

Vergleichende Partialhydrolysen

Je 0.1 mMol (bez. auf das Mol.-Gew. der freien Aminosäure) des feingepulverten Polypeptides wurden mit je 0.5 ccm 2*n* HCl bzw. mit je 0.5 ccm Dichloressigsäure übergossen und bei 37° bebrütet. Für jedes Chromatogramm wurden dieser Lösung bzw. Suspension 10 μ l entnommen.

Je 0.15 mMol Polypeptid (bez. auf das Mol.-Gew. der freien Aminosäure) wurden mit je 0.5 ccm Dichloressigsäure und je 0.25 ccm 9*n* HCl übergossen. In dieser Mischung waren Alanin und α -Aminobuttersäure klar löslich. Die Lösung von Polynorleucin trübte sich beim Hinzufügen der Salzsäure zunächst, wurde jedoch nach dem Umschütteln wieder klar. Im Verlauf der Hydrolyse trat in diesem Falle wieder eine geringe Trübung auf. Das Pseudoleucin löste sich in der angewandten Menge Dichloressigsäure nicht auf, sondern es blieb in der viskosen Lösung eine große Menge stark gequollener Substanz zurück. Auf Zusatz von Salzsäure trübte sich die Lösung schwach.

Über Proteine und deren Abbauprodukte XV

STERISCHE UND INDUKTIVE EFFEKTE BEI DER
DARSTELLUNG UND HYDROLYSE VON POLYPEPTIDEN II

VON KURT HEYNS, HANS FRIEDRICH GRÜTZMACHER und WOLFGANG WALTER

Aus dem Chemischen Institut der Universität Hamburg

Eingegangen am 20. April 1957

Die Kinetik der sauren Hydrolyse synthetischer Polypeptide von Polymerisationsgraden zwischen 15 und 40 wurde untersucht. Dabei wird zwischen dem Abbau der Polypeptidketten von den Enden her sowie der Hydrolyse von Peptidbindungen im Innern der Polypeptidkette unterschieden. Die RG-Konstanten der Hydrolyse der endständigen Peptidbindungen nehmen in der Reihe der aliphatischen Monoamino-monocarbonsäuren mit unverzweigten aliphatischen Seitenketten ständig ab, während sich die RG-Konstanten der inneren Peptidbindungen nach steilem Abfall vom Glycin zur α -Aminobuttersäure bei weiterer Verlängerung der Kette nur noch wenig ändern (Abb. 3). Diese Beobachtungen sowie weiterhin das Verhalten des Poly-DL-phenylalanins, dessen Endgruppen etwa mit der gleichen Geschwindigkeit wie diejenigen der Poly-DL- α -aminobuttersäure und dessen innere Peptidbindungen langsamer als die des Poly-DL-leucins gespalten wurden, lassen sich unter der Vorstellung deuten, daß der Abbau der endständigen Aminosäuren vorwiegend durch die induktiven Effekte der Seitenketten beherrscht wird, während für die Geschwindigkeit der Spaltung der inneren Bindungen sterische Effekte wirksam sind.

In der I. Mitteilung waren 3 Reaktionstypen dargelegt worden, um Ansätze für die Unterscheidung sterischer und induktiver Effekte bei der Bildung und Hydrolyse synthetischer Polypeptide aufzufinden:

- 1) die Bildung der Oxazolid-2.5-dione bei Umsetzung von Aminosäuren mit Phosgen,
- 2) die Polymerisation der Oxazolid-2.5-dione mit Wasser als Starter,
- 3) die Hydrolyse der Polypeptide in homogenem und nicht homogenem System mit Säuren.

Von diesen Reaktionen verdient die dritte im Hinblick auf die saure Hydrolyse von Proteinen besondere Beachtung. Wir haben daher an diesem Reaktionstyp unsere in der I. Mitteilung beschriebenen qualitativen Beobachtungen durch quantitative Untersuchungen über die Hydrolysegeschwindigkeiten erweitert.

Aufbauend auf halbquantitativen Versuchen aus der Schule von EMIL FISCHER¹⁾ und auf quantitativen Untersuchungen von E. ABDERHALDEN²⁾ haben W. KUHN, C. C. MOLSTER und K. FREUDENBERG³⁾ grundlegende Untersuchungen über die Kinetik der sauren Hydrolyse von Peptiden durchgeführt. K. FREUDENBERG hat später die Anfangsgeschwindigkeitskonstanten von Heptaglycin und Oktaglycin bei alkalischer Hydrolyse bestimmt⁴⁾.

Bei der sauren Hydrolyse hat man sich meist auf Dipeptide beschränkt^{5,6)}, die sich gegenüber den Tripeptiden durch eine besonders kleine Hydrolysegeschwindigkeit auszeichnen. LAWRENCE und MOORE⁷⁾ fanden z. B., daß die RG-Konstante*¹⁾ für die Spaltung der ersten der beiden im Glycylglycylglycin vorliegenden Peptidbindungen etwa 8 mal so groß ist wie die RG-Konstante für die Spaltung der Peptidbindung im Glycylglycin; CRISTOL, BENEZECH und CRASTES DE PAULET⁸⁾ fanden bei der sauren und alkalischen Hydrolyse für Leucylglycylglycin im Vergleich mit Leucylglycin und Glycylglycin ähnliche Verhältnisse. Zur Erklärung nimmt SYNGE⁵⁾ Abstoßungskräfte zwischen den geladenen Endgruppen des Dipeptids und den H₃O[⊖]- bzw. OH[⊖]-Ionen an. Durch die unmittelbare Nachbarschaft, in der sich die abschirmenden Gruppen bei einem Dipeptid zur Peptidbindung befinden, die als einzige gespalten werden kann, wird eine Fixierung der hydrolysierenden H₃O[⊖]- oder OH[⊖]-Ionen erschwert. Da diese Einflüsse jedoch für alle Dipeptide, die nur eine Amino- und eine Carboxylgruppe besitzen, als gleich angesehen werden können, sind Messungen über die Stabilität von Dipeptiden, auf die sich dann vorwiegend die induktiven und die sterischen Effekte der Seitenketten auswirken, untereinander vergleichbar. Bei der Übertragung der aus Messungen an Dipeptiden erhaltenen Ergebnisse auf das Verhalten einer Peptidbindung in einer längeren Polypeptidkette sind außer der oben erwähnten Sonderstellung der Dipeptide weitere Schwierigkeiten zu erwarten. Zur Überwindung dieser Komplikationen wurde oft vorausgesetzt, daß

*¹⁾ RG = Reaktionsgeschwindigkeit

1) Eine Zusammenfassung der Literatur findet sich bei S. J. LEACH, *Rev. pure appl. Chem.* **3**, 25 (1953) [*C. A.* **49**, 7625 (1955)].

2) Vgl. Literaturzitat 20) der vorangehenden Mitteilung.

3) W. KUHN, C. C. MOLSTER und K. FREUDENBERG, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **65**, 1179 (1932).

4) K. FREUDENBERG, G. PIAZOLO und C. KNOEVENAGEL, *Liebigs Ann. Chem.* **537**, 197 (1939).

5) R. L. M. SYNGE, *Biochem. J.* **39**, 351 (1945).

