

wurde das Prüfröhrchen eingeschaltet; die Sättigungsflasche wurde auf 34 °C erwärmt. Tabelle 1 zeigt die Eichwerte.

mg Alkohol in 100 cm ³ Wasser	mg Alkohol in 1 l Luft	Zahl der Prüfungen	Röhrchenanzeige			Farbe
			kürzeste Länge	größte Länge	häufigste Länge	
20	0,08	10	Grenzempfindlichkeit			
40	0,16	10	4	7	6	hellgrün
60	0,24	10	5	9	7	hellgrün
81	0,32	19	5	10	8	grün
110	0,43	10	6	11	9	grün
129	0,51	5	7	12	10	tiefgrün
161	0,63	10	8	13	10,5	tiefgrün
202	0,79	10	8	13	10,5	tiefgrün
242	0,95	4	8	12	11	tiefgrün

Tabelle 1. Alkohol-Anzeige der Atemalkohol-Prüfröhrchen. Prüfluftmenge 1 l, Prüfstromgeschwindigkeit 4 l/min, Temperatur der Alkohollösung 34 °C, Löslichkeitskoeffizient bei 34 °C = 255

Man sieht daraus, daß man Alkohol-Gehalte bis zu Konzentrationen von etwa 0,5 mg Alkohol/l Luft schätzen kann. Bei höheren Konzentrationen wächst die Verfärbungszone nur noch geringfügig, offenbar weil das Chromat durch die Reaktionswärme vollständiger verbraucht wird. Um die Eichwerte der Tabelle 1 auf physiologische Verhältnisse zu übertragen, muß der Löslichkeitskoeffizient Q des Systems Alkohol-Blut berücksichtigt werden. Setzt man als Löslichkeitskoeffizienten den Hargerschen Wert 200 für 34 °C ein, so erhält man für die Blutkonzentration $c_{\text{Blut}} = 200 \cdot c_{\text{Luft}}$. Da aber beim praktischen Test nicht reine Alveolarluft, sondern ein Gemisch von 60% Alveolarluft und „Pendelluft“ verwandt wird, ergibt sich die Formel

$$c_{\text{Blut}} = 200 \cdot \frac{100}{60} \cdot c_{\text{Luft}} \approx 330 \cdot c_{\text{Luft}}$$

Bild 1 zeigt die Auswertungskurve für das Prüfröhrchenverfahren (ausgezogene Kurve). Die gestrichelten Kurven deuten die Streubereiche an. Der Grund dafür, daß die

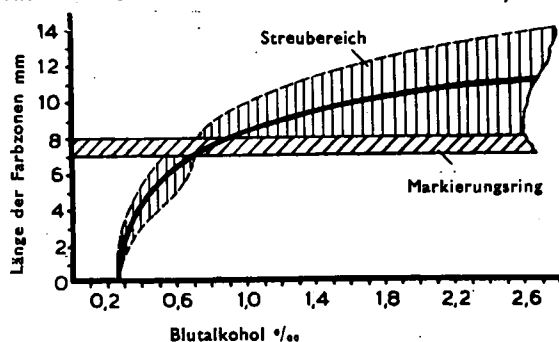


Bild 1. Eichkurve für Atemalkohol-Röhrchen

Streubereiche zum Teil kleiner sind als in der Tabelle 1, ist ein 1 mm breiter grüner Markierungsring auf den Röhrchen, der durch Kontrastwirkung die Zonenverzerrungen weitgehend aufhebt und so eine genauere Ablesung ermöglicht.

Die Begrenzungen dieses Markierungsringes entsprechen den errechneten Blutalkohol-Werten von ca. 0,7‰ und ca. 0,9‰. Die Wirkung der Ringmarke ist am stärksten bemerkbar, wenn die zu messende Alkohol-Konzentration eine Verfärbung hervorruft, die im Bereich der Ringmarkierung liegt.

Aus der Eichkurve folgt

1.) Die Grenzempfindlichkeit des Prüfröhrchens liegt bei ca. 0,08 mg Alkohol in 1 l Prüfluft (vgl. auch Tabelle 1) Das entspricht in der Eichkurve einem Alkohol-Gehalt des Blutes von etwas weniger als 0,3‰. Kleinere Alkohol-Konzentrationen im Blut werden nicht gefunden.

2.) Die gesamte Schicht des Prüfröhrchens wird sich erst verfärben, wenn die Blutalkohol-Konzentration den 2‰-Wert wesentlich überschreitet.

3.) Verfärbt sich die Reagenzschicht über den grünen Markierungsring hinaus, so ist der Blutalkohol-Gehalt mit großer Wahrscheinlichkeit größer als 0,7‰.

4.) Verfärbt sich die Reagenzschicht nicht über den grünen Markierungsring hinaus, so ist der Blutalkohol-Gehalt mit großer Wahrscheinlichkeit kleiner als 0,7‰.

