

## II. Oberflächenstruktur und Einschlußsysteme

### 1. Aufbau von Katalysatorbereichen

Die Beobachtung an zyklischen Disulfiden vom Tyrosin-Typ mit Anordnungen der Substituenten in 1,4-Stellung, wie sie im L-Cysteinyl-L-tyrosyl-diglycyl-L-tyrosyl-L-cystein-disulfid gegeben ist, führte zur Auffindung von Addukten mit *o*- und *p*-Chinonen<sup>42</sup> (*p*-Chinon-Addukt:  $C_{34}H_{38}O_{11}N_6S_2 + 2H_2O$  ( $M = 807,9$ ). Bild 11 zeigt, daß das Chinon-Molekel zwischen den aromatischen Resten des zyklischen Disulfids eingelagert wird.

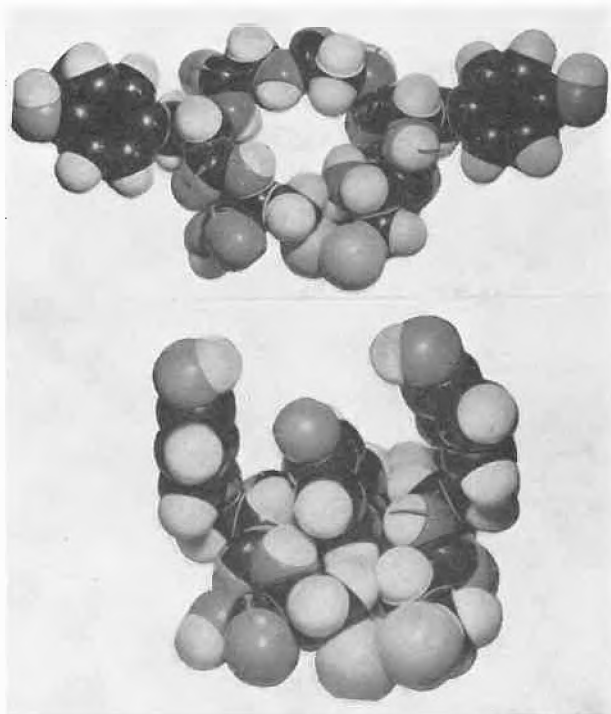


Abb. 11. Zyklisches Disulfid des L-Cysteinyl-L-tyrosyl-diglycyl-L-tyrosyl-L-cysteins und dessen Chinon-Addukt

Das als  $\pi$ -Komplex eingelagerte Chinon-Molekel ist mit dem Peptid in Wechselbeziehung getreten. Auch das UV-Spektrum<sup>42</sup> beweist dies. Das mesomere Addukt ist, wie die Chinhydrone-Typen<sup>42a</sup>, durch die Gegenwart aller drei Reduktionsstufen (Chinon-, Hydrochinon- und Semichinon-Stufe) gekennzeichnet. Im Addukt läßt sich die Gastmolekel durch  $NH_3$ -Reaktion, die Wirtsmolekel (Aminogruppe) mit Ninhydrin bzw. mit  $NaCN$ -Nitroprussidnatrium (SH-Gruppen) nachweisen. Beide Reaktionen werden durch das anwesende Chinon beeinflusst, beide Komponenten des Addukts können nach saurer Reduktion isoliert werden.

<sup>42</sup> W. LAUTSCH und D. GÜNTHER, *Naturwiss.* 44 (1957) 492.

<sup>42a</sup> S. GRAWIK *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 62 (1940) 1802; sowie L. MICHAELIS und Mitarbeiter, *ebenda* 60 (1938) 1678; A. HANTZSCH, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 49 (1916) 522.

Die zwischenmolekularen Wechselbeziehungen der in 1,4-Stellung angeordneten Tyrosin-Reste in dem oben genannten Disulfid hatten uns bereits früher zur Annahme derartiger Wechselbeziehungen an eingeschlossenen «adsorbierten» Gastmolekeln zwischen entsprechend angeordneten aromatischen oder heterozyklischen Substituenten an der  $\alpha$ -Helix PAULINGS geführt. In Bild 12 sind diese Wechselbeziehungen von Seitenketten in 1,4-Stellung zwischen der  $\alpha$ -Helix und einer Substrat-Helix zur Zwischenstoffbildung bei enzymatischen Vorgängen angedeutet (Begründung der Bedeutung der Oberflächenstruktur):

Im Modell kann man erkennen, daß damit auch Fragen, die die sterische Spezifität berühren<sup>42b</sup>, ihre Erklärung finden (Bild 13a), denn bereits die konfigurative Umstellung einer Einheit der Enzym-Helix stellt die zwischenmolekularen Wechselbeziehungen der Seitenketten in Frage (Bild 13b). Diese Vorstellung war auch der Anlaß zum Aufbau von *Katalyse-Bereichen* (mit G. BOROSCHESKI). Der Aufbau eines solchen Bereichs (Bild 14) hatte zur Voraussetzung, daß die beiden Tyrosin-Gruppen in der späteren  $\alpha$ -Helix sich ebenfalls in 1,4-Stellung befinden; darüber hinaus erschien es zweckmäßig, diesen Bereich durch eine *Disulfidbrücke* zu sta-

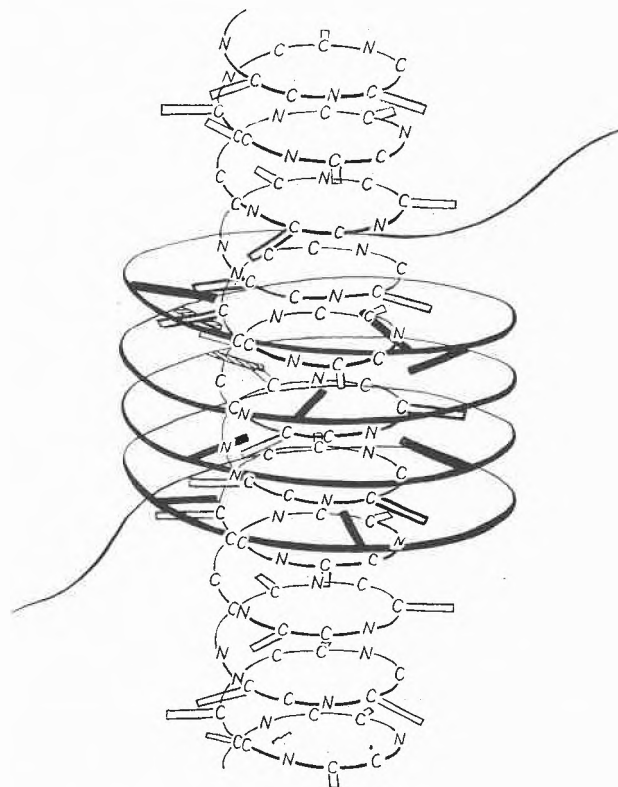
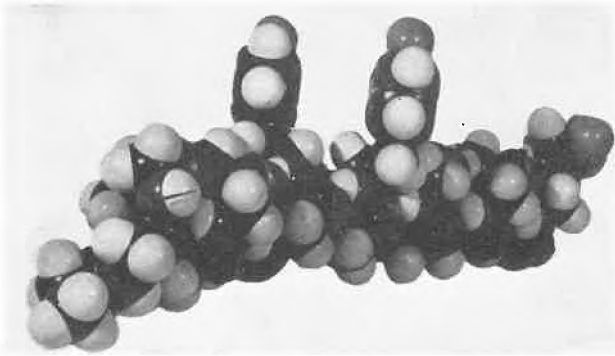
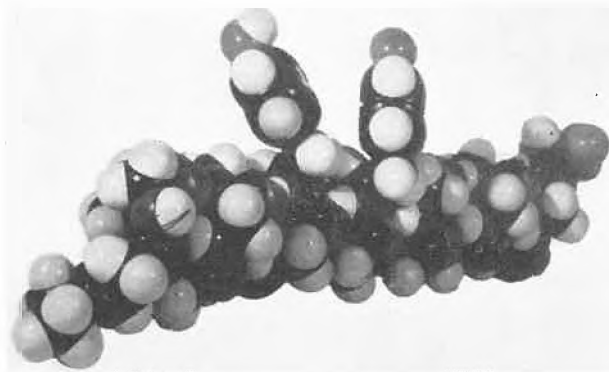


Abb. 12

<sup>42b</sup> Absolute Konfigurationsbestimmungen (D-Isoleucin), J. TROMMEL und J. M. BIJOVET, *Acta Crystallogr.* (London) 7 (1954) 703.

