

indem es eine Zwischenstufe zwischen dem  $S_2O_3$  und dem beim Verdünnen der Schwefel/Oleum-Lösungen ausfallenden Schwefel darstellt.

Die Hydrolyse von  $S_2O_3$  führt außer zu Schwefel nur zu  $H_2SO_4$  und  $H_2SO_3$ , etwa im Verhältnis 5:1. Die schweflige Säure entsteht durch Reduktion von  $SO_3$  durch elementaren Schwefel [85].

Bei der thermischen Zersetzung des festen Dischwertetrioxyds bei Temperaturen bis 150 °C entstehen Schwefel,  $SO_2$  und  $SO_3$  [85]. Schon früh ist vermutet worden, daß intermediär  $SO$  auftritt, das danach nach Gl. (a) zerfällt [90]. Das Experiment brachte jedoch keinen Hinweis auf niedere Schwefeloxide als Zwischenprodukte [24]. Es wurde dabei versucht, Schwefelmonoxid UV-spektroskopisch durch sein Folgeprodukt  $S_2O$  zu er-

[90] L. Wöhler u. O. Wegwitz, Z. anorg. allg. Chem. 213, 129 (1933).

kennen. Eine neuerliche Prüfung, die im Hinblick auf einen anders lautenden Befund [91] vorgenommen wurde, bestätigte die früheren Ergebnisse, indem weder das  $S_2O$ -Spektrum noch ein Polyschwefeloxyd-Rückstand beim Verdampfen der kondensierten Gase entdeckt werden konnten [77].

Man darf daher annehmen, daß der Zerfall nach Gleichung (φ)



erfolgt, wobei der besonders reaktionsfähige Schwefel einen Teil des  $S_2O_3$  zu  $SO_2$  reduziert [Reaktion (x)].



Eingegangen am 7. Dezember 1964 [A 441]

[91] A. R. V. Murthy, Nature (London) 168, 475 (1951).

## Die Prostaglandine

VON DR. B. SAMUELSSON

DEPARTMENT OF CHEMISTRY, KAROLINSKA INSTITUTET, STOCKHOLM (SCHWEDEN)

Die Prostaglandine, die in vielen Geweben zahlreicher Tierarten vorkommen, sind lipoidlösliche  $C_{20}$ -Carbonsäuren. Sie enthalten einen fünfgliedrigen Ring, eine Oxo- und zwei Hydroxygruppen (oder drei Hydroxygruppen), außerdem eine bis drei Doppelbindungen. Die Strukturaufklärung gelang durch eine Kombination chemischer, radiochemischer und physikalischer Methoden mit Gaschromatographie und Massenspektrometrie. Im Organismus bilden sich die Prostaglandine aus essentiellen Fettsäuren. Die Prostaglandine stimulieren die glatte Muskulatur und wirken auf den Fettstoffwechsel ein.

### Einleitung

Goldblatt [1, 2] und von Euler [3] wiesen 1933–1934 unabhängig voneinander einen gefäßweiternden und die glatte Muskulatur stimulierenden Stoff in der menschlichen Samenflüssigkeit und in der Gl. vesicularis des Schafs nach. Von Euler zeigte auch, daß der neue Faktor – Prostaglandin – lipoidlöslich und sauer ist [4–7].

1957 isolierten Bergström und Sjövall zwei biologisch aktive kristalline Verbindungen aus der Gl. vesicularis des Schafs,  $PGE_1$  und  $PGF_{1\alpha}$  [8–10].  $PGE_1$  wirkt stark gefäßweiternd (vasodepressorisch) und regt die glatte Muskulatur kräftig an, während  $PGF_{1\alpha}$  nur die Muskeln

[1] M. W. Goldblatt, Chem. and Ind. 52, 1056 (1933).

[2] M. W. Goldblatt, J. Physiology 84, 208 (1935).

[3] U. S. v. Euler, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 175, 78 (1934).

[4] U. S. v. Euler, Klin. Wschr. 33, 1182 (1935).

[5] U. S. v. Euler, J. Physiology 88, 213 (1936).

[6] U. S. v. Euler u. S. Hammarström, Skand. Arch. Physiol. 77, 96 (1937).

[7] U. S. v. Euler, Skand. Arch. Physiol. 81, 65 (1939).

[8] S. Bergström u. J. Sjövall, Acta chem. scand. 11, 1086 (1957).

[9] S. Bergström u. J. Sjövall, Acta chem. scand. 14, 1693 (1960).

[10] S. Bergström u. J. Sjövall, Acta chem. scand. 14, 1701 (1960).

stimuliert. Später wurden aus dem gleichen Gewebe noch  $PGE_2$  und  $PGE_3$  mit ähnlicher biologischer Aktivität isoliert [11]. Die Prostaglandine, die in tierischen Geweben weit verbreitet sind, gehen aus dem Stoffwechsel der essentiellen Fettsäuren hervor.

### I. Die Chemie der Prostaglandine

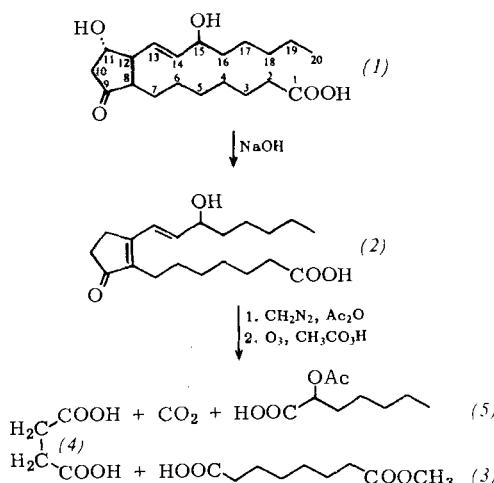
Mehrere physikalische Methoden erbrachten den Nachweis, daß das Prostaglandin  $PGE_1$  (1) eine  $C_{20}$ -Carbonsäure ( $C_{20}H_{34}O_5$ ) mit zwei Hydroxylgruppen, einer Oxogruppe in einem fünfgliedrigen Ring und einer trans-Doppelbindung ist.  $PGE_1$  (1) liefert mit 1N NaOH bei 37 °C die Verbindung (2) ( $PGE_1-278$ ),  $\lambda_{max} = 278 \text{ m}\mu$ ,  $\epsilon = 26800$  (Äthanol) [12, 13]. Der

[11] S. Bergström, F. Dressler, R. Ryhage, B. Samuelsson u. J. Sjövall, Ark. Kemi 19, 563 (1962).

[12] S. Bergström, R. Ryhage, B. Samuelsson u. J. Sjövall, Acta chem. scand. 16, 501 (1962).

