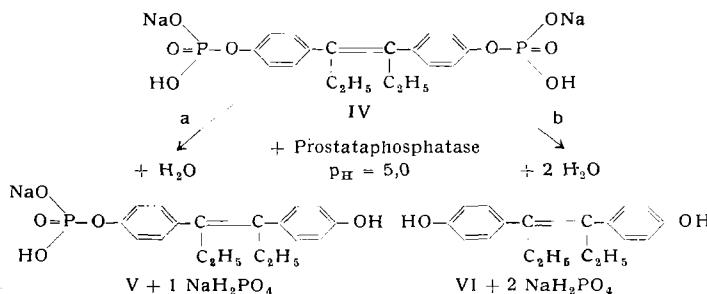


Der semipolar gebundene Sauerstoff wird also über eine Intermediärstufe hinweg mit der Methyl-Gruppe in I und mit der Äthyl-Gruppe in II als Aldehyd eliminiert. Bis-(β-chloräthyl)-amin (III) konnte als sekundäres Amin nachgewiesen werden. Seine Reinisolierung war infolge leichter Hydrolysierbarkeit der Chlor-Atome noch nicht möglich. Bei längerem Stehen der Reaktionslösung wird II noch weiter aufgespalten, wobei weiterer Formaldehyd entsteht. Die Spaltung des Stilböstrol-diphosphates (IV) durch die Prostata-phosphatase verläuft doppelsinnig:



Während hierbei hauptsächlich freies Stilböstrol VI gebildet wird, konnte bei *in-vitro*-Untersuchungen auch das Produkt der halbseitigen Dephosphorylierung, das Stilböstrol-monophosphat V, als Nebenprodukt nachgewiesen werden. V ließ sich synthetisch rein herstellen und wird selbst durch die Prostata-phosphatase nicht zu VI gespalten. Es kann somit nicht als Intermediärstufe dieses enzymatischen Abbaus fungieren. Das Stilböstrol-monophosphat bewirkt eine Hemmung der Prostata-phosphatase, indem es, wie quantitative Untersuchungen zeigen, das Eiweiß des Enzyms angreift. Durch Zusatz von Normalserum kann dieser Hemmeffekt von V aufgehoben werden. Die starke Reaktionsfähigkeit von V mit Eiweiß wird dadurch nachgewiesen, daß es im Papierchromatogramm nicht wandert, wenn die Bezugslösung Serum enthält. Demnach kommt bei der Therapie von Prostatacarcinom mit IV bei der Phosphatase-Spaltung im Tumor und in den Metastasen neben Stilböstrol VI auch das Stilböstrol-monophosphat V als cytostatische Wirkform in Frage. [VB 961]

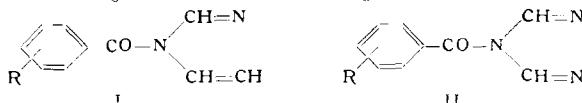
### Chemische Gesellschaft Heidelberg und Max-Planck-Institut für medizinische Forschung Heidelberg

am 8. Juli 1957

H. A. STAAB, Heidelberg: Über reaktionsfähige heterocyclische Säureamide (Azolide).

Frühere Arbeiten des Vortr., in denen über die Darstellung reaktionsfähiger N-Acyl-Derivate des Imidazols, 1,2,4-Triazols und Tetrazols und die Reaktionskinetik ihrer Hydrolyse und Aminolyse berichtet worden war<sup>1</sup>), wurden ergänzt durch kinetische Untersuchungen der N-Acyl-Derivate in der Reihe Indol/Benzimidazol/Benztriazol. Die Reaktionsgeschwindigkeiten sind in Übereinstimmung mit theoretischen Berechnungen bei den Benzol-Homologen geringer als bei den entspr. monocyclischen Verbindungen mit gleicher Anzahl von Ring-Stickstoffatomen; doch werden die N-Acyl-Derivate des Benzimidazols und Benztriazols ebenfalls schon bei Zimmertemperatur durch Leitfähigkeitswasser hydrolysiert. Wie früher auch in der monocyclischen Reihe beobachtet wurde, findet man gleichsinnig mit der Steigerung der Reaktionsfähigkeit bei zunehmender Zahl der Ring-Stickstoffatome auch in der benzolhomologen Reihe eine kurzwellige Verschiebung der Carbonyl-Valenzschwingungsbande.