Abb. 13. a)  $\alpha$ -Helix mit zwei L-Tyrosin in 1,4-StellungAbb. 13. b)  $\alpha$ -Helix mit D- und L-Tyrosin in 1,4-Stellung

bilisieren. Die Betrachtungen am Kalottenmodell zeigten, daß die  $\alpha$ -Helix ebenfalls nur eine Konstruktion der Disulfidbrücke mit Cysteineinheiten in 1,4-Stellung zuläßt, wenn nicht, wie beim Insulin (H. LINDLEY<sup>43</sup>), eine Änderung des Drehungssinns der die  $\alpha$ -Helix aufbauenden Polypeptidkette in Betracht gezogen werden muß.

Mithin war die Synthese des L-Cysteinyl-L-tyrosyl-glycyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycin-disulfids angezeigt. Bild 14 zeigt die beiderseitig durch Polymerisation an die Aminoanfangs- und Carboxylendgruppe anzugliedernde «unspezifische» Polypeptidkette. Bild 15 zeigt den Syntheseweg.

Abb. 14. Katalysatorbereich (zyklisches Disulfid des L-Cysteinyl-L-tyrosyl-glycyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycin mit zwei anzugliedernden Polypeptid- $\alpha$ -Helix)

<sup>43</sup> *Biochem. Biophysica Acta* (Amsterdam) 18 (1955) 198.

Durch Verdopplung der (mit D. GÜNTHER<sup>44</sup>) zum Aufbau unseres ersten zyklischen Disulfids vom Tyrosintyp verwendeten Tripeptidsequenz (L-cys-L-tyr-gly) wurde durch Kondensation des N-Cbo-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycins (I) mit dem S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycin-äthylester nach der Carbodiimid-Methode bzw. nach der Azid-Methode durch Kondensation des aus dem Hydrazid (III) mit II resultierenden N-Cbo-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycyl-S-benzyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycin-äthylester (IV) gewonnen, durch alkalische Verseifung und anschließende Abspaltung der Schutzgruppen nach DU VIGNEAUD, Abscheidung des Hexapeptids (V) als Silbermercaptid und durch anschließende Behandlung mit H<sub>2</sub>S und Luftoxydation erhielt man das zyklische Disulfid des L-Cysteinyl-L-tyrosyl-glycyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-glycin (VI).

Mit der Angliederung einer Poly-glutaminsäure- $\alpha$ -Helix (Bild 14) durch Initiierung über die Aminogruppe bzw. über das gemischte Anhydrid der Carboxylgruppe des zyklischen Disulfids sind wir zurzeit beschäftigt. Erst nach Einbau von VI in die Poly-glutaminsäure- $\alpha$ -Helix kommen die Tyrosinreste des Katalysatorbereichs in die für Einschlußvorgänge bei der Zwischenstoffkatalyse geforderte räumliche Anordnung.

## 2. Oberflächenstruktur und Gruppenspezifität

Die erstmals mit D. GÜNTHER beobachtete Adduktbildung des zyklischen Disulfids vom Tyrosin-Typ mit 1,4-Stellung der Tyrosin-Reste mit *o*- und *p*-Chinonen führte zum Aufbau weiterer zyklischer Disulfide und Cyclopeptide mit aromatischen und heterozyklischen Seitenketten in 1,4-Stellung, hatten wir doch frühzeitig auf den Zusammenhang zwischen Cyclopeptidstrukturen und Einschlußverbindungsbildung hingewiesen<sup>45</sup>.

Offensichtlich kann man die Frage der Gruppenspezifität durch die Synthese entsprechend aufgebauter zyklischer Disulfide und Cyclopeptide durch das Studium ihrer Addukte aufklären und damit auch die Bedeutung derartiger Sequenzen in natürlichen Eiweißkörpern, Enzymen, Antigenen und Antikörpern begründen und vielleicht auch einen Beitrag liefern zur Deutung der extrem hohen Giftigkeit von Toxinen mit Polypeptidstruktur, z. B. Crotoxin<sup>46</sup>, Diphtherietoxin<sup>47</sup> usw.

Die bisherigen, orientierenden Untersuchungen haben gezeigt, daß man dem Tyrosin-Typ den *o*- und *p*-Chinon-Typ, dem Histidin-Typ, den Pyrazolon-Typ, dem Phenylalanin-Typ planare aromatische Systeme mit polarisierbaren Molekülbezirken (kanzerogene Kohlenwasserstoffe) zuordnen kann. Durch Aufbau gemischter zyklischer Systeme, durch Kombination von aromatischen und heterozyklischen Seitenketten in 1,4-Stellung wird man weiteren Einblick in das Problem der Gruppenspezifität gewinnen können.

Darüber hinaus verwendet die Natur offensichtlich auch die Bildung von sogenannten «Auflageaddukten»,

<sup>44</sup> *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1, vgl. Schema 10, S. 43.

<sup>45</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Über Katalysatoren und Fermentmodelle, *Kolloid-Z.* 138 (1954) 129, vgl. insbesondere S. 132 und Abb. 6, S. 133.

<sup>46</sup> K. H. SLOTTA und Mitarbeiter, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 71 (1938) 258, 264, 1076, 1082.

<sup>47</sup> M. D. EATON, *J. Bacteriol.* 31 (1936) 347, 367, 34 (1937) 139, *Bacteriol. Rev.* 2 (1938) 3; A. M. PAPPENHEIMER, *J. Biol. Chem.* 120 (1937) 543, 125 (1938) 200.

