

Chemische Gesellschaft und GDCh-Ortsverband Marburg

am 22. und 23. Juni 1956

Aus den Vorträgen:

D. M. BROWN, Cambridge: *Aspects of Phosphate Ester Chemistry in Relation to Nucleotides.*

Die Hydrolyse der Ribonucleinsäuren durch Alkali gelingt viel leichter als die normaler Diphosphate; sie führt zu einem Gemisch von Nucleosid-2'- und -3'-phosphaten. Modellversuche mit Nucleosid-2'- oder -3'-dialkylphosphaten zeigen, daß diese sehr instabil sind und schon bei pH 7 unter Bildung eines Gemisches von Nucleosid-2'- und -3'-monoalkylphosphaten zerfallen. Jede dieser Komponenten kann weiter hydrolysiert werden, wobei wie bei der Ribonucleinsäure-Hydrolyse ein Gemisch aus Nucleosid-2'- und -3'-phosphaten entsteht. Diese Versuche zeigen, daß die leichte Hydrolysierbarkeit durch die α -ständige freie Zucker-Hydroxylgruppe bewirkt wird, mit der nach einer S_N2 -Reaktion unter gleichzeitiger Hydrolyse des an C-5' stehenden Restes eine Umesterung zu einem 2',3'-cyclischen Phosphat und dann zu einem 2',3'-Phosphat-Gemisch erfolgt. Eine nicht hydrolytische partielle Umlagerung von Nucleosid-2'-alkylphosphaten in Nucleosid-3'-alkylphosphat erfolgt bei saurer, nicht bei alkalischer Reaktion, eine Beobachtung, die auch auf ein Dinucleosid-phosphat übertragen werden kann. Es wird aus diesen Versuchen geschlossen, daß in den Ribonucleinsäuren keine Phosphorsäure-triester- sondern nur Diesterbindungen von 3' bzw. 2' nach 5' vorliegen.

Polynucleotide, deren endständiger Phosphat-Rest enzymatisch entfernt wurde, lassen sich stufenweise abbauen, da Perjodsäure sie an ihrem Diol-System 2',3' angreift; das endständige Nucleosid kann also nur über das 5'-Phosphat mit den weiteren Gruppen der Molekel verbunden sein. Nach der Perjodsäure-Oxydation befindet sich in β -Stellung zum 5'-Phosphat-Rest eine Aldehyd-Gruppe; bei pH 10 entsteht unter Abspaltung des endständigen Restes ein um dieses Nucleosid verkleinertes Polynucleotid, das wiederum an C-3' einen freien Phosphat-Rest trägt und erneut dem Abbau unterworfen werden kann. Die Reaktionsfolge ermöglicht nicht nur einen stufenweisen Abbau, sondern beweist auch den Sitz der Phosphorgruppe an C-3'.

Die Desoxyribonucleinsäuren werden, da sie an C-2' keine freie Hydroxyl-Gruppe enthalten, durch Alkalien nicht zu Mononucleotiden gespalten. Die Glycosid-Bindung der Purin-desoxyribonucleoside ist gegenüber Säuren sehr instabil; man kann daher durch Säureeinwirkung zu Apurinsäuren gelangen, die weiterhin Pyrimidin-desoxyribosid-3',5'-diphosphate liefern. Die Gegenwart oder Abwesenheit der 2'-OH-Gruppe in den Nucleinsäuren dürfte von entscheidender Bedeutung für die Konformation der Gesamtmolekel sein.

H. WITZEL, Marburg: *Über Oligonucleotide durch Wismut-katalysierte Hydrolyse der Ribonucleinsäure.*

Durch Abbau von Hefe-Ribonucleinsäure mit Wismuthydroxyd und anschließender Trennung mit Ionenaustauschern ließen sich sämtliche 16 möglichen Dinucleosid-phosphate isolieren; es können also sämtliche Basenkombinationen in der Natur vorkommen. Darüber hinaus wurden auch Dinucleotide und einige Oligonucleotide gewonnen und in ihrer Konstitution aufgeklärt. Der Mechanismus der Hydrolyse wurde diskutiert.

