

6. Fritz Micheel: Über die Einwirkung von Formamid und Thioformamid auf Proteine, Peptide und Aminosäuren.

(Unter Mitarbeit von Hans Emde, Ernst Schnacke, Maria Brüning, Elisabeth Hoffmann und Irmgard Lankes.)

[Aus dem Organ.-chemischen Laboratorium der Universität Münster, Westfalen.]
(Eingegangen bei der Redaktion der Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 28. November 1944.)

Es ist bekannt, daß Formamid quellend und lösend auf Proteine und ihre Abbauprodukte wirken kann¹). Eine soeben zu unserer Kenntnis gelangte Arbeit von Elöd und Zahn²) über die Einwirkung von Formamid auf Keratine gibt Veranlassung, kurz über seit einigen Jahren laufende Arbeiten über die Umsetzung von Proteinen, Peptiden und Aminosäuren mit Formamid zu berichten. Eine ausführliche Darstellung unserer Ergebnisse muß einem späteren Zeitpunkte vorbehalten bleiben.

Die Befunde lassen sich kurz folgendermaßen wiedergeben: Da die meisten von uns untersuchten Proteine in Formamid in der Kälte nur aufquellen, verwandten wir ein Gemisch von wasserfreiem Formamid und reiner, wasserfreier Ameisensäure (Merck oder eigene Herstellung) (1 : 1). Darin tritt meist klare Lösung ein. Schon bei Zimmertemperatur erfolgt Umsetzung, wie sich zunächst aus der Änderung der Drehwerte in meist positiver Richtung mit der Zeit ergibt. Die Bestimmung der Drehwerte erfolgt am besten an isolierten Produkten in wasserfreier Ameisensäure. Nach 6—24 Stdn., u. U. später, wird mit Essigester, Alkohol oder ähnlichen Lösungsmitteln ausgefällt und gereinigt. Die Ausbeuten sind fast quantitativ. Die Kondensationsprodukte sind hochmolekular (Abbau ist nicht eingetreten), sie dialysieren nicht. Wir geben als Beispiele die Analysen der Umsetzungsprodukte von Casein und von Gelatine:

	C	H	N	$[\alpha]_D$ (Ameisensäure)
Casein	53.12	7.14	15.43	— 86.0°
Formamid-Casein	52.13	7.85	15.50	— 76.0°
Gelatine	50.09	6.68	18.12	— 107.5°
Formamid-Gelatine...	46.64	6.76	17.12	— 93.2°

Ähnlich verhalten sich Eier- und Pferdeserumalbumin, Pferdeserumglobulin, Edestin und andere Proteine.

Die Zusammensetzung ist abhängig von der Dauer der Reaktion. Bemerkenswert ist die Leichtigkeit, mit der die Reaktion schon bei Zimmertemperatur eintritt. Wir schließen aus den Analysen und den weiter unten angegebenen Ergebnissen an Aminosäuren, daß unter diesen Bedingungen im wesentlichen Formamidreste in die Proteinmoleküle eintreten. Versuche mit Formamid allein bei Zimmertemperatur sind wegen der Unlöslichkeit oder geringen Löslichkeit der Proteine noch nicht so übersichtlich verlaufen, als daß über sie berichtet werden soll. Da die Umsetzungen mit Formamid unter dem Gesichtspunkte durchgeführt werden, bestimmte Gruppen im Eiweißmolekül zu binden bzw. bestimmte Bindungen zu lösen, wurden analoge Versuche mit Amino-

¹) K. H. Meyer, Lehrbuch der hochpolymeren Chemie, S. 518, Leipzig 1940; Lacqueur, Pharm. Weekbl. 61, 107 [1924]; Ostromysslenski Journ. prakt. Chem. [2] 76, 267 [1907].