Als vorläufige Bestätigung der Eichkurve können Alkohol-Toleranz-Prüfungen von Veldenz¹⁴⁾ gelten, der die Ergebnisse von Atemalkohol-Prüfröhrchen ausgewertet. Von 39 Versuchswerten lagen 38 innerhalb der Toleranzgrenzen der Eichkurve des Drägerwerkes. Auch Kontrollmessungen des Gerichtsmedizinischen Institutes der Universität Kiel (Hallermann, Sachs) stützen die obigen Aussagen.

Stören können Bestandteile des Blutes, die in der Atemluft ausgeschieden werden, wie Aceton, niedrigsiedende Ester und Äther; Essigsäure stört nicht.

Unmittelbar nach dem Genuß von Alkohol werden selbstverständlich zu hohe Werte gefunden, da sich bei der Alkohol-Aufnahme ein bestimmter Anteil im Speichel löst und dort kurze Zeit gespeichert bleibt, nach 15 min ist er aber resorbiert.

Das Prüfröhrchen-Verfahren ist als Vorprüfung für die übliche Blutalkoholbestimmung gedacht. Es ermöglicht eine schnelle Aussage, ob im Augenblick der Prüfung bestimmte Blutalkohol-Werte überschritten werden. Bei der Weiterentwicklung will man versuchen, den gefundenen Alkoholwert nicht auf ein bestimmtes Volum ausgeatmeter Luft, sondern auf eine bestimmte Menge ausgeatmeten Kohlendioxids zu beziehen. Zur Bestimmung von CO₂ soll dabei wieder ein Prüfröhrchen verwandt werden. So werden sich die Fehlerquellen auf ein Minimum reduzieren lassen. Solange aber die Atemalkohol-Prüfung nur eine Vorprüfung sein soll, ist ihr wesentlichster Vorzug größte Einfachheit.

Eing. am 8. April 1954 [A 587]

¹⁴⁾ Kriminalistik 7, 277 [1953].

Zuschriften

Eine neue Bildungsweise des Alanins

Von Prof. Dr. TH. WIELAND, Dr. G. PFLEIDERER und J. FRANZ

Institut für organische Chemie der Universität Frankfurt am Main

Bei der Methylglyoxalase-Reaktion in der lebenden Zelle wird durch ein erstes Enzym (Glyoxalase I) Methylglyoxal mit Glutathion zu einem alkalilabilen Zwischenprodukt vereinigt¹⁾, das nach E. Racker²⁾ die Struktur des S-Lactoyl-glutathions hat und mit der synthetisch bereiteten Verbindung³⁾ identisch ist. In weiterer Reaktion wird dieses durch Glyoxalase II zu Lactat und

¹⁾ S. Yamazoye, J. Biochem. (Japan) 23, 319 [1936].

²⁾ E. Racker, J. biol. Chemistry 190, 685 [1951].

³⁾ Th. Wieland u. H. Köppe, Liebigs Ann. Chem. 587, 1 [1953].

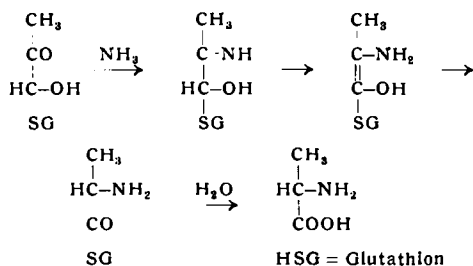
Glutathion hydrolysiert. Über die Entstehungsweise der S-Acyl-Verbindung ist nichts Näheres bekannt. Zwar ist von Schubert⁴⁾ die Bildung eines Halbmercaptals beim Zusammengeben der wäßrigen Lösungen von Methylglyoxal und Glutathion beschrieben worden, das mit Glyoxalase I langsamer zu Lactoyl-glutathion reagiert als die beiden unvereinigten Komponenten⁵⁾, doch ist aus dieser Arbeit nicht ersichtlich, ob die Halbmercaptal-Bildung an der Aldehyd- oder Keto-Gruppe eingetreten ist, welches der beiden möglichen Halbmercaptale also der biologische Vorläufer des Lactoyl-glutathions ist.

Unsere Annahme, hier eine Entscheidung durch Ausführung der Schubertschen Reaktion in Gegenwart von NH₄-Ionen herbeiführen zu können, erwies sich als theoretisch irrtümlich.

⁴⁾ M. P. Schubert, J. biol. Chemistry 111, 671 [1935]; 114, 341 [1936].

