

309. Percy Brigl: Zur katalytischen Spaltung von Eiweißstoffen nach Ssadikow und Zelinsky.

[Aus d. Physiol.-chem. Institut d. Universität Tübingen.]

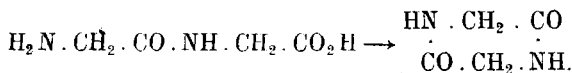
(Eingegangen am 15. Juni 1923.)

Vor einigen Monaten erschien eine Arbeit von Ssadikow und Zelinsky¹⁾, aus deren Ergebnis die Verfasser selbst die Schlußfolgerung ziehen, »die Konstitution des Eiweißmoleküls ist keine polypeptid-artige, wie es E. Fischer sich vorstellte, sondern wir haben es mit einem System von Ringen zu tun, unter welchem die Peptin-Ringe (Diketo-piperazin-Ringe) eine dominierende Stellung einnehmen und durch lange Methylenketten zusammengehalten werden«. War diese Schlußfolgerung richtig, so wäre damit das Einzige wieder in Frage gestellt, was man bisher über die Verkettung der Amino-säuren im Eiweiß mit Sicherheit zu wissen glaubte. Die russischen Autoren kommen zu ihrer Anschauung auf Grund der Tatsache, daß sie bei einer sogenannten katalytischen Spaltung, beim Erhitzen von Eiweiß der verschiedensten Art während 3—6 Stdn. mit Salzsäure von 0.5—1% auf 180° Produkte erhalten, die keine Biuret-Reaktion mehr geben und die zu einem erheblichen Bruchteil aus gemischten Anhydriden von Amino-säuren, aus asymmetrischen Diketo-piperazinen bestehen. Der experimentelle Befund sei als richtig unterstellt, obgleich das Fehlen jeder analytischen oder genaueren experimentellen Angabe — diese sollen erst später folgen — als Kriterium nur die Schmelzpunktangaben übrig läßt. Hieraus wird nun geschlossen, daß der Diketo-piperazin-Ring das primär im Eiweiß Vorhandene sei und alle Peptid-Bindungen erst sekundär aus diesem entstehen. Man könnte zunächst fragen, wie hiermit der Charakter des Eiweißes als Ampholyt in Einklang zu bringen ist. Nun ist aber, abgesehen von allem anderen, jener Schluß schon wegen des Verhaltens des Eiweißes gegen Fermente, speziell gegen Trypsin sehr unwahrscheinlich. Eine der entscheidenden Punkte in der Fischerschen Beweisführung für das Vorliegen von Polypeptid-Ketten im Eiweiß ist doch gerade die Tatsache, daß ein Katalysator wie das Trypsin, in so weitgehendem Maß auf den Feinbau der zu spaltenden Substanz eingestellt, instande ist, nicht nur Eiweiß anzugreifen, sondern auch einige der synthetischen Polypeptide. Es ist sehr wahrscheinlich, daß im Eiweiß neben der Peptid-Bindung noch andersartige Verkettungen eine Rolle spielen, wie von E. Fischer²⁾, Abderhalden³⁾ u. a. immer wieder betont worden ist, eine der häufigsten Bindungsarten ist aber offenbar die Peptid-Bindung. Es fragt sich nun, ob dieser Schluß in Einklang zu bringen ist mit dem anscheinend gegenteiligen experimentellen Befund von Ssadikow und Zelinsky. Es ist dies in der Tat möglich, wie sich außerordentlich einfach zeigen läßt. Man braucht nur das einfachste Dipeptid, Diglycin, den Bedingungen der »katalytischen Spaltung« zu unterwerfen, wobei sich neben Glycinbildung eine reichliche, mindestens 40-proz. Ausbeute an Diketo-piperazin beobachten läßt. Es tritt nicht nur Hydrolyse des Dipeptids ein, sondern auch Kondensation:

¹⁾ Bio. Z. 136, 241 [1923].

²⁾ Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine, S. 80. Berlin 1906.

³⁾ Lehrbuch der physiol. Chemie, 1.—5. Aufl. Berlin-Wien 1906—1923.



