

auch an eine Hemmung der Triosephosphat-Dehydrierung durch Inaktivierung des Enzymproteins zu denken gewesen. Die in Tab. 2 dargestellten Versuche demonstrieren jedoch, daß die H_2O_2 -Konzentrationen bei intakten Zellen eine nur geringfügige Hemmung der Triosephosphat-Dehydrogenase-Aktivität bewirken, die nicht zur Erklärung der Glykolyse-Hemmung ausreicht. Wiederum besteht völlige Analogie zu den carcinostatisch wirksamen Äthylenimmin-Verbindungen, die zwar *in vitro* Triosephosphat-Dehydrogenase hemmen⁶), jedoch *in vivo* die Enzymaktivität nur wenig beeinflussen und die Glykolyse-Hemmung durch Senkung des DPN-Spiegels bewirken^{3, 7}). Im Gegensatz dazu über Glykolyse-Hemmstoffe wie Jodessigsäure auf die DPN-Konzentration keinen Einfluß aus und hemmen die Glykolyse durch Inaktivierung des Enzyms Triosephosphat-Dehydrogenase³) (s. Tab. 2).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß H_2O_2 ein Absinken der DPN-Konzentration in Ascitustumorzellen verursacht und dadurch die Triosephosphat-Dehydrierung und damit die Glykolyse hemmt. Bei Zusatz von Nicotinsäureamid bleiben diese Wirkungen des H_2O_2 aus. Eingegangen am 29. August 1958 [Z 667]

- ¹⁾ O. Warburg, W. Schröder, H. Gewitz u. W. Völker, Naturwissenschaften 45, 192 [1958]; vgl. diese Ztschr. 70, 324 [1958]. — ²⁾ H. Maass u. G. H. Rathgen, Strahlentherapie 103, 668 [1957]. — ³⁾ H. Holzer, P. Glogner u. G. Sedlmayr, Biochem. Z. 330, 59 [1958]. — ⁴⁾ H. Holzer u. H. Kröger, Klin. Wschr. 36, 677 [1958]. — ⁵⁾ G. Beisenherz, H. J. Boltze, Th. Bücher, R. Czok, K. H. Garbade, E. Meyer-Arendt u. G. Pfleiderer, Z. Naturforsch. 8b, 555 [1953]. — ⁶⁾ H. Holzer, Die Medizinische 1956, 576. — ⁷⁾ I. M. Roitt, Biochem. J. 63, 300 [1956].

N-Oxyde der Adenosin-phosphate

Von Dr. F. CRAMER und Dr. K. RANDERATH

Chemisches Institut der Universität Heidelberg

Nach G. B. Brown¹⁾ kann man Adenin und Adenosin mit Hydrogenperoxyd in Eisessig in die entsprechenden 1-N-Oxyde überführen. Diese Reaktion gelingt auch in schwach saurer, wäßriger Lösung (pH 4) und kann dann auf Adenosin-5'-monophosphat (AMP), -diphosphat (ADP) und -triphosphat (ATP) übertragen werden. Man erhält so unter schonenden Bedingungen und in guten Ausbeuten AMP-1-N-oxyd (λ_{max} 232 $m\mu$, R_f 0,37²), ADP-1-N-oxyd (λ_{max} 232 $m\mu$, R_f 0,12) und ATP-1-N-oxyd (λ_{max} 233 $m\mu$, R_f 0,04). Wir prüfen gegenwärtig, ob der Nucleotid-Rest des ADP-N-oxydes durch Polynucleotid-Phosphorylase³) in Polynucleotide eingebaut wird.

ADP-1-N-oxyd: 200 mg ADP-Na₃ werden in 10 ccm Wasser gelöst und je 1 ccm 2 n Essigsäure und 30 proz. Hydrogenperoxyd hinzugefügt. Die Lösung wird mit etwas Na-acetat auf pH 4 gepuffert und 4 Tage bei 20 °C belassen. Dann wird in der üblichen Weise wie auf ADP aufgearbeitet und das ADP-N-oxyd isoliert.

Eingegangen am 11. August 1958 [Z 662]

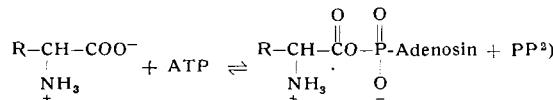
- ¹⁾ M. A. Stevens, D. I. Magrath, H. W. Smith u. G. B. Brown, J. Amer. chem. Soc. 80, 2755 [1958]; M. A. Stevens u. G. B. Brown, ebenda 80, 2759 [1958]. — ²⁾ R_f -Werte in Isopropanol(60)-1 proz. wässr. Ammoniumsulfat(40), aufsteigend. — ³⁾ M. Grunberg-Manago, P. J. Ortiz u. S. Ochoa, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 20, 269 [1956].