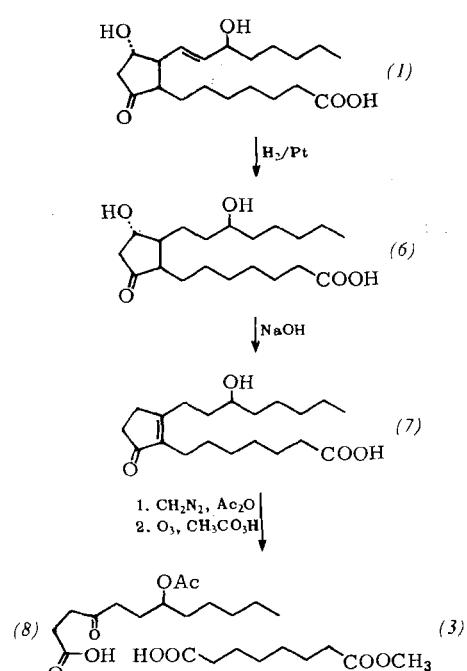
[13] S. Bergström, R. Ryhage, B. Samuelsson u. J. Sjövall, J. biol. Chemistry 238, 3555 (1963).

acetylierte Methylester dieses Derivats führte bei der oxydativen Ozonolyse zu  $\text{CO}_2$ , Korksäure-monomethylester (3), Bernsteinsäure (4) und  $\alpha$ -Acetoxy-n-heptansäure (5), so daß nur ein C-Atom von (2) nicht zugeordnet werden konnte. Die Abbauprodukte wurden

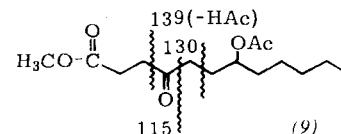


durch Gas-Flüssigkeits-Chromatographie getrennt und massenspektrometrisch identifiziert. Die Bernsteinsäure muß aus dem fünfgliedrigen Ring von (2) stammen; ihre Entstehung beweist, daß dieser Ring zwei benachbarte Methylengruppen enthält. Demnach müssen die drei C-Atome, die die Seitenkette sowie die Ketofunktion tragen, benachbart sein. Die Bildung von Korksäure-monomethylester, der durch Oxydation aus dem primär entstandenen 1,2-Diketon hervorgegangen sein muß, bewies ferner, daß die Carbonsäure-Seitenkette  $\alpha$ -ständig zur Oxogruppe angeheftet ist. Die für PGE<sub>1</sub>-278 (2) vorgeschlagene Struktur wurde auch durch das IR-Spektrum gestützt.

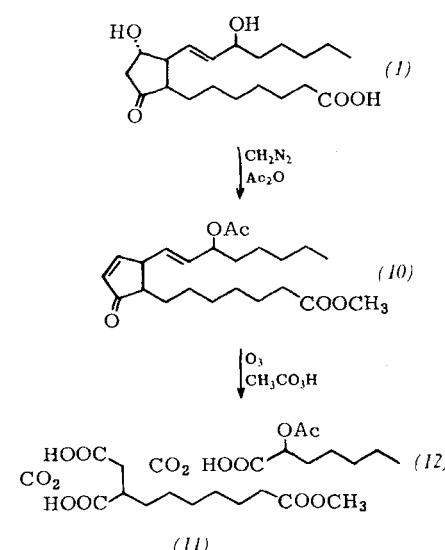
Beim Behandeln von hydriertem PGE<sub>1</sub> (6) mit 0,5 N NaOH bei 100 °C entstand die Verbindung PGE<sub>1</sub>-237 (7),  $\lambda_{\max} = 237 \text{ m}\mu$  (Äthanol), die durch oxydative Ozonolyse – nach Überführen in den acetylierten



Methylester – abgebaut wurde. Dabei erhielt man Korksäure-monomethylester (3) sowie 7-Acetoxy-4-oxododecansäure (8). Die Struktur von (8) wurde aus massenspektrographischen und gaschromatographischen Daten abgeleitet. Im Massenspektrum des 7-Acetoxy-4-oxododecansäure-methylesters (9) ist das Molekülion nicht zu sehen; dagegen konnten die Signale bei  $m/e = 226$  (Eliminierung von Essigsäure) und bei  $m/e = 195$  (anschließender Verlust einer Methoxygruppe) beobachtet werden. Die Lage der Oxogruppe

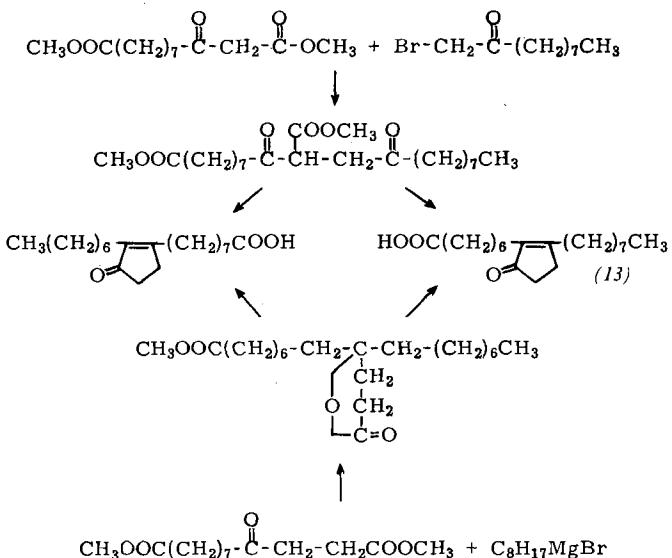


ging aus den Signalen bei  $m/e = 115$ , 139 und 130 hervor. Das Ion mit der Massenzahl 130 entsteht durch Spaltung zwischen C-5 und C-6 sowie Verschiebung des Wasserstoffs von C-7 zum Sauerstoff der Oxogruppe. Die Anwesenheit der Acetoxygruppe an C-7 wurde durch eine Spitze bei  $m/e = 155$  angezeigt. Wahrscheinlich lag hier eine Spaltung von (9) zwischen C-7 und C-8, verbunden mit einer Eliminierung von Essigsäure, vor. Sämtliche 20 Kohlenstoffatome des Prostaglandins PGE<sub>1</sub> (1) wurden so identifiziert.



Die Bildung der Abbauprodukte (3) und (8) hat man sich wie folgt vorgestellt: Zunächst liefert die Ozonisierung der tetrasubstituierten Doppelbindung von PGE<sub>1</sub>-237 (7) zwei neue Oxogruppen, wovon eine der ursprünglichen benachbart ist. Bei der oxydativen Spaltung der Kette zwischen den benachbarten Oxogruppen mit Peressigsäure entstehen die beiden Carboxygruppen des Korksäure-monomethylesters (3) und der 7-Acetoxy-4-oxododecansäure (8). Die UV-Absorption des PGE<sub>1</sub>-237 (7),  $\lambda_{\max} = 237 \text{ m}\mu$ , stimmte mit der UV-Absorption mehrerer trisubstituierter  $\alpha,\beta$ -ungesättigter Cyclopentenone überein. Die vierfache Substitution der Doppelbindung wurde durch die Abwesenheit olefinischer Protonen im NMR-Spektrum von (7) bestätigt. Behandlung von PGE<sub>1</sub> (1) mit Acetanhydrid führte zu einem Derivat (10) mit  $\lambda_{\max} = 218 \text{ m}\mu$  (Äthanol). Oxydative Ozonolyse des acetylierten Methylesters dieser Verbindung lieferte die Tricarbonsäure (11) neben  $\alpha$ -Acetoxy-n-heptansäure (12) und  $\text{CO}_2$ . Damit war auch die Struktur des PGE<sub>1</sub>-218 (10) bewiesen.

