

## Über Peptide, XVI

Glycyl-L-valyl-glycyl-L-alanyl-glycyl-L-tyrosin<sup>1</sup>

Von

Helmut Zahn und Norman H. La France<sup>2</sup>

Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg und dem Deutschen Wollforschungsinstitut an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

(Der Schriftleitung zugegangen am 19. Februar 1960)

Das in der neutralen Fraktion des amorphen Bereichs von Seidenfibroin vermutete Hexapeptid Glycyl-L-valyl-glycyl-L-alanyl-glycyl-L-tyrosin wurde aus Carbobenzoxy-glycyl-L-valyl-glycin und L-Alanyl-glycyl-L-tyrosin synthetisiert.

E. Fischer<sup>3</sup> und besonders E. Abderhalden<sup>4</sup> isolierten mit großer Mühe aus sauren Partialhydrolysaten von Seidenfibroin folgende Peptide: Gly-Ala, Ala-Gly, Gly-Tyr, Ala-Gly-Tyr und Gly-Ala-Gly-Tyr. Das Tetrapeptid konnten sie allerdings nicht eindeutig definieren. Zuber<sup>5</sup> wies in Fibroinhydrolysaten Val-Gly und Gly-Val-Gly nach; auch fand er die von Fischer und Abderhalden genannten Di- und Tripeptide.

Unter den durch Chymotrypsineinwirkung erhaltenen Hydrolyseprodukten des Fibroins fand Zuber chromatographisch ein Oligopeptid, dessen *N*-terminale Aminosäure Glycin und *C*-terminale Aminosäure Tyrosin war. Da das Peptid ebenfalls Alanin und Valin enthielt, stellte er in Verbindung der obigen Hydrolysenbefunde mit der Paulingschen Hypothese<sup>6</sup>, die eine Gly-X-Gly-X-Gly-X-Aminosäuresequenz fordert, für dieses Peptid die Formel Gly-Val-Gly-Ala-Gly-Tyr auf. Wegen der geringen Menge an isolierter Substanz konnte die Aminosäurefolge nicht aufgeklärt werden.

Hieraus ergab sich als Zielsetzung der vorliegenden Arbeit, das Hexapeptid mit der vermuteten Sequenz zu synthetisieren, um es als Modellschubstanz mit dem isolierten Peptid vergleichen zu können.

<sup>1</sup> XV. Mitteil.: H. Zahn u. N. H. La France, Liebigs Ann. Chem. **330**, 37 [1960].

<sup>2</sup> Teil der Diplomarb. N. H. La France, Univ. Heidelberg 1957.

<sup>3</sup> E. Fischer u. E. Abderhalden, Ber. dtsh. chem. Ges. **40**, 3544 [1907].

<sup>4</sup> a) E. Abderhalden, diese Z. **62**, 315 [1909]; b) **63**, 401 [1909]; c) **72**, 1 [1911]; d) E. Abderhalden u. E. Schwab, ebenda **139**, 170 [1924]; e) E. Abderhalden, R. Abderhalden, H. Weidle, E. Baertich u. W. Morneweg, Z. Fermentforsch. **16**, 98 [1938].

<sup>5</sup> H. Zuber, Unveröffentl. Arbeiten, Heidelberg 1956.

<sup>6</sup> R. E. Marsh, R. B. Corey u. L. Pauling, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **16**, 1 [1955].

## Synthese des Hexapeptids

Der Syntheseweg ist im Schwyzer-Schema<sup>7</sup> wiedergegeben.

Gly	Val	Gly	Ala	Gly	Tyr
Z <input type="text"/> N <sub>3</sub>	H <input type="text"/> OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		Z <input type="text"/> N <sub>3</sub>	H <input type="text"/> OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	
Z <input type="text"/>	<input type="text"/> OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		Z <input type="text"/>	<input type="text"/> OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	
Z <input type="text"/>	<input type="text"/> NH · NH <sub>2</sub>		Z <input type="text"/>	<input type="text"/> NH · NH <sub>2</sub>	
Z <input type="text"/> N <sub>3</sub>	H <input type="text"/> OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Z <input type="text"/> N <sub>3</sub>	H <input type="text"/> OPz		
Z <input type="text"/> OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		Z <input type="text"/>	<input type="text"/> OPz		
Z <input type="text"/> OH	H <input type="text"/>		<input type="text"/> OH		
Z <input type="text"/>			<input type="text"/> OH		
H <input type="text"/>			<input type="text"/> OH		

Z = Carbobenzoxyrest; Bz = Benzyl.

