

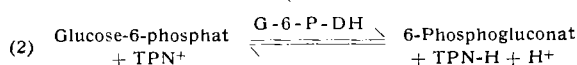
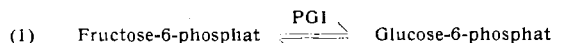
Kristallisation von Phosphoglucose-Isomerase aus Hefe

Von H. KLOTZSCH und Dr. H.-U. BERGMAYER

Biochemische Abteilung Tübingen
der Firma C. F. Boehringer & Söhne GmbH., Mannheim

Nollmann und Bruns¹⁾ berichteten über die Reindarstellung aus Bierhefe und die Eigenschaften der 1933 von Lohmann²⁾ entdeckten Phosphoglucose-Isomerase. Sie konnten jedoch das Enzym nicht kristallin erhalten.

Es ist uns gelungen, Phosphoglucose-Isomerase aus getrockneter Bäckerhefe kristallisiert wie folgt zu gewinnen: Aufschluß der Trockenhefe mit Kaliumphosphat-Puffer, Fraktionierung des Extraktes mit Ammoniumsulfat, Adsorption von Fremdeiweiß an Calciumphosphat-Gel, Ammoniumsulfat-Fraktionierung bei $pH=4,5$, Aceton-Fällung und mehrfache Kristallisation aus Ammoniumsulfat-Lösung. Die Kristalle bestehen aus feinen Nadeln von ca. 4μ Länge und etwa $0,2 \mu$ Dicke. In der gekoppelten Reaktion



(PGI = Phosphoglucose-Isomerase; TPN bzw. TPN-H = oxydiertes bzw. reduziertes Triphosphopyridinnucleotid; G-6-P-DH = Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase).

setzt das kristallisierte Enzym ca. $390 \mu\text{Mol}$ Fructose-6-phosphat/min-mg Protein um. (25°C ; $0,05 \text{ M}$ Triäthanolamin-Puffer $pH=7,6$). Verunreinigungen wie Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase, Phosphogluco-Mutase, Phosphofructo-Kinase, Glutathion-Reduktase und TPNH-Oxydase waren nicht mehr nachweisbar.

Eingegangen am 17. Oktober 1960 [Z 1]

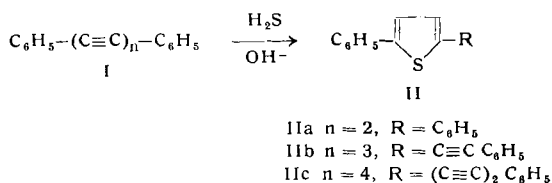
¹⁾ E. Nollmann u. F. H. Bruns, Biochem. Z. 331, 436 [1959]. — ²⁾ K. Lohmann, Biochem. Z. 262, 137 [1933].

Thiophen-Derivate aus Polyacetylenen

Von Prof. Dr. K. E. SCHULTE, Dr. J. REISCH
und Dipl.-Chem. L. HÖRNER

Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität
Münster/Westf.

Aus Diphenyl-polyinen (I, $n=2, 3, 4$) entstehen bei der Sättigung ihrer auf $50-60^\circ\text{C}$ erwärmten Lösungen in Alkohol/n NaOH oder Aceton/n NaOH ($pH=9-10$) mit Schwefelwasserstoff in $60-80\%$ Ausbeute Thiophen-Derivate (II)



Aus dem 1,4-Diphenyl-butadiin¹⁾ wurde das 2,5-Diphenylthiophen²⁾ (IIa) erhalten, $F_p 152^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{max}} 328 \text{ m}\mu$. Das 1,6-Diphenyl-hexatriin³⁾ ließ sich so in das 2-Phenyl-5-phenyläthylthiophen (IIb) $F_p 114-116^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{max}} 332, 251 \text{ m}\mu$ und das 1,8-Diphenyl-oktatetraen³⁾ in das 2-Phenyl-5[4'-phenylbutadiinyl-(1')]-thiophen (IIc), $F_p 138-140^\circ\text{C}$; $\lambda_{\text{max}} 348, 285, 266 \text{ m}\mu$ überführen. Bei der letztgenannten Umsetzung entsteht kein 5,5'-Diphenyl-2,2'-dithienyl.

