

Nichtenzymatische Reduktion von Methylenblau und 2,6-Dichlorphenolindophenol durch reduziertes Di- und Triphosphopyridin-nucleotid

Von Dipl.-Chem. F. Wagner, Prof. Dr. J. Convit, Apotheker E. Bernt und Dr. M. Nelböck

Escuela José Vargas, Hospital Vargas, Caracas (Venezuela) und

Biochemische Abteilung der C. F. Boehringer & Soehne GmbH., Tutzing

Entgegen der bisherigen Vorstellung wird Methylenblau (MB) von reduziertem Di- oder Triphosphopyridin-nucleotid, DPNH oder TPNH, ohne Enzymzusatz in stöchiometrischer Reaktion zu Leukomethylenblau (MBH₂) entfärbt, wenn Licht eingestrahlt wird. Am wirksamsten ist Licht der Wellenlängen 600 bis 700 mμ.

Das bei der Reaktion gebildete DPN bzw. TPN ist in enzymatischen Reaktionen voll aktiv, wie wir mit den DPN-abhängigen Enzymen Lactat-Dehydrogenase und Alkohol-Dehydrogenase und den TPN-abhängigen Enzymen Glutathion-Reduktase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase zeigen konnten.

2,6-Dichlorphenolindophenol wird gleichfalls reduziert, nicht dagegen Triphenyl-tetrazoliumchlorid.

reaktion der Prozeß wiederholt. So reichen katalytische (statt stöchiometrische) Mengen der teuren Coenzyme aus, um z.B. Glucose-6-phosphat auch präparativ mit Luftauerstoff zu 6-Phosphogluconat zu oxydieren.

Eingegangen am 12. Juni 1964 [Z 762]

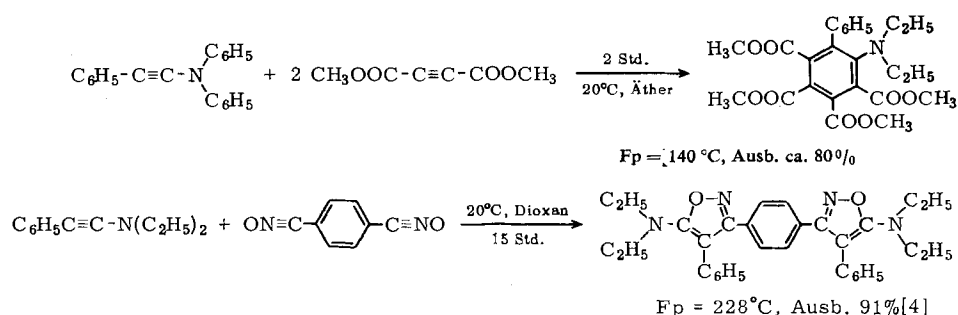
Additionsreaktionen von Inaminen [1]

Von Dr. H. G. Viehe, Dr. R. Fuks und M. Reinstein [1a]

Union Carbide European Research Associates, Brüssel (Belgien)

Inamine [2] reagieren mit zahlreichen Verbindungen bei meist sehr milden Bedingungen unter Anlagerung an die durch den Stickstoff polarisierte Dreifachbindung. Beispiele zeigen die folgenden Reaktionsgleichungen. Das Bestreben der Inamine (die man als innere Anhydride von Carbonsäureamiden auffassen kann) zur Wasseranlagerung ist so stark, daß sie versprechen, allgemein interessante Anhydrierungsreagentien zu werden. So verläuft die Bildung von Säureanhydriden mit Inaminen schneller als mit Dicyclohexylcarbodiimid oder Äthoxyacetylen.

1. Cycloadditionen

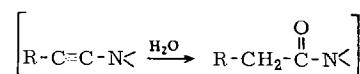


Die gleichen Reaktionen erhielten wir mit reinstem DPNH und TPNH. Wir trennten Proteinspuren durch Dialyse ab und zerstörten mögliche geringste Enzymaktivitäten durch Erhitzen der Coenzym Lösungen auf 100 °C. Eine enzymatische Reaktion (z. B. Diaphorase) ist somit auszuschließen.

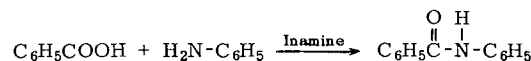
Flavinadenindinucleotid (4·10⁻⁵M) beschleunigt die Reoxydation von MBH₂ zu MB durch Luftauerstoff, was zu einer schnelleren Oxydation von DPNH führt. Glutathion (10⁻⁴M) und Eisen(III)-chlorid (3·10⁻⁵M und 3·10⁻⁴M) beeinflussen die Reaktionsgeschwindigkeit nicht.

