

## Verfahren zur Herstellung von Indigo-Lichtbildern (Indigotypie)

Von Doz. Dr. W. RIED und Dipl.-Chem. M. WILK  
Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität  
Frankfurt/Main

Nach F. Sachs und S. Hilpert<sup>1</sup>) trübt sich die benzolische Lösung von o-Nitrophenyl-milchsäure-methylketon<sup>2</sup>) im Sonnenlicht unter Wasserabscheidung. Beim Abdampfen des Lösungsmittels isolierten sie einen Stoff, der mit gasförmigem Ammoniak Indigo bildet. Sie halten diesen Stoff möglicherweise für o-Nitrosobenzoyl-aceton. Wir versuchten vergeblich das o-Nitrosobenzoyl-aceton zu synthetisieren.

Die Lichtreaktion muß nach einem anderen Mechanismus verlaufen: Die Photoumlagerung von o-Nitrophenylmilchsäure-methylketon führt nur beim Belichten des kristallisierten Milchsäureketons oder seiner Lösung in einem dipolfreien Lösungsmittel zu einem Produkt X, das mit gasförmigem Ammoniak Indigo liefert. Dies röhrt an Erscheinungen, die wir an substituierten o-Nitro-azomethinen beobachteten. Auch hier haben wir Substanzen gefunden, die sich nur in festem Aggregatzustand im Licht verfärbten; im Dunkeln findet Rücklagerung in die Ausgangskomponenten statt, vorausgesetzt, die Belichtungsdauer überschreitet einen bestimmten Zeitraum nicht. Herstellung echter Indigo-Lichtbilder: Besprüht man holzfreies, genügend saugfähiges, nicht barytiertes Papier mit glatter Oberfläche mit getrockneter ätherischer Lösung von o-Nitrophenylmilchsäure-methylketon und verdunstet das Lösungsmittel möglichst rasch (Föhn), so kristallisiert das Milchsäureketon sehr fein verteilt gleichmäßig aus. Solches Papier ist lagerungsbeständig; Belichtungszeit im direkten Sonnenlicht etwa 10–15 min. Belichtete Stellen zeigen deutliche

<sup>1)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. 37, 3426 [1904].

<sup>2)</sup> A. v. Baeyer u. V. Drewsen, ebenda 15, 2857 [1882]; G. Heller u. A. Sourlis, ebenda 47, 2696 [1908].

Verfärbung nach Gelb, die im Dunkeln erhalten bleibt. In einem mit Ammoniak gesättigten Raum entsteht an den belichteten Stellen fast augenblicklich Indigo. Der Farnton des Bildes schwankt von Grün über Blau nach Rötlichblau je nach Reinheit des Milchsäureketons und Entwicklungstemperatur. Überschüssiges Milchsäureketon wird mit heißem Wasser oder mit einem organischen Lösungsmittel ausgewaschen. Die Bilder sind unbeschränkt haltbar. Während der Belichtung wird kalte Luft auf den Film geblasen; sonst diffundiert das Milchsäureketon in die Gelatineschicht. Das Photoprodukt absorbiert dort die blauen und ultravioletten Strahlen, die zur Photoumlagerung notwendig sind, sehr stark.

4-Brom-2-nitrophenyl-milchsäure-methylketon gibt Bilder aus antikem Purpur (Belichtungszeit mindestens 1 h). Auch o-Nitrophenylmilchsäure-phenylketon liefert noch Indigo-Bilder.

Die Belichtungszeit muß verlängert werden, wenn man sehr reine Milchsäureketone verwendet. Am besten eignen sich Rohprodukte. Demnach beginnsten Störstellen im Kristallgitter die Lichtreaktion. Auch schwache Polarisation an der Papieroberfläche scheint die photochemische Primärreaktion zu erleichtern. Arbeitshypothese: Bei der Belichtung des Ketons entsteht eine metastabile Form, etwa derart, daß ein Sauerstoff der Nitro-Gruppe sich schon teilweise zum Kohlenstoffatom der früheren Aldehyd-Gruppe hinorientiert und unter Wasserabspaltung N-Oxy-C-acetyl-anthraniol entsteht. Diese Verbindung wäre durch ein Elektronensextett im heterocyclischen Ring zu einem gewissen Grade stabilisiert. Mit Ammoniak bildet dieses hypothetische Zwischenprodukt (Photoprodukt X) Indigo.

Bei der Kondensation von o-Nitro-benzaldehyd mit Brenztraubensäure kann das entspr. Milchsäureketon nicht gefaßt werden; es tritt sofort Indigo-Bildung ein. Bei der Einwirkung von 1,1-Dichloracetan und 1,1,1-Trichloracetan auf o-Nitro-benzaldehyd in alkalischer Lösung entsteht kein Indigo.

Eingeg. am 9. Dezember 1953 [Z 97]

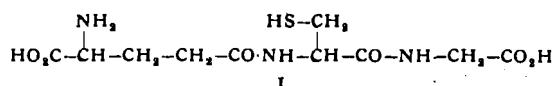
## Versammlungsberichte

### Glutathion-Symposium

Ridgefield, Conn. 20./21. November 1958

Dieses Symposium fand auf Einladung der Columbia University, New York, N. Y., statt.