Eingegangen am 20. Oktober 1960 [Z 6]

¹⁾ DAS 1015788 Kl. 120 vom 13. 11. 1954 ref. C. 1958, 11952. — ²⁾ H. Böhme, H. Pfeifer u. E. Schneider, Ber. dtsch. chem. Ges. 75, 900 [1942]. — ³⁾ H. H. Schlubach u. V. Franzen, Liebigs Ann. Chem. 572, 116 [1951].

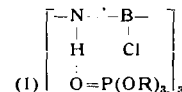
Reaktion von B-Trichlor-borazolen mit Phosphorsäure-alkylestern

Von Dr. K. NIEDENZU und Dr. J. W. DAWSON

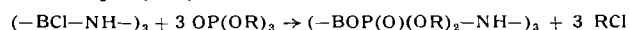
Department of Chemistry, Duke University, and Office of
Ordnance Research, U.S. Army, Durham, North Carolina, USA

Wir untersuchten die Reaktion von B-Trichlorborazol mit Phosphorsäurealkylestern. Bei normalen Temperaturen entstehen zunächst stöchiometrische Additionsprodukte. Wie IR-Untersuchungen ergaben, bildet in diesen der N-ständige Wasser-

stoff eine Wasserstoff-Brückenbindung zu dem Sauerstoff des Phosphorsäure-esters (I). Dies zeigt eine gewisse Elektronensättigung des Bors in den Borazolen im Sinne der konventionellen Formulierung dieses Ringsystems; denn im Gegensatz zu obiger Beobachtung besteht etwa in den Komplexen von Bortrichlorid mit Phosphorsäure-estern eine koordinative $B \leftarrow O$ -Bindung.



Die Additionsprodukte aus B-Trichlorborazol mit Phosphorsäurealkylestern spalten beim Erhitzen im organischen Lösungsmittel auf Temperaturen über 100°C Halogenalkyl ab und es entstehen B-phosphorylierte Borazole:



N-Alkylierte und -arylierte Trichlorborazole sind der gleichen Reaktion mit Phosphorsäure-alkylestern zugänglich. Spektroskopische Untersuchungen beweisen, daß der Borazol-Ring in den phosphorylierten Verbindungen erhalten ist.

Eingegangen am 18. Oktober 1960 [Z 2]

Cinchomeronsäure, Zwischenprodukt der Nicotinsäure-Biosynthese bei Bakterien

Von Doz. Dr. F. LINGENS

Chemisches Institut der Universität Tübingen,
Biochemische Arbeitsgruppe

Nicotinsäure entsteht im Säugetierorganismus und bei *Neurospora crassa* aus Tryptophan über bekannte Zwischenstufen. Über ihre Biosynthese bei Bakterien ist bis jetzt nur bekannt, daß sie nicht über Tryptophan und seine Folgeprodukte verläuft¹⁾. Bei der Austestung mutmaßlicher Vorprodukte der Nicotinsäure an *Lactobacillus arabinosus* in einem nicotinsäure-freien Medium zeigte bisher nur die Cinchomeronsäure Wachstumswirkung. Da hieraus vermutet werden konnte, daß die Cinchomeronsäure ein echtes Zwischenprodukt ist, wurde sie an einer Reihe von Nicotinsäure-Mangelmutanten von *Escherichia coli* ausgetestet. Ein Teil dieser Mutanten wuchs mit der Säure, der Rest zeigte kein Wachstum. Wenn die nicht wachsenden Mutanten im Schritt des Überganges von Cinchomeronsäure zur Nicotinsäure blockiert sind, sollten sie unter geeigneten Bedingungen Cinchomeronsäure akkumulieren. Tatsächlich konnte aus dem Medium einer Mutante Cinchomeronsäure isoliert und durch Schmelz- und Mischschmelzpunkt (225°C , Zers.), Papierchromatographie (Lösung bei $254 \text{ m}\mu$) und Vergleich der UV-Spektren identifiziert werden.

