

# ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

68. Jahrgang · Nr. 9 · Seite 313–344 · 7. Mai 1956

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

## Neue natürliche Aminosäuren

Von Dr. H. MUSSO

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

Mit Hilfe moderner Trennungsmethoden sind in den letzten 15 Jahren zahlreiche neue Aminosäuren entdeckt worden. Es wird versucht, alle wesentlichen Beiträge und Änderungen zur Kenntnis über das natürliche Vorkommen von Aminosäuren zusammenfassend darzustellen. Die Chemie und Biochemie der neuen Verbindungen sowie ihre Isolierung und Konstitutionsermittlung werden erläutert.

- |   |   |
|---|---|
| 1.) Aminosäuren, deren natürliches Vorkommen fraglich war oder ist. | 6.) Zwischenprodukte des Stoffwechsels. |
| 2.) Natürliche D-Aminosäuren.                                       | 7.) Neue saure Aminosäuren.             |
| 3.) N-, O- und S-Methylaminosäuren.                                 | 8.) Neue basische Aminosäuren.          |
| 4.) Weitere neue S-haltige Aminosäuren.                             | 9.) Cycliche Iminosäuren.               |
| 5.) Neue neutrale Aminosäuren.                                      | 10.) Halogen-haltige Aminosäuren.       |
|   | 11.) Zusammenfassung.                   |

Die neuere Literatur über Aminosäuren<sup>1)</sup> läßt den enormen Aufschwung, in dem sich die Chemie der Aminosäuren, Peptide und Proteine seit etwa 15 Jahren befindet, häufig nicht recht erkennen. Dies betrifft vor allem jene Aminosäuren, die in der Natur entweder in sehr kleiner Menge an ganz bestimmten Stellen spezifisch biologisch wirken oder als normale Zellbestandteile und Stoffwechselprodukte vorwiegend in Pflanzen und Mikroorganismen weit verbreitet sind.

Die Entwicklung der Aminosäure-Chemie wurde durch die neuen, sehr wirksamen Trennverfahren<sup>2)</sup> ermöglicht. Vor allem drei Arbeitsrichtungen der modernen Biochemie haben wesentlich dazu beigetragen: 1.) die systematische Suche nach neuen freien Aminosäuren in biologischem Material, z. B. im Urin vieler Säugetiere und in Pflanzenextrakten<sup>3)</sup>, 2.) die Konstitutionsermittlung der Antibiotica und 3.) die Aufklärung der natürlichen Synthese- und Abbauwege Stickstoff-haltiger Verbindungen mit Hilfe von Mutanten bestimmter Mikroorganismen und durch Isotopenmarkierung.

Analytische und präparative Methoden sollen nur dort erwähnt werden, wo sie einen neuen Gesichtspunkt erkennen lassen. Die Literatur ist bis Dezember 1955 berücksichtigt, aber nicht vollständig zitiert.

### 1. Aminosäuren, deren natürliches Vorkommen fraglich war oder ist

Norleucin und Norvalin. 1882 isolierte Thudichum aus Rinderhirn eine Substanz, die er als  $\alpha$ -Aminocapronsäure identifizierte. 1930 entdeckte Abderhalden im Nervenprotein die  $\alpha$ -Amino-n-valeriansäure. Das Vorkommen beider Aminosäuren wurde späterhin bestätigt, doch konnten Consden und Mitarbeiter<sup>4)</sup> durch papierchromatogra-

phische Analyse des Originalpräparates von Thudichum zeigen, daß es nur aus Leucin bestand. Darauf haben Heyns und Walter<sup>5)</sup> sehr sorgfältig aber vergeblich nach beiden Aminosäuren im Nervenprotein gesucht. Den Hydrolysaten zugesetztes Norleucin und Norvalin konnten sie bis hinab zu 0,05 bzw. 0,1 % im Papierchromatogramm wiederfinden<sup>5a)</sup>.

$\beta$ -Oxy-glutaminsäure. Dakin glaubte 1918 diese Verbindung aus Casein, Gliadin und Glutenin isoliert zu haben, doch konnten seine Versuche nicht reproduziert werden. Zwei Proben aus der Hand von Dakin, die Dent und Fowler<sup>6)</sup> papierchromatographisch mit synthetischer  $\beta$ -Oxy-glutaminsäure verglichen, enthielten wohl mehrere bekannte Aminosäuren, vor allem Asparaginsäure und Glutaminsäure, jedoch keine Spur der gesuchten Verbindung. Dagegen wurde  $\gamma$ -Oxy-glutaminsäure im vergangenen Jahr aus natürlichem Material isoliert<sup>7)</sup> (siehe unten).

Man könnte hier einwenden, daß diese alten Präparate im Laufe der Zeit verunreinigt oder vielleicht durch Mikroorganismen zerstört worden wären. Dies ist jedoch nach den Analysenergebnissen ausgeschlossen und außerdem konnte Knight<sup>8)</sup> an Aminosäuren und 34 Peptiden aus der Sammlung von Emil Fischer papierchromatographisch zeigen, daß sie etwa 50 Jahre einwandfrei überstanden haben.

$\alpha$ -Aminobuttersäure entsteht unter den üblichen Bedingungen der alkalischen und sauren Protein-Hydrolyse aus Threonin. Da sie aus Hydrolysaten isoliert wird, ist diese sekundäre Bildungsweise in keinem Fall eindeutig ausgeschlossen und ihr Vorkommen als Eiweißbaustein immer noch umstritten<sup>9)</sup>. Sie wurde wiederholt frei, z. B. in Pflanzen und im Urin gefunden und ihre Entstehung auf die enzymatische Decarboxylierung der Glutaminsäure zurückgeführt.

Lanthionin (1) konnte aus verschiedenen Alkali-behandelten Proteinen isoliert werden. Seine Bildung wird

<sup>1)</sup> Letzte Übersicht R. J. Block, Chem. Reviews 38, 501 [1946].  
<sup>2)</sup> Näheres siehe: F. Cramer: Papierchromatographie, 3. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim 1954; F. Turba: Chromatographische Methoden in der Proteinchemie, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954; E. Hecker: Verteilungsverfahren im Laboratorium, Verlag Chemie, Weinheim 1955.

<sup>3)</sup> Übersicht über die neuen freien Aminosäuren in grünen Pflanzen A. I. Virtanen, diese Ztschr. 67, 381 [1955].  
<sup>4)</sup> R. Consden, A. H. Gordon, A. J. P. Martin, O. Rosenheim u. R. L. M. Syngle, Biochem. J. 39, 251 [1945].

<sup>5)</sup> K. Heyns u. W. Walter, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 289, 85 [1952].

<sup>5a)</sup> A. L. Black u. M. Kleiber, J. Amer. chem. Soc. 77, 6082 [1955].

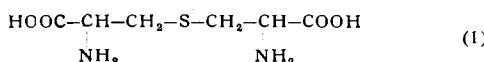
<sup>6)</sup> C. E. Dent u. D. I. Fowler, Biochem. J. 56, 54 [1954].

<sup>7)</sup> A. I. Virtanen u. P. K. Hietala, Acta chem. scand. 9, 175, 549 [1955].

<sup>8)</sup> C. A. Knight, J. biol. Chemistry 190, 753 [1951].

<sup>9)</sup> K. Heyns u. W. Walter, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 294, 111 [1953].

durch eine alkalische Schwefelwasserstoff- bzw. Wasserabspaltung aus Cystein- bzw. Serin-Resten und Addition von Cystein-Gruppen an die Aminoacrylsäure-Doppelbindung erklärt<sup>10</sup>). Neuerdings entdeckte man meso-Lanthionin in den sauren Hydrolysaten der Polypeptidantibiotica Subtilin (*B. subtilis*)<sup>11</sup>), Nisin (*Streptococcus lactis*)<sup>12</sup>) und Cinnamycin (*Streptomyces cinnamoneus*)<sup>13</sup>). Hierbei wurde jegliche Alkali-Einwirkung verhindert und außerdem durch die auch nach Cyanid-Behandlung negativ verlaufene Nitroprussid-Reaktion gezeigt, daß im Peptid vor der Hydrolyse keine —SH bzw. —S—S-Gruppen nachzuweisen waren. Somit ist in diesen Fällen eine sekundäre Bildung des Lanthionins ausgeschlossen und sein natürliches Vorkommen erwiesen.



$\delta$ -Oxy-L-lysin, zuerst 1921 von *van Slyke* beschrieben, wurde in den letzten Jahren wiederholt, z. B. aus Fischhaut<sup>14</sup>) isoliert und seine Konstitution durch mehrere eindeutige Synthesen als  $\alpha, \epsilon$ -Diamino- $\delta$ -oxy-capronsäure festgelegt. Es scheint jedoch in den normalen Proteinen nicht weit verbreitet zu sein, denn nach den sehr zuverlässigen *Moore*- und *Stein*-Analysen verschiedener Eiweißarten ist es nur im Kollagen zu etwa 1 % vorhanden<sup>15</sup>). Es wird im tierischen Organismus hauptsächlich direkt aus Lysin gebildet<sup>16</sup>). Eine  $\delta$ -Oxylysin-phosphor-Verbindung, wahrscheinlich der Phosphorsäureester, kommt in den Muskeln von Kälberembryonen vor; bei erwachsenen Tieren fehlt dieser Bestandteil<sup>17</sup>).

$\beta$ -Alanin, dessen Vorkommen in verschiedenen Naturstoffen wie Pantotheninsäure und den Dipeptiden Anserin und Carnosin gesichert ist, wurde wiederholt als freie Aminosäure beobachtet. Es entsteht im Organismus durch die enzymatische Decarboxylie rung der Asparaginsäure. Neuerdings fand man  $\beta$ -Alanin im Coenzym A und als Glutamyl- $\beta$ -alanin-nitril im *Latyrus*-Faktor<sup>18</sup>).

2-Thiolhistidin wurde früher gelegentlich als Bestandteil Schwefel-haltiger Proteine diskutiert, aber niemals sicher nachgewiesen. *Heath*<sup>19</sup>) stellte beim Verfüttern von  $^{35}\text{S}$ -markiertem 2-Thiolhistidin an Ratten fest, daß es sich nicht am Stoffwechsel dieser Tiere beteiligt und somit, entgegen den Erwartungen, keine Vorstufe zum Ergothionein (seinem Trimethylbetalain) sein kann.

Die Beobachtungen über  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -oxy-buttersäure, Oxyvalin<sup>20</sup>), Oxyleucin<sup>21</sup>) und Prolysin<sup>22</sup>) in Protein-Hydrolysaten haben sich als irrtümlich erwiesen<sup>20</sup>) oder müssen durch die modernen Analysenmethoden bestätigt werden.

## 2. Natürliche D-Aminosäuren

In der älteren Literatur findet man einige Angaben über das Vorkommen von teilweise oder vollständig racemisierten Aminosäuren in der Natur, die jedoch einer modernen Kritik nicht standhalten<sup>23</sup>). Der Nachweis kleiner D-Aminosäure-Mengen in Hydrolysaten, die vorwiegend aus L-Aminosäuren bestehen, ist erst durch die Isotopenverdünnungsmethode oder die quantitative Aminosäure-

- <sup>10</sup>) Literatur s. A. J. P. Martin u. R. L. M. Synge, Advances Protein Chem. 2, 7 [1945].
- <sup>11</sup>) G. Alderton u. H. L. Fevold, J. Amer. chem. Soc. 73, 463 [1951].
- <sup>12</sup>) N. J. Berridge, G. G. F. Newton u. E. P. Abraham, Biochem. J. 52, 529 [1952].
- <sup>13</sup>) R. G. Benedict, W. Dronch, O. L. Shotwell, T. G. Pridham u. L. A. Lindenfelser, Antibiotics and Chemotherapy 2, 591 [1952].
- <sup>14</sup>) S. Bergström u. S. Lindstedt, Acta chem. scand. 5, 157 [1951].
- <sup>15</sup>) P. B. Hamilton u. R. A. Anderson, J. Amer. chem. Soc. 77, 2892 [1955]; J. biol. Chemistry 213, 249 [1955].
- <sup>16</sup>) F. M. Sinex u. D. D. van Slyke, J. biol. Chemistry 216, 245 [1955].
- <sup>17</sup>) A. H. Gordon, Biochem. J. 45, 99 [1949].
- <sup>18</sup>) E. D. Schilling u. F. M. Strong, J. Amer. chem. Soc. 77, 2843 [1955].
- <sup>19</sup>) H. Heath, Biochem. J. 54, 689 [1953].
- <sup>20</sup>) Vgl. E. Abderhalden u. K. Heyns, Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 530 [1934].
- <sup>21</sup>) H. D. Dakin, J. biol. Chemistry 154, 549 [1944].
- <sup>22</sup>) M. Wada, Biochem. Z. 262, 57 [1933].
- <sup>23</sup>) A. Neuberger, Advances Protein Chem. 4, 362 [1948].
- <sup>24</sup>) C. M. Stevens, P. E. Halpern u. R. P. Gigger, J. biol. Chemistry 190, 705 [1951].

trennung und den fermentativen Abbau möglich geworden. Dabei wird der eine Antipode des Gemisches durch ein spezifisches Ferment decarboxyliert oder oxydativ desaminiert und die Gasentwicklung quantitativ verfolgt. Die durch Aminosäure-Oxydase gebildeten Ketosäuren lassen sich kolorimetrisch oder nach Trennung der Dinitrophenylhydrazone erkennen und bestimmen. Besonders genaue Daten werden aus der Differenz der Aminosäure-Analyse nach *Moore* und *Stein* vor und nach dem fermentativen Abbau erhalten. Fehler entstehen hauptsächlich dadurch, daß die Proteine während der Hydrolyse racemisieren und zwar verschieden stark, und daß das Enzym die einzelnen Aminosäuren unterschiedlich angreift<sup>24</sup>). Diese Methoden lassen sich mit wenigen mg papierchromatographisch auf verschiedene Eiweißstoffe und Peptide anwenden und zeigen, daß die normalen Proteine und Körperflüssigkeiten keine D-Aminosäuren enthalten<sup>25, 30</sup>). Dagegen konnten im Zellinneren, in den Kapseln und in den Kulturlösungen einiger Mikroorganismen, vor allem in zahlreichen Antibiotica, erhebliche Mengen z.T. sogar reine D-Aminosäuren aufgefunden werden (Tabelle 1). Für die Mutterkorn-Alkaloide jedoch, aus denen *Jacobs* und *Craig*<sup>26</sup>) durch Hydrolyse DL- bzw. D-Prolin isolieren konnten, ergibt der milde reduzierende Abbau mit Lithium-aluminiumhydrid von *Stoll* und Mitarbeiter<sup>27</sup>) die L-Form.