Die Strukturen der PGE<sub>1</sub>-Derivate [PGE<sub>1</sub>-278 (2), PGE<sub>1</sub>-237 (7) und PGE<sub>1</sub>-218 (10)] können nach den Eigenschaften und dem Verhalten beim weiteren Abbau als gesichert gelten. Daraus folgen nicht nur die Strukturen der Seitenketten von PGE<sub>1</sub> (1), sondern auch ihre Verknüpfungsstellen mit dem Ring sowie die Lage der Ketogruppe. Die Lage der Ring-Hydroxygruppe wurde indirekt festgestellt. Acylierungsexperimente sowie NMR-Daten schlossen die Anwesenheit einer tertiären Hydroxygruppe aus. Eine Hydroxygruppe am sekundären C-Atom  $\alpha$ -ständig zur Oxogruppe konnte ebenfalls nicht vorliegen, weil weder PGE<sub>1</sub> (1) noch PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  oder PGF<sub>1 $\beta$</sub>  (siehe Abschnitt II) sich mit Perjodsäure oder Bleitetraacetat oxydieren ließen. Umgekehrt stand die Anwesenheit einer Hydroxygruppe am sekundären C-Atom  $\beta$ -ständig zur Ketogruppe in Einklang mit der leichten Wasserabspaltung (mit Acetanhydrid) aus PGE<sub>1</sub> (1) unter Bildung eines monosubstituierten  $\alpha,\beta$ -un gesättigten Ketons. Weiterhin konnte das Kohlenstoffskelett des PGE<sub>1</sub>-Derivats (13) auf zwei unabhängigen Synthesewegen aufgebaut werden [14]. Schließlich ließ



sich die Struktur des PGE<sub>1</sub> noch durch eine dreidimensionale Röntgenstrukturanalyse an einem Einkristall des Tris-p-brombenzoats von PGF<sub>1 $\beta$</sub> -Methylester bestätigen [15–17]. Abbildung 1 zeigt ein Modell des Moleküls.

Die Strukturbeweise von PGE<sub>2</sub> (17) und PGE<sub>3</sub> (19) stützen sich zum Teil auf die Massenspektren. Sie zeigten, daß PGE<sub>2</sub> und PGE<sub>3</sub> eine um zwei bzw. vier Einheiten niedrigere Masse als PGE<sub>1</sub> (1) besitzen [11]. Daß das Grundgerüst der drei Verbindungen gleich ist, ging aus der katalytischen Hydrierung von PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> und PGE<sub>3</sub> zum Derivat (14) hervor, das massenspektrometrisch nachgewiesen wurde. Alle drei Verbindungen lieferten mit Alkali chromophore Systeme mit dem gleichen Absorptionsmaximum [vgl. (15)]. Sie mußten also

[14] B. Samuelsson u. G. Ställberg, Acta chem. scand. 17, 810 (1963).

[15] S. Bergström, L. Krabisch, B. Samuelsson u. J. Sjövall, Acta chem. scand. 16, 969 (1962).

[16] S. Abrahamsson, S. Bergström u. B. Samuelsson, Proc. chem. Soc. (London) 332, (1962).

[17] S. Abrahamsson, Acta crystallogr. 16, 409 (1963).

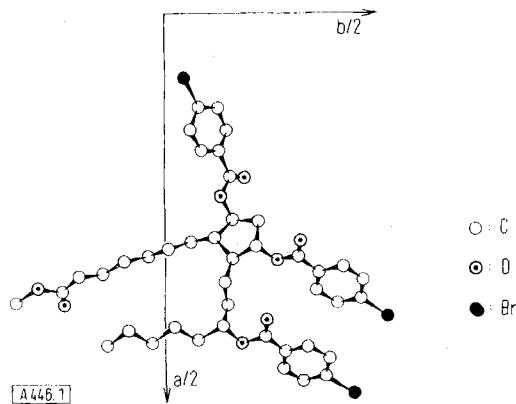
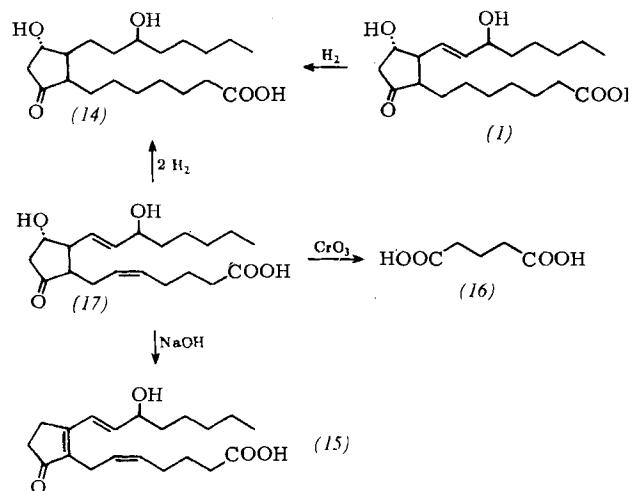


Abb. 1. Molekülmodell des Tris-p-brombenzoats von Prostaglandin PGF<sub>1 $\beta$</sub> -Methylester [15–17].

alle wie PGE<sub>1</sub> (1) die Doppelbindung zwischen C-13 und C-14 besitzen. Die Lokalisierung der zusätzlichen Doppelbindung von PGE<sub>2</sub> (17) in der Carboxyl-Seitenkette wurde wieder massenspektrometrisch wahrscheinlich gemacht und durch die Identifizierung von Glutaräsäure (16) als Folgeprodukt der Chromsäureoxydation bewiesen. Analog konnte auch bestätigt werden, daß sich PGE<sub>3</sub> (19) von PGE<sub>2</sub> (17) nur durch eine zusätzliche Doppelbindung unterscheidet.

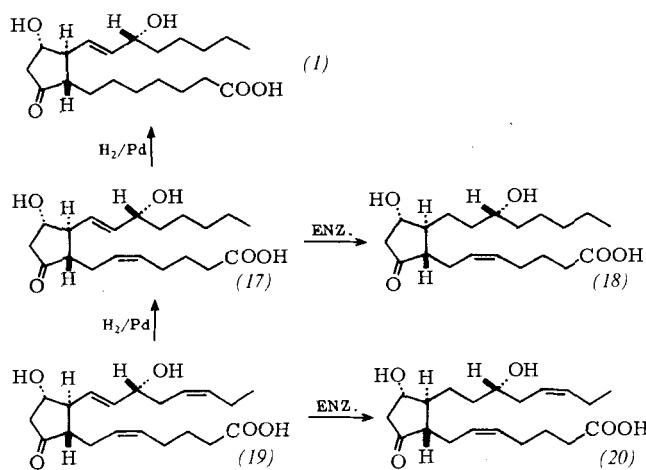
Zur endgültigen Aufklärung der Struktur von PGE<sub>3</sub> diente das Kernresonanzspektrum [18]. Es zeigte sechs olefinische Protonen zwischen 4,25 und 4,8  $\tau$ . Zwei davon erschienen bei niedrigen Frequenzen (4,25–4,5  $\tau$ ) und im gleichen Gebiet wie die beiden olefinischen Protonen in PGE<sub>1</sub>. Sie brachten eine negative Abschirmung („deshielding“) durch die allylständige Hydroxygruppe an C-15 zum Ausdruck. Die



anderen vier olefinischen Protonen in PGE<sub>3</sub> (19) zeigten die gleiche chemische Verschiebung wie die olefinischen Protonen in der Carboxyl-Seitenkette von PGE<sub>2</sub> (17). Von besonderem Interesse war die von den Protonen der Methylgruppe des PGE<sub>3</sub> (19) hervorgerufene Absorption, die als scharfes Triplet bei 9,04  $\tau$  erschien. Die Spin-Spin-Aufspaltung und die chemische Verschiebung ließen erkennen, daß die Doppelbindung in der terminalen Pentylgruppe zwischen C-17 und C-18 liegt.

