

RUDOLF TSCHESCHE, HORST JENSSEN
und PALLAPALAYAM NARASIMHACHARI RANGACHARI

**Über Umsetzungsprodukte des L-Tryptophans
bei der sauren Eiweißhydrolyse**

Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg
(Eingegangen am 12. Mai 1958)

Im sauren Caseinhydrolysat werden Harman, Dihydroharman, Harman-carbonsäure-(3), Harmalan-carbonsäure-(3) und Tetrahydroharman-carbonsäure-(3) nachgewiesen. Vermutlich entsteht zunächst die Tetrahydroharman-dicarbon-säure-(1.3) als primäres Umsetzungsprodukt von L-Tryptophan mit Brenztraubensäure, welche wiederum aus L-Serin stammt. Wahrscheinlich enthält auch das fermenthydrolysierte Casein Spuren von Harman und Harmalan-carbonsäure-(3).

Bei der Untersuchung von durch Säurehydrolyse aus Casein gewonnenen Amino-säuregemischen mit Hilfe papierchromatographischer Methoden waren uns eine Anzahl unter der UV-Lampe blau, violett oder grüngelb fluoreszierender Substanzen aufgefallen. Eine Kenntnis der chemischen Natur dieser Stoffe und ihre Unterscheidung von den Pteridinen erschien wünschenswert, da bei der Reinigung von Pteridinen be-kanntlich die Fluoreszenz-Untersuchung eine bedeutende Rolle spielt.

Als Ausgangsmaterial für unsere Untersuchungen diente uns „Aminotrat“ der Nordmark-Werke Hamburg*), das ein durch Säure hydrolysiertes Casein darstellt.

Tab. 1. Papierchromatographische Untersuchung von „Aminotrat“ und „Casitone“ in 5-proz. Ammoniak bzw. 3-proz. Ammoniumchloridlösung

Subst. Nr.	5-proz. Ammoniak				3-proz. Ammoniumchloridlösung			
	R_F	Fluoresz.	Aminotrat	Casitone	R_F	Fluoresz.	Aminotrat	Casitone
A	—	—	—	—	0.05	blau- violett	sehr schwach	—
I	0.08	blau	deutl.	sehr schwach	0.33	blau	deutl.	sehr schwach
II	0.18	grüngelb	sehr schwach	—	—	—	—	—
III	0.25	violett	schwach	—	—	—	—	—
IV	0.58	grüngelb	deutl.	sehr schwach	0.46	grüngelb	deutl.	sehr schwach
V	0.69	violett **)	sehr schwach	—	0.63	violett **)	sehr schwach	—
VI	0.80	bläulich- weiß	schwach	schwach	0.83	bläulich- weiß	schwach	schwach

***) nur unter der Lampe mit UV-Licht von ca. 254 m μ sichtbar.

*) Wir möchten auch hier Herrn Direktor WOLF und Dr. LOOP von den Nordmark-Werken Hamburg für die Überlassung des „Aminotrats“ unseren ganz besonderen Dank ausdrücken.

Zum Vergleich wurde ferner ein fermenthydrolysiertes Casein „Casitone“ der Firma Difco verwendet. Die Tabelle gibt die bei der Papierchromatographie beobachteten Flecken mit den R_F -Werten und Fluoreszenzen bei beiden Materialien wieder.

Die Versuche, die fluoreszierenden Bestandteile aus Aminotrat direkt in reiner Form zu isolieren, waren jedoch wegen der geringen Mengen ergebnislos; es gelang aber, die Verbindungen durch Adsorption an Carboraffin und Elution mit Essigsäure weitgehend anzureichern. Eine weitere Reinigung war an der Cellulosepulver-Säule möglich. Die Eigenschaften der Konzentrate und ihre UV-Absorption ließen auf einen Zusammenhang mit den 2-Carbolinen schließen.

2-Carbolinderivate im Caseinhydrolysat können nur aus dem L-Tryptophan stammen, von dem bekannt ist, daß es bei der sauren Hydrolyse von Eiweiß weitgehende Zerstörung erfährt; doch ist bisher nicht bekannt, in welcher Weise diese Veränderung erfolgt. Reines Tryptophan ist gegen Erhitzen mit Säuren, so mit konz. Salzsäure unter Stickstoff, relativ stabil, während es in Gegenwart von Carbonylverbindungen, Kohlenhydraten oder auch anderer Aminosäuren rasch unter Bildung huminartiger Stoffe verändert wird¹⁾. T. YORITAKA²⁾ machte die gleichen Beobachtungen mit Tryptophan beim Kochen in 25-proz. Schwefelsäure bei Zugabe von Casein oder Caseinhydrolysat. Er führte die Zersetzung auf das Entstehen von Carbonylverbindungen zurück, die er in der Reaktionslösung mit Phenylhydrazin nachweisen konnte. O. RIESSER³⁾ beobachtete das Auftreten von Acetaldehyd bei der alkalischen Zersetzung von Eiweiß, und YORITAKA nahm an, daß Acetaldehyd auch bei der Entstehung des Tryptophandefizits bei der sauren Hydrolyse von Eiweiß eine Rolle spielen könnte.

Um die Natur der 2-Carbolinderivate im Caseinhydrolysat festzustellen, schien es wünschenswert, zunächst einmal die zweite Komponente zu ermitteln, die im sauren Gebiet Anlaß zur Bildung von Carbonylverbindungen gibt. Es wurde daher L-Tryptophan mit reinen Aminosäuren unter den Bedingungen der Eiweißhydrolyse umgesetzt, wobei nur Serin, Threonin, Histidin und Arginin fluoreszierende Umsetzungsprodukte ergaben, von denen allein die mit L-Serin gewonnenen mit denen im Caseinhydrolysat im R_F -Wert und der Fluoreszenz übereinstimmten. B. FRANCK und J. KNOKE⁴⁾ haben kürzlich nachgewiesen, daß diese Aminosäure bei dieser Reaktion leicht in Brenztraubensäure übergeht, nachdem schon E. ERLNMEYER⁵⁾, F. BETTZICHE⁶⁾, M. BERGMANN und D. DELITZ⁷⁾, sowie K. HEYNS und W. WALTER⁸⁾ die Bildung dieser Säure aus L-Serin unter verschiedenen Bedingungen festgestellt und ihre Entstehungsart erklärt hatten⁸⁾. Damit schien L-Serin und die daraus entstehende Brenztraubensäure als Carbonylkomponente der 2-Carbolinderivatbildung aus L-Tryptophan sehr wahrscheinlich. Der Verlauf dieser Reaktion ergibt sich aus den Arbeiten von W. O. KERMACK, W. H. PERKIN JR. und R. ROBINSON⁹⁾, W. A. JACOBS und L. C. CRAIG¹⁰⁾ und von H. R. SNYDER und Mitarbb.¹¹⁾ D. G. HARVEY und W. ROBSON¹²⁾, sowie G. HAHN

¹⁾ HOPPE-SEYLER-THERFELDER, Handbuch der physiol. und pathol. chem. Analyse, 10. Aufl., 3. Bd., 2. Teil, S. 1708, Springer-Verlag 1955.

²⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **270**, 44 [1941].

³⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **196**, 201 [1931].

⁴⁾ Chem. Ber. **90**, 2450 [1957]. ⁵⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 3769 [1902].

⁶⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **150**, 177 [1925]. ⁷⁾ Liebigs Ann. Chem. **458**, 76 [1927].

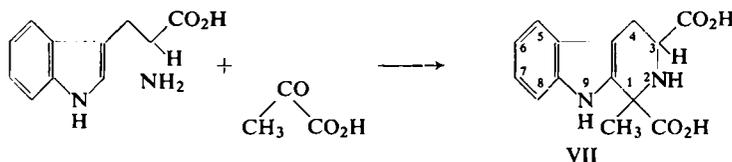
⁸⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **294**, 111 [1954].

⁹⁾ J. chem. Soc. [London] **119**, 1617 [1921]. ¹⁰⁾ J. biol. Chemistry **113**, 759 [1936].

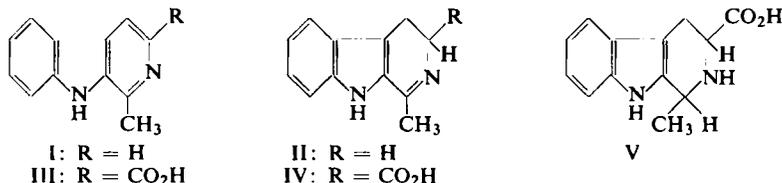
¹¹⁾ H. R. SNYDER, C. H. HANSCH, L. KATZ, S. M. PARMETER und EARL C. SPAETH, J. Amer. chem. Soc. **70**, 219 [1948]. ¹²⁾ J. chem. Soc. [London] **1938**, 97.

und H. LUDEWIG¹³⁾ haben die Umsetzung unter zellmöglichen Bedingungen studiert; die letztgenannten Autoren arbeiteten dabei mit Tryptamin anstelle von Tryptophan. Jedoch scheint speziell die Umsetzung von L-Tryptophan mit Brenztraubensäure als Carbonylkomponente noch nicht untersucht worden zu sein.

Die Umsetzung sollte danach zu 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbon-säure-(1.3) (VII) führen, wobei das Auftreten von Diastereoisomeren zu erwarten war. Das aus der Kondensationslösung ausgefallene Kristallisat erwies sich denn auch bei der Papierchromatographie als uneinheitlich, es wurden zwei Flecken mit R_F -Werten 0.60 und 0.88 (Fluoreszenz gelbgrün) mit 5-proz. wäßrigem Ammoniak als Lösungsmittel erhalten. Durch Variation der Bedingungen gelang es schließlich, die eine Komponente mit dem R_F -Wert 0.88, Schmp. 212–214° (Zers.), $[\alpha]_D^{25}$: -102° (Pyridin/Wasser (1:1)), rein zu erhalten. Die Isolierung des anderen Isomeren war deswegen schwierig, weil VII sich als nur wenig stabil erwies.



Die Behandlung von VII mit konz. Salzsäure in der Hitze bewirkte rasch eine vollkommene Zerstörung vorwiegend zu dunklen huminartigen Stoffen, genau so, wie es mit Tryptophan in Gegenwart geeigneter Aminosäuren oder Carbonylverbindungen geschieht. Es wurden daher die Bedingungen gemildert, um definierte Umsetzungsprodukte zu erhalten. Mit 25-proz. Schwefelsäure bei 80° und anschließendem Erhitzen auf 95° trat lebhaft Decarboxylierung ein, die nach 1 Stde. beendet war. Die papierchromatographische Untersuchung nach 3 stdg. Erhitzen zeigte 7 fluoreszierende Verbindungen an, von denen 4 mit solchen übereinstimmten, die auch im Caseinhydrolysat beobachtet worden waren. Es handelt sich dabei um *Harman* (I), *Dihydroharman* (II), *Harmalan-carbonsäure-(3)* (IV) und *Tetrahydroharman-carbonsäure-(3)* (V). Außerdem fand sich noch eine sehr kleine Menge Ausgangsmaterial (VII) mit dem R_F -Wert 0.88 vor. Eine weitere Verbindung mit dem R_F -Wert 0.46, Fluoreszenz hellblau, die noch unter den Zersetzungsprodukten von VII erscheint, wurde nicht identifiziert, sie findet sich nicht im Caseinhydrolysat.



Zur Ermittlung der chemischen Natur der Verbindungen I–VI durfte man von der Annahme ausgehen, daß die beobachteten fluoreszierenden Verbindungen noch

¹³⁾ a) Ber. dtsh. chem. Ges. 67, 2031 [1934]; vgl. auch b) G. HAHN, L. BÄRWALD, O. SCHALES und H. WERNER, Liebigs Ann. Chem. 520, 107 [1935]; sowie c) G. HAHN und A. HANSEL, Ber. dtsh. chem. Ges. 71, 2163 [1938].

2-Carbolinderivate sind und ihre Entstehung einer Decarboxylierung von VII zunächst in Stellung 1, möglicherweise aber auch in 3 verdanken, wozu dann noch eventuell Dehydrierungen im N-haltigen Sechsring kommen könnten. Es ließ sich zeigen, daß es sich bei I und II um Basen handeln müsse, während III, IV und V Carbonsäuren sind. Es wurde nunmehr 1-Methyl-2-carbolin (Harman) hergestellt und mit der Substanz I verglichen. Es erwies sich in der Fluoreszenz und im R_F -Wert in 9 verschiedenen Lösungsmitteln als mit I identisch, so daß wohl kaum ein Zweifel besteht, daß 1-Methyl-2-carbolin vorliegt. Die Verbindung konnte aus VII auch in Substanz erhalten werden, wenn die Decarboxylierung in Gegenwart von Oxydationsmitteln vorgenommen wurde.

