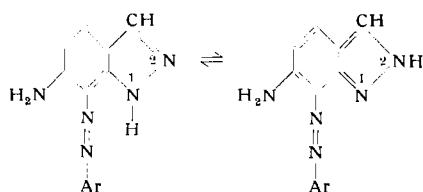


sche Abfall (10^{-11} sec) vom angeregten Singlett- zum Tripletztzustand vor der eigentlichen Photoreaktion erfolgt. So läuft z. B. die Photo-Oxydation des Anthracens zum Peroxyd über einen Tripletztzustand, während seine Photodimerisation direkt vom angeregten Singlettzustand ausgeht. Die Semichinone bilden sich aus den Chinonen, im bes. aus dem Durochinon über den Singlettzustand, während die analoge Reaktion bei den aromatischen Ketonen, wie Benzophenon, über den Tripletztzustand abläuft. Die Tripletztzustände können durch Wechselwirkung mit paramagnetischen Ionen oder Molekülen oder mit Molekülen mit niedrigerem Tripletztzustand abgeregelt werden. Dadurch wird der Ablauf der photochemischen Reaktion unterbunden.

Nach F. Dörr (Ursachen der Eigenschaften von Farbstoffen als Faserschädiger und Nichtschädiger) absorbieren die faserschädigenden, gelben Anthrachinonfarbstoffe in der dem Absorptionspektrum zum Sichtbaren hin vorgelagerten schwachen Carbonylbande so, daß ein nicht bindendes Elektron des Sauerstoffatoms in den Anregungszustand der π -Elektronen der C=O-Doppelbindung übergeht ($n \rightarrow \pi^*$ -Übergang). Nach G. O. Schenck entspricht dieser Anregungszustand einem Sauerstoffradikal, das dehydrierend auf seine Umgebung wirkt. So kommt die Faserschädigung zustande. Bei tiefer farbigen Farbstoffen wird diese Bande durch die starken $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergänge der konjugierten Doppelbindungssteme überdeckt, deren Anregungszustände Kohlenstoffradikalen entsprechen, die Sauerstoffmoleküle an die Umgebung übertragen können.

R. Sureau (Relation entre constitution, couleur et solidité à la lumière dans la série des colorants indazoliques basiques) sprach die farberischen Eigenschaften von Indazolfarbstoffen, wie



und ihrer 1- bzw. 2-Methyl-Derivate. Diese Farbstoffe sowie ihre 2-Methylderivate ziehen infolge ihrer starken Basizität als Salze

auf Polyacrylnitrilfasern auf, während die 1-Methyl-Derivate wesentlich weniger basisch sind und auf der Faser als hellere, freie Base mit anderen Eigenschaften und Lichtechtheiten vorliegen.

U. Guggerli Zur Bestimmung von relativen Farbstoffstärken auf farbmetsrischen Wege sprach über das farbmetsrische Problem der Bestimmung relativer Farbstoffstärken verschiedener Farbstoffe. Er ging von dem empfindungsangepaßten chromatic-value-System von Adams-Nickerson aus und entwickelte neue, nicht-lineare Transformationsgleichungen für die Normfarbwerte X, Y und Z, wie sie vom Hudy-Spektralphotometer mit einem Integrator direkt geliefert werden. Durch Linearisierungen lassen sich praktisch verwendbare Näherungsverfahren für kleine Farbdifferenzen entwickeln.

Die Grundlagen der Farbmetsrik wurden in einem Experimentalvortrag von P. Huber in Zusammenhang mit Demonstrationen von F. Rintelen und R. Wizinger (Farbe als physikalisches, physiologisches und chemisches Phänomen) z. T. auf Grund der Versuche von K. Miescher vorgeführt. Die Experimente wurden in eindrucksvoller Weise mit dem Eidophorverfahren, der farbigen Fernsehgrößprojektion der CIBA, in den Vortragssaal übertragen.