Nachdem F. G. Hopkins 1921 eine in allen lebenden Zellen in beträchtlicher Menge vorhandene peptid-artige Sulfhydryl-Verbindung erstmalig über das schwerlösliche Kupfer(1)-salz kristallisiert erhalten konnte, der er den Namen Glutathion gab, und in weiteren Arbeiten seines und anderer Laboratorien dieser Naturstoff als  $\gamma$ -L-Glutamyl-L-cysteinylglycin (I) erkannt war,



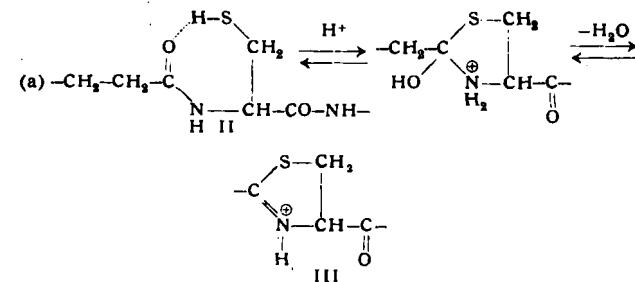
hat man sich allerorts bemüht, die biologischen Funktionen dieses reaktionsfähigen Stoffs aufzufinden, seine Rolle im Zellgeschehen zu verstehen. Unser Wissen auf diesem Gebiet hat sich besonders in den letzten 10 Jahren wesentlich vermehrt, so daß die etwa 50 Teilnehmer 2 Tage lang intensiv beschäftigt waren, 16 Vorträge anzuhören und zu diskutieren. Das Programm hatte im einzelnen folgende Referate vorgesehen:

1.) Chemie organ. SH und SS-Verbindungen (M. Calvin, Berkeley, Cal.), 2.) Reaktionsfähigkeit der SH-Gruppe im Glutathion und verwandten Verbindungen (R. Benesch, Iowa City), 3.) Chemie und Eigenschaften (Th. Wieland, Frankfurt/M.), 4.) Enzymatische Oxydation und Reduktion (B. Vennesland, Chicago, Ill.), 5.) Biosynthese (J. Snore, Chicago, Ill.), 6.) Enzymatische Transpeptidierung (C. S. Hanes, Toronto, Can.), 7.) Enzymatische  $\gamma$ -Glutamyl-Ubertragungen (H. Waelch, New York), 8. Glutathion als Coenzym oxydativer Vorgänge (E. Racker, New Haven, Conn.), 9.) Rolle von SH-Verbindungen bei enzymatischen Acyl-Übertragungsreaktionen (E. R. Stadtman, Bethesda, Md.), 10.) Zellwachstum und SH-Verbindungen (D. Mazia, Berkeley, Cal.). Dem analytischen Teil waren 3 Vorträge gewidmet, die die klassischen Methoden (J. Patterson, Cleveland, Ohio), die chromatographischen (L. Laufer, Mt. Vernon, N. Y.) und die histochemischen (R. Barnett, Boston, Mass.) behandelten. Schließlich wurde auch das Klinische in 3 weiteren Referaten berücksichtigt.

Chemisch und für das biochemische Verständnis von großer Bedeutung ist vor allem die Mercaptan-Natur des Glutathions (GSH); dem Redoxvorgang

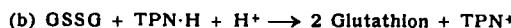


hat man seit langem eine regulierende Funktion bei Stoffwechselvorgängen zugeschrieben. Eine exakte Bestimmung der Redoxpotentiale von Thiolen beim physiologischen pH ist zwar bisher nicht möglich gewesen, doch dürfte es sicher sein, daß Glutathion ein schwächeres Reduktionsmittel als Cystein ist. Seine SH-Gruppe zeigt eine etwas verringerte Reaktionsfähigkeit, auch in der Dissoziation ( $p_K$  von SH der Thioglykolsäure = 7,8, des Cysteins = 8,3 und des Glutathions = 8,7) und in der optischen Dichte des mit Nitroprussid-Na resultierenden Farbstoffs. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, daß in der Glutathion-Molekül eine stabilisierende H-Brücke vorliegt (II). Substanzen, die solche Bindungen sprengen (Harnstoff, Guanidin) bewirken am Glutathion und an ähnlichen Cysteinpeptiden eine Intensivierung der Nitroprussid-Reaktion um ein mehrfaches (Benesch). In mineralesaurer Lösung kann man ohne Schwierigkeiten sogar das typische Absorptionsmaximum des Thiazolinium-Ions (III) (280 m $\mu$ ) wahrnehmen, das sich in intramolekularer Reaktion der SH mit der räumlich ideal benachbarten CO-Gruppe ausbildet (Calvin). Daß auch im Disulfid des Glutathions keine normalen Verhältnisse vorliegen, kann ebenfalls aus spektroskopischen Messungen vermutet werden.