Tab. 1. Eigenschaften der Peptide.

	Gly-L-Val-Gly I	L-Ala-Gly-L-Tyr II	Gly-L-Val-Gly-L-Ala-Gly-L-Tyr III
Schmp. . . . .	222—226° (Zers.)	202—204° a) u. 220—230° (Zers.)	206—208° (Zers.)
Kristallform . . . . .	Nadeln	Nadeln	amorph
Mole Kristallwasser . . . . .	—	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
Stärkste Röntgenreflexe in Å . . . . .	5,64; 4,39 3,70—3,86	5,27; 4,70 3,86; 3,56	5,64; 4,57— 4,67; 3,48
Löslichkeit in Wasser . . . . .	sehr gut	sehr gut	sehr gut
in Methanol . . . . .	unlöslich	unlöslich	unlöslich
$[\alpha]_D^{25}$ in Wasser ( $c = 2$ ) . . . . .	—43,5°	+53,0° b)	—18,25°
$R_F$ -Werte in SBA <sup>8</sup> . . . . .	0,28	0,36	0,32
$R_F$ -Werte in 80proz. Phenol . . . . .	0,66	0,73	0,94
$p_K$ -Werte  . . . . .	—	9,78	9,80
—NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> . . . . .	8,02	7,92	7,75
—COOH . . . . .	3,45	3,15	3,32
$\Delta p_K$ (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ··· COOH) . . . . .	4,57	4,77	4,43

a) Lit.: 140° (Zers.)<sup>9</sup>; 145° (Zers.)<sup>4c</sup>; b) Lit.: +41,9°<sup>9</sup>, +45,1°<sup>4c</sup>.

Die zur Synthese benötigten Ausgangsprodukte, das noch nicht beschriebene Carbobenzoxy-glycyl-L-valyl-glycin und das von Fischer<sup>9</sup> auf anderem Wege dargestellte L-Alanyl-glycyl-L-tyrosin, wurden mittels

<sup>7</sup> R. Schwyzer u. P. Sieber, *Helv. chim. Acta* **40**, 624 [1957].<sup>8</sup> SBA: sek.-Butanol/Ameisensäure/Wasser 75:15:10; R. Acher, J. Chauvet C. Crocker, U.-R. Laurila, J. Thaureaux u. C. Fromageot, *Bull. Soc. Chim. biol.* **36**, 167 [1954].<sup>9</sup> E. Fischer, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **40**, 3704 [1907].

