

Weiterer Beitrag zur Kenntnis der bei der partiellen Hydrolyse von Proteinen auftretenden Spaltprodukte.

Von

Emil Abderhalden.

Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

Der Redaktion zugegangen am 20. März 1910.)

Wir konnten kürzlich mitteilen,¹⁾ daß es gelungen ist, aus Seidenabfällen nach partieller Hydrolyse mit 70%iger Schwefelsäure Glycyl-l-tyrosin und d-Alanyl-glycin ohne weitere Eingriffe direkt in analysenreinem Zustand zu gewinnen. Dieser Befund steht nun nicht einzig da, indem es uns neuerdings wiederholt gelang, bei der Bereitung von Seidenpepton d-Alanyl-glycin abzuscheiden. Endlich wurde auch in der chemischen Fabrik von Hoffmann-La Roche, Basel-Grenzach, bei der Darstellung von Seidenpepton als Nebenprodukt fast reines d-Alanyl-glycin in ganz beträchtlichen Mengen beobachtet und uns zur Untersuchung eingesandt. Die Ausbeute an analysenreinem Dipeptid betrug im günstigsten Falle 8% der angewandten Seidenabfälle.

Das Verfahren zur Gewinnung des d-Alanyl-glycins gestaltet sich, wie folgt. 100 g Seidenabfälle werden mit der dreifachen Menge auf 0° gekühlter 70%iger Schwefelsäure unter stetigem Umrühren übergossen. Die Auflösung des Seidenpeptons, die sofort einsetzt, ist nach ca. 2 Stunden vollständig. Die Lösung bleibt nun 4 Tage bei 26° stehen. Nun wird die Lösung unter Kühlung mit Eis auf 10 l verdünnt und dann mit der berechneten Menge Baryt die Schwefelsäure entfernt. Es ist wichtig, nur sorgfältig gereinigten Baryt zu verwenden. Nach-

¹⁾ Emil Abderhalden. Weiterer Beitrag zur Kenntnis der bei der partiellen Hydrolyse von Proteinen auftretenden Spaltprodukte. Diese Zeitschrift. Bd. LXIII. S. 401. 1909.

dem festgestellt worden ist, daß die Lösung vollständig frei von Baryt und von Schwefelsäure ist, wird durch Faltenfilter filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck bei 40° des Wasserbades eingeeengt. Es ist unbedingt notwendig, die Lösung von Zeit zu Zeit wieder auf Baryt und Schwefelsäure zu prüfen. Nach erfolgtem Einengen findet man häufig noch Spuren von Baryt, die bei der großen Verdünnung der Beobachtung entgangen waren. Der Baryumsulfatniederschlag wird wiederholt mit Wasser ausgelaugt, bis das Waschwasser farblos bleibt. Die gesammelten Waschwasser werden am besten für sich unter den gleichen Bedingungen wie das Hauptfiltrat eingeeengt. Die erhaltenen hellgelb gefärbten Rückstände werden mit Methylalkohol ausgekocht. Es geht der größte Teil in Lösung. Nach einigem Stehen scheiden sich flockige Niederschläge ab. Von diesen wird abfiltriert. Das Filtrat wird wiederum unter vermindertem Druck zur Trockene verdampft und der Rückstand nunmehr in möglichst wenig, ca. 60° warmem Wasser gelöst (ca. 200 ccm). Von schwerer löslichen Teilen wird abfiltriert. Nun probiert man in Proben aus, wieviel absoluter Alkohol zugesetzt werden darf, ohne daß eine deutliche Trübung eintritt. Die entsprechende Menge davon fügt man dann der Hauptmenge zu. Nun reibt man die Wände des Gefäßes mit dem Glasstabe und impft mit einigen Kryställchen von d-Alanin-glycin. In günstigen Fällen beobachtet man schon nach 24 Stunden Krystallabscheidung. Meist verlangsamten flockige Ausscheidungen die Krystallisation.

Die Krystalle werden dann abgenutscht, mit Alkohol und Äther gewaschen und nun in heißem Wasser gelöst. Setzt man zu der konzentrierten, heißen, wässerigen Lösung Alkohol bis zum Eintritt einer Trübung, dann erfolgt noch während des Umschüttelns Krystallabscheidung.

Man wird in jedem Falle die Krystalle durch Schmelzpunkt, Drehungsvermögen, Analyse, Fermentspaltung und totale Hydrolyse identifizieren müssen. Täuschungen sind möglich, wenn die Hydrolyse zu weit gegangen ist und Aminosäuren vorhanden sind. Aus noch nicht näher festgestellter Ursache kommt es bei der partiellen Hydrolyse von Seidenabfällen mit

70%iger Schwefelsäure oft zur Bildung gallertiger, in Wasser sehr schwerlöslicher Produkte. Sie wurden nicht beobachtet, wenn beim Zusatz der 70%igen Schwefelsäure Erwärmung vermieden wurde. Mit der Untersuchung der amorphen gallertigen Produkte sind wir beschäftigt. Ihr Auftreten stört die Gewinnung von Dipeptiden.

Das bei der letzten Darstellung gewonnene d-Alanyl-glycin zeigte F. gegen 235° (korr.) und $\alpha = + 48,45^\circ$.

0,4222 g Substanz gelöst in Wasser. Gesamtgewicht der Lösung 4,2101 g. $d = 1,032$. $\alpha = 5,01^\circ$ nach rechts bei 20° im 1 dm-Rohr bei Natriumlicht. $[\alpha]_{20}^D = + 48,45^\circ$. Bei der Spaltung erhielten wir annähernd die berechneten Mengen von Glykokoll und d-Alanin.

0,2342 g Substanz gaben 0,3521 g CO_2 und 0,1475 g H_2O .

0,1811 „ „ „ 29,8 ccm N (20° , 770 mm Druck).

Berechnet für $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$:

Gefunden:

41,04% C, 6,91% H, 19,26% N.

41,00% C, 6,99% H, 19,01% N.