

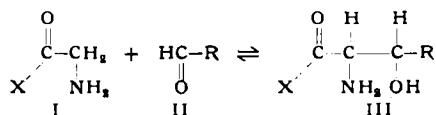
Zuschriften

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 -Oxymino-säuren; durch Erhitzen mit Alkali werden diese im entgegengesetzten Sinn dieser Aldolkondensation gespalten³⁾ ($X = OH$):



Die Spaltungsreaktion ist dann wesentlich erleichtert, wenn die Carboxyl-Gruppe der β -Oxyaminoäure substituiert ist, z. B. in Peptiden des Threonins oder β -Oxyleucins³⁾ (X in III = $-\text{NH}-\text{CHR}_1-\text{COOH}$; R 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 Mitarbb.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 HCl bereitet) in 5 cm³ Wasser bei pH 6 für 2 h auf 100° gehalten (Wasserbad). Dann wurde an einer Probe, die als Querlinie auf 30 cm breites Filterpapier aufgetragen war, eine Hochspannungselektrophorese⁶) 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 Bäusteine des schneller wandernden Peptids als die des unveränderten Ausgangsmaterials (Glycin, Alanin), die des langsameren als Threonin und Alanin. Pyrid-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. Cords u. E. Keck, Chem. Ber. 87, 1312 [1954].
⁴⁾ D. E. Matzler, J. B. Langeneker u. E. E. Snell, J. Amer. chem.

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

, J.W. Verlag, Stuttgart, 1911, erschien im Januar
dieser Zeitschrift.

Eine zweite Probe des eluierten Threonylalanins wurde in der gleichen Weise, aber ohne Acetaldehyd-Zusatz, unter Durchleiten eines N₂-Stroms zur Entfernung des flüchtigen Aldehyds erwärmt. Nach 5 h enthielt die Lösung laut Elektropherogramm 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 Carbobenzoxytripeptid 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 Oxyaminoäurezeptiden 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 $-NH-CO$ -Gruppierung durch gasförmiges Chlor in einer 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 Besprühung 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 Cl₂ nach $8NH_3 + 3Cl_2 = N_4 + 6NH_4Cl$ oder unter Hydrazin-Bildung rascher als die stabile N-Chlörverbindung 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 NH₃ 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-acylameide das Imid-

azolringssystem. Das aus Malonsäure, Acetamid und Acetanhydrid erhältliche Malonylacetamid gibt in wäßriger Lösung mit 1 Äquivalent HNO_2 die Nitrosoverbindung I, Fp 190° (Zers.), die mit Adams-Pt-Katalysator zur Base II, Fp 300° (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.