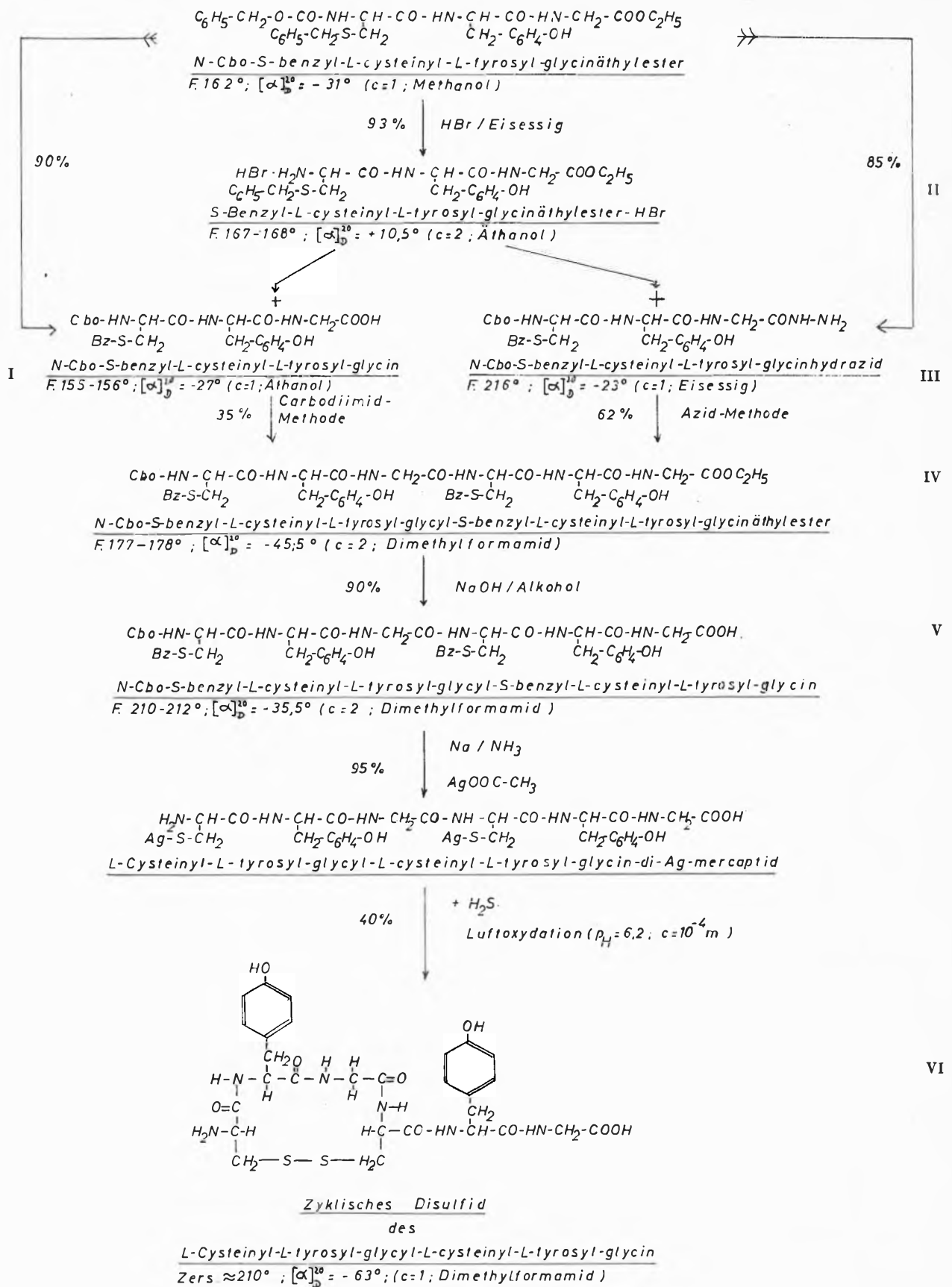


Abb. 15

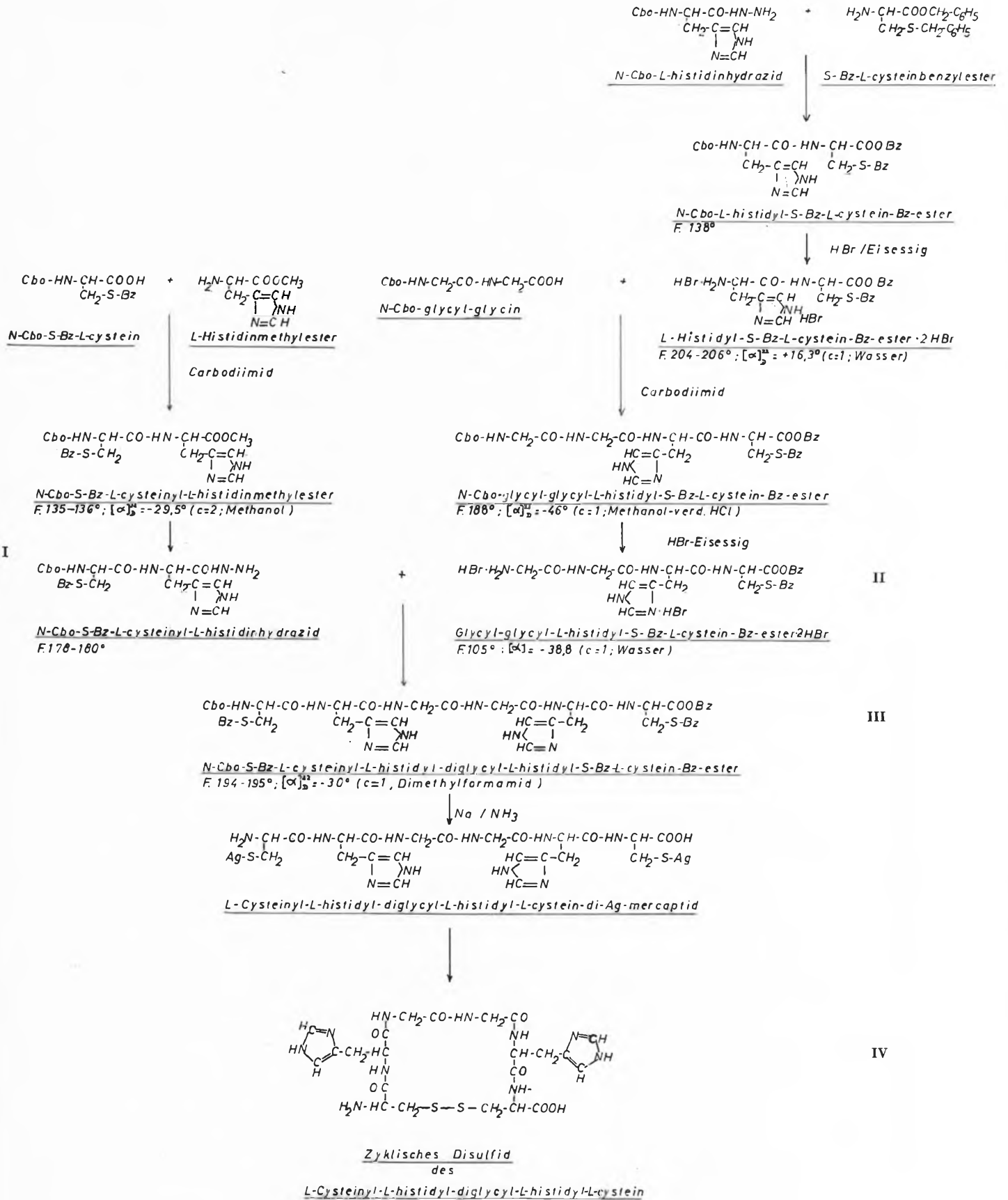


Abb. 16

Erscheinungen, welchen wir erstmals beim Studium des Lysin-Typs (L-Cysteinyl-diglycyl-L-lysyl-diglycyl-L-ly-syl-L-cystein-disulfid) mit *Mesochlorin e* begegnet sind (Bild 24).

Derartige Adduktbildungen sind nicht nur für die Begründung der *enzymatischen* Wirksamkeit bei der Zwischenstoffkatalyse von Bedeutung, sie beanspruchen auch *präparatives* Interesse bei der *Reindarstellung* von Peptiden mit aromatischen und heterozyklischen Seitenketten: Bei der Synthese von Cyclopeptiden mit heterozyklischen und aromatischen Seitenketten haben wir häufig beobachtet, daß bereits die Zwischenprodukte der Synthese durch eine besonders stark ausgeprägte Adduktbildungstendenz mit Synthese-Produkten, Lösungsmitteln usw. ausgezeichnet sind.

Folgende *zyklische Systeme* wurden inzwischen hergestellt und untersucht:

1. Der *Histidin*-Typ wurde mit J. GANTE hergestellt und auf Adduktbildungstendenz geprüft. Die Synthese des L-Cysteinyl-L-histidyl-diglycyl-L-histidyl-L-cystein-disulfids (IV) zeigt Bild 16:

Durch Kondensation des N-Cbo-S-benzyl-L-cysteinyl-L-histidin-azids (Hydrazid vgl. I) mit dem Diglycyl-L-histidyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester (II) wurde der N-Cbo-S-benzyl-L-cysteinyl-L-histidyl-diglycyl-L-histidyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester (III) erhalten, welcher durch Abspaltung der Schutzgruppen nach DU VIGNEAUD, Umwandlung in das Quecksilber-Mercaptid durch anschließende Behandlung mit  $H_2S$  und Luftoxydation in das zyklische Disulfid (IV) verwandelt wurde.