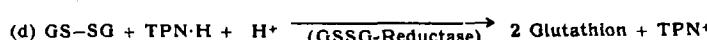
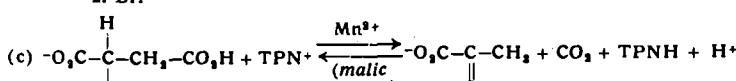
Ungeachtet dieser chemischen Hinderung spielt aber die Aufnahme aktivierten Wasserstoffs durch das Disulfid des Glutathions, und die Oxydation von Glutathion durch Fermente

in der Zelle eine wichtige Rolle (*Vennesland*). Die Glutathion-Reductase, die in Tier und Pflanze, bes. im Weizenkeimling vorkommt, katalysiert die im optischen Test verfolgbare irreversible Reaktion:



(Im folgenden werden, vor allem in den Formeln, die Abkürzungen DPN, DPNH für Diphosphopyridinnucleotid (Codehydrase I) und das Produkt der enzymatischen Hydrierung, TPN (TPNH) für Triphosphopyridinnucleotid (Codeh. II), ADP für Adenosindi-, ATP für Adenosintri-phosphorsäure und CoASH für die Sulfhydrylform des Coenzymes A gebraucht).

Das Enzym zeigt hohe Spezifität und scheint als SH-Ferment zu wirken (Hemmung durch Schwermetalle). Bei einem ähnlichen Enzym anderer Herkunft wirkt auch DPN-H als H-Donator, jedoch nur wenn Phosphat anwesend ist (*Racker*). Die Reaktion schreitet bei Kombination mit anderen Enzymen und Substraten, bei denen TPN reduziert wird, schneller fort. So werden 6-Phosphogluconat, Isocitrat oder Malat durch die Disulfid-Form in Anwesenheit der entsprechenden Systeme oxydiert z. B.:



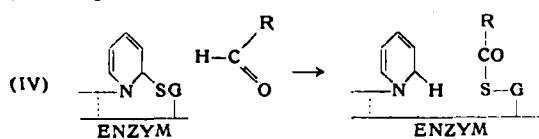
In Gegenwart von Chloroplasten, TPN und Glutathion-Reductase kann sogar eine beträchtliche photochemische Reduktion von GSSG zu Glutathion mit Wasser unter O<sub>2</sub>-Entwicklung wahrgenommen werden, die dadurch einen nennenswerten Umfang annimmt, daß durch photochemische Hydrierung aus H<sub>2</sub>O + TPN nach



entstandenes TPN-H vom GSSG dehydriert wird (Gleichung b).

An der enzymatischen Oxydation des Glutathions können mehrere Enzyme beteiligt sein. Das Cytochrom-Cytochrom b-System, Ascorbinsäure oder auch Nitroglycerin können hierbei reduziert werden. Im letzten Fall entsteht in Anwesenheit eines Leberferments Nitrit; Nitrat-Ion wirkt hierbei nicht als H-Acceptor. Auch andere Disulfide können vom Glutathion enzymatisch reduziert werden, besonders leicht Homocystin. Bei dieser Reaktion wird das GSSG von DPNH zu Glutathion zurückhydriert.

Weiterhin ist die Kombination Glutathion-Diphosphopyridinnucleotid als Wirkgruppe solcher Fermente wahrscheinlich gemacht worden, die Aldehyde zu Carbonsäuren oxydieren (*Racker*). So ist die Triosephosphat-dehydrase (oxydierendes Gärungsferment von *Warburg*) auf Grund ihrer Hemmbarkeit durch SH-Blocker (Jodacetat usw.) lange als SH-Ferment bekannt. In Gegenwart von Diphosphopyridinnucleotid zeigt das Protein eine erhöhte Absorption zwischen 330–380 m $\mu$ , die bei Zugabe von Jodacetat proportional mit der enzymatischen Wirksamkeit zurückgeht. Nach Einwirkung proteolytischer Fermente läßt sich daraus Glutathion isolieren, dessen Ausbeute nach vorheriger Jodacetat-Eiweißwirkung kleiner wird. So wurde die Hypothese aufgestellt, daß am Gärungsferment eine chemische Verbindung zwischen dem Pyridin-Teil des Diphosphopyridinnucleotids und der SH-Gruppe des Glutathions vorliegt (IV), die durch den Aldehyd (Substrat) zu DPN-H und einer S-Acyl-Verbindung aufgespalten wird und ihren Acyl-Rest dann hydrolytisch abspalten oder anderweitig (z. B. auf Phosphat, die Sulfhydryl-Form des Coenzymes A usw.) übertragen kann:

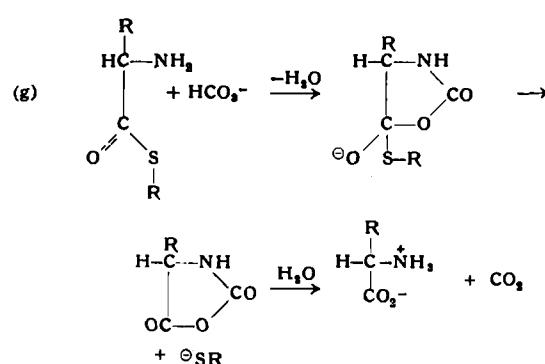


In *C. Kluyveri* wirkt die Sulfhydrylform des Coenzymes A mit Diphosphopyridinnucleotid zusammen, vielleicht in ähnlicher Weise bei der Oxydation von Acetaldehyd zu S-Acetyl-Coenzym A.

