

Reversibilität der Dissoziation in die Polypeptidketten bei Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber [1]

Von Dr. H. Sund

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg/Brsg.

Im assoziierten Zustand ist Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber ein langgestrecktes Teilchen mit einem Teilchengewicht von $2 \cdot 10^6$. Betrachtet man es als Rotationsellipsoid, dann sind dessen lange und kurze Achse etwa 930 Å und 70 Å lang [2]. Dieses Teilchen steht im reversiblen, spontan sich einstellenden Assoziations-Dissoziations-Gleichgewicht mit solchen vom Teilchengewicht $1 \cdot 10^6$, $0,5 \cdot 10^6$ und $0,25 \cdot 10^6$, die alle enzymatisch aktiv sind. Eine weitere Aufspaltung in die Polypeptidketten in Gegenwart von Harnstoff oder langketigen Alkylsulfaten sowie bei pH-Werten unterhalb 4 oder oberhalb 10 ist vom Verlust der nativen Kettenkonformation und der Enzymaktivität begleitet und verlief bisher irreversibel [2–7].

Wir konnten nun zeigen, daß auch diese Dissoziation reversibel ist. Inkubation von Glutaminsäuredehydrogenase in Gegenwart von Mercaptoäthanol bei pH = 2,0 bis 2,2 führt zur vollständigen Inaktivierung. Durch anschließende Dialyse gegen Mercaptoäthanol bei pH = 7,6 wird eine weitgehende Reaktivierung erreicht: Spezifische Aktivität [8] vor der Säuredenaturierung: 6200 min^{-1} , nach der Säuredenaturierung: 10 min^{-1} , nach der Dialyse bei pH = 7,6: 4500 min^{-1} . Dieses Ergebnis zeigt, daß auch im Falle der Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber die Information für die Kettenkonformation des nativen, katalytisch wirksamen Enzymproteins in der Aminosäuresequenz enthalten ist.

Eingegangen am 12. Oktober 1964 [Z 841]

[1] Vorgetragen am 29. April 1964 auf der Westdeutschen Chemiedozenten-Tagung in Freiburg/Brsg. [vgl. Angew. Chem. 76, 611 (1964)].

[2] H. Sund, Acta chem. scand. 17, S 102 (1963) und unveröffentlichte Ergebnisse.

[3] B. Jirgensons, J. Amer. chem. Soc. 83, 3161 (1961).

[4] H. F. Fisher, L. L. McGregor u. D. G. Cross, Biochim. biophysica Acta 65, 175 (1952).

[5] J. Wolff, J. biol. Chemistry 237, 230 (1962).

[6] C. Frieden, J. biol. Chemistry 237, 2396 (1962); 238, 146 (1963).

[7] H. Sund in: Mechanismen enzymatischer Reaktionen (14. Mosbacher Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie). Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964, S. 318.

[8] H. Sund u. Å. Åkeson, Biochem. Z. 340, 421 (1964).

Chinoide Diazoverbindungen

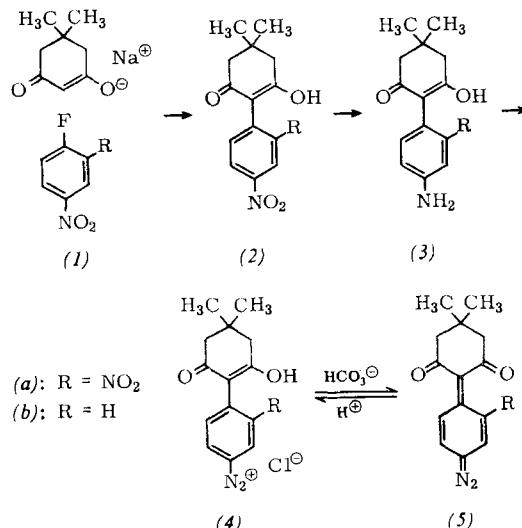
Von Doz. Dr. Th. Severin und Apotheker J. Dahlström

Institut für Pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie der Universität Marburg/Lahn

