

900 °C mit O₂ oxydiert wird. Das ebenfalls grüne Strontiummanganat(V) konnte thermisch nur unter Verwendung des Hydroxosalzes Sr₂[Mn(OH)₆] bei 250° bis 350 °C erhalten werden. Beide Verbindungen können im übrigen auch aus wässriger Lösung durch Reduktion von Manganat oder Permanganat mit Äthanol in Erdalkalihydroxydlösung dargestellt werden.

Ferrate (IV). Zu Ferraten(IV) gelangt man entweder durch thermische Zersetzung von Ferraten(VI) oder durch Oxydation geeigneter Eisen-(III)-Verbindungen bei Gegenwart von Ba(OH)₂ bzw. Sr(OH)₂ im O₂-Strom. In reiner Form wurden die Metaferrate Ba₂FeO₃ und Li₂FeO₃ und die Orthoferrate Ba₂FeO₄ und Sr₂FeO₄ als schwarze mikrokristalline Pulver erhalten³⁾. Ba₂FeO₄ reagiert mit einem Mol Ba(OH)₂ weiter unter Bildung von Ba₃FeO₅.

Cobaltate (IV). Die Reihe Ba₂TiO₄, Ba₂CrO₄, Ba₂FeO₄ findet ihre Fortsetzung in der thermisch ebenfalls leicht zugänglichen Verbindung Ba₂CoO₄⁴⁾, die – wiederum analog – mit Ba(OH)₂ unter Bildung von Ba₃CoO₅ reagiert.

Die hohe thermische Beständigkeit der Chromate(IV) und (V), der Manganate(V), Ferrate(IV) und Kobaltate(IV) spricht durchaus dagegen, daß man diese Wertigkeitsstufen als „anomal“ bezeichnet. Besonders deutlich wird dies bei den Manganaten(V), die thermisch weit beständiger sind als die Manganate(VI). Für die Realisierung dieser Wertigkeitsstufen ist wesentlich, daß den entsprechenden instabilen Oxyden der geeignete Reaktionspartner angeboten wird. Es handelt sich also um die Bildung stabiler Oxo-Salze mit Barium bzw. Strontium als Kation.

Es wurden bearbeitet: Die Chromate(IV) von Dr. G. Sperka, Chromate(V) von Dipl.-Chem. H. Suchy, Alkalimanganate(V) von Dipl.-Chem. H. Waterstradt, D. Fischer und H. J. Stöcker, die Erdalkalimanganate(V) von Dr. B. Zorn, die Ferrate(IV) von Dipl.-Chem. W. Zeiss, die Kobaltate(IV) von Dipl.-Chem. H. Weller.

Eingeg. am 22. April 1953 [Z 62]

Über den Wirkungsmechanismus des Thrombins

Von Dr. M. FRIMMER

Maz-Planck-Institut für Chemie, Mainz

Das Gerinnungsferment des Blutes wird als spezifische Polypeptidase aufgefaßt⁵⁾. Unter den Fermenten dieser Klasse sind Beispiele bekannt, bei denen die prosthetische Gruppe metallhaltig ist. Es erscheint lohnend, auch beim Thrombin nach einer Metallkomponente zu suchen. Als Ausgangsprodukt diente das sehr aktive Handelspräparat *Topostasin-Röche*. Bei der spektralanalytischen Untersuchung der Asche findet man alle im Blutserum enthaltenen Spurenelemente, so daß ein bes. Anhaltspunkt für ein aktivierendes Metall durch die chemische Analyse nicht gegeben ist. Deshalb wurden Hemmungsversuche ausgeführt. Als Testobjekt dienten jeweils 10 Einheiten Thrombin und 2,5 mg Fibrinogen (Behring). Bestimmt wurde die Gerinnungszeit mit und ohne Zusatz abgestufter Mengen Hemmsubstanz. Nach einer Eichkurve wurden die Gerinnungszeiten auf die nach Zugabe der Hemmsubstanz noch erhaltenen Thrombin-Einheiten umgerechnet. Um vergleichbare Werte zu erhalten, werden in der Tabelle diejenigen Endkonzentrationen in Molarität angegeben, die zu einer 50 proz. Hemmung notwendig sind.