H. Zollinger (Untersuchungen über den Färbe mechanismus von Reaktivfarbstoffen) beschäftigte sich mit dem Problem, die kovalente chemische Bindung in den seit 1956 praktisch angewendeten, neuartigen Reaktivfarbstoffen nachzuweisen. Dies gelang durch den Austausch des ArSO_3^- -Restes von Sulfonfluorid-Farbstoffen an Cellulose gegen Jodid-Ion beim Behandeln mit Natriumjodid. Dabei werden rund 76 % des auf der Faser vorhandenen Farbstoffes gegen Jod ausgetauscht. Damit ist einerseits gezeigt, daß die Bindung des Farbstoffes zur Cellulose ebenso kovalent ist wie in den bekannten Zuckertosylaten, andererseits daß ein Teil des Farbstoffes (ca. 24 %) an sekundäre OH-Gruppen gebunden ist, die zum Austausch nicht befähigt sind. Für die auffallende Tatsache, daß sich die reaktiven Gruppen dieser Farbstoffe besser mit den OH-Gruppen der Cellulose als mit Wasser umsetzen, diskutierte der Vortragende auf Grund kinetischer Versuche mit Mono- und Dichlortriazin-Reaktivfarbstoffen, daß als erste Stufe vor der chemischen Bindung die Farbstoffe substantiv an die Cellulose adsorbiert werden, wodurch dann die Substitution durch einen Cellulosalkoholat-Sauerstoff leichter erfolgt, als die Reaktion mit einem Hydroxyl-Ion. (VB 370)

3. Europäisches Peptid-Symposium

Basel, 5. bis 8. September 1960

Während sich vor 2 Jahren in Prag nur wenige Spezialisten zu einer Aussprache und einem Erfahrungsaustausch auf dem Gebiet der Peptidchemie zusammenfanden, nahmen am diesjährigen 3. Europäischen Peptid-Symposion bereits etwa 100 Chemiker aus europäischen Ländern und Gästen aus Übersee teil. Es wurden mit einer Ausnahme keine größeren Übersichtsvorträge gehalten, sondern in etwa 40 kurzen Referaten vornehmlich technische Fragen der Synthese und Analyse von Peptiden angeschnitten und anschließend ausgiebig diskutiert, insgesamt also eine intensive Arbeitstagung sehr erfreulichen Stils.

Die Knüpfung der Peptidbindung mit Äthoxyacetylen läuft nach J. F. Ahrens, Utrecht, erwartungsgemäß über Äthoxyacyloxy-äthylen, was durch Isolierung des Intermediärproduktes als Quecksilbersalz nachgewiesen werden konnte. Als Nebenprodukte wurden Aminosäureanhydride isoliert, die in trockenem Zustand stabil sind, in Lösung jedoch z. T. eigenartige Umlagerungen erleiden; z. B. konnte ein sehr stabiler Komplex aus Cbo-Glycin und Cbo-glycyl(Cbo)-glycin isoliert werden, der an die Komplexe der Aminosäuren mit ihren Natriumsalzen erinnert. Aus optisch inaktiven Aminosäuren entstehen nach dem IR-Spektrum offenbar meist die meso-Verbindungen und nicht die Anhydridracemate. Ähnliches wurde von E. Wünsch, München, bei der Diketopiperazinbildung beobachtet, ebenso von R. Schwizer, Zürich und Basel, bei der Cyclisierung von DL-Peptiden zu höheren Ringen. — Die aktivierten Ester von Trifluoracetylaminosäuren lassen sich nach F. Weygand, München, mit Aminosäuren in Eisessig ohne Racemisierung kuppln, wobei ein rückgewinnbarer Überschuß an Ester die Acetylierung hintanhält. An Hand von Versuchen zur Tyrocidin-A-Synthese wies R. Schwizer auf die vorteilhafte Verwendung von tert.-Butoxy-carbonylhydrazin hin. Dieses ist in Trifluoressigsäure leicht löslich und spaltet darin selektiv die Butoxy-carbonylgruppe ab, wonach sofort weiter zum Azid umgesetzt werden kann. G. W. Anderson (z. Zt. Basel) verwendet zur Synthese des Ileu-Hypertensin-1-amids mit Vorteil N,N'-Carbonyldimidazol als Kondensationsmittel, wobei in Dimethylformamid bei -10°C keine Racemisierung beobachtet wurde. In wässrigen Pufferlösungen können auch Aminosäuresalze statt der Ester umgesetzt werden. J. Rudinger, Prag, erwähnte den bei -70°C aus-