Nach diesem Ergebnis wäre auch Tetrahydroharman zu erwarten gewesen, das durch Kondensation von Tryptamin und Acetaldehyd¹⁴⁾ aufgebaut, ferner durch Reduktion von Harman mit Natrium in Butanol bereitet werden konnte¹⁵⁾. Es ließ sich jedoch weder im Caseinhydrolysat noch unter den Zersetzungsprodukten von VII auffinden; der Grund dürfte in seiner vergleichsweise sehr schwachen Fluoreszenz zu suchen sein, die auch nur durch kurzweiliges UV-Licht von 254 m μ angeregt werden kann.

Ein Hinweis auf das Vorkommen von II lieferte uns die Arbeit von R. NEU¹⁵⁾, der für Tetrahydroharman eine grüngelbe Fluoreszenz angibt. Diese kommt aber nicht mehr dieser Verbindung zu, sondern schon dem Harmalan, das daraus sehr schnell im UV-Licht unter Dehydrierung entsteht. Schneidet man einen solchen grüngelb fluoreszierenden Fleck im Papierchromatogramm aus und läßt die Substanz erneut in 5-proz. Ammoniak laufen, so erscheint neben dem anfangs im kurzweiligen UV-Licht violetten Tetrahydroharmanfleck mit dem R_F -Wert 0.45 auch noch ein grüner vom R_F -Wert 0.18, der dem Dihydroharman zukommt. Authentisches Material dieser Verbindung wurde nach der Bischler-Napieralskischen Methode¹⁶⁾ aus Acetyltryptamin für den papierchromatographischen Vergleich hergestellt.

Die Isolierung der Tetrahydroharman-carbonsäure-(3) (V) in Substanz aus den Zersetzungsprodukten von VII gelang uns durch Aufnehmen in Methanol und Zusatz von Chloroform. Die Säure erwies sich mit einem nach den Angaben der Literatur^{13b)} hergestellten Präparat in allen Eigenschaften identisch und stellte das Hauptprodukt der Zersetzung von VII (Fluoreszenz violett) dar. Die isomere 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(1) (Fluoreszenz violett, durch Dehydrierung und Decarboxylierung sehr schnell in Grün übergehend) konnte weder im Caseinhydrolysat noch durch Zersetzung von VII erhalten werden. Sie decarboxyliert vermutlich viel leichter als die 3-Carbonsäure, denn bei der Papierchromatographie dieser Säure wurden stets auch schon die dem Tetrahydroharman und Harmalan zukommenden Flecken beobachtet. Die Decarboxylierung von VII tritt also zunächst vorwiegend in der 1-Stellung ein.

Bei der Verbindung IV lag es nahe, an die 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) zu denken, da sie wie Dihydroharman grün fluoresziert. Alle Versuche jedoch, sie aus den Zersetzungsprodukten von VII zu isolieren, waren ohne Ergebnis, da ihre Menge relativ gering zu sein scheint. Die Säure war nicht bekannt, und frühere

¹⁴⁾ S. AKABORI und K. SAITO, Ber. dtsh. chem. Ges. 63, 2245 [1930].

¹⁵⁾ Arzneimittel-Forsch. 6, 94 [1956].

¹⁶⁾ E. SPÄTH und E. LEDERER, Ber. dtsh. chem. Ges. 63, 123 [1930].

Versuche zu ihrer Synthese hatten nicht zum Erfolg geführt^{17,*)}. Nach zahlreichen mißglückten Ansätzen gelang ihre Synthese aus Acetyltryptophan durch Ringschluß mit einem Gemisch von Phosphoroxybromid und Polyphosphorsäure, das die Umsetzung bei Temperaturen erlaubt, die weit unter denen liegen, die für das Bischler-Napieralskische Verfahren üblich sind. IV fluoreszierte grün und erwies sich beim papierchromatographischen Vergleich mit der Verbindung IV aus dem Caseinhydrolysat als identisch. Auch die Methylester zeigten die gleiche Fluoreszenzfarbe und entsprechende R_F -Werte. Bemerkenswert ist die außerordentlich leichte Verseifbarkeit des Methylesters, die sogar eine Reinigung durch Chromatographie an Aluminiumoxyd verhinderte. Durch geringe Verunreinigungen, sogar mit Aceton, ging der Methylester in den Ester der 1-Methyl-2-carbolin-carbonsäure-(3) über. Aus ihm ließ sich durch Verseifung die freie Säure gewinnen, die blau fluoreszierte und sich im R_F -Wert mit der Substanz III aus dem Caseinhydrolysat als identisch erwies. Wenn diese Säure auch nicht unter den Zersetzungsprodukten von VII aufgefunden werden konnte, so läßt sich ihre Entstehung durch Dehydrierung durch Bestandteile des Caseinhydrolysats leicht verstehen. Auch die freie Harmalan-carbonsäure-(3) geht, wie wir fanden, bei der Adsorption an Kohle schnell in die Harman-carbonsäure-(3) (III) über, im Caseinhydrolysat ist sie direkt nachweisbar.

Die Identifizierung von 5 fluoreszierenden Bestandteilen im Caseinhydrolysat, die alle miteinander und mit VII in Zusammenhang stehen, läßt es äußerst wahrscheinlich erscheinen, daß der Tryptophanverlust bei der sauren Hydrolyse von Eiweiß in erheblichem Ausmaß den Weg über VII nimmt. Ein kleiner Teil davon wird wahrscheinlich durch gleichzeitige doppelte Decarboxylierung und nachfolgende Dehydrierung über Tetrahydroharman in Harman übergeführt, während vermutlich der Hauptweg über V und die entsprechende 3.4-Dihydrocarbonsäure (IV) führt. Letztere geht zum Teil weiter in die Harman-carbonsäure-(3) über, die weniger Neigung zeigt, durch Decarboxylierung in Harman überzugehen. Bei der Einwirkung von starker Säure wird der Hauptteil der gebildeten 2-Carbolinderivate weiter verändert, wobei es dann zur Entstehung brauner huminartiger Endprodukte kommt.

Da die α -Keto-buttersäure nach B. FRANCK und J. KNOKE⁴⁾ sich ebenfalls bei der Eiweißhydrolyse bildet, wäre aus ihr die Entstehung analoger Verbindungen wie aus L-Tryptophan und Brenztraubensäure zu erwarten. Die hergestellten Äthylderivate (siehe Tab. 2) ließen sich jedoch nicht im Caseinhydrolysat auffinden, vermutlich weil die Bildung der Keto-buttersäure gegenüber Brenztraubensäure sehr zurücktritt.

