

hat. Im Kartoffelfuselöl konnte auch ich keinen *n*-Butylalkohol entdecken, dagegen gelang es mir, aus Kornfuselöl, welches einer westfälischen Kornbranntweinbrennerei entstammte, kleine Mengen zu gewinnen. Das mit gebranntem Kalk entwässerte Fuselöl wurde in einem kleinen Colonnenapparat destillirt und die bei 110—120° übergehenden Parthien aufgefangen. Aus 10 Liter Fuselöl erhielt ich so zunächst gegen 150 g. Diese Fraction war jedoch zum allergeringsten Theile Normalbutylalkohol; bei weiterer Fractionirung gewann ich nur 15 g einer bei 114—118° siedenden Flüssigkeit. Auch diese war noch nicht rein. Sie wurde in das Jodür verwandelt, welches fast constant bei 129—130° siedete, und dieses über das Acetat wieder in den Alkohol. Es gelang auf diese Weise, aus 10 kg Fuselöl 2.5 g reinen Normal- Butylalkohol zu isoliren, welcher bei 116° siedete und bei der Oxydation normale Buttersäure lieferte. Natürlich waren bei den verschiedenen Operationen Verluste eingetreten. Zur praktischen Gewinnung des Alkohols eignet sich aber natürlich das Kornfuselöl nicht, hier bleibt die Gährung des Glycerins immer die bequemste Methode. Hat man einmal das geeignete Material für Einleitung der butylalkoholischen Gährung (Kuhexcremente), so behält dies in getrocknetem Zustande viele Jahre seine fermentative Kraft; ich benutze vor fünf Jahren gesammelten und getrockneten Kuhdünger und habe grössere Mengen Butylalkohol ohne jede Mühe dargestellt. Man gewinnt ca. 6—8 pCt. vom Glycerin, sodass der hohe Preis des Präparates im Handel ganz ungerechtfertigt erscheint.

104. O. Emmerling: Ueber die Eiweissspaltung durch Papayotin.

[Aus dem I. Berliner Universitäts-Laboratorium.]

(Eingegangen am 10. Februar 1902.)

Die Fähigkeit, Eiweißkörper zu lösen und abzubauen, besitzt der thierische Körper nicht allein; auch der Pflanze, der niedrigsten wie höchsten Stufe, fehlt es nicht an Mitteln, die gleiche oder ähnliche Wirkung hervorzubringen. Es ist bekannt, dass zahlreichen Bacterien, Spross- und Schimmel-Pilzen proteolytische Enzyme innewohnen; auch bei höheren Pflanzen hat man sie in vielen Familien nachweisen können, so den Cannabis-Arten, Cucumis, Anagallis, im Saft des Feigenbaums, besonders den Nepenthes- und Dionaea-Arten. Für den Stoffwechsel der Pflanze sind diese Enzyme sicher von hoher Bedeutung, eine praktische Verwendung haben sie nicht gefunden. Im Gegensatz dazu bedient man sich eines ähnlichen pflanzlichen Enzyms technisch

zur Bereitung gewisser Fleischpräparate. Dasselbe ist in verschiedenen Organen, besonders in den Früchten des Melonenbaums, *Carica papaya*, enthalten und verflüssigt und peptonisiert Fleisch in erheblichem Grade.

So viel und so oft über das in der *Carica* enthaltene proteolytische Enzym, welches früher mit verschiedenen Namen belegt, jetzt allgemein Papayotin genannt wird, gearbeitet worden ist, so widersprechend sind doch die Angaben über seine Wirkungsweise. Aus dem Umstände, dass die Eiweissverflüssigung besonders in alkalischem Medium vor sich gehe, hat man geschlossen, dass dies Enzym ein tryptisches sei; aber abgesehen davon, dass eine Unterscheidung von peptischer und tryptischer Wirkung nicht auf Grund der sauren oder alkalischen Beschaffenheit des Mediums gemacht werden kann, haben einige Beobachter gerade gefunden, dass das Papayotin durch Alkali geschädigt werde und viel besser in schwach saurer Umgebung wirke. So hält Martin¹⁾ die Gegenwart von Alkali erforderlich, Hirschler²⁾ meint genau das Gegenteil. Auch was die Abbauprodukte der Eiweisskörper betrifft, sind die Angaben widersprechend: die Einen finden, dass die Wirkung bei der Erzeugung von Albumosen und Peptonen stehen bleibt, Andere wollen auch Leucin und Tyrosin gefunden haben.

Angesichts solcher Widersprüche habe ich das Papayotin einer erneuten Untersuchung unterzogen.