Eine größere Anzahl substituierter aromatischer Imidazolide (I) und Triazolide (II) wurde dargestellt. Die kinetische Untersuchung der Hydrolyse und Aminolyse dieser Verbindungen ergab, daß sich die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeiten von der Art und der Stellung des Substituenten R mit Hilfe der Hammett-Gleichung beschreiben läßt. Die Ergebnisse wurden hinsicht-



<sup>1)</sup> H. A. Staab, Chem. Ber. 89, 1927, 2089 [1956]; diese Ztschr. 68, 616 [1956].

lich des Einflusses der Substituenten auf die Elektronenverteilung im aromatischen Ring und im Bereich der Carbonyl-Gruppe diskutiert. Die Reaktionskonstanten  $\varphi$  wurden für verschiedene Reaktionsbedingungen der Hydrolyse und Aminolyse ermittelt und zur Diskussion der vorliegenden Reaktionsmechanismen benutzt. Zwischen den log k-Werten der Neutralhydrolyse und den Wellenzahlen der Carbonyl-Valenzschwingungsbanden besteht bei den substituierten aromatischen Imidazoliden und Triazoliden in sehr weitgehender Annäherung eine lineare Proportionalitätsbeziehung, mit deren Hilfe die Reaktionsgeschwindigkeiten für eine größere Anzahl dieser Verbindungen aus den IR-Spektren innerhalb der Fehlergrenzen ihrer experimentellen Bestimmung vorhergesagt werden konnten.

Neben dem N,N'-Carbonyl-di-imidazol<sup>2</sup>) wurde nun auch das hoch reaktionsfähiger N,N'-Carbonyl-di-triazol erhalten. Beide Verbindungen lassen sich mit Vorteil an Stelle von Phosgen zur präparativen Darstellung von Harnstoff-Derivaten und Kohlensäureestern sowie besonders zur Herstellung von Polyamiden und Polyester der Kohlensäure verwenden. Ferner wurden die Diumidazole und Ditriazole der Terephthalsäure, der Adipinsäure, der Bernsteinsäure und der Fumarsäure dargestellt, die sich in glatter Reaktion mit Aminen zu den Diamiden und mit Hydroxy-Verbindungen zu den Estern der betreffenden Dicarbonsäuren umsetzen ließen. Entsprechend wurden mit Diaminen Polyamide und mit Dihydroxy-Verbindungen Polyester der Dicarbonsäuren erhalten.

Aus Imidazol und Triazol wurden mit Chlorameisensäureestern N-Carbonsäureester der Heteroeylen dargestellt, in denen die Carbonyl-Gruppe ähnlich wie in den N-Acyl-Derivaten der Heterocyclen so aktiviert ist, daß diese Verbindungen zur Übertragung der Carbonester-Gruppe geeignet sind: mit Aminen erhält man Urethane, mit Hydroxy-Verbindungen Kohlensäureester. Ähnlich reaktionsfähig sind die N-Carbonsäureamide des Imidazols und Triazols, die mit Aminen zu Harnstoffen und mit Hydroxy-Verbindungen zu Urethanen reagieren. [VB 952]

### GDCh-Ortsverband Freiburg/Br.

am 5. Juli 1957

HERMANN E. SCHULTZE, Marburg/L.: Chemie und Biologie wenig bekannter Plasma-Proteine.

Albumin besteht nur aus Aminosäuren. Globuline enthalten unterschiedliche Mengen Kohlenhydrate. Die Lipoproteine des menschlichen Serums ( $\alpha_2$ -Lipoprotein = 93 %,  $\beta$ -Lipoprotein = 7 %,  $\alpha_1$ -Lipoprotein = 53 %) enthalten nur sehr wenig gebundenes Kohlenhydrat. Daß der Gehalt an freien höheren Fettsäuren die elektrophoretische Beweglichkeit von Lipoproteinen stark zu beeinflussen vermag, zeigen immuno-elektrophoretische Untersuchungen von lipase-behandeltem Humanserum. Der Heparin-Clearingfaktor hat eine der Lipase entsprechende Wirkung. Im Gegensatz zum Heparin bildet Oleinat eine bei  $p_H$  8 beständige Verbindung mit Albumin, die in der frei beweglichen Elektrophorese und durch Immunpräzipitation im Agar-Gel zu erkennen ist. Die bei bestimmten Krankheiten erhöhten Lipoproteine stehen in einem Stoffaustausch mit den Lipoid-Ablagerungen der Gewebe (lipoidmobilisierender Faktor).