Tab. 2. Daten von 1-Äthyl-2-carbolinen

	Fluoreszenz	R_F -Wert	Lösungsmittel
1-Äthyl-2-carbolin	blau	0.14	5-proz. Ammoniak
1-Äthyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3)	grün-gelb	0.73	5-proz. Ammoniak
1-Äthyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3)	violett **)	0.77	5-proz. Ammoniak

**) Nur unter der kurzwelligen UV-Lampe.

*) *Anm. b. d. Korr.*: Zufällig fanden wir bei der Durchsicht der Literatur eine Arbeit von F. WREDE und F. FEUERRIEGEL, Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 1073 [1933], in der eine Verbindung beschrieben wird, die aus L-Tryptophan mit Acetylchlorid entsteht und als *N,N*-Äthenyltryptophan angesehen wird. Eigenschaften und IR-Spektrum des Tetrachloroaurates der Wredeschen Substanz sind mit denjenigen unserer Verbindung IV identisch.

¹⁷⁾ H. R. SNYDER und F. X. WERBER, J. Amer. chem. Soc. 72, 2962 [1950].

Wir danken der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT sowie dem FONDS DER CHEMIE für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Der eine von uns (P. N. RANGACHARI) erhielt ein Stipendium im Rahmen des INDO-GERMAN INDUSTRIAL COOPERATION SCHEME, wofür er auch hier seinen Dank ausdrücken möchte.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Für die *Papierchromatographie* wurde das Papier Schleicher & Schüll, Nr. 2043b verwendet; im allgemeinen wurde einphasig absteigend chromatographiert, zum Teil aber auch zweiphasig gearbeitet¹⁸⁾. Die Fluoreszenzuntersuchungen wurden unter den UV-Lampen (kürzeste Wellenlänge 366 oder 254 m μ) vorgenommen. Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte auf einem Heiztisch nach Kofler.

Anreicherung der fluoreszierenden Substanzen

100 g des farblosen weißen Pulvers „Aminotrat“ wurden in 100 ccm Wasser gelöst und 80 g Aktivkohle (Carboraffin MERCK) hinzugegeben. Es wurde 6–7 Stdn. mechanisch gerührt und die Kohle abfiltriert. Sie wurde mit dest. Wasser gewaschen und dann mit 80-proz. Essigsäure extrahiert. Den Extrakt dampfte man i. Vak. auf dem Wasserbad bei einer Temperatur von 50–55° ein. Ausb. an festem Rückstand 7.5 g. Das Material wurde in einer kleinen Menge einer Chloroform/Methanol-Mischung gelöst und auf eine Säule gegeben, die mit einem 50fachen Überschuß an Cellulosepulver (WHATMANN ashless cellulose powder, in Chloroform eingerührt) gefüllt war. Zuerst wurde mit Chloroform eluiert, wobei eine blau fluoreszierende Substanz abgelöst wurde, die indes aus der Lösung nicht in reiner Form zu isolieren war. Als zweites Lösungsmittel diente eine Mischung Chloroform/Methanol (1:1), die eine Mischung der blau und gelb fluoreszierenden Substanzen (I und IV) (R_F -Werte 0.08 und 0.58 (Lösungsmittel 5-proz. Ammoniak) bzw. 0.33 und 0.46 (Lösungsmittel 3-proz. wäbr. Ammoniumchloridlösung)) von der Säule ablöste. Aus dem Eluat konnten keine Kristalle gewonnen werden.

Die Einwirkung von Schwefelsäure auf Gemische von L-Tryptophan und Aminosäuren

Z. B. *Tryptophan* und *Serin*: 250 mg L-Tryptophan und 225 mg Serin wurden mit 5 ccm 25-proz. Schwefelsäure bei 105–110° 8 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde mit Wasser verdünnt und die Schwefelsäure mit Bariumcarbonat neutralisiert. Das ausgefallene Bariumsulfat wurde abfiltriert und die Lösung zur Papierchromatographie eingesetzt.

R_F -Werte in 3-proz. NH₄Cl-Lösung

Tryptophan + Arginin	0.32 (braun)		
Tryptophan + Histidin	0.64 (blau)		
Tryptophan + Threonin	0.60 (grüngelb)		
Tryptophan + Serin	0.05 (blau)	0.33 (blau)	0.46 (grüngelb)

Für kleinere Ansätze wurden 25 mg der betreffenden Aminosäuren in 0.5 ccm 25-proz. Schwefelsäure gelöst und in zugeschmolzenen Reagenzgläsern 10 Stdn. im Trockenschrank auf 105–110° erhitzt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

Entsprechende Ansätze wurden mit den anderen natürlich vorkommenden Aminosäuren durchgeführt.

¹⁸⁾ R. TSCHESCHE, G. GRIMMER und F. SEEHOFER, Chem. Ber. 86, 1235 [1953].

1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonssäure-(1.3)
(*Tetrahydroharman-dicarbonssäure-(1.3)*) (VII)

5.3 g *L-Tryptophan* wurden in 420 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst und nach dem Abkühlen auf ungefähr 30° 18 ccm frisch dest. *Brenztraubensäure* hinzugegeben. Am anderen Tage war das Kondensationsprodukt in langen Nadeln ausgefallen. Die Ausbeute an Kristallen betrug nach dem Abfiltrieren, Waschen mit kaltem Wasser und Trocknen im Exsikkator 3.4 g. Nach dem Einengen der Mutterlaugen i. Vak. fielen insgesamt noch 2.2 g Substanz aus. Zum Umkristallisieren wurde die Substanz in Wasser unter schwachem Erwärmen gelöst und die Lösung i. Vak. solange eingeengt, bis erneute Kristallisation erfolgte. Ausb. 5.6 g (79 % d. Th.).

Die Verbindung bildet lange Nadeln, die sich mit der Zeit, wohl unter dem Einfluß des Tageslichtes, gelb färben. Sie ist leicht löslich in wäßrigen Alkalien und Pyridin. In Wasser, Methanol und Äthanol löst sie sich mäßig, während sie in Äther, Chloroform, Essigester und dgl. unlöslich ist. Starke Säuren nehmen sie unter Salzbildung auf, wobei bald Zersetzung erfolgt. Schmp. 212–214° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: $-85 \pm 3^\circ$ (Pyridin, $c = 1.00$); $[\alpha]_D^{25}$: $-40 \pm 3^\circ$ (Pyridin/Wasser (1:1), $c = 1.00$).

