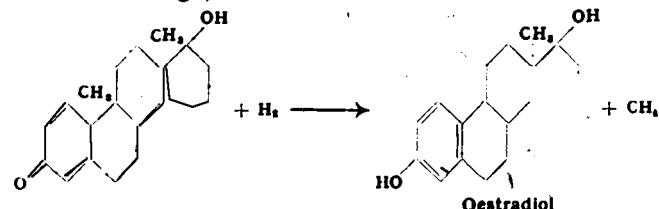


diole in der Mutterlauge in beträchtlichen Mengen das Ketton Oestrone. Wir kamen daher auf den Gedanken, die thermische Spaltung in Gegenwart von wasserstoffspendenden Mitteln durchzuführen, um hierdurch das Steroid-Material von der Autodehydrierung auszuschließen. Als wir hierfür Tetralin verwendeten und die Erhitzung in diesem Lösungsmittel vornahmen, konnte in der Tat die den technischen Erfolg bestimmende Ausbeute dieser letzten Reaktion von 5% auf 60% gesteigert werden.

Wir gelangen somit letztlich zu folgender Formulierung der Oestradiol-Bildung^{21).}

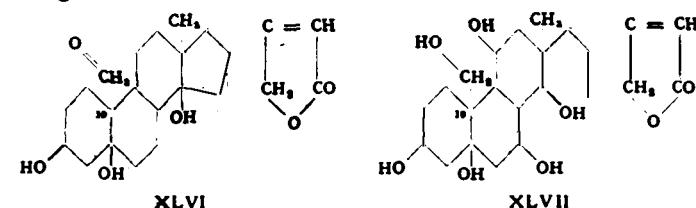


Die Gewinnung des Follikelhormons aus Cholesterin in technischem Maßstab ist seither durchführbar.

Bei diesen Untersuchungen hat mir während der letzten Jahre Herr Dr. Zülsdorff ganz wesentlich zur Seite gestanden; er kam gleichfalls aus der damals noch unerschöpflichen Göttinger Chemiker-Schule zu mir.

Entstehung des Oestradiols in vivo

Was schließlich die Frage der Entstehung des Oestradiols im weiblichen Organismus anbetrifft, so ist natürlich eine Methan-Abspaltung, auch enzymatisch, als äußerst unwahrscheinlich anzusehen. Die Natur wird hier den Weg über weit reaktionsfähige Zwischenstufen beschreiten. Zwei Vorbilder für einen



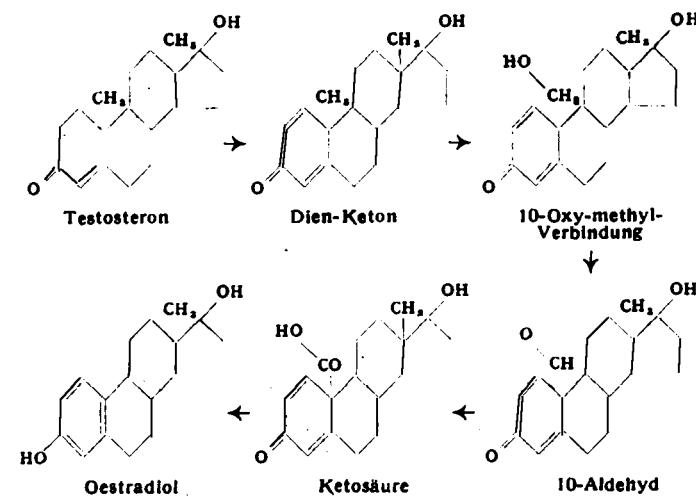
möglichen physiologischen Übergang liefert die Pflanze. Die Gennine der Herzgifte Strophantidin (XLVI) aus Strophanthus compositus

²¹⁾ H. H. Inhoffen u. G. Zülsdorff, Ber. dtsch. chem. Ges. 74, 1914 [1941].

und Ouabain (XLVII) aus strophantus gratus besitzen als seltene Ausnahmen am Kohlenstoffatom 10 anstelle der Methyl-Gruppe eine Aldehyd-Gruppe resp. eine primäre Alkohol-Gruppe.

Diese Aldehyd-Gruppe sowohl wie die Oxy-methyl-Gruppe lassen sich im Verlauf tiefgreifender Reaktionen leicht von ihrem Platz durch Wanderung verschieben resp. ganz aus der Molekel entfernen^{22).}

Man könnte im Hinblick auf diese Vorbilder daran denken, daß im weiblichen Organismus folgende Bildung des Oestradiols aus Testosteron als Muttersubstanz vor sich geht:



Nach Dehydrierung zum Dien-keton setzt eine stufenweise Oxydation des Methyls bis zum Carboxyl ein. Die resultierende Säure stellt infolge der konjuguierten Zwischenlage der beiden Doppelbindungen praktisch ein β-Ketonsäure dar, die leicht unter Verlust von Kohlendioxyd in das Follikelhormon überzugehen vermag. Eine Störung dieses Abbaumechanismus könnte wohl die teilweise Erklärung des Auftretens männlicher Merkmale bei vielen Frauen abgeben. Da im männlichen Organismus ebenfalls Oestradiol angetroffen wird, würde auch hier die nämliche Umwandlung, wenn gleich im wesentlich geringeren Ausmaß, anzunehmen sein.

Eingeg. am 10. Mai 1947 [A 39].

