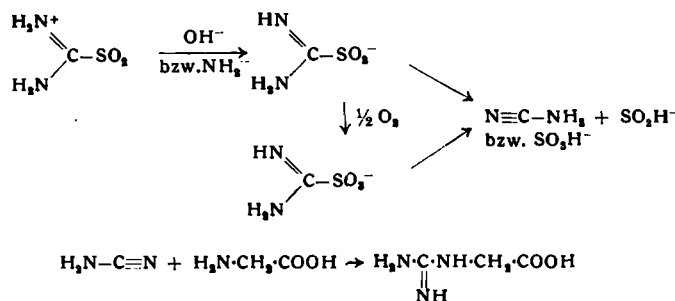


entstanden nicht die erwarteten Aminoalkohole, sondern stets die entspr. α -Guanidylcarbonsäuren. Im Falle des Glycins konnte Glycocyamin in 36 % Ausbeute isoliert werden. Mit dieser Reaktion muß bei der Anwendung der Formamidinsulfinsäure als Reduktionsmittel gerechnet werden.

Die Guanidierungsreaktion ließe sich durch das Auftreten von Cyanamid beim Zerfall der Formamidinsulfinsäure in ammoniakalischer Lösung bzw. in flüssigem Ammoniak wie folgt deuten⁹⁾:



In einem Modellversuch wurde gezeigt, daß Cyanamid in ammoniakalischer Lösung bei Zimmertemperatur mit erheblicher Geschwindigkeit Glycocyamin bildet. Die Reaktion verläuft aber mit Formamidinsulfinsäure noch schneller. Bei 70 °C setzt sich nur noch die Formamidinsulfinsäure mit Glykokoll zu Glycocyamin um, während dieses bei Anwendung von Cyanamid nicht mehr nachzuweisen ist.

Die Reaktion verläuft also sicher komplizierter, als es das Schema zeigt. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Molekel bei ihrem Zerfall, der mit der Verschiebung eines Protons verbunden ist, einen Zwischenzustand erhöhter Reaktivität durchläuft, in dem es das Cyanamid hinsichtlich der Guanidierungs-geschwindigkeit noch übertrifft.

Versuche: Bei Umsetzung von Glycin mit Formamidinsulfinsäure im Molverhältnis 1:1 wurde nach dem Abdunsten des Ammoniaks das in Wasser schwer lösliche Glycocyamin in 36 % Ausbeute erhalten. Bei Verwendung konz. Ammoniaks betrug die Ausbeute bei einem Molverhältnis 1:2 20 %. Die Identifizierung gelang durch Vergleich mit einem authentischen Präparat, dessen UR-Spektrum mit dem des Reaktionsproduktes identisch war. Auch entsprach der Fp des Pikrates dem Literaturwert (Fp 199 °C). Zum papierchromatographischen Nachweis der Guanidylcarbonsäuren wurde die *Sakaguchi*-Reaktion in der Form von *Roche* und *Mitarb.*¹⁰⁾ verwendet.

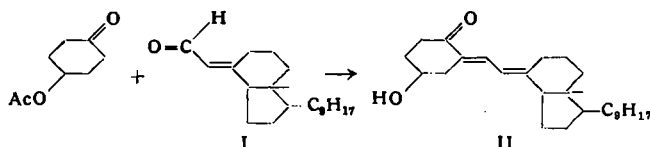
Eingeg. am 12. April 1955 [Z 184]

Partialsynthese einer „trans“-Vitamin D₂-Verbindung mit Hilfe der Reaktion von Wittig

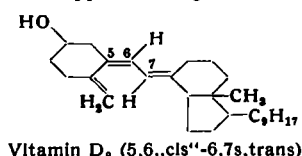
Von Prof. Dr. H. H. INHOFFEN, Dr. J. F. KATH und Dr. K. BRÜCKNER

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der T. H. Braunschweig

Im Verlauf unserer synthetischen Studien in der Vitamin-D-Reihe hatten wir durch Aldolkondensation von p-Acetoxy-cyclohexanon mit dem C₂₁-Abbaualdehyd (I) des Vitamins D₂ ein „C₂₇-Keton“ (II) gewonnen¹¹⁾:



Wittig und Schöllkopf¹²⁾ haben nun eine Reaktion beschrieben, durch die ein Ring-Keton mit Triphenylphosphin-methyld in eine entspr. Methylen-Verbindung umzuwandeln ist. Mit Einverständnis von Prof. Wittig haben wir die Reaktion auf unser C₂₇-Keton übertragen, um die für das antirachitische Vitamin charakteristische Methylen-Gruppe zu erzeugen.



