

Corticosteroide unerlässlich, zumal ihre Konzentration im Plasma teilweise sehr unterschiedlich ist (z. B. Cortisol:Aldosteron 400:1). Das Eluat des Steroidacetates wird eingedampft und mit  $\text{KClO}_4$  im Bombenrohr verbrannt.  $^{14}\text{CO}_2$  und  $^3\text{H}_2\text{O}$  werden in einer Vakuumapparatur nach H. Simon durch fraktioniertes Ausfrieren getrennt und — letzteres nach Reduktion mit amalgamiertem Zink zu  $^3\text{H}_2$  — im Gaszählrohr gemessen. Die Impulsrate von  $^3\text{H}$  gibt die Steroidmenge, die von  $^{14}\text{C}$  die Verluste der gesamten Isolierung an. Die Methode ist prinzipiell für alle Corticosteroide — auch nebeneinander — anwendbar. Die untere Nachweisgrenze beträgt ca. 0,005  $\gamma$ .

G. SCHÄFER, W. LAMPRECHT und K. STUHL-FAUTH, München: Nachweis und Verteilung von Sulfanilylharnstoff in Zellstrukturen und Autoradiographie von Gewebeschnitten mit dem tritierten oralen Antidiabetikum.

Durch Analyse von Gewebehomogenaten mit dem oralen Antidiabetikum N-Butyl-N'-sulfanilylharnstoff (SuH) belasteter Ratten wird gezeigt, daß eine Anreicherung der Substanz in allen Geweben (außer Gehirn) 6 bis 8 h nach Applikation eintritt. Den Maxima der Anreicherung folgt ein relativ sehr rascher Abfall der Gewebekonzentration, die Ausscheidung im Urin läuft damit parallel. Ein Vergleich der Blutspiegel einerseits und des Gewebegehaltes andererseits zwischen normalen und hungernden Ratten ergab, daß SuH in den intracellulären Raum eindringt. Auch in Mitochondrien der Leber findet sich SuH. Appliziert man in o-Stellung zur  $\text{NH}_2$ -Gruppe mit  $^3\text{H}$  markiertes SuH (aus markierter Sulfanilsäure synthetisiert), so läßt sich die intracelluläre Lokalisation durch Autoradiographie von Gewebeschnitten unter Verwendung von „stripping emulsions“ sichtbar machen. Die Autoradiographien von Leber-, Pankreas- und Muskelschnitten zeigen eine gleichmäßige statistische Verteilung über die Gewebe, eine Anreicherung in bestimmten Zellen findet nicht statt. Obwohl eine nachweisbare pankreas-stimulierende Wirkung des SuH auf die Insulin-Ausschüttung vorliegt, findet sich im Pankreasgewebe kein relativ höherer SuH-Gehalt. Besonders geschwärzt erscheinen im Leberschnitt einzelne Gallengänge, was auf einen Eintritt des Pharmakons in den enterohepatischen Kreislauf schließen läßt.

W. LAMPRECHT, S. GUDBJARNASON und H. KATZLMEIER, München: Polarographie niedermolekularer SH- und -S-S-Verbindungen. Messung und Differenzierung katalytischer Wasserstoffwellen.

Bei der Polarographie katalytisch wirksamer Verbindungen in ammoniakalisch gepufferter Kobaltsalzlösung hat man zwischen drei charakteristischen Kurvenbildern zu unterscheiden:

- Katalytische Wasserstoff-Weller („Cystein-Welle“)
- Katalytische Wasserstoff-Stufen und
- Katalytische Wasserstoff-Kurven.

Jedem Kurvenzug ist eine definierte Molekülgruppierung zugeordnet.

Katalytische Wasserstoffwellen liefern nicht nur Cystein oder Cystin, wie bisher angenommen wurde, sie entstehen immer dann, wenn Thiole oder Disulfide im Molekül in Nachbarschaft Carboxylgruppen tragen, Komplexbildungsvermögen vorausgesetzt. Ebenso treten bei Hydroxyaldehyden, Hydroxyketonen oder bei Verbindungen zwischen Sulfhydrylgruppen und p-Chlormercuribenzoat katalytische Wasserstoffwellen auf.