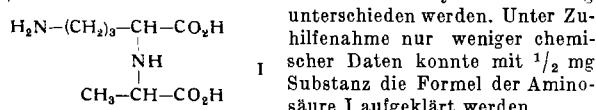
Dimethylformamid und Phosgen entstehenden Komplex $[(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CCl}]^+\text{Cl}^-$ als Kondensationsreagenz, das allerdings nicht sicher ohne Racemisierung wirkt. P.-A. Jaquenoud, Basel, demonstrierte an Hand der Bradykinin-Synthese die besonders zur Synthese von prolinhaltigen Peptiden günstige Verwendung von o-Nitrophenylessigern zusammen mit freien Aminosäuren in wäßrigem Medium bei konstant gehaltenem pH.

Tert.-Butylester zeichnen sich nach G. W. Anderson oft durch bessere Kristallisierungsfähigkeit aus, zeigen wenig Neigung zur Diketopiperazinbildung, sind mit Säure leicht spaltbar und relativ stabil gegen Alkali; letzteres ist interessant für die Abspaltung des Trifluoracetylrestes und für die Hydrazinspaltung der Phthalylgruppe. Eingeführt werden kann die tert.-Butylgruppe durch Umsatz der Säuren mit Isobutylen in Gegenwart von H^+ -Ionen oder nach E. Taschner, Danzig, durch Umesterung mit tert.-Butylacetat. Taschner verwendet den tert.-Butylester der Tosylpyroglytaminsäure zu einer neuen Glutathion-Synthese. Als weitere Schutzgruppe verwendet W. K. Antonoff, Moskau, den Phthaloylmethylhaloester, der mit Hydrazin schon bei 0°C in Alkohol leicht abgespalten wird. L. Birkofer, Köln, macht auf die Verwendbarkeit von Trialkylsilylresten als Schutzgruppen für SH, NH₂ und OH aufmerksam, wobei allerdings Wasser völlig ausgeschlossen werden muß. Trifluoressigsäure empfahl R. Schwizer zur Abspaltung der tert.-Butoxybenzyl-Gruppe; nach F. Weygand wird mit dem gleichen Mittel p-Methoxybenzoxycarbonyl selektiv neben Benzylester gespalten. I. Photaki, Athen, berichtete über den Schutz der SH-Gruppe durch den Benzhydrylrest, der in seinen Eigenschaften zwischen dem Benzyl- und dem Tritylrest steht. Ferner empfahl sie das aus Cystein mit Benzaldehyd und nachträglicher N-Formylierung entstehende Thiazol, das in guter Ausbeute erhältlich ist, zur Synthese von Cysteinyl-Verbindungen. G. T. Young, Oxford, verwendet bei der Synthese von Arginin-Vasopressin-Peptiden die Benzylthiomethyl-Gruppe zum Schutz des SH; die Nitrogruppe der Nitroarginyl-Peptide konnte er zum Schluß der Synthese durch elektrolytische Reduktion an der Quecksilberkathode abspalten. Es war also nicht nötig, sie wie sonst vor Einführung in S-haltige Verbindungen durch katalytische Hydrogenolyse zu beseitigen.