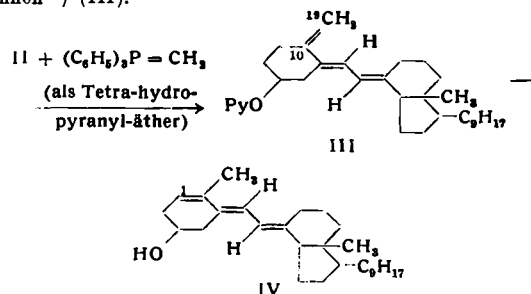
⁹⁾ Vgl. J. Böseken, Rec. trav. Chim. Pays-Bas 67, 603 [1948]; E. O. Fischer u. W. Hieber, Z. anorg. allg. Chem. 271, 229 [1953]; R. Kitamura, J. Pharmac. Soc. Japan 59, 33 [1939]; Chem. Zbl. 1939 I, 4607.

¹⁰⁾ J. Roche, Nguyen-van Thoi u. J. L. Hatt, Biochem. Biophys. Acta 14, 71 [1954].

¹¹⁾ H. H. Inhoffen, K. Brückner u. R. Gründel, Chem. Ber. 87, 1 [1954].

¹²⁾ G. Wittig u. U. Schöllkopf, ebenda 87, 1318 [1954].

Nachdem z. B. mit Dihydropyran das Hydroxyl acetal-artig verschlossen worden war, ließen wir Triphenylphosphin-methyld einwirken. Nach chromatographischer Reinigung des Reaktionsgemisches erhielten wir ein öliges Produkt mit gut stimmenden Analysenwerten, dessen UR-Spektrum (Bande b. 885 cm⁻¹) die Anwesenheit der semicyclischen Methylen-Gruppe erkennen läßt. Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 272 mμ (ε = 20000), das somit um 7 mμ langwelliger lag als dasjenige des Vitamins D₂. Diese Rotverschiebung glauben wir auf eine cis-trans-Isomerie an der 5,6-Doppelbindung zurückführen zu können. Die bathochrome Verschiebung des Maximums sowie seine erhöhte Intensität stehen in Übereinstimmung mit einer schwächeren sterischen Hinderung, wie wir aus Modellbetrachtungen schließen. Wir möchten daher unser neues Produkt als Tetrahydropyranyl-äther des 5,6-„trans“-Vitamins D₂ (3-Epimeren-Gemisch) bezeichnen¹³⁾ (III).



Die Abspaltung des Acetal-Restes unter milden Bedingungen war bisher nur mit gleichzeitiger Umlagerung des höchst labilen Triensystems möglich. Unter Umklappen der exocyclischen Doppelbindung in den Ring wurde eine Verbindung gebildet, die wir auf Grund ihrer UV-Absorption bei 287 mμ als iso-Vitamin D₂¹⁴⁾ (IV) ansprechen.

Das Ergebnis der Wittig-Reaktion bestätigt unsere Annahme¹¹⁾, daß das C₂₇-Keton „trans“-Konfiguration an der 5,6-Doppelbindung besitzt. Der Übergang des neuen 19,10-5,6-„trans“-7,8-Triensystems in das 1,10-5,6-„trans“-7,8-Trien (III → IV) scheint noch leichter vorsichzugehen als die entspr. Umlagerung beim Vitamin D₂.

Eingeg. am 15. April 1955 [Z 186]

Funktion der Leber-Alkoholdehydrogenase

Von Doz. Dr. H. HOLZER und SILKE SCHNEIDER
Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Hamburg
unter Mitarbeit von Dipl.-Chem. K. LANGE

