

**Multiplexer:** Mehrfachumschalter, der benötigt wird, wenn ein Datenweg abwechselnd für mehrere Geräte benutzt wird; in On-line-Systemen ist ein Multiplexer gemeinsam benutzten A/D-Wandlern vorgeschaltet

**Off-line-Betrieb:** Der Computer bearbeitet Rechenaufgaben, die im Gegensatz zum On-line-Betrieb keinen Echtzeit-Anforderungen unterworfen sind

**On-line-Betrieb:** Der Computer ist direkt mit analytischen Meßgeräten gekoppelt

**Peripherie:** „Äußere“ Bestandteile des Computers wie Lochkartenleser, Magnetbänder oder Zeilendrucker

**Prioritätsebene:** Ein gestaffeltes Hardware-Interruptsystem erlaubt, nicht nur Programme zu unterbrechen, sondern gestattet überdies, den Datentransfer zwischen Rechner und Peripherie je nach erforderlicher Geschwindigkeit und Echtzeit-Anforderung mit unterschiedlicher Priorität abzuwickeln. Auf niedriger Prioritätsebene ablaufende Datentransfers werden unterbrochen, wenn ein Interrupt-Signal eine Aufgabe höherer Priorität ankündigt. Neben solchen Hardware-Prioritätsebenen gibt es auch Software-Prioritätsebenen in Form verschiedener Warteschlangen, in die zu rechnende Programme je nach augenblicklichem Status, Vorgeschichte, Größe usw. eingeordnet werden

**Prozeßrechenanlage:** Computer, der zur Überwachung und Steuerung von Versuchsabläufen, Fertigungsprozessen usw. eingesetzt wird

**Random access:** Programmiertes Lesen oder Schreiben von Daten in einem Speichermedium, bei dem die Reihenfolge der Speicherplätze die für den Lese- oder Schreibvorgang benötigte Zugriffszeit nicht beeinflußt („wahlfreier Zugriff“). Möglich bei Magnetplatten, -trommeln und

**Kernspeicher,** nicht jedoch bei Magnetbändern, Lochstreifen usw., die seriell gelesen oder geschrieben werden müssen

**Satellitenrechner:** Einem Zentralrechner zur Erledigung von Teilaufgaben zugeordneter (Klein-)Rechner

**Software:** Gesamtheit der Programme. Man unterscheidet „System-Software“ (zum Betrieb benötigte oder ihn unterstützende Software) und „Anwendungs-Software“ (problem-orientierte Programme)

**Swapping-Betrieb:** Kurzzeitiges Abschieben von Programmen (in Form ihrer Kernspeicherabbilder) auf einen Plattenspeicher oder eine Magnettrommel, wenn die Kernspeicherkapazität nicht ausreicht, um alle gleichzeitig aktiven Programme aufzunehmen

**Teletype:** Fernschreiber. Ursprünglich Handelsname, bürgert sich zunehmend als Kurzbezeichnung für Ein-/Ausgabeschreibmaschine als Computerterminal ein

**Terminal:** Datenendstation (z. B. Teletype, Sichtgerät), die dem Benutzer die Kommunikation mit dem Rechner ermöglicht

**Text-Editor:** Hilfsprogramm zum Erstellen und Korrigieren von Programmen und Datensätzen durch Eintippen von einem Terminal aus

**TI-Korrektur:** Korrektur von Intensitätsverzerrungen durch Druckänderungen während der Laufzeit eines Spektrums

**Time-Sharing-System:** System, das mehreren Benutzern gleichzeitig das Arbeiten mit dem Computer ermöglicht

**TTY:** Computer-orientierte Abkürzung für Teletype (s. d.)

[A 875]

## ZUSCHRIFTEN

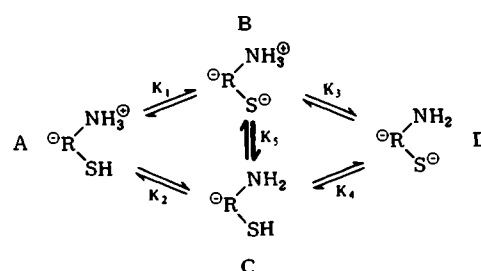
### Relaxationskinetische Untersuchungen intramolekularer Protonenübertragungen an Cystein und verwandten Verbindungen<sup>[\*]</sup>

