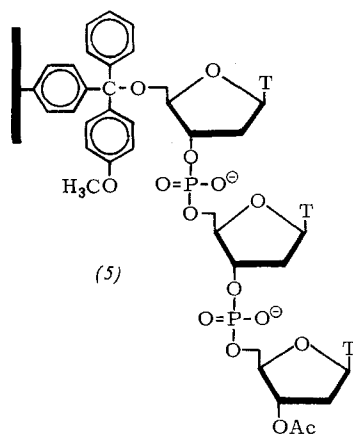


wurde in Pyridin mit 3'-O-Acetylthymidin umgesetzt, wobei 40 % der funktionellen Gruppen reagierten. Anschließend wurde die Acetylgruppe mit 0,01 M Na-methylat oder Ammoniak in Dioxan entfernt und der polymere Rückstand mit 3'-O-Acetyl-5'-thymidylsäure behandelt. Wiederholung des Vorganges ergab ein mit einem Trinucleotid beladenes Polymeres (5). Das Polymere kann nach jedem Reaktionsschritt mit apolaren Lösungsmitteln oder mit Wasser gefällt und durch Auswaschen oder Umfällen von Reagentien und nicht umgesetzten Ausgangsmaterialien befreit werden.



Nach der letzten Reaktion wurde das Nucleotid-Gemisch mit 1 ml 50-proz. Trifluoressigsäure in 100 ml Dioxan (1 Std. bei Raumtemperatur) abgespalten. Die Produkte wurden chromatographisch getrennt und analysiert. Dabei wurden Thymidin und die Nucleotide pT, TpT und TpTpT im Mol-verhältnis 28:7:25:40 erhalten. Die Ausbeute an TpTpT, bezogen auf Thymidin, betrug 11 %.

Unvernetzte Aminopolystyrole lassen sich mit Nucleotiden unter Bildung der (säurelabilen) Phosphorsäureamid-Bindung beladen. Es wurde ein Polymeres verwendet, welches durchschnittlich an jeder vierten Styroleinheit eine aromatische Aminogruppe enthält. 9 % der Aminogruppen setzten sich mit 5'-Thymidylsäure um (Kondensationsmittel: Dicyclohexylcarbodiimid). Die Abspaltung vom polymeren Träger gelingt mit 80-proz. Essigsäure bei 80 °C (24 Std.).

Eingegangen am 9. Mai 1966 [Z 233]

[1] R. B. Merrifield, J. Amer. chem. Soc. 85, 2149 (1963); 86, 304 (1964).

[2] Vgl. R. L. Letsinger u. V. Mahadevan, J. Amer. chem. Soc. 87, 3526 (1965).

[3] M. M. Shemyakin, Yu. A. Ovchinnikov, A. A. Kiryushkin u. I. V. Kozhevnikova, Tetrahedron Letters 1965, 2323.

Ein Chymotrypsin-Modell

Von Prof. Dr. F. Cramer und Dipl.-Chem. G. Mackensen

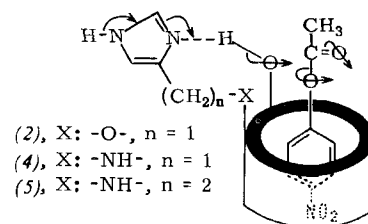
Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin,
Chemische Abteilung, Göttingen

Die Chymotrypsin-Katalyse beruht auf einer Säure-Base-Katalyse des Imidazols, wobei im Enzymprotein eine Imidazolgruppe des Histidins die Nucleophilie einer Serin-Hydroxygruppe so stark erhöht, daß bei pH = 7 bis 8 eine

Umesterung mit anschließender Spaltung der Enzym-Produkt-Zwischenverbindung stattfindet [1]. Das Substrat muß dabei im ersten Schritt der Reaktion durch eine sehr spezifische, nicht-covalente Bindung am Enzym gebunden und in die richtige Position zu den katalytisch wirkenden Gruppen gebracht werden; die Bindung in Einschlußverbindungen [2] gleicht in vieler Hinsicht dieser „Schlüssel-Schloß“-Beziehung zwischen Enzym und Substrat [3].

Cyclodextrine katalysieren spezifisch die Spaltung substituierter Pyrophosphate [4] und substituierter Phenylacetate [5]; in beiden Fällen entsteht eine Acyl-Katalysator-Zwischenverbindung. Die katalytisch wirksamen Gruppen sind die Hydroxygruppen im Cyclodextrin.

Wir haben nun als zusätzliche katalytisch wirksame Gruppe den Imidazol-Rest an β -Cyclodextrin (1) angefügt. (1) wurde mit 4(5)-Chlormethylimidazol in Gegenwart von Base als Hydroxymethylimidazol zu (2) veräthert, wobei Produkte mit durchschnittlich zwei Imidazol-Substituenten an einem Molekül (1) entstanden. Eine andere Möglichkeit ist die Umsetzung von Hepta-(6-O-tosyl)- β -cyclodextrin (3) mit 4(5)-Aminomethylimidazol oder Histamin zu (4) bzw. (5). Schließlich wurde (3) mit Imidazol behandelt, wobei Derivate (6) entstehen, in denen der Stickstoff des Imidazols in (1) an der 6-Stellung der Monosaccharideinheit gebunden ist.



Wir ermittelten die katalytische Wirkung der substituierten Cyclodextrine aus der Geschwindigkeit der Verseifung von p-Nitrophenylacetat ($0,3 \times 10^{-4}$ M) durch spektrophotometrische Messung bei 400 nm vom Beginn der Zugabe des Katalysators an. (Reaktionsbedingungen: 23 °C; $0,3 \cdot 10^{-2}$ M (1), oder $0,3 \cdot 10^{-2}$ M freies oder gebundenes Imidazol in einem Gemisch aus 0,02 M Trispuffer (pH = 7,5) und Dioxan 98:2 (v/v)). Die Tabelle zeigt unsere Ergebnisse.

Katalysator	Imidazolgruppen pro Molekül (1)	k · 10 ⁴ [sec ⁻¹]
ohne (pH = 7,5)		0,21
α -Dextrin		0,32
β -Dextrin (1)		0,59
Imidazol		15
(1) + Imidazol		17
4(5)-Hydroxymethylimidazol		3,3
(2)	2	41
4(5)-Aminomethylimidazol		2,1
(4)	3	3,6
Histamin		4,0
(5)	3	6,1
(5)	4	13,0
N-Methylimidazol		8,8
(6)	2	12

Eingegangen am 11. Mai 1966 [Z 231]

[1] Vgl. z. B. B. Hartley in: Structure and Activity of Enzymes. Academic Press, New York 1964, S. 47.

[2] F. Cramer: Einschlußverbindungen. Springer-Verlag, Heidelberg 1954.

[3] F. Cramer u. W. Kampe, J. Amer. chem. Soc. 87, 1115 (1965).

[4] N. Hennrich u. F. Cramer, J. Amer. chem. Soc. 87, 1121 (1965).

[5] W. Kampe, Dissertation, Universität Heidelberg 1961; vgl. M. Bender, R. L. van Etten, G. A. Clowes u. J. F. Sebastian, J. Amer. chem. Soc. 88, 2318 (1966), M. Bender, R. L. van Etten u. G. A. Clowes, ibid. 88, 2319 (1966).