Hier sei noch die interessante Beobachtung von *Weil* und *Kuhn*<sup>28</sup>) erwähnt, die im Schweifhaar alter Pferde (24 Jahre) eine etwa 3 proz. Racemisierung des Leucins nachweisen konnten, wogegen sich aus dem Schwanz eines siebenjährigen nur reines L-Leucin isolieren ließ. Die Arbeiten von *Kögl*, die das Wachstum bösartiger Tumoren mit einem hohen Gehalt an D-Glutaminsäure verbinden, konnten von anderer Seite auch in jüngster Zeit nicht bestätigt werden<sup>29, 30, 31</sup>). Nur der *Kögl'sche* Fütterungsversuch wurde kürzlich von *Hillmann* und *Hillmann-Elies*<sup>31</sup>) weitgehend reproduziert. Um die Racemisierunggefahr während der Hydrolyse auszuschließen wird das Tumorgewebe an Tiere (Hund, Ratte) verfüttert und der Urin auf D-Glutaminsäure-Verbindungen hin untersucht. In einem von drei Fällen konnten die Autoren nach Verfütterung von Lebermetastasen eine reichliche Menge D-Glutaminsäure isolieren. Diese Versuche sind aber trotz schonender Aufarbeitung und geschickter papierchromatographischer Technik nicht eindeutig, da auch bei normalem Futter geringe Mengen an D-Glutaminsäure ausgeschieden werden, die bei hungrigen Ratten stark ansteigen können<sup>31</sup>). Bei Gabe verschiedener D-Aminosäuren findet man sehr unterschiedliche Mengen der einzelnen Verbindungen im Harn der Versuchstiere wieder<sup>24</sup>).

D-Alanin	<i>Lactobacillus arabinosus</i> <sup>24, 32a)</sup> Fumaryl-D,L-alanin aus <i>Penicillium resticulosum</i> <sup>32)</sup> aus Steinpilz ( <i>Boletus edulis</i> ) <sup>33)</sup>
D-Phenylalanin	Bacillus brevis <sup>24, 34)</sup> Tyrocidin aus <i>B. brevis</i> <sup>35, 36)</sup> Gramicidin S <sup>36</sup> ) u. J <sup>37)</sup> aus <i>B. brevis</i> Bacitracin A aus <i>B. subtilis</i> <sup>38)</sup>

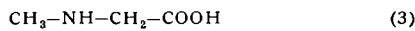
Tabelle 1. D-Aminosäuren aus Mikroorganismen

- <sup>25</sup>) E. Bonetti u. C. E. Dent, Biochem. J. 57, 77 [1954].
- <sup>26</sup>) W. A. Jacobs u. L. C. Craig, J. biol. Chemistry 170, 521 [1935].
- <sup>27</sup>) A. Stoll, A. Hofmann u. T. Petzilka, Helv. chim. Acta 34, 1544 [1951].
- <sup>28</sup>) K. Weil u. Werner Kuhn, Helv. chim. Acta 27, 1648 [1944].
- <sup>29</sup>) G. H. Wiltshire, Biochem. J. 55, 46 [1953]; Brit. J. Cancer 7, 137 [1953].
- <sup>30</sup>) P. Boulanger u. R. Osteux, Biochim. biophysica Acta 5, 416 [1950].
- <sup>31</sup>) G. Hillmann, A. Hillmann-Elies u. F. Melhessel, Z. Naturforsch. 9b, 660 [1954].
- <sup>32</sup>) J. H. Birkinshaw, H. Raistrick u. G. Smith, Biochem. J. 36, 829 [1942].
- <sup>32a)</sup> E. E. Snell, N. S. Radin u. M. Ikawa, J. biol. Chemistry 217, 803 [1955].
- <sup>33)</sup> E. Winterstein, C. Reuter u. R. Korolew, Landw. Versuchsstat. 79/80, 541 [1913].
- <sup>34)</sup> C. M. Stevens, R. P. Gigger u. S. W. Bowne, J. biol. Chemistry 212, 461 [1955].
- <sup>35)</sup> A. Paladini u. L. C. Craig, J. Amer. chem. Soc. 76, 688 [1954].
- <sup>36)</sup> R. L. M. Synge, Biochem. J. 39, 363 [1945].
- <sup>37)</sup> S. Otani u. Y. Saito, Proc. Japan Acad. 30, 991 [1954].
- <sup>38)</sup> L. C. Craig, W. Hausmann u. J. R. Weisiger, J. biol. Chemistry 199, 865 [1952].

D-Valin	Gramicidin aus <i>B. brevis</i> <sup>39)</sup> Actinomycin a. <i>Streptomyces chrysomallus</i> <sup>40)</sup>
D-Leucin	Valinomycin a. <i>Streptomyces</i> sp. <sup>41)</sup> Gramicidin <sup>39)</sup> und Gramicidin J <sup>37)</sup> a. <i>B. brevis</i>
D-Alloisoleucin	Polymyxine a. <i>B. polymyxa</i> u. <i>B. aerosporus</i> <sup>42)</sup>
D-Glutaminsäure	Circulin aus <i>B. circulans</i> <sup>43)</sup> Actinomycine aus <i>Str. chrysomallus</i> <sup>40)</sup> L-casei <sup>29)</sup> , <i>Streptococcus faecalis</i> <sup>30)</sup>
D-Asparaginsäure	Poly- $\gamma$ -D-Glutaminsäure aus <i>B. anthracis</i> u. <i>B. mesentericus</i> <sup>44)</sup>
D- $\alpha$ -Amino-adipinsäure	Bacitracin aus <i>B. subtilis</i> <sup>38)</sup> <i>B. brevis</i> <sup>34)</sup>
D-Penicillamin (2)	Bacitracin A aus <i>B. subtilis</i> <sup>38)</sup> Cephalosporin C u. N a. <i>Cephalosporium</i> sp. <sup>45)</sup>
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{SH} \quad \text{NH}_3 \end{array}$ (2)	Penicillin aus <i>P. notatum</i> <sup>23)</sup> Cephalosporin aus <i>Cephalosporium</i> sp. <sup>45)</sup>
D-Ornithin	Gramicidin J aus <i>B. brevis</i> <sup>38)</sup> Bacitracin aus <i>B. subtilis</i> <sup>38)</sup>

### 3. N-, O- und S-Methyl-aminosäuren

Sarkosin (3), dessen natürliches Vorkommen zuerst von Kossel und Edlbacher<sup>46)</sup> beschrieben worden ist, konnte in den letzten Jahren wiederholt als freie Aminosäure z. B. in Hummern, Krabben, im Rentiermoos<sup>47)</sup> und Peptid gebunden in den Actinomycinen<sup>40)</sup> sowie im Erdnußprotein<sup>48)</sup> papierchromatographisch gefunden und auch präparativ durch chromatographische Verfahren isoliert werden. Es bildet sich nach Horner und Mackenzie<sup>49)</sup> in der Ratte durch Methylierung von Glycin mit der S-Methyl-Gruppe des Methionins (Markierung mit  $^{14}\text{C}$ ) und stellt wahrscheinlich auch in anderen Organismen ein normales Stoffwechselprodukt dar.



N-Methyl-L-valin, N-Methyl-L-isoleucin und N-Methyl-L-leucin liegen mit  $\alpha$ -Oxy-isovaleriansäure zu tetracyclischen Ringen verknüpft in den Enniatinen vor. Diese Antibiotica wurden von Plattner und Nager<sup>50)</sup> aus Fusarien isoliert und in der Konstitution aufgeklärt. Das N-Methyl-L-valin findet man außerdem im Peptidteil der Actinomycine<sup>40)</sup>.

3-Methyl-L-histidin. Bei der quantitativen Aminosäure-Analyse von menschlichem Urin an saurem Dowex 50 entdeckten Tallan, Stein und Moore<sup>51)</sup> kurz vor Histidin eine neue Zone, die sie keiner bekannten Aminosäure zuordnen konnten. Sie erhielten so auch in präparativem Maßstab eine Substanz, die nach der Analyse (1 N-CH<sub>3</sub>) mit 1-Methyl-histidin isomer war und ähnliche Eigenschaften besaß. Dieses wird ebenfalls im Urin ausgeschieden und

<sup>39)</sup> R. L. M. Syngle, Biochem. J. 44, 542 [1949].

<sup>40)</sup> H. Brockmann, diese Ztschr. 66, 1 [1954].

<sup>41)</sup> H. Brockmann u. G. Schmidt-Kastner, Chem. Ber. 88, 57 [1955].

<sup>42)</sup> T. S. G. Jones, Biochem. J. 42, 59 [1948].

<sup>43)</sup> D. H. Peterson u. L. M. Reinecke, J. biol. Chemistry 181, 95 [1949].

<sup>44)</sup> V. Bruckner u. G. Ivánovics, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 247, 281 [1937].

<sup>45)</sup> G. G. F. Newton u. E. P. Abraham, Nature [London] 175, 548 [1955]; 172, 395 [1953].

<sup>46)</sup> A. Kossel u. S. Edlbacher, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 91, 264 [1915].

<sup>47)</sup> P. Linko, M. Alftan, J. K. Miettinen u. A. I. Virtanen, Acta chem. scand. 7, 1310 [1953].

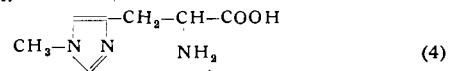
<sup>48)</sup> R. D. Haworth, R. MacGillivray u. D. H. Peacock, Nature [London] 167, 1068 [1951].

<sup>49)</sup> W. H. Horner u. C. G. Mackenzie, J. biol. Chemistry 187, 15 [1950].

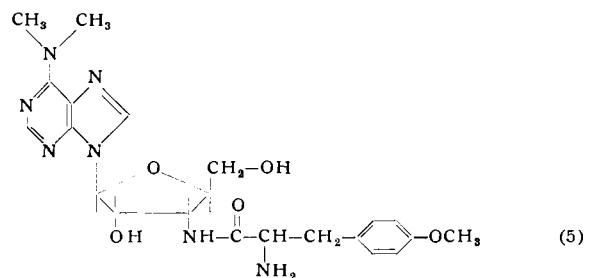
<sup>50)</sup> P. A. Plattner u. U. Nager, Helv. chim. Acta 31, 2192, 2203 [1948].

<sup>51)</sup> H. H. Tallan, W. H. Stein u. S. Moore, J. biol. Chemistry 206, 825 [1954].

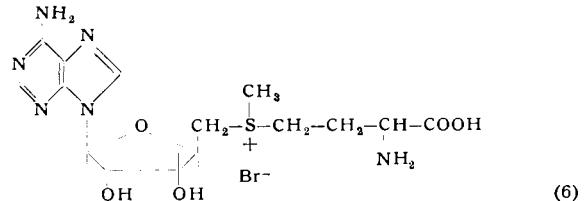
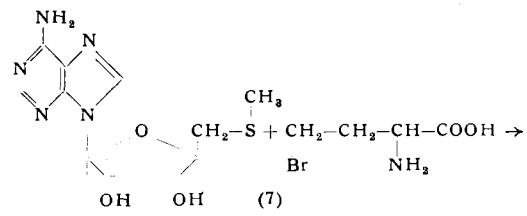
verläßt die Austauschersäule kurz nach dem Histidin. Die Autoren methylierten L-Histidin mit Methyljodid und Natrium in flüssigem Ammoniak und konnten durch Chromatographie des Reaktionsproduktes neben unverändertem Histidin und 1-Methylhistidin auch die neue Aminosäure erhalten, deren Konstitution dadurch als 3-Methyl-L-histidin (4) festgelegt war. Obgleich von dieser Aminosäure täglich etwa 50 mg im Harn ausgeschieden werden, konnte sie im Gegensatz zu 1-Methylhistidin im Muskel nicht und im Plasma, wenn überhaupt, nur in sehr geringer Menge nachgewiesen werden.