6) J. I. HARRIS, R. D. COLE und N. G. PON, *Biochem. J.* **62**, 154 (1956).

7) L. LAWRENCE und W. J. MOORE, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3973 (1951).

8) P. CRISTOL, C. BENEZECH und A. CRASTES DE PAULET, *Bull. Soc. chim. France* **21**, 684 (1954).

eine Änderung an der Seitenkette des Aminosäurerestes eine Dipeptidbindung wie eine innere Bindung in gleicher Weise beeinflusst. Wie weiter unten gezeigt wird, ist diese Vereinfachung nicht zulässig.

METHODIK

Die Polypeptide wurden nach den in der I. Mitteilung beschriebenen Verfahren hergestellt. Der Polymerisationsgrad wurde durch Amino-Endgruppenbestimmung nach VAN SLYKE in einer von KAINZ⁹⁾ beschriebenen Mikroapparatur bestimmt. Die Molekulargewichtsbestimmung durch Titration der Carboxylgruppen nach SELA und BERGER^{9d)} mit Natriummethylat in Dimethylformamid ergab mit Ausnahme des Poly-DL-phenylalanins nur unwesentlich abweichende Werte. Erwartungsgemäß besaßen die Homologen des Polyglycins, zu deren Herstellung bei der Polymerisation mehr Wasser zugesetzt werden mußte, einen kleineren Polymerisationsgrad (Tab. 1).

Tabelle 1

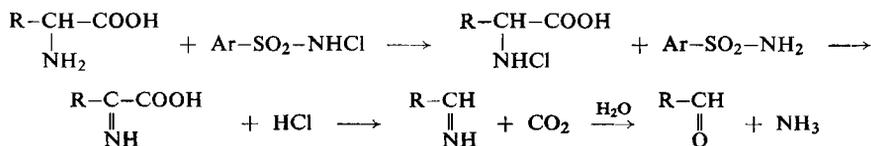
Molekulargewichte und Polymerisationsgrade der für die Hydrolysen verwendeten Polypeptide
 \bar{M} : mittleres Molekulargewicht, m: Polymerisationsgrad

Polypeptid	\bar{M}	m
Poly-glycin	2280	~ 40 (1. Ansatz)
	2600	~ 45 (2. Ansatz)
Poly-DL-alanin	980	~ 14*
Poly-DL- α -aminobuttersäure	2650	~ 31
Poly-DL-phenylalanin	4150	~ 28
Poly-DL-norleucin	2400	~ 21
Poly-DL-leucin	1800	~ 16
Poly-DL-isoleucin	1600	~ 14–15

*⁹⁾ Der herausfallende Wert für Poly-DL-alanin beruht auf einem Gehalt von ca. 11 Mol-% Alanin und niederen Peptiden

Die saure Hydrolyse dieser Polypeptide in heterogenem und homogenem System wurde durch Bestimmung der entstehenden freien Aminosäuren und durch die Bestimmung der freiwerdenden Aminogruppen nach VAN SLYKE verfolgt.

Die freien Aminosäuren wurden nach KEMBLE und MACPHERSON¹⁰⁾ mit Chloramin T durch manometrische Messung der bei der Oxydation entwickelten CO₂-Menge in der Warburg-Apparatur bestimmt. Für die Reaktion des Chloramin T mit den Aminosäuren schlagen SCHÖNBERG und MOUBACHER¹¹⁾ folgenden Mechanismus vor:



⁹⁾ a) G. KAINZ, Mikrochim. Acta 1953, 349; b) G. KAINZ und F. SCHÖLLER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 301, 259 (1955); c) G. KAINZ und F. SCHÖLLER, Biochem. Z. 327, 292 (1955/56); d) M. SELA und A. BERGER, J. Amer. chem. Soc. 77, 1893 (1955).

¹⁰⁾ A. R. KEMBLE und H. T. MACPHERSON, Biochem. J. 56, 548 (1954).

¹¹⁾ A. SCHÖNBERG und R. MOUBACHER, Chem. Reviews 50, 261 (1952).

Da Chloramin T auch mit NH_3 reagiert, kann NH_3 die Bestimmung stören, besonders wenn es bei Anwesenheit von Peptiden durch deren Desaminierung in größeren Mengen entsteht. Durch Zusatz von Formaldehyd zum Reaktionsgemisch läßt sich der störende Einfluß des NH_3 beseitigen. Die Hydrolyse der Polypeptide wurde nach van Slyke verfolgt. Die Bestimmungen wurden in der oben erwähnten Mikroapparatur⁹⁾ ausgeführt, die auch ein Arbeiten bei höheren Temperaturen erlaubt. Die Desaminierung von im Reaktionsgemisch unlöslichen Peptiden ist bei Zimmertemperatur meist nur unvollständig. Ein Erhitzen der Reaktionsmischung ist deshalb erforderlich. Um eine möglichst feine Verteilung zu erreichen, wurden die Polypeptide in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und im Reaktionsgefäß durch Zugabe von Essigsäure-Natriumacetat-Puffer ausgefällt. Werden die von KAINZ und Mitarbb.^{9b, 9c)} angegebenen Vorsichtsmaßregeln und Korrekturen beachtet, so erhält man zuverlässige Werte, die nur für Glycylpeptide etwas zu hoch liegen.

KINETIK

Aus den so gemessenen Werten wurden die Konzentrationen der Aminosäuren und der Amino-Endgruppen in der Hydrolysenlösung berechnet und graphisch gegen die Zeit aufgetragen. Aus den erhaltenen Kurven (Abb. 1 und 2) lassen sich die Anfangs-

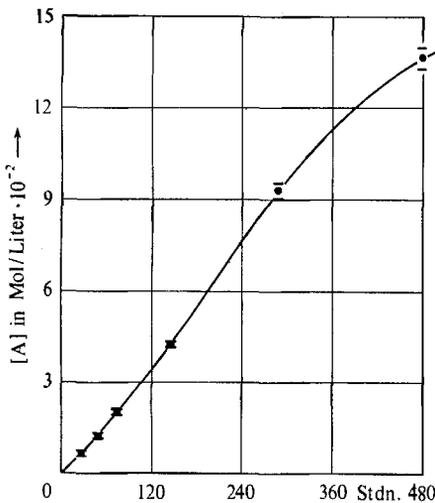


Abbildung 1

Konzentration der freien Aminosäure [A] in Abhängigkeit von der Reaktionszeit. Hydrolyse der Poly-DL- α -aminobuttersäure in Dichloressigsäure bei 37° mit 4.38 n HCl

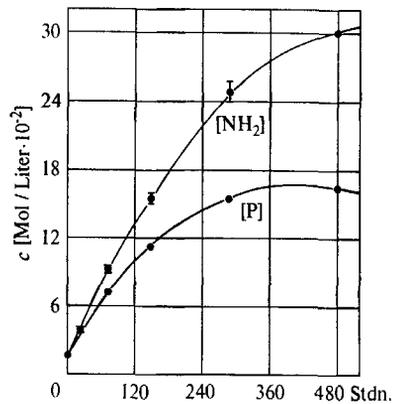


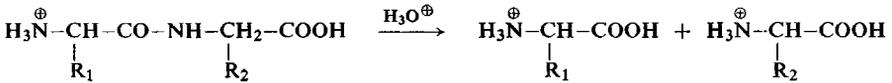
Abbildung 2

Verlauf der Konzentration der freien Aminogruppen $[\text{NH}_2]$ und der Peptidkonzentration [P] bei der Hydrolyse der Poly-DL- α -aminobuttersäure in Dichloressigsäure bei 37° mit 4.38 n HCl

hydrolysenkonstanten der Polypeptide auf Grund folgender Überlegungen berechnen:

Bei einem Überschuß von Säure verläuft die Hydrolyse einer Peptidbindung

als Reaktion erster Ordnung in bezug auf die Peptidkonzentration¹²⁾, LAWRENCE und MOORE⁷⁾ haben gezeigt, daß die Reaktion auch in bezug auf die H^{\oplus} -Konzentration



erster Ordnung ist. Nach W. KUHN und Mitarbb.³⁾ ist der hydrolytische Abbau einer längeren Peptidkette durch mindestens drei Geschwindigkeitskonstanten bestimmt:

1. Die RG-Konstante des Dipeptids, k_2 . — Sie läßt sich leicht durch Verfolgen der Hydrolyse des Dipeptids bestimmen. Infolge der erwähnten kleinen RG-Konstanten der Dipeptide sammeln sich diese bei der Hydrolyse eines Polypeptids in der Lösung stärker an, als es bei einer statistischen Spaltung der Peptidkette der Fall wäre.

2. Die RG-Konstante des Tripeptids, k_3 . — Man kann k_3 aus der Anfangsgeschwindigkeit der Hydrolyse eines Tripeptids errechnen. Die Konstante für die der freien NH_2 -Gruppe benachbarten Bindung sei k_{α} , für die der $COOH$ -Gruppe benachbarten Bindung sei k_{β} . Da man bei einem normalen Tripeptid nicht entscheiden kann, welche der beiden Bindungen gespalten wurde, erhält man das arithmetische Mittel aus beiden: $k_3 = (k_{\alpha} + k_{\beta}) : 2$. Sind zur Zeit t von N_0 Bindungen nur noch N erhalten, so läßt sich die Hydrolyse eines Tripeptids durch folgende, von W. KUHN abgeleitete Formel vollständig beschreiben:

$$(1) \quad \frac{N}{N_0} = \frac{k_2 - k_3}{k_2 - 2k_3} \cdot e^{-2k_3 t} - \frac{k_3}{k_2 - 2k_3} \cdot e^{-k_2 t}$$

3. Die RG-Konstante einer „inneren“ Bindung, k_1 . — Im Gegensatz zur Hydrolyse des Tripeptids ist es bei der Spaltung eines Tetra- oder höheren Peptids für den weiteren Verlauf der Hydrolyse nicht mehr gleichgültig, welche Bindung zuerst gespalten wird. Bei einem Tetrapeptid z. B. entsteht durch Spaltung einer äußeren Bindung eine Aminosäure und ein Tripeptid, das anschließend weiter hydrolysiert wird. Bei der Spaltung der inneren Bindung entstehen jedoch zwei Dipeptide. W. KUHN nimmt an, daß sich die beiden äußeren Bindungen eines Polypeptids nicht wesentlich von den beiden Bindungen des Tripeptids unterscheiden. Der Unterschied zwischen ihnen besteht darin, daß sich bei einem Tripeptid zwei, bei einem höheren Polypeptid drei oder mehr Aminosäurereste auf der einen Seite der Peptidbindungen befinden. Der Einfluß der weiter entfernten Aminosäurereste kann vernachlässigt werden. Die „inneren“ Bindungen der Peptidkette werden ebenfalls als gleich angesehen. Die Anfangs-RG-Konstante eines Tetrapeptids setzt sich dann wie folgt aus den einzelnen Konstanten zusammen:

$$(2) \quad k_4 = \frac{k_{\alpha} + k_{\beta} + k_1}{3}$$

Für ein Polypeptid mit N Bindungen ergibt sich durch Verallgemeinerung:

$$(3) \quad k_{N+1} = \frac{k_{\alpha} + k_{\beta} + (N-2)k_1}{N}$$

¹²⁾ P. A. LEVENE, R. E. STEIGER und A. ROTHEN, J. biol. Chemistry **97**, 717 (1932).

Der Verlauf der Hydrolyse eines Tetrapeptids läßt sich dann durch folgende Formel vollständig angeben:

$$(4) \quad \frac{N}{N_0} = e^{-3k_4 t} \cdot \left[1 - \frac{1}{1+2q} \cdot \frac{2k_4}{3k_4 - k_2} - \frac{4q}{1+2q} \cdot k_4 \left(\frac{k_3 - k_2}{(3k_4 - 2k_3)(2k_3 - k_2)} \right. \right. \\ \left. \left. + \frac{k_3}{(3k_4 - k_2)(2k_3 - k_2)} \right) \right] + e^{-2k_3 t} \cdot \frac{4q}{1+2q} \cdot k_4 \frac{k_3 - k_2}{(3k_4 - 2k_3)(2k_3 - k_2)} \\ + e^{-k_2 t} \left[\frac{1}{1+2q} \cdot \frac{2k_4}{3k_4 - k_2} + \frac{4q}{1+2q} \cdot k_4 \cdot \frac{k_3}{(3k_4 - k_2)(2k_3 - k_2)} \right]$$

q ist das Verhältnis der äußeren RG-Konstanten $k_3 = (k_\alpha + k_\beta):2$ zur RG-Konstante der inneren Peptidbindung k_I : $q = (k_\alpha + k_\beta):2k_I$. Die Formel zur vollständigen Beschreibung der Hydrolyse eines Polypeptids wird noch wesentlich umfangreicher, da hier die verschiedensten Peptide in wechselnder Konzentration als Zwischenprodukte auftreten. Bei bekanntem q ist eine Verallgemeinerung möglich; von einem Peptid mit $N + 1$ Gliedern und N Bindungen werden

$$100 \cdot \frac{(N-2)k_I}{k_I + k_\beta + (N-2)k_I} = 100 \cdot \frac{1}{\frac{2}{N-2}q + 1} \%$$

an einer inneren Bindung gespalten und

$$100 \cdot \frac{k_\alpha + k_\beta}{k_\alpha + k_\beta + (N-2)k_I} = 100 \cdot \frac{\frac{2}{N-2}q}{\frac{2}{N-2}q + 1} \%$$

an einer äußeren Bindung.