Bei dem ersten Versuch wurden 2 g Glycyl-glycin, das sich restlos in verd. Ammoniak löste, also frei vom Diketo-piperazin war, mit 100 ccm Salzsäure von 0.5 % 3 Stdn. auf 180° erhitzt. Zur Aufarbeitung wurde die Salzsäure mit Silbercarbonat gerade entfernt und im Vakuum bis auf 10 ccm eingedampft. Es fielen nur 0.1 g Diketo-piperazin aus. Nun entsprach die angewandte Menge an Salzsäure offenbar nicht dem, was die russischen Autoren bei der Eiweiß-Spaltung angewandt haben. Es findet sich in ihrer Arbeit nur die Angabe, daß sie 6000 g Gänsefedern der Spaltung mit 1-proz. Salzsäure unterworfen haben, sie werden sich also voraussichtlich mit ziemlich geringen Mengen an Salzsäure begnügt haben, um nicht gar zu gewaltige Mengen in den Autoklaven bringen zu müssen. Bei einer solchen Spaltung wird sich außerdem die Menge an freier Salzsäure sehr bald verringern, infolge einer Neutralisation durch Amino-säuren und abgespaltenes Ammoniak. Infolgedessen wird man den Bedingungen der Eiweiß-Spaltung viel näher kommen, wenn man auch bei der Einwirkung auf das Dipeptid die Menge an Salzsäure wesentlich heruntersetzt.

Aus dieser Erwägung heraus wurden 2 g Diglycin mit nur 10 ccm Salzsäure von 0.5 % 3 Stdn. auf 180° erhitzt. Schon beim Abkühlen begannen derbe Krystalle von reinem Diketo-piperazin auszufallen, deren Menge nach dem Stehen in Eis 0.66 g betrug. Eine weitere kleine Menge, 0.04 g, ließ sich nach dem Entfernen der Salzsäure durch Einengen auf die Hälfte gewinnen. Aus dem Filtrat fiel nur Glycin auf Alkoholzusatz. Daß man es mit Diketo-piperazin zu tun hatte, und nicht etwa mit dem ja gleichfalls in Wasser schwer löslichen Diglycin, bewies zunächst das Fehlen der sauren Eigenschaften. Weder gab der Niederschlag mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd eine blaue Lösung des Kupfersalzes (nach Fischer und Fournneau⁴) ein charakteristischer Unterschied zwischen Diglycin und dem Anhydrid, noch löste er sich in ganz verd. Ammoniak, was Diglycin rasch tut. Auch die Analyse des Rohproduktes gab scharf die für Diketo-piperazin zu erwartenden Zahlen.

0.1426 g Stbst.: 0.2192 g CO₂, 0.0667 g H₂O. — 0.1252 g Stbst.: 21.85 ccm n_{D}^{20} -H₂SO₄ (Kjeldahl).

| | |
|-------------------|--------------------------------|
| Diglycin. | Ber. C 36.34, H 6.10, N 21.21. |
| Diketo-piperazin. | Ber. » 42.08, » 5.32, » 24.56. |
| | Gef. » 41.92, » 5.23, » 24.47. |

Es handelt sich zweifellos um Diketo-piperazin.

Daß Diglycin und besonders viele seiner Derivate leicht in das Anhydrid übergehen, haben ja schon Fischer und Fournneau in der ersten Veröffentlichung betont; daß dieser Übergang bei Gegenwart von Säure und Wasser unter 10 Atm. Druck vor sich geht, ist etwas unerwartet und deshalb wohl auch von Ssodikow und Zelinsky überhaupt nicht in den Kreis ihrer Betrachtungen gezogen worden.

Auf Grund dieses Befundes darf man aber wohl schließen, daß auch bei der Druckspaltung des Eiweißes das Primäre Polypeptide sind, die erst nachträglich in Diketo-piperazine und noch kompliziertere Gebilde übergehen, teilweise auch bis zu Amino-säuren gespalten werden. Es soll damit nicht geleugnet werden, daß auch Diketo-piperazin-Ringe im Eiweiß präformiert vorliegen können — diese Frage ist ja noch neuerdings wieder durch Abderhalden⁵) diskutiert worden —, nur spielen sie nicht die überragende Rolle, die ihnen die russischen Autoren

⁴) B. 34, 2872 [1901].