Trotzdem war das Ergebnis dieses Versuchs überraschend genau: Es hat sich nämlich herausgestellt, daß beim Aufbewahren gleicher Teile der wäßrigen Lösungen von Methylglyoxal (3proz.), Glutathion (5proz.) und 2 n Ammonacetat in 12 h bei 20 °C in einer Menge von etwa 50 %, bezogen auf Methylglyoxal eine Aminosäure gebildet wurde, die sich in der Papierelektrophorese als neutral erwies, und die nach Elution aus dem Pherogramm papierchromatographisch mit Alanin identisch war. Zur Sicherung dieses Befunds haben wir aus dem Ansatz 2 weitere saure Substanzen, die neben Glutathion elektrophoretisch erkennbar waren mit diesem zusammen durch Adsorption an OH⁻-geladenen Dowex 50 entfernt und dann mit Dinitrofluorbenzol die Dinitrophenyl-Verbindung der neutralen Aminosäure hergestellt. Diese zeigte denselben R_F-Wert wie DNP-Alanin, war im Mischschmp. ohne Depression (168–69 °C) und wies den geforderten N-Gehalt auf (ber. 16,5; gef. 16,2).

Eine Formulierung, die der Bildung aus dem Aldehydsemimercaptan des Methylglyoxals gerecht wird, ist:



Die Auslegung von Keton-semimercaptan her bereitet jedoch auch keine besondere Schwierigkeit.

An Stelle von Glutathion führt auch die Anwesenheit von Thio- glykolat oder Thiophenol im Reaktionsansatz zur Alanin-Bildung. Cystein gibt, wohl wegen der Thiazolidin-Bildung mit Aldehyden, ein anderes Ergebnis und auch N-Acetylcysteamin scheint in anderer Weise in die Reaktion einbezogen zu werden. Über das Verhalten weiterer Ketoaldehyde, ähnlicher Verbindungen und ein mögliches biologisches Vorkommen der beschriebenen Reaktion sind Untersuchungen im Gange.

Eingeg. am 17. Mai 1954 [Z 108]

N-Oxyde der Pyridin-Reihe und deren Verwendung zur papierchromatographischen Analyse von Pyridinbasengemischen

Von Prof. Dr. D. JERCHER und Dipl.-Chem. W. JACOBS¹⁾

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Mainz und dem MPI für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg

Zur Analyse von Alkylpyridin-Gemischen haben wir²⁾ mit Kaliumpermanganat oder Selenioxyd oxydiert und die entstandenen Carbonsäuren papierchromatographisch bestimmt. Das Verfahren gab aber bei β -Picolin häufig unklare Ergebnisse³⁾. Verzichtet man bei der SeO₂-Oxydation auf Lösungsmittel und schließt eine Behandlung mit wenig Perhydrol während 10 min bei 100 °C an, so läßt sich dieser Mangel beheben; es wurde stets aus β -Picolin enthaltenden Basengemischen Nicotinsäure — neben β -Picolin-N-oxyd und Nicotinsäure-N-oxyd — erhalten.

Um papierchromatographisch auch Pyridinbasen mit verschiedenen langen Alkylresten in der gleichen Stellung sowie die heterocyclischen Grundkörper selbst differenzieren zu können, mußten einfach darstellbare Derivate gesucht werden, die bei Erhaltung der Alkyl-Reste eine wesentliche Siedepunkterhöhung zeigen und auf Papier trennbar sind. N-Oxyde, welche sich durch Oxydation in Perhydrol/Eisessig in guten Ausbeuten bilden⁴⁾, erfüllten diese Bedingungen.

0,1 g eines Basengemisches wurden in 1 cm³ Eisessig gelöst, 1 cm³ Perhydrol hinzugefügt und 10 min unter Rückfluß erhitzt. Einige Tropfen des Reaktionsgemisches wurden auf Papier aufgetragen und unter Verwendung des Gemisches sek. Butanol/Ameisensäure/Wasser (75 : 15 : 10) chromatographiert (Papier: Typ 2043b von Schleicher und Schüll).

Zum Sichtbarmachen der Flecken auf dem Papier benutzten wir Acridin in 0,005proz. alkoholischer Lösung. Damit besprühtes Papier zeigt im kurzwelligen UV-Licht (Analysenlampe PL 375 der Firma Horacus, Hanau) beim Vorliegen der N-Oxyde

von Pyridin, Chinolin und den Alkylpyridinen dunkle, in Anwesenheit von Pyridincarbonsäure-N-oxyden gelbe Flecke auf tiefblauem Grund. N-Oxyd-Mengen von 0,5 γ /cm² konnten auf diese Weise noch deutlich erkannt werden. Die Ameisensäure des Lösungsmittelgemisches muß aber vor der Behandlung mit der Acridin-Lösung durch Trocknung des Papierstreifens (2–3 h im Heißluftschrank) entfernt werden. Acridin-Lösung bewährte sich auch zum Sichtbarmachen von vielen anderen Substanzen auf dem Papier⁵⁾, z. B. organischen Säuren, Penicillin und dessen Derivaten, Phenolalkoholen und deren Chlorierungsprodukten. Weitere Möglichkeiten zur Sichtbarmachung der N-Oxyd-Flecken sind gegeben durch Besprühen mit 0,05proz. alkoholischer Fluorescein-Lösung (dunkle Flecken auf hellem Grund) sowie mit verd. alkoholischer Chinin-Lösung (dunkle Flecken auf dunkelblauem Grund). Mit ihnen sind aber die Flecken besonders bei kleinen Substanzmengen nicht so deutlich.