Die Synthese erfolgte unter Verwendung des in der Histidinreihe bewährten Carbodiimid-Verfahrens nach J. C. SHEEHAN<sup>47a</sup> und Mitarbeitern unter Anlehnung an die Arbeiten von R. W. HOLLEY und E. SONDHEIMER<sup>48</sup> sowie R. SCHWYZER<sup>49</sup> und Mitarbeitern. Auffallend war die hohe Adduktbildungstendenz der Synthese-Zwischenprodukte (Vorstufe von II) mit dem *Dicyclohexyl-Harnstoff*. Auf die Bedeutung der Harnstoff-Gruppierung als einschließungsbeginigende Gruppe wurde von uns mehrfach hingewiesen<sup>50</sup>. *Wasserstoffbrücken-lösende Agenzien*, *salzbildende Zusätze* (HCl-Methanol im vorliegenden Falle, vgl. diesbezüglich auch R. SCHWYZER<sup>49</sup> und Mitarbeiter), polare Lösungsmittel, die das Einschlußsystem zerlegen bzw. das Gleichgewicht verschieben, sind zur Reindarstellung von Peptiden mit aromatischen und heterozyklischen Seitenketten geeignet.

Derartige *Einschlußgleichgewichte* konnten wir papierchromatographisch mit *Tartrazin* nachweisen: Das zyklische Disulfid (IV) liefert mit dem genannten Pyrazolon-Farbstoff beim Zusammengeben im äquimolekularen Verhältnis ein im wäßrigen Medium unlösliches Addukt, welches sich bei der papierchromatographischen Untersuchung (*n*-Butanol-Eisessig-Wasser = 20:7:20) durch einen  $R_f$ -Wert von 0,35 zu erkennen gibt. Das Addukt steht in diesem Lösungsmittelgemisch im Gleichgewicht

mit seinen Komponenten, die sich durch ihre Eigenfarbe bzw. durch die Ninhydrinreaktion zu erkennen geben.

Bild 17 zeigt das Raummodell des Pyrazolon-Addukts mit IV. Der Beobachtung kommt u. E. Bedeutung zu im Hinblick auf die *physiologische* Wirksamkeit von *Pyrazolon*-Derivaten. Wir sind zurzeit damit beschäftigt, zu klären, welche Voraussetzung der einzuschließende Pyrazolon-Körper besitzen muß und inwieweit bereits eine Adduktbildung in Lösung erfolgt, Untersuchungen, die durch das Studium *vorgelagerter* Einschlußgleichgewichte Aufschluß geben müssen (vgl. Nachweis von Adrenalin-Einschlußsystemen durch Verschiebung des Gleichgewichtes  $\alpha$ -Cyclodextrin-Methylorange<sup>51</sup>).



Abb. 17. Addukt des Tartrazins mit dem zyklischen Disulfid des L-Cysteinyl-L-histidyl-diglycyl-L-histidyl-L-cysteins

2. Der *Phenylalanin*-Cyclopeptid-Typ wurde mit R. SHINGTE synthetisiert und auf seine Adduktbildungstendenz geprüft. Bild 18 zeigt die Synthese des Cycloglycyl-L-phenylalanin-diglycyl-L-phenyl-alanyl-glycins, sie wurde durchgeführt durch Verwendung der Carbodiimid-Methode von SHEEHAN (*loc. cit.*), sowie des Verfahrens von R. SCHWYZER<sup>52</sup> und Mitarbeitern mit Hilfe der aktivierten Ester.

Die durch alkalische Verseifung des Cbo-glycyl-L-phenylalanyl-glycin-äthylesters (I, Bild 18) erhaltene Tripeptidsäure (II) wurde nach der Carbodiimid-Methode in den aktivierten Nitrophenylester (III) übergeführt. Dieser ließ sich durch Behandlung mit *n*-HBr-Eisessig in das Esterhydrobromid (IV) verwandeln, welches letzterer sich durch Zyklisierung in Dimethylformamid + Pyridin (10 %) unter gleichzeitiger Verdopplung der Tripeptidsequenz in das Cyclopeptid (V) verwandeln ließ (aus Wasser lange Nadeln F.P. > 320°). Die Reinigung erfolgte durch Extraktion des gebildeten *p*-Nitrophenols mit Äther; nichtzyklisierte Peptide wurden mit Äthylacetat, in welchem das Cyclopeptid unlöslich ist, abgetrennt. Das (durch isotherme Destillation in 90-prozentiger Essigsäure) ermittelte Molgewicht ( $C_{26}H_{36}N_6O_6 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ ) entspricht dem berechneten. Durch Behandlung mit Dichloressigsäure läßt sich die  $\alpha$ -Form in die  $\beta$ -Form überführen (Abb. 5 D). Der Vorgang ist reversibel.

<sup>47a</sup> J. Amer. Chem. Soc. 77 (1955) 1067.

<sup>48</sup> J. Amer. Chem. Soc. 76 (1954) 1326; R. B. MERRIFIELD und B. W. WOOLLEY, J. Amer. Chem. Soc. 78 (1956) 4646.

<sup>49</sup> Helv. Chim. Acta 40 (1957) 614.

<sup>50</sup> W. LAUTSCH und R. WIECHERT, Kolloid-Z. 153 (1937) 103; ferner W. LAUTSCH und D. HEINICKE, Kolloid-Z. 154 (1957) 1.

<sup>51</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Kolloid-Z. 144 (1955) 82, vgl. insbesondere Abb. 22a und 22b, S. 104; ferner W. LAUTSCH, W. BANDEL und W. BROSER, Z. Naturforsch. 11b (1956) 282.

<sup>52</sup> Chimia 12 (1958) 90.

Inzwischen haben R. SCHWYZER und P. SIEBER<sup>53</sup> eine Synthese der DL-Form dieses Cyclopeptids beschrieben.

Das Cbo-glycyl-L-phenylalanyl-glycin ist bereits beschrieben worden (G. W. KENNER und H. J. STEDMAN<sup>54</sup>, ferner J. R. VAUGHAN und J. A. EICHLER<sup>55</sup>). Eine Racemisierung bei der Carbodiimid-Methode konnte bei der Synthese von I nicht festgestellt werden (vgl. dagegen G. W. ANDERSON<sup>56</sup>; die Verseifung von I zu II in (0,5 n) acetonischer Natronlauge verlief in 73prozentiger Ausbeute (vgl. dagegen G. W. KENNER sowie J. R. VAUGHAN und Mitarbeiter, *loc. cit.*).

Das Cyclo-glycyl-L-phenylalanyl-diglycyl-L-phenylalanyl-glycin liefert *Einschlußverbindungen* mit kanzerogenen Kohlenwasserstoffen: Die Prüfung einer Reihe von aromatischen, polyzyklischen Verbindungen in Gegenwart des Cyclopeptids auf Fluoreszenz (vgl. Fluoreszenzhemmung des Chlorophylls von *Uva lactuca* durch *Phenylurethan*<sup>56a</sup>) im UV ergab nur für das Pyren und 1,2,5,6-Dibenzanthracen eine Fluoreszenz-Veränderung bzw. -Löschung; wir prüften deshalb nur diese auf Adduktbildung. Das 1,2,5,6-Dibenzanthracen liefert mit dem Cyclopeptid eine Einschlußverbindung im Molverhältnis Dibenzanthracen : Cyclopeptid = 1:4 (N gef. 14,60, N ber. 14,20). Die beiden Phenylalanin-Seitenketten des Cyclopeptids schließen je einen *kanzerogenen Bereich* (K-Region)<sup>57</sup> ein; vermutlich werden von dem Kohlenwasserstoff durch zwei weitere Cyclopeptidmoleküle auch die beiden anellierte Benzolkerne in 1,2- und 5,6-Stellung einbezogen (Bild 19).