Gleiches gilt für die Glykoproteine und Mucoide des Plasmas, deren einzige stets gemeinsam vorkommende Kohlenhydrat-Bausteine: Galaktose, Mannose, Acetyl-hexosamin, Fucose und Acetyl-neuraminsäure auch in der Grundsubstanz des Bindegewebes wie im Epithelzellenschleim vorkommen. Das  $\alpha_1$ -Seromucoid (40 % Kohlenhydrat-Gehalt), die Haptoglobine, mit Einschränkungen auch Coeruloplasmin und wahrscheinlich noch andere bisher nicht definierbare  $\alpha$ -Globuline zeichnen sich durch sehr schnelle, offenbar reizabhängige Bildung aus. Sie sind unter bestimmten Voraussetzungen gemeinsam im Serum erhöht. Die ebenso kohlenhydrat-reichen Plasmaproteine: Prothrombin, Cholinesterase und verschiedene Proteohormone unterliegen speziellen Bildungsmechanismen.

Die kohlenhydrat-reichen  $\gamma$ -Makroglobuline und ihre hochmolekularen, bei bestimmten Krankheiten vermehrt auftretenden immunologischen Verwandten enthalten wie die niedermolekularen, kohlenhydrat-armen  $\gamma$ -Globuline relativ sehr viel mehr Fucose als die  $\alpha$ -Globuline. Diese Gruppe „normaler  $\gamma$ -Globuline“ läßt sich in der Tiselius-Apparatur in viele Unterfraktionen aufteilen, deren Beweglichkeit vom Gesamtkohlenhydrat, hauptsächlich von der stark negativen Neuraminsäure abhängt. Bei manchen Krankheiten, bes. bei Einwirkung von Antigenen, werden die schneller wandernden kohlenhydrat-reicheren  $\gamma$ -Globuline ( $\beta_2$ , T-,  $\gamma_1$ -Komponenten) vermehrt gebildet. Behandeln mit Neuraminidase (Receptor destroying enzyme von Viren oder Bakterien) oder durch schwach saure Hydrolyse wird die elektrophoretische Beweglich-

<sup>2)</sup> H. A. Staab, diese Ztschr. 68, 754 [1956].

Proteinkomponente	He-xosen %	Fu-cose %	Hexosamin %	Neu-ramin-säure %	Stick-stoff %	Poly-peptid %	Sediment.-konst.	Mol.-gewicht
$\alpha_1$ -Seromucoid	16,4		11,9		10,1		3,11	44100
$\alpha_1$ -Seromucoid	17,2		11,5		10,7	66	3,50	44000
$\alpha_1$ -Seromucoid	14,1		11,5	10,0				
$\alpha_1$ -Seromucoid	14,6	0,7	11,2	11,0	10,1	62	3,2	41000
$\alpha_1$ -Seromucoid (Rind)	11,8		8,3	10,4	10,4	66	2,9	42000
Fetuin	9,5		8,0		13,9		2,86	45000
Fetuin	5,3		9,9	6,0	12,4			
Plasma-Cholin-esterasefraktion	11,1						5; 8; 10; 14	(300000)
Prothrombin (Rind)	4,6	0,09	2,3	4,2			4,6	
Prothrombin (Rind)	6,5		1,57-1,68		14,7			62700
Thrombin (Rind)	3,5	0,07	2,2	3,9			3,8	
Coeruloplasmin							4,2; 7,2; 17,8	151000
Coeruloplasmin	3,0	0,18	1,9	2,0	14,4	89	7,1	150000
Haptoglobine								
HP I (Harn)	11,3		5,7	4,5	12,9	83	4,3	85000
HP II (Serum)	11,3		5,7		12,9	83		170000
$\alpha_2$ -Seromucoid	5,0		3,5	7,0	12,6	80	2,6	
$\alpha_2$ -Glykoprotein	5,3		3,8			98	16,3	
$\alpha_2$ -Makroglobulin	3,6	0,12	2,2	1,8	14,8	92	19,4	846000
$\gamma_1$ -Makroglobulin	5,20	0,62	2,90	1,70	14,47		19	

Tabelle 1

Chemische und physikalisch-chemische Eigenschaften kohlenhydratreicher Plasma-Proteine

keit der neuraminsäure-haltigen Plasmaproteine beachtlich vermindert, ohne daß die immunologische Spezifität wesentlich beeinträchtigt würde.