Speziellere Probleme behandelte W. K. Antonoff, Moskau: auf dem Wege zur Synthese von Ergotalkaloiden untersuchte er die Synthese und Verwendbarkeit von α -Benzylxylo-N-benzoylaminosäurebenzylester; diese sind aus den betreffenden Azlactonen über Bromierung und Umsetzung mit Benzylalkohol gut zugänglich. Die Benzylester-Gruppierung ist hydrogenolytisch spaltbar, so daß dann weitere Peptidsynthesen möglich sind. Die α -Benzylxylo-Gruppe wird erst durch Hydrierung bei 50 atm und + 50 °C abgespalten. H. Determann, Frankfurt/M., synthetisierte erstmals Peptide (z. B. Tyr-Ileu-Gly-Glu-Phe), die mit Pepsin bei pH = 4 in 20-proz. wässriger Lösung unlösliches Material, sog. „Plasteiné“ bilden; bisher war solches nur durch Rekombination von enzymatischem Spaltmaterial, z. B. Witte-Pepton, gelungen. Endgruppenuntersuchungen deuteten darauf hin, daß wahrscheinlich eine Blockpolykondensation und nicht Transpeptidierung eingetreten war. H. Gibian, Berlin, berichtete über Versuche zur Synthese von hydroxysäure-haltigen Peptiden, sog. Peptoliden; als Ausgangsmaterial dienten durch Aminoacylierung von Diazoessigsäureestern erhältliche Aminoacylglykolsäuren mit Schutzgruppen an der endständigen Amino- bzw. Carboxylgruppe; nach selektiver Abspaltung dieser Schutzgruppen konnten durch Kondensation mit sich selbst, mit Aminosäuren oder Peptiden höhere Verbindungen bis zu geschützten Hexapeptoliden aufgebaut werden.

Sehr wichtig ist das Problem der Racemisierung während der Synthese. Zur lebhaften Diskussion trugen u. a. bei M. Bodansky, New Brunswick, R. A. Boissonas, St. Guttman und B. Iselin (alle Basel). Die Gründe für eine Racemisierung können sehr unterschiedlich sein. Synthesemethode und Komponenten spielen eine Rolle. Problematisch ist immer wieder der einwandfreie Nachweis der ausgebliebenen Racemisierung. Nebenreaktionen können zu drehwertsteigernden Verunreinigungen führen, so daß absolut höhere Drehwerte kein Beweis für höheren Reinheitsgrad zu sein brauchen. Es wurde auf die mögliche Verwendbarkeit molarer Drehungsbeiträge von Substituenten hingewiesen. Andererseits wird bei höheren Peptiden der Anteil einzelner Asymmetriezentren an der Gesamtdrehung immer geringer. Auch scheint schon bei Tetrapeptiden die Sekundärstruktur wesentlichen Einfluß zu bekommen, so daß die Gesamtdrehung mehr und mehr durch die Konformation des Moleküls bestimmt wird. Durch Messungen in Dichloroessigsäure könnte dies vielleicht z. T. hintangehalten werden. Um die Meßwerte verschiedener Laboratorien besser miteinander vergleichen zu können, wurde vorgeschlagen, wenn irgendmöglich Eissessig als verbindliches Lösungsmittel zu benutzen. Um den Einfluß undefinierter Wassergehalte auszuschließen, soll von vornherein eine geringe Menge Wasser zugesetzt werden; Versuche hierzu will J. Rudinger, Prag, anstellen. — Während die so nützlichen aktivierten Nitrophenylester aus N-geschützten Aminosäuren leicht zugänglich sind, scheinen sie aus N-geschützten Di-peptidsäuren leider nicht ohne Racemisierung gewinnbar zu sein (St. Guttman, Basel). — Prolin scheint sterisch stabiler zu sein. Dies muß mit der Ringstruktur zusammenhängen, denn die ebenfalls sekundäre Aminosäure N-Methyltyrosin ist unter vergleichbaren Bedingungen optisch durchaus nicht stabil.