Das (in Nadeln) kristallisierende Dibenzanthracen-Cyclopeptid-Addukt bestätigt unsere früheren Beobachtungen an *Einschlußsystemen* kanzerogener Verbindungen:

a) Im Zentrifugalfeld<sup>58</sup> sedimentiert das durch Einlagerung zwischen die aromatischen Phenylalanin-Reste (bei pH 7,3  $\alpha \rightleftharpoons \beta$ -Struktur) des Polypeptids gelöste Buttergelb gemeinsam mit dem Fermentmodell. Wir konnten weiter zeigen<sup>59</sup>, daß es sich hier um die Bildung von Einschlußsystemen handelt, die der Farbstoff auch mit  $\alpha$ -Dextrin, Rinderserumalbumin, synthetischen Polypeptiden und Fermentmodellen (mit 1,4- und 1,5-Anordnung der aromatischen Seitenketten) unter Löslichkeitserhöhung und Bandenverschiebung eingeht. b) Der Effekt ist auch *polarographisch*<sup>60</sup> an der Verringerung des (Reduktions-)Diffusionsstroms erkennbar. c) Polarographisch konnten wir ferner zeigen, daß die durch unsere Oxydase-Moleküle katalysierte<sup>61</sup> kathodische Reduktion des Wasserstoff-

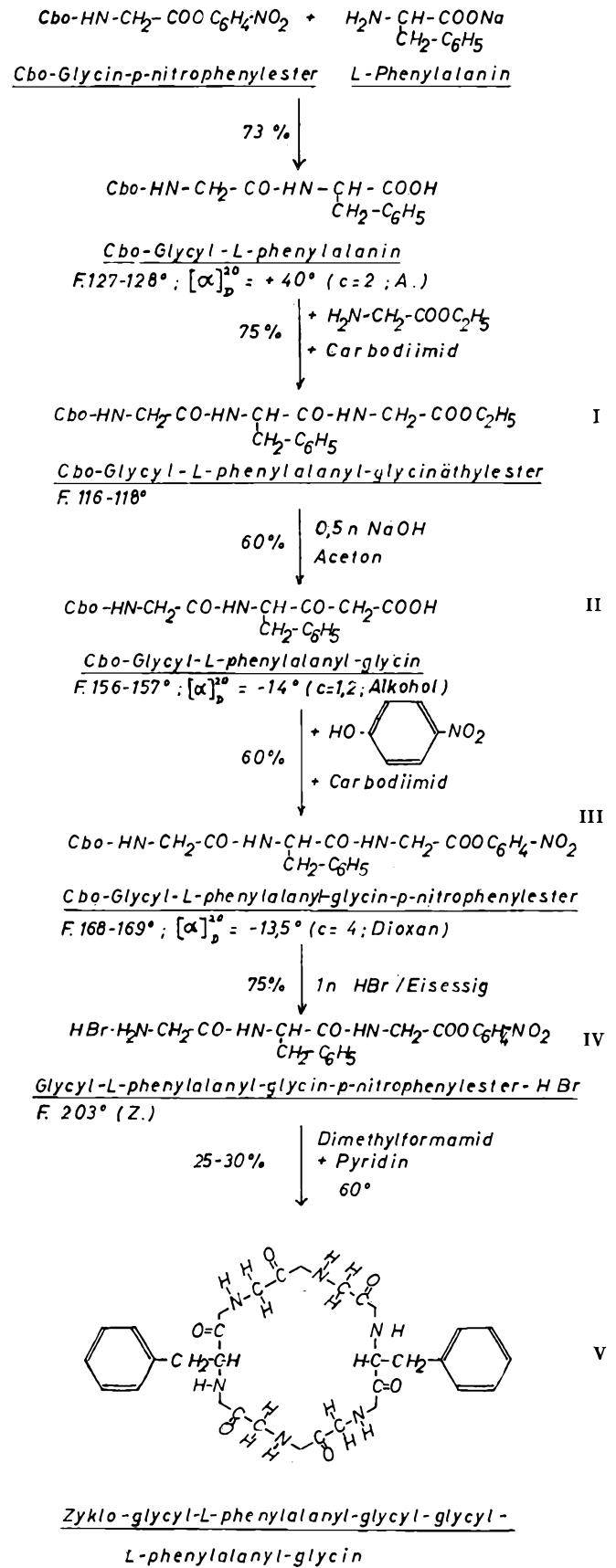


Abb. 18

<sup>53</sup> *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 2190.

<sup>54</sup> *J. Chem. Soc. (London)* 1952, 2069.

<sup>55</sup> *J. Amer. Chem. Soc.* 75 (1953) 5556.

<sup>56</sup> *J. Amer. Chem. Soc.* 80 (1958) 2902.

<sup>56a</sup> H. KAUSKY und U. FRANCK, *Biochem. Z.* 315 (1943) 207.

<sup>57</sup> Vgl. C. A. COULSON, *Advances in Cancer Research*, Band I, S. 2; ferner G. M. BADGER, ebenda, Band II, S. 73; ferner A. PULLMAN und B. PULLMAN, ebenda, Band III, S. 117.

<sup>58</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 144 (1955) 1, Abb. 16, S. 99.

<sup>59</sup> Ebenda, Abb. 15c, S. 98.

<sup>60</sup> Ebenda, Abb. 15a, S. 98.

<sup>61</sup> W. LAUTSCH, H. GNICHTEL, I. GNICHTEL und E. HÖFLING, *Kolloid-Z.* 141 (1955) 132, Abb. 14 und 15, sowie Tab. 5, S. 141-2, ferner ebenda 144 (1955) 1, Abb. 1a und 1b, S. 82.

peroxyds  $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3(+)} + \text{OH}^- + \text{OH}$  nach Zusatz von Buttergelb und insbesondere von 1,2,5,6-Dibenzanthracen *gehemmt* wird<sup>62</sup>; Cytochrom *c* verhielt sich ähnlich. Diese Hemmungen ließen sich nur mit einer Herabsetzung der Elektronen- bzw. der energiefortleitenden Eigenschaften der Polypeptidkette in Einklang bringen; man versteht sie, wenn man die Redoxase als *mesomeres System*<sup>63</sup> betrachtet, wobei die Peptidkette bei photochemischen bzw. Redoxvorgängen kurzzeitig *radikalischen Charakter* annimmt und deshalb mit Radikal-Strukturen bzw. polarisierbaren Bereichen von kanzerogenen Kohlenwasserstoffen (*K-Region*) sowie mit typischen *Inhibitoren* radikalischer Polymerisationsvorgänge, wie Nitrobenzol, in zwischenmolekulare Wechselbeziehungen treten muß. In der Tat bewirkte *Nitrobenzol* bereits in Spuren eine starke Herabsetzung der Quantenausbeute<sup>64</sup> bei der photochemischen Spaltung der Kohlenoxydverbindung der Mesohämochromogenpoly-phenylalaninylglutaminsäure.

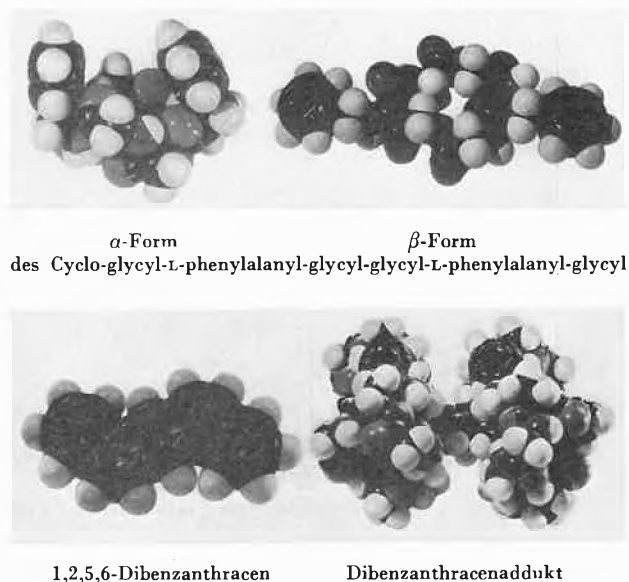


Abb. 19

Möglicherweise kommt den Triplet(Radikal)-Zustände stabilisierenden<sup>64a</sup> Eigenschaften des strukturierten Wassers (eisähnliche Strukturen an Makromolekülen<sup>64b</sup>) bei dem Elektronentransport in dem mesomeren System von Redoxasen eine besondere Bedeutung zu.