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Rostock

Fructose wird in der Leber über Fructose-1-phosphat und Dioxo-acetonphosphat + Glycerinaldehyd abgebaut^{15, 16)}. Für die Weiterveränderung des Glycerinaldehyds zur Einschleusung in den Embden-Meyerhof-Weg der Glykolyse sind zwei Fermente nachgewiesen worden: eine Glycerinaldehyd-Kinase die mit ATP Phosphoglycerinaldehyd erzeugt¹⁷⁾ und eine Glycerinaldehyd-Hydrazidase, die Glycerinaldehyd mit DPN-H₂ zu Glycerin hydriert¹⁸⁾. Glycerin könnte dann zu α-Glycerinphosphat phosphoryliert und mit Hilfe des von Baranowsky beschriebenen Fermentes in Dioxo-acetonphosphat übergeführt werden. Vor kurzem hat F. Leuthardt gezeigt, daß das Glycerinaldehyd-hydrierende Ferment auch Glycerin dehydriert und deshalb die Bezeichnung „Glycerinaldehydase“ eingeführt¹⁹⁾. Bei Untersuchungen an Alkoholdehydrogenase aus Hefe haben wir beobachtet, daß dieses Ferment hohe Konzentrationen Glycerinaldehyd mit etwa 1/1000 der Geschwindigkeit von Acetaldehyd mit DPN-H₂ hydriert. Ein Vergleich mit Alkoholdehydrogenase aus Leber zeigte, daß das Leberferment Glycerinaldehyd wesentlich schneller hydriert. Damit ergab sich die Frage, ob die von Leuthardt angereicherte Glycerinaldehydase nicht mit Leber-Alkoholdehydrogenase identisch ist. Wir finden, wie die Tabelle zeigt, für rohen Pferdeleberextrakt dieselbe Relation der Hydrierungsgeschwindigkeiten von Glycerinaldehyd und Acetaldehyd, wie bei kristallisierter Alkoholdehydrogenase aus Pferdeleber nach Bonnichsen²⁰⁾.

¹³⁾ Aus neueren Versuchsergebnissen schließen wir, daß der C₁₄-Wasserstoff unverändert α-Stellung einnimmt.

¹⁴⁾ H. H. Inhoffen, K. Brückner, R. Gründel u. G. Quinkert, ebenda 87, 1407 [1954].

¹⁵⁾ H. G. Hers u. T. Kusaka, 2. Intern. Biochemie-Kongreß, Paris 1952, S. 291.

¹⁶⁾ F. Leuthardt, E. Testa u. H. P. Wolf, Helv. Chim. Acta 36, 227 [1953].

¹⁷⁾ H. G. Hers u. T. Kusaka, Biochim. Biophys. Acta 11, 427 [1953].

¹⁸⁾ H. P. Wolf u. F. Leuthardt, Helv. Chim. Acta 36, 1463 [1953].

¹⁹⁾ F. Leuthardt u. H. P. Wolf, Helv. Chim. Acta 37, 1732 [1954].

²⁰⁾ R. K. Bonnichsen, Acta Chem. Scand. 4, 715 [1950].

	Einheiten*) mit Acetal- dehyd + DPNH	Einheiten*) mit Glycerinal- dehyd + DPNH	Acetaldehyd
	pro mg Protein (Biuret)		Glycerinal- dehyd
Roher Leberextrakt	0,252	0,356	0,71
Kristallisierte Alkoholdehydrase ..	6,35	8,77	0,72

*) $\Delta E_{366}^{366} \mu$ in 1,5 min bei einem Gesamtvolumen von 3,0 ml;
m/20 Triäthanolamin-Puffer p_H 7,4; 0,5 mg DPN-H₂;
m/15 d,l-Glycerinaldehyd bzw. m/200 Acetaldehyd. Temp. = 22°C

Damit ist sichergestellt, daß in Leber keine gesonderte Glycerinaldehyd-Hydrase existiert, da die gesamte Glycerinaldehyd hydrierende Aktivität auf den Gehalt an Alkoholdehydrase zurückzuführen ist. Da Fructose im Gegensatz zu Alkohol ubiquitär in großer Menge in der Nahrung enthalten ist, dürfte die wesentliche biologische Funktion des Fermentes in seiner Beteiligung am Fructose-Abbau in der Leber bestehen.