Von Günter Maaß und Frens Peters<sup>[\*]</sup>

Das Dissoziationsverhalten von Aminosäuren mit mehr als zwei Protonen-Donor-Acceptorfunktionen wie Cystein und verwandten Verbindungen war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen<sup>[1-3]</sup>. Während sich das Carboxyproton in saurer Lösung ablöst, werden Amino- und Thiolproton beim Cystein unter etwa den gleichen schwach basischen Bedingungen frei. Eine Zuordnung der potentio-

metrisch ermittelten pK-Werte pK<sub>II</sub> und pK<sub>III</sub> zu individuellen „mikroskopischen“ pK-Werten der beiden Gruppen<sup>[1]</sup>, die durch die Beziehungen K<sub>II</sub> = K<sub>1</sub> + K<sub>2</sub> und 1/K<sub>III</sub> = 1/K<sub>3</sub> + 1/K<sub>4</sub> verknüpft sind, ist jedoch nicht ohne zusätzliche Annahmen möglich.

Allgemein wird für das Dissoziationsverhalten von Cystein und analogen mehrbasigen Säuren ein einfaches Reaktionsschema<sup>[4]</sup> angegeben, wobei die protonierte Spezies A unter Abspaltung zweier Protonen über B oder C in die

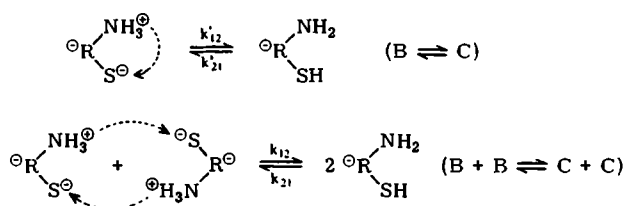


[\*] Priv.-Doz. Dr. G. Maaß und Dr. F. Peters  
Gesellschaft für Molekularbiologische Forschung  
3301 Stöckheim/Braunschweig, Mascheroder Weg 1  
und  
Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie  
34 Göttingen-Nikolausberg

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des SFB 75 unterstützt.

deprotonierte Form D übergeht. Wir fanden, daß dieses Schema durch einen direkten Protonenübergang zwischen B und C ergänzt werden muß, dessen Gleichgewichtskonstante mit den anderen mikroskopischen Konstanten durch  $K_5 = K_1/K_2 = K_4/K_3$  zusammenhängt. Diese Protonenübertragung kann durch chemische Relaxationsuntersuchungen mit Hilfe von Ultraschallabsorptionsmessungen<sup>[5,6]</sup> direkt nachgewiesen werden. Ähnliche Protonenübertragungsreaktionen am Cysteamin  $\text{HS}(\text{CH}_2)_2\text{—NH}_2$  sind bekannt<sup>[5]</sup>.

Der Protonenaustausch zwischen den beiden funktionellen Gruppen kann intra- und intermolekular erfolgen:



Wir wählten pH-Werte, unter denen die Konzentrationen der Formen B und C maximal und die der Formen A und D gering waren. Unter diesen Bedingungen erhält man für die beiden Parallelreaktionen aus der Auftragung der reziproken Relaxationszeit

$$\frac{1}{\tau} = 2(k_{12} \cdot \gamma_B + k_{21} \cdot \gamma_C) c_0 + (k_{12} + k_{21})$$

( $\bar{c}_B = \gamma_B \cdot c_0$ ,  $\bar{c}_C = \gamma_C \cdot c_0$ : Gleichgewichtskonzentrationen von B bzw. C) gegen die Einwaagekonzentration  $c_0$  eine Gerade (Abb. 1). Aus dieser läßt sich durch Extrapolation zu niedrigen Konzentrationen die Zeitkonstante