G. HUBER, Mannheim-Waldhof: *Die Spaltung von Adenosin-triphosphat mit Barium-hydroxyd.*

Adenosin-triphosphat, das in natronalkalischer Lösung auch in der Hitze relativ stabil ist, liefert in Gegenwart von Bariumhydroxyd Adenosin-monophosphat und ein bisher unbekanntes Nucleosid-triphosphat, das papierchromatographisch abgetrennt wurde. Es reagiert nicht mit Perjodsäure, ist beständig gegen Alkalien, reagiert nicht mit Schlangengift-5'-nucleotidase und liefert mit Kartoffelphosphatase Adenosin-5'-monophosphat und Adenosin. Wahrscheinlich handelt es sich um Adenosin-2', 3', 5'-triphosphat.

F. TURBA, München: *Umsatz von Actomyosin mit ^{14}C -Adenosin-triphosphorsäure.*

Die enzymatische Synthese von ^{14}C -Adenosin-triphosphorsäure aus ^{14}C -Adenosin wird beschrieben. Setzt man Actomyosin mit der eben notwendigen Menge reiner ^{14}C -Adenosin-triphosphorsäure um, so daß maximale Synthese erfolgt und wäscht den Niederschlag unter Vermeidung jeder Denaturierung mit der Salzlösung, in der die Reaktion erfolgte, erschöpfend aus, so findet man die Aktivität des Proteins nicht signifikant von null verschieden. Eine Bindung von Adenosin-diphosphorsäure an Actomyosin (*Buchthal*) läßt sich unter den Versuchsbedingungen ausschließen. Noch 1 % des zu erwartenden Effektes hätte meßbar sein müssen.

O. ARMBRUSTER, Tübingen: *Die Anwendung von Ionenaustauschern zur Trennung von Viren.*

Bei Versuchen zur Fraktionierung von Influenza-Virus an Ionenaustauschern (IRA 400) bei pH 6–7 in verschiedenen Puffern gelang mit dem Stamm FM 1 (A') eine Trennung in 2 Fraktionen, nicht jedoch bei Lee (B); auch Tollwutvirus ließ sich auf diesem Weg nicht fraktionieren.

P. MANDEL, J. KLETHI und H. SCHMITZ, Straßburg und Marburg: *Die säurelöslichen Nucleotide der Augenlinse.*

Nach Untersuchungen der Autoren enthält die Linse beträchtliche Mengen an Mono-, Di- und Triphosphaten von Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil, wobei die des Adenins etwa 60 % der Gesamtheit der Nucleotide ausmachen.

H. HOLZER und I. WITT, Hamburg: *Bestimmung von Adenosintri- und -diphosphorsäure in Hefezellen beim Übergang anaerob-aerob.*

Die Tatsache, daß Hefezellen unter sonst gleichen Bedingungen aerob weniger Glucose umsetzen als anaerob (*Pasteur-Effekt*) sowie die geringere Glucose-phosphorylierung der Hexokinase unter aeroben Bedingungen können nach einer Theorie von Lynen dadurch hervorgerufen werden, daß die Adenosin-triphosphorsäure am Ort ihrer Erzeugung, in den Mitochondrien angehäuft wird und das Cytoplasma an Adenosin-triphosphorsäure verarmt. Die experimentelle Prüfung an lebenden Hefezellen ergab, daß die Adenosin-tri- und -diphosphorsäure-Mengen pro g Hefezellen unter anaeroben und aeroben Bedingungen konstant bleiben, wodurch die obige Theorie wesentlich gestützt wird.

W. SEUBERT, München: *Darstellung und Analyse von Fettsäure-Coenzym-A-Verbindungen.*

Es wird über die Synthese von Coenzym-A-Fettsäure-Derivaten aus Coenzym A mit Fettsäurechloriden bzw. -anhydriden berichtet. Sie gelingt in wäßrigen Tetrahydrofuran-Lösungen in Gegenwart von Thioglykolsäure bei pH 8. Eine ähnliche Reaktion mit Diketen oder β -Butyrolacton kann zur quantitativen Bestimmung von Coenzym A herangezogen werden, wenn man folgende Reaktion in Gegenwart von β -Oxyacyl-dehydrogenase optisch auswertet:



Bei pH 7 liegt das Gleichgewicht ganz auf der rechten, bei pH 9,6–10 auf der linken Seite. [VB 843]

Chemisches Kolloquium der T. H. Braunschweig und des GDCh-Ortsverbands Braunschweig

am 10. September 1956

FREDERICK H. POLLARD, Bristol: *Vapour Phase Chromatography of halogenated Hydrocarbons.*

Das Verhalten der Chlor- und Fluor-chlormethane bei der Gaschromatographie wurde unter verschiedenen Bedingungen untersucht, d. h. mit verschiedenen Typen der flüssigen Phase unter Verwendung von Kieselgur (Celite 545) als Träger¹).