$\lambda_{\max} = 222.5 m\mu$, $\log \epsilon = 4.517$; $274 m\mu$, $\log \epsilon = 3.901$; $281 m\mu$, $\log \epsilon = 3.903$; $290 m\mu$, $\log \epsilon = 3.814$ (Methanol, $c = 0.0184$ bzw. 0.0092 g/l).

$C_{14}H_{14}N_2O_4$ (242.3) Ber. C 61.31 H 5.15 N 10.21 Gef. C 60.97 H 5.57 N 9.68

R_F -Werte	Lösungsmittel (Fluoreszenz stets grüngelb)
0.60 und 0.86	5-proz. wäßr. Ammoniak
0.47 und 0.62	3-proz. Ammoniumchloridlösung
0.04 und 0.17	Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:3) (einphasig)
0.23 und 0.73	Pentanol/Wasser (zweiphasig)

Beim Einsatz einer geringeren Menge Brenztraubensäure (5 ccm auf 2.853 g *L-Tryptophan*) wurde vorwiegend die Form mit dem R_F -Wert 0.86, Laufmittel 5-proz. wäßr. Ammoniak, erhalten. Ausb. 2.663 g (70.5 % d. Th.). Schmp. 212–214° (Zers.). Bei manchen Ansätzen Werte bis zu 225° (Zers.).

Durch Umkristallisieren waren keine Schmelzpunkterhöhungen zu erreichen. $[\alpha]_D^{25}$: $-102 \pm 3^\circ$ (Pyridin/Wasser (1:1), $c = 1.00$).

Zersetzung der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonssäure-(1.3) (VII)

4.00 g VII wurden in 30 ccm 25-proz. Schwefelsäure gelöst und langsam auf 90° erwärmt. Nachdem die Kohlendioxydentwicklung lebhaft eingesetzt hatte, wurde die Temperatur wieder auf 80° gesenkt, und nach insgesamt $1\frac{1}{2}$ –2stdg. Erhitzen abschließend $\frac{1}{4}$ Stde. lang auf 95° gehalten. Nach Abkühlung der Reaktionslösung wurde mit Wasser verdünnt und die Schwefelsäure durch Zugabe von Bariumcarbonat entfernt. Aus dem Filtrat mußte eine kleine Menge in Lösung gegangenes Barium durch Zugabe einer gerade genügenden Menge verd. Schwefelsäure gefällt werden. Nach dem Abfiltrieren wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, wobei eine gelblichweiße feinkristalline Masse zurückblieb. Ausb. 2.75 g.

Die Kristallmasse ist leicht löslich in Wasser, schlechter in Methanol und Äthanol. In Äther und Chloroform gehen nur Spuren einer im UV-Licht blau fluoreszierenden Verbindung über, die später als Harman erkannt werden konnte. Die Substanz ist leicht löslich in Ammoniak und auch in starken Säuren.

*Versuch zur Trennung des Zersetzungsgemisches durch Veresterung.
Isolierung des 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3)-methylesters*

2.115 g des oben beschriebenen Zersetzungsgemisches wurden analog der Vorschrift von H. R. SNYDER und Mitarbb.¹¹⁾ in 10 ccm absol. Methanol gelöst. Nachdem in die Lösung bis annähernd zur Sättigung trockener Chlorwasserstoff eingeleitet worden war, erhitze man 1 Stde. unter Rückfluß. Nach Entfernen des Chlorwasserstoffes i. Vak. wurde das zurückbleibende Salzgemisch zur Reinigung mit Essigester gewaschen, danach in Wasser gelöst und zur Freisetzung der Ester mit einer ausreichenden Menge Natriumcarbonatlösung versetzt. Die abgeschiedenen Ester wurden in Äther aufgenommen, der anschließend mit wenig Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet wurde. Nach dem Abdestillieren blieb eine schaumige Masse zurück. Ausb. 1.750 g.

1.7 g davon wurden in wenig Chloroform gelöst und an 4 g Aluminiumoxyd adsorbiert. Die Chromatographie erfolgte an einer Säule, gefüllt mit 40 g Aluminiumoxyd (neutral WOELM), auf die oben das Adsorbat aufgebracht worden war.

Lösungsmittel	Lösungsmittelmenge	Eindampfdruckstand
Petroläther Sdp. 60—80°	200 ccm	
Petroläther/Benzol (1:3)	200 ccm	
Benzol	200 ccm	Spuren einer intensiv blau fluoreszierenden Verbindung
Benzol/Chloroform (9:1)	100 ccm	13 mg Ester
Benzol/Chloroform (8:2)	200 ccm	195 mg Ester
Benzol/Chloroform (1:1)	100 ccm	3 mg
Chloroform	150 ccm	8 mg
Chloroform/Methanol (9:1)	200 ccm	10 mg
Chloroform/Methanol (4:1)	200 ccm	5 mg
Chloroform/Methanol (1:1)	250 ccm	11 mg
Methanol	250 ccm	150 mg
Methanol/Eisessig (99:1)	200 ccm	800 mg

} Keine einheitlichen Substanzen, sondern Gemische

Die durch Benzol/Chloroform (9:1) und (8:2) eluierten Fraktionen (208 mg) löste man in Benzol und versetzte sie zwecks Kristallisation bis zur beginnenden Trübung mit Petroläther. Auch durch Lösen in Dioxan und Zugabe einer entsprechenden Menge Wasser ließen sich Kristalle erhalten: kurze, gedrungene Prismen. Schmp. 191—192°. $[\alpha]_D^{25}$: $-29.6 \pm 3^\circ$ (Methanol, $c = 0.90$). R_F -Wert 0.08 (Lösungsmittel: 5-proz. Ammoniak und 3-proz. Ammoniumchloridlösung; Fluoreszenz blauviolett).

$\lambda_{\max} = 225 m\mu$, $\log \epsilon = 4.499$; $279.5 m\mu$, $\log \epsilon = 3.863$; $290 m\mu$, $\log \epsilon = 3.763$ (Methanol, $c = 0.0182$ bzw. $0.0091 g/l$).