Da DPNH und TPNH ohne Licht nicht mit MB reagieren, kann man in einer Dunkelreaktion in Gegenwart von MB

2. Anhydrierungsreaktionen



a) Amidbildung [3]



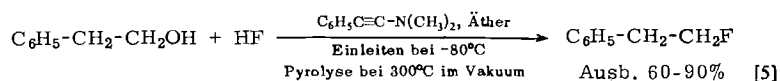
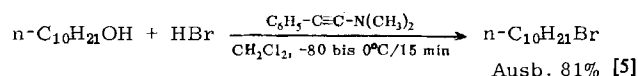
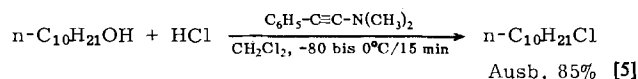
b) Säureanhydridbildung

	C ₆ H ₅ C≡C-N(CH ₃) ₂	(CH ₃) ₃ C-C≡C-N(CH ₃) ₂	C ₆ H ₁₁ -N=C=N-C ₆ H ₁₁	HC≡C-OC ₂ H ₅
n-C ₃ H ₇ COOH	96	93	70	0
C ₆ H ₅ COOH	98	97 (95)	63	0

Substrate von Dehydrogenasen mit DPN oder TPN oxydieren. In anschließender Lichtreaktion wird MB vom entstandenen DPNH bzw. TPNH zu MBH₂ hydriert und DPN bzw. TPN zurückgebildet. Belüftet man gleichzeitig, so wird das autoxydable MBH₂ reoxydiert und mit erneuter Dunkel-

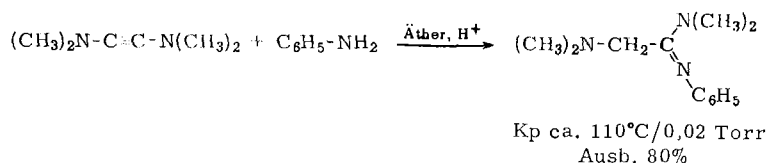
In der Tabelle sind die Ausbeuten [%] nach 5 min Reaktionszeit in Benzol bei 10 °C angegeben. Die Werte wurden durch titrimetrische Bestimmung des Säureverbrauchs ermittelt. In Klammern die Ausbeuten an isoliertem Säureanhydrid.

c) Umwandlung von Alkoholen in ihre Halogenide

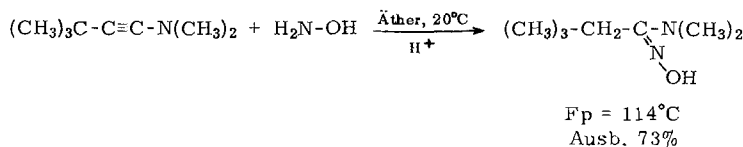


3. Anlagerung von Aminen

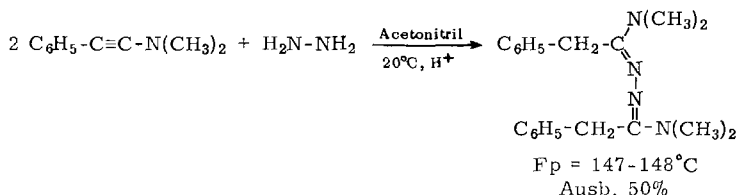
a) Amine



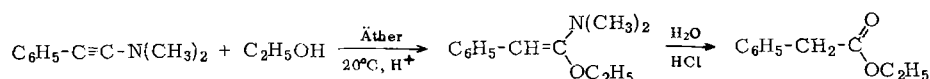
b) Amidoxime



c) Amidhydrazone



4. Anlagerung von Alkohol



Eingegangen am 11. Mai 1964 [Z 746]
Auf Wunsch der Autoren erst jetzt veröffentlicht

[1] VIII. Mitteilung über Heterosubstituierte Acetylene. — VII. Mitteilung: H. G. Viehe, S. I. Miller u. J. I. Dickstein, Angew. Chem. 76, 537, (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3 (1964), im Druck.

[1a] Für den experimentellen Teil.

[2] H. G. Viehe u. M. Reinstein, Angew. Chem. 76, 537 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3 (1964), im Druck.

[3] R. Buyle u. H. G. Viehe, Angew. Chem. 76, 572 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3 (1964), im Druck.

[4] Für dieses Experiment danken wir Dr. F. Eloy.