Hemmstoff	Molar
Diamino-äthylen-tetraessigsäure(Di-Natriumsalz)	3,4·10 ⁻⁵
Nirilo-triessigsäure (bez. auf freie Säure)	4,5·10 ⁻⁵
Diäthyl-thiocarbamat	3,4·10 ⁻⁴
Kaliumnatrium-Polyphosphat – Tammannsches Salz (berechnet als KNa(PO ₄) ₂)	4,0·10 ⁻⁵
Histamin	1,5·10 ⁻⁵
Kaliumcyanid	4,4·10 ⁻⁴
Kaliumrhodanid	1,2·10 ⁻²
Cystein	1,0·10 ⁻²
Natriumthiosulfat	6,7·10 ⁻³
Natriumfluorid	1,3·10 ⁻¹
Natriumoxalat	1,9·10 ⁻¹
Natriumcitrat	9,4·10 ⁻³
Phenylnitroso-hydroxylamin (Ammoniumsalz)	2,0·10 ⁻³
Kaliumpermanganat	1,0·10 ⁻⁵

Alle Werte beziehen sich auf eine Inkubation des Thrombins von 1 min. Alle Lösungen wurden auf pH 7 eingestellt. Einleiten von CO in die Fermentansätze beeinträchtigt die Aktivität nicht. Hingegen tritt nach H₂S eine totale Inaktivierung auf, die nach Durchleiten von Luft reversibel ist. Die Hemmung mit Kaliumpermanganat nimmt beim Stehenlassen des Ansatzes zu. Sie kann durch Fe²⁺-Zusatz rückgängig gemacht werden. Beim Ausschütteln mit Dithizon-haltigem CCl₄ tritt keine Inaktivierung ein. Der gesuchte Aktivator ist nicht dialysabel.

⁵⁾ R. Scholder, Z. Elektrochem. 56, 879 [1952].

⁶⁾ Vgl. auch Dissertation G. Arnoldy, Marburg 1951.

⁷⁾ F. R. Bettelheim u. L. Lorand, II. Internat. Kongreß für Biochemie Paris 1952; vgl. diese Ztschr. 64, 653 [1952].

Versuche, durch Zusätze von Metallionen eine Aktivierung des Gerinnungsfermentes zu erreichen, wurden mit je 1 Einheit Thrombin und 2,5 mg Fibrinogen vorgenommen. Unter den biologisch bekannten Metallaktivatoren waren nur Fe²⁺ (nicht Fe³⁺) und Ca wirksam.

Aus den vorliegenden Untersuchungen läßt sich mit einiger Sicherheit schließen, daß das Thrombin als prosthetische Gruppe ein Metallion trägt. Die meisten Hemmsubstanzen, vorwiegend die hochwirksamen sind typische Komplexbildner oder Oxydationsmittel. Bei den Hemmungen durch Komplexbildner muß man aus der Form der Hemmkurven eine Konkurrenzreaktion annehmen. Die Aktivierungsversuche sowie die durch Fe²⁺ regenerierbare Hemmung durch Oxydationsmittel und die reversible Reaktion mit H₂S scheinen dafür zu sprechen, daß es sich bei dem gesuchten Aktivator um zweiwertiges Eisen handelt.

Die Versuche werden fortgeführt. Eine ausführliche Veröffentlichung folgt an anderer Stelle.

Ich danke Herrn Prof. Dr. F. Strassmann für die freundliche Unterstützung der Versuche und für wertvolle Anregungen.

Eingeg. am 21. April 1953 [Z 61]

Über den fermentativen Einbau blogener Amine in Proteine

In vivo- und in vitro-Versuche mit ¹⁴C radioaktivem Mescalin und ¹⁴C radioaktivem β-Phenyläthylamin

Von Dr. WOLFRAM BLOCK

Aus dem Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Abt. für klinische Psychiatrie und Konstitutionsforschung, Marburg/Lahn.
(Leiter: Dr. B. Patzig)

Nachdem wir den Einbau von Mescalin in das Protein der Mäuseleber in vivo gefunden hatten^{1, 2)}, stellten wir die Arbeitshypothese auf, daß die durch Mescalin beim Menschen ausgelösten Halluzinationen durch das Mescalinprotein bewirkt werden könnten (Modellversuche zum Schizophrenieproblem). Der Zeitpunkt des Auftretens und die Dauer der Halluzinationen verliefen konkordant mit der Bildung, dem Höhepunkt und dem Abbau von Mescalinprotein.

In Fortführung der Versuche wurde der fermentative Ablauf der Bildung von Amin-Proteinverbindungen in vitro sichergestellt.