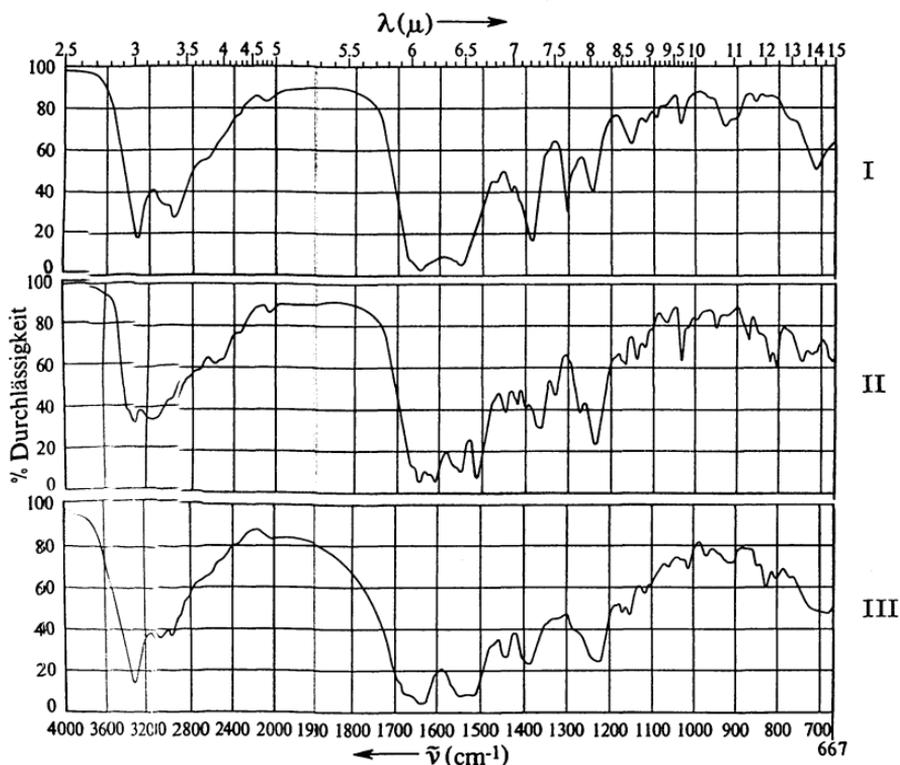
der Curtiuschen Azidmethode<sup>10</sup> gewonnen. Das Triäthylammoniumsalz des  $\gamma$ -Tripeptids wurde nach Boissonnas<sup>11</sup> in Tetrahydrofuran mit Chlorameisensäure-äthylester in das gemischte Anhydrid übergeführt und dieses mit dem Natriumsalz des Tripeptids zum Carbobenzyloxy-Hexapeptid verknüpft. Die katalytische Hydrierung zum freien Peptid gelang in 50proz. Alkohol mit guter Ausbeute. Das Hexapeptid gewannen wir in Gestalt eines amorphen,  $\frac{1}{2}$  Mol Wasser enthaltenden Pulvers.

### Eigenschaften

In Tab. 1 sind einige Eigenschaften des Hexapeptids und zweier Tripeptide aus dessen Sequenz vergleichend gegenübergestellt.

Die Debye-Scherrer Aufnahme des Hexapeptids zeigt im Gegensatz zu den linienreichen Debyeogrammen der Tripeptide nur einige ziemlich unscharfe Reflexe. Der stärkste Reflex liegt in dem einen von der Schichtenstruktur des Fibroins geforderten Bereich von  $4,6 \pm 0,2\text{\AA}$ .

Die Ergebnisse der Infrarotspektroskopie zeigen die Abbildung und Tab. 2.



IR-Spektren von Glycyl-L-valyl-glycin (I), L-Alanyl-glycyl-L-tyrosin  $\cdot \frac{1}{2}$  H<sub>2</sub>O (II) und Glycyl-L-valyl-glycyl-L-alanyl-glycyl-L-tyrosin  $\cdot \frac{1}{2}$  H<sub>2</sub>O (III) in KBr.

<sup>10</sup> Th. Curtius, J. prakt. Chem. 70, 57, 194 [1904].

<sup>11</sup> R. A. Boissonnas, Helv. chim. Acta 34, 874 [1951].

Tab. 2. Frequenzzuordnung (Wellenzahlen in  $\text{cm}^{-1}$ ).

Zuordnung	I	II	III
N—H Valenz . . . . .	3300 3070	3370 3300 3130	33 30
N—H Valenz von $\text{NH}_3^{\oplus}$ . . . . .	2095	2060	
Amid I . . . . .	1643	1645	16
Amid II . . . . .	1546	1550	15
Symm. $\text{COO}^{\ominus}$ Vibration (Carboxylat)	1388	1370	13

Bei dem Versuch, die beobachteten Banden zuzuordnen, hielten uns an die Arbeiten von Blout und Linsley<sup>12</sup>, Ellenbogen<sup>13</sup> so an das Handbuch von Bellamy<sup>14</sup>. Bei einer Reihe von Banden war eine Zuordnung nicht möglich. Die von der Ammoniumstruktur rührende Bande ist schon bei den Tripeptiden wenig ausgeprägt schlecht zu erkennen, beim Hexapeptid fehlt sie ganz.