[5] Stimmt mit authentischem Präparat überein.

Peptidsynthesen mit Inaminen [1]

Von Dr. R. Buyle und Dr. H. G. Viehe

Union Carbide European Research Associates,
Brüssel (Belgien)

Inamine sind ausgezeichnete Anhydrierungsreagentien [2]. Unter anderem gelingt in ihrer Gegenwart leicht die Synthese von Carbonsäureamiden aus Aminen und Carbonsäuren. Wie die folgenden Beispiele zeigen, erhält man auf gleiche Weise praktisch quantitative Ausbeuten an Peptiden.

1. Zu einer Lösung von 1,27 g Biscarbobenzoxy-L-cystin und 0,8 g Dimethyl-L-aspartat in 30 ml Tetrahydrofuran gibt man bei 35–40°C im Verlauf von 1 Std. eine Lösung von 1 g Dimethylamino-phenylacetylen oder Dimethylamino-t-butylacetylen in 25 ml Tetrahydrofuran. Man erhält Biscarbobenzoxy-L-asparaginsäure-dimethylester (Fp = 82°C aus Äther/Petroläther) mit einer Ausbeute von 99% (1,95 g).

2. Die Umsetzung von 1,50 g γ-Methyl-carbobenzoxy-L-glutamat mit 0,80 g Dimethyl-L-aspartat ergibt unter gleichen Bedingungen 2,1 g = 97% des Peptids.

Eingegangen am 11. Mai 1964 [Z 747]
Auf Wunsch der Autoren erst jetzt veröffentlicht

[1] IX. Mitteilung über Heterosubstituierte Acetylene. — VIII. Mitteilung: [2].

[2] H. G. Viehe, R. Fuks u. M. Reinstein, Angew. Chem. 76, 571 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. 3 (1964), im Druck.

Bicyclo[3.3.1]nonan-2-ol aus 4-Cyclooctenylmethyl-toluolsulfonat

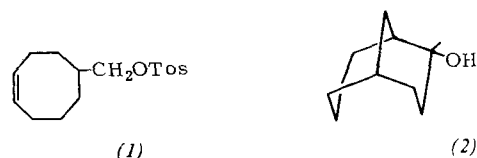
Von Doz. Dr. M. Hanack und Dipl.-Chem. W. Kaiser

Chemisches Institut der Universität Tübingen

Bei der Acetolyse von 4-Cycloheptenylmethyl-p-brombenzolsulfonat entsteht Bicyclo[3.2.1]oct-2-yl-acetat [1]. Die trans-anulare Beteiligung der Doppelbindung führt auch bei der Solvolyse von 4-Cyclooctenylmethyl-Derivaten zu bicyclischen Reaktionsprodukten.

Das aus 4-Cyclooctencarbonsäure [2] leicht zugängliche 4-Cyclooctenylmethanol (p-Nitrobenzoat, Fp = 52–53°C) wurde in sein Tosylat (1), Tos = –SO₂C₆H₄CH₃, Fp = 29 bis 30°C, übergeführt und dieses in Gegenwart von Natriumacetat in absolutem Eisessig 48 Stunden auf 60°C erhitzt.

Nach Reduktion der gebildeten Acetate mit LiAlH₄ wurden (neben nicht identifizierten Kohlenwasserstoffen) 60% einer Alkoholfraktion erhalten, die überwiegend aus Bicyclo[3.3.1]nonan-2-ol (2) [3] bestand. Die Oxydation der Alko-



hole ergab neben Bicyclo[3.3.1]nonan-2-on [3,4] 18% eines weiteren Ketons, bei dem es sich vermutlich um Bicyclo[4.2.1]nonan-2-on handelte.

Die Beteiligung der Doppelbindung zeigte sich auch in der Acetolysegeschwindigkeit von (1). Die Reaktion verläuft fünfzigmal schneller als die Acetolyse des Cyclooctenylmethyl-toluolsulfonates.

Eingegangen am 29. Mai 1964 [Z 744]

[1] G. LeNy, C. R. hebdomadaire Séances Acad. Sci. 251, 1526 (1960); vgl. auch S. Winstein u. P. Carter, J. Amer. chem. Soc. 83, 4485 (1961).

[2] G. Stork u. H. K. Landesman, J. Amer. chem. Soc. 85, 5129 (1963).

[3] H. Meerwein, F. Kiel, G. Klossgen u. E. Schöhl, J. prakt. Chem. [2] 104, 161 (1922).

[4] J. P. Ferris u. N. C. Miller, J. Amer. chem. Soc. 85, 1325 (1963).