Methylglyoxalase benötigt ebenfalls Glutathion als Wirksubstrat. Die in Gegenwart von 2 Proteinen (Glyoxalase I und II) ablaufende Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure benutzt als H-Acceptor die  $\alpha$ -Keto-Gruppe des Aldehyds, so daß kein Diphosphopyridinnucleotid nötig ist. S-Lactoyl-glutathion, als

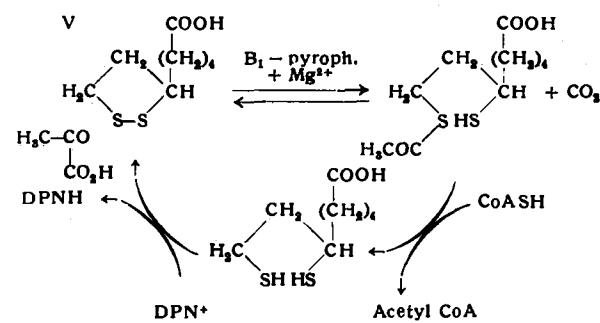
Zwischenprodukt vermutet, ist synthetisch dargestellt worden (*Th. Wieland*) und wird rasch durch Glyoxalase II hydrolysiert, ebenso S-Glycoloyl- und S-Mandelylglyathion. Zur enzymatischen Hydrolyse anderer S-Acyl-Verbindungen des Glutathions sind wohl andere Fermente nötig. Die von *Kiellay* aus Mäuseleber angereichert S-Acetylglutathion-esterase spaltet auch Äthylbutyrat. S-Acetylglutathion entsteht in enzymatischer Reaktion aus Acetyl-CoA und Glutathion (*Stadtman*). Der biologische Sinn dieser Übertragungsreaktion ist noch nicht völlig klar.

S- $\alpha$ -Aminoacyl-Verbindungen des Glutathions werden durch ein Enzympräparat aus Pferdeleber rasch gespalten (*Th. Wieland*). Das Ferment hat auf andere S-Acyl-Derivate des Glutathions, außer noch auf S- $\alpha$ -Oxyacyl-Verbindungen kaum eine Wirkung. Beim S-Alanyl-glutathion konnte als Folge der Enzymwirkung eine Inkorporierung des Alanins in die Glutathion-Molekel wahrscheinlich gemacht und die Bildung von N-Alanyl-glutathion postuliert werden, was der enzymatischen Knüpfung einer Peptid-Bindung gleichkäme. — In Gegenwart von wenig Bicarbonat verlieren alle S- $\alpha$ -Aminoacyl-Verbindungen nicht-enzymatisch rasch ihren Acyl-Rest, für dessen Labilität das intermedäre Auftreten eines Carbaminat-Ions verantwortlich gemacht wird (*Th. Wieland*):



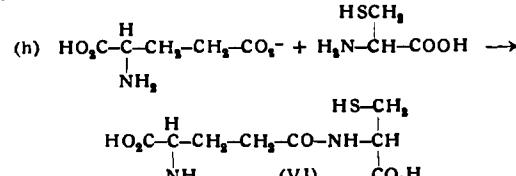
Einer solchen „Inaktivierung“ mag vielleicht biologische Bedeutung zukommen.

Mit Sicherheit sind außer Coenzym A noch andere Mercaptane bei der Aktivierung von Acyl-Resten beteiligt. Die biologische Bedeutung der Bildung von Thioestern und einiger Acyl-Übertragungsreaktionen wurde in einem prägnanten Referat von *Stadtman* erörtert. Besondere Funktionen hat, wie immer klarer wird, beim Abbau der Brenztraubensäure ein sterisch besonders bevorzugtes Disulfid, „*lipoic acid*“ (V), das in Gegenwart von B<sub>1</sub>-pyrophosphat mit der  $\alpha$ -Ketosäure reagiert. Die hierbei neben CO<sub>2</sub> gebildete S-Acetyl-Verbindung überträgt ihren Acetyl-Rest auf Coenzym A, das Dithiol wird dann von Diphosphopyridinnucleotid zum wirksamen Disulfid zurückhydriert:



Mit der Biosynthese des Gluthions haben sich in den letzten Jahren biochemische Arbeitskreise in USA (*K. Bloch; H. Waelisch*) und England (*Crook; Gale*) eingehend beschäftigt. Man weiß heute, daß diese Reaktion in 2 Stufen vor sich geht:

1.) Der Bildung von  $\gamma$ -Glutamylstein (VI) aus Glutamat und Cystein



<sup>1)</sup> Vgl. diese Ztschr. 64, 67, 171, 374 [1952]; 65, 66 [1953].

2.) Der Kondensation von VI mit Glycin zu Glutathion.

Für den Ablauf beider Reaktionen ist Adenosintriphosphorsäure nötig; Adenosindiphosphorsäure und anorganisches Phosphat werden frei.

Als möglicher Mechanismus des 1. Schrittes wurde von H. Strecker (New York) die intermediaire Bildung einer S-γ-Glutamyl-Verbindung an einer SH-Gruppe des Ferments diskutiert, die in enzymatischer Übertragung mit der SH-Gruppe des Cysteins zum S-Acylcystein reagiert. Dieses muß sich spontan zum N-Derivat (VI) umlagern.