Kürzlich beschrieb Hartzler die Darstellung von 3-Diazo-6-dicyanomethylen-1,4-cyclohexadien aus p-Aminophenyl-malodinitril [1]. Dies veranlaßt uns, über eigene Synthesen von chinoiden Diazoverbindungen zu berichten. Wir erhielten (5a) und (5b) auf dem im Formelschema angegebenen Weg. 2-p-Nitrophenyl-dimedon (2b), $F_p = 231^\circ\text{C}$, entsteht in 55-proz. Ausbeute, wenn man p-Nitro-fluorbenzol (1b) mit dem Natrium-Salz des Dimedons in Dimethylformamid 4 Std. am Rückfluß kocht. 2-(2,4-Dinitrophenyl)-dimedon (2a)^[2] wird in siedendem Äthanol/konz. Ammoniak (50:1) durch 24-stündiges Einleiten von H_2S in 51-proz. Ausbeute zum Amin (3a), $F_p = 202^\circ\text{C}$, reduziert. Zur Darstellung von (3b), $F_p = 218^\circ\text{C}$, versetzt man (2b) in 2 N NaOH bei 90°C bis zur Entfärbung mit Natriumdithionit (Ausb. 75 %). Durch Umsetzung des Hydrochlorids von (3a) oder (3b) mit Amylnitrit in Eisessig erhält man nach Zugabe von Äther das gelbe Diazonium-Salz (4a) (Ausb. 72 %), Diazo-Bande bei

2270 cm^{-1}) bzw. das hellgelbe Salz (4b) (Ausb. 67 %, Diazo-Bande bei 2260 cm^{-1}). (4a) reagiert mit hypophosphoriger Säure zu 2-(o-Nitrophenyl)-dimedon [3]. Dadurch ist bewiesen, daß die para-ständige Nitrogruppe in (2a) reduziert worden ist.

Gibt man zur wäßrigen Lösung von (4a) NaHCO_3 , so fällt die chinoide Verbindung (5a) (Diazo-Bande bei 2220 cm^{-1}) als roter Niederschlag aus (Ausb. 63 %). Im Gegensatz zu der von Hartzler dargestellten Dicyanomethylen-Verbindung läßt sich (5a) umkristallieren (aus Methanol durch Zusatz von Äther) und gibt auch nach 24 Std. bei der Elementaranalyse noch gute Werte. Beim Erhitzen zersetzt sich (5a) langsam, ohne vorher zu schmelzen. Wesentlich instabiler ist die ebenfalls mit Bicarbonat erhältliche Diazo-Verbindung (5b). Sie läßt sich aus Wasser mit Methylenechlorid oder Essigester ausschütteln, zersetzt sich aber innerhalb einiger Minuten, so



dass die Isolierung in fester Form nicht gelang. Leitet man in die frisch bereitete Methylenchlorid-Lösung Chlorwasserstoff ein, so erhält man wieder (4b). Auch kuppelt (5b) mit β -Naphthol zum Azofarbstoff.

Eingegangen am 12. Oktober 1964 [Z 842]

[1] H. D. Hartzler, J. Amer. chem. Soc. 86, 2174 (1964).

[2] H. G. Garg, J. Indian chem. Soc. 38, 343 (1961).

[3] F. M. Beringer, P. S. Forgione u. M. D. Yudis, Tetrahedron 8, 49 (1960).

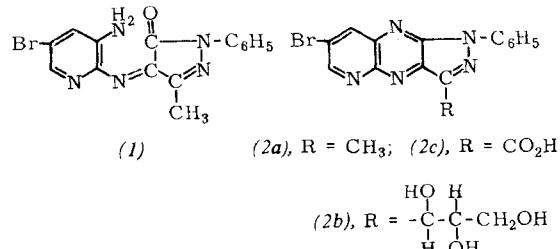
Azaflavazol-Derivate, neue Heterocyclen

Von Prof. Dr. G. Henseke und Dipl.-Chem. D. Lehmann

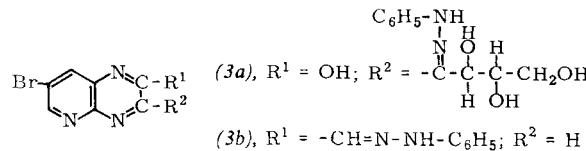
Institut für Organische Chemie
der Bergakademie Freiberg/Sa.

Auf drei Wegen erhielten wir Azaflavazole.