Daß PGE<sub>1</sub> (1), PGE<sub>2</sub> (17) und PGE<sub>3</sub> (19) stereochemisch übereinstimmen, wurde kürzlich durch die Umwandlung von PGE<sub>2</sub> in PGE<sub>1</sub> und von PGE<sub>3</sub> in PGE<sub>2</sub>

[18] B. Samuelsson, J. Amer. chem. Soc. 85, 1878 (1963).



durch selektive katalytische Hydrierung der zusätzlichen Doppelbindungen nachgewiesen [19, 20].

Aus der IR-Bande von PGE<sub>1</sub> (1) bei 10,3  $\mu$  geht hervor, daß die Doppelbindung zwischen C-13 und C-14 trans-Konfiguration besitzt. Auch PGE<sub>2</sub> (17) und PGE<sub>3</sub> (19) absorbieren an dieser Stelle. Es konnte aber zunächst nicht entschieden werden, ob auch die zusätzlichen Doppelbindungen zu dieser Bande beitragen. Vor kurzem konnte diese Frage durch selektive Reduktion der Doppelbindung zwischen C-13 und C-14 in PGE<sub>2</sub> (17) und PGE<sub>3</sub> (19) mit Enzymen aus Lungen gewebe geklärt werden [20, 21]. Die Reduktionsprodukte (18) bzw. (20) absorbieren nicht bei 10,3  $\mu$ . Dies beweist, daß die zusätzlichen Doppelbindungen von PGE<sub>2</sub> und PGE<sub>3</sub> cis-Konfiguration besitzen.

Durch Reduktion von PGE<sub>1</sub> (1) bilden sich zwei Tri hydroxsäuren PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  und PGF<sub>1 $\beta$</sub> , die in C-9 epimer sind [15]. Entsprechend liefert PGE<sub>2</sub> das PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  und PGF<sub>2 $\beta$</sub> , und aus PGE<sub>3</sub> gehen PGF<sub>3 $\alpha$</sub>  und PGF<sub>3 $\beta$</sub>  her vor [11]. Nur die  $\alpha$ -Vertreter der PGF-Reihe kommen in der Natur vor. Vor kurzem wurde eine systematische Nomenklatur, die auf dem Trivialnamen Prostansäure für die C<sub>20</sub>-Stammsäure basiert, eingeführt. Die systematischen Bezeichnungen für die Prostaglandine sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Systematische Namen der Prostaglandine.

Verb.	Abkürz.	Name
(1)	PGE <sub>1</sub>	11 $\alpha$ ,15-Dihydroxy-9-oxo-13-prostensäure
(17)	PGE <sub>2</sub>	11 $\alpha$ ,15-Dihydroxy-9-oxo-5,13-prostadiensäure
(19)	PGE <sub>3</sub>	11 $\alpha$ ,15-Dihydroxy-9-oxo-5,13,17-prostatriensäure
	PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub>	9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,15-Trihydroxy-13-prostensäure
	PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub>	9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,15-Trihydroxy-5,13-prostadiensäure
	PGF <sub>3<math>\alpha</math></sub>	9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,15-Trihydroxy-5,13,17-prostatriensäure

## II. Vorkommen

Die Prostaglandine PGE<sub>1</sub> und PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  wurden erstmals 1957 aus der Gl. vesicularis des Widders in reiner Form isoliert [8–10]. Später wurden PGE<sub>2</sub> und PGE<sub>3</sub> aus der gleichen Quelle erhalten [11]. Die Samenflüssigkeit des

- [19] B. Samuelsson, J. biol. Chemistry 239, 4091 (1964).
- [20] E. Änggård, K. Green u. B. Samuelsson, J. biol. Chemistry, im Druck.
- [21] E. Änggård u. B. Samuelsson, unveröffentlicht.

Widders enthält PGE<sub>1</sub> sowie eine weitere, die glatte Muskulatur anregende Komponente [22]. Nach der Entdeckung von PGE<sub>2</sub> und PGE<sub>3</sub> ist die Untersuchung dieses Materials nicht wiederholt worden.

Menschliche Samenflüssigkeit enthält fünf Prostaglandine, nämlich PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGE<sub>3</sub>, PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  und PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  [23]. Ihre Konzentrationen wurden nach einer neuen Methode bestimmt [24]. Zunächst trennte man PGE- und PGF-Verbindungen durch Chromatographie an Kiesel säure. Danach konnte man die PGE-Gruppe durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel, das mit Silbernitrat getränkt war, weiter aufspalten. Die PGE-Verbindungen wurden eluiert und quantitativ bestimmt. Man überführte sie dazu mit Alkali in Verbindungen wie (2) und maß die Absorption bei 278 m $\mu$ . Der bei dieser Wellenlänge absorbierende Chromophor ist eine Dienon-Gruppierung, die durch Wasserabspaltung aus dem  $\beta$ -Ketol-System und Isomerisation der neuen Doppelbindung entsteht.

PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  und PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  wurden in ihre Methylester überführt und mit Hexamethyl-disilazan in Tetrahydrofuran (Katalysator: Trimethyl-chlorsilan) behandelt. Das entstehende Gemisch der Trimethylsilylärther-Derivate wurde gaschromatographisch zerlegt. Für die Konzentrationen der Prostaglandine im normalen Samenplasma ergaben sich: PGE<sub>1</sub>: 25  $\mu$ g/ml; PGE<sub>2</sub>: 23  $\mu$ g/ml; PGE<sub>3</sub>: 6  $\mu$ g/ml; PGF<sub>1 $\alpha$</sub> : 3  $\mu$ g/ml und PGF<sub>2 $\alpha$</sub> : 4  $\mu$ g/ml.

Neuere Untersuchungen zeigten, daß die Prostaglandine bei zahlreichen Tierarten und in vielen Geweben anzutreffen sind. PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  wurde aus Lungengeweben von Schaf und Schwein isoliert [25], später konnte es in der Lunge von Meerschweinchen, Affe und Mensch nachgewiesen werden [26]. Nach der Isotopenverdünnungsmethode wurde der PGF<sub>2 $\alpha$</sub> -Gehalt im Lungengewebe des Schafs zu etwa 0,5  $\mu$ g/g Gewebe (Frischgewicht) ermittelt [27]. PGE<sub>2</sub> ist vor kurzem in der Schafslunge [27], PGF<sub>3 $\alpha$</sub>  in der Rinderlunge gefunden worden [28]. In den Thymusdrüsen des Kalbes konnte nur PGE<sub>1</sub> nachgewiesen werden [29].