Reaktion 2, die die erste enzymatische Synthese einer α-Peptid-Bindung in vitro darstellt, ist besonders eingehend untersucht worden (Snoke, K. Bloch). Ein für Glycin spezifisches Enzym konnte aus Hefe 1500fach angereichert werden; von diesem Präparat synthetisiert 1 mg 100 mg Glutathion pro Stunde aus VI + Glycin, wenn Adenosintriphosphorsäure und  $Mg^{2+}$  anwesend sind. Auf Grund der Resultate mit radioaktivem Glycin oder Adenosindiphosphorsäure, welche in Gegenwart des Ferments in normales Glutathion bzw. Adenosintriphosphorsäure eingebaut werden, wird der folgende Reaktionsmechanismus als wahrscheinlich vorgeschlagen: (E = Enzym)

- (i)  $ATP + E \rightleftharpoons E\text{-phosphat} + ADP$
- (k)  $E\text{-phosphat} + VI \rightleftharpoons E\text{-VI} + \text{Phosphat}$
- (l)  $E\text{-VI} + \text{Glycin} \rightleftharpoons \text{Glutathion} + E$

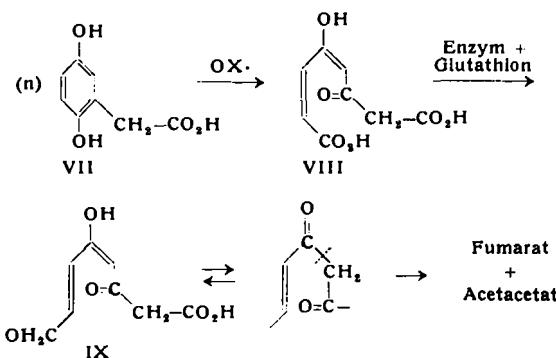
Mit diesem Schema ist allerdings der Befund schlecht in Einklang zu bringen, daß die Inkorporierung von radioaktivem Glycin ins Glutathion (Gl. 1) in Wirklichkeit die Anwesenheit von Adenosindiphosphorsäure oder Adenosintriphosphorsäure erfordert. Diese Reaktion, eine α-Umpeptidierung scheint neben der von Binkley beschriebenen Reversibilität der enzymatischen Spaltung von Cysteinylglycin als einzige für diesen wichtigen Reaktionstyp, die Bildung und Übertragung der echten Peptid-Bindung, dazustehen, wenn man von der durch proteolytische Fermente katalysierten Übertragung des Aminoacyl-Restes aus seinem Amid auf andere Aminosäuren und Peptide (J. Fruton) und von der Papain-katalysierten Acyl-peptid-anilid-Ebildung (M. Bergmann) absieht. Vielleicht hat auch der oben erwähnte Einbau des Alanins in die Glutathion-Molekeln in diesem Zusammenhang einige Bedeutung.

Viel reicher sind unsere Kenntnisse bezüglich der Übertragung des γ-Glutamyl-Restes. Außer Glutathion vermögen auch andere γ-Glutamylpeptide in Anwesenheit von Nierenfermenten diesen Rest auf andere Aminosäuren und Peptide zu übertragen (Hanes, Waelisch). Die Reaktion γ-Glutamylglycin + Cysteinylglycin → Glutathion + Glycin bildet hierfür ein interessantes Beispiel, gleichzeitig eine weitere biologische Möglichkeit der Synthese von Glutathion. Zur Übernahme des γ-Rests aus dem Glutathion und Glutamin sind zahlreiche Aminosäuren und Peptide bereit. Glutamin als Acceptor wird von Glycyl-alanin um mehr als das 3 fache übertroffen, einige einfache Tripeptide zeigten kaum Wirkung. Die zugehörigen Enzyme finden sich auch in Pflanzen; außer dem γ-Glutamyl-Rest des Glutamins kann auch der β-Aspartyl-Rest des Asparagins auf Hydroxylamin übertragen werden. (Die biologische Bedeutung des Glutamins zeigt neuerlich wieder der Befund Leloirs, daß die Aminierung der Glucose zu Glucosamin in der Zelle mit Hilfe dieses Amids verläuft, das mit Hexosediphosphat reagiert).

Zusammenfassend ist über das vorige Kapitel zu sagen, daß noch keine allgemeine Enzymreaktion bekannt geworden ist, die an der α-Peptid-Eindringung des Glutathions eingreift und den Glutamylestein-Rest auf andere Aminosäuren (mit Ausnahme des Glycins) oder Peptide überträgt, so neue echte Peptidbindungen formend, womit die Ansicht von der Feteiligung des Glutathions an der Biosynthese von Polypeptiden eine Stützung erhält. Gegen eine solche Rolle wurden verschiedene Argumente ins Feld geführt. So wird nach M. Krah (Chicago, Ill.)  $^{35}\text{S}$ -markiertes Cystein sogar 10–20 mal rascher in das Protein von Leberschnitten eingebaut als Glutathion und J. A. Stekol (Philadelphia, Pa.) berichtete, daß im Protein des intakten Tiers beide gleich schnell inkorporiert werden. Nach C. B. Anjinsen (Bethesda, Md.) ist die Faustreihenfolge Cystein-Glycin, im Gegensatz zu *E. coli*-Protein (Abelson) im Ovalbumin und Ribonuclease nicht besonders häufig, sondern beträgt etwa nur  $1/10$  aller Cysteinyl-peptid-Eindringungen. All dies scheint aber nach Ansicht des Berichterstatters nicht stichhaltig, da der Organismus, sollte er Glutathion als „Katalysator“ oder „primer“ der Protein-Synthese verwenden, Teile dieses Werkzeugs nicht als Fauststeine verschwenden dürfte.