### Vergleich des synthetisierten Hexapeptids mit dem Hydrolysenprodukt

Das von Zuber<sup>5</sup> durch enzymatische Spaltung aus dem amorphen Bereich des Seidenfibroins in „chromatographischen“ Mengen isolierte Peptid hatte in SBA<sup>8</sup> und in Lutidin/Kollidin 1:1 denselben Lauf wie die mitgelaufenen Proben unseres Hexapeptids. Bei der Hochspannungs-Papierelektrophorese (7000 Volt, 14 mA, Ameisensäure-Eisensäure-Puffer,  $p_{\text{H}}$  1,9) zeigte sich jedoch, daß das synthetische Peptid weiter wanderte als das isolierte Peptid. Wir schließen daraus auf Vorliegen eines höheren Peptids, das aus mehr als 6 Aminosäuren besteht.

### Beschreibung der Versuche

#### Glycyl-L-valyl-glycin

1. Carbobenzoxy-glycyl-L-valin-äthylester: 44 g (0,2 Mol) Carbobenzoxy-glycin-hydrazid<sup>15</sup> wurden in einer Mischung von 240  $\text{cm}^3$  Eisessig, 96  $\text{cm}^3$  5*n* HCl und 1 l Wasser gelöst und auf  $-5^{\circ}$  abgekühlt. Unter intensivem Vibrieren ließ man eine wäßr. Lösung von 18 g (0,26 Mol)  $\text{NaNO}_2$  zutropfen, nahm das ausgefallene Azid in 1 l kaltem Äther auf, wusch mit eiskalter 5proz.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie mit Eiswasser und trocknete anschließend kurz über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Nach dem Filtrieren gaben wir die Azid-Lösung zu der getrockneten äther. Lösung von

<sup>12</sup> E. R. Blout u. S. G. Linsley, J. Amer. chem. Soc. **74**, 1946 [1952].

<sup>13</sup> E. Ellenbogen, J. Amer. chem. Soc. **78**, 363 [1956].

<sup>14</sup> L. J. Bellamy, Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution, Verlag D. Steinkopff, Darmstadt 1955.

<sup>15</sup> B. F. Erlanger u. E. Brand, J. Amer. chem. Soc. **73**, 3508 [1951].

29 g (0,2 Mol) frisch destilliertem L-Valin-äthylester (Sdp. <sub>15</sub> 69—70°), der kurz vorher nach Fischer<sup>16</sup> aus dem Hydrochlorid (dargestellt nach Slimmer<sup>17</sup>) freigesetzt wurde. Nach 36 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde mit 0,5*n* HCl, NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vak. eingedampft. Es hinterblieb ein blaßgelbes, zähes Öl. Ausb. 51 g (75% d. Th.).

2. Carbobenzoxy-glycyl-L-valin-hydrazid: 50,4 g (0,15 Mol) Carbobenzoxy-dipeptid-ester, gelöst in 200 cm<sup>3</sup> Äthanol, wurden mit 20 g 93proz. Hydrazinhydrat 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Nach 20 stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert und die Lösung kaltgestellt. Nach 2 Tagen war eine Gallerte entstanden, die weitgehend trocken-gesaugt, mit kaltem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuumexsiccator über H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet wurde. Nochmalige Behandlung der Mutterlauge mit 5 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und Fällen mit Äther ergab eine weitere Fraktion, die mit der ersten zusammen aus Äthanol/Äther und dann aus viel Wasser umkristallisiert wurde. Nadeln vom Schmp. 190—191°. Ausb. 21 g (42,5% d. Th.).

$[\alpha]_{D}^{25}$ :  $-19 \pm 0,5^{\circ}$  ( $c = 2$ , Eisessig).

C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (322,4) Ber. C 55,89 H 6,88 N 17,38

Gef. C 55,92 H 6,83 N 17,66

3. Carbobenzoxy-glycyl-L-valyl-glycin-äthylester: Das in Essigester/Äther 1:1 gelöste Carbobenzoxy-dipeptidazid [aus 19,4 g Carbobenzoxy-dipeptid-hydrazid (60 mMol) und 4,8 g NaNO<sub>2</sub> (70 mMol)] wurde mit 10,3 g (100 mMol) frisch destilliertem Glycin-äthylester<sup>18</sup> (Sdp. <sub>17</sub> 53°) gekuppelt. Nach 24 Stdn. bei Raumtemperatur und 12 Stdn. im Eisschrank erhielten wir das Produkt als Gallerte, die über H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, ein weißes Pulver lieferte. Roh-ausb. 19 g (80,5% d. Th.). Nach dem Umkristallisieren aus Essigester und Äthanol betrug der Schmp. 163—165°.  $[\alpha]_{D}^{25}$ :  $-36 \pm 0,5^{\circ}$  ( $c = 2$ , Eisessig).