Katalytische Wasserstoffstufen liefern Verbindungen, in denen Sulfhydryl- oder Disulfidgruppen zu  $\text{NH}_2$ - oder  $\text{NH}$ -Gruppen benachbart sind. Katalytische Wasserstoffkurven bilden Sulfhydryl- oder Disulfidgruppen tragende Verbindungen, in denen keine anderen funktionellen Gruppen in unmittelbarer Nachbarschaft stehen. Keine katalytischen Effekte auf die Wasserstoffionen-Reduktion haben aliphatische Aldehyde, Ketone, Schiff-sche Basen, aliphatische Fettsäuren,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Hydroxyfettsäuren oder Ketosäuren und Thioester.

Reduziertes Glutathion besitzt keine „Cysteinwelle“; auch das Tripeptid reagiert polarographisch nicht als Sulfhydrylverbindung. Reduziertes Glutathion erleidet in Ammoniakpuffer bei etwa  $\text{pH} = 10$  unter Wasserabspaltung einen intramolekularen Ring-schluß zum Thiazolin; polarographisch ergibt sich eine katalytische Wasserstoffkurve. Die katalytische Wirksamkeit von oxydiertem Glutathion und Cystinylglycin wird durch die Raumkonfiguration des Moleküls erklärt (katalytische Wasserstoffwelle). Eine unmittelbare Nachbarschaft von Carboxylgruppen und Disulfidgruppen und damit die Möglichkeit zur Komplexbildung mit  $\text{Co}^{2+}$  ergibt sich aus einem Raummodell, in dem das eine Glutathion-Molekül in der Papierebene liegt, das andere senkrecht dazu steht.

Katalytisch wirksam sind nur solche Verbindungen, die zur Komplexbildung mit  $\text{Co}^{2+}$  befähigt sind. Die verschiedenen Komplextypen sind — an der Grenzfläche des Quecksilbertropfens ad-

sorbiert — die eigentlichen Katalysatoren, welche die bei der Wasserstoff-Abscheidung auftretenden Ströme mehr oder weniger stark erhöhen.

W. LAMPRECHT und H. KATZLMEIER, München: Polarographie schwefelhaltiger Proteine.

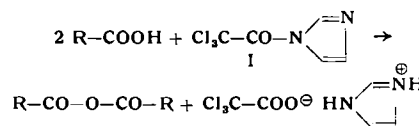
An zahlreichen Beispielen, insbesondere kristallisierten Enzymen, wurde gezeigt, daß nur schwefelhaltige Proteine katalytische Wasserstoffwellen geben. Von den in der Literatur beschriebenen Doppelstufen mit Proteinen besitzt nur die im negativeren Potentialbereich liegende Welle die eigentliche katalytische Funktion. Die erste Vorwelle von Proteinen verschwindet, wenn man bei 0 °C mißt. In Proteinen sind nur Disulfidgruppen katalytisch wirksam. Sog. „reine Sulfhydryl-Enzyme“ haben keinen katalytischen Effekt. Typische „SH-Enzyme“ können jedoch polarographisch als p-Chlormercuribenzoat-Komplexe gemessen werden. Durch Zusatz von Harnstoff gelingt es, zwischen maskierten und freien Sulfhydryl- oder Disulfidgruppen an Enzymen zu differenzieren. „Reine“ Sulfhydryl-Proteine sind: Lactat-Dehydrogenase, Leber-Alkoholdehydrogenase, Glutaminsäure-Dehydrogenase, Katalase, Pyruvatkinase; Disulfid-Proteine: Aldolase, Trypsin, Chymotrypsin, Insulin, Peroxydase, Myokinase, Phosphoglycerat-Kinase; gemischte Sulfhydryl-Disulfid-Proteine: Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrogenase, Hefe-Alkoholdehydrogenase, Enolase, Zwischenferment. [VB 413]