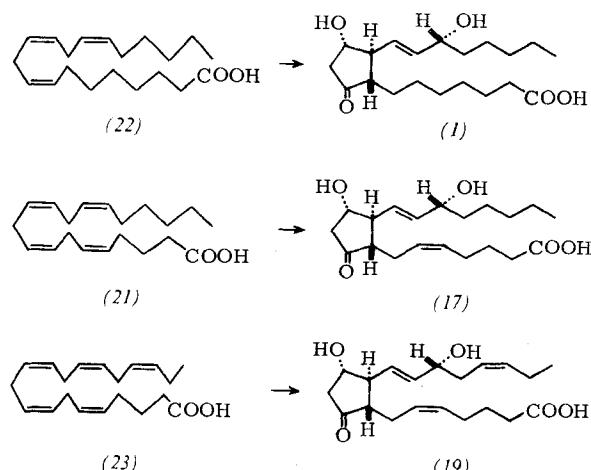
Stimulantien der glatten Muskulatur finden sich in Extraktten aus der Iris und dem Gehirn verschiedener Tier gattungen [30, 31]. Da die Eigenschaften dieser Stoffe bis zu einem gewissen Grade denen der Prostaglandine zu entsprechen schienen, wurde das Material näher untersucht. Die lipoidlöslichen Verbindungen aus Schafiris ließen sich durch Chromatographie an Kiesel säure trennen. Eine der Verbindungen war PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  [32], das auch in Extraktten des Rinderhirns in einer Konzentra

- [22] S. Bergström, L. Krabisch u. J. Sjövall, Acta chem. scand. 14, 1706 (1960).
- [23] B. Samuelsson, J. biol. Chemistry 238, 3229 (1963).
- [24] M. Bygdeman u. B. Samuelsson, Clin. chim. Acta (Amsterdam), im Druck.
- [25] S. Bergström, F. Dressler, L. Krabisch, R. Ryhage u. J. Sjövall, Ark. Kemi 20, 63 (1962).
- [26] E. Änggård, Abstracts, Sixth International Congress of Biochemistry, New York 1964, VII, 562
- [27] E. Änggård u. B. Samuelsson, Acta physiol. scand. 59, Suppl. Nr. 213, 170 (1963).
- [28] B. Samuelsson, Biochim. biophysica Acta 84, 707 (1964).
- [29] S. Bergström u. B. Samuelsson, Acta chem. scand. 17, 282 (1963).
- [30] N. Ambache, Biochem. Pharmacol. 12, 412 (1963).
- [31] N. Ambache, M. Reynolds u. J. Whiting, J. Physiology 166, 251 (1963).
- [32] E. Änggård u. B. Samuelsson, Biochem. Pharmacol. 13, 281 (1964).

tion von etwa 0,3 µg/g Frischgewebe vorkommt [33]. PGE<sub>2</sub> und PGF<sub>2α</sub> wurden in der Menstruationsflüssigkeit nachgewiesen [34].

### III. Biosynthese

T-markierte Arachidonsäure (21) (all-cis-5.8.11.14-Eikosatetraensäure) wird durch Homogenisate aus der Gl. vesicularis des Widders in markiertes PGE<sub>2</sub> (17) übergeführt [35, 36]. Es wurde vorausgesagt, daß Homo-γ-linolensäure (all-cis-8.11.14-Eikosatriensäure) (22) und all-cis-5.8.11.14.17-Eikosapentaensäure (23) Vorfäule von PGE<sub>1</sub> (1) und PGE<sub>3</sub> (19) sein könnten [35, 36]. Die Umwandlung von (22) in PGE<sub>1</sub> (1) ist mit <sup>14</sup>C-markiertem Material nachgewiesen worden [37, 38]. Es konnte ferner gezeigt werden, daß nach Gaben von (23) die Produktion von PGE<sub>3</sub> (19) anstieg [37]. Diese Überführung in vitro gelang ebenfalls mit <sup>14</sup>C-markierter Pentaensäure (23), die ihrerseits biosynthetisch aus *Euglena gracilis* [39] erhalten worden war.

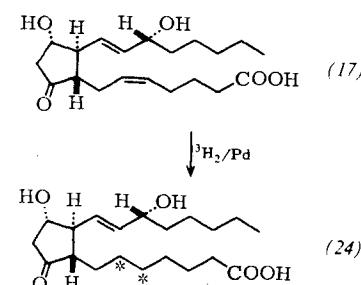


Die Substratspezifität des für die Bildung von prostaglandinartigen Verbindungen verantwortlichen Enzymsystems wurde an Vorstufen verschiedener Kettenlänge geprüft. [4-<sup>14</sup>C]-all-cis-10.13.16-Docosatriensäure ließ sich in ein Produkt mit den für ein „Bis-homo“-PGE<sub>1</sub> erwarteten Eigenschaften überführen [37]. Nor-PGE<sub>1</sub> und Nor-PGE<sub>2</sub> entstanden entsprechend aus all-cis-7.10.13-Nonadecatriensäure und all-cis-4.7.10.13-Nonadecatetraensäure [38]. Dagegen schien das Enzym-System auf all-cis-6.9.12-Octadecatriensäure, eine Triensäure mit 18 C-Atomen, nicht einzuwirken.

- [33] B. Samuelsson, Biochim. biophysica Acta 84, 218 (1964).
- [34] G. Eglington, R. A. Raphael, N. Smith, W. J. Hall u. V. R. Pickles, Nature (London) 200, 993 (1963).
- [35] D. A. van Dorp, R. K. Beertuis, D. H. Nugteren u. H. Vonkeman, Biochim. biophysica Acta 90, 204 (1964).
- [36] S. Bergström, H. Danielsson u. B. Samuelsson, Biochim. biophysica Acta 90, 207 (1964).
- [37] S. Bergström, H. Danielsson, D. Klenberg u. B. Samuelsson, J. biol. Chemistry 239, PC 4006 (1964).
- [38] D. A. van Dorp, R. K. Beertuis, D. H. Nugteren u. H. Vonkeman, Nature (London) 203, 839 (1964).
- [39] E. Ånggård u. B. Samuelsson, unveröffentlicht.

### IV. Stoffwechsel

[5.6-<sup>3</sup>H<sub>2</sub>]-Prostaglandin PGE<sub>1</sub> (24) mit hoher spezifischer Aktivität wurde durch selektive Reduktion von PGE<sub>2</sub> (17) erhalten. Man verwendete dazu trägerfreies Tritiumgas und Palladium als Katalysator [19]. Bei der



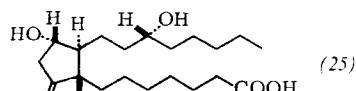
Verfütterung von (24) an Ratten wurden innerhalb 20 Std. etwa 50 % im Urin und 10 % im Kot wieder ausgeschieden. Verfütterung von markiertem PGE<sub>1</sub> an eine Ratte mit kanüliertem Gallentrakt gab ähnliche Ausbeuten in Harn bzw. Galle [19]. Die Fraktionierung der im Harn ausgeschiedenen markierten Produkte zeigte, daß PGE<sub>1</sub> vollständig in starker polare Derivate umgewandelt worden war. Dasselbe ist beim Menschen der Fall. Bisher konnte keines der biologischen Folgeprodukte aufgeklärt werden.