Synthese von Aminosäure-Adenylsäure-Anhydriden*)

Von Dr. R. LAMBERT, Ass. Prof. Dr. F. ZILLIKEN und Prof. Dr. S. GURIN

Department of Biochemistry, University of Pennsylvania, Philadelphia/USA

Gemischte Anhydride von L- α -Aminosäuren und 5'-Mononucleotiden, die als erste Stufe in der biologischen Aktivierung von Aminosäuren wahrscheinlich gemacht wurden¹⁾, sind bisher



in geringer Ausbeute und wechselndem Reinheitsgrad aus den α -Aminosäurechloriden und dem Disilbersalz des AMP³) oder aus den freien Aminosäuren und Adenylsäure mit Hilfe des Khoranaschen Reagens dargestellt worden⁴⁾). Die Synthese von L-Leucyladenylat aus α -Acidoisocaproyladenylat ist kürzlich angedeutet⁵) und daraufhin beschrieben⁶⁾ worden. Eine jüngst erschienene Mitteilung über die Synthese dieser energiereichen Anhydride aus den Carboxy-Verbindungen⁷⁾ veranlaßt uns, schon jetzt über unsere Ergebnisse zu berichten.

Die N-Cbz-Aminosäuren wurden in wässrigem Pyridin mit Khoranaschem Reagens mit einem 5'-Mononucleotid bei 0 °C zur Reaktion gebracht. Die so erhaltenen Cbz-aminoäure-adenylate

ließen sich in saurer Lösung bei 0 °C mit dem von R. Kuhn⁸⁾ für die Halbhydrierung von N-substituierten Amino-zucker-nitrilen vorgeschlagenen Katalysator glatt und unter Erhaltung der Anhydrid-Bindung in die Monochlorhydrate der freien Aminoäure-adenylate verwandeln. Das in 90 proz. Reinheit anfallende Hydrierungsprodukt enthält, offenbar durch Eigenzerfall, wenig AMP und Aminosäure. Zur chemischen Charakterisierung dienen die nachfolgenden Kriterien: 1. Kathodische Wanderung bei pH 1,9, Stillstand bei pH 6,8 im Elektropherogramm. In neutraler Lösung trotz starker Kühlung rascher Zerfall. 2. Mit Hydroxylamin spontane Bildung von Hydroxamsäuren. 3. Unveränderte Amino-Gruppe in 6-Stellung des Purin-Anteils an Hand des UV-Spektrums. 4. Periodatverbrauch (1 mol JO_4^- /1 mol Adenylat) zwecks Ausschluß weiterer Substitution im Riboseanteil. 5. Gesamtphosphor-Bestimmungen.

347 mg AMP (1 mMol) und 2,51 g N-Cbz-D,L-Valin (10 mMol) werden in 4,0 ccm Pyridin und 1,2 ccm Wasser gelöst, auf 0 °C gekühlt und unter beständigem Rühren mit einer auf 0 °C vorgekühlten Lösung von 1,03 g (5 mMol) N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid in 3 ccm Pyridin versetzt. Nach 45 min wird mit Eiswasser auf 25 °C verdünnt und nach weiteren 5 min der N,N'-Dicyclohexylharnstoff rasch in der Kälte abgesaugt. Das klare Filtrat wird fünfmal mit dem doppelten Volumen Äther bei 0 °C extrahiert. Die gegen Ende der Extraktion leicht trübe, wässrige Phase wird sodann der Gefriertrocknung unterworfen. Ausbeute: 531 mg (91 % d.Th.) eines farblosen, amorphen Pulvers, welches frei von Cbz-Aminosäuren ist, aber noch etwa 2,5 % AMP und eine geringe Menge des symmetrischen Dinucleotides der Adenylysäure enthält. Das Cbz-aminoäure-adenylat wandert im Elektropherogramm bei pH 6,8 zur Anode, etwa halb soweit wie AMP unter gleichen Bedingungen.

