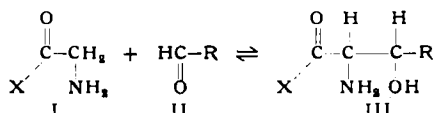


## Bildung von Oxyaminosäuren aus Aldehyden und peptid-gebundenem Glycin

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 aromatischen<sup>1)</sup> und geeigneten aliphatischen<sup>2)</sup> Aldehyden zu  $\beta$ -Oxyaminosäuren; durch Erhitzen mit Alkali werden diese im entgegengesetzten Sinn dieser Aldolkondensation gespalten<sup>3)</sup> ( $X = OH$ ):



Die Spaltungsreaktion ist dann wesentlich erleichtert, wenn die Carboxyl-Gruppe der  $\beta$ -Oxyaminosäure substituiert ist, z. B. in Peptiden des Threonins oder  $\beta$ -Oxyleucins<sup>3)</sup> ( $X$  in III =  $-\text{NH}-\text{CHR}_1-\text{COOH}$ ;  $R$  z. B. =  $\text{CH}_3$ ). 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.<sup>4)</sup> gefunden, daß das von uns verwendete Alkali durch das milder wirkende Pyridoxal + Metallionen, wie z. B.  $\text{Al}^{+++}$ , ersetzt werden kann. Unter diesen Umständen läuft die Kondensations- und Spaltungsreaktion am Glycin bei  $\text{pH}$ -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 =  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COOH}$ ) wurden mit 20 mMol Acetaldehyd ( $R$  in II =  $-\text{CH}_3$ ) + 2 mMol Pyridoxal (aus den Äthylhalbacetal durch kurzes Aufkochen mit  $n$  HCl bereit) in 5 cm<sup>3</sup> Wasser bei  $\text{pH}$  6 für 2 h auf 100° gehalten (Wasserbad). Dann wurde an einer Probe, die als Querlinie auf 30 cm breites Filterpapier aufgetragen war, eine Hochspannungselektrophorese<sup>5)</sup> bei  $\text{pH}$  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 Wanderungsstrecke von 6 cm zur Kathode um 1 cm getrennt hatten. Beide wurden aus den Hauptstreifen ausgeschnitten, eluiert und mit 20proz. 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.

<sup>1)</sup> E. Erlenmeyer, jr. u. E. Frühstück, Liebigs Ann. Chem. 284, 41 [1895].

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

<sup>3)</sup> Th. Wieland, H. Cords u. E. Keck, Chem. Ber. 87, 1312 [1954].

<sup>4)</sup> D. E. Metzler, J. B. Longenecker u. E. E. Snell, J. Amer. Chem. Soc. 75, 2786 [1953].

<sup>5)</sup> Th. Wieland, Vortragsreferat, Gießen; erscheint demnächst in dieser Zeitschrift.

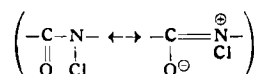
Eine zweite Probe des eluierten Threonylalanins wurde in der gleichen Weise, aber ohne Acetaldehyd-Zusatz, unter Durchleiten eines  $\text{N}_2$ -Stroms zur Entfernung des flüchtigen Aldehyds erwärmt. Nach 5 h enthielt die Lösung laut Elektropherogramm kein Ausgangsmaterial mehr, sondern nur das Produkt 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 =  $-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COOH})$ ) mit Acetaldehyd oder Formaldehyd umgesetzt. Die Analysen und mikropreparativen 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 Carbobenzoxylglycin blieben unter den genannten Versuchsbedingungen unverändert.

Daraus folgt, daß für die Kondensationsfähigkeit der  $\alpha$ -ständigen Methylengruppe des Glycins die mit ihr verknüpfte Amino-Gruppe frei sein muß. Nur dann kann das katalytisch wirkende Pyridoxal, vielleicht in Form einer Schiffchen Base, die benachbarte Methylengruppe 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 Methylengruppe 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 gibt<sup>6)</sup>. 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 Bespühung 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  $\text{Cl}_2$  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 stabilere 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]

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

## Rundschau

Eine verbesserte Methode zur Darstellung von Arylthiocyanaten 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  $\text{NH}_3$  und Arylthiocyanat gespalten. Die Isolierung erfolgt durch Entfernen des Solvens im Vakuum und Extraktion der Verbindungen mit Petroläther. Es wurden nachstehende Arylthiocyanate 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.;  $\alpha$ -Naphthyl-: 91,5%, 8 Std.;  $\beta$ -Naphthyl-: 85%, 10 Std.; 9-Phenanthryl-: 87%, 10 Std.; 1-Pyrenyl-: 97%, 10 Std. (Chem. and Ind. 1954, 785). —Ma.

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

azolingsystem. Das aus Malonsäure, Acetamid und Acetanhydrid erhältliche Malonylacetamid gibt in wässriger Lösung mit 1 Äquivalent  $\text{HNO}_2$  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 Cyanacetylacetamid wurde z. B. das Imidazol IV erhalten.

