

326. Emil Abderhalden und Werner Gohdes: Studien über das physikalisch-chemische Verhalten von aus *l(+)-Alanin*¹⁾ aufgebauten Polypeptiden.

[Aus d. Physiol. Institut d. Universität Halle a. S.]

[Ausgeführt mit Mitteln d. Kaiser-Wilhelm-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften.]

(Eingegangen am 29. Juni 1931.)

In einer ersten Mitteilung hat der eine von uns (Emil Abderhalden) gemeinsam mit J. Heumann²⁾ über das physikalisch-chemische Verhalten von ausschließlich aus Glykokoll aufgebauten Polypeptiden berichtet. Es zeigte sich, daß vom Oktapeptid an mit dem Dispersionsmittel Wasser beständige Hydrosole gebildet wurden. Wir haben mit dem gleichen Ziele Polypeptide aufgebaut, an denen ausschließlich Alanin beteiligt ist, und zwar in der optisch-aktiven Form, in der diese Aminosäure im Eiweiß enthalten ist. Es ist dies die *l(+)-Form*. Außer dem Vergleich der physikalisch-chemischen Eigenschaften der beiden homologen Ketten, nämlich der Glycyl- und *l(+)-Alanyl-Kette*, interessierte es uns, zu erfahren, welchen Einfluß die einzelne *l(+)-Alanyl-Gruppe* auf das optische Verhalten des Gesamtmoleküls hat. Zum Aufbau des *l(+)-Alanyl-Polypeptids* verwendeten wir einerseits optisch reines *l(+)-Alanin* und andererseits *d(+)- α -Brom-propionylchlorid*³⁾. Die Darstellung der einzelnen Polypeptide wird an anderer Stelle beschrieben⁴⁾.

Schon bei der Darstellung der einzelnen Polypeptide zeigten sich erhebliche Unterschiede gegenüber den entsprechenden Glycyl-Verbindungen. So sind die Bromacylkörper vom *d- α -Brompropionyl-di-l-alanyl-l-alanin* an aufwärts außerordentlich voluminös und gallertig. Sie behalten auch nach dem Trocknen im Vakuum eine gewisse Quellbarkeit in Wasser bei. Die entsprechenden Chloracylkörper der Glycin-Kette waren dagegen feinpulvrig. Es beruht dieser Unterschied offenbar nicht darauf, daß bei den Halogenacylverbindungen der Alanin-Reihe Brom enthalten war und bei den entsprechenden Verbindungen der Glycin-Reihe Chlor. Wir schließen das daraus, daß die entsprechenden Polypeptide gleiche Unterschiede zeigten. Es gelang nicht, das aus Alanin-Resten aufgebaute Penta- und Hexapeptid in wässriger bzw. wässrig-ammoniakalischer Lösung in kristallinem Zustand abzuscheiden, beide wurden ausschließlich als außerordentlich stark quellbare, wasserhaltige Gele gewonnen. Die entsprechenden, aus Glycin aufgebauten Polypeptide zeigten kein solches Verhalten. Mit der starken Quellbarkeit der beiden genannten Polypeptide steht ihre Eigenschaft, ziemlich stark wasser-anziehend zu sein, in Zusammenhang. Von ganz besonderem Interesse ist die Beobachtung, daß das Penta- und das Hexapeptid der Alanin-Kette ein Molekül Wasser aufweisen, das sich selbst bei scharfem

¹⁾ Es sind für die Bezeichnung der optisch-aktiven Formen ausschließlich die genetischen Beziehungen berücksichtigt.

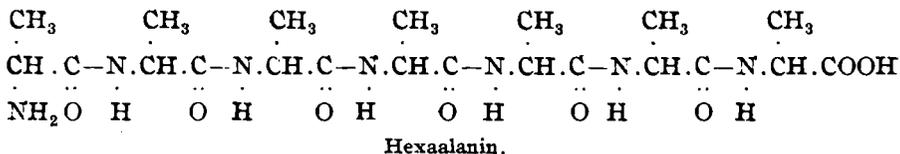
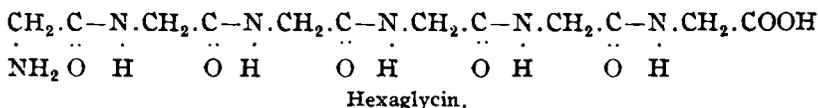
²⁾ Emil Abderhalden und Jolan Heumann, B. 63, 1945 [1930].

³⁾ vergl. hierzu die Feststellung, daß der Konfigurationswechsel bei der Überführung von *l-Alanin* in *d-Alanin* und umgekehrt erst bei der Aminierung erfolgt. *d- α -Brompropionsäure* entspricht somit *d-Alanin* und liefert bei der Aminierung *l(+)-Alanin*; vergl. K. Freudenberg, W. Kuhn u. I. Bumann, B. 63, 2380 [1930]; E. Abderhalden u. Fr. Schweitzer, Fermentforschung 12, 532 [1931].

⁴⁾ Fermentforschung 13 (im Druck) [1931].