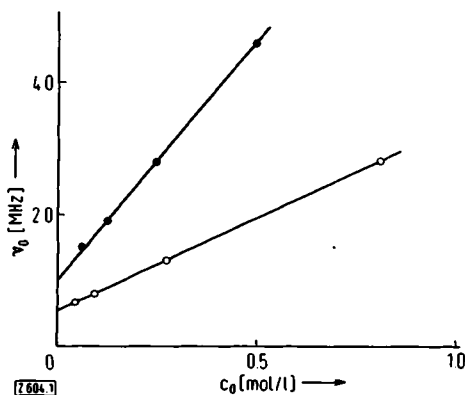


Abb. 1. Konzentrationsabhängigkeit der Relaxationsfrequenzen. ● = Glutathion (pH = 9.05), ○ = Cysteamin (pH = 9.7).

für den intramolekularen Protonenübergang ermitteln. Für Cysteamin erhält man damit  $1/\tau' = k'_{12} + k'_{21} = 3.0 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$  und für Glutathion  $1/\tau' = 6.2 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ . Ist der intramolekulare Protonenaustausch schnell gegenüber dem intermolekularen Prozeß, dann kann man den ersten Summanden vernachlässigen, und die reziproke Relaxationszeit wird konzentrationsunabhängig. Diese Bedingung ist für Cystein erfüllt.

Das Schallabsorptionsspektrum (Abb. 2) zeigt einen schnellen konzentrationsunabhängigen Beitrag (Effekt II) und einen um mehr als eine Größenordnung langsameren

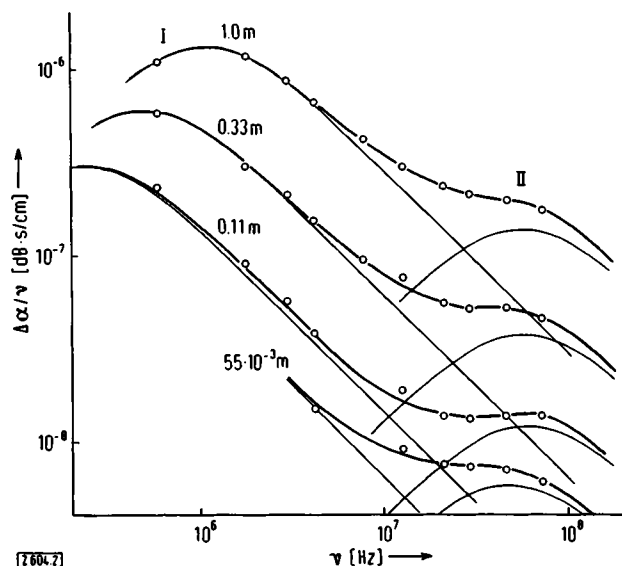


Abb. 2. Schallabsorptionsspektren von wässrigen Cysteinlösungen bei pH = 9.5.

(Effekt I), der auf intermolekulare Reaktionen zurückgeführt werden kann. In diesem Fall können wegen der stark unterschiedlichen Zeitkonstanten beide Effekte als entkoppelt behandelt werden. Im Cystein hat die Summe der Geschwindigkeitskonstanten für den intramolekularen Protonenaustausch zwischen Thiol- und Aminogruppe den Wert  $1/\tau' = 3.6 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$ .

Eine direkte Berechnung der individuellen Geschwindigkeitskonstanten  $k'_{12}$  und  $k'_{21}$  und damit der mikroskopischen pK-Werte aus Relaxationsmessungen setzt die Kenntnis der Gleichgewichtskonstanten  $K_5$  voraus. Die Bestimmung der mikroskopischen Konstanten aus der Kombination von potentiometrischen und spektralphotometrischen Titrations<sup>[1]</sup> gelingt jedoch nur unter der einschränkenden Voraussetzung, daß die Absorption der deprotonierten Thiolgruppe vom jeweiligen Protonierungsgrad der Aminogruppe unabhängig ist. Diese Annahme läßt sich mit kinetischen Methoden überprüfen, wenn neben dem Reaktionsvolumen  $\Delta V = V_B - V_C$  noch bekannt ist, auf welcher Seite das Gleichgewicht liegt. Dann ist eine eindeutige Bestimmung von  $K_5 = \bar{c}_B/\bar{c}_C = \gamma/1 - \gamma$  aus der Messung der maximalen Schallabsorptionsamplitude  $(\Delta\alpha/\nu)_{\text{max}} = \text{const.} \cdot \gamma(1 - \gamma) \cdot \Delta V^2$  möglich.