3. Der *Tyrosin-Typ* mit *Cyclopeptid*-Struktur wurde mit H. RAUHUT und W. GRIMM synthetisiert. Das Cyclo-diglycyl-L-tyrosyl-diglycyl-L-tyrosin läßt sich, wie man Bild 20 entnimmt, aus den Sequenzen Gly-gly-tyr, tyr-gly-gly, gly-tyr-gly aufbauen, die Synthese wurde von uns auf unabhängigen Wegen aus den Sequenzen gly-gly-tyr sowie gly-tyr-gly durchgeführt.

<sup>62</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 144 (1955) 1, Abb. 15 b, S. 98.

<sup>63</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1, Schema 3, S. 24, und Schema 5, S. 34.

<sup>64</sup> W. LAUTSCH, W. BROSER und V. GÖDICKE, *Z. Naturforsch.* 12b (1957) 303.

<sup>64a</sup> A. SZENT-GYÖRGYI, *Science* 124 (1956) 873.

<sup>64b</sup> B. JACOBSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 2919; W. H. ROEBUSH und A. M. BUSWELL, *Science* 194 (1956) 77.

Der mit Hilfe des Carbodiimid-Verfahrens von SHEEHAN bzw. der aktivierten Ester-Methode von SCHWYZER erhaltene Trityl-glycyl-glycyl-L-tyrosin-äthylester (I) wurde nach alkalischer Verseifung in den Cyanmethylester II übergeführt; aus diesem ließ sich mit HCl-Acetonitril das Hydrochlorid III gewinnen, welches durch Zyklisierung in Pyridin das Cyclopeptid IV (mit  $\frac{1}{2}$  H<sub>2</sub>O, Nadeln aus Wasser-Alkohol) erhalten wurde (M gef. 512, M ber. 572,52). Dieselbe Verbindung wurde aus der Gly-tyr-gly-Sequenz aus dem mit Hilfe der Carbodiimid-Methode bzw. der aktivierten Estermethode gewonnenen Trityl-glycyl-tyrosyl-glycin-äthyl-ester (Ia) erhalten, letzterer nach alkalischer Verseifung in den Cyanmethylester (IIa) verwandelt und nach Abspaltung der Tritylgruppe über IIIa in Pyridin zyklisiert (aus Wasser, Nadeln mit 2 H<sub>2</sub>O, M gef. = 632, M ber. = 590,5).

Bei der Zyklisierung sind demnach Verdopplungen der Tripeptide erfolgt, wie sie nach der Azid-Methode von J. C. SHEEHAN und W. L. RICHARDSON<sup>65</sup>, von C. H. BAMFORD und F. J. WEYMOUTH<sup>66</sup> am N-Carboxyanhydrid des Glycins, von R. SCHWYZER und Mitarbeitern<sup>67</sup> an aktivierten Estern beobachtet wurden. Diese Tatsache ist auch *biochemisch* im Hinblick auf «essentielle Peptide»<sup>68</sup> von Interesse. Die Verdopplungsreaktion wurde von R. SCHWYZER<sup>69</sup> und Mitarbeitern u. a. mit der Tatsache der Bildung *geradzahlig*er Anzahl von Aminosäure-Einheiten aus *ungeradzahlig*en Vorstufen begründet sowie mit ungünstigen sterischen Verhältnissen (*cis*-Peptid-Bindung). U. E. beruht die Verdopplungs- und Zyklisierungstendenz bei *aromatisch*- und *heterozyklisch* substituierten Polypeptiden mit ungeradzahlig

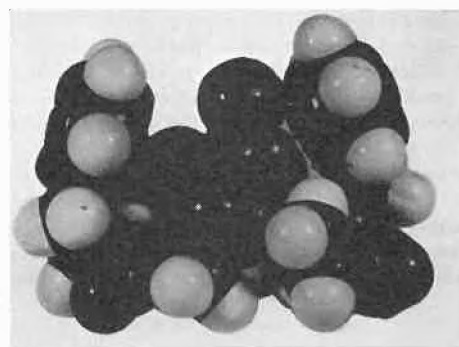


Abb. 21. Vorstufe der Verdopplung und Zyklisierung mit einschlußbegünstigender, aktivierender Anhydridgruppe ( $\text{Cl}_3\text{C-CO-}$ )

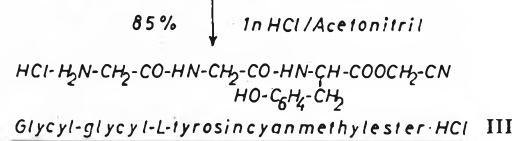
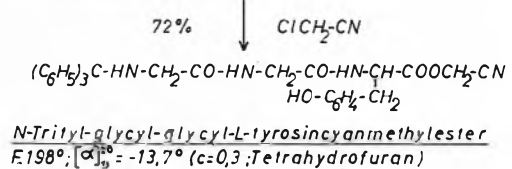
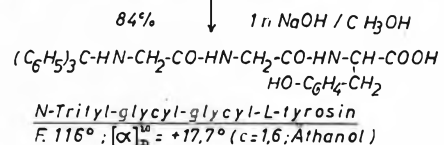
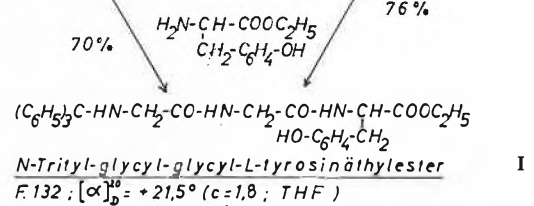
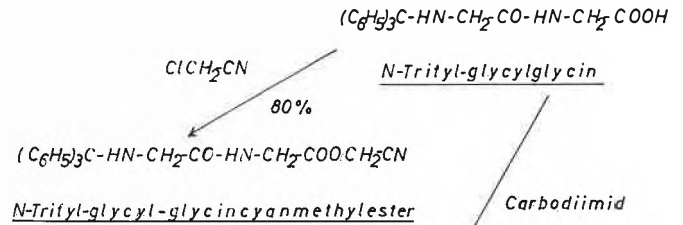
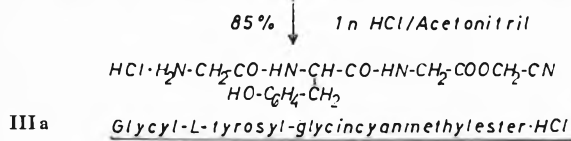
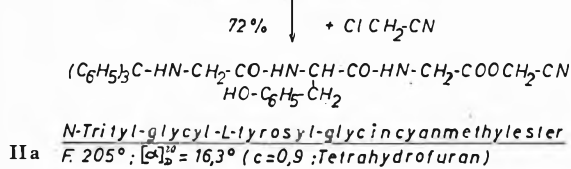
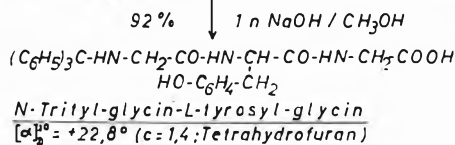
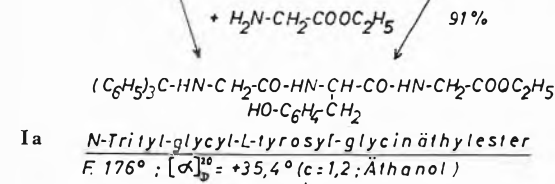
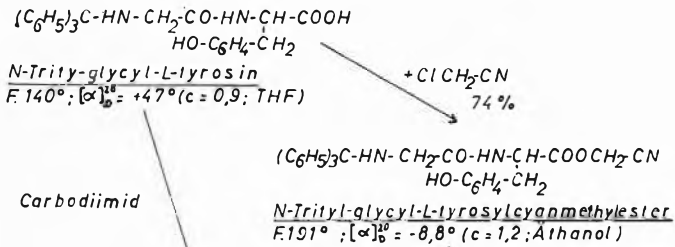
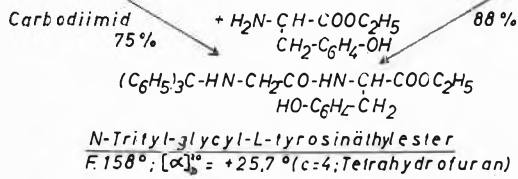
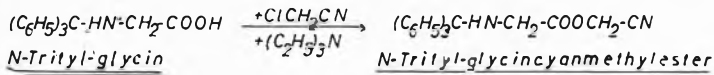
<sup>65</sup> *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 6329, ebenda 77 (1955) 6391.