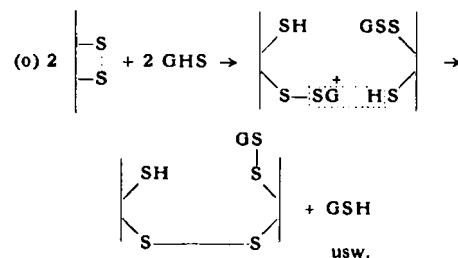
Eine weitere Funktion des Glutathions als Coferment wurde von W. E. Knox (Boston) aufgefunden. Beim oxydativen Abbau des Tyrosins tritt nach der Homogentisinsäure (VII) Maleinoylacetylacetat (VIII) auf, das nicht weiter gespalten wird. Ein spezifisches

Leberferment vermag nun in Anwesenheit von Glutathion das cis- zum trans-Derivat (IX) zu isomerisieren, von dem aus der Abbau weitergeht:

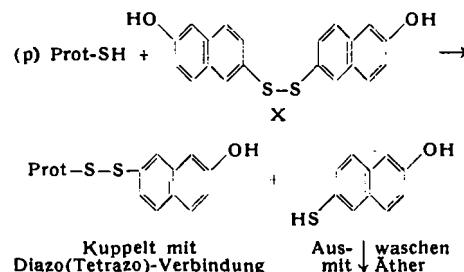


Über den Mechanismus dieser interessanten Reaktion ist bisher nichts bekannt.

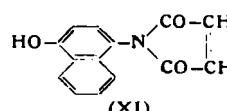
Auch die schon mehr als 20 Jahre zurückliegende Beobachtung Rapkines, daß der Gehalt an löslichen SH-Verbindungen (wohl hauptsächlich Glutathion) im befruchteten Seeigel kurz vor der Teilung ein Maximum erreicht, ist neuerlich experimentell weiter verfolgt worden (Mazia). Es wurde untersucht, ob bei den kolloid-chemischen Umwandlungen des Mitoseapparats, die diesen Vorgang begleiten, SH-Verbindungen einen Effekt auslösen. Die isolierten Proteine dieses Zellteils gelieren in Gegenwart von Glutathion und die hierzu führende Vernetzung der Eiweißmoleküle wird (analog Huggins) durch eine Startreaktion erklärt, die in einem Angriff des Mercaptans auf innermolekulare Disulfid-Bindungen der Proteinmoleküle besteht, etwa:



Zum histochemicalen Nachweis von SH-Gruppen in Proteinen kann man diese nach Fixierung durch Alkohol und Trichloressigsäure mit dem 6,6'-Disulfid des β-Naphthols (X) reagieren lassen und nach Auswaschen des überschüssigen Reagens und der durch Reduktion entstandenen Mercaptonaphthols mit tetrazotiertem o-Anisidin kuppeln (Barnett):



A. M. Seligman (Boston) erreichte eine ähnliche Anfärbung nach Reaktion der SH-Gruppen mit dem Naphthol-maleimid (XI) und anschließender Kupplung.



Dem Nachweis und der quantitativen Bestimmung löslicher Thiole, vor allem des Glutathions sind in den letzten 6 Jahren 85 Arbeiten gewidmet worden (Referat Patterson). Anwendbar auf alle Mercaptane sind Jodometrie, Nitroprussid-Test, amperometrische Titration, Polarographie, Reduktion von Phosphowolframat und von Ferri-cyanid. 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat (Sullivan-Reagens) reagiert nur mit Cystein oder Cysteinylpeptiden (freie NH<sub>2</sub>- neben der SH-Gruppe); also nicht mit Glu-

tathion. Da sich jedoch der  $\gamma$ -Glutamyl-Rest des Glutathions durch milde Hydrolyse (als Pyrrolidon-carbonsäure) zum positiv reagierenden Cysteinylglycin abspalten läßt, kann man so den Farbstest zu einer recht spezifischen Glutathion-Bestimmung verwenden. Noch spezifischer sind natürlich mikrobiologische Methoden und vor allem diejenige, die auf der Funktion des Glutathions als Coferment der Glyoxalase beruht (manometrische Bestimmung der aus Methylglyoxal gebildeten Milchsäure). Auch die oben erwähnte G-S-S-G-Reduktase ist zu analytischen Zwecken geeignet. Hat man vorher alle SH-Verbindungen oxydiert, so wird vom Ferment durch TPN-H nur G-S-S-G wieder zum Thiol reduziert, das nunmehr jodometrisch bestimmt werden kann. Empfindlicher zu diesem Zweck ist eine optische Methode, die in der spektrophotometrischen Auswertung nach Alloxan-Zusatz besteht; hierbei bildet sich eine in ihrer Struktur noch unbekannte Verbindung mit einem Absorptionsmaximum bei 305  $\mu\text{m}$  (*A. Lazarow, Cleveland, Ohio*). Selbstverständlich ist auch die Papierchromatographie auf diesem Gebiet zu großer Vollkommenheit gebracht worden.