2,3-Diamino-5-brompyridin kondensiert mit 1-Phenyl-3-methyl-4,5-dioxopyrazolin in schwach essigsaurer Lösung zum Anil (1), $F_p = 218\text{--}220^\circ\text{C}$ (Zers.), rotbraune Kristalle aus Eisessig/Wasser. Bei kurzem Erhitzen in 1 N NaOH bildet sich daraus 6-Brom-3-methyl-1-phenyl-4-azaflavazol (2a) [1], gelbe Stäbchen, $F_p = 223\text{--}224^\circ\text{C}$ (aus Äthanol), Ausbeute: 80 %.

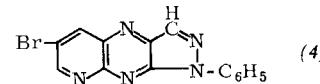


Die Umsetzung von 2,3-Diamino-5-brompyridin mit Dehydro-L-ascorbinsäure und Phenylhydrazin [2] bei 25 °C führt zum Azachinoxalin (3a), rote Stäbchen, Fp = 281 bis 283 °C (Zers.) (aus Methanol), das beim Erhitzen in 0,01 N NaOH quantitativ 6-Brom-3-[L-threo-1,2,3-trihydroxypropyl]-1-phenyl-4-azaflavazol (2b) bildet; gelbe Nadeln, Fp = 214–216 °C (Zers.) (aus Äthanol).



Dehydrierender Ringschluß von 7-Brom-5-azachinoxalin-2-carbaldehydphenylhydrazone (3b) in schwach mineralsaurer

Lösung mit Phenylhydrazin ergab 5-Brom-1-phenyl-7-azaflavazol (4), gelbe Stäbchen, Fp = 247–248 °C (aus Äthanol), Ausbeute: 50 %.



Bei der Oxydation des aus (2b) darstellbaren Aldehyds mit alkalischer Wasserstoffperoxyd-Lösung bei 30 °C erhielten wir 6-Brom-1-phenyl-4-azaflavazol-3-carbonsäure (2c), gelbe Stäbchen, Fp = 268–270 °C (aus Dioxan).

Eingegangen am 12. Oktober 1964 [Z 843]

[1] Zur Nomenklatur vgl. H. Ohle u. G. A. Melkonian, Chem. Ber. 74, 280 (1941).

[2] Vgl. G. Henseke u. K. Dittrich, Chem. Ber. 92, 1550 (1959).

VERSAMMLUNGSBERICHTE

Versetzung in Festkörpern

Vom 15. bis 17. September fand in Göttingen die diesjährige Diskussionstagung der Faraday Society mit dem Thema „Dislocations in Solids“ statt. Wie Professor Ubbelohde, der Präsident der Faraday Society und Tagungsvorsitzende, ausführte, sollte diese Tagung Physikochemikern die Möglichkeit engen Kontaktes und anregender Diskussion geben mit Kollegen aus dem Gebiet der Festkörper- und Metallphysik, die sich speziell mit Versetzungen befassen. Versetzungen wurden ursprünglich als eindimensionale Kristallfehler zur Deutung der plastischen Deformation des Festkörpers eingeführt. Inzwischen hat sich herausgestellt, daß nicht nur das mechanische Verhalten, sondern auch zahlreiche weitere Eigenschaften der Kristalle von Versetzungen bestimmt oder beeinflußt werden, beispielsweise Fehlordnungsgleichgewichte, Stofftransport, optische Eigenschaften und Wärmeleitung. Insgesamt wurden 24 Einzelvorträge gehalten, an die sich im allgemeinen sehr lebhafte Diskussionen anschlossen.