²²⁾ Jacobs u. Collins, J. biol. Chemistry, 63, 123 [1925]. Jacobs u. Bigelow, J. biol. Chemistry, 101, 15 [1933]. L. Fieser: Chemistry of Natural Products related to Phenanthrene, S. 294 [1936].

Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen

Von Prof. Dr. FRITZ MICHEEL, aus dem Chemischen Institut der Universität Münster/W.

Die Eiweißstoffe werden hinsichtlich der Mannigfaltigkeit ihrer Struktur und der Vielseitigkeit ihrer Bedeutung von keiner anderen Gruppe von Naturstoffen erreicht oder übertroffen. Man pflegt sie in die eigentlichen Proteine und die Proteide einzuteilen, wobei man von ersteren ursprünglich annahm, daß sie ausschließlich aus α-Aminosäuren aufgebaut seien, während in letzteren außerdem noch nicht-aminoäureartige Bausteine enthalten sind, also z. B. Phosphorsäure im Casein, Purin- und Pyrimidin-zucker-phosphorsäurereste in den Nucleoproteiden. Eine solche Einteilung würde jedoch bei ihrer konsequenten Durchführung heute dazu führen, daß die Gruppe der eigentlichen Proteine sehr klein wäre. Denn die meisten Eiweißstoffe enthalten geringe Mengen an Kohlenhydraten. Sie müßten also, streng genommen, zu den Proteiden gerechnet werden, obwohl sich die kohlenhydrathaltigen in ihren wichtigsten chemischen und physikalischen Eigenschaften nur geringfügig von den kohlenhydratreichen Proteinen unterscheiden, wenn der Kohlenhydrat-Gehalt klein ist. Es ist schon längere Zeit bekannt, daß die meisten Eiweißstoffe kohlenhydrathaltig sind. Man glaubte es dabei jedoch lediglich mit Verunreinigungen zu tun zu haben, wenn der Gehalt an Kohlenhydrat klein war. Erst die Fortschritte in der Reindarstellung der Proteine zeigten, daß dem nicht so ist. Die folgende Tabelle gibt den Kohlenhydrat-Gehalt einiger nach den gebräuchlichen Methoden dargestellter Proteine¹⁾ an.

Kohlenhydrat-Gehalt (%)	
Eieralbumin	1,7
Eiweißglobulin	4,0
Serumalbumin (Pferd)	0,47
Serumglobulin (Pferd)	1,82
Casein	0,81
Laetalbumin	0,44
Gelatine	0,6
Kollagen	0,66

Völlig kohlenhydratfreie Proteine, z. B. Insulin, waren recht selten bekannt.

Der Kohlenhydrat-Gehalt der Eiweißstoffe ist, wie weiter unten ausgeführt wird, für deren biologisches, insbesondere immunologisches Verhalten von großer Bedeutung. Dies trifft in besonderem Maße für gewisse bakterielle Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen zu, deren Kohlenhydrat-Komponente spezifisch für die betreffenden Bakterien ist. Er ist aber auch für das serologische Verhalten der meisten andern Proteine von Wichtigkeit.

Die in den letzten Jahren ständig fortschreitende Entwicklung der Reinigungsmethodik hat gezeigt, daß man scheinbar einheitliche Proteine in kohlenhydrathaltige und kohlenhydratreiche Komponenten zerlegen kann. In erster Linie geeignet für solche Untersuchungen sind die löslichen Eiweißstoffe aus Serum, Plasma, Milch oder Eiern. Die Ergebnisse werden besonders eindrucksvoll, wenn es gelingt, einen kristallinen Eiweißstoff scheinbar homogener Zusammensetzung in kristallisierte kohlenhydrathaltige und kohlenhydratreiche Komponenten zu zerlegen. Die Kryatalisation hat bei Eiweißstoffen nicht die gleiche Bedeutung wie bei niedrigmolekularen Substanzen. Während bei letzteren im allgemeinen nur Mo-

¹⁾ Siehe z. B. die Zusammenstellung in Jordan-Lloyd u. Shore: Chemistry of the proteins, London 1938, S. 139.

Ieküle der gleichen Struktur in das Gitter eingebaut und lediglich im Falle der Mischkristallbildung solche von anderer Struktur, aber mit ähnlichen Volumenverhältnissen, aufgenommen werden, ist dies bei hochmolekularen Stoffen anders. Bei der Größe der Eiweißmoleküle werden strukturelle Verschiedenheiten, sofern sie Form und Ladungsverteilung der Moleküle wenig beeinflussen, ohne entscheidenden Einfluß auf den Einbau in das Gitter sein. Beispiele dafür finden sich bei der Aufnahme von biologischen Wirkstoffen in die Krystalle indifferenter Eiweißstoffe, in denen sie auf Grund ihrer Wirkung leicht zu erkennen sind.