300 mg frisches Palladium-oxyd-hydryat/Bariumsulfat werden in 5 ccm 50 proz. Äthanol für 40 min bei Zimmertemperatur vorhydriert. Alsdann werden 150 mg N-Cbz-D,L-Valin-Adenylat in 10 ccm 50 proz. Äthanol und 0,6 mMol konz. Salzsäure gelöst. Die Lösung wird zum vorhydrierten Katalysator gegeben, auf 0 °C gekühlt und bei Normaldruck 10–15 min unter Schütteln hydriert. Nach Abzentrifugieren des Katalysators in der Kälte wird das Adenylat mit dem zehnfachen Volumen kaltem Acetons ausgefällt, aus 10 ccm kaltem 50 proz. Äthanol mit Aceton umgefällt, mit abs. Äther gewaschen und über P_2O_5 bei 0,1 Torr bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute: 92 mg (73 % d.Th.); P gefunden 6,41 %, berechnet 6,28 %. Periodat-Verbrauch: 0,92 Mol, berechnet: 1,0 Mol. Das UV-Spektrum war identisch mit demjenigen des AMP (λ_{max} 257 $m\mu$ pH 1,0 und λ_{max} 259 $m\mu$ pH 11). Das Präparat enthält etwas weniger als 3,3 % freies AMP. Die Hydroxamsäure-Bildung betrug 0,92 mMol per mMol Valin-Adenylat. Die Substanz enthält 7,60 % Cl, berechnet für das Monochlorhydrat 7,39 %.

Ebenso wurden die Cbz-Aminosäure-Adenylate sowie die freien Aminosäure-Adenylate des Glycins, des D-Valins und der nachfolgenden D,L-Aminosäuren dargestellt: Alanin, Phenylalanin, Tryptophan, Leucin, Lysin und Asparagin. An Abweichungen sind erwähnenswert: kürzere Reaktionszeit (25 min) zur Darstellung von Cbz-Alanin-Adenylat, -Lysin-Adenylat und -Tryptophan-Adenylat und ein Lösungsmittelverhältnis von Pyridin:Wasser = 6:1,2 pro mMol AMP. Cbz-Tryptophan wurde in Tetrahydrofuran/Wasser (2:3) hydriert. Im Falle des D-Valin-Adenylates haben wir uns vergewissert, daß im Laufe der Synthese keine Racemisierung eingetreten ist. $[\alpha]_D = -22,0^\circ$ ($c = 2,5$; 20 % HCl).

Eingegangen am 22. Juli 1958 [Z 655]

- * Kurze Originalmitteilung, die anderwärts nicht mehr veröffentlicht wird. — Die Untersuchungen wurden ausgeführt mit Mitteln der National Science Foundation. — ¹⁾ M. B. Hoagland, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 16, 288 [1955]. — ²⁾ Abkürzungen: ATP = 5'-Adenosin-triphosphat; AMP = 5'-Adenosin-monophosphat; PP = Pyrophosphat; Cbz = Carbobenzoxy. — ³⁾ J. A. De Moss, S. M. Genuth u. G. D. Novelli, Proc. nat. Acad. Sci. USA 42, 325 [1956]. — ⁴⁾ P. Berg, Fed. Proc. 16, 152 [1957]. — ⁵⁾ Th. Wieland, diese Ztschr. 70, 81 [1958]. — ⁶⁾ Th. Wieland, F. Jaenicke, H. Merz u. M. Ossorio, Liebigs Ann. Chem. 613, 95 [1958]. — ⁷⁾ M. A. Karasek, P. Castelfranco, K. Moldave u. A. Meister, Fed. Proc. 17, 996 [1958]; P. Castelfranco, K. Moldave u. A. Meister, J. Amer. chem. Soc. 80, 2335 [1958]. — ⁸⁾ R. Kuhn u. H. J. Haas, diese Ztschr. 67, 785 [1955].

Reaktionen des Pyrimidins

Von Prof. Dr. H. BREDERECK, Dr. R. GOMPPER und Dipl.-Chem. H. HERLINGER

Institut für Organische Chemie und Organisch-chemische Technologie der T. H. Stuttgart

Acetale des Malondialdehyds (z. B. 1-Methoxy-1,3,3-triäthoxypropan) geben mit Formamid in guter Ausbeute Pyrimidin¹). Wir konnten aus dieser Reaktion durch Anwendung heterogener Katalyse ein kontinuierliches Verfahren entwickeln.

Pyrimidin addiert bereits bei Raumtemperatur Phenylmagnesiumbromid in 3,4-Stellung. Anschließende Hydrolyse und Oxydation (mit KMnO₄) liefert 4-Phenylpyrimidin. Noch leichter (bei –20 bis –30 °C) werden lithium-organische Verbindungen addiert, z. B.:

