

Die Bestimmung des Aminostickstoffs in einigen Polypeptiden nach der Methode von van Slyke.

Von

Emil Abderhalden und Donald D. van Slyke,
from the Laboratories of the Rockefeller Institute for Medical Research,
New York.

(Aus dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. August 1911.)

Der eine (S.) von uns hat kürzlich eine Methode mitgeteilt, welche gestattet, den aliphatischen Aminostickstoff von Aminosäuren und Polypeptiden auf Grund der Reaktion: $\text{RNH}_2 + \text{HNO}_2 = \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2$, in kurzer Zeit exakt zu bestimmen. Kleine Mengen genügen zur Analyse. Es schien uns von Interesse, an einem größeren Materiale bekannter Polypeptide die allgemeine Verwendbarkeit der Methode zu prüfen. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die gefundenen Werte. Sie zeigen, daß die gefundenen Stickstoffzahlen sehr gut mit den berechneten übereinstimmen. Eine Ausnahme machen nur diejenigen Polypeptide, in denen Glykokoll die Aminogruppe trägt. Hier fanden wir stets etwas zuviel Stickstoff. Die Differenz ist jedoch nicht sehr groß. Vor allen Dingen nimmt sie mit der Länge der Kette der Polypeptide nicht zu, sondern eher ab. Es wird vielleicht möglich sein, bei noch größerer Erfahrung an einem großen Materiale für Glycyl-polypeptide einen Korrektionsfaktor anzugeben. (Vgl. hierzu Tab. 2.) Unsere Resultate zeigen jeden-

falls, daß der von van Slyke¹⁾ ausgearbeiteten Methode eine große Bedeutung zukommt. Sie wird bei der Verfolgung von Fermentspaltungen und speziell auch bei der Untersuchung von Abbauprodukten, die bei der partiellen Hydrolyse der Proteine entstehen, große Dienste leisten. In letzterer Hinsicht sei darauf hingewiesen, daß das von dem einen von uns (A.) aus Seide isolierte d-Alanyl-glycin sehr scharfe Werte lieferte und ferner auch das aus Edestin gewonnene, aus Leucin, Tryptophan und Glutaminsäure bestehende Tripeptid gleichfalls ein ausgezeichnetes Resultat ergab. In der früheren Mitteilung²⁾ ist die Frage offen gelassen worden, ob das isolierte Tripeptid ganz rein war. Auf Grund dieser Analyse dürfen wir jetzt annehmen, daß ein vollständig reines Tripeptid, bestehend aus l-Leucin, d-Glutaminsäure und l-Tryptophan, vorlag.³⁾ Nur über die Reihenfolge, in der die Aminosäuren sich folgen, läßt sich noch nichts Bestimmtes aussagen. Es ist dies das zweite Tripeptid, das aus Eiweißabbauprodukten gewonnen werden konnte.⁴⁾

Die einzelnen Bestimmungen wurden genau nach der angegebenen (l. c.) Vorschrift ausgeführt. Die Dauer der Reaktion betrug gewöhnlich 6—10 Minuten. Zur Auflösung einiger in Wasser schwer löslicher Polypeptide verwendeten wir einige Tropfen Natronlauge. Im übrigen wurden die Substanzen in 10 ccm Wasser gelöst.

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die erhaltenen Resultate:

¹⁾ Donald D. van Slyke, Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der aliphatischen Aminogruppen; einige Anwendungen derselben in der Chemie der Proteine, des Harns und der Enzyme. Berichte der Deutsch. chem. Gesellschaft, Jg. 43, S. 3170, 1910.

²⁾ Emil Abderhalden, Partielle Hydrolyse einiger Proteine, Diese Zeitschrift, Bd. 58, S. 373, 1908.

³⁾ Ein Gemisch von Isomeren ist natürlich nicht ausgeschlossen.

⁴⁾ Vgl. über das erste Tripeptid: Emil Abderhalden, Weiterer Beitrag zur Kenntnis der bei der partiellen Hydrolyse von Proteinen entstehenden Spaltprodukte, Diese Zeitschrift, Bd. 72, S. 1, 1911.

Tabelle 1.