Serumalbumin aus Pferdeblut, wie man es verhältnismäßig einfach in krystalliner Form erhalten kann, erwies sich in seiner Löslichkeit und seinen dielektrischen Eigenschaften verschiedenartig²⁾, die Substanz mußte also uneinheitlich sein. Es wurden nach Fällungs-, Dialyse und elektrophoretischen Methoden aus dem Pferdereserumalbumin mehrere Fraktionen gewonnen, von denen eine gänzlich frei von Kohlenhydrat war und „Crystalbumin“ benannt wurde³⁾. Eine andere krystalline enthält 1,95% Kohlenhydrat⁴⁾, während eine dritte 5,5% enthält⁵⁾. Auch aus anderen Eiweißstoffen wurden gut definierte kohlenhydrathaltige Komponenten dargestellt, die auf Grund ihrer Eigenschaften als einheitlich anzusprechen sind, z. B. kryst. Eieralbumin⁶⁾. Die Frage nach der Natur der Kohlenhydrat-Komponenten läßt im wesentlichen zwei Möglichkeiten zu: entweder sind Mono- oder Oligo-saccharid-Reste auf mehrere Stellen des Eiweißmoleküls verteilt oder es sind wenige Polysaccharid-Reste vorhanden, die in verschiedener Art gebunden sein könnten. Die Isolierung von Polysacchariden, auf die noch näher bei den spezifischen Kohlenhydrat-Komponenten gewisser Bakterien zurückzukommen ist, wie die eines höheren Oligo-saccharides⁸⁾ aus krystallinem Eieralbumin, das bei einem Mol-Gewichte von etwa 1200 2 Mol. d-Mannose, 2 Mol. d-Glucosamin und eine weitere N-haltige Komponente enthält, zeigt, daß beide Anordnungen vorkommen.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß an einem Polysaccharid nicht ein Eiweißstoff, sondern viele Aminosäure- oder Peptid-Reste sitzen. Auch sie ist in der Natur verifiziert.

In allen diesen Proteinen sind die Kohlenhydrat-Komponenten zweifellos in echter chemischer Bindung vorhanden. Über die Natur dieser Bindung ist jedoch nichts Genaueres bekannt. In erster Linie kommt wohl eine glykosidische Verknüpfung mit phenolischen Hydroxyl-Gruppen an Tyrosin-Resten, mit Amino-Gruppen, vielleicht auch mit Thiol-Gruppen in Frage. Nach der Hydrolyse wurden aus den Sacchariden d-Mannose, d-Galactose, d-Glucosamin, d-Glucose isoliert.

Wesentlich anders in ihrem Aufbau sind die Muco-proteide⁷⁾, Bestandteile der tierischen Schleimstoffe, zu denen das Mucin (ca. 15% Kohlenhydrat) gehört. Auch die Protein-Verbindungen der Hyaluronsäure (Glaskörper des Auges, Nabelschnur) und des Heparins (Blutgerinnung hemmend) gehören hierher, ebenso die Knorpelsubstanz. Ihre Kohlenhydrat-Komponenten enthalten außer Hexosen und Aminohexosen auch saure Bestandteile in Form von Uronsäuren und Schwefelsäureester-Gruppen. Im Heparin befinden sich neben je einem d-Glucose- und N-Acetyl-d-glucosamin-Reste wechselnde Mengen von Schwefelsäure-ester-Gruppen⁸⁾, in der Hyaluronsäure⁹⁾ auf ein Mol N-Acetyl-glucosamin ein Mol d-Glucuronsäure. Die schon länger bekannte Chondroitinschwefelsäure der Knorpel enthält neben N-Acetyl-d-glucosamin d-Glucuronsäure und Schwefelsäure. In diesen Glykoproteiden sind die Kohlenhydrat-Komponenten über die in ihnen enthaltenen zahlreichen sauren Reste (Carboxyle oder Schwefelsäure-Reste) salzartig an basische Reste ihrer Eiweiß-Komponenten gebunden.

Als dritte und biologisch besonders wichtige Gruppe sind die Kohlenhydrat-Eiweiß-Verbindungen zu nennen, wie sie sich in Bakterien, in der Blutgruppensubstanz A und anderenorten finden. Man hat die Kohlenhydrat-Anteile dieser Stoffe auch als „spezifische“

²⁾ S. P. L. Sørensen, C. R. Trav. Lab. Carlsberg 18, [1930]; Ferry u. Oncley, J. Amer. chem. Soc. 60, 1123 [1938].
³⁾ Hewitt, Biochemic. J. 30, 2229 [1936]; McMeekin, J. Amer. chem. Soc. 61, 2884 [1939].
⁴⁾ Kekwick, Biochemic. J. 32, 552 [1938].
⁵⁾ Mc Meekin, J. Amer. chem. Soc. 62, 3393 [1940].
⁶⁾ Neuberger, Biochemic. J. 32, 1435 [1938]; Übersicht über Kohlenhydrat-Eiweißstoffe: K. Meyer, Cold Spring Harbor Sympos. quantitat. Biol. VI, 91 [1938].
⁷⁾ Zusammenfassung: Levene: Hexosamines and Mucoproteines, London 1923.
⁸⁾ Literatur siehe Jorpes, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 278, 7 [1913].
⁹⁾ Literaturzusammenstellung bei K. Meyer; siehe Anm. 6.

Kohlenhydrate bezeichnet, weil sie für das Verhalten der betreffenden Substanzen bzw. Bakterien insbesondere auch das immunologische, charakteristisch sind. Aus zahlreichen Bakterien sind Kohlenhydrat-Verbindungen isoliert worden: Staphylococci¹⁰⁾, Meningococci¹¹⁾, Choleravibronen¹²⁾, Tuberkelbazillen¹³⁾, B-proteus OX 19¹⁴⁾, B. dysenteriae (Shiga)¹⁵⁾, Pneumococci¹⁶⁾ u. a. Am besten untersucht sind die spezifischen Polysaccharide aus den zahlreichen Pneumococcenstämmen. Ihre biologische Bedeutung liegt darin, daß sie in den Kapselsubstanz der Bakterien lokalisiert sind und deren Virulenz und Spezifität bedingen. Mit einem im Torf vorhandenen Enzym behandelt werden Pneumococci unter Entfernung des Polysaccharids in vitro und in vivo unspezifisch¹⁷⁾, avirulent¹⁸⁾ und der Phagocytose zugänglich. Ferner ist auf die Kohlenhydratkompone die antigene Spezifität der verschiedenen Bakterien zurückzuführen. Die Strukturuntersuchung des spez. Polysaccharids aus Pneumococcus Typ III hat ergeben, daß dies bei einem Mol-Gewicht von 10000¹⁹⁾ aus Cellobiuronsäure-Resten aufgebaut ist, die in 1,3-Stellung β-glykosidisch miteinander verknüpft sind²⁰⁾. Wird Cellobiuronsäure als p-Amido-benzylalkohol-glykosid über die Diazonium-Verbindung an Eiweiß gekupelt, so erhält man eine Antigen, mit dem Mäuse gegen Pneumococcus Typ III durch Immunisierung geschützt werden können²¹⁾.