Da bei unseren Untersuchungen q nicht bekannt war, wurden die RG-Konstanten der inneren und äußeren Peptidbindungen auf Grund folgender Ansätze berechnet:

1) k_E : Wenn N_E die Anzahl der beiden Endbindungen der Peptide in der Lösung ist und $[A]$ die Konzentration der Aminosäuren, so gilt:

$$(5) \quad \frac{d[A]}{dt} = k_E \cdot [H_3O^\oplus] \cdot N_E$$

N_E ändert sich während der Hydrolyse beträchtlich, da für jede gesplattene innere Bindung zwei neue Endbindungen auftreten. N_E durchläuft während der Hydrolyse ein Maximum, die Kurve der freien Aminosäuren $[A]$ hat daher einen S-förmigen Verlauf. Das letzte Ende der Kurve verläuft sehr flach, da hier freie Aminosäuren fast nur noch durch die langsame Spaltung der Dipeptide entstehen. Der Verlauf der Kurve zu Beginn der Hydrolyse wird von der Kettenlänge des Peptids und von q bestimmt. Je kleiner q ist und je länger das Peptid, desto schneller steigt N_E an. Für $t \rightarrow 0$ kann N_E jedoch konstant und gleich der doppelten Anfangskonzentration der Amino-Endgruppen gesetzt werden. Dann wird aus Gleichung (5):

$$(6) \quad \frac{d[A]}{dt} = k_E \cdot [H_3O^\oplus] \cdot 2 [NH_2^-]_{t=0}; t \rightarrow 0$$

Am Anfang der Hydrolyse kann $[H_3O^{\oplus}]$ als konstant angesehen werden, da eine Abnahme von $[H_3O^{\oplus}]$ durch Selbstpufferung der Peptide in nennenswertem Maße erst später eintritt. $[H_3O^{\oplus}]$ und $[NH_2-]_{t=0}$ sind bekannt; wenn $d[A]/dt$ aus der graphischen Darstellung entnommen wird, läßt sich k_E aus Gleichung (6) errechnen. k_E entspricht $k_3 = (k_{\alpha} + k_{\beta}) : 2$ nach W. KUHN.

2) k_1 : Subtrahiert man die Konzentration der Aminosäuren von der Konzentration der Aminogruppen, so erhält man die Konzentration der Peptide in der Hydrolysenlösung $[P]$. Diese zeigt den Verlauf einer Zwischenproduktkurve mit einem Maximum. Wenn N_I die Zahl der inneren Peptidbindungen ist, so gilt:

$$(7) \quad \frac{d[P]}{dt} = k_1 \cdot [H_3O^{\oplus}] \cdot N_I$$

Die Konzentration der Aminosäurereste in der Lösung $[Ar]$ ist konstant. Zu Beginn der Hydrolyse kann $N_I = [Ar] - 3[NH_2-]_{t=0}$ gesetzt werden. Einsetzen in Gleichung (7) ergibt dann:

$$(8) \quad \frac{d[P]}{dt} = k_1 \cdot [H_3O^{\oplus}] \cdot ([Ar] - 3[NH_2-]_{t=0}); t \rightarrow 0$$

Bei konstantem $[H_3O^{\oplus}]$ kann k_1 aus Gleichung (8) berechnet werden. In wäßriger Salzsäure ist von den untersuchten Polypeptiden nur Poly-DL-alanin löslich; Polyglycin und Poly-DL- α -aminobuttersäure lassen sich leicht in wäßriger Salzsäure suspendieren, bei den Poly-DL-leucinen ist es erforderlich, Dioxan als Netzmittel zuzusetzen.

Die aus den Versuchen in wäßriger Phase berechneten Anfangs-RG-Konstanten sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2. Anfangs-RG-Konstanten in wäßriger Salzsäure bezogen auf $[H_3O^{\oplus}]_{anal} = 1$

Substanz	k_E in Sek. ⁻¹	k_1 in Sek. ⁻¹	q
Polyglycin	$61.7 \cdot 10^{-8}$	$19.7 \cdot 10^{-8}$	3.76
Poly-DL-alanin	$37.0 \cdot 10^{-8}$	$34.5 \cdot 10^{-8}$	1.07
Poly- α -aminobuttersäure	$5.8 \cdot 10^{-8}$	$3.9 \cdot 10^{-8}$	1.8

Poly-norleucin und Poly-leucin wurden unter den angegebenen Bedingungen nur sehr langsam abgebaut. Selbst nach 60 Tagen waren noch keine größeren Mengen der Peptide in Lösung gegangen. Beim Poly-isoleucin ließ sich nach 60 Tagen eine Hydrolyse noch nicht nachweisen.

Da die Hydrolyse im heterogenen System wesentlich von den physikalischen Eigenschaften der Präparate abhängt, ist eine quantitative Auswertung schwierig. Aus diesem Grunde wurde nach einem geeigneten Lösungsmittel gesucht. Für Polyglycin kommt als Lösungsmittel nur konz. Lithiumchlorid-Lösung in Betracht. Die anderen Polypeptide lösen sich ausreichend in Dichloressigsäure. Da Poly-DL-alanin sowohl in konz. LiCl-Lösung als auch in Dichloressigsäure genügend löslich ist, erlaubt ein Ver-

gleich der Hydrolysegeschwindigkeit des Poly-DL-alanins in den beiden Lösungsmittelmischen eine Abschätzung der spezifischen Wirkungen der Solventien auf die Polypeptide und deren Hydrolyse. Verwendet wurden eine ca. 30-proz. LiCl-Lösung mit einer analytischen HCl-Konzentration von $4.35n$ und eine ca. 60-proz. Dichloressigsäure-Lösung mit einem analytischen HCl-Gehalt von $4.38n$. Beim Zugeben der Säuremischungen gingen die Polypeptide bis auf das Poly-DL-isoleucin, das in der Dichloressigsäure nur unvollständig löslich ist, schnell in Lösung. Die RG-Konstanten der Hydrolyse sind aus Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3. RG-Konstanten für Poly-DL-alanin, bezogen auf $[H_3O^+]_{anal} = 1$. k_E wurde nach Formel (6), k_I nach Formel (8) berechnet. — $[H_3O^+]$ wurde der analytischen Salzsäurekonzentration gleichgesetzt.

Säure	k_E in Sek. ⁻¹	k_I in Sek. ⁻¹	q
5.95 n HCl	$37.0 \cdot 10^{-8}$	$34.4 \cdot 10^{-8}$	1.07
30% LiCl in 4.35 n HCl	$22.8 \cdot 10^{-8}$	$22.2 \cdot 10^{-8}$	1.03
60% Dichloressigs. in 4.38 n HCl	$68.9 \cdot 10^{-8}$	$48.4 \cdot 10^{-8}$	1.42

Die übrigen Polypeptide wurden unter den gleichen Bedingungen wie das Poly-DL-alanin der Hydrolyse unterworfen. Ihre nach den Gleichungen (6) und (8) berechneten RG-Konstanten sind in der Tabelle 4 zusammengefaßt.

Zur Berechnung der RG-Konstanten wurden die für $[A]$ und $[NH_2-]$ bzw. $[P]$ erhaltenen Werte auf Millimeterpapier gegen die Zeit aufgetragen und die Kurven eingezeichnet (siehe Abb. 1 und 2 am Beispiel Poly-DL-aminobuttersäure). Im Startpunkt wurde zur Kurve die Tangente gezogen, so die Anfangssteigung ermittelt und in die Gleichungen (6) und (8) eingesetzt.