Eingeg. am 2. April 1955 [Z 177]

Zur UR-Spektroskopie organischer Substanzen im Bereich 1–4 μ

Von Dipl.-Chem. E. FAHR und Dr. W. P. NEUMANN
Aus dem Chemischen Institut der Universität Würzburg

Zur UR-Spektroskopie im Bereich 1–4 μ ist es oft notwendig, ungetrübte Kaliumbromid-Substanzscheiben nach dem Preßverfahren von U. Schiedt und H. Reinwein^{1,2)}, M. M. Stimson und M. J. O'Donnell³⁾ und B. Franck⁴⁾ herzustellen, da geeignete Lösungsmittel fehlen. Oft gelingt dies aber nach den gebräuchlichen Zerkleinerungs- und Vermischungsverfahren^{1–3)} nicht befriedigend; besonders tritt häufig eine vorzeitige Trübung der Platten ein⁴⁾.

Systematische Reihenversuche haben uns gezeigt, daß durch feinste Zerkleinerung der Substanz und intensivste Vermischung mit dem Kaliumbromid Scheiben erhalten werden, die sich frühestens nach Stunden eintrüben, so daß die Aufnahme des Spektrums dadurch nicht beeinträchtigt wird. Eine ganze Reihe unserer Scheiben mit den verschiedensten organischen Substanzen war noch nach 6–7 Monaten völlig klar und herunter bis 1 μ durchlässig.

¹⁾ U. Schiedt u. H. Reinwein, Z. Naturforsch. 7b, 270 [1952].

²⁾ U. Schiedt, ebenda 8b, 66 [1953].

³⁾ M. M. Stimson u. M. J. O'Donnell, J. Amer. chem. Soc. 74, 1805 [1952].

⁴⁾ B. Franck, Z. Naturforsch. 9b, 276 [1954].

3–15 mg Substanz (mehr ist auf keinen Fall empfehlenswert) und 3 Stahlkugeln von ca. 3 mm Durchmesser werden in einer Hülse aus rostfreiem und möglichst abrieblstem Stahl von 9 mm innerem Durchmesser und 80 mm Länge, die zur Wärmeisolierung mit einem Kunststoffmantel umgeben ist, mittels eines Vibrators⁵⁾ mit einer Schwingweite von 5–10 mm 10–15 min zerkleinert. Von der feinst pulverisierten Substanz wägt man 0,6–2,5 mg zu rund 750 mg Kaliumbromid, das 48 h in einer Achat-Kugelmühle zermahlen und scharf getrocknet war, und vermischt das Gemenge in einer Stahlhülse mittels dreier Stahlkugeln auf dem Vibrator innig etwa 5–15 min. Stoffe, die sich beim Zerkleinern stark elektrostatisch aufladen, müssen bis zu 20 min gemischt werden. Das Substanzgemisch wird dann im Vakuum und bei 10000 bis 11000 kg/cm² zu 22 mm-Scheiben von ca. 0,70 mm Dicke gepreßt. Ein längeres Belassen unter Druck als 1–2 min ist nicht empfehlenswert. Sollten die Scheibchen sofort nach dem Pressen wolkenartige kleine Eintrübungen aufweisen, die durch mikroskopische Prüfung leicht festzustellen sind, so deutet dieses auf eine schlechte Vermischung der Substanz mit dem Kaliumbromid hin. Von diesen „Störstellen“ sowie auch von mechanischen Beschädigungen beim Herausstoßen aus dem Preßwerkzeug pflegt dann sehr schnell weitere Eintrübung auszugehen. Verlängerte Mischzeit oder Verreiben der gepreßten Platte im Achatmörser und erneutes Zerkleinern im Vibrator führt zur besseren Vermischung und damit Verhinderung der schnellen Eintrübung. Beim Vermahlen und Vermischen empfindlicher Substanzen muß die durch Wirbelströme entwickelte Wärme abgeführt werden. Man kühlt deshalb den Schwingkopf entweder mit einem starken Kaltluftstrom oder aber in kurzen Abständen mit Aceton-Kohlensäure oder flüssiger Luft.

Auf diese Weise wurden die Spektren einer Reihe von Diazoverbindungen, Uracil-, Homopurin- und Triazol-Derivaten im Bereich von 1–15 μ einwandfrei aufgenommen. Selbst so empfindliche Substanzen wie Diazobenzil, Diazo-benzoylacetone, Diazo-dimethyl-dihydroresorcin, Diazo-tetronsäure, Dibenzoyl-diazomethan sowie einige perchlorierte Verbindungen⁶⁾ konnten unverändert vermessen werden.

Wir benutzten einen UR-Spektrographen der Firma Leitz (Wetzlar), der von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, Herrn Prof. F. G. Fischer zur Verfügung gestellt wurde. Auch wir sind der Forschungsgemeinschaft zu größtem Dank verpflichtet.