⁵) H. 128, 119 [1923].

zuteilen wollen, es besteht also kein Grund mehr gegen die Annahme zahlreicher Polypeptid-Bindungen⁶⁾ im Eiweiß.

Daß trotz dieser Darlegung, die sich ja nur gegen gewisse Schlußfolgerungen wendet, die Methode von Ssadikow und Zelinsky als wichtige Eiweiß-Spaltmethode bestehen bleibt, bedarf wohl keiner näheren Begründung. Gestattet sie doch, in viel reicherm Maß als bisher Dipeptide in Form ihrer Anhydride zu fassen und so einen Überblick darüber zu gewinnen, welche Amino-säuren im Proteid miteinander verknüpft waren.

310. Hans Heinrich Schlubach und Gustav von Zwehl: Über das Tetraäthyl-ammonium, III.: Die Ähnlichkeit mit den Alkalimetallen. (4. Mitteilung über Ammonium-Radikale¹⁾.)

[Aus dem Chem. Laborat. d. Akademie d. Wissensch. in München.]

(Eingegangen am 29. Mai 1923.)

Auf zwei voneinander unabhängigen Wegen, durch Elektrolyse des Tetraäthyl-ammoniumjodids und durch Reduktion des Tetraäthyl-ammoniumchlorids mittels metallischen Kaliums in flüssigem Ammoniak hat der eine von uns gemeinsam mit F. Ballauf²⁾ Lösungen des freien Tetraäthyl-ammoniums in diesem Lösungsmittel erhalten. Es konnte gezeigt werden, daß die Reaktionen dieser Lösungen denjenigen der Alkalimetalle in flüssigem Ammoniak in mancher Beziehung sehr ähnlich sind, in anderer sich deutlich von ihnen unterscheiden.

Zur weiteren, zunächst qualitativen Charakterisierung des Tetraäthyl-ammoniums haben wir uns wiederum der Lösungen in flüssigem Ammoniak bedient, welche durch Elektrolyse des Tetraäthyl-ammoniumjodids bereitet waren. Wir haben hinsichtlich des Ausgangsmaterials und der gewählten Versuchsbedingungen besondere Sorgfalt darauf verwendet, jede Spur von Salzen der Alkalimetalle auszuschließen, deren Elektrolyse zu Täuschungen hätte Anlaß geben können.

Das Tetraäthyl-ammoniumjodid wurde aus frisch destilliertem Triäthylamin und Äthyljodid in Gefäßen, die mit Salzsäure ausgekocht waren, dargestellt. Aus dem früher³⁾ beschriebenen Elektrolysiergefäß wurden Tonzelle und Kohleanode entfernt und letztere durch eine Platinanode ersetzt, so daß nur Platin und Glas mit dem flüssigen Ammoniak in Berührung kommen konnten. Das Ammoniak selbst wurde einer kleinen Stahlflasche entnommen, in der es zur Trocknung direkt über einigen Stücken Natrium kondensiert war. Ein zwischengeschaltetes Filter mit geglühtem Asbest verhinderte, daß durch Spritzen Natrium aus der Stahlflasche mitgerissen werden konnte. Sämtliche Verbindungen waren durch Schiffe hergestellt. In das Elektrolysiergefäß wurden etwa 0.5 g Tetraäthyl-ammoniumjodid und einige Krystalle des zu untersuchenden Reagens gegeben, dann etwa 20 ccm Ammoniak darüber kondensiert, auf -75° abgekühlt und mit einer Stromstärke von 0.05–0.1 Amp. elektrolysiert. In den meisten Fällen, in denen das Reagens in Ammoniak löslich war,

⁶⁾ Einen weiteren Beleg für das Vorkommen längerer Polypeptid-Ketten im Eiweiß konnte auch der Verfasser in einer gemeinsam mit Hrn. Klenk unternommenen Arbeit erbringen, in der das Verhalten von Eiweiß bei der Spaltung durch geschmolzenes Phthalsäure-anhydrid untersucht wurde. Über die Arbeit wird in Kürze in der Zeitschrift für physiol. Chem. berichtet werden.

¹⁾ 3. Mitteilung: B. 54, 2825 [1921]. ²⁾ B. 54, 2811 [1921].

³⁾ B. 34, 2818 [1921].