Die Reihenfolge des Eluierens ist von der Polarität der stationären flüssigen Phase abhängig. Bei unpolaren oder nur schwach polaren Flüssigkeiten wie Paraffin oder Silicon 702 werden die Gase in der Reihenfolge ihrer Siedepunkte eluiert. Stärker polare Phasen wie Dinonylphthalat und Dibutylphthalat halten dagegen $CHCl_3$ stärker zurück als CCl_4 , und das „corrected retention volume“ (V_g) der Fluor-chlormethane mit einem nicht-substituierten Wasserstoff-Atom (z. B. CH_2F_2) ist größer, als man nach den Siedepunkten erwarten sollte. Dies weist auf eine spezifische Wechselwirkung der flüssigen Phase mit Verbindungen, die ein Wasserstoff-Atom enthalten, hin. Bei verhältnismäßig stark polaren Flüssigkeiten wie Glycerin wird die Reihenfolge des Eluierens für die stärker polaren Glieder der halogenierten Kohlenwasserstoffe noch weitgehender beeinflusst, z. B. wird CH_2Cl_2 später eluiert als CCl_4 .

Wird trockene Kieselgur als Trägerstoff verwendet, so wird die Reihenfolge beim Eluieren durch die Dampfdrucke der Verbindungen bestimmt. Bei großem Wassergehalt der Kieselgur ist dagegen die Reihenfolge des Eluierens von der Löslichkeit der Verbindungen in Wasser abhängig. Bei sehr kleinem Wassergehalt der Kieselgur ist die Eluierfolge abhängig von dem Verhältnis der Adsorption an Kieselgur und der Löslichkeit in Wasser.

Bei Verwendung von Silicon 702, Dinonylphthalat oder Glycerin besteht für die halogenierten Kohlenwasserstoffe ein linearer Zusammenhang²) zwischen $\log V_g$ (retention volume) und $1/T$.

¹) F. H. Pollard u. C. J. Hardy, Symposium on Vapour Phase Chromatography, London 1956.

²) F. H. Pollard u. C. J. Hardy, Analytica chim. Acta (im Druck).

PETER WOODWARD, Bristol: *Structural problems concerned in the formation of complexes with pyridine bases.*

Die Koordinationsverbindungen der Übergangsmetalle mit Pyridin, 2-Picolin, 2,6-Lutidin oder 2,4,6-Collidin weisen interessante strukturelle Beziehungen auf, die durch sterische Hinderung der in den Ringen als Substituenten vorhandenen Methyl-Gruppen bedingt sind.

Die Verbindungen sind leicht darstellbar: tropfenweiser Zusatz einer Base zu einer wäßrigen Lösung des entsprechenden Metallsalzes genügt oft, um die Komplexsalze in reiner Form als Niederschlag zu erhalten. Auf diese und ähnliche Weise sind bisher die Komplexe von Pyridin, 2-Picolin, 2,6-Lutidin und 2,4,6-Collidin mit den Chloriden oder Rhodaniden von Kupfer, Cadmium, Kobalt, Nickel, Silber und Zink dargestellt worden.

Einige der Verbindungen existieren in zwei Formen. Nach neueren Untersuchungen liegt z. B. die blaue Form des Di-pyridinocobalt(II)chlorids tetraedrisch monomer vor, während die rotviolette Form ein oktaedrisches Polymeres ist. Die bisher angenommene cis-trans-Isomerie tritt nicht auf.

Kristallographische Untersuchungen an Di-2,4,6-collidino-kupfer(II)chlorid haben ergeben, daß die Substanz in einem monoklinen Gitter mit den Parametern $a = 7,94$; $b = 14,66$; $c = 7,53$; $\beta = 96^\circ$ kristallisiert; jede Elementarzelle enthält zwei Formelgewichte. Systematische Auswertungen von Einkristallaufnahmen ergaben die Raumgruppe $P2_1/a$. Daraus folgt, daß die Kupfer-Atome Symmetriezentren sein müssen; die beiden Collidin-Ringe der Molekel müssen in einer Ebene liegen, die Cl-Cu-Cl-Bindung steht senkrecht auf der Ebene der Ringe. Die Bindung ist vom dsp^2 -Typ. [VB 836]

Deutsche Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung und -therapie e. V.