Unter den in der Peptidchemie anwendbaren analytischen Methoden scheint die Gaschromatographie Bedeutung zu erlangen. Nach F. Weygand, München, lassen sich nicht nur die Trifluoracetyl-aminoäuremethylester, sondern auch die analogen Di-peptidderivate gaschromatographieren. In Ergänzung des bekannten Verfahrens von Moore und Stein lassen sich Protein-Partialhydrolysate auf diesem Wege in Aminosäuren, Dipeptide und andere Verbindungen trennen. Nimmt man Proben nach verschiedenen Hydrolysezeiten, so lassen sich schnell Einblicke in den Verlauf der Hydrolyse und Hinweise für die spätere Sequenzanalyse gewinnen. Da sich auf einer 3-m-Säule auch Diastereomere, z. B. Alanyl-DL-phenylalanin, trennen ließen, könnte dieses empfindliche Verfahren Bedeutung zur Feststellung der Racemisierung bei der Peptidsynthese gewinnen. Ferner eignet sich die Gaschromatographie gut zur Kombination mit der Massenspektroskopie. Auf dieses in der Peptidchemie bislang noch kaum benutzte Hilfsmittel ging K. Biemann, Cambridge/Mass., ein. Durch Elektronenbeschluß werden positiv geladene Bruchstücke erzeugt, und entsprechend ihrer Masse aufgefächert. Aus der Größe und Intensität der auftretenden Massenzahlen lassen sich Rückschlüsse auf die Struktur der analysierten Substanzen ziehen. So können beispielsweise Leucin, Isoleucin und Norleucin bei Einsatz ihrer Äthylester eindeutig



Peptide können eingesetzt werden, wenn man mit LiAlH_4 , ihre $-\text{CONH}_2$ -Gruppen zu $-\text{CH}_2\text{NH}-$ und ihre Carboxyle zu Alkoholgruppen reduziert. Besonders bei einer ergänzenden Reduktion mit Lithiumaluminium-Deuterid (LiAlD_4) gestattet eine sorgfäl-