Trocknen im Hochvakuum nicht ohne Veränderung des Polypeptids entfernen ließ. Diese Beobachtung gibt vielleicht einen Fingerzeig zur Erklärung für die Feststellung, daß im Eiweiß Sauerstoff enthalten ist, der in den bisher aus ihm isolierten Aminosäuren nicht in vollem Umfange in Erscheinung tritt. Es sind verschiedene Annahmen zur Erklärung dieses Befundes gemacht worden. Unter anderem wird angenommen, daß die Zahl der im Eiweiß vorhandenen Oxyssäuren eine viel größere sei, als sich aus den Ergebnissen der vollständigen Hydrolyse von Proteinen ergibt. Die vorliegende Beobachtung läßt es als möglich erscheinen, daß auch Konstitutionswasser in Frage kommt.

Schon beim Tetrapeptid zeigte sich starke Löslichkeits-Verminderung. Das Pentapeptid erwies sich als schwer löslich, und das Hexapeptid war in Wasser vollkommen unlöslich. Hand in Hand mit der Abnahme der Löslichkeit geht eine Zunahme der kolloiden Eigenschaften. Das Tetrapeptid ist teils in echter Lösung vorhanden, teils ist es bereits kolloid gelöst, wie die Beobachtungen im Ultramikroskop zeigten. Beim Pentapeptid überwiegt die kolloide Beschaffenheit stark, wie durch einen Dialysierversuch bewiesen werden konnte. Das Hexapeptid haben wir nur in kolloidem Zustand gewinnen können. Da nun theoretisch die Länge der Alanin-Ketten, berechnet durch die Summierung der Durchmesser ihrer Kohlenstoff- und Stickstoffatome, nicht größer sein kann als die der entsprechenden Glycin-Ketten, vergl. die folgenden Formeln für die beiden Hexapeptide:



so müssen die assoziierenden Kräfte der Alanin-Polypeptide bedeutend größer sein als diejenigen der Glycin-Ketten.

Wir haben das Penta- und das Hexapeptid zur Bestimmung ihrer Teilchengröße ultramikroskopisch untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

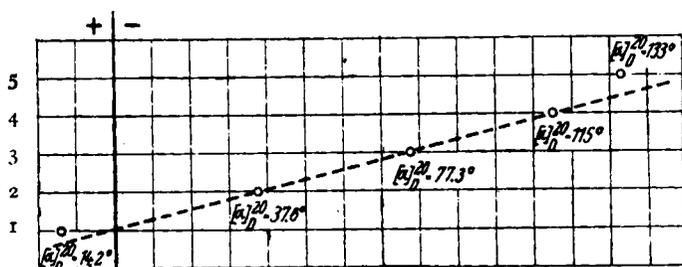
Hydro- sol	spez. Gew.	Kon- zentration	Auszählungs- raum	Teilchen- zahl	Teilchen- größe
Tetra- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin . . .	1.2	0.001 %	1013 μ^3	0.99	440 $\mu\mu$
Penta- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin . .	1.2	0.0001 %	1013 μ^3	0.49	260 $\mu\mu$

Der Umstand, daß die Teilchengröße beim Pentapeptid größer als beim Hexapeptid gefunden wurde, beruht darauf, daß ein Teil der Verbindung echt gelöst und ein anderer Teil in Form so kleiner Teilchen vorhanden war, daß er sich der Zählung entzog.

Wir bestimmten ferner unter dem Ultramikroskop die Wanderungsrichtung der Polypeptid-Teilchen im elektrischen Feld. Wir beobachteten

eine anodische Wanderung der Teilchen. Sie weisen somit eine negative Ladung auf. Nun war bei der entsprechenden Untersuchung des Nonaglycylglycins eine positive Ladung beobachtet worden. Da nun das Heptaglycylglycin gleichfalls eine negative Ladung zeigt, dürfte der Befund beim 10 fachen Glycin-Polypeptid auf beigemengten Halogenacylkörper zurückzuführen sein. Wie seinerzeit mitgeteilt, gelang es nicht, die Aminierung des Chloracetyl-oktaglycylglycins über 70 % hinaus zu steigern. Eine restlose Trennung des nicht aminierten Produktes vom aminierten glückte nicht. Die kolloiden Eigenschaften der in Frage kommenden Körper machten sich geltend.

Bei der Untersuchung des optischen Verhaltens der aus *l*-Alanin bestehenden Polypeptide und der entsprechenden Halogenacylkörper zeigten sich große Schwierigkeiten. So ließ sich wegen der außerordentlich geringen Löslichkeit der Bromacylkörper in neutralen Lösungsmitteln die Drehungsbestimmung in solchen nicht durchführen. Bezüglich der Einheitlichkeit der dargestellten Verbindungen in optischer Hinsicht ist zu bemerken, daß sich optisch-aktives α -Brom-propionylchlorid nicht mit Sicherheit zu 100 % optisch rein gewinnen läßt. Bei den Polypeptiden tritt noch hinzu, daß bei der Aminierung die Möglichkeit der Racemisierung vorliegt. Wir gelangten nur mittels unter großen Substanzverlusten durchgeführter fraktionierter Kristallisation zu „praktisch“ optisch reinen Polypeptiden. Bei den kolloidalen Lösungen bildenden Verbindungen war die quantitative Feststellung des optischen Verhaltens sehr erschwert und zum Teil unmöglich. Zieht man diese Schwierigkeiten in Betracht, und vergleicht man in der folgenden Abbildung die gefundenen Werte für die spezif. Drehung der einzelnen