Auf diesem Wege lassen sich $d[A]/dt$ und $d[P]/dt$ nur ungenau bestimmen. Bei wiederholtem Zeichnen der Kurven ergeben sich Abweichungen bis zu 10%. Diese Ungenauigkeit der Anfangssteigungen der Kurven macht den Hauptfehler bei der Berechnung der einzelnen Kon-

Tabelle 4. RG-Konstanten der einzelnen Polypeptide bei $[H_3O^+]_{anal} = 1$ in LiCl-Lösung und Dichloressigsäure

Polypeptid	k_E in Sek. ⁻¹	k_I in Sek. ⁻¹	q
<i>in LiCl-Lösung:</i>			
Polyglycin	$58.3 \cdot 10^{-8}$	$111.0 \cdot 10^{-8}$	0.53
Poly-DL-alanin	$22.8 \cdot 10^{-8}$	$22.2 \cdot 10^{-8}$	1.03
<i>in Dichloressigsäure:</i>			
Poly-DL-alanin	$68.9 \cdot 10^{-8}$	$48.4 \cdot 10^{-8}$	1.42
Poly-DL- α -aminobuttersäure	$49.5 \cdot 10^{-8}$	$10.8 \cdot 10^{-8}$	4.58
Poly-DL-phenylalanin	$49.7 \cdot 10^{-8}$	$6.6 \cdot 10^{-8}$	7.54
Poly-DL-norleucin	$27.2 \cdot 10^{-8}$	$9.9 \cdot 10^{-8}$	2.75
Poly-DL-leucin	$14.0 \cdot 10^{-8}$	$8.3 \cdot 10^{-8}$	1.69
Poly-DL-isoleucin	$4.1 \cdot 10^{-8}$	$2.5 \cdot 10^{-8}$	1.62

stanten aus. Ihre mittleren Fehler liegen bei $\pm 20\%$. Ein weiterer Nachteil dieser Methode ist, daß nur die ersten Meßdaten zur Berechnung herangezogen werden, insbesondere kommt dem Wert für $[\text{NH}_2^-]_{t=0}$ zu große Bedeutung zu. Bei der Bestimmung von k_E des Polyglycins sind die Verhältnisse besonders ungünstig, da infolge der bevorzugten Spaltung der inneren Bindungen die Konzentration der Endbindungen schnell zunimmt. k_E (Polyglycin) ist daher wahrscheinlich zu hoch. Nimmt man an, daß bei der Hydrolyse des Polyglycins im heterogenen System alle Endbindungen hydratisiert waren und daß LiCl auf die Hydrolyse des Polyglycins den gleichen Einfluß hat wie auf Poly-DL-alanin, so sollte k_E (Polyglycin) im gleichen Verhältnis erniedrigt werden wie k_E (Polyalanin). Man erhält dann für k_E (Polyglycin) einen Wert von $38.1 \cdot 10^{-8}$ [Sek.⁻¹]. Mit diesem Wert, der ein unterer Grenzwert ist, wird $q = 0.35$. W. KUHN³⁾ fand bei der alkalischen Hydrolyse des Tetraglycins einen Wert von $q = 0.33$. Bei der Hydrolyse des Poly-DL-isoleucins muß berücksichtigt werden, daß nur ein Teil des Polypeptids in Dichloressigsäure löslich ist. Dadurch kann vor allem k_I (Polyisoleucin) zu klein sein.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Ein Vergleich der RG-Konstanten der in wäßriger Lösung durchgeführten Hydrolysen (Tabelle 2) zeigt, daß das lösliche Poly-DL-alanin am schnellsten abgebaut wird. Die Ursache ist der große k_T -Wert für Poly-DL-alanin, während k_E in der Reihe Polyglycin, Poly-DL-alanin, Poly- α -aminobuttersäure den erwarteten Verlauf zeigt. Die unlöslichen Polypeptidketten werden wahrscheinlich nur an den Kettenenden hydratisiert und so nur Teile der Kette der Hydrolyse zugänglich. Dadurch ist die Zahl der hydrolysierbaren Peptidbindungen geringer, als in der Berechnung angenommen wurde. Vergleicht man die beiden unlöslichen Polypeptide Polyglycin und Poly- α -aminobuttersäure miteinander, so ist das Verhältnis $k_E:k_I$ bei der Poly- α -aminobuttersäure günstiger für eine Spaltung der inneren Bindung. Der doppelt so große Wert für q beim Polyglycin ist zum Teil durch dessen größere Kettenlänge bedingt, es kann jedoch auch der von der Struktur der anderen Polypeptide abweichende Bau des festen Polyglycins¹³⁾ darin zum Ausdruck kommen.

Während für die meisten Polypeptide in der normalen α -Form die Struktur der α -Schraube nach PAULING und COREY wahrscheinlich ist¹⁴⁾, entsteht das Polyglycin bei der Darstellung aus Oxazolid-2,5-dion in unpolaren Lösungsmitteln als Polyglycin I, dessen Struktur der gestreckten β -Form entspricht. Im Gegensatz zu der α -Form mit intramolekularen H-Bindungen werden beim Polyglycin I die einzelnen Ketten durch intermolekulare H-Bindungen zusammengehalten. Dadurch kann eine Hydratisierung der einzelnen Ketten behindert sein. Polyglycin wandelt sich beim Fällen aus konzentrierten Salzlösungen in Polyglycin II um¹³⁾. Im Polyglycin II sind die Ketten nach Untersuchungen von CRICK¹⁵⁾ ebenso gestreckt wie im Polyglycin I, aber anders zu-

¹³⁾ C. H. BAMFORD, L. BROWN, E. M. CANT, A. ELLIOTT, W. E. HANBY und B. R. MALCOLM, Nature [London] **176**, 396 (1955).

¹⁴⁾ L. PAULING, R. B. COREY und H. R. BRANSON, Proc. nat. Acad. Sci. USA **37**, 205 (1951) [C. A. **45**, 6885 (1951)]; C. H. BAMFORD, L. BROWN, A. ELLIOTT, W. E. HANBY und I. F. TROTTER, Nature [London] **169**, 357 (1952).

¹⁵⁾ F. H. C. CRICK und A. RICH, Nature [London] **176**, 780 (1955).

einander geordnet. Da bei einer I→II-Transformierung der Kettenverband gesprengt werden muß, liegen die Polyglycinketten in der Lösung wahrscheinlich in gestreckter β -Form und nur wenig assoziiert vor.

Die anderen Polypeptide werden durch stark polare Lösungsmittel wie Dichloressigsäure in die β -Form überführt¹⁶⁾. Aus Viskositätsmessungen in Dichloressigsäure geht hervor¹⁷⁾, daß die Polypeptidkette in der Lösung statistisch geknäult ist.

Außer diesen Wirkungen der Lösungsmittel auf den Lösungszustand der Polypeptide muß besonders bei der Dichloressigsäure mit einer Beeinflussung der *Aktivität der Hydronium-Ionen* gerechnet werden. Aus dem in Tabelle 3 angegebenen Verhalten des Poly-DL-alanins in den 3 Lösungsmitteltypen, die in dieser Untersuchung verwendet wurden, können folgende Feststellungen getroffen werden:

In der konz. LiCl-Lösung wird die Hydrolysegeschwindigkeit des Poly-DL-alanins stark herabgesetzt. k_E und k_I werden gleichmäßig verändert, q hat den gleichen Wert wie bei der Hydrolyse in wäßriger HCl. Im Gegensatz hierzu erhöht die Dichloressigsäure die Hydrolysegeschwindigkeit des Poly-DL-alanins. q besitzt einen größeren Wert als bei der Hydrolyse in wäßriger HCl, die Spaltung der Endbindungen wird bevorzugt. Diese Ergebnisse lassen sich durch die starke Adsorption der Dichloressigsäure an die Peptidkette erklären. Dadurch kann die Aktivität der Hydronium-Ionen örtlich stark erhöht werden. Es ist möglich, daß die Dichloressigsäure von den Endgruppen bevorzugt adsorbiert wird und hier die Aktivität der Hydronium-Ionen stärker erhöht wird als in der Mitte der Kette. k_E der einzelnen Polypeptide zeigt den aus Untersuchungen über die Hydrolyse der Dipeptide bekannten Verlauf. Die Hydrolysegeschwindigkeit der Endbindung nimmt mit zunehmender Länge und Verzweigung der Aminosäureseitenkette gleichförmig ab. Die Polypeptide lassen sich in eine Reihe zunehmender *Stabilität der Endbindung* ordnen:

Polyglycin < Poly-DL-alanin < Poly-DL- α -aminobuttersäure \cong Poly-DL-phenylalanin
< Poly-DL-norleucin < Poly-DL-leucin < Poly-DL-isoleucin

Diese Reihe entspricht der zunehmenden Reaktionsfähigkeit der Aminosäuren gegenüber Phosgen, was dafür spricht, daß die Stabilität einer Endbindung vor allem durch die +I-Effekte der Aminosäureseitenketten bestimmt wird. Besonders ist das Verhalten des Poly-DL-phenylalanins hervorzuheben, dessen RG-Konstante der äußeren Peptidbindung nur durch einen wesentlichen Anteil der induktiven Wirkung des Phenylkernes (-I) erklärt werden kann. Wären vorwiegend sterische Effekte auf die Stabilität der Endbindungen wirksam, so sollte beim Poly-DL-phenylalanin ein k_E -Wert von der Größe des Poly-DL-leucins erwartet werden, wie dies auch für den k_I -Wert beobachtet wird. *)

¹⁶⁾ C. H. BAMFORD, W. E. HANBY und F. HAPPEY, Nature [London] **164**, 751 (1949); **165**, 829 (1950).

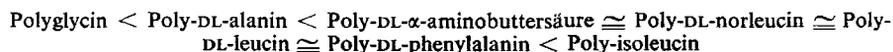
¹⁷⁾ P. DOTY, J. H. BRADBURY und A. M. HOLTZER, J. Amer. chem. Soc. **78**, 947 (1956).

*) Eine ähnliche -I-Wirkung der Phenylgruppe in der β -Stellung wurde auch bei der Messung der Verseifungsgeschwindigkeit des β -Phenylpropionsäureesters beobachtet von H. J. LEVENSON und H. A. SMITH, J. Amer. chem. Soc. **62**, 2324 (1940).

k_I nimmt bei den einzelnen Polypeptiden zunächst ebenfalls mit der Länge der Seitenkette ab, aber wesentlich stärker als k_E . Die Einführung der CH_3 -Seitenkette des Alanins in Polyglycin erniedrigt den Wert von k_I um ca. das Fünffache; k_E sinkt nur auf ungefähr die Hälfte. Die *Verlängerung der CH_3 -Seitenkette* zu C_2H_5 (α -Aminobuttersäure) läßt k_I noch einmal auf ein Fünftel abnehmen. Während k_E durch eine weitere Verlängerung der Seitenkette zum Norleucin weiter verkleinert wird, ändert sich k_I kaum noch. Selbst eine in β -Stellung verzweigte Seitenkette im Leucin hat einen im Vergleich zur Endbindung kleinen Einfluß auf die Spaltungsgeschwindigkeit der inneren Bindung. Erst die Einführung der α -verzweigten Seitenkette des Isoleucins ruft eine stärkere Erniedrigung von k_I hervor. Diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß zumindest in einer Dichloressigsäurelösung die *Hydrolysegeschwindigkeit einer inneren Peptidbindung* im Gegensatz zu der Endbindung maßgeblich von den *sterischen Verhältnissen* an dieser Bindung beeinflusst wird. Dieser Schluß wird besonders durch den Wert für k_I beim Poly-DL-phenylalanin gestützt, der für den Fall, daß überwiegend sterische Einflüsse wirksam sind, der Erwartung entspricht.

Die I-Effekte und die sterischen Einflüsse der Seitenketten wirken mit Ausnahme des Poly-DL-phenylalanins in gleicher Richtung. Die sterische Einwirkung durch eine C_2H_5 -Seitenkette ist schon so groß, daß eine noch längere Kette oder eine von der Peptidbindung weiter entfernt liegende Verzweigung der Kette nur noch geringe Änderungen hervorrufen. Eine Betrachtung der entsprechenden Atomkalottenmodelle macht diesen Befund verständlich.

Für die *Stabilität der inneren Bindungen* erhält man folgende Reihe:



Die Unterschiede der RG-Konstanten zwischen den einzelnen Polypeptiden lassen sich am leichtesten überblicken, wenn man die Konstanten des Poly-DL-alanins gleich 100 setzt und die anderen Konstanten darauf umrechnet. Die so erhaltenen *relativen Werte* sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5. Relative Geschwindigkeitskonstanten

Substanz	k_E	k_I
Poly-glycin	256	500
Poly-DL-alanin	100	100
Poly-DL- α -aminobuttersäure	71	22
Poly-DL-phenylalanin	72	13
Poly-DL-norleucin	39	20
Poly-DL-leucin	20	17
Poly-DL-isoleucin	6	5

Trägt man graphisch die Werte der Polypeptide mit unverzweigten aliphatischen Seitenketten gegen die Länge der Aminosäureseitenkette auf, so erhält man die Kurven der Abbildung 3. Man erkennt, daß k_E ständig abfällt, während die Kurve der k_I von der α -Aminobuttersäure an praktisch waagrecht ausläuft.

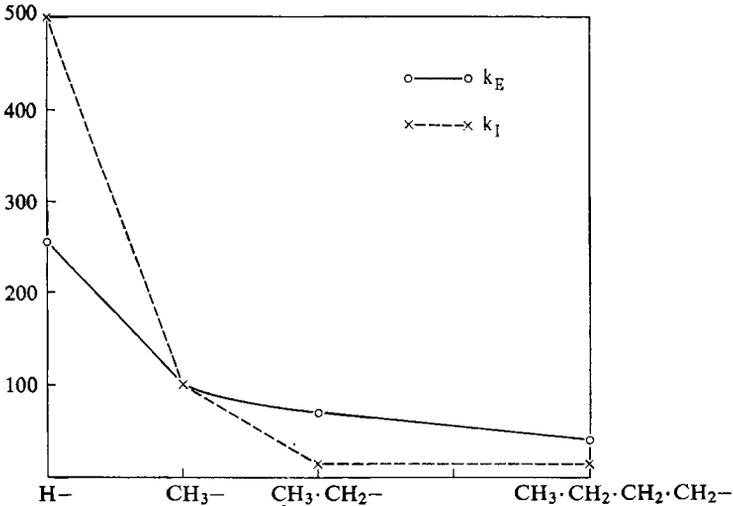


Abbildung 3. RG-Konstanten für die Hydrolyse der inneren und der äußeren Peptidbindungen einiger Polypeptide aus aliphatischen Monoamino-monocarbonsäuren, bezogen auf Poly-DL-alanin = 100. Auf der Abszisse ist R in R-CH(NH₂)-COOH angegeben.

