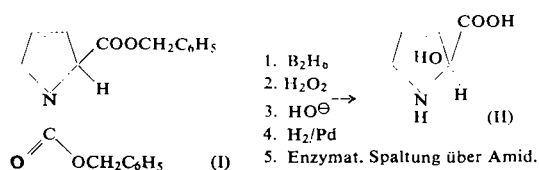


Analysator erst in jüngster Zeit zur Entdeckung [1], Kristallisation [2] und Synthese [2] der neuen Aminosäure geführt hat.



Die Hydroborierung des N-Carbobenzyloxy-O-benzylester-Derivates (I) des jüngst beschriebenen 3,4-Dehydro-D,L-prolins [3] führt nach einer Reihe von chemischen Schritten und Abtrennung von Isomeren in 60-proz. Ausbeute zum 3-Oxy-D,L-prolin, dessen N-Tosyl-O-methyl-ester dasselbe Infrarot-Spektrum wie das analoge Derivat der aus natürlichem Eiweiß, in diesem Fall Gerüstsubstanz von Seegurken, gewonnenen L-Aminosäure, besaß. Für die Konfiguration der natürlichen Aminosäure als *trans*-3-Oxy-L-prolin (II) ist der streng chemische Beweis noch in Arbeit. D-Aminosäure-Oxydase greift II nicht an, wohl aber die D,L-Verbindung die quantitativ den für den D-Anteil errechneten Sauerstoff verbraucht und dabei in ein neues Produkt, vermutlich 1,2-Dehydro-3-oxyprolin übergeht. Das neue 3-Oxyprolin kommt auch in den Zellwänden von Anthrax-Bakterien und in gewissen Antibiotika (z. B. Telomycin) vor [4].

Vom Dehydroprolin ausgehend ließ sich Anhydro-3-Oxystachydrin darstellen [5], wie es von Cornforth [6] durch Essigsäureanhydrid-Behandlung von natürlichem *cis*- und *trans*-3-Oxystachydrin aus *Courbonia virgata* erhalten worden war. Die Dehydro- und Ketoprolin-Derivate erlauben die selektive Einführung von Tritium durch Verwendung von reduktiver Hydroborierung oder Natrium-Borhydrid. Die so gewonnenen Tritium-markierten Prolin- und Oxyprolin-Derivate dienten als Substrate für Leber-Microsomen, Hühner-Embryonen (Überführung in gebundenes Oxyprolin) und *Streptomyces antibioticus* (Einbau in den Peptid-Anteil der verschiedenen Actinomycine). Diese im Laboratorium von S. Udenfriend ausgeführten Arbeiten verschafften neue Einblicke in die Biogenese und das Schicksal im Stoffwechsel von Oxyprolin.

[VB 617]

Spaltung von Proteinen ohne Enzyme

B. Witkop, Bethesda-Washington (USA)

GDCh-Ortsverband Marburg/Lahn, am 20. Juli 1962

Man verfügt nun schon über eine Reihe von Methoden, die es erlauben, Peptide und Eiweiß-Stoffe ohne Hilfe von Enzymen selektiv zu spalten [7]. Solche Methoden erweisen ihren Wert, wenn es gilt, die immer länger werdenden und in rascherer Folge veröffentlichten Primär-Sequenzen von Eiweiß-Stoffen und Enzymen auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Arbeiten aus jüngster Zeit haben sich hauptsächlich mit der Ribonuclease aus Rinder-Bauchspeicheldrüsen beschäftigt. Dieses Enzym besteht aus einer unverzweigten Kette von 124 Aminosäuren, deren sekundäre und tertiäre Struktur von 4 Disulfid-Brücken bestimmt wird. Bei der vorsichtig reduzierenden Öffnung dieser 4 S-S-Brücken in Harnstoff-Lösung verliert das Enzym die gesamte gerichtete Struktur, die sich aber bei langsamer Re-Oxydation und Herausdialysieren des Harnstoffs vollkommen und selektiv wiederherstellen läßt; man gelangt wieder zum aktiven Enzym, das sich von nativer