- | | |
|---|--|
| 1. <i>l</i> -Alanin | 4. Tri- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin |
| 2. <i>l</i> -Alanyl- <i>l</i> -alanin | 5. Tetra- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin |
| 3. Di- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin | |

Verbindungen, so erkennt man, daß offenbar ein regelmäßiges Verhalten vorliegt. In der Abbildung sind auf der Ordinate die Anzahl der am Aufbau der untersuchten Verbindungen beteiligten Alanin-Teile aufgetragen und auf der Abszisse die spezif. Drehung, bestimmt in 2-*n*. HCl. Man erkennt, daß die Werte für die spezif. Drehung des Di-, Tri- und Tetrapeptids auf einer Geraden liegen. Die folgende Tabelle gibt die Differenzen zwischen dem Drehungsvermögen der untersuchten Verbindungen wieder:

	$[\alpha]_D^{20}$ in 2- <i>n</i> . HCl	Unterschied
<i>l</i> -Alanin	+14.5°	} = 52.1°
<i>l</i> -Alanyl- <i>l</i> -alanin	-37.6°	
Di- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin	-77.3°	} = 39.7°
Tri- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin	-115°	
Tetra- <i>l</i> -alanyl- <i>l</i> -alanin	-133°	} = 18°

l-Alanin dreht in salzsaurer Lösung nach rechts, die Polypeptide drehen dagegen alle nach links. Beim Übergang vom *l*-Alanin zum *l*-Alanyl-*l*-alanin ergibt sich ein Unterschied im Drehungsvermögen, der größer ist als derjenige zwischen der spezif. Drehung des Di- und Tripeptids. Es ist dies verständlich, ändert sich doch durch Anfügung des *l*-Alanyl-Restes an das *l*-Alanin der gesamte Charakter der Verbindung. Die aus der Reihe fallende Differenz zwischen dem Tetra- und dem Pentapeptid erklärt sich offenbar dadurch, daß das letztere z. T. in kolloidem Zustand vorhanden war.

Eine Regelmäßigkeit im Verhalten von aus optisch-aktiven Aminosäuren aufgebauten Polypeptiden ließ sich bereits bei den von dem einen von uns (E. Abderhalden) gemeinsam mit Fleischmann⁵⁾ untersuchten, aus *l*-Leucin bestehenden Polypeptiden erkennen, wie die folgende Übersicht zeigt. Die Drehung wurde in normaler Natronlauge bestimmt.

		Unterschied
<i>l</i> -Leucyl- <i>l</i> -leucin	— 13.95°	} 37.41°
Di- <i>l</i> -leucyl- <i>l</i> -leucin	— 51.36°	
Tri- <i>l</i> -leucyl- <i>l</i> -leucin	— 89.95°	

Von Interesse ist, daß bei der Leucin-Kette schon das Tripeptid in Wasser unlöslich ist.

Die Versuche werden fortgesetzt, und zwar interessiert uns einerseits die Frage, in welchem Ausmaße sich auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften und auf das optische Verhalten die abwechselnde Einführung von andersartigen Bausteinen geltend macht. Wir hoffen, auf diesem Wege einen Beitrag zur Frage des Wesens des Auftretens kolloider Eigenschaften erbringen zu können. Schon die vorliegenden Ergebnisse verdienen Beachtung. Es ist gewiß von Interesse, daß Verbindungen von relativ niedrigem Molekulargewicht schon kolloide Eigenschaften aufweisen. Ferner ist die Steigerung des Assoziationsvermögens mit der Zunahme der Molekulargröße des einzelnen Bausteines von Interesse. Von besonderem Interesse wird es sein, den Einfluß von isomeren Aminosäuren mit verzweigter und nicht verzweigter Kette auf die Eigenschaften von Polypeptiden festzustellen.

327. F. Arndt und L. Lorenz: Zur Einwirkung von Brom auf substituierte Äthylene.

(Eingegangen am 9. Juli 1931.)

E. Bergmann hat soeben¹⁾ seine vor kurzem²⁾ aufgestellte Formulierung des Dixanthylen-hexabromids seinerseits der von dem einen von uns früher³⁾ gegebenen und neuerdings von uns⁴⁾ nochmals besprochenen Formulierung gegenübergestellt. Das Formelbild, das Bergmann dabei als das unsrige bezeichnet, unterscheidet sich von letzterem aber dadurch, daß es der Frage nach dem Bindungszustand in den Pyronringen

⁵⁾ Emil Abderhalden u. R. Fleischmann, Fermentforschung 9, 524 [1928].

¹⁾ E. Bergmann, B. 64, 1481 [1931].

²⁾ E. Bergmann u. v. Christiani, B. 63, 2559 [1930].

³⁾ Arndt, Scholz, Nachtway, B. 57, 1903 [1924].

⁴⁾ Arndt u. Lorenz, B. 63, 3121 [1930].