Die Chemie bezieht einen großen Teil ihrer Anregungen aus der medizinischen Wissenschaft und so darf als Abschluß der Tagung eine medizinische Sitzung nicht fehlen. Da das Glutathion bei seiner ubiquitären Verbreitung nicht nach Art eines Vitamins oder Hormons Wirkstoffeffekte hervorruft, dürfte man nicht mit Berichten über umschriebene Symptome und eindeutigen Diagnosen oder gar Therapieergebnissen rechnen. Die Konzentration des Glutathions in den verschiedenen Organen wird vielmehr als ein Indikator der Situation des Stoffwechsels angesehen werden können, der in einer bisher nur wenig erahnten Weise mit diesem gekoppelt ist. Immerhin beobachtet man signifikante Unterschiede zum Normalen bei Diabetes und unter hohen Dosen adrenocorticotropen Hormones. Auch bei Geisteskranken weicht der Glutathion-Gehalt verschiedener Organe vom normalen ab. Doch wird es noch, wie auch bei der Erklärung der Schutzwirkung von Glutathion (und anderer Thiole) gegen Strahlenschädigungen, eingehender biochemischer Forschung bedürfen, bis hier die inneren Zusammenhänge aufgeklärt sind.

Theodor Wieland

## Rundschau

Eine quantitative Zerlegung blinder und polynärer Gas- bzw. Isotopengemische im Trennrohr gelingt *K. Clusius* und *E. Schumacher* durch Verwendung von Hilfsgasen. Bei der bisher üblichen Arbeitsweise bleibt der größte Teil der Trennrohrfüllung weitgehend unzerlegt, da er lediglich das Konzentrationsgefälle längs des Rohres aufrechterhält. Es war daher nicht möglich, eine vorgegebene Gasmenge mit dem Trennrohr quantitativ aufzuarbeiten. Mischt man dagegen dem zu trennenden Gas (etwa einer Mischung aus Krypton und Xenon) ein „Hilfsgas“ bei, dessen Masse zwischen denen der zu trennenden Komponenten liegt (im untersuchten Fall  $\text{SiCl}_4$ ), so kann man nach einiger Zeit der oberen Hälfte des Rohres ein Gemisch aus Krypton und  $\text{SiCl}_4$  und der unteren ein solches aus Xenon und  $\text{SiCl}_4$  entnehmen. Aus den Gemischen läßt sich  $\text{SiCl}_4$  leicht mit Kalilauge entfernen, wodurch man die Edelgase rein und quantitativ erhält. Das Verfahren gewinnt eine besondere Bedeutung, wenn die zu zerlegende Gasmenge überhaupt nicht ausreicht, um ein Rohr von genügender Trennkapazität mit dem erforderlichen Druck zu füllen. — Bei der Aufarbeitung polynärer Gemische wird die Reindarstellung seltener Mittelkomponenten durch die Verwendung von Hilfsgasen überhaupt erst möglich. Die Autoren zeigen dies am Beispiel der Argonisotope  $^{40}\text{A}$ ,  $^{38}\text{A}$  und  $^{36}\text{A}$ , die mit den natürlichen Häufigkeiten 99,6 %, 0,063 % und 0,337 % vorkommen. Durch Verwendung von  $\text{HCl}$  bzw.  $\text{DCl}$  (mit den Chlor-Isotopen  $^{35}\text{Cl}$  und  $^{37}\text{Cl}$ ) als Hilfsgase ist es nicht nur möglich, das  $^{36}\text{A}$  in einer Reinheit von 99,4 % (Anreicherungsfaktor 49000!) mit erheblicher Ausbeute zu gewinnen, sondern es gelingt auch, das sehr seltene  $^{38}\text{A}$  durch „Einfassen“ zwischen  $\text{D}^{38}\text{Cl}$  und  $\text{D}^{37}\text{Cl}$  auf 90 % anzureichern. Ohne Hilfsgase konnten bisher nur  $^{38}\text{A}$ -Konzentrationen von etwa 1 % erzielt werden. Von *E. Schumacher* werden die Grundlagen des Hilfsgas-Verfahrens in einer theoretischen Arbeit ausführlich untersucht. (*Helv. Chim. Acta* 36, 949, 961, 969 [1953]). —Be.

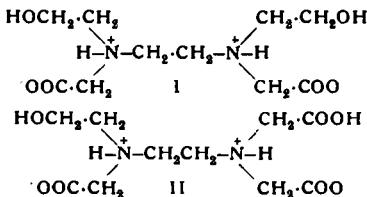
(1142)