$C_{14}H_{16}N_2O_2$ (244.3) Ber. C 68.83 H 6.60 N 11.47 Gef. C 69.22 H 6.74 N 11.45

Der Ester wurde durch 3stdg. Kochen mit methanol. Kalilauge verseift. Das erhaltene Reaktionsprodukt zeigte den für die 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (V) charakteristischen violetten und nur im kurzwelligigen UV-Licht von 254 $m\mu$ sichtbaren Fleck mit einem R_F -Wert von 0.68 (Laufmittel 5-proz. Ammoniak).

Bei der Chromatographie des rohen Esters mit 3-proz. Ammoniumchloridlösung war daneben der Methylester der 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) zu erkennen. R_F -Wert 0.52, Fluoreszenz gelb.

*Isolierung der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (Substanz V)
aus dem Zersetzungsgemisch*

Das Zersetzungsgemisch der Dicarbonsäure VII löste man durch Erwärmen in einer ausreichenden Menge Methanol. Nach Zugabe des gleichen Volumens Chloroform wurde die Lösung auf dem Wasserbad i. Vak. eingeeengt. Dieser Vorgang wurde wiederholt, bis die Lösung sich trübte und feine Nadeln sich abzuscheiden begannen. Nach längerem Kühlen wurde filtriert, die Kristalle mit einer Mischung von eiskaltem Chloroform und Methanol (4:1) gewaschen und die Kristallisation auf gleiche Weise noch einmal wiederholt. Zuletzt löste man die Kristalle unter Erwärmen in Wasser und engte die Lösung i. Vak. bis zur beginnenden Kristallisation ein.

Die Verbindung kristallisierte in weißen Nadeln, die in Wasser mäßig, in Methanol und Äthanol schwerer löslich sind. In anderen üblichen organischen Lösungsmitteln wie Äther, Chloroform usw. ist die Verbindung unlöslich. Auch von reinem Pyridin wird sie nur schlecht aufgenommen, dagegen löst sie sich leicht in 50-proz. Pyridin, Ammoniak und in wäßrigen Alkalien. Schmp. 296–298°.

Der Misch-Schmp. mit einer authent. Probe der Verbindung zeigte keine Depression, die R_F -Werte waren identisch. Die Fluoreszenz ist nur im kurzwelligen UV-Licht von 254 μ wahrnehmbar.

R_F -Werte	Chromatographiergemische
0.69	5-proz. Ammoniak
0.64	3-proz. Ammoniumchloridlösung
0.63	3-proz. Essigsäure
0.76	Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:4) (einphasig)
0.92	Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:3) (einphasig)
0.49	Pentanol/Wasser (zweiphasig)
0.72	n-Octanol/Pentanol/Wasser/Formamid (6:2:8:2) (zweiphasig)

$[\alpha]_D^{23-3}$: $-115 \pm 3^\circ$ (Pyridin/Wasser (1:1), $c = 1.00$); $[\alpha]_D^{25}$: -115° (Pyridin/Wasser (1:1), $c = 0.505$), authent. Wert nach W. A. JACOBS und L. C. CRAIG¹⁰).

λ_{\max} = 221 μ , $\log \epsilon = 4.510$; 273 μ , $\log \epsilon = 3.799$; 248.5 μ , $\log \epsilon = 3.795$; 289 μ , $\log \epsilon = 3.719$ (Methanol, $c = 0.0176$ g/l).

$C_{13}H_{14}N_2O_2$ (230.3) Ber. C 67.81 H 6.13 N 12.17 Gef. C 67.93 H 6.43 N 11.76

Die Darstellung der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (V) für den vorstehenden Vergleich erfolgte mit geringen Abänderungen nach W. A. JACOBS und L. C. CRAIG¹⁰). Eine papierchromatographische Untersuchung der Kondensationsmutterlauge ergab neben dem gewünschten Produkt einwandfrei das Vorhandensein der gelbgrün fluoreszierenden 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (IV). (R_F -Wert 0.56, Laufmittel 5-proz. Ammoniak).

Kondensation von L-Tryptophan mit Propionaldehyd zur 1-Äthyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(3)

Die Kondensation wurde analog der Vorschrift von W. A. JACOBS und W. C. CRAIG¹⁰) vorgenommen.

Zu einer Lösung von 1 g L-Tryptophan in 5 ccm 1*n* H₂SO₄ und 20 ccm Wasser wurden 3 ccm frisch dest. Propionaldehyd gegeben. Nachdem die Lösung 1 $\frac{1}{2}$ Stdn. auf 60° gehalten worden war, wurde noch 2 Stdn. auf 100° erhitzt, anschließend mit Wasser verdünnt und die Schwefelsäure durch vorsichtige Zugabe gesättigter Bariumhydroxydlösung entfernt. Nach Filtration des Bariumsulfats wurde i. Vak. zur Trockne gedampft. Ausb. 1.05 g (89 % d. Th.)

Die papierchromatographische Untersuchung zeigte das gleichzeitige Vorhandensein der 1-Äthyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) und des 1-Äthyl-2-carbolins an (siehe Tab. 2, S. 1736).

Darstellung der 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (IV)

20 g Polyphosphorsäure*) wurden in einem 50-ccm-Kjeldahl-Kolben geschmolzen. Nach dem Erkalten wurden vorsichtig 8 g verflüssigtes Phosphoroxybromid hinzugegeben und durch leichtes Erwärmen und Schwenken eine innige Mischung erreicht. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurden durch einen Trichter 1.6 g gut getrocknetes *Acetyltryptophan* zugegeben²⁰. Durch vorsichtiges Rühren und Erwärmen wurde gut durchmischt und nun langsam auf 60–70° für 2½ Stdn. erhitzt. Bald setzte eine starke Bromwasserstoffentwicklung ein, die sich nach 1½ Stdn. wieder verringerte. Nach dem Abkühlen löste man die Reaktionsmischung in viel Wasser, wobei auf eine nicht zu starke Erhitzung zu achten ist. Eine rötlichbraune Färbung der Reaktionslösung nach dem Verdünnen ist als Zeichen für einen günstigen Verlauf zu werten. Die Lösung wurde nun nach Abfiltrieren unlöslicher Anteile auf eine Dowex-50-Austauschersäule ausreichender Kapazität (H⁺-Form) gegeben. Hierbei hielt der Austauscher die entstandene 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) zurück, während Bromwasserstoffsäure und die Phosphorsäuren durchliefen. Nachdem die Mineralsäuren durch dest. Wasser vom Austauscher entfernt worden waren, wurde durch ausgiebiges Behandeln mit 5-proz. Ammoniak das Reaktionsprodukt von der Säule abgelöst. Beim Einengen der Lösung i. Vak. fiel die 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (IV) in Nadeln aus. Zum Umkristallisieren wurde die Substanz in konz. Ammoniak gelöst und die Lösung i. Vak. wieder eingengt. Auch aus Methanol oder 50-proz. Pyridin ließ sich die Säure umkristallisieren. Die entsprechende Verbindung, ausgehend vom DL-Tryptophan-acetat, wurde auf gleichem Wege und unter denselben Bedingungen dargestellt. Ausb. 0.79 g (53.2 % d. Th.). Schmp. 198–199°.