Eine Untersuchung der Radioaktivitäts-Verteilung in Ratten nach Verfütterung von 0,2 µg markiertem PGE<sub>1</sub> zeigte hohe Tritium-Anreicherung in Niere und Leber [19]. In Lunge, Hypophyse, Nebennieren, Ovarien und Uterus war der Tritium-Gehalt etwas über dem Blutniveau. In Hirn, Fettgewebe, Muskeln und Thymus fanden sich nur sehr geringe Tritium-Konzentrationen.

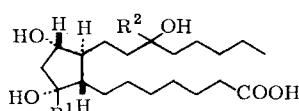
Auch am Schaf wurde die Tritium-Verteilung nach Gaben markierter Prostaglandins PGE<sub>1</sub> (24) untersucht. Da hier das Samensekret Prostaglandin enthält, erschien dessen Aufnahme durch die Zeugungsorgane besonders interessant. Beträchtliche Tritium-Konzentrationen wurden im Eileiter, im Uterus und den Ovarien des weiblichen und der Gl. vesicularis des männlichen Tieres gefunden [40]. Die Verteilung des Tritiums in den anderen Organen des Schafes war ähnlich wie bei der Ratte.

Der Stoffwechsel der Prostaglandine ist auch in vitro im Lungengewebe geprüft worden [41]. PGE<sub>1</sub> wird in Homogenisaten aus der Lunge des Meerschweinchens in zwei schwach polare Stoffwechselprodukte [(25) und (26)] übergeführt. Die dafür verantwortlichen Enzyme finden sich im zellfreien Teil des Lungenhomogenisats. Eines der Produkte, 11α,15-Dihydroxy-9-oxoprostanäsäure (25), entsteht durch Reduktion der Doppelbindung von PGE<sub>1</sub>. Das zweite Stoffwechselprodukt war

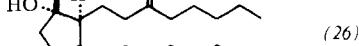
- [40] B. Samuelsson, Proceedings of the second International Congress of Endocrinology, London 1964, S. 966. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, im Druck.
- [41] E. Ånggård u. B. Samuelsson, J. biol. Chemistry 239, 4097 (1964).



(25)

a: NaBH<sub>4</sub>  
b: NaBD<sub>4</sub>

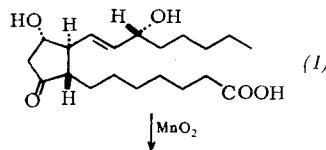
- a: R<sup>1</sup> = H; R<sup>2</sup> = H  
b: R<sup>1</sup> = D; R<sup>2</sup> = H  
c: R<sup>1</sup> = H; R<sup>2</sup> = H  
d: R<sup>1</sup> = D; R<sup>2</sup> = D



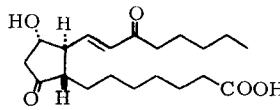
(26)

weniger polar als das erste. Die IR-Spektren zeigten, daß auch hier die Doppelbindung reduziert worden war.

Um die Zahl der Ketogruppen in der geringen zur Verfügung stehenden Menge (0,5 mg) zu ermitteln, wurden Isotopenmarkierung und Massenspektrometrie kombiniert. Ein Teil des isolierten Materials wurde mit Natriumborhydrid, ein anderer Teil mit Natriumbordeuterid reduziert. Die Produkte wurden vor der massenspektrometrischen Analyse in die Methylester übergeführt und acetyliert. 11α,15-Dihydroxy-9-oxo-prostansäure (25) als Vergleichssubstanz wurde ebenso behandelt. Die Reduktion der Vergleichssubstanz mit Natriumbordeuterid führte im Massenspektrum zu m/e-Werten

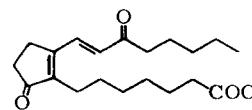


(1)

MnO<sub>2</sub>

(27)

NaOH



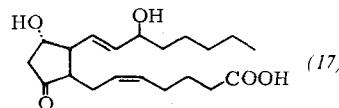
(26)

für die Hauptfragmente (M-59, M-(2-60), M-(3-60)), die um eine Einheit höher lagen als die m/e-Werte der Fragmente, die nach Reduktion mit Natriumborhydrid erhalten wurden. Reduzierte man das Stoffwechselprodukt (26) mit Natriumbordeuterid, so betrug jedoch das Inkrement gegenüber der Natriumborhydrid-Reduktion zwei Masseneinheiten. Natriumborhydrid-Reduktion lieferte von (25) und (26) praktisch die gleichen Massenspektren. Diese Experimente zeigten also, daß das Stoffwechselprodukt (26) zwei Ketogruppen enthielt. Zu ihrer Lokalisierung dienten die IR-Daten, die eine 1,3-Dioxogruppierung im Fünfring ausschlossen (keine Absorption bei 6,4 μ); es handelte sich daher höchstwahrscheinlich um 11α-Hydroxy-9,15-dioxo-prostansäure (26). Durch Partialsynthese dieser Verbindung aus PGE<sub>1</sub> (1) über (27) konnte diese Struktur einwandfrei bewiesen werden.

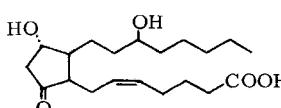
Die Bildung der Stoffwechselprodukte (25) und (26) konnte auch im Lungengewebe von Mensch, Schaf, Kaninchen und Ratte nachgewiesen werden [42]. Eine Prüfung von Organen und Geweben des Meerschweinchens zeigte, daß die Umwandlung auch in der Niere

und im Dünndarm stattfindet [42]. Die Bildung der Stoffwechselprodukte konnte an der Ratte auch *in vivo* nachgewiesen werden: 15 min nach Eingabe von markiertem PGE<sub>1</sub> ließen sie sich im Blut nachweisen [19]. Ihr Fehlen im Urin zeigt aber, daß sie vor der Ausscheidung abgewandelt werden.

Auch der Stoffwechsel von PGE<sub>2</sub> (17) wurde kürzlich im Lungengewebe des Meerschweinchens untersucht. Zwei schwach polare Folgeprodukte konnten isoliert und charakterisiert werden. Katalytische Hydrierung

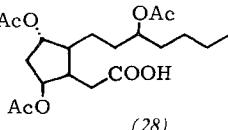


(17)

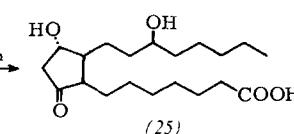


(25)

1. NaBH<sub>4</sub>  
2. Ac<sub>2</sub>O  
3. O<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H



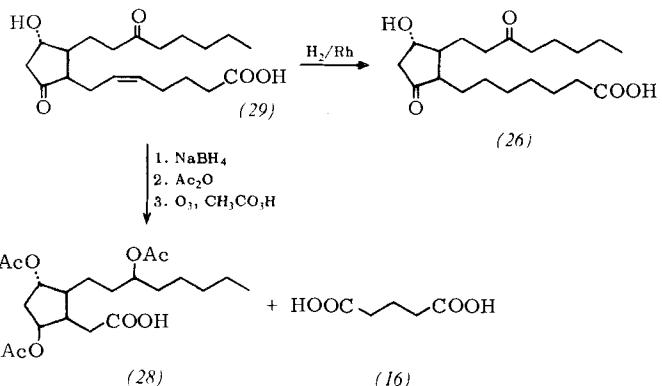
(28)



(16)

eines der Stoffwechselprodukte führte zu 11α,15-Dihydroxy-9-oxo-prostansäure (25), während die oxidative Ozonolyse nach Reduktion mit Natriumborhydrid und Acetylierung u. a. ein C<sub>15</sub>-Fragment (28) in zwei epimeren Formen lieferte. Die epimeren Säuren wurden durch Gas-Flüssigkeits-Chromatographie identifiziert [20].