Eingeg. am 6. April 1955 [Z 185]

⁵⁾ Gebaut nach Angaben von M. v. Ardenne, diese Ztschr. 54, 144 [1941].

⁶⁾ Zum Beispiel trans-3,4-Di-H-hexachlor-hexatrien-(1,3,5), A. Roedig u. K. Kiepert, Chem. Ber. 88 [1955], im Druck.

Versamlungsberichte

Schweizerische Chemische Gesellschaft

Winterversammlung in Bern, 27. Februar 1955

Aus dem Vortragsprogramm:

H. NITSCHMANN, Bern: Weiteres über die Primärreaktion (enzymatische Phase) der Labgerinnung der Milch.

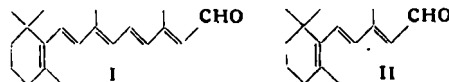
Nach der Zugabe von Lab oder einem andern Gerinnungsferment (z. B. Pepsin) zur Milch oder zu Calcium-caseinat-Lösungen tritt zunächst keine sichtbare Veränderung ein. Nach einer bestimmten Zeit beginnt dann die Ausflockung des Caseins (Flockungspunkt). Während der ersten Phase nimmt zunächst der durch Trichloressigsäure nicht ausfällbare Anteil des Stickstoffs zu, und zwar in einer Reaktion erster Ordnung. Bei der Untersuchung dieses Effektes an einzelnen Casein-Fractionen wurde festgestellt, daß nur das α -Casein diese Reaktion eingeht, nicht aber das β -Casein. Die Geschwindigkeit dieser Primärreaktion ist außer von der Fermentmenge und von der Temperatur noch vom p_H abhängig. Die Geschwindigkeitskonstante ist in schwach saurem Milieu (p_H 5) größer als in neutraler Lösung. Unterhalb p_H 3,5 nimmt sie wieder ab und die Reaktion wird überdeckt von allgemeinen proteolytischen Vorgängen.

Die Versuchsergebnisse finden ihre Deutung darin, daß die Primärreaktion nicht in einem bloßen Denaturierungsvorgang besteht. Es handelt sich vielmehr um die Abspaltung eines Stickstoff-haltigen Teiles aus der Casein-Molekel.

E. C. GROB und R. BÜTLER, Bern: Die Produkte der oxydativen Spaltung von β -Carotin mit H_2O_2 und Osmiumtetroxyd (Retinin und β -Jonylidenacetaldehyd).

Für das Studium der Biosynthese von β -Carotin aus Acetat-Ionen mit Hilfe der radioaktiven Markierung ist eine übersicht-

liche Abbaufolge für das Carotin notwendig. Geeignete primäre Abbauprodukte zur Erfassung der aliphatischen Kette scheinen das Retinin (I) und β -Jonyliden-acetaldehyd zu sein.



Beide Verbindungen lassen sich nach Versuchen von Wendler durch Oxydation von β -Carotin mit Wasserstoffperoxyd in Gegenwart von Osmiumtetroxyd erhalten. Eine Nacharbeitung dieser Versuche zeigte aber, daß das so bereitete Retinin uneinheitlich ist. Es ließ sich durch Chromatographie an vorbehandeltem Aluminiumoxyd in reines Retinin und eine noch unbekannte Substanz X (Semicarbazone Fp 215–217 °C) trennen. Die Ausbeute an reinem Retinin beträgt 17%. Außerdem liefert die Oxydation 20–30% β -Jonyliden-acetaldehyd.

Unter geeigneten Bedingungen läßt sich aus Retinin und aus β -Jonyliden-acetaldehyd durch alkalische Hydrolyse Acetaldehyd abspalten. Diese Reaktion ist beim Citral schon lange bekannt.

Der gebildete Acetaldehyd wurde sofort oxydiert und die Essigsäure für die weitere Analyse rein gefaßt. Die Ausbeuten an reiner Essigsäure betragen:

aus Citral	65 %
aus β -Jonylidenacetaldehyd	30 %
aus Retinin	20 %

Damit ist ein Weg gefunden, einzelne C-Atome der aliphatischen Kette des β -Carotins zu fassen und ihre biogenetische Herkunft mit Hilfe radioaktiver Markierung zu bestimmen.