### Chemisch-technologisches Seminar des Chemischen Laboratoriums Freiburg

am 6. Juli 1957

HERMANN E. SCHULTZE, Marburg/L.: Über Probleme der Eiweißfraktionierung bei Berücksichtigung neuartiger Reinheitsbestimmungen.

Menschliches Plasma enthält über 100 Proteine, von denen nur die mengenmäßig überwiegenden (etwa 18) mit definierbarem Reinheitsgrad isoliert wurden. Empfindliche biologische Teste erlaubten aber den Nachweis von etwa 20 frei vorkommenden Enzymen, mehrerer Proteohormone, etwa 30 erworbener Antikörper und 20 natürlicher Inhibitoren, ferner gebundener Wirkstoffe mit Eiweißnatur. Zu ihnen gehören etwa 10 Plasmafaktoren, die zur Blutgerinnung (Thrombin-Bildung) notwendig sind.

Die zur Fraktionierung am häufigsten angewandten Fällungsverfahren (Neutralsalze, Alkohol und Äther) sind aussichtsreich, wenn der amphoteren Natur der Proteine und ihrer Ladung bei der stufenweisen Herabsetzung ihrer Löslichkeit Rechnung getragen wird. Die Elektrodialyse ist geeignet zur Abscheidung wasserunlöslicher Proteine. Manche Proteine werden spezifisch von  $\text{Al}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  oder  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ -Gel (Tiselius) bei bestimmtem  $\text{pH}$  und bestimmter Ionenstärke gebunden. Zur Proteinreinigung bewährte sich die Adsorption an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{BaSO}_4$ , Kaolin, Kieselgur, Silicagel und Ionenaustauschern (Säulenchromatographie). In Einzelfällen (Coeruloplasmin) ist das Abtrennen von Verunreinigungen mit Alkohol und Chloroform zweckmäßig.

Extrem hochmolekulare Proteine (Properdin, Makroglobuline) lassen sich mit der Ultrazentrifuge abscheiden, die bei Einstellung der Proteinlösung auf bestimmte Dichtegrade auch die Trennung der Lipoproteine durch Flotation ermöglicht. Auch durch Zonen-elektrophorese im Stärke- oder Polyvinylchloridblock isoliert man Lipoproteine. Zur  $\gamma$ -Globulin-Fraktionierung wird die Verteilungs-Chromatographie herangezogen (Porter).

Zur Definition des Reinheitsgrades sind Untersuchungen in der Ultrazentrifuge und in der Tiselius-Elektrophoreseapparatur bedingt geeignet; immunchemische Verfahren zeigen kleine Mengen von Begleitproteinen mit viel größerer Empfindlichkeit an. Von erheblicher Bedeutung ist der Nachweis von verunreinigenden Proteinspuren mit Hilfe wirksamer Antikörper im Gel-Diffusions-test (Ouchterlony) oder mit der Immunoelektrophorese (Grabar). Diese Verfahren zeigen auch Enzymeinwirkungen und durch äußere Einflüsse bewirkte Änderungen der Teilchengröße. Schwierigkeiten bereitet die Charakterisierung der  $\alpha_1$ -Globuline mit extrem hoher Wasserlöslichkeit. Neuerdings werden zunehmend rein chemische Methoden (Analyse von Aminosäuren-, Kohlenhydrat- und Lipoidbausteinen) zur Charakterisierung des Reinheitsgrades herangezogen. Das  $\beta_1$ -metallbindende Globulin (Transferrin, Sidero-

philin) ist durch eine N-endständige, bei anderen Plasmaprotein noch nicht angetroffene Valin-Gruppe gekennzeichnet. [VB 958]

### GDCh-Ortsverband Freiburg/Brsg. am 12. Juli 1957

ELVIN A. KABAT, New York: Immunchemische Studien an Dextranen und Blutgruppen-Substanzen.

