

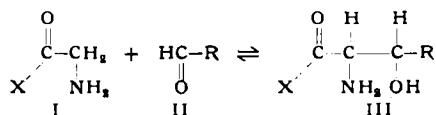
Zuschriften

Bildung von Oxyaminosäuren aus Aldehyden und peptid-gebundenem Glycin

Von Prof. Dr. THEODOR WIELAND und
Dipl.-Chem. KLAUS DOSE

Aus dem Institut für organische Chemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt a. M.

Glycin kondensiert sich in alkalischer Lösung mit aromatischen¹⁾ und geeigneten aliphatischen²⁾ Aldehyden zu β-Oxyaminosäuren; durch Erhitzen mit Alkali werden diese im entgegengesetzten Sinn dieser Aldolkondensation gespalten³⁾ ($X = \text{OH}$):



Die Spaltungsreaktion ist dann wesentlich erleichtert, wenn die Carboxyl-Gruppe der β-Oxyaminosäure substituiert ist, z. B. in Peptiden des Threonins oder β-Oxyleucins³⁾ (X in III = $-\text{NH}\cdot\text{CHR}_1\cdot\text{COOH}$; R_1 z. B. = CH_3). Ob auch die Kondensationsreaktion an Peptiden des Glycins gelingt oder gar erleichtert wird, konnte man bisher nicht eindeutig untersuchen, da durch das hierfür notwendige Erhitzen mit NaOH die Peptid-Bindung z. T. zerstört wird. Nun haben aber Snell und Mitarb.⁴⁾ gefunden, daß das von uns verwendete Alkali durch das milder wirkende Pyridoxal + Metallionen, wie z. B. Al^{+++} , ersetzt werden kann. Unter diesen Umständen läuft die Kondensations- und Spaltungsreaktion am Glycin bei pH -Werten um 6 bei 100°C in 0,25 bis 2 h ab. Da die Reaktion reversibel ist, führt sie zu einem Gleichgewicht. Da sie sowohl in neutralem als auch in saurem Medium abläuft, lassen sich hierbei auch Alkali-empfindliche Aldehyde verwenden, so daß wir jetzt die Umkehrbarkeit der Aldolspaltung an Peptiden des Glycins untersuchen konnten.

1.) 4 mMol Glycylalanin (X in I = $-\text{NH}\cdot\text{CH}[\text{CH}_3]\cdot\text{COOH}$) wurden mit 20 mMol Acetaldehyd (R in II = $-\text{CH}_3$) + 2 mMol Pyridoxal (aus den Aethylhalbacetal durch kurzes Aufkochen mit $n\text{ HCl}$ bereitet) in 5 cm³ Wasser bei pH 6 für 2 h auf 100°C gehalten (Wasserbad). Dann wurde an einer Probe, die als Querlinien auf 30 cm breites Filterpapier aufgetragen war, eine Hochspannungselektrophorese⁵⁾ bei pH 1,9 (15% Eisessig, 5% Ameisensäure, 80% Wasser) vorgenommen. Auf einem Randstreifen, der mit Ninhydrin angefärbt wurde, zeigte sich, daß nunmehr zwei Peptide in etwa gleicher Menge vorhanden waren, die sich bei einer Wanderrungsstrecke von 6 cm zur Kathode um 1 cm getrennt hatten. Beide wurden aus dem Hauptstreifen ausgeschnitten, eluiert und mit 20 proz. HCl mehrere Stunden hydrolysiert. Bei der anschließenden Papierchromatographie erwiesen sich die Bausteine des schneller wandernden Peptids als die des unveränderten Ausgangsmaterials (Glycin, Alanin), die des langsameren als Threonin und Alanin. Pyridin-2-, 3-, oder 4-aldehyd vermögen Pyridoxal hierbei nicht zu ersetzen.

¹⁾ E. Erlenmeyer, Jr. u. E. Frühstück, Liebigs Ann. Chem. 284, 41 [1895].

²⁾ Th. Wieland u. L. Wirth, Chem. Ber. 82, 468 [1949].

³⁾ Th. Wieland, H. Cordus u. E. Keck, Chem. Ber. 87, 1312 [1954].

⁴⁾ D. E. Metzler, J. B. Longenecker u. E. E. Snell, J. Amer. chem. Soc. 75, 2786 [1953].

⁵⁾ Th. Wieland, Vortragsreferat, Gießen; erscheint demnächst in dieser Zeitschrift.

Eine zweite Probe des eluierten Threonylalanins wurde in der gleichen Weise, aber ohne Acetaldehyd-Zusatz, unter Durchleiten eines N_2 -Stroms zur Entfernung des flüchtigen Aldehyds erwärmt. Nach 5 h enthielt die Lösung laut Elektrophrogramm kein Ausgangsmaterial mehr, sondern nur das Produkt der Aldolspaltung, Glycylalanin, daneben wenig Glycin, Alanin und Threonin, die durch Hydrolyse entstanden waren. Die Anwesenheit von Threonin zeigt, daß sich die freie Aminosäure unter den angewandten Bedingungen langsamer unter C-C-Spaltung zersetzt als im Peptid.

2.) Analog zu 1.) wurde Glycyl-valyl-alanin (X in I = $-\text{NH}\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)\cdot\text{COOH}$) mit Acetaldehyd oder Formaldehyd umgesetzt. Die Analysen und mikropräparativen Aufbereitungen zeigten, daß auch hier Threonyl- bzw. Serylpeptid zu etwa 50% von der Menge des unveränderten Glycylpeptids entstanden waren.

3.) Als Beispiel für ein Peptid, bei dem die Amino-Gruppe des Glycins besetzt ist, wurde Alanylglycin mit Glutathion unter denselben Bedingungen umgesetzt. Hier ergab sich keine Kondensation mit den Aldehyden. Auch solche Tripeptide, bei denen sich Glycin in der Mitte der Kette befindet, also sowohl an der Amino-Gruppe als auch an der Carboxyl-Gruppe weiterverknüpft ist, wie Alanyl-glycyl-isoleucin oder Carbobenzoxytriglycin blieben unter den genannten Versuchsbedingungen unverändert.

Daraus folgt, daß für die Kondensationsfähigkeit der α-ständigen Methylen-Gruppe des Glycins die mit ihr verknüpfte Amino-Gruppe frei sein muß. Nur dann kann das katalytisch wirkende Pyridoxal, vielleicht in Form einer Schiffsschen Base, die benachbarte Methylen-Gruppe zur Kondensation mit dem aliphatischen Aldehyd aktivieren. Ist die Amino-Gruppe acyliert, so bleibt die Aktivierung durch das Vitamin aus; Substitution an der Carboxyl-Gruppe des Glycins vermindert die Reaktionsfähigkeit der Methylen-Gruppe nicht, sondern scheint sie sogar zu verstärken. Dieselben Gründe sind vice versa auch für den Einfluß der N-Substitution auf die „Aldolspaltung“ von Oxyaminosäurepeptiden verantwortlich.

Bemerkung zur Nachweismethode von Peptiden auf Filterpapier. Viele Peptide, z. B. solche mit amino-endständigem Glycin, aber besonders cyclische oder N-acylierte, entziehen sich dem empfindlichen Nachweis durch die Ninhydrin-Reaktion. Besser geeignet ist hier die sog. Chlormethode (Zahn; Rydon und Smith), bei der die $-\text{NH}-\text{CO}-$ Gruppierung durch gasförmiges Chlor in eine N-Chlorverbindung übergeführt wird, die mit KJ-Stärke oder o-Tolidin bzw. Benzidin Blaufärbung gibt⁶⁾. Als ungünstig haben wir es hierbei immer empfunden, daß auch das Peptid-freie Papier Chlor adsorbiert, das nur in langwierigen Operationen völlig entfernt werden kann und den Papierbögen bei der Besprüfung mit dem Reagens einen mehr oder weniger gefärbten Untergrund verleiht. Wir fanden, daß kurzes Einhängen (15 bis 25 sec) der chlorierten Papierbögen in eine gesättigte Atmosphäre von Ammoniak den Chlor-Überschuß im Papier völlig beseitigt. Dabei reagiert freies Cl_2 nach $8 \text{ NH}_3 + 3 \text{ Cl}_2 = \text{N}_2 + 6 \text{ NH}_4\text{Cl}$ oder unter Hydrazin-Bildung viel rascher als die stabile N-Chlorverbindung des Peptids,



und als Folge hiervon bleiben die Bögen an den substanzfreien Stellen völlig ohne farbigen Untergrund.

Eingeg. am 2. Dezember 1954 [Z 137]

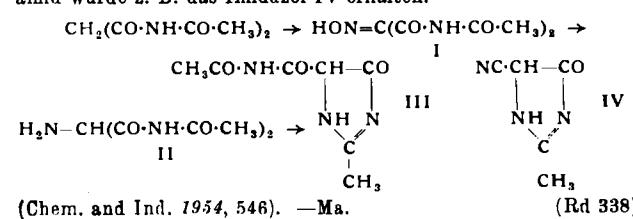
⁶⁾ F. Reindel u. W. Hoppe, Chem. Ber. 87, 1103 [1954].

Rundschau

Eine verbesserte Methode zur Darstellung von Arylisothiocyanaten geben J. N. Baxter, J. Cymerman-Craig, M. Moyle und R. A. White an. Die leicht zugänglichen Arylthioharnstoffe werden durch Erhitzen in einem geeigneten Lösungsmittel auf 150° (z. B. in Chlorbenzol) in NH_3 und Arylisothiocyanat gespalten. Die Isolierung erfolgt durch Entfernen des Solvens im Vakuum und Extraktion der Verbindungen mit Petroläther. Es wurden nachstehende Arylisothiocyanate dargestellt: Phenyl-: Ausbeute (bezogen auf umgesetzten Thioharnstoff 56%), Erhitzungszeit 8 Std.; o-Chlorphenyl-: 56,5%, 8 Std.; p-Bromphenyl-: 83%, 8 Std.; 4-Diphenyl-: 82%, 6 Std.; α-Naphthyl-: 91,5%, 8 Std.; β-Naphthyl-: 85%, 10 Std.; 9-Phenanthryl-: 87%, 10 Std.; 1-Pyrenyl-: 97%, 10 Std. (Chem. and Ind. 1954, 785). — Ma. (Rd 339)

Eine neue Methode zur Synthese von Imidazolen beschreibt G. Shaw. In Analogie zu den β-Amino-acylamiden, die bei der Cyclisierung Pyrimidine liefern, geben α-Amino-acylamide das Imid-

azolringssystem. Das aus Malonsäure, Acetamid und Acetanhydrid erhältliche Malonylacetamid gibt in wässriger Lösung mit 1 Äquivalent HNO_2 die Nitrosoverbindung I, $\text{Fp } 190^\circ$ (Zers.), die mit Adams-Pt-Katalysator zur Base II, $\text{Fp } 300^\circ$ (Zers.), hydriert wird. Die Verbindung ist extrem labil und cyclisiert sich beim Erwärmen der wässrigen Lösung rasch zum Imidazolderivat III. Die Reaktion ist allgemeiner Anwendung fähig. Aus Cyanacetyl-acetamid wurde z. B. das Imidazol IV erhalten.



Peroxy-trifluoressigsäure eignet sich vorzüglich zur Oxydation primärer aromatischer Amine zu den entsprechenden Nitrobenzolen. Nach W. D. Emmons (Röhm u. Haas Comp.) wurden an 15 Beispielen Ausbeuten über 80 % erzielt. Die Oxydationsprodukte fallen sehr rein an, da Nebenreaktionen, wie sie bei der Verwendung von Peroxy-essigsäure auftreten (bis zu 71 % Azoxybenzol aus Anilin!), infolge der hohen Acidität des Reaktionsgemisches nicht zum Zuge kommen. Negativ substituierte Anilinderivate eignen sich besonders gut, z. B. Nitraniline, Halogenaniline und Phenylendiamine. Hingegen kommt es bei Verbindungen mit Elektronen-spendenden Substituenten leicht zu einer Spaltung des Benzolkerns. Man bereitet das Reagenz, indem man Trifluoressigsäureanhydrid unter Kühlung in eine Emulsion von 90 proz. H_2O_2 in Methylchlorid einlaufen läßt. Die Oxydation der Amine erfolgt im gleichen Medium bei Rückflußtemperatur. (J. Amer. chem. Soc. 76, 3470 [1954]). —Hsl. (Rd 347)

4-Aminosalicylaldehyd-thiosemicarbazone wurde von A. Goldberg und H. A. Walker synthetisiert, um seine tuberkulostatische Wirkung mit der der entsprechenden Benzaldehyd-Derivate (Conteben) und der p-Aminosalicylsäure (PAS) zu vergleichen. Zur Darstellung des als Zwischenprodukt erforderlichen 4-Nitro-salicylaldehyds wurde 2-Acetoxy-4-nitrotoluol in siedendem Tetrachloräthan zunächst zum entsprechenden substituierten Benzylbromid bromiert. Dieses liefert bei der Einwirkung von feuchtem Pyridin 2-Oxy-4-nitrobenzyl-pyridinium-bromid. Das quartäre Salz wird nach Kröhnke (Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 2006 [1936]; 71, 2583 [1938]; 72, 440 [1939]) durch Einwirkung von N,N-Dimethyl-p-nitrosanilin und Natronlauge in das Nitron überführt, das unter dem Einfluß verdünnter Mineralsäuren den gewünschten 4-Nitrosalicylaldehyd liefert. Dessen Reduktion zur entsprechenden Aminoverbindung erfolgt über das Thiosemicarbazone

durch Einwirkung von Ammoniumsulfid. 4-Nitro-salicylaldehyd-thiosemicarbazone (Fp 260°), 4-Amino-salicylaldehyd-thiosemicarbazone (Fp 222—226°) und 4-Acetaminosalicylaldehyd-thiosemicarbazone (Fp 260—264°) erreichen indessen nicht die tuberkulostatische Wirkung von Conteben bzw. PAS. (J. Chem. Soc. [London] 1954, 2540). —Hsl. (Rd 346)

Phosphorylierung von Cytidin-5'-monophosphat. Es gelang, Cytidin-5'- bzw. Desoxycytidin-5'-monophosphat in Cytidin-5'-bzw. Desoxycytidin-5'-triphosphat überzuführen (L. Hecht und Mitar.). Auf gleiche Weise wurde Thymidin-5'-monophosphat zu Thymidin-5'-triphosphat phosphoryliert. Die Phosphorylierung wurde durch Leber-Homogenate (Ratte) bewirkt. Es konnte weiterhin gezeigt werden, daß die an dieser Reaktion beteiligten Fermente in der sog. „Plasmafraktion“ der Zellen lokalisiert sind. Die Identität der neuen Nucleotide wurde durch verschiedene Analysen gesichert und ihr Verhalten bei der Papierchromatographie (System nach G. R. Wyatt, Biochem. J. 48, 584 [1951]) sowie bei Anwendung verschiedener Anionenaustausch-Systeme untersucht. (Biochim. Biophysica Acta 15, 134 [1954]). —Sz. (Rd 343)

Die quantitative Bestimmung von reduzierenden Zuckern kann nach F. G. Fischer und H. Dörfler papierchromatographisch geschehen. Analysen- und Vergleichslösungen werden auf der Startlinie aufgebracht und mit einem Gemisch von Essigester, Pyridin und Wasser chromatographiert. Anschließend werden sie durch eine alkoholische alkalische Triphenyl-Tetrazolinum-Salzlösung gezogen und bei 70 °C 30 Min. aufbewahrt. Die gebildeten Formazanflecken werden ausgeschnitten und mit Eisessig-Methanol eluiert. Die Extinktion der Lösung (bei 482 m μ) wird mit der von Eichlösungen verglichen. Maximaler Fehler 3 %. (Z. physiol. Chem. 297, 164 [1954]). —Sf. (Rd 349)

Literatur

Encyclopedia of Chemical Technology, von R. E. Kirk und D. F. Othmer. Interscience Publishers Inc., New York, 1947—54. Band 1 bis 12, je Band etwa 960 S., Subskriptionspreis DM 110.— je Band; Gesamtwerk umfaßt 14 Bände.

Die erste Besprechung (diese Ztschr. 66, 343 [1954]) hat sich mit dem Aufbau des Werkes, der Struktur der Artikeleinteilung und der Diskussion einiger Artikel allgemeinen Inhalts befaßt. Im folgenden werden als Stichproben eine Reihe von Artikeln chemisch-technologischen Inhaltes herausgegriffen und kritisch gewürdig. In einer weiteren Fortsetzung der Besprechung wird dann noch eine Schlußbetrachtung erfolgen. Den Herren Professor Dr. F. Reiff, Dr. G. Schiller, Dr. H. Pfitzner und Dr. H. Corte danke ich für sachkundige Mitarbeit bei der Besprechung.

Ammoniak (39 Seiten): Nach kurzer Angabe der physikalischen Eigenschaften wird auf 5 Seiten das allgemeine chemische Verhalten des Ammoniaks (ohne Beziehung zur Technik) beschrieben, ein Abschnitt, der für ein technologisches Handbuch ausführlich ist, aber natürlich die allgemeine Chemie des Ammoniaks nur knapp wiedergeben kann. Es folgt dann auf 4 Seiten die Beschreibung des Kokerei-Ammoniaks, während der Rest des Artikels im wesentlichen den synthetischen Verfahren gewidmet ist. Hierbei werden neben dem Haber-Bosch-Verfahren das Nitrogen Engineering Corporation-Verfahren, das Claude-Verfahren, das Casale-Verfahren, das Fauser-Verfahren und das Mont Cenis-Verfahren kurz geschildert. Auch die Fragen der Gaserzeugung, der Transport des Ammoniaks und die Verwendungszwecke sind aufgeführt. Das Kapitel ist gut lesbar geschrieben und als allgemeine Einführung auch von didaktischem Gesichtspunkt ausgezeichnet. Um sich gründlicher über dieses Gebiet zu informieren, ist es allerdings erforderlich, auf die angeführte Literatur zurückzugreifen. Im Verhältnis dazu ist die Aufführung der 42 Literaturstellen allerdings knapp gehalten. Zum Vergleich sei erwähnt, daß der „Ullmann“ 1953 in der nach Untergebieten der synthetischen Ammoniak-Erzeugung aufgeteilten Patentübersicht 334 Patentschriften aufführt.

Acetylen (22 Seiten): Die Schilderung der physikalischen und chemischen Eigenschaften ist kurz zusammengefaßt. Bei der Schilderung der Herstellungsmethoden kommt das Verfahren der Trockenvergasung von Carbid zu kurz weg. Ausführlich ist die Herstellung von Acetylen aus Kohlenwasserstoffen beschrieben, der in den Vereinigten Staaten eine besondere Bedeutung zukommt. Die wichtigsten Methoden der industriellen Weiterverarbeitung des Acetylyns sind nur aufgezählt. Kurz geschildert sind auch die Acetylen-Flammen. Das Kapitel würde eine Ergänzung erfahren, wenn es einen Abschnitt über die wirtschaftliche Bedeutung des Acetylyns mit Angaben über Mengen und Preise enthalten würde.

Fettsäuren (127 Seiten): Unter den Bearbeitern befinden sich anerkannte Fachleute auf dem Gebiet der Fette und Fettsäuren, wie A. E. Bailey, F. L. Breusch und J. Cason, auch der Abschnitt „Spektrale Eigenschaften“ ist von einem guten Spezialisten (R. T. O'Connor) geschrieben. Es wird ein Überblick über den neuesten Stand des betreffenden Gebietes gegeben, jedoch wird u. a. auf die Angabe von genauen Arbeitsvorschriften verzichtet. So mit kann man sich sehr gut auf einem Spezialgebiet einen Überblick verschaffen, muß aber stets die angegebene Literatur heranziehen, wenn man Versuche anzustellen hat. Die Bedürfnisse des Chemie-Ingenieurs sind besonders weitgehend berücksichtigt. Man findet in sehr übersichtlicher Zusammenstellung die physikalischen Daten der Substanzen, auch ihre Änderungen unter den in Frage kommenden Arbeitsbedingungen, im einzelnen wird man aber auch hier ohne die genaueren Werte aus der Literatur nicht auskommen (vgl. z. B. die Dampfdrücke oder die Brechungsindizes auf S. 184).

Sehr gut sind die Ergebnisse der Strukturmöglichkeit mit Hilfe der UR-Spektren bzw. des Kristallbaues mittels Röntgenstrahlen dargestellt. Dagegen sind die herkömmlichen Analysenmethoden etwas kurz weggekommen. Man findet praktisch nur eine Erklärung, was die „Kenzahlen“ bedeuten (S. 155 u. 228/29), vermisst aber unter ihnen einige häufig verwendete Arbeitsweisen (etwa die Brom-Zahl nach Kaufmann). Ähnliches gilt von den chemischen Umsetzungen der Fettsäuren. Der Stand der Technologie dürfte richtig wiedergegeben sein, gelegentlich vermisste Methoden — etwa die Veresterung von Fettsäuren mit Glycerin im Vakuum — finden sich an anderen Stellen des Werkes. Einige hübsche und auf das Wesentliche beschränkte Tabellen über die Eigenschaften der Fette und Fettsäuren tragen zu dem günstigen Gesamteindruck dieses Kapitels bei.

Alkalioide (51 Seiten): Dieses Kapitel bringt zunächst eine ausgezeichnete Einführung in die sehr komplizierte Chemie der Alkalioide, in der u. a. die bekannten Untersuchungen von Robinson, Schöpf u. a. über die Bildung der Alkalioide in der Pflanze ausführlich referiert werden. Ein weiterer Abschnitt befaßt sich grundsätzlich mit Fragen der Ermittlung der chemischen Konstitution der Alkalioide. Den Hauptteil des Kapitels (35 Seiten) nehmen Aufzählung und kurze Beschreibung der Alkalioide ein, wobei die Einteilung in bestimmte Gruppen die übliche ist. In einem verhältnismäßig kurzen Schlußteil (9 Seiten) werden die allgemeinen Herstellungsmethoden der Alkalioide beschrieben.

Interessant ist ein Vergleich mit dem 1953 erschienenen Kapitel „Alkalioide“ im „Ullmann“. Dieses Kapitel ist doppelt so lang (103 Seiten). Trotzdem ist die allgemeine Einführung in einer sehr straffen Form auf nur 4 Seiten zusammengefaßt. Der übrige Teil bringt mit einer vom „Kirk-Othmer“ nur wenig abweichenden Gruppeneinteilung ausführliche Abschnitte über besonders wichtige Alkaloid-Gruppen.