L-Tyrosin-methyläther liegt im Puromycin (5) (Antibioticum aus *Streptomyces alboniger*) Säureamid-artig mit der Amino-Gruppe der D-3-Aminoribose verknüpft vor. Waller und Mitarbeiter<sup>52)</sup> konnten die Substanz aus dem sauren Hydrolysat neben 6-Dimethylamino-purin und dem Amino-Zucker isolieren und die Konstitution durch Synthese beweisen. Es wird aus dem Puromycin nach Reaktion mit Phenyl-Senföl und alkalischer Spaltung des N-Phenyl-thioharnstoff-Derivates abgetrennt. Das entstandene Amino-nukleosid läßt sich mit anderen Aminosäuren nach der Carbobenzoxy-Methode kuppeln. Das Phenylalanin-Analogon ist gegen Bakterien etwa ebenso wirksam wie Puromycin. Andere Derivate mit Tyrosin, Lysin, Tryptophan und Leucin waren weniger und die mit Glycin,  $\beta$ -Alanin sowie das Amino-nukleosid nicht aktiv. Alle diese Verbindungen und das Amino-nukleosid waren aber gegen das Mamma-carcinom der C<sub>3</sub>H-Maus und gegen *Trypanosoma equiperdum* wirksamer als das natürliche Antibioticum<sup>53)</sup>.



„Aktives Methionin“ (6). Das Verständnis der biologischen Methylierung wurde durch die Entdeckung, Konstitutionsermittlung und Synthese des „aktiven Methionins“ von Baddiley, Jamieson und Cantoni wesentlich vertieft. Aus der papierchromatographischen Analyse der Hydrolysenprodukte (Adenin, Methyl-thioadenosin (7),



<sup>52)</sup> C. W. Waller, P. W. Fryth, B. L. Hutchings u. J. H. Williams, J. Amer. chem. Soc. 75, 2025 [1953].

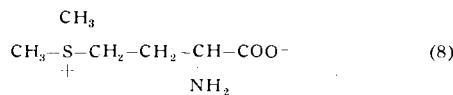
<sup>53)</sup> B. R. Baker, J. P. Joseph u. J. H. Williams, ebenda 76, 2838 [1954].

Homoserin) ließ sich die Struktur ableiten, die mit der eindeutigen Synthese des Racemates bewiesen wurde<sup>54)</sup>. Tertiäre Sulfonium-Verbindungen werden allgemein aus Thioäthern mit Alkylbromiden in einem Gemisch aus Eisessig und Ameisensäure bei Raumtemperatur dargestellt. In diesem Fall war die Ausbeute sehr gering.

In diesem Fall war die Biosynthese gelungen.

Die Biosynthese gelingt enzymatisch aus Adenosintriphosphat und Methionin, wobei der Triphosphorsäure-Rest abgespalten wird. Die im ATP gespeicherte Energie wird dabei auf die energiereiche Sulfonium-Gruppierung übertragen. Die treibende Kraft der biologischen Methylierung liegt somit in der Reduktion zum energieärmeren Thioäther. Es ist interessant, daß neben den energiereichen Phosphorsäureestern und quartären Ammonium-Verbindungen nun auch Sulfonium-Verbindungen als Energie lieferanten im Zellstoffwechsel aufgefunden worden sind.

Dem Methyl-sulfonium-methionin wird, da es dem „aktiven Methionin“ sehr ähnlich und als freie Aminosäure in verschiedenen Pflanzen weit verbreitet ist, eine wichtige Rolle als Speicher und Überträger für Methyl-Gruppen bei der biologischen Methylierung beigemessen, doch sind die Verhältnisse im einzelnen noch nicht aufgeklärt worden. *McRorie* und Mitarbeiter<sup>55)</sup> entdeckten dieses Methionin-Derivat bei der Beobachtung, daß nur solche Kohlauszüge, die vorher nicht erhitzt worden waren, Methionin als Antagonist von Sulfanil-amid bei *Coli*-Bakterien ersetzen konnten. Papierchromatographisch wurde eine Ninhydrin-positive, Schwefel-haltige, stark basische Substanz festgestellt. Da sie negative Nitroprussid-Reaktion gab und nicht oxydierbar war (Methionin läßt sich leicht zum Sulfoxid oxydieren), mußte der Schwefel in einer Alkyl-sulfonium-Gruppierung vorliegen. Ein papierchromatographischer Vergleich mit synthetischem Methyl-sulfonium-methionin (8) in verschiedenen Lösungsmittel-Systemen und der Abbau zum Homoserin durch Erhitzen der wäßrigen Lösung bestätigten diese Annahme. Durch Isolierung aus Kohlpressäften wurde die Konstitution endgültig bewiesen. Dazu wurde die Substanz über einen schwach sauren Ionenaustauscher (IRC-50) angereichert, an Aluminiumoxyd chromatographiert und als Phosphorwolframat gefällt. Es resultiert ein kristallisiertes Bromid, das im Mischschmelzpunkt und im Röntgenspektrum mit dem synthetischen Material übereinstimmte. Es fällt auf, daß beim hydrolytischen Abbau durch Erhitzen der neutralen Lösung wie beim „aktiven Methionin“ nicht die Methyl-Gruppe abgespalten wird, sondern sich in beiden Fällen der Schwefel vom Aminosäure-Rest trennt und Homoserin entsteht. In saurer Lösung dagegen wird Methionin und in heißer 50 proz. Schwefelsäure aus Methionin sogar Methylsulfonium-methionin und Homocystein gebildet<sup>56)</sup>.



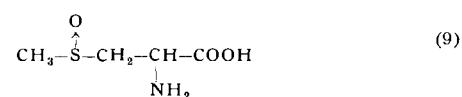
S-Methyl-L-cysteinsulfoxid. Syngle und Wood<sup>57)</sup> fanden in Kohl-Diffusaten nach saurer Hydrolyse auf dem Papierchromatogramm in der Valin-Gegend (Phenol-Ammoniak/Collidin) eine neue Ninhydrin-positive Substanz. Aus nicht hydrolysierten Kohlauszügen konnten sie daraufhin an einer sauren Austauschersäule (Zeocarb 215) die neue Aminosäure zusammen mit Asparaginsäure und Glutaminsäure durch fraktionierte Elution mit verd. Ammoniak gewinnen. Von den anderen sauren Amino-

<sup>54)</sup> *J. Baddiley u. G. A. Jamieson, J. chem. Soc. [London] 1954, 4280.*

<sup>56</sup>) T. F. Lavine, N. F. Floyd u. H. S. Cammaroti, J. biol. Chemistry 207, 97, 107, 119 [1954].

<sup>20</sup>) R. L. M. Syngle and J. C. Wood, Biochem. J. 60, 15 [1955].

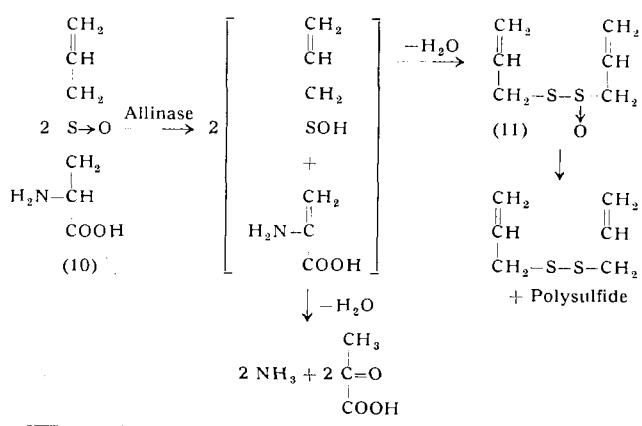
säuren konnte durch Verteilungs-Chromatographie mit Phenol/Wasser an Kieselgur getrennt und eine kristallisierte Verbindung der Summenformel  $C_4H_9O_3NS$  erhalten werden. Potentiometrische Titration ( $pK_1$  1,7;  $pK_2$  8,0), die van Slyke-Bestimmung und der Ninhydrin-Abbau zeigten, daß es sich um eine relativ starke  $\alpha$ -Amino-monocarbon-säure handelt, die sich am Ionenaustauscher ähnlich dem Methionin-sulfoxid verhält. Sie erwies sich im Papier-chromatogramm und in den folgenden Reaktionen mit dem synthetischen diastereomeren Gemisch von S-Methyl-L-cysteinsulfoxid (9) identisch. Bei der Oxydation mit  $H_2O_2$  entsteht das Sulfon und bei der kräftigen sauren Hydrolyse 40 bis 50% S-Methyl-cystein (die oben erwähnte Substanz in der Valin-Gegend im Chromatogramm), die entsprechende Menge Ammoniak und eine Ketosäure. Damit ist die Konstitution dieser neuen freien Aminosäure bis auf die optische Konfiguration am Schwefel gut belegt.



Methioninsulfoxid wurde von Dent im Urin papierchromatographisch gefunden, doch konnte es sich dabei sekundär gebildet haben, denn Methionin zeigt besonders auf Phenol-Chromatogrammen häufig einen Sulfoxid-Fleck<sup>58).</sup>

#### 4. Weitere Schwefel-haltige Aminosäuren

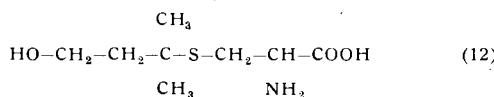
Alliin (10). Beim Zerschneiden der Knoblauchzwiebel (*Allium sativum* L.) wird das typisch riechende Knoblauchöl enzymatisch frei gemacht. Stoll und Seebeck<sup>59)</sup> konnten die geruchlose und unwirksame Muttersubstanz, das Alliin, aus den Zwiebeln durch Zerkleinern und Methanol-Extraktion bei tiefen Temperaturen kristallisiert isolieren und es als S-Allyl-L-cysteinsulfoxid identifizieren. Der Konstitutionsbeweis gründet sich auf die katalytische Hydrierung unter Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff an der Doppelbindung der Allyl-Gruppe, die leichte Reduzierbarkeit durch S—H-Verbindungen, wobei ein Sauerstoff-Atom am Schwefel entfernt wird, und dem alkalischen Abbau zu Ammoniak, Brenztraubensäure und Allylmercaptan. Zur Synthese wurde Allylbromid mit dem Quecksilber-Doppelsalz des L-Cysteins in Methanol zum Desoxyalliin umgesetzt, das mit dem Reduktionsprodukt des natürlichen Alliins identisch war. Dieses ließ sich mit Wasserstoffperoxyd in Eisessig, ohne daß die Doppelbindung angegriffen wurde, zum diastereomeren Gemisch oxydieren, welches durch fraktionierte Kristallisation aus Aceton getrennt werden konnte. Der fermentative Abbau beim Zerkleinern der Zwiebeln verläuft wie in den Formeln ange deutet über das antibiotisch wirksame Allicin (11).



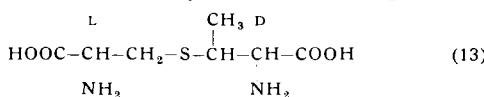
<sup>58</sup>) C. E. Dent, Biochem. J. 41, 240 [1947].

<sup>59</sup> A. Stoll u. E. Seebek, *Helv. chim. Acta* **31**, 189 [1948]; **32**, 197 [1949]; **34**, 481 [1951].

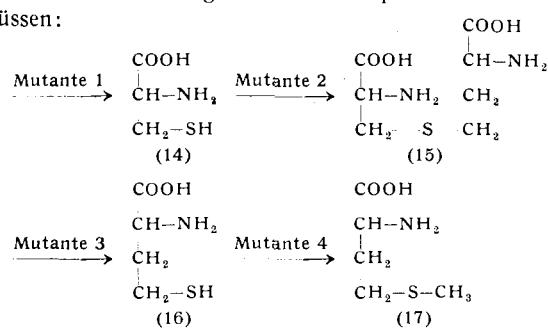
Felinin. *Datta* und *Harris* entdeckten bei der papierchromatographischen Analyse von Katzenharn eine neue Ninhydrin-positive Substanz, die sie „*cat spot*“ nannten. Von *Westall*<sup>60)</sup> konnte sie nach Adsorption an sauren und basischen Ionenaustauschern als chromatographisch einheitliche Zone isoliert werden, doch gelang die Kristallisation nicht. Aus den Analysen und dem Abbau mit Raney-Nickel, der zu Alanin und Iso-amylalkohol führte, wird die Struktur (12) wahrscheinlich. Die Substanz ließ sich leicht zum Sulfon oxydieren, doch verließen die saure und alkalische Hydrolyse unübersichtlicher. Eine Katze scheidet täglich etwa 100 mg Felinin aus, das damit mengenmäßig alle übrigen Aminosäuren im Katzenharn übertrifft.