Eine Schnellbestimmung von Schwefel und Halogenen in organischen Flüssigkeiten arbeiteten *P. Gouverneur* und *H. van Dijk* aus. Aufbauend auf der *Shell-Braunschen* Quarzrohr-Verbrennung, haben sie ein Verfahren entwickelt, das für niedrig und hoch siedende Flüssigkeiten gleich gut verwendbar, dabei rasch und genau ist. Angewendet wurde es bei der Untersuchung von Petroleumbestandteilen, von Leichtbenzin bis zu Schmierölen. Aus einer Wägenpipette gelangt die Probe tröpfchenweise in den vorderen Teil eines Verbrennungsrohres, wo sie verdampft wird. Die Dämpfe gehen zusammen mit einem vorgereinigten kräftigen Luftstrom in die Verbrennungszone im zweiten Teil des Verbrennungsrohres, die auf 1000 °C geheizt wird. In einem dahinter geschalteten Absorptionsapparat werden die Verbrennungsgase aufgefangen, bei Schwefel-Analysen in 3 proz. Wasserstoffperoxyd, bei Halogen-Bestimmungen in 30 ml 3 proz. Wasserstoffperoxyd + 10 ml 2 proz. Natriumcarbonat-Lösung. Man analysiert titrimetrisch, gravimetrisch oder turbidimetrisch. Die Verbrennung einer 5 g Probe erfordert 20–30 min und gestattet noch die Bestimmung von weniger als 0,003 Proz. Schwefel und 0,005 Proz. Chlor mit zufriedenstellender Genauigkeit. (Analyst. Chim. Acta 9, 59 [1953]). —Ro.

(1099)

Neue chelatbildende Reagenzien für 8-wertiges Eisen entwickelten *S. Chaberek jr.* und *F. C. Bersworth*. Die neu synthetisierten Aminosäuren *N,N'*-Dioxäthyl-äthylendiamin-diessigsäure (I) und *N*-Oxäthyläthylendiamin-triessigsäure (II) bilden 1:1- $\text{Fe}^{3+}$ -Chelate, die genügend stark sind, das komplex

gebundene Fe gegen hydrolytische Zersetzung, auch in stark alkalischen Lösungen, zu stabilisieren. Diese Widerstandsfähigkeit resultiert aus der Tatsache, daß die Chelatbildung gleichzeitig von der Dissoziation der schwach sauren äthanolischen Protonen der Oxäthyl-Gruppen begleitet ist. Das hexakoordinierte  $\text{Fe}^{III}$ -Ion ist durch 2 N- und 4 O-Atome mit dem Liganden verknüpft.



Beide Verbindungen eignen sich z. B. für die Untersuchung und Behandlung chlorotischer Zustände bei Pflanzen auf Kalkböden. (*Science [New York]* 118, 280 [1953]). —Ma. (1110)

Feste Fasern aus Kiesel säure fanden *Th. Nemetschek* und *U. Hofmann* bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung der hell- bis dunkelbraunen Kondensate, die sich bei der Darstellung von Siliciumoxyd durch Erhitzen von Siliciumdioxyd und Silicium im Hochvakuum auf 1200 °C nahe dem Reaktionsgemisch absetzen. Die Fasern sind farblos oder schwach gelblich und haben einen Durchmesser zwischen 150 und 400 Å. Röntgen- und Elektroneninterferenzen sowie die Dichtebestimmung nach der Schwemmethode in einem Bromoform-Xylo-Gemisch und das chemische Verhalten gegen Natronlauge und Flußsäure zeigten übereinstimmend, daß die Fasern aus amorphem Siliciumdioxyd bestehen, dem geringe Mengen feinverteiltes, metallisches Silicium beigegeben sind. Die dunkler gefärbten Kondensat-Ansätze enthalten Si und  $\text{SiO}_2$  im Verhältnis 1:1. Vermutlich entstehen die Kondensate durch Disproportionierung von gasförmigem Siliciumoxyd. (*Z. Naturforschg.* 8b, 410 [1953]). —Ro. (1169)

Eine einfache Darstellung für Azulene fanden *V. Prelog* und *K. Schenker*. Bei Versuchen aus Cyclodecanol-(1)-on-(2) mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Wasser abzuspalten, fanden sie im Reaktionsgemisch geringe Mengen Azulen. Bei Zugabe von Palladium-Kohle als Dehydrierungskatalysator konnte die Ausbeute gesteigert werden. Die Azulen-Bildung ist am günstigsten, wenn man Wasserabspaltung und Dehydrierung nacheinander bei verschiedenen Temperaturen vornimmt, da sich bei der optimalen, höheren Temperatur der Wasserabspaltung Azulen in Naphthalin umlagert. Man erhielt auf diesem Wege Azulene aus Cyclodecanol, Cyclodecanon, Cyclodecanol-(1)-on-(2), Cyclodecanol-(1,2) und Cyclodecanol-(1,2). Dabei erscheint am einfachsten und ergiebigsten die Azulen-Gewinnung aus dem aus Cyclodecanol-(1)-on-(2) leicht zugänglichen, rohen Cyclodecan, das bei der Dehydrierung 20 % Azulen ergibt. (*Helv. Chim. Acta* 5, 1181 [1953]). —Ro. (1097)

Über die Identifizierung von N-Alkylarylaminen berichten *F. W. Neumann* und *C. W. Gould*. Bei der Oxidation von Alkyl- und N,N-Dialkyl-arylaminen mit Chromsäure werden Aldehyde oder Ketone gebildet und in einigen Fällen sek. aliphatische Amine. Außerdem entstehen Chinone und farbige Kondensationsprodukte. Auf der Basis dieser Reaktion wurde eine Mikromethode zur Bestimmung der N-Alkyl-Gruppen ausgearbeitet und an 76 verschiedenen aromatischen Aminen getestet. Die Substanzen wurden