<sup>66</sup> *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 6368.

<sup>67</sup> *Chimia* 12 (1958) 90; *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 2190, ebenda 41 (1958) 2199.

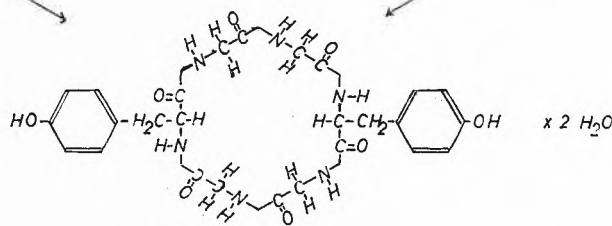
<sup>68</sup> R. B. MERRIFIELD und D. W. WOOLLEY, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 358, 4646; ebenda 80 (1958) 6635.

<sup>69</sup> R. SCHWYZER und P. SIEBER, *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 2186.



21%  $\swarrow$  Pyridin 90-95°

20%  $\swarrow$



Zyklo-glycyl-glycyl-L-tyrosyl-glycyl-glycyl-L-tyrosyl  
 F. 331°;  $[\alpha]_D^{20} = -65,4^\circ$  (c=0,9; Dimethylformamid)

IV

Abb. 20



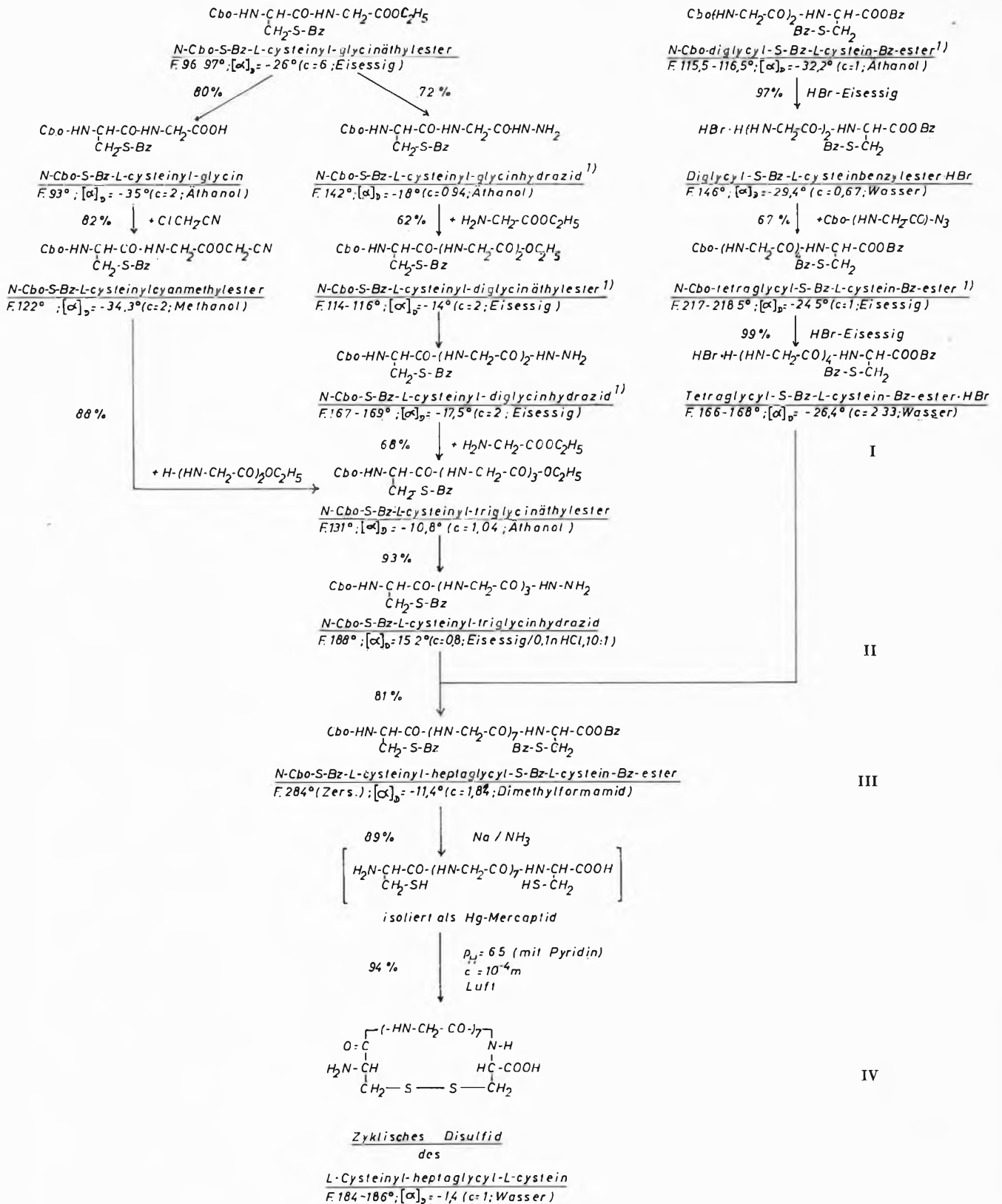


Abb. 22

<sup>1</sup> W. LAUTSCH und H. J. KRAEGER, *Chem. Ber.* 89 (1956) 737.