C₁₃H₁₂N₂O₂ (228.2) Ber. C 68.41 H 5.30 N 12.27 Gef. C 68.20 H 5.18 N 12.27

Die Verbindung kristallisiert in gelben Nadeln (Wasser, Alkohol) oder in kurzen gerungenen Prismen (Pyridin/Wasser (1:1)). In wäßrigen Alkalien und konz. Ammoniak löst sie sich leicht, in Wasser, Pyridin, Methanol und Äthanol ist sie mäßig löslich, während sie in Äther, Chloroform, Essigester und dergl. unlöslich ist.

1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (IV)	<i>R_F</i> -Werte		Entsprechende Verbindung im Caseinhydrolysat	Chromatographiergemische
	Zersetzungsprodukt der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonsäure-(1.3) (VII)			
0.56	0.56	0.58	5-proz. Ammoniak	
0.48	0.48	0.47	3-proz. Ammoniumchlorid	
0.68	0.68	0.68	Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:4) (einphasig)	
0.23	0.23	0.24	Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:3) (einphasig)	
0.56	0.56	0.56	3-proz. Essigsäure	

Fluoreszenz: Grüngelb

*) Die Polyphosphorsäure wurde nach F. UHLIG¹⁹) hergestellt. Sie war durch längeres Aufbewahren bereits fest geworden.

¹⁹) F. UHLIG, *Angew. Chem.* **66**, 435 [1954].

²⁰) C. P. BERG, W. C. ROSE und C. S. MARVEL, *J. biol. Chemistry* **85**, 209 [1929].

$\lambda_{\max} = 208 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4.247$; $243.5 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4.007$; $350 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4.257$ (Methanol, $c = 0.0175 \text{ g/l}$).

Bei der Einwirkung von Brenztraubensäure, Acetaldehyd und anderer dehydrierender Verbindungen wurde aus der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonsäure-(1.3) und der 3-Monocarbonsäure ebenfalls, wie der nachfolgende papierchromatographische Vergleich ergab, die 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) gebildet. Die Verbindung ist auch im Caseinhydrolysat vorhanden.

Darstellung der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-carbonsäure-(1)

Diese zum Vergleich benötigte Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift von G. HAHN und Mitarbb.^{13b)} durch Kondensation von Tryptamin mit Brenztraubensäure bereitet. Zers.-P. 220°. Ausb. 66 % d. Th.

R_F -Wert 0.73 (Fluoreszenz grünelb; in kurzwelligem UV-Licht violett fluoreszierend. Laufmittel 5-proz. Ammoniak). Da bei der Papierchromatographie stets gleichzeitig Harmalan- und Tetrahydroharmanflecken auftauchen, ist wahrscheinlich die eigentliche Fluoreszenz auch violett.

Darstellung von 1-Methyl-2-carbolin (Harman) (1)

Das für den papierchromatographischen Vergleich benötigte Harman wurde nach D. G. HARVEY und W. ROBSON¹²⁾ in der von R. NEU¹⁵⁾ beschriebenen Überarbeitung dargestellt.

Nachweis des Harmans (1) unter den Zersetzungsprodukten der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonsäure-(1.3) (VII) und im Caseinhydrolysat „Aminotrat“ durch papierchromatographischen Vergleich

Harman (1)	R_F -Werte Zersetzungs- produkt von VII	„Aminotrat“	Chromatographiergemische
0.08	0.08	0.08	5-proz. Ammoniak
0.35	0.35	0.33	3-proz. Ammoniumchloridlösung
0.88	0.88	0.85	Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:4) (einphasig)
0.15	0.15	0.15	n-Octanol/Pentanol/Wasser/Formamid (6:2:1:4) mit Pyrrolidin (zweiphasig)
0.50	0.50	0.50	n-Octanol/Pentanol/Wasser/Formamid (6:2:1:4) (zweiphasig)
0.45	0.45	0.45	Isooctanol/Pentanol/Wasser/Formamid (6:2:8:2) (zweiphasig)
0.02	0.02	0.02	Pentanol/Wasser (zweiphasig)
0.50	0.51	0.50	3-proz. Essigsäure
0.85	0.84	0.84	Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:3) (einphasig)

Fluoreszenz: Blau

Die Darstellung von 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin (Tetrahydroharman) erfolgte durch Kondensation von Tryptamin mit Acetaldehyd nach S. AKABORI und K. SAITO¹⁴⁾ oder durch Reduktion von Harman mittels Natriums nach R. NEU¹⁵⁾.

Zur Reinigung des Tetrahydroharmans wurde es nach Lösen in Chloroform an Aluminiumoxyd adsorbiert, dieses oben auf eine Aluminiumoxydsäule gebracht und chromatographiert. Die Ablösung des Tetrahydroharmans erfolgte mit Chloroform, nachdem zuvor mit Benzol

gelbfluoreszierende Verunreinigungen eluiert worden waren. Eine weitere Reinigung erfolgte darauf durch Umkristallisieren aus Cyclohexan und aus 50-proz. Alkohol. Schmp. 182 – 184°.

R_F -Wert 0.48 (Laufmittel 5-proz. Ammoniak). Fluoreszenz: Violett. Nur im kurzwelligen UV-Licht von 254 μ sichtbar.

Nachweis des Dihydroharmans (Harmalan) (II) unter den Zersetzungsprodukten der 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonsäure-(1.3) (VII) und im Caseinhydrolysat „Aminotrat“ durch papierchromatographischen Vergleich

Das Harmalan wurde hergestellt nach E. SPÄTH und E. LEDERER¹⁶⁾.

Harmalan (II)	R_F -Werte Zersetzungs- produkt von VII	„Aminotrat“	Chromatographiergemische
0.18	0.18	0.18	5-proz. Ammoniak
0.46	0.46 *)	0.46 *)	3-proz. Ammoniumchloridlösung
0.09	0.09	0.09	Pentanol/Wasser (zweiphasig)

Fluoreszenz: Grüngelb

*) Überdeckt durch 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (IV).