$\beta$ -Methyl-lanthionin wurde wie Lanthionin in den sauren Hydrolysaten der Antibiotika Subtilin<sup>61)</sup>, Nisin<sup>62)</sup> und Cinnamycin<sup>13)</sup> papierchromatographisch entdeckt und durch fraktionierte Kristallisation isoliert. Die neue Verbindung ließ sich papierchromatographisch nicht von Cystathionin, mit dem es in der Analyse übereinstimmte, trennen. Am sauren Ionenaustauscher (Dowex 50) dagegen unterschied sie sich deutlich von Cystathionin und bildete mit Lanthionin eine Zone. Außerdem war sie bei einer für Cystathionin spezifischen *E. coli*-Mutante biologisch unwirksam. Da es sich um eine Diamino-dicarbonsäure handelt, die bei der Entschwefelung mit Raney-Nickel in L-Alanin und D- $\alpha$ -Aminobuttersäure zerlegt wird, ist die Struktur als  $\beta$ -Methyl-lanthionin (13) bis auf die Konfiguration am dritten Asymmetriezentrum gesichert.



L-Cystathionin (15) und Homocystein (16) liegen auf Grund von Fütterungsversuchen und der Markierung mit  $^{35}\text{S}$  auf dem biologischen Syntheseweg zwischen Cystein und Methionin. Durch die UV-Licht- und Röntgenbestrahlung von Pilzen (*Neurospora crassa*) erhielt *Horowitz*<sup>63)</sup> eine Reihe von Mutanten, welche die Fähigkeit verloren hatten, Methionin zu bilden und nur dann wuchsen, wenn Methionin der Nährösung zugesetzt wurde. Bei einer von diesen Mutanten ließ sich das Methionin (17) durch Cystein (14), Cystathionin und Homocystein ersetzen, bei einer anderen durch Cystathionin und Homocystein, bei einer dritten nur durch Homocystein und bei einer vierten überhaupt nicht. Dies zeigt, daß bei den einzelnen Mutanten die Schädigung des Enzym-Apparates zur Methionin-Bildung jeweils an einer anderen Stelle stattgefunden hat, und daß die erwähnten Verbindungen in der angedeuteten Reihenfolge als Zwischenprodukte auftreten müssen:



<sup>60)</sup> R. G. Westall, Biochem. J. 55, 244 [1953].

<sup>61)</sup> G. Alderton, J. Amer. chem. Soc. 75, 2391 [1953].

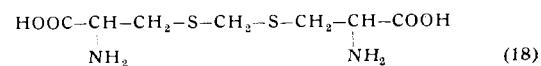
<sup>62)</sup> G. G. F. Newton u. E. P. Abraham, Nature [London] 171, 606 [1953].

<sup>63)</sup> N. H. Horowitz, J. biol. Chemistry 171, 255 [1947].

Die Mutante 3 dürfte demnach das Cystathionin nicht weiter umwandeln können, es müßte im Mycel und in der Kulturlösung angesammelt werden. In der Tat enthielt die Kulturlösung der Mutante 3 einen Wachstumsfaktor für die Mutanten 1 und 2, der von Horowitz durch fraktionierte Alkoholfällung kristallisiert erhalten wurde und in allen Eigenschaften mit synthetischem L-Cystathionin übereinstimmte. Homocystein ist bisher noch nicht als Naturprodukt isoliert worden.

*Horne* und *Jones*<sup>64)</sup> beschrieben bereits 1940 eine Selen- und Schwefel-haltige Aminosäure, die sie aus Getreide isoliert hatten, das auf Selen-haltigem Boden gewachsen und wegen seiner Giftigkeit aufgefallen war. Aus Wicken konnten sie etwas größere Mengen einer gut kristallisierten Substanz gewinnen, die aus Cystathionin und seinem Selen-Analogen im Verhältnis 1 : 2 bestand.

L-Djenkolsäure. Im Urin von Eingeborenen auf Jawa, die nach dem Genuß von Djenkolbohnen (*Pithecellobium lobatum*) erkrankt waren, beobachteten *van Veen* und *Hyman* 1933 Kristalle, die sie später als Formaldehyd-dithiocystein-acetal (18) charakterisierten. Die Synthese gelang *du Vigneaud* aus L-Cystein und Methylen-chlorid in flüssigem Ammoniak bzw. Formaldehyd in stark saurer Lösung. Die Vermutung, daß Djenkolsäure in der Natur weit verbreitet ist, wurde bestätigt, als sie *Agren* und *Eklund*<sup>65)</sup> in den Hydrolysaten von Rinderblutplasma, Leber und Muskel papierchromatographisch fanden und am sauren Austauscher isolierten. Im Urin der Rinder konnte sie nicht festgestellt werden.



2-Aminoäthansulfinsäure (Hypotaurin) ist ein Zwischenprodukt bei der Bildung von Taurin aus Cystein in der Ratte und konnte aus dem Harn Cystin-gefütterter Tiere isoliert werden<sup>65a)</sup>.

## 5. Neue neutrale Aminosäuren

$\gamma$ -Aminobuttersäure ist in den letzten Jahren als freie Aminosäure fast überall in der belebten Natur und auch Peptid-gebunden in Erbsen gefunden worden<sup>66)</sup>. Ihre Biosynthese erfolgt ähnlich wie die der  $\alpha$ -Aminobuttersäure durch enzymatische  $\text{CO}_2$ -Abspaltung, hier aber an der  $\alpha$ -ständigen Carboxyl-Gruppe.

(-) $\beta$ -Amino-isobuttersäure wird von den meisten Menschen in geringen Mengen im Urin ausgeschieden. Bei etwa 5% der untersuchten Personen war die Menge auffallend groß. Auf Grund des chromatographischen Verhaltens, der Analyse ( $\text{C}_4\text{H}_9\text{O}_2\text{N}$ ), der Titrationskurve und der Tatsache, daß es sich sehr wahrscheinlich nicht um eine  $\alpha$ -Aminosäure handelt (kein Cu-Komplex), fiel *Crumpel* und Mitarbeiter<sup>67)</sup> die Auswahl zwischen den möglichen Strukturen nicht schwer. Als das linksdrehende Naturprodukt durch Alkali (5n NaOH, 16 h, 105 °C), racemisiert worden war, zeigte es beim Mischschmelzpunkt und im Debye-Scherrer-Diagramm keinen Unterschied zu synthetischer D,L- $\beta$ -Amino-isobuttersäure.

(+) $\alpha$ -Methylserin. Nachdem *Flynn* und Mitarbeiter<sup>68)</sup> aus dem sauren Hydrolysat des Cytimidins, ein Abbauprodukt von Amicetin (Antibioticum aus *Streptomyces*

<sup>64)</sup> M. J. Horne u. D. B. Jones, J. biol. Chemistry 139, 649 [1941].  
<sup>65)</sup> G. Agren u. S. Eklund, Acta chem. scand. 6, 1129 [1952].

<sup>65a)</sup> J. Awapara u. W. J. Wingo, J. biol. Chemistry 203, 189 [1953]; D. Cavallini, B. Mondovi u. C. DeMarco, ebenda 216, 577 [1955].  
<sup>66)</sup> A. I. Virtanen u. J. K. Miettinen, Biochim. biophysica Acta 12, 181 [1953].

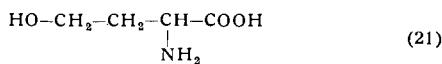
<sup>67)</sup> H. R. Crumpel, C. E. Dent, H. Harris u. R. G. Westall, Nature [London] 167, 307 [1951].

<sup>68)</sup> E. H. Flynn, J. W. Hinman, E. L. Caron u. D. O. Woolf, J. Amer. chem. Soc. 75, 5867 [1953].

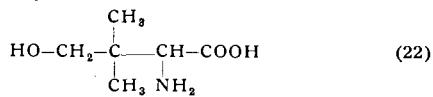
*vinaceusdrappus*), p-Aminobenzoësäure und Cytosin abgeschieden hatten, konnten sie aus der alkoholischen Lösung des Rückstandes mit Anilin eine kristallisierte Substanz fällen, deren Analyse und  $p_K$ -Werte (2,3 und 9,46) auf eine Monoamino-oxy-carbonsäure hindeuteten, die isomer mit Threonin, allo-Threonin und Homoserin sein mußte, sich aber deutlich von diesen unterschied. Da die *Kuhn-Roth*-Bestimmung eine verzweigte Kette anzeigte, ergab der Ninhydrin-Abbau ( $\text{CO}_2$  wurde dabei nicht abgespalten) keinen Hinweis, ob die primäre Amino-Gruppe in  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Stellung anzunehmen war, denn bei  $\alpha$ -verzweigten  $\alpha$ -Aminosäuren versagt diese Reaktion. Die Perjodat-oxydation (Verbrauch 1 Mol) lieferte Formaldehyd und Brenztraubensäure. Demnach war zwischen den Formeln (19) und (20) zu entscheiden. Ein Vergleich der  $p_K$ -Werte mit den beiden synthetischen Racematen zeigte deutlich, daß es sich um  $\alpha$ -Methylserin (2,3 und 9,4) und nicht um  $\alpha$ -Methylisoserin (2,7 und 9,15) handelte. Die IR-Spektren ließen keine Zuordnung treffen, denn nach *Wright* müssen sich ein echtes Racemat und die optisch aktiven Formen einer Verbindung im IR-Spektrum unterscheiden (vgl. hierzu<sup>69</sup>).



**L-Homoserin (21).** Es wird seit einigen Jahren vermutet, daß diese Aminosäure als biologische Vorstufe des Methionins auftritt. Nach den Versuchen von *Black*<sup>70</sup>) entsteht sie durch enzymatische Reduktion des  $\beta$ -Asparaginsäure-Phosphorsäure-anhydrids. Als Vorstufe des Threonins konnte sie von *Horowitz*<sup>71</sup>) (wie beim Cystathionin erläutert) in *Neurospora*-Mutanten papierchromatographisch identifiziert werden. *Virtanen* und seine Schüler<sup>72</sup>) isolierten diese Aminosäure erstmalig kristallisiert aus natürlichem Material (Erbse) und konnten zeigen, daß sie in der Pflanzenwelt weit verbreitet ist und auch Peptid-gebunden vorkommt<sup>66</sup>).



**Pantonin (22)** oder  $\alpha$ -Amino- $\beta$ , $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -oxybuttersäure wird als Vorstufe der Pantothenäsäure in der Zelle angenommen. In Hydrolysaten von *Coli*-Bakterien fanden *Ackermann* und *Kirby*<sup>73</sup>) papierchromatographisch eine Substanz, die in vier Lösungsmittelsystemen wohl von allen anderen bekannten Aminosäuren, nicht aber von synthetischem D,L-Pantonin getrennt werden konnte. Damit ist das natürliche Vorkommen dieser ungewöhnlichen Aminosäure noch nicht bewiesen, jedoch sehr wahrscheinlich gemacht worden.



**$\alpha$ , $\epsilon$ -Diaminopimelinsäure.** Aus *Corynebacterium diphtheriae* isolierte *Work*<sup>74</sup>) eine neue, neutrale Aminosäure, die sich nach Desaminierung und Reduktion zu Pimelinsäure und durch einen Vergleich mit synthetischem Material als  $\alpha$ , $\epsilon$ -Diamino-pimelinsäure (23) entpuppte. Sie kommt frei und Peptid-gebunden in vielen Bakterien, aber nicht in anderen Mikroorganismen vor und bildet die letzte

<sup>69</sup>) *H. Brockmann u. H. Musso*, Chem. Ber. 89, 241 [1956].

<sup>70</sup>) *S. Black u. N. G. Wright*, J. Amer. chem. Soc. 75, 5766 [1953].

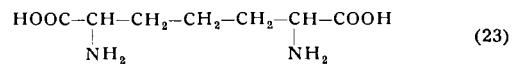
<sup>71</sup>) *M. Fling u. N. H. Horowitz*, J. biol. Chemistry 190, 277 [1951].

<sup>72</sup>) *J. K. Miettinen, S. Kari, T. Moisio, M. Alftan u. A. I. Virtanen*, Suomen Kemistilehti B 26, 26 [1953].

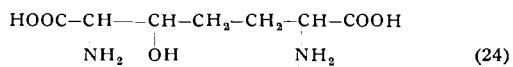
<sup>73</sup>) *W. W. Ackermann u. H. Kirby*, J. biol. Chemistry 175, 483 [1948].

<sup>74</sup>) *E. Work*, Nature [London] 165, 74 [1950]; *E. Work, S. M. Birnbaum, M. Winnitz u. J. P. Greenstein*, J. Amer. chem. Soc. 77, 1916 [1955].