Die spezifischen Kohlenhydrate der kapselbildenden Bakterien sind selbst Haptene d. h. sie bilden erst mit Eiweiß zusammen Antigene. Es handelt sich jedoch um keine echte chemische Bindung zwischen Eiweiß und Kohlenhydrat, wie sie z. B. bei dem genannten synthetischen Antigen aus Cellobiuronsäure und Eiweiß vorliegt. Über die Natur der Bindung ist nichts Genaueres bekannt. Vielleicht liegt eine ähnliche übermolekulare Bindung vor, wie sie bei den Antigenen aus gramnegativen Bakterien auftritt. Von letzteren sind am besten diejenigen aus B.proteus, B.dysenteriae (Shiga) und Bact. typhosum untersucht. Das Antigen aus B.dysenteriae ist eine Kohlenhydrat-Eiweiß-Verbindung, die außerdem noch Phospholipoid enthält²²⁾. Letzteres läßt sich entfernen, ohne daß der Antigencharakter sich ändert. Das Polysaccharid enthält d-Galactose, l-Rhamnose und N-Acetyl-d-glucosamin²³⁾, das aus Bact. typhosum d-Glucose, d-Mannose und d-Galactose mit einem Mindestmolekulargewicht von 10000²⁴⁾.

Bemerkenswert und für die Art der Bindung zwischen Kohlenhydrat- und Eiweiß-Komponente wichtig, ist das Verhalten in Formamid-Lösung. Es tritt allmählich Dissoziation in das Kohlenhydrat und das Eiweiß ein. Dieser Vorgang ist reversibel. Durch Lösen der beiden isolierten Komponenten in Formamid und Heraudialysieren der letzteren wird die ursprüngliche Verbindung mit ihren antigenen Eigenschaften zurückerhalten (auch in schwacher Alkali-Lösung tritt Wiedervereinigung ein). Das reine Kohlenhydrat und das reine Protein sind für sich keine Antigene. Dies Verhalten erinnert an die Dissoziation mancher Proteine, die vom pH-Werte abhängig ist und reversibel zu kleineren Bruchstücken führt. Ganz analog wie das Antigen aus Dysenteriebazillen verhält sich dasjenige aus Bact. typhosum. Besonders auffällig ist, daß die Eiweiß-Komponenten aus beiden sich in jeder Weise als gleichartig erwiesen, so daß die Kohlenhydrat-Komponente jedes dieser Antigene mit der Eiweißkomponente des andern zu einem vollwertigen Antigen verknüpft werden kann. Für die Bindungsfähigkeit dieser Eiweißkomponente ist die weitere Feststellung von hohem Interesse, daß sie auch mit anderen Polysac-

¹⁰⁾ Linton u. Mitra, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 32, 464 [1934]; Julianelle u. Wieghard, J. exp. Med. 62, 23 [1935].
¹¹⁾ Scherp u. Rake, J. exp. Medicine 61, 753 [1935].
¹²⁾ White, Brit. J. exp. Pathol. 17, 229 [1936].
¹³⁾ Chargaff u. Schaefer, J. biol. Chemistry 112, 393 [1935].
¹⁴⁾ Castaneda, J. exp. Medicine 62, 289 [1935].
¹⁵⁾ Morgan, Biochemic. J. 31, 909 [1936].
¹⁶⁾ Siehe die weiteren Seiten von Avery, Goebel und Heidelberger.
¹⁷⁾ Dubos u. Avery, J. exp. Medicine 54, 51 [1931].
¹⁸⁾ Dubos u. Avery, J. exp. Medicine 54, 73 [1931].
¹⁹⁾ Heidelberger u. Kendall, J. biol. Chemistry 96, 541 [1932]; Heidelberger, Kabat u. Mayer, J. exp. Medicine 75, 35 [1942].
²⁰⁾ Goebel u. Heidelberger, J. biol. Chemistry 74, 613 [1927]; Goebel u. Hotchkiss, ebenda 110, 391 [1935]; 121, 195 [1937]; Reeves u. Goebel, ebenda 139, 511 [1941]; Adams, Reeves u. Goebel, ebenda 140, 653 [1941].
²¹⁾ Goebel, J. exp. Medicine 68, 409 [1938]; Nature [London] 143, 77 [1939]; J. exp. Medicine 72, 33 [1940].
²²⁾ Morgan u. Patridge, Biochemic. J. 31, 2003 [1937]; 34, 169 [1940]; 35, 1140 [1941]; Brit. J. exp. Pathol. 23, 151 [1942]; Patridge u. Morgan, ebenda 21, 180 [1940].
²³⁾ Morgan, Helv. chim. Acta 21, 469 [1938].
²⁴⁾ Freeman, Biochemic. J. 36, 340 [1942].