C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (393,4) Ber. C 58,00 H 6,92 N 10,64

Gef. C 58,22 H 6,87 N 10,81

4. Carbobenzoxy-glycyl-L-valyl-glycin: 11,8 g (30 mMol) Carbobenzoxy-tripeptid-äthylester wurden in 225 cm<sup>3</sup> Methanol und 18 cm<sup>3</sup> 2*n* NaOH (20% Überschuß) bei 37° innerhalb von 1 Stde. verseift. Nach dem Ansäuern mit 2*n* HCl wurde im Vak. zur Trockne eingedampft. Nach zweimaliger Zugabe von je 50 cm<sup>3</sup> Wasser und jeweiligem Entfernen desselben im Vak. wurde die Substanz aus 1,5 l Wasser umkristallisiert. Kleine weiße Sphärolithe. Ausb. 7,45 g (68% d. Th.). Schmp. 189—191°.  $R_F$  0,46 (in SBN<sup>18</sup>, Chlorverfahren<sup>19</sup>).

$[\alpha]_{D}^{25}$ :  $-9,5 \pm 0,5^{\circ}$  ( $c = 1$ , Aceton)

$[\alpha]_{D}^{25}$ :  $-31,5 \pm 0,5^{\circ}$  ( $c = 1$ ; 0,05*n* NaOH)

C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (365,4) Ber. C 55,88 H 6,34 N 11,50

C 56,13 H 6,62 N 11,81

5. Glycyl-L-valyl-glycin: 2,2 g (6 mMol) Carbobenzoxy-tripeptid wurden in 100 cm<sup>3</sup> Methanol unter Zusatz von einigen Tropfen Eisessig gelöst und mit Palladium-Mohr (aus 1 g PdCl<sub>2</sub>) 2 Stdn. unter kräftigem Vibrieren hydriert. Anschließend wurde filtriert und im Vak. zur Trockne eingedampft. Nach dem Umkristallisieren aus Äthanol/Wasser 4:1 erhielt man büschelig verwachsene Nadeln. Schmp. 222—226° (Zers.). Ausb. 1,2 g (86% d. Th.).

<sup>16</sup> E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 433 [1901].

<sup>17</sup> M. D. Slimmer, Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 401 [1902].

<sup>18</sup> Sek.-Butanol/10proz. Ammoniaklösung 85:15; H. Zahn u. R. Kock-läuner, Biochem. Z. **325**, 339 [1954].

<sup>19</sup> H. Zahn u. E. Rexroth, Z. analyt. Chem. **148**, 181 [1955].

$C_9H_{17}N_3O_4$ (231,3)	Ber.	C 46,74	H 7,41	N 18,17	
	Gef.	C 45,79	H 7,41	N 18,14	Asche 1,5%
	Korr.	C 46,47	H 7,52	N 18,46	

Debye-Scherrer-Aufnahme (Netzebenenabstände in Å, Intensitäten der Reflexe geschätzt): 6,61 (2); 6,40 (2); 5,64 (5); 4,39 (10); 3,86—3,70 (7); 3,39 (1); 3,24 (3); 2,97 (3); 2,84 (2); 2,57 (5); 2,38 (1); 2,19 (1); 2,05 (3).

### L-Alanyl-glycyl-L-tyrosin

1. Carbobenzoxy-L-alanyl-glycin-L-tyrosin-benzylester: 13,23 g (45 mMol) Carbobenzoxy-L-alanyl-glycin-hydrazid<sup>20</sup> (aus dem entsprechenden Äthylester<sup>15</sup> dargestellt) wurden in einem Gemisch aus 100 cm<sup>3</sup> Eisessig, 25 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure und 350 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und bei -5° mit 3,45 g (50 mMol) NaNO<sub>2</sub> unter starkem Vibrieren azidiert. Nach dem Aufnehmen des Azids in 750 cm<sup>3</sup> kaltem Essigester wurde mit NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und die Lösung mit dem aus 15,4 g (50 mMol) L-Tyrosin-benzylester-hydrochlorid<sup>21</sup> durch 5,05 g (50 mMol) Triäthylamin in Chloroform freigesetzten Ester vereinigt. Nach 24 Stdn. wurde aufgearbeitet und im Vak. eingedampft. Es blieb ein chromatographisch einheitlicher Sirup zurück. Ausb. 16 g (67% d. Th.).