4. bis 7. Oktober in Bad Berneck

Aus den Vorträgen:

R. TSCHESCHE, Hamburg: *21-C-Steroide des Pflanzenreiches.*

Eine neue Gruppe von Steroid-glykosiden, deren Aglykone 21 C-Atome enthalten und für die die Bezeichnung Digenolide vorgeschlagen wird, wurde von Tschesche und Grimmer aus Digitalisblättern isoliert: Digipurpurin, Digifolein und Lanafolein. Das ebenfalls hierher gehörende Diginin wurde 1936 von Karrer beschrieben. Eine pharmakologische Aktivität dieser Stoffe konnte bisher nicht festgestellt werden.

Digifolein und Lanafolein sind Monohydroxo-Derivate des Diginigenins. Als Zucker sind im Digifolein und Diginin die D-Diginose und im Lanafolein die D-Oleandrose nachgewiesen worden. Mit Ausnahme von Digipurpurin, das nur im *Digitalis purpurea* zu 0,01 % enthalten ist, kommen diese Glykoside sowohl in *Digitalis purpurea* als auch in *Digitalis lanata* zu 0,001 % vor.

Das Digipurpurin lagert sich leicht in das bereits von Satoh beschriebene, isomere Digipurponin um.

Die Digenol-glykoside werden bei der Keller-Kiliani- und bei der Kedde-Reaktion mit erfaßt, allerdings spricht das Digipurpurin auf letztere schwächer an. In der Kälte werden von ihnen Triphenyltetrazolumchlorid- und ammoniakalische Silbersalzlösungen reduziert.

Die Kurchi-alkaloide vom Conarrhimin-, Konkurchin- und Hollarhimin-Typ und wahrscheinlich auch das Sarcostin aus *Sarcostemma australe* gehören ebenfalls in die Gruppe der 21-C-Steroide.

G. GRIMMER, Hamburg: *Die chemische Wertbestimmung von Digitalis purpurea und Digitalis lanata unter Berücksichtigung neuer Forschungsergebnisse.*

Die pharmakologische Wertbestimmung von *Digitalis purpurea* und *Digitalis lanata* an Katze und Meerschweinchen gibt nur ein ungenaues Bild über die therapeutische Wirksamkeit der Drogen bzw. ihrer Glykoside, da die Versuchstiere z.T. anders als der Mensch darauf ansprechen (z. B. bei Gitoxin und Gitaloxin). Daher erscheint eine chemische Wertbestimmung unbedingt erforderlich. Aber auch sie ist nur zweckmäßig, wenn man die herzwirksamen Glykoside nicht mit Gruppenreagentien in ihrer Gesamtheit erfaßt, sondern sie papier- oder verteilungschromatographisch trennt und getrennt ihren Gehalt bestimmt. Mit Hilfe der Gesamtglykosid-Bestimmungsmethoden (nach Keller-Kiliani, Baljet usw.) werden darüber hinaus auch herzunwirksame Steroide (C_{21} -Körper) und z.T. auch Pflanzeninhaltsstoffe (Flavone, Anthranole) mit erfaßt.

Allerdings sind manche Substanzen, z. B. Gitoxin in reinem Zustand nicht resorbierbar, werden aber in Anwesenheit von Begleitstoffen (Verunreinigungen) bis zu 40 % aufgenommen.

G. SIEWERT, Leipzig: *Farbreaktionen der Herzgifte als Reaktionen der Lacton-Seitenkette.*

Die α,β -ständige Doppelbindung der 5-gliedrigen Lacton-Seitenkette der Herzgifte (Cardenolide) wird bei geringer OH-Konzentration in die β,γ -Stellung verschoben. Diese β,γ -Form ist reaktionsfähig und kondensiert in Piperidin-haltigem Alkohol mit aromatischen Aldehyden unter Wasseraustritt zu gelb gefärbten, grün fluoreszierenden Verbindungen. Durch überschüssige OH-Ionen werden die Lactone dagegen verseift, wobei die Verseifungsgeschwindigkeit bei großem Alkali-Überschuß annähernd der Zunahme der Farbintensität bei der Reaktion mit alkalischer Pikrinsäure-Lösung (Baljet-Reaktion) entspricht.