Überraschenderweise konnte in keinem Versuch nachgewiesen werden, daß Kathepsine diese Reaktion katalysieren, wie es nach den Untersuchungen von Fruton und seiner Schule³⁾ wahrscheinlich gewesen wäre. Die Autoren fanden, daß Kathepsin-C Umanidierungen an Peptiden katalysiert. Zum mindesten sind Kathepsine alleine nicht imstande, den Einbau von Aminen in Proteine zu vollziehen.

Durch geeignete Aktivatoren gelang es, den Einbau um Zehnerpotenzen gegenüber den in vivo-Versuchen zu steigern. Jedoch war dies erst möglich nach Inaktivierung eines hauptsächlich in den Mitochondrien und Mikrosomen vorhandenen Hemmfaktors wahrscheinlich eiweißartiger Natur.

Man kann hieraus sowie aus der Art der angewandten Aktivatoren und Hemmstoffe schließen, daß der Einbau von Aminen in Proteine anderen Reaktionsmechanismen folgen muß als der Einbau von Aminosäuren, wie er von zahlreichen amerikanischen Autoren⁴⁾ durchgeführt wurde. Beim Übergang von in vivo- zu in vitro-Versuchen konnte im Verhältnis zu uns nur eine geringfügige Steigerung des Einbaues erreicht werden.

Der lebende Organismus scheint gegen eine derartige Veränderung seines Proteins durch Amino weitgehend geschützt zu sein, so daß sie normalerweise nicht eintreten wird. Wahrscheinlich können nur Amine mit Proteinen verbunden werden, die in dem betreffenden Organismus nicht gebildet werden und für die Aminoxydases in ausreichender Menge nicht bereitstehen.

Dies folgt aus Versuchen mit von uns synthetisiertem ¹⁴C-β-Phenyläthylamin, das mit Sicherheit entgegen dem Mescalin im intermediären Eiweißstoffwechsel des Säugers auftritt. In vivo konnte bei der Maus kein Einbau in Leberprotein nachgewiesen werden, da die betreffende Aminoxydase den für den Organismus sehr giftigen Stoff so schnell in Phenylessigsäure umwandelt, daß schon nach 30 min nur noch Spuren des Ausgangsstoffes in den

¹⁾ W. Block u. K. Block, diese Ztschr. 64, 166 [1952].

²⁾ W. Block, K. Block u. B. Patzig, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 291, 119 [1952].

³⁾ M. E. Jones, W. R. Hearn, M. Fried u. J. S. Fruton, J. biol. Chemistry 195, 645 [1952].

⁴⁾ H. Borsook, C. L. Deasy, A. J. Haagen-Smit, G. Keighley u. P. H. Lowy, J. biol. Chemistry 179, 689 [1949]. E. A. Peterson u. D. M. Greenberg, ebenda 194, 359 [1951]. P. Siekevitz, ebenda 195, 549 [1952]. S. Kit u. D. M. Greenberg, ebenda 194, 377 [1951].

Organen gefunden wurden. (2 mg β -Phenyläthylaminhydrochlorid intraperitoneal/Maus). Bemerkenswert war auch die andersartige Verteilung der spezifischen Aktivitäten in den einzelnen Organen gegenüber den Mescalin-Versuchen⁵), trotz der großen chemischen Ähnlichkeit beider Stoffe. Mit Ausnahme der Nieren wurde in allen Organen eine fast gleich hohe spezifische Aktivität zu gleichen Zeitpunkten gefunden einschließlich des Gehirns, in das Mescalin nur in Spuren zu gelangen vermag.

In vitro erreichten wir dagegen ohne Schwierigkeiten einen Einbau gleicher Stärke wie beim Mescalin aber erst nach Ausschalten der Aminoxydase und des Einbauhemmfaktors. Am elegantesten gelingt dies ohne künstliche Eingriffe in das System, wenn man mit isolierten Zellkernen arbeitet, die aus vorher in flüssiger Luft eingefrorener Rinderleber gewonnen wurden. Sie enthalten weder Aminoxydases noch den Hemmfaktor.

Wir fanden so, daß Zellkerne das geeignete Versuchsstück zum Studium des Einbaues von Aminen in Proteine darstellen.

Der doppelte Schutz: Aminoxydase-Einbauhemmfaktor, wozu in vivo noch die Zellmembranen treten, läßt ebenfalls den Schluß zu, daß die Aminprotein-Bildung im Organismus keine normalerweise ablaufende Reaktion darstellt.