Frl. S. Kern und Frl. U. Ruess danke ich für eifrige Mitarbeit, dem Fonds der Chemischen Industrie und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Unterstützung dieser Arbeit und den Farbenfabriken Bayer A.G. für die Lieferung von Chemikalien.

Eingegangen am 26. Oktober 1960 [Z 8]

¹⁾ C. Yanofsky in McElroy u. Glass: Amino Acid Metabolism, Johns Hopkins Press, Baltimore 1955, S. 930.

Cytostatische Effekte organischer Persauerstoff-Verbindungen

Von Prof. Dr. G. WEITZEL*, Dr. E. RUDDUCKE
und Dr. FRIEDHELM SCHNEIDER

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Tübingen

Als Teil unserer Untersuchungen¹⁻⁴⁾ über die Inhibitorwirkungen von Zink, Per-Sauerstoff und Alkylierungsmitteln geben wir nachstehend eine Zusammenfassung der cytostatischen Effekte, die wir mit organischen Peroxyhydraten und Peroxyden beobachteten:

1. Organische Peroxyhydrate (z. B. Histidin-, Trigonellin-, Bis-4-pyridyl-glykol-perhydrat usw.) hemmen im manometrischen Test Atmung und anaerobe Glykolyse von Zellen des *Ehrlichschen* Ascitescarcinoms der Maus, wobei Glykolysefermente geschädigt, Fructose-1,6-diphosphat und Triosephosphat angestaut und Diphosphopyridinnucleotid vermindert werden. Der organische Ligand variiert den Effekt bis zu hoher Wirkungssteigerung gegenüber dem schwach wirksamen H_2O_2 . Im Tierversuch sind die — stets katalaseempfindlichen — organischen Peroxyhydrate gegenüber Impftumoren wirkungslos.

2. Organische Peroxyde, von denen wir ca. 60 Verbindungen (Diacyl-peroxyde, Persäure-ester, Alkyl-peroxyde) synthetisierten und prüften, zeigen bei hoher Strukturspezifität im manometrischen Test Wirkungen, die sich bis zum völligen Aktivitätsverlust der Glykolysefermente und Verschwinden des Diphosphopyridinnucleotids erstrecken. Trotz Katalaseresistenz sind im Tierversuch nur einige wirksam, wie z. B. das saure t-Butyl-maleinsäure-

peroxyd gegenüber dem Walker-Carcinosarkom der Ratte. Dieser Effekt beruht nicht auf der Maleinsäurekomponente. Als besonders wirksam erwies sich jedoch das Dihydroxy-dimethylen-peroxyd, das neben hoher in-vitro-Wirkung (Tabelle) auch am Ehrlichen Ascitescarcinom der Maus bis zu 100-proz. Hemmung des Tumorstadiums (Heilung) bewirkt. Auch die Derivate des Dihydroxy-dimethylen-peroxyds zeigen, je nach ihrer Struktur, tumor-hemmende Effekte bei Maus und Ratte.

Tabelle 1. Verhalten von drei organischen Persauerstoff-Verbindungen in cytostatischen Versuchsanordnungen

Versuchsanordnung	Histidin- peroxyhydrat	saures t-Butyl- maleinsäure- peroxyd	Dihydroxy- dimethylen- peroxyd
Inhibitor-Konz. für 50- proz. Glykolysehemmung Ascites-Krebszellen: a) in Puffer-Lsg.: b) in Ggw. v. 50 % Serum c) Hemmeffekt nach Vor- inkubation mit Nicotinamid	5·10 ⁻⁴ m 1·10 ⁻³ m aufhebbar	5·10 ⁻⁴ m 5·10 ⁻⁴ m unverändert	2·10 ⁻⁴ m 5·10 ⁻⁴ m aufhebbar
Einzeleffekte in Ascites- zellen (Inhibitor stets 10 ⁻³ m): Aktivitätsverlust: Aldolase Glycerinaldehyd- phosphatdehydro- genase Milchsäuredehydro- genase Fructosediphosph.-Zun. Triosephosph.-Zunahme DPN-Konzentration	~ 40 % ~ 50 % ~ 10 % 4-6-fach 1-2-fach vermindert	~ 20 % bis 100 % ~ 10 % 30-50-fach 10-15-fach unverändert	~ 30 % bis 100 % ~ 70 % 2-3-fach 2-3-fach unter der Erfassungsgrenze
Verhalten geg. Katalase Carcinolysetest	Zersetzung wirkunglos	resistent mäßig wirksam	resistent hochwirksam