2. L-Alanyl-glycyl-L-tyrosin: 16 g (30 mMol) Carbobenzoxy-tripeptid-benzylester wurden in 100 cm<sup>3</sup> Äthanol an Palladium-Mohr unter intensivem Vibrieren hydriert. Die nach dem Filtrieren und Eindampfen im Vak. zurückbleibenden bräunlichen Krusten wurden mehrfach aus Wasser/Äthanol umkristallisiert. Rohausbeute 7,4 g (78% d. Th.). Die farblosen Nadeln schmelzen bei 202—204° unter Gelbfärbung, jedoch bildeten sich bei weiterem Erhitzen (208—210°) aus den Schmelztropfen erneut Nadelchen, die sich zwischen 220—230° zersetzen.

$C_{14}H_{19}N_3O_5 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ (318,3)	Ber.	C 52,81	H 6,33	N 13,22
	Gef.	C 52,76	H 6,36	N 13,47

Debye-Scherrer-Aufnahmen (Netzebenenabstände in Å, Intensitäten der Reflexe geschätzt): 7,49 (3); 5,27 (8); 4,70 (10); 4,35 (2); 3,86 (9); 3,56 (9); 3,30 (4); 3,13 (4); 2,86 (6); 2,34 (3); 2,21 (3); 2,10 (2); 1,93 (1).

### Glycyl-L-valyl-glycyl-L-alanyl-glycyl-L-tyrosin

1. Carbobenzoxy-glycyl-L-valyl-glycyl-L-alanyl-glycyl-L-tyrosin: 2,2 g (6 mMol) Carbobenzoxy-glycyl-L-valyl-glycin (s. S. 147) wurden in 150 cm<sup>3</sup> trockenem Tetrahydrofuran durch Erwärmen gelöst und 0,82 cm<sup>3</sup> (6 mMol) Triäthylamin hinzugegeben. Die Lösung wurde auf -10° abgekühlt und durch Zutropfen von 0,57 cm<sup>3</sup> (6 mMol) Chlorameisensäure-äthylester unter starkem Rühren das Anhydrid dargestellt. Dabei fiel Triäthylammonium-hydrochlorid aus. Nach 10 Min. wurden zu dem gebildeten Anhydrid 2 g (6,3 mMol, 5% Überschuß) L-Alanyl-glycyl-L-tyrosin (s. oben) in 12,6 cm<sup>3</sup> kalter 1*n* NaOH langsam zugesetzt. Dabei wurde darauf geachtet, daß weder der pH-Wert unter 8 sank noch die Temperatur über 0° stieg. Danach wurde unter Weiterführen langsam auf Raumtemperatur erwärmt und nach 2 Stdn. soviel Äther hinzugegeben, daß dieser mit dem Tetrahydrofuran über der wäßr. Lösung des Carbobenzoxy-peptid-Salzes eine abtrennbare Schicht bildete. Beim Ansäuern der wäßr. Phase fiel das Carbobenzoxy-hexapeptid als gelbliches Öl aus, während das überschüssige Tripeptid gelöst blieb. Das Öl war in Wasser und Essigester schwer, in

<sup>20</sup> E. C. Smith u. M. Bergmann, J. biol. Chemistry 153, 627 [1944].

<sup>21</sup> B. F. Erlanger u. R. M. Hall, J. Amer. chem. Soc. 76, 5781 [1954].

Äthanol gut löslich. Trotz chromatographischer Reinheit war es nicht zur Kristallisation zu bringen. Ausb. 3,3 g (83% d. Th.).  $R_F$  0,24 [in SBN<sup>18</sup>; Chlorverfahren<sup>19</sup>; Pauly-Reagenz (als Sprühmittel)].