chariden, z. B. Kirsch- und Akaciengummi oder Agar-Agar⁴⁵⁾ auf die gleiche Art zu Antigenen zusammentreten kann. Die Art dieser Bindung ist für die Immunochemie von Bedeutung. Es handelt sich weder um eine echte chemische Bindung, wie z. B. in den kohlenhydrat-haltigen gewöhnlichen Eiweiß-Stoffen, noch um eine einfache Salzbildung, wie bei den Mucoproteiden. Am besten ist sie als Molekülbindung, wie sie in den zahlreichen, z. T. recht stabilen organischen Molekülverbindungen vorliegt, zu verstehen, wobei offenbar die besondere Struktur der Eiweiß-Komponente von entscheidender Bedeutung für das Zustandekommen der Bindung ist. Diese Bindung ist mit Bezug auf die Ausbildung antigener Eigenschaften ebenso wirksam wie eine echte chemische Bindung zwischen Eiweiß und Kohlenhydrat. Es wäre von Interesse, festzustellen, ob das Protein aus Dysenterie- oder Typhusbacillen auch mit Hyaluronsäure ein Antigen bildet, da letztere, an Pferdeserumalbumin über die Azoverbindung ihres p-Aminobenzyl-Derivates durch eine echte chemische Bindung geknüpft, kein spezifisches Antigen zu bilden vermag^{28).}

Zu den gut untersuchten Kohlenhydrat-Eiweiß-Verbindungen gehört auch die Blutgruppensubstanz A. Sie ist nicht nur im menschlichen Blut und dem gewisser Affen vorhanden, sondern läßt sich auch aus Pepsin^{26),} Pferdespeichel^{27),} Harn²⁸⁾ oder Magenschleimhaut²⁹⁾ isolieren. Die A-wirksamen Stoffe aus den genannten Materialien zeigen im gereinigten Zustande große Ähnlichkeit, wenn sie auch nicht chemisch identisch sind²⁹⁾. Ihr Kohlenhydrat-Anteil ist ein Poly-saccharid, das d-Galactose und N-Acetyl-glucosamin enthält^{29,30)}. Bemerkenswert ist, daß die Aminosäure-Komponente nicht abdissoziieren kann, wie bei den Antigenen der gram-negativen Bakterien, und daß es sich bei ihr nicht um ein Protein sondern um einzelne Aminosäuren oder nur kurze Peptidketten handelt²⁹⁾, die also in echter chemischer Bindung mit dem Kohlenhydrat verknüpft sind. Die Substanz A ist kein Antigen sondern ein Hapten, was möglicherweise damit zusammenhängt, daß unter den Aminosäuren kein Tyrosin vorhanden ist. Es ist jedoch wichtig, daß sich aus A-Substanz und dem oben erwähnten Protein aus B.dysenteriae ein Vollantigen bildet³¹⁾. Damit hängt offenbar die virulenzsteigernde Wirkung des Magenschleims zusammen.

Die Tatsache, daß den Kohlenhydrat-Komponenten von Kohlenhydrat-Eiweiß-Verbindungen eine große serologische Bedeutung zuzuerkennen ist, hat wiederholt zu Synthesen von Verbindungen dieser Art angeregt. Technisch am einfachsten gestaltet sich die Methode, Mono- oder Disaccharid-Derivate von aromatischen Aminen (z. B. p-Amino-benzylalkohol) herzustellen und diese über ihre Diazonium-Verbindungen an die aromatischen Komponenten der Eiweißstoffe zu kuppeln³²⁾. Dabei machen sich schon feinere sterische Unterschiede, wie die zwischen α - und β -Glykosid oder zwischen d-Glucose und d-Galactose, serologisch bemerkbar. Obwohl diese Methode, wie oben erwähnt, bei der Synthese von Cellobiuronsäure-antigenen der Pneumococcus Typ III wertvolle und wichtige Ergebnisse gebracht hat, darf doch die Tatsache nicht übersehen werden, daß solche Kohlenhydrat-Eiweiß-Verbindungen körperfremde Azo-Gruppen enthalten, die serologisch störend wirken können. Harington³³⁾ schloß diese Gefahr aus, als er Tyrosin-o-glucosid nach der Curtiuschen Azidmethode an Eiweißstoffe kuppelte. Wir haben bei unseren Synthesen, die die Verknüpfung von Poly-, Oligo- und Monosacchariden mit Eiweißstoffen und die Untersuchung der Abhängigkeit der serologischen Eigenschaften dieser Kondensationsprodukte von ihrer Konstitution zum Ziele haben, jede unbiologische Bindung vermieden. Es sei im Folgenden ein Überblick über die bisher beschrittenen Wege gegeben. Für die Kondensation an verschiedene Eiweißstoffe wurden einerseits Polysaccharide gewählt, die in nativem Zustande Carboxyl-Gruppen und Ester-Gruppen enthalten, andererseits Derivate von Mono-, Oligo- und Polysacchariden mit