Nach dem Gefundenen besteht die Möglichkeit, daß Schizophren-Kranke durch Veränderungen am Aminoxydase-System (kein Abbau körpereigener Amine) oder durch Ausschaltung des Einbauhemmfaktors oder beidem zugleich einer Dauervergiftung durch Aminproteine unterliegen. Dies würde im Einklang mit Untersuchungen und Beobachtungen an Schizophren-Kranken stehen, wie sie in der Literatur häufig beschrieben wurden⁶.

Die ausführlichen Arbeiten erscheinen in: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. u. Z. Naturforsch.

Eingeg. am 22. April 1953 [Z 63]

Nachweis Phosphat-haltiger Brätzusatzmittel in Fleischerzeugnissen

Von Prof. Dr. R. GRAU, Dr. R. HAMM
und Dr. ANNELIESE BAUMANN

Aus dem Chemisch-Physikalischen Institut der Bundesforschungsanstalt für Fleischwirtschaft in Kulmbach

Die Bindung von Wasser an Fleisch, besonders beim Kutttern zur Herstellung von Fleischbrühwürsten, ist in erster Linie dem Fleischeiweiß zuzuschreiben. Die polaren Gruppen der Eiweißmoleköl vermögen das dipolare Wasser anzulagern. Dadurch treten Quellungerscheinungen auf, die durch Zugabe von Salzen verstärkt werden können. Neben Kochsalz als dem ältesten Mittel sind in jüngster Zeit bestimmte „Brätzusatzmittel“ auf dem Markt erschienen, die auf die Wasserbindung des Fleischeiweißes einen fördernden Einfluß ausüben. Viele dieser modernen Kutterhilfsmittel sind Phosphat-haltig. Die hierzu verwendeten Phosphate

⁵⁾ W. Block, K. Block u. B. Patzig, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 290, 230 [1952].

⁶⁾ B. Patzig u. W. Block, Naturwiss. 40, 13 [1953].

sind verschiedenartig, stets handelt es sich um Pyrophosphate, Metaphosphate oder Polyphosphate, die, da sie mehr als ein Atom P in der Moleköl aufweisen, hier als „polymere Phosphate“ bezeichnet werden sollen. Nachweis und Bestimmung der Salze verschiedenartiger Phosphorsäuren sind nicht leicht möglich, meistens sind ihnen Grenzen gesetzt.

Es ist uns gelungen, mittels eines Fällungs- und Auswaschverfahrens auf Papier einen schnellen und sicheren Nachweis von zugesetzten Phosphaten zu führen. Wir benutzen ein Rundfilter, Schleicher & Schüll Nr. 2043b, mit einem Durchmesser von 11 cm, dem ein schmaler Streifen zum Aufsaugen von Flüssigkeit eingeschnitten wird. In die Mitte des Filters werden ein oder mehrere Tropfen eines wäßrigen Wurstextraktes aufgesetzt. Der noch feuchte Tropfen wird mit 1 Tropfen (etwa 0,06 cm³) Ammonmolybdat-Lösung behandelt und nun das Filter auf ein verd. Ammonmolybdat-Lösung enthaltendes Gefäß flach aufgelegt, so daß der Papierstreifen in die Lösung taucht. Die Lösung steigt auf und breitet sich auf dem Rundfilter radial aus. Hierbei wascht sie alle nicht mit Ammonmolybdat fällbaren Phosphate, also alle „polymeren“ Phosphate mit Ausnahme des im Fleisch stets vorhandenen Orthophosphates, aus dem Mittelfleck heraus und befördert sie, je nach der Dauer des Auswaschens, mehr oder weniger weit von der Mitte fort zum Papierrand. Entwickelt man nun nach 1–1½ h Laufdauer und anschließender Trocknung des Papiers bei 50–60 °C durch Besprühen mit essigsaurer Benzidin, so entsteht bei Anwesenheit zugesetzter Phosphate ein violett-blauer Ring, dessen Farbe sich in NH₃-Atmosphäre noch vertieft, während Orthophosphat in der Filtermitte verbleibt und einen tiefblauen Fleck gibt. Bei größerer Konzentration der zugesetzten Phosphate läßt sich dieser Ring bereits vor der Behandlung mit Benzidin erkennen. Der farbige Ring verblaßt im Laufe der Zeit, so daß es zweckmäßig ist, Entwicklung und Verstärkung der Farbe stets zu beobachten. Bei einiger Übung läßt sich das Verfahren halbquantitativ gestalten.