Da k_I erst schneller, dann viel langsamer als k_E abnimmt, durchläuft das *Verhältnis* $q = k_E/k_I$ ein *Maximum* in der Reihe der Peptide. q ist nur für Polyglycin kleiner als 1, nur hier ist die Spaltung einer inneren Bindung gegenüber der Endbindung begünstigt. Alle anderen Polypeptide besitzen einen Wert von $q > 1$. Dabei muß jedoch berücksichtigt werden, daß die q -Werte in der Dichloressigsäure größer sind als in einer wäßrigen Lösung. Das Maximum von q liegt für die aliphatischen Polypeptide bei der Poly-DL- α -aminobuttersäure; diese wird also am schnellsten vom Ende her abgebaut. In dem hohen q -Wert des Poly-DL-phenylalanins zeigt sich die bei dieser Verbindung *gegenläufige Wirksamkeit der induktiven und sterischen Effekte* besonders deutlich.

Es kann nunmehr als sicher gelten, daß Ergebnisse an Dipeptiden nicht ohne weiteres auf die Hydrolyse von höheren Peptiden übertragbar sind. Sterische Effekte, die durch eine Häufung von Aminosäureseitenketten im Innern der Polypeptidkette auftreten können, lassen sich durch solche Untersuchungen nicht erfassen.

Weitere Aufschlüsse soll die z. Z. bearbeitete Ermittlung von Aktivierungsenergien und -entropien liefern.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die benötigten Polypeptide wurden durch Polymerisation der entsprechenden Oxazolid-2.5-dione (aus den Aminosäuren und Phosgen hergestellt, siehe voranstehende Arbeit) mit Wasser als Starter gewonnen.

Hydrolyse der Polypeptide

Es wurden jeweils 2.5 Millimol (ber. auf den Aminosäurerest) Polypeptid in ein Glasröhrchen eingewogen und mit 5ccm der folgenden Lösungen versetzt:

1) 5.95 *n* HCl. — Von den untersuchten Polypeptiden ist nur Poly-DL-alanin in wäßriger HCl glatt löslich.

2) Eine ~ 30-proz. Lösung von LiCl in 4.35 *n* HCl. — In dieser Mischung ist das Polyglycin glatt löslich, Poly-DL-alanin nur schlecht.

3) Eine ~ 60-proz. Lösung von Dichloressigsäure in 4.38 *n* HCl. — Poly-DL-alanin, Poly-DL- α -aminobuttersäure, Poly-DL-norleucin, Poly-DL-leucin und Poly-DL-phenylalanin sind in dieser Mischung gut löslich. Poly-DL-isoleucin löst sich nur teilweise, teilweise quillt es nur sehr stark auf.

Die Glasröhrchen wurden gut verschlossen in einem Brutschrank bei 37° aufbewahrt. Nach bestimmten Zeiten haben wir die Hydrolyse durch Neutralisation mit NaOH oder Kühlen der Röhrchen in Aceton/Trockeneis unterbrochen. Anschließend wurden die Lösungen auf Aminosäuren und freie Aminoendgruppen untersucht.

Bestimmung der Aminosäuren

Bei der heterogenen Hydrolyse wurde nach Neutralisation der Säure vom Unlöslichen abfiltriert und der Rückstand mit warmem dest. Wasser ausgewaschen. Filtrat und Washwasser wurden vereinigt und auf 25ccm aufgefüllt. Bei der homogenen Hydrolyse wurde dem Glasröhrchen 1ccm entnommen und nach Neutralisation mit NaOH auf 5ccm aufgefüllt. Die Bestimmung erfolgte nach KEMBLE und MACPHERSON¹⁰⁾ in einer Warburg-Apparatur bei 30°. Als Reaktionsgefäß wurden Warburg-Kölbchen mit seitlichem Ansatz verwendet, als Manometer mit Brodie-Lösung gefüllte Warburg-Manometer. Kölbchen und Manometer waren durch Auswägen mit Quecksilber geeicht. In das Reaktionsgefäß wurden 1–2ccm der zu untersuchenden Lösung, 0.4ccm Citratpuffer, 0.15ccm 40-proz. Formalinlösung und soviel dest. Wasser einpipettiert, daß das Gesamtvolumen 2.55ccm betrug. In den seitlichen Ansatz wurden 0.5ccm 12-proz. Chloramin-T-Lösung eingegeben. Kölbchen und Manometer wurden in den Thermostaten eingehängt und nach Temperatenausgleich die Lösungen durch Kippen des Kölbchens vereinigt. Nach einer Reaktionszeit von 20 Min. wurde die Druckdifferenz abgelesen. Wegen der Selbstersetzung des Chloramin T muß bei jeder Bestimmungsreihe ein Blindversuch nebenher laufen. Außerdem muß in Testversuchen für jede Aminosäure ein Korrektur-Faktor bestimmt werden. Von jeder Hydrolysenprobe wurden mindestens 4 Bestimmungen durchgeführt. Die Einzelwerte schwankten um $\pm 5\%$. Die Mittelwerte, berechnet auf die Konzentration der Aminosäure in der Hydrolysenlösung, sind in den Tabellen aufgeführt.

Bestimmung der freien Aminoendgruppen

Die NH₂-Gruppen wurden durch Desaminieren der Peptide mit salpetriger Säure in der von KAINZ⁹⁾ beschriebenen Apparatur bestimmt. Das bei der Reaktion entstehende Gasmisch

wird durch einen CO_2 -Strom ausgetrieben, durch Waschen mit $\text{KBrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ von Stickoxyden befreit und im Azotometer über 50-proz. KOH aufgefangen. In das abnehmbare Reaktionsgefäß wird die Peptidlösung (unter Umständen nach Verdünnen mit Eisessig) pipettiert bzw. ein unlösliches Polypeptid eingewogen und anschließend in LiCl-Lösung oder Dichloressigsäure gelöst. Darauf werden 1ccm Eisessig, 1ccm gesättigte Natriumacetat-Lösung und 0.5ccm 40-proz. KJ-Lösung zugegeben. Dabei fallen die unlöslichen Peptide feinverteilt aus. Ein zu großer Überschub an Säure wird durch Zugabe einiger Tropfen Natronlauge entfernt. Nach Einsetzen des Reaktionsgefäßes in die Apparatur wird die Luft durch einen kräftigen CO_2 -Strom ausgetrieben und die Desaminierung durch Zugabe von 1ccm der Nitritlösung eingeleitet. Nach der 15. Minute wird das Reaktionsgefäß durch Eintauchen in heißes Wasser für 1 Min. erwärmt, nach der 30. Minute ein zweites Mal. Anschließend werden die Gase durch einen langsamen CO_2 -Strom ausgetrieben.

Von dem abgelesenen Stickstoffvolumen wurden abgezogen: 1) 2% Volumenkorrektur nach PREGL, 2) Blindwert der Apparatur, 3) 0.002ccm pro mg Peptid-Einwaage, 4) Temperatur- und Druck-Korrektur. Die korrigierten Werte wurden auf die Konzentration der freien Aminoendgruppen in der Hydrolysenlösung umgerechnet. Die Einzelwerte schwankten um $\pm 5\%$. Bei der heterogenen Hydrolyse, bei der die Aminoendgruppenbestimmung der löslichen Anteile und des Rückstandes getrennt durchgeführt wurde, waren die Abweichungen stärker. Die Mittelwerte sind in den Tabellen angegeben.