W. Bollmann diskutierte am Beispiel von Versetzungsnetworken, die u.a. als Kleinwinkelkorngrenzen bekannt sind, einige grundlegende Fragen der Definition von Burgers-Vektoren. Über Rechnungen mit dem Ziel, die Linienspannung von Versetzungen in isotropen Medien anzugeben, berichtete L. M. Brown. Diese Überlegungen können zur Berechnung von Stapelfehlerenergien aus der Geometrie von Versetzungsknoten benutzt werden. F. Kroupa und P. B. Hirsch schätzten den Anteil der kritischen Fließspannung ab, der herröhrt von der elastischen Wechselwirkung zwischen Versetzungen, die sich in ihrer Gleitebene bewegen, und statistisch verteilten Leerstellenaggregaten und Versetzungsringen. Dabei kamen sie zu dem Schluß, daß ein wesentlicher Anteil der Fließspannung von Aluminium auf dieser Wechselwirkung beruhen kann. Ebenfalls mit der Wechselwirkung zwischen Versetzungen und Hohlräumen in Kristallen befaßte sich der Beitrag von A. J. Forty. Es wurde gezeigt, daß die Wechselwirkung sowohl mechanischer als auch chemischer Natur sein kann. Als Beispiel diente Bleijodid. Überlegungen von B. A. Bilby, R. Bullough und D. K. de Grinberg beschäftigten sich mit der Beschreibung von Versetzungen an der Grenze zwischen zwei gegeneinander rotierten Kristallteilen unter Berücksichtigung der Kristallsymmetrie. A. Seeger, H. Bross und P. Gruner berichteten über die Theorie der Wärmeleitung bei tiefen Temperaturen und den Anteil des Wärmewiderstandes, der von Versetzungen herröhrt. Während bei Metallen Experiment und Theorie größtenteils übereinstimmen, trifft dies für Ionenkristalle nicht zu, und es wird vermutet, daß im letzteren Fall ein noch nicht verstandener Vorgang den Wärmewiderstand wesentlich bestimmt.

Die sechs Vorträge der folgenden Sitzung hatten die Kristallverfestigung während der plastischen Deformation zum Thema. Zuerst teilte Z. S. Basinsky Beobachtungen über die Versetzungsanordnung an deformierten Kupfereinkristallen mit, die so orientiert waren, daß Einfachgleitung stattfand. Resultate aus elektronenmikroskopischen Durchstrahlbildern dünner Folien wurden verglichen mit Befunden, die durch Beobachtung von Versetzungsgrübchen und Gleitbändern erhalten werden konnten. Auch der Beitrag von J. W. Steeds und P. M. Hazzledine beschäftigte sich mit Versetzungsanordnungen in verformten Kupfereinkristallen, denen bis zu 10 % Aluminium zulegert worden war. Übereinstimmend mit der Arbeit von Basinsky kamen die Autoren zu dem Schluß, daß die Versetzungsdichte in den sekundären Gleitsystemen größer ist als seither angenommen. Eine sehr lebhafte Diskussion ergab sich im Anschluß an den Vortrag von P. B. Hirsch, der eine Theorie des linearen Teils der Spannungs-Dehnungskurve entwickelte, und hiermit Verfestigung, Länge der Gleitbänder, Versetzungsdichten und insbesondere das Verhalten der Versetzungen auf sekundären Gleitsystemen erklärte. J. J. Gilman beschäftigte sich mit dem Einfluß von Versetzungsdipolen auf die physikalischen Eigenschaften von Kristallen, z.B. auf Verformungsverhalten, Wärmeleitung, spezifische Wärme und optisches Verhalten. Wechselwirkung zwischen Versetzungsdipolen war auch das Thema des Vortrages von J. C. M. Li, der insbesondere den Einfluß einer äußeren Spannung auf die Versetzungsdipole studierte. A. R. C. Weastwood, D. L. Goldheim und E. N. Pugh berichteten über die Versprödung von polykristallinem Silberchlorid in konzentrierten wässrigen Lösungen von NaCl, HCl, LiCl, CuCl₂, NaBr, LiBr, NaSCN und Na₂S₂O₃. Die Erklärung wird in einer Ansammlung höhergeladener Komplexionen in den verspannten Korngrenzen gesucht.

Zu den Vorträgen, die sich mit der Bildung und Bewegung von Versetzungen in Kristallen befaßten, gab P. Haasen einen einleitenden Überblick. Er zeigte, wie man aus Versetzungsdichte und Geschwindigkeit die plastischen Eigenschaften, insbesondere von Kristallen mit Diamantstruktur, berechnen kann. Streckgrenze und auch das anfängliche Kriechverhalten lassen sich aus einer Zustandsgleichung voraussagen. J. R. Patel beschrieb den Effekt von Verunreinigungen auf die Bildung von Versetzungen in Silicium. Er studierte die Lage der oberen Streckgrenze als Funktion von Sauerstoffgehalt und Anlaßtemperatur und fand keinen Einfluß dieser Größen auf die Versetzungsgeschwindigkeit. Die Beweglichkeit der Versetzungen in dotierten Ionenkristallen behandelten P. L. Pratt, R. P. Harrison und C. W. A. Newey. Die Beweglichkeit