Das weniger polare Stoffwechselprodukt (29) wurde durch katalytische Hydrierung in 11α-Hydroxy-9,15-dioxo-prostansäure (26) umgewandelt. Reduktion mit Borhydrid, anschließende Acetylierung und oxidative



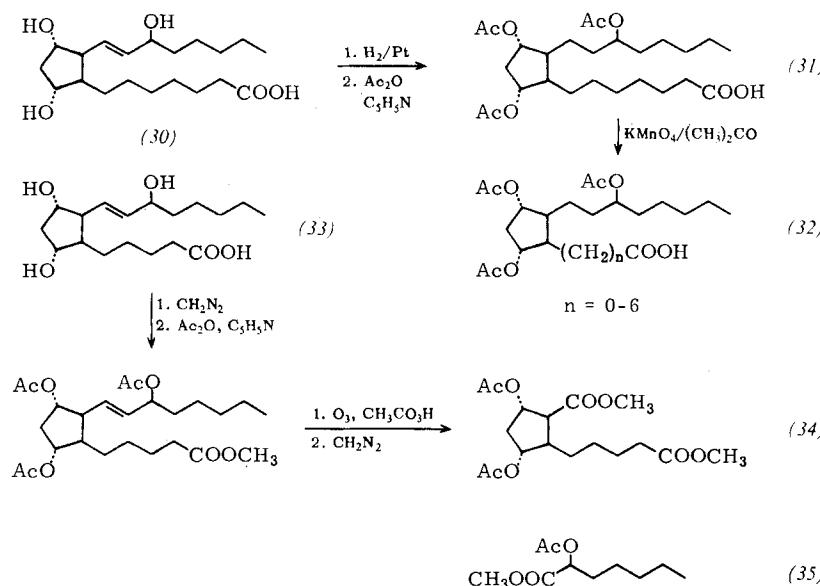
Ozonolyse lieferten das C<sub>15</sub>- und das C<sub>5</sub>-Fragment (28) und (16), wodurch bewiesen wurde, daß 11α-Hydroxy-9,15-dioxo-5-prostansäure vorgelegen hatte. PGE<sub>1</sub> (1) und PGE<sub>2</sub> (17) werden also im Lungengewebe in der

[42] E. Ånggård u. B. Samuelsson, unveröffentlicht.

gleichen Weise abgewandelt, nämlich durch Reduktion der Doppelbindung zwischen C-13 und C-14 und Oxydation der sekundären Hydroxygruppe an C-15 zur Ketogruppe.

Der Stoffwechsel von PGF<sub>1α</sub> (30) wurde an Ratten in vivo studiert [43]. Markiertes PGF<sub>1α</sub> wurde durch Borhydrid-Reduktion von tritiummarkiertem PGE<sub>1</sub> (24) erhalten. 30 % der nach Eingabe von (30) ausgeschiedenen Aktivität erschien im Urin, 8 % im Kot. Die Struktur des Hauptfolgeprodukts (33) im Urin konnte

Flüssigkeits-Chromatographie zeigte, sieben Säuren (32), ( $n = 0-6$ ). In Abbildung 2 ist die Beziehung zwischen den Logarithmen der Retentionszeiten der davon abgeleiteten Methylester und der Anzahl der Kohlenstoffatome in den zugrundeliegenden Säuren dargestellt. Führte man die aus dem Gaschromatographen austretenden Methylester von (32) einem Massenspektrometer zu, so konnte man ihre Zuordnung zu den in Abbildung 2 dargestellten Säuren bestätigen. Hydrierte und acetylierte man das radioaktive Stoffwechselprodukt



aufgeklärt werden: Das IR-Spektrum zeigte, daß die trans-Doppelbindung erhalten blieb, während das Massenspektrum das Fehlen zweier Methylengruppen in der Carbonsäure-Seitenkette erkennen ließ.

Um für einen direkten Vergleich geeignete authentische Verbindungen zu gewinnen, wurde PGF<sub>1α</sub> hydriert und acetyliert. Das Derivat (31) wurde dann durch Permanganatoxydation in Aceton von der Carbonsäurefunktion her abgebaut. Dabei entstanden, wie die Gas-

und trennte man wieder gaschromatographisch, so entsprach die Retentionszeit des Produkts mit dem stärksten Massen- und Aktivitätssignal der Stammsäure (33) mit 18 Kohlenstoffatomen.

Die Lage der Doppelbindung im Hauptstoffwechselprodukt (33) konnte durch Ozonolyse ermittelt werden. Es entstehen die Ester (34) und (35).

## V. Biologische Wirksamkeit

Es ist nicht das Ziel dieser Übersicht, die große Zahl physiologischer Untersuchungen über die von den Prostaglandinen an der glatten Muskulatur vieler Organe ausgelösten Effekte zu beschreiben. In neuerer Zeit konnte jedoch gezeigt werden, daß die Prostaglandine auch auf den Fettstoffwechsel einwirken. Experimente in vitro zeigten, daß die von Catechamin angeregte sowie die natürliche Freisetzung von Glycerin im Fettgewebe der Ratte durch PGE<sub>1</sub> inhibiert werden [44]. Diese Erscheinungen wurden auch in vivo am Hund beobachtet, bei dem die von Norepinephrin ausgelöste Erhöhung der Fettsäure-Konzentration im Blutplasma auf Zusatz von PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> und PGE<sub>3</sub> zurückgedrängt wurde [45]. Ferner konnte durch Untersuchung der Umsatzgeschwindigkeit freier Fettsäuren gezeigt wer-

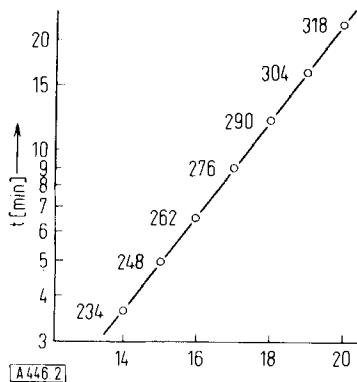


Abb. 2. Retentionszeiten bei der gaschromatographischen Analyse der Methylester der Säuren (32) mit  $n = 0-6$ .

Ordinate: Retentionszeit t [min]

Abszisse: Anzahl C-Atome der Säuren (32).

Zahlen neben der Kurve: m/e-Werte für ( $M - (3 \cdot 60)$ ), bezogen auf die Ester.

Pfeil: Retentionszeit des Methylesters von (33).

[43] E. Granström, U. Inger u. B. Samuelsson, J. biol. Chemistry 240, 457 (1965).

[44] D. Steinberg, M. Vaughan, P. Nestel u. S. Bergström, Biochem. Pharmacol. 12, 764 (1963).