Carboxyl- oder anderen kondensationsfähigen Gruppen. Es wurde araban-freies Apfelpektin mit einem Gehalt von etwa 5% Methoxyl über das Hydrazid und Azid mit Gelatine kondensiert und so eine Pektin-Gelatine (I) mit einem Kohlenhydratgehalt von etwa 18% erhalten^{34,35)}. Mit Rücksicht auf das Verhalten als Antigen, auf das in diesem Zusammenhang nicht einzugehen ist³⁶⁾, wurde ferner das native Pektin auf dem gleichen Wege an Tyrosinester gekuppelt und dieser Pektin-tyrosinester auf analoge Art mit Gelatine zu einer Pektin-tyrosyl-gelatine (II) kondensiert (Kohlenhydrat-Gehalt im Mittel 17%). Verestert man die freien Carboxyl-Gruppen des Apfelpektins mit Methanol-salzsäure, wobei gleichzeitig teilweiser Abbau des Pektins erfolgt, so erhält man einen Ester mit einem mittleren Methoxyl-Gehalt von 13%, aber offenbar geringerer Kettenlänge, als das Ausgangsmaterial. Dieser wurde einerseits auf dem gleichen Wege mit Gelatine und mit Pseudoglobulin aus Pferdeserum kondensiert, andererseits auch unter Zwischenschaltung von L-Tyrosin- oder d-Glucosaminsäure-Resten an die beiden Eiweißstoffe gebunden³⁶⁾. Man erhält so folgende Eiweiß-Kohlenhydratverbindungen:

	% Kohlenhydrat
Pektin-gelatine (III)	24—42
Pektin-tyrosyl-gelatine (IV)	18,5—17,5
Pektin-pseudo-globulin (V)	15
Pektin-tyrosyl-pseudo-globulin (VI)	8,5—9
Pektin-d-glucosaminsäure-gelatine (VII)	24
Pektin-d-glucosaminsäure-pseudo-globulin (VIII)	9,2

Es handelt sich bei allen diesen Stoffen um verhältnismäßig schwer lösliche Kondensationsprodukte, bei denen durch Reaktion mehrerer Moleküle der Komponenten wahrscheinlich eine weitgehende Vernetzung eingetreten ist. Diejenigen mit Tyrosin-Resten (IV u. VI) erwiesen sich als Antigene mit Bezug auf die eingeführte prosthetische Gruppe. Die Bindung zwischen Polysaccharid und Eiweiß erfolgt über die freien Amino-Gruppen des letzteren unter Bildung echter Peptid-Bindungen oder bei tyrosinhaltigem Eiweiß möglicherweise auch esterartig über die phenolischen Hydroxyl-Gruppen. Analog dem Pektin kann Gummi-arabicum mit Eiweißstoffen zu in Wasser gut löslichen Kondensationsprodukten verknüpft werden³⁷⁾.

Um Cellulose oder ihre Abbauprodukte mit Eiweiß zu verbinden, wurden zwei Wege eingeschlagen. Einmal wurde die Cellulose durch Oxydation in Kupferammin-Lösung mit Luftsauerstoff in Oxy-cellulose übergeführt und deren Carboxyl-Gruppen analog dem Pektin umgesetzt³⁸⁾. So wurden, je nach der Arbeitsweise, Oxy-cellulosido-gelatinen (IX) mit sehr verschiedenem Kohlenhydratgehalt erhalten (4% bis 70%). Um native Cellulose mit Eiweiß zu kuppeln, wurde erstere als Alkali-Verbindung mit Chloressigsäure in ihren Glykolsäureäther übergeführt. Solche Cellulose-glykoloyl-äther geeigneter Zusammensetzung wurden nach der Azid-Methode mit Gelatine kondensiert und Cellulosido-glykoloyl-gelatine (X) mit einem Kohlenhydrat-Gehalt von 3—6% gewonnen³⁹⁾. Diese Äther zeichnen sich naturgemäß durch geringe Löslichkeit aus. Auch Cellobiose läßt sich unter Zwischenschaltung eines Glykolsäure-Restes an Eiweiß kuppeln, indem man Glykolsäure-äthylester- β -cellobiosid nach der Azid-Methode mit Gelatine kondensiert. Die in Wasser gut lösliche β -Cellulosido-glykoloyl-gelatine (XI) enthält 4,5% Kohlenhydrat⁴⁰⁾.

Noch auf andere Art wurden Zucker-Reste an Eiweiß gebunden. Beim Umsatz von Protein mit Tetracetyl-d-glucose- β -cyanat und Verseifung der Acetyl-Gruppen entstehen Kondensationsprodukte, die entweder Ureido-oder Urethan-Bindungen zwischen Kohlenhydrat und Eiweiß enthalten, je nachdem, ob Amino- oder Phenol-Gruppen im Eiweiß reagieren. Eine solche Glucose-ureido-gelatine (XII) (Gelatine enthält kein Tyrosin) hat einen Kohlenhydratgehalt bis zu 6% und ist auch in ihren Löslichkeiteigenschaften deutlich von Gelatine verschieden⁴¹⁾. Auch d-Glucose-cyanamid (durch Entschwefeln von d-Glucose-thioharnstoff

⁴¹⁾ Partridge u. Morgan, Brit. J. exp. Pathol. 23, 84 [1942].

⁴²⁾ Schiff u. Weiler, Biochem. Z. 235, 454 [1931].

⁴³⁾ Landstelner u. Chase, J. exp. Medicine 63, 185, 813 [1936].

⁴⁴⁾ Freudenberg u. Eichel, Liebigs Ann. Chem. 510, 240 [1934].

⁴⁵⁾ Morgan u. King, Biochem. J. 37, 640 [1943].

⁴⁶⁾ Meyer, Smyth u. Palmer, J. biol. Chemistry 119, 73 [1937].