Hydrolysegeschwindigkeiten

Die Polypeptid-Einwaage wird so gewählt, daß die Konzentration der Aminosäurereste in der Lösung $[\text{Ar}]$ 0.5 Mol/Liter beträgt. In den Tabellen sind alle Konzentrationen in Mol/Liter $\times 10^{-2}$ angegeben, die Hydrolysendauern in Stunden. $\Delta = [\text{NH}_2-] - [\text{A}]$. Die Temperatur betrug bei allen Versuchen 37° .

1) Polyglycin in 1.98 n HCl, $[\text{NH}_2-]_{t=0} = 1.25$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2-]$	Δ	$\frac{d[\text{A}]}{dt} = 0.00011 \pm 0.00001$ Mol/Liter·Stunden ⁻¹
26	0.32	2.95	2.63	$k_E = 61.7 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
48	0.53	4.21	3.71	
96	1.20	6.29	5.09	
168	2.42	8.49	6.07	$\frac{d[\text{P}]}{dt} = 0.00055 \pm 0.00005$ Mol/Liter·Stunden ⁻¹
264	4.09	10.48	6.39	
410	6.39	11.59	5.20	

2) Poly-DL-alanin in 5.95 n HCl, $[\text{NH}_2-]_{t=0} = 3.60$, $[\text{A}]_{t=0} = 0.38$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2-]$	Δ	$\frac{d[\text{A}]}{dt} = 0.00051 \pm 0.00005$ Mol/Liter·Stunden ⁻¹
12	1.05	7.88	6.83	$k_E = 37.0 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
24	2.06	11.90	9.84	
72	7.71	21.95	15.24	
121	12.68	26.47	13.79	$\frac{d[\text{P}]}{dt} = 0.00295 \pm 0.00016$ Mol/Liter·Stunden ⁻¹
168	17.80	29.83	12.03	
288	25.40	32.30	6.90	

3) *Poly-DL- α -aminobuttersäure* in 5.95 n HCl, $[\text{NH}_2^-]_{t=0} = 1.60$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2^-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt}$
24	0.09	2.68	2.59	$= 0.00004 \pm 0.000006$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
48	0.20	3.53	3.33	$k_E = 5.83 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
72	0.31	4.05	3.74	
168	1.26	6.44	5.18	$\frac{d[P]}{dt} = 0.00032 \pm 0.00004$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
312	3.18	10.44	7.26	
480	5.58	15.13	9.55	$k_I = 3.33 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹

4) *Polyglycin* in LiCl-Lösung/4.35 n HCl, $[\text{NH}_2^-]_{t=0} = 1.12$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2^-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt}$
3	—	4.33	—	$= 0.0002 \pm 0.00005$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
6	0.13	6.30	6.17	$k_E = 58.3 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
12	0.72	11.15	10.43	
24	1.92	16.93	15.01	$\frac{d[P]}{dt} = 0.0081 \pm 0.0003$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
48	5.05	24.75	19.70	$k_I = 111 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹

5) *Poly-DL-alanin* in LiCl-Lösung/4.35 n HCl, $[\text{NH}_2^-]_{t=0} = 3.60$, $[\text{A}]_{t=0} = 0.38$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2^-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt}$
6	0.52	4.70	4.18	$= 0.00023 \pm 0.00002$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
12	0.74	5.75	5.01	$k_E = 22.8 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
25	0.87	7.10	6.23	
50	1.68	10.30	8.52	$\frac{d[P]}{dt} = 0.0014 \pm 0.0002$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
				$k_I = 22.2 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹

6) *Poly-DL-alanin* in Dichloressigsäure/4.38 n HCl, $[\text{NH}_2^-]_{t=0} = 3.60$, $[\text{A}]_{t=0} = 0.38$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2^-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt}$
3	0.50	—	—	$= 0.00070 \pm 0.00008$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
6	0.82	5.90	5.08	$k_E = 68.9 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
10	1.14	7.90	6.06	
24	2.20	11.29	9.09	$\frac{d[P]}{dt} = 0.00305 \pm 0.00015$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
48	4.79	17.60	12.81	$k_I = 48.4 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹

7) *Poly-DL- α -aminobuttersäure* in Dichloressigsäure/4.38 n HCl, $[\text{NH}_2^-]_{t=0} = 1.60$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2^-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt}$
24	0.60	4.00	3.40	$= 0.00025 \pm 0.00002$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
72	1.99	9.30	7.31	$k_E = 49.5 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹
148	4.26	15.57	11.31	
288	9.30	24.83	15.53	$\frac{d[P]}{dt} = 0.00077 \pm 0.0001$ Mol/Liter· Stunden ⁻¹
480	13.65	30.00	16.45	$k_I = 10.8 \times 10^{-8}$ Sek. ⁻¹

8) *Poly-DL-norleucin in Dichloressigsäure/4.38 n HCl*, $[\text{NH}_2-]_{t=0} = 2.33$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt} = 0.00020 \pm 0.00002 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
24	0.67	4.48	3.81	$k_E = 27.2 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$
72	1.54	8.95	7.41	
144	3.40	13.70	10.30	$\frac{d[P]}{dt} = 0.00067 \pm 0.00006 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
312	6.94	20.30	13.36	
480	11.80	27.00	15.20	$k_I = 9.9 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$

9) *Poly-DL-leucin in Dichloressigsäure/4.38 n HCl*, $[\text{NH}_2-]_{t=0} = 3.10$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt} = 0.000137 \pm 0.00007 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
24	0.35	4.90	4.55	$k_E = 14.0 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$
96	1.36	9.60	8.24	
194	2.96	16.30	13.34	$\frac{d[P]}{dt} = 0.00053 \pm 0.00005 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
336	6.24	22.10	15.86	
505	9.75	26.30	16.55	$k_I = 8.3 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$

10) *Poly-DL-isoleucin in Dichloressigsäure/4.38 n HCl*, $[\text{NH}_2-]_{t=0} = 3.5$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt} = 0.000045 \pm 0.000005 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
144	0.65	6.40	5.75	$k_E = 4.06 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$
264	1.35	9.10	7.75	
360	1.93	10.30	8.37	$\frac{d[P]}{dt} = 0.000156 \pm 0.00001 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
528	2.63	10.00	7.37	
720	3.20	11.60	8.40	$k_I = 2.5 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$

11) *Poly-DL-phenylalanin in Dichloressigsäure/3.50 n HCl*, $[\text{NH}_2-]_{t=0} = 1.78$

Stdn.	[A]	$[\text{NH}_2-]$	Δ	$\frac{d[A]}{dt} = 0.000223 \pm 0.000020 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
24	0.65	3.25	2.60	$k_E = 49.7 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$
48	1.15	4.60	3.45	
72	1.62	6.07	4.45	$\frac{d[P]}{dt} = 0.000374 \pm 0.000030 \text{ Mol/Liter} \cdot \text{Stunden}^{-1}$
168	3.55	10.96	7.41	
384	7.35	15.80	8.45	$k_I = 6.6 \times 10^{-8} \text{ Sek.}^{-1}$
504	8.83	16.50	7.67	