Zur Bereitung des Extraktes werden 50 g der Probe im Elektro-Mix (Starmix, Multimix) mit 25 bzw. 50 cm³ Wasser vom 60 °C kräftig durchgemischt und etwa 2½ h bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Danach wird entweder durch ein Faltenfilter oder Seithutsch filtriert. Enteiweißen ist nicht erforderlich. Von diesem Extrakt wird mittels einer Mikropipette 0,03 cm³ auf die Mitte des Rundfilters gebracht.

Die Empfindlichkeit des Verfahrens ist beträchtlich. 5 γ „polymeres“ Phosphat können noch mit Sicherheit erfaßt werden. Andere, in Würsten vorhandene Zusätze, wie NaCl, KNO₃, NaNO₂, Zucker und Gewürze stören nicht.

Reagenzien: a) Ammonmolybdat-Lösung: 150 g krist. Ammonmolybdat in 1 l dest. Wasser lösen. Die Lösung in 1 l HNO₃ (d = 1,2) gießen. Lösung a) dient unverdünnt als Fällungsmittel, im Verhältnis 1 : 10 verdünnt als Auswaschmittel (Laufflüssigkeit). b) 0,05 g Benzidin in 10 cm³ Eisessig lösen und mit dest. Wasser auf 100 cm³ auffüllen.

Das geschilderte Verfahren ist mit allen uns zugänglichen Phosphatpräparaten geprüft worden.

Eingegangen am 17. April 1953 [Z 60]

Versammlungsberichte

III. Internationales spektroskopisches Kolloquium

Vom 1. bis 4. September 1952 fand in High Leigh, Hoddesdon, England, auf Einladung des Institute of Physics das III. internationale Spektroskopiker-Treffen statt (etwa 180 Teilnehmer aus 13 westeuropäischen Ländern und den USA).

W. L. HYDE, London: *Die Strahlungsempfänger*.

Ein vollendet Strahlungsempfänger müßte für jedes Quant der einfallenden Strahlung ein Signal geben. Empfänger, die sich dieser Vollendung etwa nähern, sind: Geigerzählohr, Fotoplatten, Elektronenvervielfacher (Multipliplier), die Fernsehkamera und das menschliche Auge. Im weitaus größten Teil des elektromagnetischen Spektrums muß die Strahlung in Wärme umgewandelt werden (Thermometer). Als Strahlungsempfänger im infraroten Spektralgebiet verwendet man Gasthermometer, Thermoelemente und Widerstandsthermometer, jedoch sind diese alle erheblich unempfindlicher als die vorher beschriebenen Systeme.

F. POHL, Graz: *Mikrochemie und Spektralanalyse*.

Die Emissionsspektralanalyse ist ein überaus wertvolles Hilfsmittel des Mikrochemikers. Er verwendet sie für die Bestimmung von Element-Gruppen, die mit geeigneten chemischen Operatio-

nen aus der Probensubstanz isoliert wurden. Abweichend von den üblichen Methoden der klassischen Trennungsverfahren beruhen die beschriebenen Verfahren auf der Anwendung bes. empfindlicher organischer Reagenzien, vor allem von Chelatkomplexbildnern zur Chloroform-Extraktion oder auf der Fällung von Metallspuren nach Zusatz von speziellen Spurenfängern. Mit derartigen mikrochemisch-spektralanalytischen Verfahren sind noch Probleme lösbar, die allein mit chemischen oder rein spektralanalytischen Methoden nicht geklärt werden könnten. Vortr. berichtete über Methoden, welche die Anreicherung einer großen Anzahl von Schwermetallen aus über millionenfachem Überschuß von Begleitelementen ermöglichen. Weiterhin schilderte er die fehlerfreie Trennung der Spurenelemente von linienreichen Elementen, z. B. Eisen, um auf diese Weise auch noch mit kleineren Spektrographen arbeiten zu können.

A. C. MENZIES, London: *Interferenzfilter für die Spektroskopie*.

Zur direkten Ablesung werden in der spektrochemischen Analyse üblicherweise Gitter- oder Prismen-Spektrographen mit festem Spalt oder Abtastmethoden verwendet. Vortr. beschrieb einen neuen Apparat, bei dem der gewünschte Wellenbereich mit Hilfe