Eingegangen am 10. Oktober 1960 [Z 3]

*) Vorgetragen (G. W.) am 10. Okt. 1960 anlässlich der Tagung für Physiologische Chemie in Zürich. — ¹) G. Weitzel u. W. Schaege, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 316, 250 [1959]. — ²) G. Weitzel, H. König, G. Benwitz u. P. Wahl, ebenda 316, 267 [1959]. — ³) G. Weitzel u. E. Buddecke, ebenda 317, 150 [1959]. — ⁴) G. Weitzel u. E. Buddecke, ebenda, im Druck.

Makromolekulare organische Komplexbildner zur Anreicherung von Uran und Kupfer aus Meerwasser

Von Priv.-Doz. Dr. ERNST BAYER und Dr. H. FIEDLER

Institut für Organische Chemie, T.H. Karlsruhe

Synthetische makromolekulare Komplexbildner¹⁾ mit spezifischen, organischen funktionellen Gruppen sind zur selektiven Anreicherung von Kupfer und Uran aus Meerwasser geeignet. Die aus Dicarboxyl-Verbindungen und Polyaminophenolen sowie aus Polyacrylsäureestern dargestellten, in Korngrößen von 0,2–0,8 mm zubereiteten, in Tabelle 1 genannten makromolekularen Komplexbildner wurden in Säulen gefüllt (2×30 cm), Meerwasser aus 10–15 m Tiefe im Golf von Neapel entnommen und mit einem Durchfluß von 1,5 l/cm²·h durch die Säule gegeben. Entsprechend den Ergebnissen in Tabelle 1 können je nach der Struktur des Komplexbildners bis zu 100 % des im Meerwasser vorhandenen Urans und Kupfers angereichert werden. Im Wasser des Golfs von Neapel sind nach unseren Bestimmungen 4,5–5,0 µg Kupfer und 0,5 µg Uran je Liter enthalten. Beide Metallionen sind aus dem Meerwasser auf das 100 000-fache angereichert worden. Dieser Anreicherungsgrad entspricht in der belebten Natur für Kupfer festgestellten Anreicherungen. Denn Tintenfische (*Octopus spec.*) enthalten das Kupfer im Blut gegenüber dem Meerwasser um den

Komplexbildner	µg Cu angereichert je l Meerwasser	% Cu anger.	µg U angereichert je l Meerwasser	% U anger.
Poly-malondialdehyd- triaminophenol ...	4,7 µg/l	100 %	—	—
Poly-glyoxal- triaminophenol ...	2,2 µg/l	47 %	0,2 µg/l	40 %
Polyacrylhydroxam- säure, gesintert mit Kieselgur	4,2 µg/l	90 %	0,5 µg/l	100 %

Tabelle 1. Anreicherung von Kupfer und Uran aus Meerwasser

gleichen Faktor angereichert²⁾. (Das Kupfer wurde nach Eden und Green³⁾, Uran nach Hernegger und Karlik⁴⁾ bestimmt). Die komplex gebundenen Metalle lassen sich durch verd. Säuren wieder ablösen.

Entscheidend für das Gelingen waren die Auswahl und sterische Anordnung der funktionellen organischen Gruppe, die theoretische Deutung der Chelatbildung und die geeignete Synthese des Makromoleküls. Hierüber und über Modelluntersuchungen zur Kupfer-Bindung durch Organismen soll in anderem Zusammenhang berichtet werden.