	Sub- stanz in g	N-Gas in ccm	Tem- peratur in ° C.	Druck in mm	Amino-N		Gesamt- N (berech- net in %)
					ge- funden in %	be- rechnet in %	
I. Aminosäuren.							
Glukosaminsäure $C_6H_{11}O_6N$	0,0961	12,35	29	757	7,10	7,26	7,26
II. Dipeptide.							
Glycyl-asparagin $C_6H_{11}O_4N_3$	0,0951	16,05	29	757	9,12	7,41	22,23
Glycyl-l-phenyl- alanin $C_{11}H_{14}O_3N_2$	0,0778	10,90	25,5	759	7,74	6,34	12,68
Glycyl-trypto- phan $C_{13}H_{15}O_3N_3$	0,0297	3,25	26	752	5,96	5,36	16,07
Alanyl-glycin $C_5H_{10}O_3N_2$	0,0994	17,90	28	760	9,83	9,60	19,20
d-Alanyl-glycin aus Seide	0,1021	17,80	27	757	9,46	9,60	19,20
Alanyl-alanin $C_8H_{12}O_3N_2$	0,1060	15,90	25,5	759	8,49	8,75	17,50
Alanyl-leucin $C_9H_{18}O_3N_2$	0,1004	13,50	28	758	7,32	6,94	13,88
Aminobutyryl-amino- buttersäure $C_8H_{16}O_3N_2$	0,1070	14,10	25,5	759	7,23	7,45	14,90
Valyl-glycin $C_7H_{14}O_3N_2$	0,0984	14,20	28	759	7,76	8,05	16,09
Valyl-alanin $C_8H_{16}O_3N_2$	0,0539	7,30	28	759	7,88	7,45	14,90
Leucyl-isoserin $C_9H_{18}O_4N_2$	0,0961	11,90	28	760	6,76	6,43	12,86
Leucyl-tyrosin- anhydrid $C_{16}H_{22}O_4N_4$	0,0597	0,00	—	—	0,00	0,00	9,52
Phenylalanyl- glycin $C_{11}H_{14}O_3N_2$	0,1004	12,20	30	760	6,54	6,34	12,68
III. Tripeptid.							
Diglycyl-glycin $C_8H_{11}O_4N_3$	0,0968	17,10	29	758	9,56	7,41	22,24
Alanyl-glycyl- glycin $C_7H_{13}O_4N_3$	0,1061	12,60	26,5	759	6,53	6,90	20,71
Alanyl-leucyl- glycin $C_{11}H_{21}O_4N_3$	0,0947	9,90	29	758	5,66	5,41	16,21
Leucyl-glycyl- glycin $C_{10}H_{19}O_4N_3$	0,0992	10,40	28	755	5,68	5,71	17,14
l-Leucyl-glycyl- glycin $C_{10}H_{19}O_4N_3$	0,0485	5,20	26	752	5,85	5,71	17,14
l-Leucyl-l-tryptophyl- d-glutaminsäure ¹⁾ aus Edestin $C_{22}H_{30}O_6N_4$	0,0338	2,03	27	757	3,25	3,14	12,56

¹⁾ Struktur fraglich!

Tabelle 1.

Fortsetzung.

	Sub- stanz in g	N-Gas in ccm	Tem- peratur in ° C.	Druck in mm	Amino-N		Gesamt- N (berech- net in %)
					ge- funden in %	be- rechnet in %	
IV. Tetrapeptide.							
Triglycyl-glycin C ₈ H ₁₄ O ₅ N ₄	0,1037	12,90	26	752	6,79	5,69	22,77
Leucyl-diglycyl- glycin C ₁₂ H ₂₂ O ₅ N ₄	0,0482	4,20	28	755	4,74	4,64	18,56
V. Hochmolekulare Polypeptide.							
l-Leucyl-octa- glycyl-glycin C ₂₄ H ₄₀ O ₁₁ N ₁₀	0,0700	2,50	26	757	1,96	2,17	21,75
l-Leucyl-triglycyl- l-leucyl-octaglycyl- glycin C ₃₈ H ₆₀ O ₁₅ N ₁₄	0,0777	2,10	27	757	1,47	1,51	21,13

Nach den bisherigen Erfahrungen erhält man bei den Polypeptiden, an deren Aufbau Glykokoll, das die Amino-
gruppe trägt, beteiligt ist, aus den gefundenen Werten an-
nähernd die richtigen, wenn man diese mit dem Faktor 0,8
multipliziert. Vgl. die folgende Tabelle.

Tabelle 2.

Korrektur für die Glycyl-Polypeptide.

	Aminostickstoff		
	gefunden	gefundener Wert $\times 0,8$	berechnet
Glycyl-glycin	13,7	10,96	10,60
Glycyl-phenylalanin	7,74	6,19	6,34
Glycyl-asparagin	9,12	7,30	7,41
Glycyl-tryptophan (nur 0,0297 g zur Analyse)	5,96	4,77	5,36
Diglycyl-glycin	9,56	7,65	7,41
Triglycyl-glycin	6,79	5,43	5,69