Tabelle 1 zeigt Siedepunkte von Basen und N-Oxyden sowie deren R_F-Werte.

Substanz	Kp bzw. Fp °C	Kp bzw. Fp d. N-Oxyds ⁶⁾ °C	R _F -Wert in sek. Butanol, HCOOH, H ₂ O (75 : 15 : 10)
Pyridin	115 760mm	138-140/15mm	0,60
Chinolin	238 „	175/14mm	0,78
α -Picolin	129 „	127/12mm	0,71
β -Picolin	143 „	156-158/16mm	0,69
γ -Picolin	145 „	151-153/11mm	0,66
β -Äthyl-pyridin ..	165–166 „	154/15mm	0,78
γ -Äthyl-pyridin ..	164–165 „	170-172/16mm	0,75
2,4-Lutidin	157 „	148/13mm	0,75
2,6-Lutidin	143 „	131/22mm	0,79
2-Methyl-5-äthyl-pyridin (Aldehyd-kollidin)	174 „	151/15mm	0,83
Picolinsäure	136	161	0,55
Nicotinsäure	232	254	0,57
Isonicotinsäure ...	317	272–273	0,60
6-Methyl-pyridin-2-carbonsäure	128–129	177	0,74

Tabelle 1

R_F-Werte der N-Oxyde von Pyridin und Homologen sowie von einigen Pyridincarbonensäuren

* Wie unsere Versuche zeigten, ist zur Trennung von Alkylpyridinen, deren Siedepunkte so nahe beieinander liegen, daß eine destillative Trennung außerordentlich schwierig oder sogar unmöglich ist (wie z. B. Gemisch 2,6-Lutidin, β - und γ -Picolin oder Gemisch β - und γ -Äthyl-pyridin), eine fraktionierte Vakuumdestillation der betr. N-Oxyde möglich. Dieselben gehen unzersetzt über. Die Umwandlung der Basen in ihre N-Oxyde gelingt mit guten Ausbeuten (65–95 %); auch die Rückreduktion zu den Ausgangsstoffen^{6, 7)} ist ohne Schwierigkeiten möglich.

Zur Bestimmung von R_F-Werten bedienen wir uns⁸⁾ einer einfachen und bequemen Methode. Bild 1 zeigt den hierfür verwendeten Proportionalzirkel, einen Hilfsapparat, dessen Prinzip

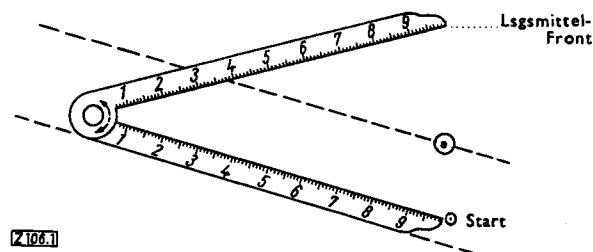


Bild 1. Proportionalzirkel

Galilei angegeben hat. Die Bestimmung geht so vor sich, daß man mit den Zirkelenden (Skalenteile 1,0) die Entfernung Startpunkt-Lösungsmittelfront einstellt. Im Anschluß daran bringt man durch Parallelverschiebung gleiche Skalenteile mit Startpunkt und Mittelpunkt des Fleckes zur Deckung. Der abzulesende Wert ist der R_F-Wert. Der Proportionalzirkel läßt sich entsprechend auch für die Bestimmung von z. B. R_G-Werten benutzen.

Eingeg. am 11. Mai 1954 [Z 106]

¹⁾ Aus der Dissert. W. Jacobs, Mainz 1954.

²⁾ D. Jerchel u. W. Jacobs, diese Ztschr. 65, 342 [1953].

³⁾ M. Henze, Ber. dtsh. chem. Ges. 67, 750 [1934]. DRP. 697 759 M. Henze u. C. Henze.

⁴⁾ E. Ochial, J. organ. Chemistry 18, 534 [1953].

⁵⁾ Gemeinsam mit P. Flesch.

⁶⁾ T. Ishii, J. Pharm. Soc. Jap. 71, 1092 [1951].

⁷⁾ H. J. den Hertog u. W. P. Combé, Rec. trav. chim. Pays-Bas 70, 581 [1951].

⁸⁾ Gemeinsam mit W. Möhle.