2. Glycyl-L-valyl-glycyl-L-alanyl-glycyl-L-tyrosin: 3,3 g (5 mMol) Carbobenzoxy-hexapeptid in 100 cm<sup>3</sup> 50proz. Äthanol und einigen Tropfen Eisessig wurden an Palladium-Mohr bei 40° hydriert. Nachdem kein CO<sub>2</sub> mehr entwich wurde filtriert und im Vak. eingedampft. Es hinterblieben bräunliche Krusten, die in etwas Wasser gelöst wurden. Die Lösung wurde durch Kochen mit Tierkohle aufgehellt und das Hexapeptid mit Äthanol als Gallerte gefällt. Nach dem Absaugen und Trocknen über H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> erhielt man 2,1 g eines leicht grau gefärbten Pulvers (79% d. Th.). Nach weiterem Umkristallisieren aus Wasser/Äthanol hatte das Peptid einen Schmp. von 206—208° (Zers.).

C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub> · ½ H<sub>2</sub>O (531,6) Ber. C 51,98 H 6,64 N 15,82  
Gef. C 51,82 H 6,75 N 15,44

Debye-Scherrer-Aufnahmen (Netzebenenabstände in Å, Intensitäten der Reflexe geschätzt): 5,64 (4); 4,57—4,67 (10); 3,48 (3); 2,36 (1); 2,06 (1).

### Physikalische Messungen

Potentiometrische Titration: Zur Bestimmung der  $p_K$ -Werte der funktionellen Gruppen in den Peptiden wurden jeweils 0,5 mMol des Peptids in der äquimolaren Menge 0,1*n* NaOH gelöst. Bei tyrosinhaltigen Peptiden wurde die doppelte Menge Natronlauge eingesetzt, um die phenolische OH-Gruppe zu erfassen. Durch Titration mit 0,1*n* HCl bei Raumtemperatur und laufende Verfolgung der  $p_H$ -Änderung mit einer an „Fixanal“-Puffergemischen geeichten Glaselektrode konnten nach dem graphischen Auftragen der Titrationskurven die  $p_K$ -Werte ermittelt werden. Zur Verhinderung des Zutritts von CO<sub>2</sub> wurden die alkalischen Peptidlösungen in einem weitgehend abgeschlossenen Gefäß unter Stickstoff titriert und magnetisch gerührt.

Infrarot-Spektren: Diese wurden in unserem Laboratorium durch Herrn Dipl.-Chem. G. Heidemann mit einem Perkin-Elmer Gerät, Modell 21, unter Verwendung der KBr-Preßblättchen-Technik und eines NaCl-Prismas aufgenommen.

Röntgendiagramme: Die Debye-Scherrer-Aufnahmen wurden in einer Kammer von 57,3 mm Durchmesser mit nickelgefilterten Cu-K $\alpha$ -Strahlen bei 20 mA und 32 kV von Herrn Dr. H. Steuerle hergestellt.

Die vorliegende Arbeit wurde vom Bundeswirtschaftsministerium (Forschungsvorhaben A 229) sowie von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, in dankenswerter Weise gefördert. Herrn Dr. H. Zuber, jetzt Basel, danken wir für wertvolle Anregungen und die elektrophoretische Prüfung des Hexapeptids.

### Zusammenfassung

Als Vergleichssubstanz zur Konstitutionsermittlung eines aus Seidenfibroin durch Chymotrypsineinwirkung erhaltenen Peptids wurde das Hexapeptid Gly-L-Val-Gly-L-Ala-Gly-L-Tyr synthetisiert und seine Eigenschaften beschrieben. Durch elektrophoretischen Vergleich konnte gezeigt werden, daß das Spaltstück der Seide aus einer längeren Aminosäuresequenz als der dargestellten bestehen muß.

### Summary

The hexapeptide Gly-L-Val-Gly-L-Ala-Gly-L-Tyr has been synthesised and its properties described. It has been used as a model compound in the elucidation of the structure of a peptide obtained by the chymotryptic digestion of silk fibroin. High voltage paper electrophoresis showed that the enzymically produced peptide is not identical with the synthetic compound and consists of more than six amino acid residues.

*Prof. Dr. H. Zahn, Deutsches Wollforschungsinstitut der Technischen Hochschule, Aachen, Veltmanplatz.*

---