⁴⁷⁾ Morgan, Chem. and Ind. 60, 722 [1941]; Brit. J. exp. Pathol. 24, 41 [1943].

⁴⁸⁾ Avery u. Goebel, J. exp. Medicine 50, 521, 533 [1929]; Avery, Goebel u. Babers, ebenda 55, 761, 769, [1932].

⁴⁹⁾ Clutton, Harington u. Mead, Biochemic. J. 31, 764 [1937]; Clutton, Harington, u. Yull, ebenda 32, 1111 [1938].

⁵⁰⁾ Alle Kohlenhydrate kolorimetrisch bestimmt nach der Orzin-Methode M. Sörensen u. Haugard, Biochem. Z. 260, 247 [1933].

⁵¹⁾ Unveröffentlicht: Micheel u. Istele; Diplomarbeit Istele, Münster 1947,

⁵²⁾ Siehe darüber Micheel, Emde u. Dörner, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 275, 258 [1942].

⁵³⁾ Unveröffentlicht: Micheel u. Heuer.

⁵⁴⁾ Unveröffentlicht; Micheel u. Ewers.

⁵⁵⁾ Siehe Fußnote 38.

⁵⁶⁾ Unveröffentlicht: Micheel u. Beckmann, Diplomarbeit Beckmann, Münster 1943.

⁵⁷⁾ Unveröffentlicht: Micheel u. Bruns.

erhalten) ist zur Kondensation mit Proteinen befähigt. Die Produkte können, je nachdem, ob Amino-Gruppen oder OH-Gruppen des Proteins reagieren, Guanidin- oder O-Iso-harnstoff-Bindungen enthalten. Eine d-Glucosido-guanido-gelatine (XIII) enthält 4—5% Zucker⁴⁾. Die beiden zuletzt beschriebenen Methoden sind unmittelbar nur für die Kondensation von Mono- und Oligo-sacchariden mit Proteinen geeignet.

Bei allen von uns synthetisierten Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen wurde Wert darauf gelegt, daß die Bindung zwischen Kohlenhydrat- und Eiweißkomponente nur Atomgruppierungen enthält, die biologisch möglich sind. Ob bei denjenigen natürlichen Verbindungen, in denen Kohlenhydrat und Eiweiß in echter

⁴⁾ Unveröffentlicht: Micheel u. K. Schmidt.

chemischer Bindung verknüpft sind, eine dieser Atomanordnungen wirklich vorliegt, läßt sich nicht sagen, da darüber noch nichts bekannt ist. Zweifellos ist aus der Bearbeitung dieser Stoffe, sowohl der natürlichen wie der synthetischen, eine Erweiterung und Vertiefung der Kenntnis biochemischer Vorgänge im allgemeinen und immunologischer Prozesse im besonderen zu erwarten.

Anmerkung: Mit Rücksicht auf die besonders ungünstigen Bibliothekerverhältnisse in Münster (die Institutebibliothek hat 90%, die Universitätsbibliothek 75% ihres Bestandes im Kriege verloren), mußte dieser Aufsatz manches unberücksichtigt lassen. Dies trifft natürlich für die neuere ausländische Literatur allgemein zu.

Eingeg. am 11. Juni 1947. [A 48]

Über die Synthese von Modellen ungesättigter Steroide vom Typ des Ergosterins

Von Dozent Dr. KARL DIMROTH, Marburg/Lahn

Die Bildung der antirachitischen Vitamine aus ihren Provitaminen ist, wie wir aus den Untersuchungen von Adolf Windaus wissen, an einen höchst eigenartigen und komplizierten photochemischen Prozeß geknüpft. Die Provitamine durchlaufen nämlich bei ihrer durch das ultraviolette Licht ausgelösten Umwandlung in die D-Vitamine nicht weniger als drei ganz verschiedenartige, hintereinander geschaltete photochemische Isomerisierungsreaktionen. Es ist Windaus gelungen, diese Reaktionen im Experiment sauber von einander abzutrennen und den dabei stattfindenden Reaktionsablauf bis in alle Einzelheiten aufzuklären. Auch die antirachitischen Vitamine werden bei der weiteren Bestrahlung mit ultraviolettem Licht noch verändert. Wiederhandelt es sich um mindestens drei verschiedene Photo-Isomerisierungen und wiederum ist es hier Windaus gelungen, die Einzelprozesse von einander abzutrennen und in ihrem Reaktionsverlauf im wesentlichen aufzuklären¹⁾.