Ribonuclease nicht unterscheiden läßt [8]. In der Primärsequenz der Ribonuclease sind also richtungsweisende Gruppen enthalten, die das ungeordnete Enzym richtig steuern, so daß es sich „von selbst“ in die verwickelte Architektur des voll aktiven Enzyms „faltet“. Aus diesem historischen Versuch ergibt sich eine Bedeutung der Primär-Sequenz von Eiweißstoffen, wie man sie vorher nicht vermuten konnte. Die Interpretation der hierbei wirksamen, in die Primär-Sequenz eingebauten, richtungsweisenden Kräfte („Informationen“) ist nur dann sinnvoll, wenn die Stellung jeder Aminosäure genau bekannt ist. Hier machen sich die Grenzen der enzymatischen Methodik der Eiweiß-Strukturmittlung bemerkbar, die zu einer Art sehr routinierter und verwickelter „Buchhaltung“ geworden ist, bei der es darauf ankommt, überlappende Peptid-Sequenzen richtig zur Gesamt-Sequenz zusammenzufügen. Dagegen eignen sich die von Enzymen unabhängigen selektiven Spaltmethoden vorzüglich zur „Eiweiß-Buchprüfung“, da Peptid-Bindungen gelöst werden, die enzymatisch unangreifbar sind. So vermag Bromcyan bei Zimmertemperatur (im Gegensatz zu den nur bei höherer Temperatur verlaufenden alkylierenden Spaltungen [9]) und saurem pH, die den vier Methioninen in der Ribonuclease folgenden Peptid-Bindungen selektiv und fast quantitativ zu spalten [10]. Die nebenreaktionsfreie Spaltung führt zu drei Spaltstücken: Rumpf-Protein, einem „chemischen Schwanz-Peptid“, das die Aminosäuren 1 bis 13 enthält und freiem Homoserin. Spaltet man nun lediglich das auf neuem Wege vereinfacht hergestellte [11] S-Peptid, das die Aminosäure-Sequenz 1 bis 20 der Ribonuclease enthält, so lassen sich auf ⁹⁹Sephadex-Säulen das gleiche „chemische Schwanzpeptid“ (1-13) und ein Heptapeptid (14-20) trennen und isolieren, deren genauere Untersuchung im Verein mit neuen Resultaten der enzymatischen Revision [12, 13] zu folgender Revision führte:

	NH ₂
alte Sequenz:	-SER-THR-SER-SER-ASP-HIS-MET-GLU-NH ₂
revidierte Sequenz:	-GLU-HIS-MET-ASP-SER-SER-THR-SER-
Fortlaufende Numerierung:	- 11 - 12 - 13 - 14 - 15 - 16 - 17 - 18 -

Das aus Ribonuclease-S-Peptid mit Bromcyan herausgeschälte Heptapeptid (14-20) ist möglicherweise eng mit dem Wirkungs-Zentrum und -Mechanismus des Enzyms verknüpft. Seine Synthese gelang jüngst K. Hofmann [14]. Sowohl natürliches wie synthetisches Heptapeptid scheinen nach den vorliegenden Beobachtungen eine unerwartete Stabilität und Tendenz zur Isomerisierung zu besitzen, die im Augenblick noch Gegenstand intensiver Untersuchungen sind. [VB 618]

Neue Monomere und Polymere Polymere mit Mercaptan-Seitenketten

C. G. Overberger, Brooklyn, N.Y./USA

GDCh-Ortsverband Marburg/Lahn, am 18. Mai 1962

Die relative Oxydationsgeschwindigkeit einer Serie von Thiolen wurde spektralphotometrisch bestimmt. In gepufferter wäßriger Lösung bei pH = 10 werden 2,2-Dimethyl-4-(p-mercaptophenyl)-valeriansäure und ein verseiftes Copolymeres aus Vinyl-thioacetat ungefähr gleich schnell oxydiert, während 2,2-Dimethyl-4-mercaptovaleriansäure etwa dop-

- [1] I. D. Ogle, M. A. Logan u. R. B. Arlinghaus, Arch. Biochim. Biophys. 94, 85 (1961). K. Piez u. J. Gross, Biochim. Biophys. Acta 34, 24 (1959).
- [2] P. Irreverre, K. Morita, A. Robertson u. B. Witkop, Biochem. Biophys. Res. Comm., im Druck.
- [3] A. V. Robertson u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 84, 1697 (1962).
- [4] P. Irreverre, unveröffentlicht.
- [5] A. V. Robertson, J. E. Francis u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 84, 1709 (1962).
- [6] I. W. Cornforth u. A. J. Henry, J. chem. Soc. 957 (1952).
- [7] Vgl. B. Witkop, Advances in Protein Chemistry 16, 221 (1962).

- [8] F. H. White, jr., J. biol. Chemistry 235, 383 (1960).
- [9] W. B. Lawson, E. Gross, C. M. Foltz u. B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 84, 1715 (1962).
- [10] E. Gross u. B. Witkop, J. biol. Chemistry 237, 1856 (1962).
- [11] E. Gross u. B. Witkop, unveröffentlichte Versuche.
- [12] D. G. Smyth, W. H. Stein u. S. Moore, J. biol. Chemistry 237, 1845 (1962).
- [13] J. T. Potts, A. Berger, J. Cooke u. C. B. Anfinsen, J. biol. Chemistry 237, 1851 (1962).
- [14] Unveröffentlichte Versuche; persönliche Mitteilung.