Das System Dextran/menschliches Antidextran, in dem das Antigen ein ausschließlich aus Glucose in vorwiegend  $\alpha$ -1,6-Bindung bestehendes Polysaccharid ist, wurde verwendet, um Auskunft über die Größe der Bindungsstelle im Antikörper zu erhalten. Durch eine Modifikation der Landsteinerschen Technik der Haptenthalmung, wobei die Bestimmungen mit Hilfe der mikroquantitativen Praeincipitmethode der Heidelberger Schule ausgeführt wurden, und durch Verwendung einer Serie von Isomaltose-Oligosacchariden zur Hemmung der Dextran-Antidextran Praeincipitreaktion konnte gezeigt werden, daß die Bindungsstelle im Antidextran komplementär ist zu einer Kette von ungefähr sechs Glucose-Einheiten in  $\alpha$ -1,6-Bindung. Die Bindungsstellen der Antikörper sind jedoch nicht einheitlich, sondern variieren etwas in Bezug auf die Größe des zu ihnen komplementären Antigenteiles.

Diese Technik der Oligosaccharid-Hemmung kann umgekehrt verwendet werden, um Aufschlüsse über die an homologen Polysaccharid-Antikörper Reaktionen beteiligten Strukturen zu erhalten, bei denen die Struktur der reaktiven Gruppe des Antigens nicht bekannt ist. Der durch Messung der relativen Hemmungsfähigkeit verschiedener Oligosaccharide bekannter Struktur ermittelte wirksamste Inhibitor ist im allgemeinen der reaktiven Gruppe des Antigens strukturell am ähnlichsten. Die Anwendung dieses Verfahrens zur Rekonstruktion eines Teiles der Oligosaccharid-Einheiten, die für die Spezifität der Blutgruppen A und B verantwortlich sind, wird beschrieben. Außerdem wird die Verwendung dieser Technik beim Studium verschiedener Kreuzreaktionen gezeigt.

[VB 945]

### Münchener Chemische Gesellschaft

am 25. Juni 1957

H. ZOLLINGER, Basel: Kinetische Wasserstoffisotopeneffekte und der Mechanismus der Azokupplung.

Kinetische Wasserstoffisotopeneffekte ermöglichen einen vertieften Einblick in den Mechanismus der Azokupplung<sup>1</sup>). Allgemein treten solche Effekte bei elektrophilen aromatischen Substitutionen immer dann auf, wenn die erste Reaktionsstufe (Anlagerung des elektrophilen Reagens) reversibel ist, so daß der Gesamt vorgang — trotz an sich sehr rascher Protonabspaltung — basenkatalysiert ist. Diese Erkenntnisse ermöglichen die Auffindung anderer Substitutionen mit Isotopeneffekten (z. B. Bromierung von Naphthalin-Derivaten).

Eingehend wird über die Abhängigkeit des o/p-Kupplungsverhältnisses von  $\alpha$ -Naphthol-Derivaten, besonders 1-Naphthol-3-sulfosäure berichtet. Durch geeignete Wahl von Art und Konzentration der Puffer kann dieses Verhältnis in weiten Grenzen variiert werden, ohne daß die Reaktionsbedingungen im übrigen geändert werden müßten (z. B. bei der Kupplung mit o-Nitro-diazobenzol: o/p-Werte von 93:6 bis 40:60).

Diese Resultate zeigen, daß neben den sterischen und polaren Effekten der beiden Reaktionspartner, welche nach Ingold sowie H. C. Brown und Nelson (1955) für die Orientierung bei der elektrophilen aromatischen Substitution verantwortlich sind, unter gewissen Bedingungen der basischen Charakter des Reaktionsmediums für das Isomerenverhältnis mitbestimmend sein kann.

Bei der quantitativen Auswertung der katalytischen Wirkung verschiedener Basenpartikel wurde gefunden, daß die Wasserstoffmolekül als Base bei Naphthol-Kupplungen eine viel größere Wirkung in o-Stellung hat. Dies kann durch einen Vielzentrenprozeß im Sinne von C. G. Swain erklärt werden: Das zu substituierende Wasserstoff-Atom in o-Stellung zum Naphtholat-Sauerstoff wird an eine Wassermolekül abgegeben, das über eine H-Brücke an den Naphtholat-Sauerstoff gebunden ist. Gleichzeitig mit diesem Protonenübergang tritt ein Wasser-H-Atom an den Sauerstoff.

[VB 962]

<sup>1</sup>) H. Zollinger, Helv. chim. Acta 38, 1597, 1617, 1623 [1955].