

Jedenfalls macht aber das Verhalten der untersuchten Polypeptide beim Erhitzen ihrer wäßrigen Lösungen recht wahrscheinlich, daß die hydrolytische Spaltung der Primärteilchen neben der dispersoid-chemischen Aufteilung der Sekundärteilchen bei der Thermolyse der Gelatine-Lösungen eine Rolle spielen dürfte. Der erstere Vorgang, auch wenn er zunächst auf chemisch-analytischem Wege noch nicht deutlich erkennbar ist, erscheint geeignet, die Irreversibilität der Änderungen in den physikalischen Eigenschaften der Gelatine-Lösungen bei anhaltendem Erhitzen verständlich zu machen. Weitere Untersuchungen sollen den Vorgang noch mehr aufklären.

Bezüglich der Darstellung der in der Arbeit verwendeten, synthetisch gewonnenen Polypeptide sei erwähnt, daß wir das Glycyl-glycin, welches wir als Zwischenprodukt benötigten, etwas abweichend von der bestehenden Vorschrift⁶⁾ bereiteten.

10 g Glycin-anhydrid (1 Mol.) wurden mit 100 ccm *n*-Natronlauge (1.14 Mol.) 20 Min. bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt. Die Natronlauge wurde mit 100 ccm *n*-Überchlorsäure neutralisiert, die Flüssigkeit unter vermindertem Druck auf etwa $\frac{1}{6}$ ihres Volumens eingedampft, filtriert und heiß mit Alkohol (etwa dem 3-fachen Volumen der eingedampften wäßrigen Flüssigkeit) versetzt. Das Glycyl-glycin schied sich langsam in schönen, glänzenden Blättchen in Rhombenform ab, während das Natriumperchlorat in Lösung blieb. Die gefällte Substanz wurde abgenutscht und mit Alkohol, dann mit Äther gewaschen. Ausbeute: 9.9 g = 85.5% d. Th.

Formol-Titration: 94.55 mg Sbst. verbraucht. 3.51 ccm $\frac{n}{5}$ -NaOH.

Gef. 10.38% Amino-Stickstoff, ber. 10.60%.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sind wir für die Bewilligung von Mitteln für diese Arbeit sehr zu Dank verpflichtet.

369. O. Gerngross und W. Deseke: Notiz über die gasvolumetrische Methode zur Bestimmung von Amino-Stickstoff nach van Slyke bei Glykokoll und bei glycin-haltigen Peptiden.

[Aus d. Techn.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Berlin u. d. Technol. Institut d. Landwirtschaftl. u. veterinär-medizin. Hochschule Ankara.]

(Eingegangen am 18. Oktober 1933.)

Bekanntlich enthält das Glutin rund 25% Glykokoll. Es war nahelegend, für die in der voranstehenden Mitteilung beschriebenen Versuche die relativ einfach herzustellenden, nur aus Glycylresten bestehenden Peptide zu verwenden. Es zeigte sich aber bald, daß, wie aus der Literatur bekannt, Glykokoll und den Glycylrest als Anfangsglied enthaltende Peptide nach der van-Slyke-Methode sich nicht messen lassen¹⁾.

So erhielten wir in 6 Bestimmungen an 0.5358 g Glykokoll eine Stickstoff-Menge von 0.2204 g N₂, entspr. 20.60% Amino-Stickstoff. Der theoretisch berechnete Gehalt ist 18.66%, so daß der Befund um 10.2% zu hoch liegt.

An Glycyl-glycin wurden, um eine größere Menge Gas zu sammeln, 11 Bestimmungen mit insgesamt 0.8992 g Substanz vorgenommen, die 0.2560 g Stickstoff ent-

⁶⁾ E. Fischer, B. **38**, 607 [1905].

¹⁾ E. Abderhalden u. D. van Slyke, Ztschr. physiol. Chem. **74**, 505 [1911]; vergl. auch E. Fischer u. W. Koelker, A. **340**, 177 [1905]; E. Fischer, B. **39**, 579 [1906]; A. Hynd u. M. McFarlane, Biochem. Journ. **20**, 1264 [1926].

wickelten. Dies entspricht einem Gehalt an Amino-Stickstoff von 14.24 %, gegen einen berechneten von 10.60 %, also 34 % über dem theoretischen Wert. Abderhalden und van Slyke fanden 13.7 % Amino-Stickstoff, oder 29 % über dem theoretischen Wert.

Wären die Werte durch die Entstehung eines von Stickstoff verschiedenen, leicht absorbierbaren oder gesondert bestimmbar Gases gefälscht, so bestände die Möglichkeit, durch Behandlung des Gasmischens mit einem geeigneten Absorptionsmittel korrigierte Werte zu erhalten.

In der Literatur finden sich über den abnormen Verlauf der Reaktion zwischen salpetriger Säure und Glykokoll bzw. den entsprechenden Peptiden keine genaueren Angaben. E. Fischer und W. Koelker (l. c.) fanden, daß Leucyl-isoserin, $C_6H_{13}.CH(NH_2).CO.NH.CH_2.CH(OH).COOH$, mit salpetriger Säure 17.22—17.47 % Stickstoff ergibt, statt 12.85 % (bei Annahme einer reagierenden Aminogruppe berechnet), und Glycyl-leucin 22.04 statt 14.97 % (berechnet). Diese Autoren gingen allerdings nicht genau nach den Vorschriften der van-Slyke-Methode, die damals noch nicht veröffentlicht war, vor. Vor allem benutzten sie *n*-Salzsäure statt Essigsäure und erwärmten das Reaktionsgemisch zum Schluß auf 60°. Sie waren der Meinung, daß durch die salpetrige Säure teilweise auch die Iminogruppe, vielleicht nach vorhergehender Hydrolyse, angegriffen würde. Es ist aber möglich, daß diese Hydrolyse lediglich durch die weniger schonenden Versuchs-Bedingungen verursacht wurde. Beim Glykokoll, welches ja keinen anderen Stickstoff außer der primären Aminogruppe enthält, muß man jedenfalls annehmen, daß eine tiefer eingreifende Veränderung als nur bis zur Glykolsäure stattfindet²⁾, und es liegt nahe, daß die Verhältnisse bei Glycyl-glycin usw. ähnlich sind.

Bei der von uns vorgenommenen Untersuchung der bei der van-Slyke-Analyse aus Glykokoll und aus Glycyl-glycin entwickelten Gase schieden diejenigen Gase aus, die durch alkalische Permanganat-Lösung absorbiert werden, also vor allem CO_2 .

Wir richteten unser Augenmerk zunächst auf Kohlenoxyd und prüften das bei der Analyse der Glykokoll-Lösung gesammelte Gas nach der Jod-pentoxyd-Methode. Es wurden jedoch nur Spuren Jod freigemacht, entsprechend einem CO -Gehalt von 0.06 %, also nahe an der Fehlergrenze.

Weitere Bestimmungen wurden an dem Gas vorgenommen, welches bei der mit Glycyl-glycin angestellten Versuchsreihe gesammelt worden war. Es wurde darin jedoch nur 0.4 % CO (durch Absorption in ammoniakalischer Kupferchlorür-Lösung) und 0.6 % N_2O (durch Verbrennung mit Wasserstoff in der Drehschmidt-Capillare) gefunden. Hiernach würde der bei der Einwirkung von salpetriger Säure auf Glycyl-glycin beobachtete Gasüberschuß zum allergrößten Teil aus Stickstoff bestehen, und es ist infolgedessen unmöglich, durch eine Nachbehandlung des Gases auf die richtigen Werte zu kommen. Der Reaktionsverlauf ist durch diese Versuche einstweilen nicht weiter aufgeklärt.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sagen wir für Unterstützung obiger Untersuchung unseren besten Dank.

²⁾ D. van Slyke in Abderhalden, Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden, Teil 1, Abteil. 7, 280.