Stufe in der Biosynthese des Lysins. In der Kulturlösung einer lysinbedürftigen *E. coli*-Mutante wird sie so stark angereichert, daß man sie daraus recht einfach gewinnen kann. Außerdem läßt sie sich durch Bakterien und Enzym-Präparate zu Lysin decarboxylieren. Theoretisch gibt es bei ihr vier stereoisomere Formen: LL; DD; DD, LL (Racemat); und DL (nicht spaltbare meso-Form), die alle durch Einwirkung von Schweinenieren-Amidase auf das synthetische Gemisch der Diamide dargestellt werden konnten. Dieses Ferment spaltet nur L-Amid-Gruppierungen; es entstand so ein Gemisch von LL- $\alpha$ , $\epsilon$ -Diaminopimelinsäure, meso-Halbamid und DD-Diamid, das sich chromatographisch trennen ließ. Viele Bakterien (*C. diphtheriae*) enthalten die reine meso-Form, einige, z. B. *Clostridium welchii* und *Propioni*-Bakterien, die reine LL-Form und die oben erwähnte *Coli*-Mutante beide Formen<sup>75</sup>). Es gibt Fermente, die nur die meso-Verbindungen decarboxylieren und solche, die das LL-Isomere in die meso-Form umwandeln können. Ferner fällt es auf, daß sich die LL-Verbindung von den beiden anderen Formen papierchromatographisch trennen läßt (Methanol-Wasser-5nHCl-Pyridin 80:17,5:2,5:10), obgleich die homologen Derivate der Adipin- und Suberonsäure diese Eigenschaften nicht zeigen<sup>76</sup>). Bei aromatischen Aminosäuren war eine Racemat-Spaltung durch Papierchromatographie bereits bekannt<sup>77</sup>).



**Tabtoxinin.** *Pseudomonas tabaci* scheidet ein Toxin in die Kulturlösung ab, das bei der Tabakpflanze die sogenannte Wildfeuerkrankheit verursacht. *Wolley* und Mitarbeiter<sup>78</sup>) erhielten aus dem reinen Toxin nach kräftiger saurer Hydrolyse eine kristallisierte neue Aminosäure in einer solchen Menge, daß über die Hälfte des gesamten Toxins daraus bestehen muß. Die Analyse und ihr papierchromatographisches Verhalten (kleiner  $R_f$ -Wert in Phenol) deuteten auf eine Oxy- $\alpha$ , $\epsilon$ -diamino-pimelinsäure. Durch den Perjodat-Abbau zu Glutaminsäure und die Oxydation (nach Desaminierung) zu  $\alpha$ -Oxyglutarsäure wurde die Konstitution als  $\alpha$ , $\epsilon$ -Diamino- $\beta$ -oxy-pimelinsäure (24) festgelegt. Da die Verbindung durch D-Aminosäureoxydase nicht angegriffen wird, liegen wohl beide Amino-Gruppen in der L-Konfiguration vor. Die Konfiguration der Oxy-Gruppe wurde noch nicht bestimmt.



**L- $\alpha$ -Oxy-tryptophan und  $\delta$ -Oxy-leucenin.** Phalloidin (25), das Gift des Knollenblätterpilzes (*Amanita phalloides*), ist ein cyclisches Heptapeptid, das bei der sauren Hydrolyse in Alanin, Threonin, Cystein und drei ungewöhnliche Aminosäuren zerfällt. *Heinrich Wieland* und *Witkop*<sup>79</sup>) konnten aus dem Hydrolysat neben Alanin und Cystein das allo-Oxyprolin (26) und  $\alpha$ -Oxy-tryptophan (27) isolieren; doch wird das  $\alpha$ -Oxy-tryptophan erst während der Hydrolyse aus 2-[S-( $\beta$ -Carboxy- $\beta$ -aminoäthyl)]-tryptophan gebildet<sup>80</sup>). Der letzte Baustein konnte im vergangenen Jahr von *Theodor Wieland* und *Schön*<sup>81</sup>) bei der Hochspannungselektrophorese des Gemisches als basische Substanz entdeckt und durch präparative Elektrophorese kristallisiert isoliert werden. Papierchromatographisch war

<sup>75</sup>) *D. S. Hoare u. E. Work*, Biochem. J. 61, 562 [1955].

<sup>76</sup>) *L. E. Rhuland, E. Work, R. F. Denman u. D. S. Hoare*, J. Amer. chem. Soc. 77, 4844 [1955].

<sup>77</sup>) *C. E. Dalglish*, J. chem. Soc. [London] 1952, 3940.

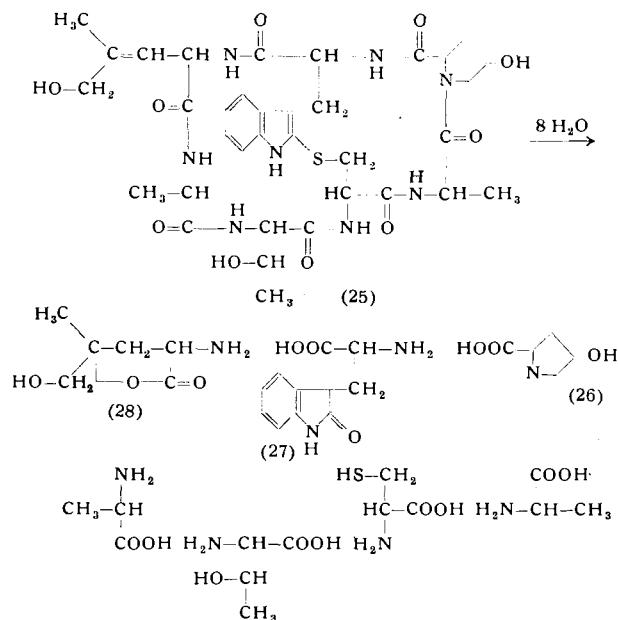
<sup>78</sup>) *D. W. Wolley, G. Schaffner u. A. C. Braun*, J. biol. Chemistry 198, 807 [1952]; 215, 485 [1955].

<sup>79</sup>) *H. Wieland u. B. Witkop*, Liebigs Ann. Chem. 543, 171 [1940].

<sup>80</sup>) *Th. Wieland u. G. Schmidt*, ebenda 577, 215 [1952].

<sup>81</sup>) *Th. Wieland u. W. Schön*, ebenda 593, 157 [1955].

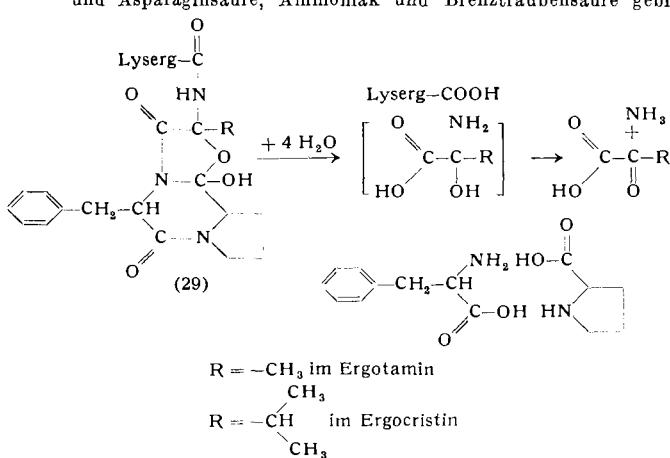
diese neue Aminosäure nicht zu finden gewesen, da sie in allen untersuchten Lösungsmittel-Systemen fast den gleichen  $R_f$ -Wert besaß wie Alanin. Es handelt sich um das Lacton (28) einer neutralen Aminosäure, die durch Perjodat zu Formaldehyd und  $\alpha$ -Amino-lävulinsäure abgebaut wurde und somit  $\gamma$ - $\delta$ -Dioxyleucin sein mußte. Im Phalloidin liegt sie als  $\beta$ - $\gamma$ -ungesättigte Verbindung ( $\delta$ -Oxy-leucenin) vor, die bei der sauren Hydrolyse unter Ringschluß zum Lacton freigelegt wird.



$\alpha$ -Oxy-tryptophan wurde als erstes Zwischenprodukt beim Abbau des Tryptophans zum Kynurenin im Organismus vorgeschlagen. (Kotake 1935). Diese Hypothese wird durch seine Wirksamkeit als "Prokynurenin" bei der Augenpigmentbildung in bestimmten Insekten gestützt<sup>82</sup>), doch spielt es beim Tryptophan-Stoffwechsel der Ratte wohl keine Rolle<sup>83</sup>.

In 5-Oxytryptophan glaubte man die biologische Vorstufe des Serotonin (5-Oxy-tryptamin) gefunden zu haben. Die Giftdrüse der tropischen Kröte *Bufo marinus* enthält eine Substanz, die mit synthetischem 5-Oxy-tryptophan papierechromatographisch-übereinstimmt<sup>84</sup>).

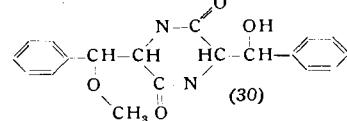
$\alpha$ -Oxyalanin und  $\alpha$ -Oxyvalin liegen nach Stoll und Mitarbeiter<sup>27</sup>) im Peptid-Teil der Mutterkorn-Alkaloide (29) sowohl an der Oxy- als an der Amino-Gruppe verknüpft vor und zerfallen bei der sauren Hydrolyse in die entsprechende Ketosäure und Ammoniak. Aus Lycomarasmin (Welkstoff aus *Fusarium lycopersici*) werden bei der Hydrolyse neben Glycin und Asparaginsäure, Ammoniak und Brenztraubensäure gebil-



<sup>82</sup>) A. Butenandt, W. Weidel u. E. Becker, Naturwissenschaften 28, 447 [1940].  
<sup>83</sup>) M. Mason u. C. P. Berg, J. biol. Chemistry 188, 783 [1951].  
<sup>84</sup>) S. Udenfriend, C. T. Clark u. E. Titus, J. Amer. chem. Soc. 75, 501 [1953].

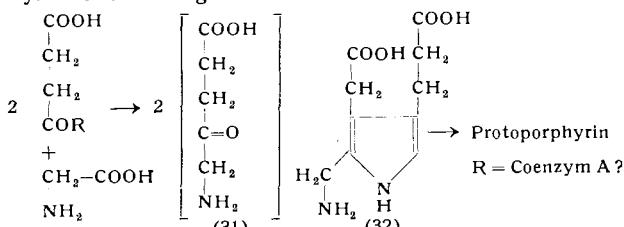
det<sup>85</sup>). Vielleicht handelt es sich hierbei ebenfalls um eine  $\alpha$ -Amino-oxy-Gruppierung.

Erwähnt sei hier noch das wenig bekannte cyclische Phenylserin-Derivat Picroroccellin (30) aus Flechten (*Roccella fuciformis*)<sup>86a</sup>.

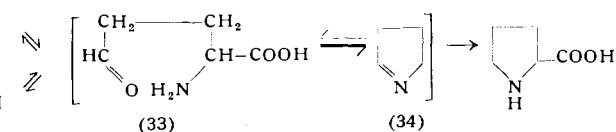


## 6. Zwischenprodukte des Stoffwechsels

$\delta$ -Amino-lävulinsäure und Porphobilinogen. Im Entenblut wird nach Schemin und Russel<sup>86</sup>) der Einbau von markierter Bernsteinsäure und Glycin ( $^{14}\text{C}$ ) ins Porphyrin-System durch Zugabe von  $\delta$ -Amino-lävulinsäure (31) zu 80 bis 90% verringert. Im gebildeten Hämin wird die Isotopenkonzentration um ein Vielfaches erhöht, wenn man statt markiertem Glycin, markierte  $\delta$ -Amino-lävulinsäure verwendet. Diese Beobachtungen machen ihre Existenz als Zwischenstufe bei der natürlichen Porphyrin-Synthese nach folgendem Schema sehr wahrscheinlich:



Die hypothetische Pyrrol-Vorstufe konnte von Westall<sup>87</sup>) als Porphobilinogen aus dem Harn Porphyrie-Kranker mit Hilfe der Ehrlich-Reaktion durch Fällung als Quecksilber-Salz und durch Chromatographie am Anionenaustauscher (Dowex 2) kristallisiert erhalten werden. Cookson und Rimington<sup>88</sup>) haben für Porphobilinogen, aus dem beim Erhitzen in saurer Lösung ein Gemisch von Uroporphyrinen entsteht, die Konstitution (32) vorgeschlagen. Es entsteht nach Scott<sup>88a</sup>) aus  $\delta$ -Amino-lävulinsäure in wässriger alkalischer Lösung ( $18^\circ\text{C}$ , Luftabschluß) in 3% Ausbeute.



$\gamma$ -Glutaminsäure-semialdehyd und Dehydroprolin. Fütterungsversuche mit  $^{15}\text{N}$ -Ornithin<sup>89</sup>) und Beobachtungen an prolinlosen *Coli*<sup>90</sup>) und *Neurospora*-Mutanten<sup>91</sup>) haben für den biologischen Zusammenhang zwischen Ornithin, Glutaminsäure und Prolin zu einer Kette von Enzym-Reaktionen geführt, in der  $\gamma$ -Glutaminsäure-semialdehyd (33) und Dehydroprolin (34) als Glieder auftreten.

Das Gleichgewicht zwischen beiden Verbindungen liegt dabei unter physiologischen Bedingungen weitgehend auf der Seite der cyclischen Form. Soweit es papierechromatographisch möglich ist, ließen sich diese Verbindungen auch nachweisen, doch gelang ihre Isolierung wegen der bekannten Unbeständigkeit von  $\delta$ -Amino-aldehyden bisher nicht.

<sup>85</sup>) P. A. Plattner, N. Clauson-Kaas, A. Boller u. U. Nager, Helv. chim. Acta 31, 860 [1948].