Zunächst versuchte ich das Enzym aus den käuflichen getrockneten Blättern des *Carica papaya* zu gewinnen, fand jedoch, dass ihnen beinahe jede Wirkung abging; Früchte, welche ich der Sammlung des hiesigen botanischen Museums verdanke, hatten lange Zeit erst in Seewasser, daun in Spiritus gelegen und waren ebenfalls unwirksam geworden. Schliesslich verwendete ich das als rein garantirte Merck-sche Präparat. Als Eiweisskörper benutzte ich Blutfibrin (Merck). Die Einwirkung des Enzyms auf Fibrin ist eine langsame, und es bedarf öfteren Zusatzes neuen Papayotins, bis ein grösseres Quantum Fibrin gelöst ist. Es wurde festgestellt, dass der Effect bei alkalischer Beschaffenheit der Flüssigkeit wesentlich rascher ist, aber selbst ein monatelanger Einwirkung ist die Spaltung eine sehr unvollkommene, indem grosse Mengen Albumosen und Peptone, weniger Aminosäuren, gebildet werden. Aus der Entstehung Letzterer jedoch und der Art derselben geht unzweifelhaft hervor, dass die Wirkung des Papayotins eine specifisch tryptische ist.

Was die angewendete Arbeitsmethode betrifft, so ist mir der von E. Fischer angegebene Weg der Veresterung und fractionirten Destillation der Aminosäuren bei Trennung der Letzteren sehr zu thun ge-

¹⁾ Journ. of Phys. 5, 220.

²⁾ Maly's Jahresber. 1892, 19.

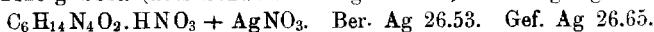
kommen; früher angestellte Versuche nach der sonst üblichen Methode zu arbeiten, hatte zu sehr unvollkommenen Resultaten geführt. Die zum Theil sehr geringen Mengen der Aminosäuren würden früher überhaupt nicht aufgefunden worden sein.

Experimenteller Theil.

In zwei Kolben wurden 1000 g trocknes Blutfibrin mit schwach alkalischem Wasser übergossen und nach Toluol-Zusatz zunächst 1 Tag bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Die nun stark aufgequollene Masse wurde mit Wasser eben bedeckt und mit je 20 g Papayotin versetzt. Die gut verschlossenen Kolben kamen in einen constant auf 37° gehaltenen Raum. Nach 14 Tagen wurden abermals je 10 g und nach 4 Wochen weitere 10 g Papayotin zugesetzt. Allmählich erfolgt Lösung, und auf dem Boden setzen sich zunächst Verunreinigungen ab, denen sich später weisse, körnige Kryställchen beimengen. Als eine Zunahme Letzterer nicht mehr beobachtet wurde, wurde vom Bodensatze abfiltrirt und der Niederschlag in sehr viel heissem Wasser gelöst; beim Erkalten setzte die mit Thierkohle behandelte Flüssigkeit etwas über 1 g Tyrosin ab, welches an seinen Schmp. (295°) und den charakteristischen Reactionen als solches erkannt wurde.

Die auf 5 L gebrachte Flüssigkeit wurde mit Schwefelsäure sauer gemacht und mit überschüssiger Phosphorwolframsäure versetzt; von Letzterer waren sehr erhebliche Quantitäten erforderlich. Nach zweitätigem Stehen im Eisschranke wurde abfiltrirt und mit kaltem Wasser ausgewaschen. Der Niederschlag löste sich in heissem Wasser nur zum geringsten Theil, und die Lösung liess nach dem Erkalten eine krystallinische Masse fallen. Nach Kossel's Methode auf Hexonbasen verarbeitet, lieferte dieselbe 0.35 g Arginin-silbernitrat in reinem Zustande.

0.2120 g Sbst. (über Schwefelsäure getrocknet): 0.0567 g Ag.



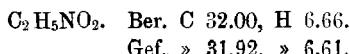
Ausser Arginin konnte keine Hexonbase aufgefunden werden. Der Phosphorwolframsäure-niederschlag enthielt fast nur Albumosen und Peptone.

Untersuchung auf Monoaminosäuren.

Die von den Phosphorwolframverbindungen getrennte Flüssigkeit wurde durch Baryt von überschüssiger Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure befreit, durch Kohlensäure und zuletzt mit verdünnter Schwefelsäure der Baryt quantitativ ausgefällt und im Vacuum zum dicken Syrup eingedampft; derselbe wurde in viel Alkohol gelöst und dieser mit Salzsäuregas gesättigt; nach dem Erhitzen auf dem Wasserbade während einer Stunde wurde in den Eisschrank gestellt. Nach

zwei Tagen hatte sich eine geringe Menge einer krystallinischen Masse ausgeschieden, welche abgesaugt und mit kaltem Alkohol gewaschen wurde. Durch Verseifen wurden hieraus 1.5 g reines Glykocoll gewonnen.

0.2205 g Sbst. (über Schwefelsäure getrocknet): 0.2581 g CO₂, 0.1314 g H₂O.