## Max-Planck-Institut für medizinische Forschung Heidelberg

am 16. Januar 1961

H. A. STAAB, Heidelberg: Synthesen mit heterocyclischen Amidin<sup>1)</sup>.

Carbonsäureanhydride werden erhalten, wenn man die freien Carbonsäuren bei Raumtemperatur im Molverhältnis 2:1 in Tetrahydrofuran mit N-Trichloracetyl-imidazol (I) umsetzt. Es entstehen ausschließlich die symmetrischen Anhydride (z. B. Benzoesäureanhydrid 81 %, Phthalsäureanhydrid 89 % Ausb.) bei gleichzeitiger Bildung des Imidazolium-Salzes der Trichloressigsäure, das in Tetrahydrofuran unlöslich ist und ausfällt:



I (Fp = 38,5–40 °C) entsteht bei Raumtemperatur aus N,N'-Carbonyl-diimidazol (II) und Chloressigsäure (72 % Ausb.) oder aus Imidazol und Trichloracetyl-chlorid (77 % Ausb.) oder Trichloressigsäure-anhydrid (82 % Ausb.) in Tetrahydrofuran. Die Anhydrid-Synthese kann man auch mit N-Trifluoracetyl-imidazol<sup>2)</sup> ausführen, das auch Trifluoressigsäure zum Trifluoressigsäureanhydrid zu acylieren vermag. Normale aliphatische und aromatische Imidazolidine reagieren unter den angegebenen Bedingungen nicht mit Carbonsäuren zu Anhydriden. Nur Maleinsäure und Phthalsäure bilden über die Mono-imidazolidine in stark exothermer Reaktion die entsprechenden Anhydride mit praktisch quantitativer Ausbeute, wenn man die Säuren bei Raumtemperatur in Tetrahydrofuran mit II umsetzt.

Ameisensäure reagiert mit II bei Raumtemperatur zu N-Formyl-imidazol (III, Fp = 55 °C, Ausb. 85 %). III ist ein äußerst wirksames Formylierungsmittel, das bei Raumtemperatur Alkohole und Amine in guten Ausbeuten ohne Nebenreaktionen formyliert. III wird in Tetrahydrofuran/Wasser (1:1) bei 20 °C mit einer Halbwertszeit von nur 3,6 min hydrolysiert. III zersetzt sich beim Erhitzen quantitativ in Imidazol und Kohlenmonoxyd. Ähnlich verhalten sich die N-Formyl-Derivate des Benzimidazols und Benztriazols.

Imidazolidine aliphatischer und aromatischer Carbonsäuren reagieren mit Grignard-Verbindungen bei Raumtemperatur im Molverhältnis 1:1 zu Ketonen, wobei die Carbinol-Bildung im Gegensatz zu entsprechenden Umsetzungen anderer Carbonsäure-Derivate völlig zurücktritt; sie lassen sich ferner bei –20 °C mit  $\text{LiAlH}_4$  in guten Ausbeuten zu Aldehyden reduzieren. Diese Reaktion ist auch auf Imidazolidine von Polycarbonsäuren übertragbar, z. B. auf Vitamin-A-säure-imidazolid (Fp = 112 °C, aus Vitamin-A-säure und II bei 20 °C in 85 % Ausb.), das zu Retinin reduziert wurde.

<sup>1)</sup> Siehe auch a) H. A. Staab u. K. Wendel, Angew. Chem. 73, 26 [1961]; b) H. A. Staab u. W. Benz, Angew. Chem. 73, 66 [1961]; c) H. A. Staab, W. Rohr u. A. Mannschreck, Angew. Chem. 73, 143 [1961].

<sup>2)</sup> H. A. Staab u. G. Walther, Angew. Chem. 72, 35 [1960].

[VB 427]