<sup>86a</sup>) M. O. Forster u. W. B. Saville, J. Chem. Soc. [London] 1922, 816.

<sup>86</sup>) D. Shemin u. C. S. Russel, J. Amer. chem. Soc. 75, 4873 [1953].

<sup>87</sup>) R. G. Westall, Nature [London] 170, 614 [1952].

<sup>88</sup>) G. H. Cookson u. C. Rimington, ebenda 171, 875 [1953].

<sup>88a</sup>) J. J. Scott, Biochem. J. 62, 6 P [1956].

<sup>89</sup>) M. R. Stetten, J. biol. Chemistry 189, 499 [1951].

<sup>90</sup>) H. J. Vogel u. B. D. Davis, J. Amer. chem. Soc. 74, 109 [1952].

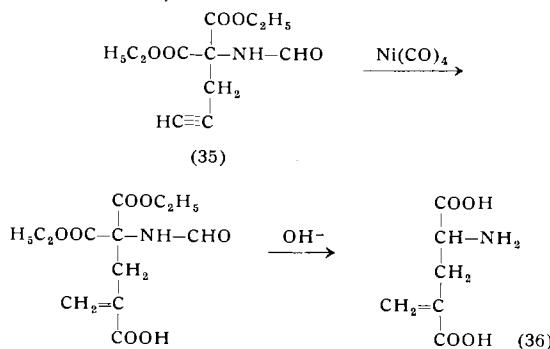
<sup>91</sup>) J. R. S. Fincham, Biochem. J. 53, 313 [1953].

Andere Zwischenstufen des Aminosäure-Stoffwechsels wie Citrullin, Dioxyphenyl-alanin und Kynurenin, deren Konstitutionsbeweis z.T. auch in die behandelte Zeitspanne fällt, sollen hier nicht besprochen werden, da ihre Bedeutung als freie Aminosäure im Zellstoffwechsel in den modernen Lehrbüchern bereits berücksichtigt wird. Für ihr Vorkommen in Proteinen gibt es keinen sicheren Hinweis.

## 7. Saure Aminosäuren

Die  $\gamma$ -Oxy-glutaminsäure wurde von *Virtanen* und *Hietala*<sup>91)</sup> frei und als Protein-Bestandteil im *Phlox decussata* und *Linaria vulgaris* entdeckt. Sie konnte zusammen mit Glutaminsäure und Asparaginsäure am Anionenaustauscher (Amberlite IR-4B) von den übrigen Aminosäuren und an Cellulose-Pulver von den beiden sauren Aminosäuren getrennt werden. Da sie sich von synthetischer  $\beta$ -Oxy-glutaminsäure unterschied und bei der Reduktion Glutaminsäure ergab, war ihre Konstitution festgelegt. Außerdem ließ sie sich durch das Enzym-System einer *Coli*-Mutante zu  $\alpha$ -Oxy- $\gamma$ -aminobuttersäure decarboxylieren. Im *Phlox* kommt diese Decarboxylase nicht vor.

$\gamma$ -Methylen-glutamin,  $\gamma$ -Methylen-glutaminsäure und  $\alpha$ -Methylen- $\gamma$ -aminobuttersäure. *Done* und *Fowden*<sup>92)</sup> gewannen eine weitere saure Aminosäure und das dazugehörige Amid aus jungen Erdnußpflanzen (*Arachis hypogaea*). Die kristallisierte Verbindung hatte ungesättigten Charakter, ließ sich mit Ozon zu Asparaginsäure spalten und nahm bei der Hydrierung 1 Mol Wasserstoff auf. Das Hydrierungsprodukt war mit *DL*- $\gamma$ -Methyl-glutaminsäure, die durch *Michael*-Addition von Acetamino-malonester an Methacrylsäure-ester und anschließender Hydrolyse in einer Ausbeute von 45% d.Th. dargestellt werden konnte, identisch. Aus der gleichen Pflanze isolierten sie noch eine dritte ungesättigte Aminosäure in sehr geringer Menge, die sich als  $\alpha$ -Methylen- $\gamma$ -aminobuttersäure erwies und papierchromatographisch mit dem Produkt übereinstimmte, das aus  $\gamma$ -Methylen-glutaminsäure durch enzymatische Decarboxylierung in  $\alpha$ -Stellung erhalten werden konnte<sup>93)</sup>. Die  $\gamma$ -Methylen-glutaminsäure ist inzwischen auch in anderen Pflanzen (z. B. Tulpen) gefunden worden. Sie wurde von *Wailes* und *Whiting*<sup>94)</sup> durch *Reppé*-Carboxylierung des Propinyl-formylamino-malonester (35) und alkalische Hydrolyse des Reaktionsproduktes sowie kürzlich auch von *Hellmann* und *Lingens*<sup>94a)</sup> auf anderem Wege über Acetamino-malonester in sehr guter Ausbeute synthetisiert.



$\gamma$ -Methyl- $\gamma$ -oxy-glutaminsäure (37) und  $\gamma$ -Methyl-glutaminsäure (38). Aus einer bestimmten Farnart (*Adiantum pedatum*) extrahierten *Grobbelaar*, *Pollard* und *Steward*<sup>95)</sup> eine Substanz, die durch Analyse ( $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5\text{N} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ ),

<sup>92)</sup> *J. Done u. L. Fowden*, *Biochem. J.* 51, 451 [1952].

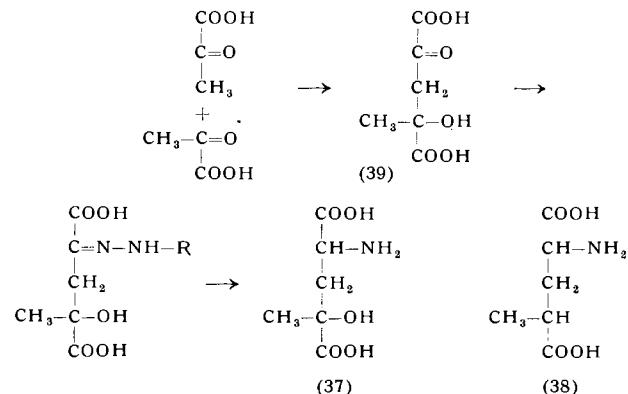
<sup>93)</sup> *L. Fowden u. J. Done*, *Biochem. J.* 55, 548 [1953].

<sup>94)</sup> *P. C. Wailes u. M. C. Whiting*, *J. chem. Soc. [London]* 1955, 3636.

<sup>94a)</sup> *H. Hellmann u. F. Lingens*, *Chem. Ber.* 89, 77 [1956].

<sup>95)</sup> *N. Grobbelaar, J. K. Pollard u. F. C. Steward*, *Nature [London]* 175, 703 [1955].

Papierchromatographie und durch die Fähigkeit, ein Lacton zu bilden, als Oxy-amino-dicarbonsäure erkannt wurde. Beim papierchromatographischen Vergleich mit dem synthetischen diastereomeren Gemisch der  $\gamma$ -Methyl- $\gamma$ -oxy-glutaminsäure stimmte das Naturprodukt mit einem der beiden Flecken der synthetischen Verbindung (allo- und erythro-Form) überein. Die Synthese erfolgte durch Aldol-Kondensation von Brenztraubensäure zu  $\alpha$ -Keto- $\gamma$ -methyl- $\gamma$ -oxy-glutarsäure (39), bei der die Keto-Gruppe



dann auf die übliche Weise in die Amino-Gruppe übergeführt wurde. Etwa zur gleichen Zeit konnte diese Aminosäure von *Virtanen* und *Berg*<sup>96)</sup> aus einem anderen Farn (*Phyllitis scolopendrium*) isoliert werden. Die Extrakte enthielten neben  $\gamma$ -Methylen-glutaminsäure noch eine weitere neue Aminosäure, die in Butanol-Eisessig und Phenol-Ammoniak den gleichen *R*<sub>f</sub>-Wert wie synthetische  $\gamma$ -Methyl-glutaminsäure zeigte und deren Analyse gut zu dieser Formel paßt. Es ist also eine enge Beziehung in der Biosynthese dieser  $\gamma$ -Methyl- (38),  $\gamma$ -Methylen- (36) und  $\gamma$ -Methyl- $\gamma$ -oxy-glutaminsäure (37) zu vermuten.

*L*- $\alpha$ -Amino-adipinsäure und  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy-adipinsäure wurden beide zuerst von *Blass* und *Macheboeuf*<sup>97)</sup> aus *Vibrio cholerae* als kristallisierte Natrium-Salze gewonnen und charakterisiert. Der endgültige Beweis für die Stellung der Oxy- und Amino-Gruppe konnte damals aus Materialmangel nicht erbracht werden. Über das natürliche Vorkommen der  $\alpha$ -Amino-adipinsäure besteht heute kein Zweifel mehr, denn sie ist in den letzten Jahren mehrfach isoliert worden<sup>98)</sup> und findet sich Protein-gebunden in Getreide<sup>99)</sup> und frei in vielen anderen Pflanzen<sup>100)</sup>, sowie im Urin. In Mikroorganismen wirkt sie als biologische Vorstufe des Lysins, bei Säugetieren wird sie dagegen aus Lysin gebildet und kann sich bei der Aminierung von Citrullin zu Arginin beteiligen<sup>101)</sup>. Das Auftreten der *D*-Form im Cephalosporin wurde bereits erwähnt<sup>45)</sup>.

$\alpha$ -Amino-pimelinsäure und  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy-pimelinsäure. *Virtanen* und Mitarbeiter konnten, wieder aus einem Farn (*Asplenium septentrionale*), zwei weitere saure Aminosäuren gewinnen. Von der einen erhielten sie durch präparative Papierchromatographie 2 mg, die sie durch den Mischschmelzpunkt mit synthetischem Material und durch die *R*<sub>f</sub>-Werte in verschiedenen Lösungsmitteln als  $\alpha$ -Amino-pimelinsäure identifizierten<sup>102)</sup>. Die andere erhielten sie als gut kristallisiertes Lacton, das bei Reduktion mit Jodwasserstoff in die erste Verbindung überging,

<sup>96)</sup> *A. I. Virtanen u. A. M. Berg*, *Acta chem. scand.* 9, 553 [1955].  
<sup>97)</sup> *J. Blass u. M. Macheboeuf*, *Helv. chim. Acta* 29, 1315 [1946].  
<sup>98)</sup> *H. Borsook, C. L. Deasy, A. J. Haagen-Smit, G. Keighley u. D. H. Lowy*, *J. biol. Chemistry* 176, 1383, 1395 [1948].  
<sup>99)</sup> *E. Windsor*, ebenda 192, 595 [1951].

<sup>100)</sup> *A. M. Berg, S. Kari, M. Alfthan u. A. I. Virtanen*, *Acta chem. scand.* 8, 358 [1954].

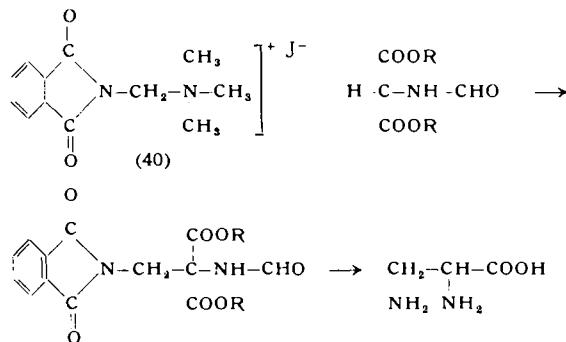
<sup>101)</sup> *N. Good, R. Heilbrunner u. H. H. Mitchell*, *Arch. Biochemistry* 28, 464 [1950].

<sup>102)</sup> *A. I. Virtanen u. A. M. Berg*, *Acta chem. scand.* 8, 1085, 1725 [1954].

bei der Oxydation ( $\text{KMnO}_4$ ) Bernsteinsäure lieferte und somit nur  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy-pimelinsäure sein konnte<sup>102</sup>). Das Vorkommen beider Aminosäuren und des Lactons ist nicht auf einen Farn beschränkt. In dem oben genannten Farn ist die  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy-pimelinsäure unter den freien Aminosäuren am stärksten vertreten.

## 8. Basische Aminosäuren

$\alpha$ - $\beta$ -Diamino-propionsäure haben Haskell und Mitarbeiter<sup>104)</sup> aus dem sauren Hydrolysat des Viomycins (Antibioticum aus *Streptomyces puniceus*) neben zwei weiteren ungewöhnlichen Aminosäuren durch saure und basische Ionenaustauscher abgetrennt und als kristallisiertes Hydrochlorid gewonnen. Synthetisch lässt sie sich durch Hofmannschen Abbau aus Acetyl-asparagin<sup>105)</sup> oder in besonders guter Ausbeute (86% d.Th.) als Racemat nach Hellmann<sup>106)</sup> durch C-Alkylierung von Formylamino-malonester mit dem Jodmethylat des Dimethylamino-methyl-phthalimids (40) und anschließende Hydrolyse gewinnen.