Das Filtrat vom salzauren Glykocollester wurde im Vacuum zum Syrup verdampft, wieder in Alkohol aufgenommen und das Sättigen mit Salzsäuregas wiederholt. Nach der zweiten Verdampfung im Vacuum wurde die in wenig Wasser gelöste dicke Masse, wie E. Fischer¹⁾ angegeben hat, mit Natronlauge, Kaliumcarbonat und Aether behandelt, die ätherischen Lösungen mit Natriumsulfat entwässert, von Aether bei möglichst niederer Temperatur befreit und der ölige Rückstand der fractionirten Destillation im Vacuum unterworfen.

Bei 10 mm Druck wurden erhalten folgende Fractionen:

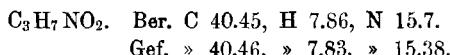
bei 40–60°	25.0 g	bei 80–100°	14.0 g
» 60–80°	6.5 »	» 100–150°	7.5 »

Leider mussten diese Fractionen wegen ihrer geringen Menge ohne Wiederholung der Destillation direct verarbeitet werden.

Fraction 40–60°.

Sie enthielt noch viel Alkohol. Eine Probe, mit Salzsäuregas behandelt, schied Krystalle von salzaurem Glutaminsäureester aus; die Menge desselben war jedoch sehr gering. Durch Verseifender Hauptmenge mittels heißen Wassers bis zum Aufhören der alkalischen Reaction, Eindampfen, Umkrystallisiren des Rückstandes aus heißem Wasser, Fällen mit Alkohol und Wiederholen des Umkrystallisirens wurden 1.65 g Alanin gewonnen, dessen Lösung rechts drehte.

0.1940 g Sbst. (über Schwefelsäure getrocknet): 0.2880 g CO₂, 0.1368 g H₂O. — 0.1215 g Sbst.: 18.7 ccm N (20°, 765 mm).



Fraction 60–80°.

In dieser Fraction wurden noch kleine Mengen Glykocoll, wie es scheint, Spuren von Alanin und etwas Leucin gefunden, Amino-valeriansäure und Pyrrolidincarbonsäure, welche hier hätten auftreten müssen, konnten mit Bestimmtheit nicht nachgewiesen werden. Die Kupfersalze lösten sich zwar zum kleinen Theil in Alkohol,

¹⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 33, 150 ff. [1901].

aber die daraus wieder regenerirten Säuren waren darin sehr wenig löslich und gaben bei der Analyse Zahlen, welche auf Gemische schliessen lassen.

Fraction 80—100⁰.

Die Hauptmenge besteht aus Leucinester. Es konnten 6.4 g reines Leucin gewonnen werden; auch hier trat keine Pyrrolidincarbonsäure auf. Ausserdem scheinen Gemische verschiedener Körper vorhanden zu sein, deren Trennung nicht gelang. Das Leucin, welches als solches und als Kupfersalz analysirt wurde, drehte in salzsaurer Lösung nach rechts.

0.2415 g Sbst.: 0.4850 g CO₂, 0.0215 g H₂O.

C₆H₁₃NO₂. Ber. C 54.96, H 9.92.

Gef. » 54.74, » 9.89.

0.3100 g Kupfersalz (bei 110⁰ getrocknet): 0.0760 g CuO.

(C₆H₁₂NO₂)₂Ca. Ber. CuO 24.75. Gef. CuO 24.51.

Fraction 100—150⁰.

Das Oel wurde zunächst mit Wasser geschüttelt, von welchem der Ester der Asparaginsäure gelöst wurde. Die Lösung schied nach der Verseifung mit Baryt und dem Eindampfen asparaginsaures Baryum aus, aus welchem die freie Säure gewonnen wurde. Ihre Menge betrug 1.84 g.

0.1413 g Sbst.: 0.1890 g CO₂, 0.0692 g H₂O.

C₄H₇NO₄. Ber. C 36.09, H 5.26.

Gef. » 36.35, » 5.44.

Der in Wasser unlösliche Theil der Fraction wurde mit Barytlösung verseift und danach der Baryt quantitativ durch Schwefelsäure entfernt. Beim Verdampfen hinterblieben 0.4 g einer krystallinischen Masse, welche beim Erwärmen mit Chromsäure nach Phenylacetalddehyd rochen; es lag also wohl Phenylalanin vor. Da eine Reindarstellung nicht gelang, stellte ich die Phenylisocyanatverbindung dar, welche, aus heissem, absolutem Alkohol umkrystallisiert, bei 180° schinolz. Leider war nur so wenig der Verbindung übrig geblieben, dass eine Analyse nicht ausgeführt werden konnte.

Es konnten also bei der Verdauung von Fibrin durch Papayotin, neben grossen Mengen Albumosen und Peptonen, tiefer gehende Spaltungsproducte: nämlich Arginin, Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure, Glykocoll, Glutaminsäure, Alanin, Phenylalanin mit Bestimmtheit nachgewiesen werden. Wenn die Menge derselben auch gering ist, so beweisen sie doch, dass das Papayotin genau wie das thierische Trypsin wirkt.