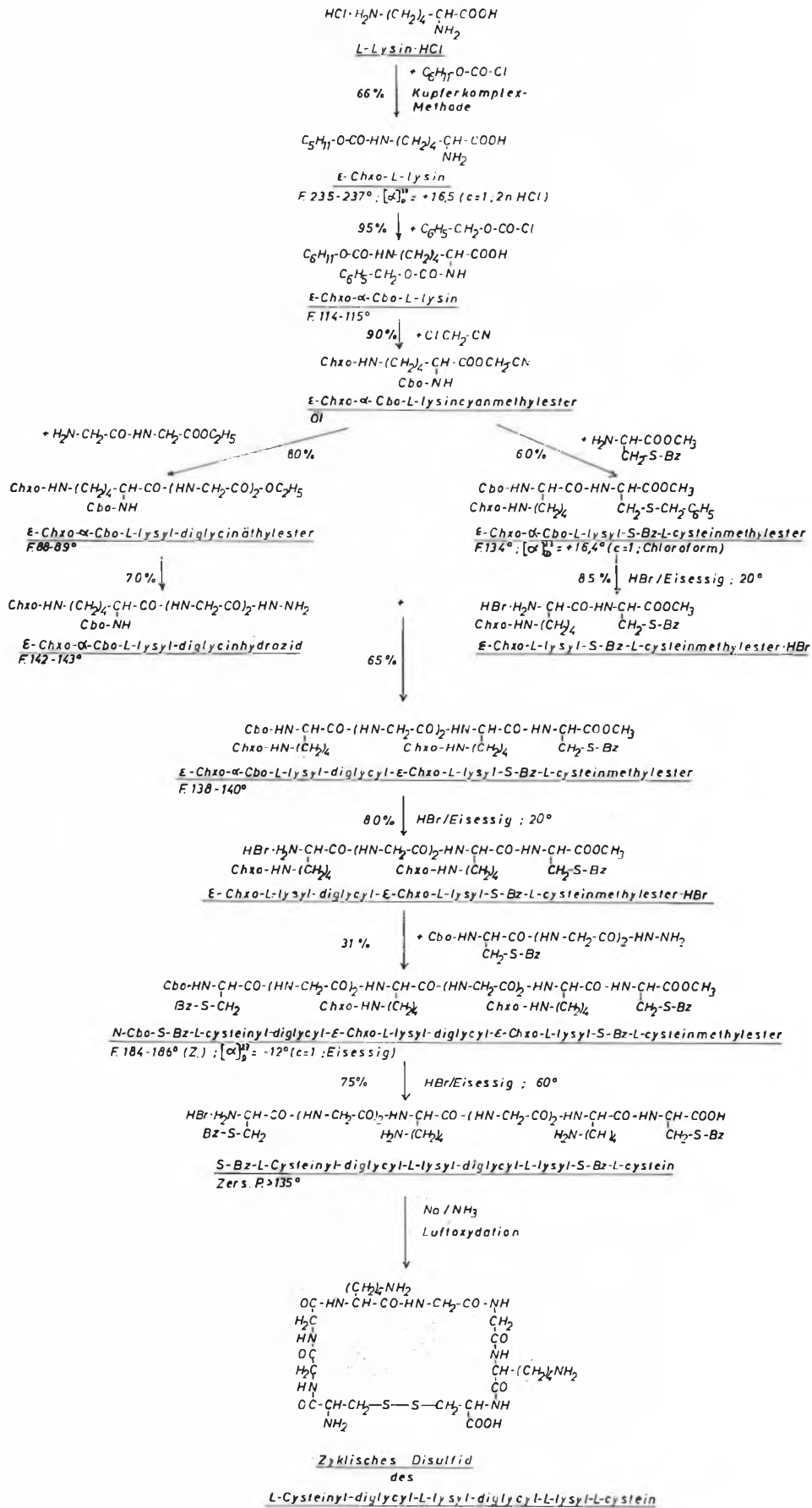


Abb. 23

zyklisierenden Agens verstehen. Es handelt sich demnach um «Einschlußkatalysen» auf Grund zwischenmolekularer Wechselbeziehungen, die bei der Verdopplung und Zyklisierung in Erscheinung treten. Eine Autokatalyse liegt vor, wenn die einschließungsbegünstigende Atomgruppe gleichzeitig als aktivierende Gruppe Bestandteil des Moleküls ist.

Möglicherweise entscheidet auch die Natur mit Hilfe der Seitenketten in der *Sequenzfrage* beim Aufbau der Polypeptidkette.

Als Vorstufe zu derartigen Untersuchungen werden Einschlußkatalysen bei Verdopplungs- und Zyklisierungsreaktionen von Wert sein.

4. Nachdem man die mannigfaltigen Funktionen der aromatischen und heterozyklischen Seitenketten von Aminosäuren (Bildung von Zwischenstoffen, Elektronen- bzw. energiefortleitende Eigenschaften, Komplexbildung usw.) erkannt, die Bedeutung der sterischen Anordnung in 1,4-Stellung begründet werden konnte, haben die zyklischen Disulfide vom *Glycin-Typ*, die der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen waren, an Interesse eingebüßt. Die mit H. J. KRAEGER begonnenen Untersuchungen hatten zur Synthese der zyklischen Disulfide des L-Cysteinyl-Tetraglycyl-L-cysteins<sup>70</sup>, der zyklischen Disulfide des L-cysteinyl-pentaglycyl- und -hexaglycyl-L-cysteins geführt<sup>71</sup>. Inzwischen wurde (mit M. RIMPLER) auch die Synthese des L-Cysteinyl-heptaglycyl-L-cystein-Disulfids durchgeführt. Bild 22 zeigt die Synthese-Schritte.

Das (als Hydrojodid bereits bekannte<sup>72</sup>) Hydrobromid des Tetraglycyl-S-benzyl-L-cystein-benzylesters (I) wurde mit dem ebenfalls beschriebenen (*loc. cit.*) N-Cbo-S-benzyl-L-cysteinyl-diglycyl-glycin-hydrazid (II) als Azid zum N-Cbo-S-benzyl-L-cysteinyl-heptaglycyl-S-benzyl-L-cystein-benzylester (III) gekuppelt und nach Abspaltung der Schutzgruppen nach DU

<sup>70</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 144 (1955) 82, vgl. insbesondere Abb. 18, S. 101.

<sup>71</sup> W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Österr. Chemiker-Ztg.* 58 (1957) 33, vgl. insbesondere Abb. 6, S. 37 und 38.

<sup>72</sup> W. LAUTSCH und H. J. KRAEGER, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 89 (1956) 737.

VIGNEAUD, Isolierung des freien Peptids als Quecksilbermercaptid und anschließender Oxydation mit Luft bei pH = 6,5 in das zyklische Disulfid (IV) umgewandelt.

Die zyklischen Disulfide der L-Cysteinyl-tetra-, penta-, hexa- und hepta-glycyl-L-cysteine haben bisher keine isolierbaren oder nachweisbaren *Addukte* geliefert. Die zumindest in Lösung beliebig deformierbare, viele Konstellationen einnehmende Peptidkette des Glycin-Typs schließt offensichtlich die Möglichkeit zur Bildung von Ringeinschlußsystemen aus. Am Modell der  $\alpha$ -Helix erkennt man, daß die Einstreuung von (*seitenkettenlosen*) Glycin-Einheiten in die Polypeptidkette aus räumlichen Gründen erforderlich ist.

Die genannten Glycin-Typen, wie überhaupt Polypeptide und zyklische Disulfide mit gehäuftem Glycin-Einheiten, sind jedoch an *planare aromatische Systeme* anlagerungsfähig, wie wir am Beispiel des *Mesochlorin-e-Addukts* des zyklischen Disulfids des L-Cysteinyl-diglycyl-L-lysyl-diglycyl-L-lysyl-L-cysteins zeigen konnten. Die mit G. SCHULZ und I. PAETZKE durchgeführte Synthese der L-Form zeigt Bild 23 aus dem Tri- und Pentapeptid; über die Synthese der DL-Form haben wir kürzlich berichtet<sup>73</sup>.

Die Synthesen setzten die Verwendung von einander unabhängig abspaltbaren Schutzgruppen voraus. Durch Verwendung der Cyclohexyloxycarbonylgruppe waren diese Voraussetzungen gegeben. Mit Hilfe von HBr/Eisessig ließ sich die  $\alpha$ -ständige Cbo-Gruppe selektiv abspalten (vgl. Bild 23, I und II). Die Adduktbildung mit Mesochlorin e (Bild 24) setzt offenbar die Starrheit und ebene Struktur des auch in den Dimensionen passenden Chlorin-Systems wie auch die Salzbildung der beiden  $\epsilon$ -Aminogruppen der 1,4-ständigen Lysinreste mit zwei Carboxylgruppen des Chlorins voraus. Das – in Wasser und allen organischen Lösungsmitteln – unlösliche Addukt wird im sauren Medium in die Komponenten zerlegt; das Mesochlorin e läßt sich mit Äther extrahieren. Das Addukt hat sich als *einzige* Methode zur Reindarstellung der L- und DL-Form des Peptids erwiesen.

<sup>73</sup> W. LAUTSCH und G. SCHULZ, *Naturwiss.* 45 (1958) 58, siehe auch W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1, Schema 11, S. 44.

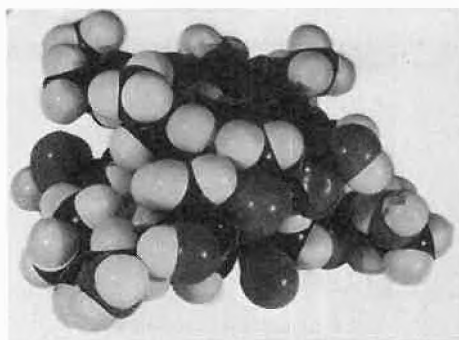


Abb. 24. Addukt des Mesochlorins- $e_6$  mit dem zyklischen Disulfid des L-Cysteinyl-diglycyl-L-lysyl-diglycyl-L-lysyl-L-cysteins