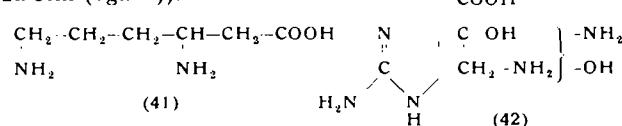


$L\text{-}\alpha, \gamma$ -Diaminobuttersäure wurde von *Catch* und *Jones*<sup>107)</sup> als kristallisiertes Pikrat und Hydrochlorid aus dem sauren Hydrolysat der Polymyxine erhalten und an Hand der synthetischen Verbindung, die durch *Schmitt*-schen Abbau aus Glutaminsäure zugänglich ist, identifiziert. Auch im Circulin<sup>43)</sup>, das den Polymyxinen in seiner Aminosäure-Zusammensetzung gleicht, und im Comirin<sup>108)</sup> (Fungistaticum aus *Aspergillus*) kommt sie vor.

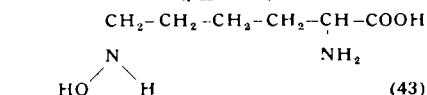
**L- $\beta$ -Lysin.** Einige z.T. recht ähnliche Peptid-Antibiotica enthalten eine basische Aminosäure, die aus den Hydrolysaten von Streptothricin<sup>109</sup>), Streptolin<sup>110</sup>), Viomycin<sup>104</sup>), Roseothricin<sup>111</sup>) und Geomycin<sup>112</sup>) in Form ihrer Salze und als freie Base kristallisiert isoliert werden konnte. Sie verhält sich chromatographisch sehr ähnlich wie Lysin, doch stimmen die Eigenschaften der Derivate nicht überein. Nach den analytischen Bestimmungen (van Slyke 2 prim.-NH<sub>2</sub>;  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> neg.; H<sub>2</sub>JO<sub>4</sub> neg.; Kuhn-Roth neg.) und dem Curtiusschen Abbau zu einem Triaminopen-tan mußte es sich um eine Diamino-capronsäure handeln, in der die Amino-Gruppen nicht benachbart sein durften und keine Amino-Gruppe in  $\alpha$ -Stellung zur Carboxyl-Gruppe stehen konnte. Endgültig wurde die Konstitution bewiesen, als die Synthese der L- $\beta$ , $\epsilon$ -Diamino-capronsäure (41) durch eine Kettenverlängerung des Diphthalyl-

L-Ornithins an der Carboxyl-Gruppe nach Arndt und Eistert gelang. Damit war auch die Konfiguration am  $\beta$ -C-Atom bestimmt.

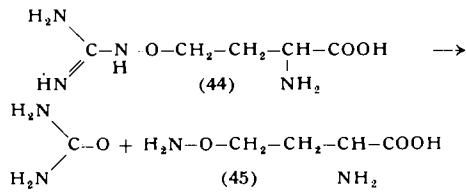
Geamin oder Roseonin. Die beiden zuletzt genannten Antibiotica Roseothricin und Geomycin enthalten außer  $\beta$ -Lysin noch eine zweite stark basische Aminosäure, die sich papierchromatographisch und am Kationenaustauscher gut von  $\beta$ -Lysin trennen lässt, und ebenfalls kristallisiert erhalten wurde. Sie enthält einen Aminoimidazolin-Ring und besitzt nach Hirata und Mitarbeiter<sup>111</sup>) die Konstitution (42), doch scheint die Stellung der Amino- und Oxy-Gruppe in der Seitenkette nicht ganz gesichert zu sein (vgl.<sup>112</sup>)).



Die L-2-Amino-6-hydroxylamino-capronsäure (43) kommt im Mycobactin vor. Dieses ist ein Wachstumsfaktor für *Mycobacterium jonei*, der von Snow<sup>113</sup>) aus *M. phlei* gewonnen wurde. Bei der sauren Hydrolyse zerfällt das Mycobactin in ein Gemisch von sauren Verbindungen, aus dem sich neben Serin eine bisher unbekannte, stark reduzierende Aminosäure abscheiden lässt, die bei der Hydrierung in L-Lysin übergeht, selbst aber ein Atom Sauerstoff mehr als Lysin enthält. Es schien sich um eine Amino-hydroxylamino-capronsäure zu handeln, bei der noch festgestellt werden mußte, ob die Hydroxylamin-Gruppe in  $\alpha$ - oder  $\epsilon$ -Stellung vorlag. Dazu wurde die Perjodsäure-Oxydation am Naturprodukt, das ein Mol verbrauchte und nicht abgebaut wurde, mit der an einer synthetischen  $\alpha$ -Hydroxylamino-carbonsäure, die 2 Mol verbrauchte und unter  $\text{CO}_2$ -Abspaltung in den nächstniederen Aldehyd überging, verglichen. Die Hydroxylamin-Gruppe ist verhältnismäßig schwach basisch ( $p_K$  5,2?).



Canavanin (44) wurde bereits 1929 von *Kitagawa* aus Jackbohnen isoliert und kommt auch in einigen anderen Pflanzen vor<sup>114</sup>). Sie wird durch ein Enzym der Leber in Harnstoff und Canalin (45) gespalten und von manchen Mikroorganismen (z. B. *Str. faecalis*), deren Wachstum Canavanin nicht hemmt, zu Guanidin und Homoserin reduziert.



## 9. Cyclische Iminosäuren

Die Entdeckung und Konstitutionsermittlung neuer cyclischer Iminosäuren werden durch einige charakteristische Farbreaktionen (Tabelle 2) erleichtert. Außerdem lassen sie sich durch die üblichen Farbteste auf Imino-Gruppen nachweisen. Präparativ trennt man von den primären Aminosäuren, von denen sich einzelne chromatographisch ähnlich verhalten wie die cyclischen Iminosäuren, indem man die Aminosäuren mit nitrosen Gasen desaminiert<sup>115</sup>), oder indem das Gemisch an einer Säule aus  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{CuCO}_3$  fraktioniert wird, wobei die  $\alpha$ -Aminosäuren als stabile Cu-Komplexe verhältnismäßig stark

<sup>103)</sup> A. I. Virtanen, E. Uksila u. E. J. Matikkala, ebenda 8, 1091 [1954].

104) T. H. Haskell, S. A. Fusari, R. P. Frohardt u. Q. R. Bartz, J. Amer. chem. Soc. 74, 599 [1952].  
105) R. Karrer u. A. Schleser, Helv. chim. Acta 6, 411 [1923].

105) P. Karrer u. A. Schlosser, *Helv. chim. Acta* 6, 411 [1923].  
 106) H. Hellmann, J. Löschmann u. F. Lingens, *Chem. Ber.* 87,

<sup>100</sup>) H. Hellmann, J. Loschmann u. F. Lingens, Chem. Ber. 87, 1090 [1954].

<sup>107</sup>) J. R. Catch u. T. S. G. Jones, Biochem. J. 42, 52 [1948].  
<sup>108</sup>) W. G. G. Esau, *ibidem*, 52, 500 [1955].

<sup>108)</sup> W. G. C. Forsyth, ebenda 59, 500 [1955].  
<sup>109)</sup> H. E. Carter, W. R. Hearn, F. M. Lansford, A. C. Page

<sup>103</sup> H. E. Carter, W. R. Hearn, E. M. Lansford, A. C. Page, N. P. Salzman, D. Shapiro u. W. R. Taylor, J. Amer. chem. Soc. 74, 3704 [1952].

<sup>110</sup>) E. E. Smissman, R. W. Sharpe, B. F. Aycock, E. E. van Tamelen, W. H. Peterson, *ibidem* 75, 2020 [1953].

<sup>111</sup>) *K. Nakanishi, T. Ito u. Y. Hirata, J. Amer. chem. Soc.* 76, u. W. H. Peterson, ebenda 75, 2029 [1953].

<sup>113)</sup> G. A. Snow, J. chem. Soc. [London] 1954, 2588, 4080.

114) W. R. Fleuron u. E. A. Bell, Biochem. J. 59, 221 [1955].

<sup>115)</sup> A. I. Virtanen u. S. Kari, Acta chem. scand. 9, 170 [1955].

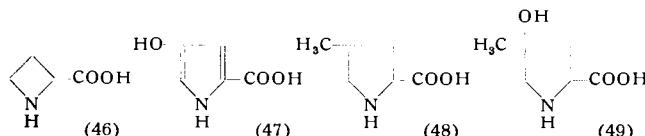
zurückgehalten werden<sup>116)</sup>. Diese neuen Verbindungen scheinen (bis auf Oxyminalin) in der Pflanzenwelt als freie Aminosäuren häufig aufzutreten und man findet sie stellenweise relativ zu den übrigen Stickstoffverbindungen in hohen Konzentrationen.

	Ninhydrin	Isatin
Azetidin-carbonsäure-2	braun	
Prolin	gelb	blau
Oxyprolin	gelbbraun	blau
Methylprolin	gelb	blau-violett
Oxymethylprolin	gelb	blau-violett
Pipecolinsäure	violett	grünlich blau
4-Oxy-pipecolinsäure	erst gelb, dann himmelblau	
5-Oxy-pipecolinsäure	blau	himmelblau
Baiklain	gelbbraun	

Tabelle 2. Farbreaktion einiger Iminosäuren

Azetidin-carbonsäure-2 wurde von *Virtanen* und *Linko*<sup>117)</sup> aus *Polygonatum officinale* und von *Fowden*<sup>118)</sup> aus Maiglöckchen (*Convallaria majalis*) isoliert. Aus Analyse ( $C_4H_7NO_2$ ), Molgewicht (100<sup>118)</sup>) und der Tatsache, daß sich keine Doppelbindungen nachweisen ließen, ergab sich für diese Substanz eine cyclische Struktur. Sie wird bei der salzauren Hydrolyse (6n HCl, 100 °C, 24 h) in Homoserin,  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -chlorbuttersäure und  $\alpha$ -Chlor- $\gamma$ -Aminobuttersäure gespalten und hat demnach die Konstitution (46). Die Synthese gelang aus  $\alpha$ -Brom- $\gamma$ -amino-buttersäure durch Ringschluß in 0,5n  $Ba(OH)_2$  (10 min, 100 °C).

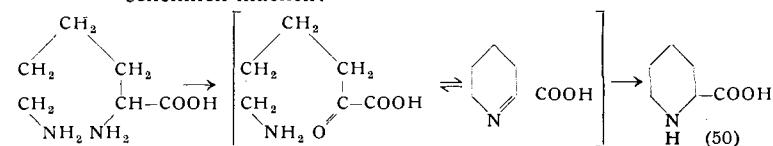
Oxyminalin bildet nach *Minagawa*<sup>119)</sup> neben Tyrosin die häufigste Aminosäure der Pectase aus Schimmelpilzen (*Penicillium*, *Aspergillus*). Sie wurde aus dem Hydrolysat der Pectase rein dargestellt und ihre Struktur (47) durch Hydrierung zu Oxyprolin aufgeklärt.



4-Methylprolin und 4-Oxy-4-methylprolin konnten aus Äpfeln isoliert werden. Erstere wurde von *Hulme* und *Arthington*<sup>120)</sup> als ein Methylprolin erkannt, das papierchromatographisch mit synthetischem 4-Methylprolin (48) übereinstimmte. Die zweite, die unabhängig voneinander von *Hulme*<sup>121)</sup> und von *Urbach*<sup>122)</sup> gefunden wurde, enthält ein O-Atom mehr als 4-Methylprolin. Obwohl die *Kuhn-Roth*-Bestimmung keine C-Methyl-Gruppe anzeigt, scheint es sich um 4-Oxy-4-methylprolin (49) zu handeln. Die Stellung der Substituenten ist in beiden Verbindungen noch nicht eindeutig bewiesen, doch wenn man an die Biosynthese des Prolins aus Glutaminsäure denkt und weiß, daß es  $\gamma$ -Methyl-glutaminsäure und  $\gamma$ -Methyl- $\gamma$ -oxy-glutaminsäure in der Natur gibt, so ist die Annahme einer Substitution in 4-Stellung in beiden Prolin-Derivaten naheliegend.

L-Pipecolinsäure (50). *Morrison*<sup>123)</sup> entdeckte sie im Klee (*Trifolium repens*) und etwa gleichzeitig *Zacharius*, *Thompson* und *Steward*<sup>124)</sup> in grünen Bohnen (*Phaseolus*

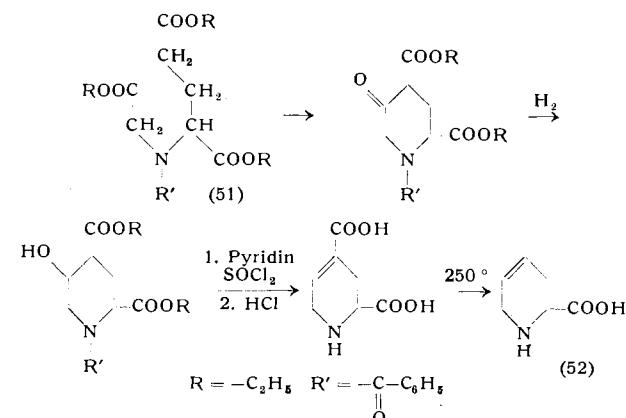
*vulgaris*). Sie ist wiederholt kristallisiert isoliert worden und unterscheidet sich in den Farbreaktionen deutlich von den Prolin-Derivaten. Die Biosynthese der Pipecolinsäure erfolgt im Tier und in der Pflanze aus Lysin. *Schweet*<sup>125)</sup> konnte bei *Neurospora* folgende Reaktionsstufen wahrscheinlich machen:



Neben radioaktiver Pipecolinsäure isolierten *Schweet* und Mitarbeiter aus den auf  $^{14}C$ -Lysin gewachsenen *Neurospora*-Mutanten ein Derivat der  $\alpha$ -Oxy- $\epsilon$ -amino-capronsäure, das ebenfalls  $^{14}C$  enthielt. In welchem Zusammenhang diese, bisher in der Natur nicht gefundene Aminosäure zur Pipecolinsäure steht, ist noch nicht bekannt.