Eingegangen am 24. Oktober 1960 [Z 4]

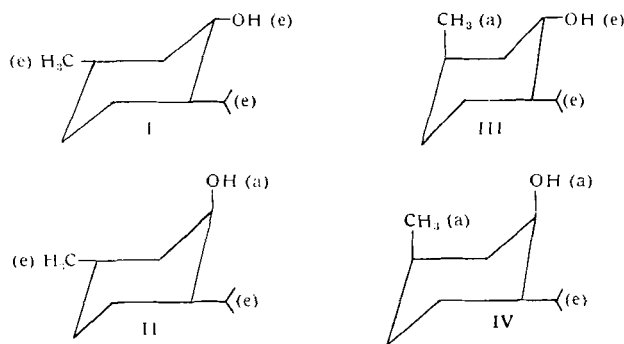
¹) E. Bayer, Proc. Symp. Makromoleküle, Wiesbaden 1959, Vortrag IV A 4 Verlag Chemie 1959. — ²) E. Bayer, Experientia 12, 365 [1956]. — ³) Biochem. J. 34, 1202 [1940]. — ⁴) Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch., Math.-nat. Klasse 144, Abt. 11a, Wien 1935.

Zur Kieselgelschicht-Chromatographie der stereoisomeren Menthole

Von Dr.-Ing. H.-J. PETROWITZ*)

Bundesanstalt für Materialprüfung, Berlin-Dahlem

Durch Dünnschichtchromatographie gelang bereits die Abtrennung und der Nachweis des im Pfefferminzöl enthaltenen Menthols^{1,2)}. Es sollte nun ermittelt werden, ob sich Gemische der stereoisomeren Menthole an Kieselgelschichten zerlegen lassen.



Das Ergebnis der Versuche steht im Einklang mit älteren Beobachtungen^{3,4)}. Es läßt sich Menthol (I) von Neomenthol (II) und Isomenthol (III) von Neoisomenthol (IV) trennen, d. h. die epimeren Menthole mit axialer OH-Gruppe unterscheiden sich beim Chromatographieren von denjenigen mit äquatorialer OH-Gruppe durch unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit. Unwesentlich ist die Stellung der CH₃-Gruppe. Somit ist auch die Bestimmung von I neben IV möglich, die durch gaschromatographische Analyse mit Di-n-decylphthalat als stationäre Phase nicht gelang⁵⁾.

Verbindung	Elutionsmittel			
	A	B	C	D
Menthol	0,16	0,36	0,67	0,90
Neomenthol	0,28	0,51	0,73	0,85
Isomenthol	0,17	0,37	0,62	0,91
Neoisomenthol ...	0,29	0,55	0,76	0,80

Tabelle 1. A = Benzol; B = Benzol-Methanol (95 + 5); C = Benzol-Methanol (75 + 25); D = Methanol

Die R_F-Werte der Tabelle 1 wurden beim Arbeiten mit manuell hergestellten Schichten aus Kieselgel G für die Dünnschichtchromatographie, Merck (4 g je Platte 17,5×4,5 cm) ermittelt und waren gut reproduzierbar; Laufzeit bei 10–12 cm Steighöhe etwa 50 min. Die Substanzflecken wurden mit einer 20-proz. Lösung von Antimon(V)-chlorid in Tetrachlorkohlenstoff sichtbar gemacht. Eine optimale Trennung konnte mit dem Elutionsmittel Benzol-Methanol (95 + 5 Raumteile) erzielt werden, wobei II vor I und IV vor III wandern. Zunehmender Methanol-Gehalt führte zu steigenden aber dichter beieinander liegenden R_F-Werten. Bemerkenswert ist der Verlauf der R_F-Werte in den reinen Lösungsmitteln. Die Menthole mit axialer OH-Gruppe wandern in Benzol schneller, in Methanol langsamer als die übrigen.

Eingegangen am 20. Oktober 1960 [Z 7]

*) Kurze Originalmitteilung, die andernorts nicht mehr erscheint. — ¹) M. Ito, S. Wakamatsu u. H. Kawahara, J. chem. Soc. Japan 75, 413 [1954]. — ²) E. Stahl, Parfümerie u. Kosmetik 39, 564 [1958]. — ³) G. Vavon u. B. Gastambide, Compt. rend. heb. Séances Acad. Sci. 226, 1201 [1948]. — ⁴) W. Hüchel u. Ch. Z. Khan Cheema, Chem. Ber. 91, 311 [1958]. — ⁵) H.-J. Petrowitz, F. Nerdel u. G. Ohloff, J. Chromatogr. 3, 351 [1960].