Der Ablauf der Farbreaktion nach Baljet ist jedoch nicht für alle herzwirksamen Glykoside gleich, wodurch sie zur quantitativen Bestimmung dieser Stoffe wenig geeignet erscheint. So geben die natürlichen Herzgifte und ihre Geneine mit einer OH-Gruppe am C-Atom 14 eine Färbung, deren Intensität mit der Zeit ein Maximum durchläuft. Bei Dianhydro-gitoxigenin und synthetischen, β -substituierten Butenoliden nähert sich dagegen die Intensität der Farbtiefe einem Endwert und bleibt tagelang konstant. Komplizierte Umlagerungs- und Verseifungsgleichgewichte dürften bei der Farbreaktion beteiligt sein.

K. SOEHRING, Hamburg: *Probleme und Fortschritte in der Pharmakologie herzwirksamer Glykoside.*

Da die Wirkung der herzwirksamen Glykoside bei oraler Gabe maßgeblich von Resorption, Verteilung und Ausscheidungsgeschwindigkeit abhängt, wie am gegensätzlichen Verhalten von Digitoxin und Strophantin im Organismus aufgezeigt wurde, erscheint es notwendig, unter Anwendung moderner Methoden die Wirkungsbedingungen auch anderer herzwirksamer Stoffe genau zu prüfen.

Für die spezifischen Wirkungen am geschädigten Herzen ergeben sich drei Problemkreise: 1.) Wirkungen auf den Stoffwechsel und den Ionenaustausch, 2.) Beeinflussung des Erregungsvorgangs, 3.) Steigerung der Leistung der kontraktilen Elemente.

Im Zusammenhang mit den extracardialen Effekten der Herzglykoside scheint der vegetativen Affferenz eine besondere Bedeutung zuzukommen. Für die Therapie wäre es wesentlich, wenn die wenig definierten Galenika durch genau eingestellte Glykosid-Gemische ersetzt würden.

F. HAUSCHILD, Leipzig: *Zur Frage der pharmakologischen Wertbestimmung von Digitalis-Präparaten.*

Während sich die übliche Froeschmethode für biologische Standardisierung als ungeeignet erwiesen hat, dürften zur Erfassung der Hauptglykoside die Testverfahren an Katze und Meerschweinchen ausreichen, wobei darauf zu achten ist, daß die letale Dosis auch eine Funktion der Dosierungsgeschwindigkeit darstellt und es sich hier um relative Qualitätsprüfungen handelt. Einige Schwierigkeiten bietet noch die Feststellung der oralen Wirksamkeit von Galenika und Glykosid-Gemischen. Es wird jedoch vorgeschlagen, den Versuchstieren eine bestimmte Dosis oral zu verabreichen und den Prozentsatz der oralen Aufnahme durch eine intravenöse Nachgabe festzustellen.

Eine biologische Standardisierung der *Folia Digitalis* wird deswegen für notwendig erachtet, weil in den Vorschlägen zum neuen DAB galenische Zubereitungen vorgesehen sind. Darüber hinaus wurde auf die bisher ungelöste Tatsache hingewiesen, daß die Streuung bei der Testung von Galenika geringer ist als bei der von Reinsubstanzen.

G. HILDEBRANDT, Karlsruhe: *Toxizitätssteigerung von Digitalis-Glykosiden und ihre Beziehungen zur Digitalis-Standardisierung.*

Verschiedene ubiquitäre Pflanzeninhaltsstoffe, z. B. besonders Gerbstoffe, können im Tierexperiment bei parenteraler Applikation die Toxizität von gleichzeitig zugeführten Digitalis-Glykosiden bis über 100 % steigern. Sie bedingen die Auslösung einer sogenannten anaphylaktoiden Reaktion bei Meerschweinchen, Ratte und Maus, deren Symptome dem anaphylaktischen Schock ähnlich sind, aber schon bei der 1. Injektion, also ohne vorherige Sensibilisierung auftreten. Als einführendes Symptom wurde primäres Herzversagen mit Dilatation beobachtet. Da die anaphylak-