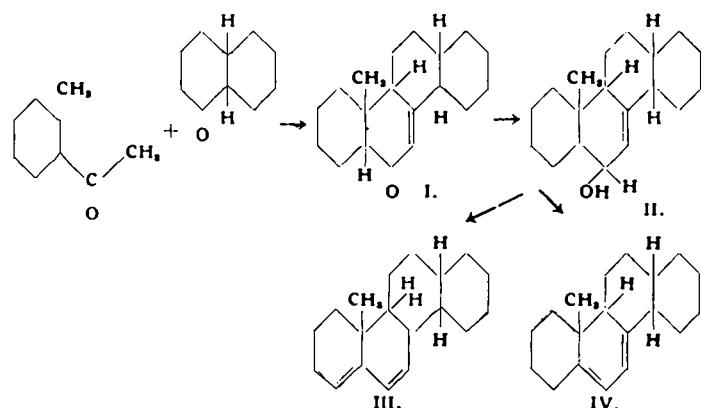
Den Ausgangspunkt dieser seltsamen Lichtreaktion, für die es in der gesamten organischen Chemie bisher keine Parallele gibt, bilden die natürlichen, oder die nach der eleganten Methode von Windaus, Lettré und Schenk²⁾ aus anderen Sterinen vom Typ des Cholesterins partialsynthetisch zugänglichen, antirachitischen Provitamine, die sämtlich in ihrem lichtempfindlichen Kern dem bestuntersuchten Vertreter dieser Reihe, dem Ergosterin, gleichen. In keinem einzigen Falle ist es bisher gelungen, entweder durch eine Partialsynthese aus einem Sterin-Derivat oder gar durch eine Grundsynthese eines Modelles, irgend eines der Photoprodukte dieser Reihe darzustellen bzw. in einem Modell nachzuahmen, d. h. also die Lichtreaktion an irgend einer Stelle durch eine normale chemische Reaktion zu ersetzen. Auch die künstliche Darstellung der Provitamine ist bisher nur auf dem von Windaus, Lettré und Schenk angegebenen Verfahren, das in der Zwischenzeit natürlich mehrere Variationen erfahren hat, welche aber an dem grundsätzlichen Verlauf dieser Reaktion nichts ändern, aus bereits fertig gebildeten natürlichen Sterinen möglichen gewesen.

Wenn man nun auch kaum erwarten kann, daß man durch Modellversuche hier zu einer prinzipiellen Erweiterung der von Windaus gewonnenen Erkenntnisse wird gelangen können, so scheint uns doch andererseits die Beschäftigung mit der angedeuteten Fragestellung von einem gewissen Interesse, zumal sie dazu dienen kann unser recht lückenhafte Wissen über das Wesen von Lichtreaktionen in der organischen Chemie in der einen oder anderen Richtung zu verbessern.

Wir haben uns aus diesem Grund schon seit einigen Jahren mit dem Problem der Synthese geeigneter Modelle für solche Stoffe, die einem der Glieder der photochemischen Reihe des Ergosterins entsprechen, beschäftigt. In dieser Arbeit soll über einige Versuche berichtet werden, die das Ziel erstrebten, ein einfaches Modell für das erste Olied der photochemischen Reihe, das Ergosterin, zu synthetisieren. Gemeinsam mit O. Lüderitz³⁾ habe ich einen

Weg benutzt, der bereits von R. Robinson⁴⁾ mit Erfolg zur Synthese hydroaromatischer und sterin-ähnlicher Verbindungen angewandt worden ist und den schon vor mehreren Jahren W. Huber⁵⁾ im Göttinger Institut zur Synthese ergosterin-ähnlicher Modelle zu beschreiten versucht hat. Gewisse Erfahrungen, die wir bei unseren anderen Modellversuchen über die Stabilität solcher Verbindungen in Abhängigkeit von ihrer Konstitution gemacht hatten, haben uns ermutigt, die seinerzeit von Huber begonnenen Versuche wieder aufzunehmen.

Der Gang der Synthese wird durch die folgenden Formeln skizziert:



Man kondensiert trans- α -Dekalon in Gegenwart von Kaliumamylat mit 2-Acetyl-1-methyl-cyclohexen-1 zu dem α - β -ungesättigten Keton I, reduziert dieses nach Meerwein zu einem Gemisch stereoisomerer Alkohole (II) und spaltet hieraus Wasser ab. Hierbei können im wesentlichen zwei verschiedene Kohlenwasserstoffe entstehen. Der eine hat wie III die Doppelbindungen auf zwei Ringe verteilt; hier ist also eine Wanderung der Doppelbindungen erfolgt; dieser Stoff muß, wie wir aus der Sterinchemie wissen⁴⁾, um 248 m μ absorbieren. Der andere besitzt die Konstitution IV; bei ihm liegen also die beiden Doppelbindungen in einem Ring wie beim Ergosterin; er muß daher ähnlich wie das Ergosterin zwischen 270 und 280 m μ absorbieren, also erheblich langwelliger als der erstgenannte Kohlenwasserstoff. Wie schon Huber gefunden hat, bereitet gerade die Wasserabspaltung zu einem Dien mit den beiden konjugierten Doppelbindungen in einem Ring die größten Schwierigkeiten. Tatsächlich führen auch fast alle der üblichen Methoden zu einem Kohlenwasserstoff-Gemisch, in dem das kurzwellig absorbierende Dien weit überwiegt. Nur bei der Behandlung mit Kaliumbisulfat bei etwa 160—170° ist es uns gelungen, den Kohlenwasserstoff IV, der in seinem strukturellen Aufbau sicherlich dem Ergosterin entspricht, fast ganz ohne den ihn begleitenden Kohlenwasserstoff III zu erhalten. Dieser Kohlenwasserstoff IV absorbiert in der Tat ähnlich wie das Ergosterin;

¹⁾ Zusammenfassung: A. Windaus, Abh. preuß. Akad. Wiss., physik.-math. Kl. 1937, 104.

²⁾ Liebigs Ann. Chem. 520, 98 (1935).

³⁾ Otto Lüderitz, Dissertation Göttingen 1944.

⁴⁾ W. Rapson u. R. Robinson, J. Chem. Soc. [London], 1935, 1285; Robinson u. Mitarb., ebenda 1936, 756, 759; 1941, 376.

⁵⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 71, 725 (1938).

⁶⁾ K. Dimroth, diese Ztschr. 52, 545 (1939); H. Dannenberg, Abh. preuß. Akad. Wiss. physik.-mathem. Kl. 1939, Heft 21.