[45] S. Bergström, L. A. Carlsson u. L. Orö, Acta physiol. scand. 60, 170 (1964).

den, daß PGE<sub>1</sub> die von Norepinephrin beschleunigte Mobilisierung der Lipoide blockiert. Der Glucose-Gehalt im Plasma sprach noch nahezu ungestört auf Epinephrin an.

Kürzlich wurde die Wirkung von PGE<sub>1</sub> auf den Gehalt des menschlichen Blutplasmas an freien Fettsäuren geprüft [46]. Intravenöse Einspritzung von PGE<sub>1</sub> erhöhte die Konzentration an freien Fettsäuren und Glycerin.

Spritzte man jedoch Norepinephrin und PGE<sub>1</sub> gemeinsam ein, so minderte das PGE<sub>1</sub> die von Norepinephrin bewirkte Erhöhung der Konzentration an freien Fettsäuren und Glycerin.

Eingegangen am 12. Oktober 1964 [A 446]

Übersetzt von Dr. H. F. Ebel, Heidelberg

[46] S. Bergström, L. A. Carlsson, L. G. Ekelund u. L. Orö, Biochem. J. 92, 42 P (1964).

## ZUSCHRIFTEN

### Photocycloaddition von Dihalogenmaleinsäure-imiden und -anhydriden an Olefine und Acetylene [1]

Von Dr. H.-D. Scharf und Prof. Dr. F. Korte

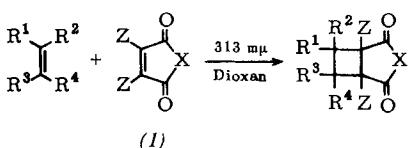
Shell Grundlagenforschung-Gesellschaft m.b.H., Schloß Birlinghoven (Siegkreis)

Herrn Professor Rudolf Tschesche zum 60. Geburtstag gewidmet

Die Imide und Anhydride der Dichlor- und Dibrommaleinsäure (1) lassen sich photochemisch in guten Ausbeuten an C-C-Doppel- und -Dreifachbindungen unter C<sub>4</sub>-Ringbildung addieren. Die Reaktionen verlaufen bei Bestrahlung der Komponenten [2 Mol Olefin oder Acetylen pro Mol (1)] in Dioxanlösung mit Licht der Wellenlängen  $\lambda = 302-313 \text{ m}\mu$ . Während (1) mit Z = Cl und X = O nur in Gegenwart von Benzophenon als Sensibilisator [\*\*] vollständig reagiert, werden die Reaktionen von (1) mit Z = Cl oder Br und X = NH durch Benzophenon nur wenig begünstigt.

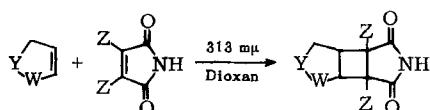
Die Imidaddukte können nach der Bestrahlung durch Abdampfen des Lösungsmittels direkt kristallin erhalten werden. Nur in einigen Fällen war die Reinigung durch Chromatographie an SiO<sub>2</sub> nötig. Die Anhydridaddukte wurden in Form der leichter zu handhabenden cis-Cyclobutan-1,2-dicarbonsäuren isoliert, und diese nachträglich mit SOCl<sub>2</sub> wieder in die Anhydride übergeführt.

Wir haben auf diese Weise folgende Verbindungen synthetisiert:

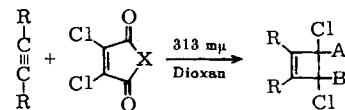


(1)

R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Z	X	Fp [°C] oder Kp [°C/Torr]	Ausb. [%] [1]
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	Cl	NH	153	95
H	H	H	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	Cl	O	115/0,01 [2]	92
H	H	H	H	Br	O	104 [*]	96
H	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	Cl	NH	62–63	84
Cl	Cl	Cl	Cl	Cl	NH	303	42
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	COCH <sub>3</sub>	Cl	NH	174	25



Y	W	Z	Fp [°C]	Ausb. [%] [1]
SO <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	Cl	zwei Isomere: 286 und 245	54
O	CO	Cl	283 (Zers.)	85 [3]
PO(OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )	CH <sub>2</sub>	Cl	281	65
CH <sub>2</sub>	PO(OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )	Cl	zwei Isomere: 296 und 281 [4]	60
CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	Br	200	85



R	X	A	B	Fp [°C]	Ausb. [%] [1]
CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	NH	—CO—NH—CO—		182	54
CH <sub>3</sub>	O	CO <sub>2</sub> H	CO <sub>2</sub> H [5]	213	73

Eingegangen am 28. November 1964 [Z 944]

Auf Wunsch der Autoren erst jetzt veröffentlicht

[\*] II. Mitteilung. — I. Mitteilung: H.-D. Scharf u. F. Korte, Chem. Ber. 98, 764 (1965).

[\*\*] Nach G. O. Schenck et al., Naturwissenschaften 49, 36 (1962).

[1] Reinprodukt nach Bestrahlung von 0,1 Mol (1). Bestrahlungsdauer: 15–18 Std., Strahlungsquelle: Quecksilberbrenner HPK 125 W (Philips). Strahlungsleistung bei 302 mμ ca. 8 × 10<sup>-3</sup> Mol Quanten/h, bei 313 mμ ca. 2,8 × 10<sup>-2</sup> Mol Quanten/h.

[2] n<sub>D</sub><sup>20</sup> = 1,4780.

[3] Die Verbindung enthält ein Mol Dioxan.

[4] Mischschmelzpunkt mit dem Produkt aus 1-Oxo-1-äthoxy-3-phospholin: 252–260 °C.

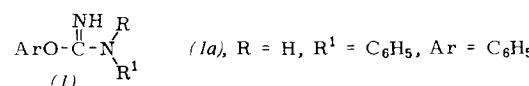
[5] Nach Hydrolyse.

### Zur Addition von Aminen an Cyansäureester

Von Dr. E. Grigat und Dr. R. Pütter

Wissenschaftliches Laboratorium der Zwischenproduktenabteilung der Farbenfabriken Bayer AG., Leverkusen

Martin et al. [1] berichteten kürzlich über die Bildung von Isoharnstoffen (1) aus Phenylcyanat und Aminen. Dabei geben sie für das Produkt (1a), das wir bereits früher beschrieben haben [2], einen Schmelzpunkt von 104–105 °C an, der von unserem Schmelzpunkt (140–141 °C) [3] erheblich abweicht.



Wir haben daher beide Verbindungen synthetisiert und fanden, daß die Zusammensetzung des Produktes von Martin et al. (Substanz B) der Bildung aus 2 Mol Phenylcyanat und 1 Mol Anilin entspricht, während sich das nach unserer Vorschrift [2] erhaltene Produkt (Substanz A) aus den Reaktionspartnern im Verhältnis 1:1 bildet. Außerdem läßt sich Substanz A mit weiterem Phenylcyanat in Substanz B überführen, und beim Behandeln von B mit wäßriger HCl entsteht das Hydrochlorid von A neben Carbamidsäurephenylester (2).

Damit dürfte sichergestellt sein, daß die von uns beschriebene Verbindung vom Fp = 140–141 °C der Isoharnstoff (1a) ist.