen Lackmus neutralisierten Lösung von physiologischer Kochsalzlösung + 2% NaH₂PO₄. Hierzu 1 ccm Saft K'.

C. 8 ccm einer 1%igen Lösung des Tripeptids in einer gegen Lackmus neutralisierten Lösung von physiologischer Kochsalzlösung + 2% NaH₂PO₄.

A. Minuten		B. Minuten		C. Minuten	
0	-0,17°	0	-0,17°	0	-0,15°
20	-0,14°	17	-0,02°	20	-0,12°
35	-0,10°	30	+0,06°	38	-0,09°
55	-0,09°	50	+0,08°	70	-0,03°
71	-0,04°	67	+0,10°	85	-0,02°
107	-0,01°	105	+0,09°	120	+0,02°
140	+0,04°	135	+0,08°	200	+0,06°
305	+0,08°	300	+0,06°		
	Kurve 20.	450	+0,03°		Kurve 29.
		645	-0,05°		



IV. Pankreaspreßsaft K'' (Basedow).

A. Wie Lösung A sub III. Als Fermentsaft wurde 1 ccm Saft K'' + 2 ccm physiologische Kochsalzlösung hinzugefügt.

B. Wie Lösung B. sub III + 1 ccm Saft K'' + 1 ccm physiologische Kochsalzlösung.

Minuten	A.	B.
0	-0,12°	-0,12°
17	-0,08°	-0,05°
40	-0,05°	-0,01°
195	0,00°	+0,07°
285	+0,05°	+0,06°

Kurve 26. Kurve 30.