5-Oxy- und 4-Oxy-pipecolinsäure kommen z. B. in Akazien vor und wurden von *Virtanen* und *Kari*<sup>115, 126)</sup> gefunden. Die Konstitutionsermittlung gründet sich auf die Reduktion zu Pipecolinsäure (HJ + P) und die Oxydation mit  $KMnO_4$ . Die eine wurde zu Glutaminsäure abgebaut und konnte deshalb nur 5-Oxy-pipecolinsäure sein, die zweite lieferte Asparaginsäure, Glycin und 2 weitere Verbindungen, aber keine Glutaminsäure und trägt sehr wahrscheinlich die Oxy-Gruppe in 4-Stellung. Das Vorkommen der 5-Oxy-pipecolinsäure ist bereits von anderer Seite bestätigt worden<sup>85)</sup>.

Baiklain. *King* und Mitarbeiter<sup>127)</sup> extrahierten es mit verdünnter Salzsäure aus rhodesischem Teakholz, in dem es zu etwa 1% enthalten ist. Bei der Zinkstaub-Destillation des Hydrochlorids bildete sich  $\alpha$ -Picolin und bei der katalytischen Hydrierung (1 Mol  $H_2$ ) L-Pipecolinsäure. Die Lage der Doppelbindungen konnten die Autoren durch oxydative Spaltung ( $O_3$ ,  $H_2O_2$ ) und anschließende Veresterung zu N-Carboxy-methyl-L-asparaginsäure-trimethylylester beweisen, den sie auch aus Bromessigester und L-Asparaginsäureester erhielten. Ausgehend vom N-Carboxymethyl-L-glutaminsäure-triäthylester (51) gelang die Synthese des Baikains (52):



Doch war die Ausbeute bei der letzten Stufe so gering, daß nur ein papierchromatographischer Vergleich mit dem Naturprodukt möglich war.

## 10. Halogen-haltige Aminosäuren

Drei Halogen-Aminosäuren sind lange bekannt: 3,5-Diodtyrosin, Thyroxin und 3,5-Dibrom-tyrosin. *Taurog* und *Chaikoff* haben beim Studium des Jod-Stoffwechsels, *Roche* und *Michel* bei der systematischen Suche nach

<sup>116)</sup> N. Grobbelaar, R. M. Zacharius u. F. C. Steward, J. Amer. chem. Soc. 76, 2912 [1954].

<sup>117)</sup> A. I. Virtanen u. P. Linko, Acta chem. scand. 9, 551 [1955].

<sup>118)</sup> L. Fowden, Nature [London] 176, 347 [1955].

<sup>119)</sup> T. Minagawa, Proc. Imp. Acad. [Tokyo] 21, 33 [1945].

<sup>120)</sup> A. C. Hulme u. W. Arthington, Nature [London] 173, 588 [1954].

<sup>121)</sup> A. C. Hulme, ebenda 174, 1055 [1954]; A. C. Hulme u. F. C. Steward, ebenda 175, 171 [1955].

<sup>122)</sup> G. Urbach, ebenda 175, 170 [1955].

<sup>123)</sup> R. I. Morrison, Biochem. J. 53, 474 [1953].

<sup>124)</sup> R. M. Zacharius, J. F. Thompson u. F. C. Steward, J. Amer. chem. Soc. 76, 2908 [1954].

<sup>125)</sup> R. S. Schweet, J. T. Holden u. P. H. Lowy, J. biol. Chemistry 211, 517 [1954].

<sup>126)</sup> A. I. Virtanen u. S. Kari, Acta chem. scand. 8, 1290 [1954].

<sup>127)</sup> F. E. King, T. J. King u. A. J. Warwick, J. chem. Soc. [London] 1950, 3590.

neuen Jod-Verbindungen in der Schilddrüse und bei Meeresbewohnern (Schwämme, Seetang, Hornkorallen und Algen) mehrere, bisher unbekannte Halogen-Derivate des Tyrosins und Thyronins (53) entdeckt<sup>128</sup>.

Der Nachweis gelang meist wie folgt: man suchte zunächst an Hand der synthetischen Verbindungen Lösungsmittel-Systeme, mit denen sich die in Frage kommenden Verbindungen papierchromatographisch von den anderen Jod-Derivaten sauber abtrennen ließen. Darauf wurden — z. B. bei der Untersuchung des Thyroglobulins — Versuchstiere mit markiertem Jodid (<sup>131</sup>J) gespritzt und die Schilddrüsen-Proteine zu bestimmten Zeiten nach der Injektion isoliert. Sie mußten enzymatisch hydrolysiert werden, da bei der sauren und alkalischen Hydrolyse immer Verluste an organisch gebundenem Jod zu befürchten sind und so Jod-ärmere Sekundärprodukte entstehen können. In den Hydrolysaten ließen sich dann die unten aufgeführten Verbindungen, die wohl alle der L-Reihe angehören, bis hinab zu Mengen von 0,1% autoradiographisch im Papierchromatogramm nachweisen.

2-(oder 4)-Jod-histidin bildet 2 % der Jod-Verbindungen in der Schilddrüse<sup>129</sup>;

3-Jod-tyrosin im Gorgonin (8–9 %); im Spongin und Thyroglobulin<sup>130</sup>;

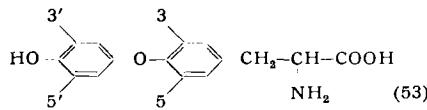
3-Brom-tyrosin nur im Gorgonin<sup>131</sup>;

3,3'-Dijod-thyronin

3,5,3'-Trijod-thyronin } im Thyroglobulin in geringer Menge<sup>132</sup>

3,3',5'-Trijod-thyronin }

3,5,3'-Trijod-thyronin ist bereits 1952 von Gross und Pitt-Rivers<sup>133</sup>) aus Ochsenschilddrüsen kristallisiert isoliert worden und ist ein wirksameres Hormon als Thyroxin.



<sup>128</sup>) Ausführl. Zusammenfassg. *J. Roche* u. *R. Michel*, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe 12, 349 [1955].

<sup>129</sup>) *J. Roche* u. *S. Lissitzky* u. *R. Michel*, Biochim. biophysica Acta 8, 339 [1952].

<sup>130</sup>) *C. Fromageot*, *M. Justisz*, *M. Lafon* u. *J. Roche*, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales* 142, 785 [1948]; *K. Fink* u. *R. M. Fink*, *Science [New York]* 108, 358 [1948].

<sup>131</sup>) *J. Roche*, *Y. Yagi*, *R. Michel*, *S. Lissitzky*, *E. Lafon*, *Bull. Soc. Chim. biol.* 33, 526 [1951].

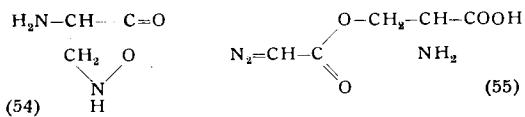
<sup>132</sup>) *J. Roche*, *R. Michel*, *J. Nunez*, *W. Wolf*, *Biochim. biophysica Acta* 18, 149 [1955].

<sup>133</sup>) *J. Gross* u. *R. Pitt-Rivers*, *Biochem. J.* 53, 645, 650, 652 [1953].

## Zusammenfassung

Zu den bekannten Bausteinen normaler Proteine in den höheren Lebewesen sind keine neuen hinzugekommen, vielmehr sind Norvalin, Norleucin und  $\beta$ -Oxy-glutaminsäure nicht mehr als solche zu zählen. Wir können heute mit großer Sicherheit behaupten, daß es beim Menschen und bei den Tieren keine weiteren Aminosäuren gibt, die in nennenswerter Menge im Eiweiß vorkommen, denn diese hätten mit den modernen Methoden gefunden werden müssen. Die Zahl der bekannten Aminosäuren in der gesamten Natur hat sich aber seit der Entdeckung der Papierchromatographie mehr als verdoppelt (rund 80) und es ist anzunehmen, daß diese Entwicklung noch einige Jahre anhalten wird. Denn das Interesse an der Aufklärung des Zellstoffwechsels und an neuen Antibiotica ist groß, und man findet in den Veröffentlichungen aus den am Anfang erwähnten drei Arbeitsrichtungen immer wieder Hinweise für das Auftreten bisher unbekannter Flecken im Papierchromatogramm. Außerdem gibt es noch sehr viel natürliches Material, das in dieser Hinsicht untersucht werden kann. Wir sehen ferner, daß die präparative Isolierung und Konstitutionsermittlung einer neuen Aminosäure, bis auf wenige Fälle (z. B. im Phalloidin) nicht besonders schwierig ist. Schon aus dem chromatographischen Verhalten kann man mit weniger als 0,1 mg und bei einiger Erfahrung wichtige Hinweise auf die Struktur erhalten, die natürlich durch einwandfreie Analysen und nicht zuletzt durch die Synthese bewiesen werden muß.

Noch vor wenigen Jahren hatte man kaum geglaubt, daß es natürliche Aminosäuren mit aliphatischen Doppelbindungen oder solche mit mehr als 6 C-Atomen in einer Kette gibt. Wenn man sich aber an die einfache Konstitution der Aminosäure-Antibiotica Cycloserin (54)<sup>134</sup>) und Azaserin (55)<sup>135</sup>) erinnert, so hat man den Eindruck, als ob uns die Natur auch bei den kleinen Molekülen noch lange nicht ihre ganze Mannigfaltigkeit verraten hat.



Eingegangen am 23. Dezember 1955 [A 713]

<sup>134</sup>) *P. H. Hidy*, *E. B. Hodge*, *V. V. Young*, *R. L. Harned*, *G. A. Brewer*, *W. F. Phillips*, *W. F. Runge*, *H. E. Stavely*, *A. Pohland*, *H. Boaz* u. *H. R. Sullivan*, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 2345 [1955].

<sup>135</sup>) *S. A. Fusari*, *T. H. Haskell*, *R. P. Frohardt* u. *Q. R. Bartz*, ebenda 76, 2881 [1954].

## Anwendungsbeispiele multiplikativer Verteilungen

Von Dr. F. A. von METZSCH

Organisch-chemisches Institut der Universität Göttingen

Es wird die Craig-Verteilung größerer Substanzmengen und die Übertragbarkeit der Ergebnisse in den halbtechnischen Maßstab besprochen. Die Tabelle der Verteilungsbeispiele (diese Zeitschrift 65, 586, 1953) wird mit über 300 Beispielen fortgesetzt.

Seit den letzten Zusammenstellungen der Anwendungsbeispiele der Craig-Verteilung<sup>1, 2)</sup> hat diese Methode, die in ihren Grundlagen auf eine Arbeit von Jantzen<sup>3)</sup> zurückgeht, zunehmende Verwendung gefunden und, nachdem Apparaturen zur Verfügung stehen<sup>4, 5)</sup>, auch in Europa viele Freunde gewonnen.

<sup>1</sup>) *F. A. v. Metzsch*, diese Ztschr. 65, 586 [1953].

<sup>2</sup>) *E. Hecker*: Verteilungsverfahren im Laboratorium, Verlag Chemie, Weinheim 1955.

<sup>3</sup>) *E. Jantzen*, Dechema-Monographie Nr. 48, Berlin 1932.

<sup>4</sup>) *F. A. v. Metzsch*, Chem.-Ing.-Technik 25, 66 [1953], Herst.: *H. Kühn*, Göttingen, Hospitalstr. 4c.

<sup>5</sup>) *E. Hecker*, Chem.-Ing.-Technik 25, 505 [1953], Herst.: *E. Bühlert*, Tübingen, Reutlinger Str. 6.

Grundsätzlich kann man jedes Substanzgemisch durch Verteilung trennen, für das ein geeignetes Lösungsmittel-System gefunden werden kann. Welche Anforderungen an das Lösungsmittelsystem gestellt werden müssen, wurde bereits beschrieben<sup>1</sup>).

Auch für extrem hydrophile oder extrem lipophile Substanzen wird sich meist ein Lösungsmittelsystem finden lassen. Als Beispiel sei erwähnt, daß sich lipophile Substanzen, z. B. bestimmte Peptide, bei Anwesenheit von Wasser auch in Chloroform lösen können, wenn man durch Alkohol- oder Pyridin-Zusatz die Wasseraufnahmefähigkeit des Chloroforms erhöht. Bei ausgesprochen hydrophoben Substanzen haben sich Acetonitril und Nitromethan