²) Kolloid-Ztschr. 108, 94 [1944].

säuren und Peptiden durchgeführt. Dabei zeigte sich überraschenderweise, daß die zahlreichen von uns untersuchten Aminosäuren und verschiedené Peptide weder in Formamid-Ameisensäure noch in Formamid allein bei Zimmertemperatur sich umsetzen. Erst bei 24- bis 36-stdg. Einwirkung bei 60° reagieren Aminosäuren und einige Peptide, jedoch die meisten einfachen, so Glykokoll, Alanin, Tyrosin, Leucin, Histidin, Glycyl-alanin, Leucyl-tyrosin u. a. lediglich unter Bildung von *N*-Formyl-Verbindungen, wobei die Frage noch nicht entschieden ist, ob die Ameisensäure oder das Formamid (unter Unamidierung) in Reaktion tritt. Einige Aminosäuren reagieren jedoch bei 60°, oder besser bei 95° langsam mit Formamid, auch bei Abwesenheit von Ameisensäure, unter Eintritt von Formamid. Man erhält krystallisierte Produkte, von denen die der Glutaminsäure, des Serins und des Arginins genannt seien. Das Formamid reagiert mit der Aminosäure ohne Austritt von Wasser.

Für das bisher am besten untersuchte Produkt aus Glutarinsäure ließ sich beweisen, daß die Aminogruppe in Reaktion getreten ist. Ebenso ist es mit dem Produkt aus Serin. Über die Struktur dieser Verbindungen wird später berichtet. Durch saure Hydrolyse wird Glutaminsäure zurückerhalten. Die Umsetzungsprodukte des Glutathions mit Formamid sind bisher noch nicht genügend definiert.

Da die Reaktion mit Aminosäuren und einfachen Peptiden so viel schwerer als mit Eiweißstoffen verläuft, muß es zunächst offen bleiben, ob die letzteren in gleicher Art oder auch noch in anderer Art mit Formamid bei Zimmertemperatur reagieren wie die ersteren. Läßt man Formamid-Ameisensäure bei 60°, oder besser Formamid allein bei 95° auf Protein (Casein, Gelatine, Serumalbumin) einwirken, so erfolgt in 6—12 Stdn. weitgehender Abbau des Proteinmoleküls. Man erhält nach der Aufarbeitung Stoffe, die durch Dialyse durch Cellophanmembranen von hochmolekularen leicht abgetrennt und sodann von gleichzeitig gebildetem Ammoniumformiat durch Fällungsoperationen oder Sublimation des Ammoniumformiats im Hochvak. getrennt werden können. Diese Stoffe sind ebenfalls der Gegenstand weiterer Untersuchungen. Unsere Befunde weichen in dieser Hinsicht von denen von Elöd²⁾ ab, der bei Einwirkung von Formamid auf Keratin bei 120° lediglich hochmolekulare Stoffe findet, die er durch „Lösung von zwischenmolekularen Bindungen zwischen den Peptidschichten und -ketten“ deutet. Die von Elöd beobachtete Abnahme der Basizität deckt sich mit unseren Befunden.

Leichter als Formamid reagiert Thioformamid mit Proteinen. Schon bei Zimmertemperatur tritt beim Behandeln von Eiweißstoffen mit Thioformamid in Äther schnell Reaktion ein. Man erhält Stoffe mit erheblichem Schwefelgehalt (5% und mehr). Der Schwefel ist verhältnismäßig locker gebunden. Er kann bei den nicht weiteren Reaktionen unterworfenen Produkten durch Hydrolyse mit verdünnten Säuren in der Wärme als Schwefelwasserstoff abgespalten werden. Auch Desamino-Gelatine setzt sich mit Thioformamid um. Über das Verhalten von Aminosäuren und Peptiden gegen Thioformamid soll in der späteren ausführlichen Arbeit berichtet werden³⁾.

³⁾ Anm. b. d. Korrektur (11. 7. 46): Eine weitere Abhandlung mit Versuchs-Einzelheiten wird in absehbarer Zeit in dieser Zeitschrift erscheinen.