Darstellung von Harman (I) aus 1-Methyl-1.2.3.4-tetrahydro-2-carbolin-dicarbonsäure-(1.3) (VII)

0.20 g VII und 0.25 g Maleinsäure wurden in 10 ccm Wasser durch Erwärmen gelöst und 200 mg Palladium auf Kohle (10 %) hinzugegeben. Anschließend erhitze man 6 Stdn. unter Rückfluß, wobei eine Decarboxylierung zu beobachten war. Nach dem Erkalten wurde mit Natronlauge alkalisch gemacht und das gebildete Harman mit viel Äther eluiert. Nach dem Abdestillieren des Äthers verblieben 81 mg (61 %) Reaktionsprodukt, welches leicht durch Umkristallisieren gereinigt werden konnte. Auch die Dehydrierung mit Kaliumdichromat in essigsaurer Lösung analog der Vorschrift von D. G. HARVEY und W. J. ROBSON¹²⁾ lieferte bei vorsichtigem Arbeiten Harman in gleichen Ausbeuten.

Veresterung der 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) (IV) und Bildungsweise der 1-Methyl-2-carbolin-carbonsäure-(3) (III)

2 g 1-Methyl-3.4-dihydro-2-carbolin-carbonsäure-(3) wurden in 50 ccm absol. Methanol suspendiert und bei 0° Chlorwasserstoff eingeleitet, bis die Substanz in Lösung gegangen war. Nach Einleiten von Chlorwasserstoff während einer weiteren halben Stde. wurde die Lösung 1 Stde. stengelassen. Die Chromatographie einer Probe ergab, daß die Hauptmenge der Säure bereits verestert war. I. Vak. wurden nun Methanol und Chlorwasserstoff weitgehend entfernt, wobei darauf zu achten ist, daß die Wasserbadtemperatur nicht über 40° ansteigt. Der Rückstand wurde vorsichtig mit einer ausreichenden Menge gerätigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und die Lösung mit Äther extrahiert. Nach Trocknen und Entfernen des Äthers hinterblieb der Ester in schaumiger Form. Ausb. 1.5 g (75 % d. Th.). Fluoreszenz: Gelb. R_F -Wert 0.52 (Laufmittel 3-proz. Ammoniumchloridlösung).

Verseifung mit alkohol. Kalilauge ergab wieder die Säure. Eine Reinigung mittels Aluminiumoxyds gelang nicht, da dadurch Verseifung in großem Umfang erfolgte. Gleichzeitig wurde dabei ein blaufluoreszierender Ester gebildet, besonders in Gegenwart dehydrierender Substanzen. R_F -Wert 0.05, Laufmittel 3-proz. Ammoniumchloridlösung. Der Schmp. 248° entspricht dem authent. Wert des 1-Methyl-2-carbolin-carbonsäure-(3)-methylesters¹¹⁾.

Bei Verseifung mit alkohol. Kalilauge erfolgte Bildung der blaufluoreszierenden Harman-carbonsäure-(3) (III). R_F -Wert 0,25, Laufmittel 5-proz. Ammoniak.

Eine qualitative Auswertung des UV-Spektrums des Esters ergab Übereinstimmung mit dem in der Literatur beschriebenen Harmanspektrum²¹⁾. $\lambda_{\max} = 236 \text{ m}\mu$, $270 \text{ m}\mu$; kleinere Maxima $\lambda_{\max} = 331 \text{ m}\mu$, $345 \text{ m}\mu$.

Zum Vergleich wurde die Ausmessung des Harmanspektrums in Methanol wiederholt und die genaue Lage der Maxima bestimmt: $\lambda_{\max} = 212 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4.287$; $234 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4.535$; $287.5 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4.171$; $335 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 3.607$; $348.5 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 3.620$ (Methanol, $c = 0.0142$ bzw. 0.0071 g/l).

²¹⁾ H. SCHMID, A. EBNÖTHER und P. KARRER, *Helv. chim. Acta* **33**, 1488 [1950].

EUGEN BAMANN, HEINZ TRAPMANN und ANA ROTHER

Über die Hydrolyse von Dipeptiden in Anwesenheit von Lanthan-, Cer(III)- und Cer(IV)-Ionen

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München

(Eingegangen am 13. Mai 1958)

Die Peptidbindung in Dipeptiden wird in Anwesenheit geeigneter Metallionen gelöst. — Der metallionenkatalytischen Spaltung liegt die Bildung eines zerfallsfähigen Reaktionszwischenproduktes durch koordinative Bindung des Katalysators an die freien Elektronenpaare des Amino- und des Carbonamid-Stickstoffes des Dipeptids zugrunde. — Die „peptidatische“ Wirksamkeit der Katalysatoren nimmt in der Reihenfolge $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{La}^{3+}$ ab. — Für die geprüften Dipeptide ergibt sich eine Stabilitätsreihe, ähnlich wie sie früher bei der enzymatischen Spaltung und neuerdings bei der Hydrolyse mittels Ionenaustauscher gefunden worden ist.

Die C—N-Bindung in Dipeptiden wird im schwach alkalischen Milieu und bei niederen Temperaturen (37°) in Anwesenheit von Cer(III)- sowie von Cer(IV)-Ionen gelöst. Bei Lanthan tritt diese „peptidatische“ Aktivität im allgemeinen erst bei etwas höheren Temperaturen (70°) in Erscheinung¹⁾. Die Hydrolyse erfolgt weitaus am raschesten in Gegenwart von Cer(IV)-Ionen, sehr gut in Anwesenheit von Cer(III)-Salzen, weniger gut unter Mitwirkung von Lanthanionen.

Das Reaktionszwischenprodukt dieser Katalyse könnte so entstehen, daß sich Lanthan- bzw. Cer(III)- bzw. Cer(IV)-Ionen mit dem Dipeptid über die Carboxylgruppe in Form einfacher Salze vereinigen: Das zerfallende Zwischenprodukt würde sich danach bei den drei Katalysatoren nach gleicher Art durch Anlagerung an die Carboxylgruppe bilden und die den Umsatz bedingenden Faktoren (Affinität und

¹⁾ E. BAMANN, A. ROTHER und H. TRAPMANN, *Naturwissenschaften* **43**, 326 [1956].