tige Analyse der im Massenspektrometer auftretenden Spaltprodukte meist eine komplette Sequenzanalyse ohne vorhergehende hydrolytische Spaltung. Geprüft wurde dies bis zu Pentapeptiden. Eine Kombination mit der Gaschromatographie wurde bis zu Tetrapeptiden dadurch ermöglicht, daß man unter energischen Bedingungen auch noch die endständige Carbinolgruppe zur Methylgruppe (bzw. zur CD_3 -Gruppe) hydrierte. Zusätzliche Dimethylierung der NH_2 -Endgruppen ermöglicht auch deren Bestimmung. Letzten Endes handelt es sich hier also um eine Übertragung des aus der Petrochemie wohl bekannten Verfahrens auf durch Iminogruppen unterbrochene Kohlenwasserstoffketten. — A. Niederwieser, Basel, unterstrich die Verwertbarkeit der Dünnschichtchromatographie mit Kieselgel G für die Trennung von Aminosäuren und Peptiden. Vorteilhaft erscheint die kürzere Laufzeit, die oft größere Trennschärfe unter Vermeidung von Schwanzbildung, die Unempfindlichkeit aggressiven Indikatoren gegenüber. Nachteilig ist, daß kein Original aufbewahrt werden kann, sondern stets schnell kopiert werden muß. Als Kapazität wurden 100–200 μ Aminosäuregemisch bei einer Nachweisschwelle von 0,1 μ angegeben. Unter Verwendung der in der Papierchromatographie üblichen Lösungsmittelgemische wurden 14 Aminosäuren mit je 1 μ auf einer Laufstrecke von 10 cm innerhalb 1,5 Stunden vollkommen getrennt. Auch Asparaginsäure, Glutaminsäure und Cystein lassen sich hier unterscheiden. K. Vogler, Basel, bestätigte diese Angaben auf Grund seiner Erfahrungen bei der Polymyxin-A-Synthese. — Nach H. Zchn, Aachen, eignet sich die Röntgenographie gut zum Nachweis der Mikrokristallinität scheinbar amorpher Substanzen. Ferner können Diastereomere, aber oft schmelzpunktsgleiche Racemate unterschieden werden. Während synthetische Peptide mit β -Struktur schon häufig gefunden wurden, z. B. das Peptid (B 23)-(B 30) des Insulins, konnten bisher α -Helices noch nicht festgestellt werden. Vielleicht sind dafür noch längere Peptidketten nötig. — Große Bedeutung für die Strukturaufklärung und Reinheitsprüfung von Peptiden besitzen enzymatische Spaltverfahren. H. Zuber, Basel, zeigte, daß die meist mit kleineren Substratmolekülen gefundene Spezifität der Enzyme beim Übergang auf größere Substrate anscheinend nur beim Trypsin erhalten bleibt. Beim Chymotrypsin nimmt die Zahl der „anomalen“ Spaltstellen bei höheren Peptiden zu. Ob es für das Pepsin, das Papain und das Subtilisin überhaupt eine Seitenkettenpezifität gibt, erscheint fraglich. Den in neuerer Zeit zur Überprüfung der optischen Einheitlichkeit von synthetischen Peptiden häufiger verwendeten Totalabbau durch Leucinaminopeptidase scheint ein an zweiter Stelle stehendes Prolin zu verhindern. Nach J. Rudinger, Prag und K. Hoffmann, Pittsburgh, stört ϵ -Tosyl- bzw. Formyl-lysin, S-Benzyl-cystein, Nitroarginin den Abbau mit Leucinaminopeptidase nicht. Auch benzylthiomethyl-geschützte SH-Gruppen bilden kein Hindernis, wenn auch die Spaltung langsamer verläuft. Geringfügige Racemisierung kann gelegentlich eine unverhältnismäßig große Verlangsamtung des Leucinaminopeptidaseabbaus hervorrufen, wenn nämlich die Diastereomere Verbindung ein starker Inhibitor ist. Prolinhaltige Peptide können vielleicht intermediär mit Collagenase gespalten und anschließend erneut mit Leucinaminopeptidase behandelt werden. K. Vogler, Basel, erinnerte an die Verwertbarkeit der UV-Absorption zur Bestimmung von Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan, Tosyl- und Carbobenzoxyresten, gegebenenfalls unter Differenzierung bei verschiedenen Wellenlängen.

[VB 377]

IV. Internationaler Kongreß für Klinische Chemie

14. bis 19. August 1960 in Edinburgh

An diesem Kongreß nahmen etwa 500 Wissenschaftler aus den verschiedensten Ländern teil. Die Hauptthemen der Plenarvorträge lauteten: 1. Umsatz der Plasmaproteine, 2. Mechanismen der Urinproduktion, 3. klinische Enzymologie, 4. kongenitale Stoffwechselanomalien.

Neben diesen, im Mittelpunkt des allgemeinen Interesses stehenden Themengruppen wurden in Einzelvorträgen fast alle Gebiete der klinischen Chemie behandelt.

Aus den Vorträgen:

A. S. McFARLANE, London: Ein Überblick über das Problem des Umsatzes von Plasmaproteinen.

Der Umsatz (turnover) der Plasmaproteine kann entweder durch Zufuhr radioaktiv markierter Aminosäuren oder vorher in vitro markierter Proteine studiert werden. Dabei muß mit besonderer Sorgfalt berücksichtigt werden, daß die dem Patienten applizierte Strahlendosis unterhalb der festgesetzten Höchstgrenze (400 Mikro-Curie) bleibt. Es wurde auf die Fehlerquellen und Grenzen der Methode hingewiesen. Glycin z. B. wird nur zu etwa 10 % in die Plasmaproteine eingebaut, 90 % werden abgebaut oder gehen andere Wege im Intermediärstoffwechsel. Der „turnover“ des Gly-