Unabhängig davon kann jedoch festgestellt werden, daß der intramolekulare Protonenaustausch zwischen benachbarten Gruppen in den untersuchten Systemen (s. Tabelle) um zwei bis drei Größenordnungen schneller ist als die Protolyse- (oder Hydrolyse-)reaktionen<sup>[7]</sup>

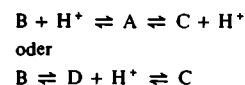


Tabelle. Relaxationszeiten für die intramolekularen Protonenübertragungen.

| Verbindung   | $\tau$ [s]          |
|--------------|---------------------|
| Cystein      | $2.8 \cdot 10^{-9}$ |
| Homocystein  | $4.4 \cdot 10^{-8}$ |
| Penicillamin | $4.9 \cdot 10^{-8}$ |
| Glutathion   | $1.6 \cdot 10^{-8}$ |
| Cysteamin    | $3.3 \cdot 10^{-8}$ |

Das bedeutet, daß die direkte Protonenübertragung zwischen den beiden funktionellen Gruppen unter Zwischenschaltung von Wasserbrücken wesentlich leichter erfolgen kann als die entsprechenden Reaktionen über die freien Protonen oder Hydroxid-Ionen.

Diese Ergebnisse sind von besonderem Interesse im Hinblick auf Enzymreaktionen, in denen durch schnelle Strukturumwandlungen ( $10^{-7}$  s) miteinander reagierende Gruppen in engen räumlichen Kontakt gebracht werden können. Sie zeigen, daß die Elementarprozesse der intramolekularen Protonenübertragung vergleichbar schnell oder schneller als Strukturumwandlungen ablaufen.

Eingegangen am 14. Januar 1972 [Z 604]

[1] R. E. Benesch u. R. Benesch, J. Amer. Chem. Soc. 77, 5877 (1955).

[2] K. Wallenfels u. Ch. Streffer, Biochem. Z. 346, 119 (1966).

[3] E. Coates, C. Marsden u. B. Rigg, Trans. Faraday Soc. 65, 863 (1969).

[4] J. T. Edsall u. J. Wyman: Biophysical Chemistry. Bd. 1. Academic Press, New York 1966.

[5] M. Eigen u. L. de Maeyer in A. Weissberger: Technique of Organic Chemistry. Bd. 8/2, Interscience, New York 1963.

[6] F. Peters, noch unveröffentlicht.

[7] M. Eigen, Angew. Chem. 75, 489 (1963); Angew. Chem. internat. Edit. 3, 1 (1964).

## Totalsynthese von $[\alpha, \gamma-^{14}\text{C}_2]$ -Uroporphyrin III

Von Burchard Franck, Dietrich Gantz und Fritz Hüper<sup>[\*]</sup>

Uroporphyrin III (6) sowie dessen Hexahydro-Derivat, das Uroporphyrinogen III (4) werden als Biosynthese-Vorstufen der biologisch wichtigen Tetrapyrrole Häm, Chlorophyll und Vitamin B<sub>12</sub> diskutiert<sup>[1]</sup>. Spezifisch  $^{14}\text{C}$ -markiertes Uroporphyrin III und Uroporphyrino-

gen III zur Prüfung dieser Vorstellungen durch Fütterungsversuche standen bisher nicht zur Verfügung<sup>[2]</sup>. Wir teilen hier ein Verfahren zur Totalsynthese von  $[\alpha, \gamma-^{14}\text{C}_2]$ -Uroporphyrin in Form seines haltbaren, als Ausgangsmaterial für Fütterungsversuche gut geeigneten Octamethylesters (5) mit. Hieraus läßt sich das Uroporphyrinogen III durch Hydrolyse und Reduktion leicht gewinnen.

Für die spezifische  $^{14}\text{C}$ -Markierung wurden die Methin-Gruppen  $\alpha$  und  $\gamma$  ausgewählt. Zum einen läßt sich hier die Radioaktivität während der letzten Schritte einer hinsichtlich Stufenzahl und Ausbeute günstigen *konvergierenden Synthese*<sup>[4]</sup> einführen und zum anderen können die entsprechenden C-Atome wichtiger biogenetischer Folgeprodukte zur Lokalisation der Radioaktivität selektiv herausgespalten werden<sup>[5, 6]</sup>.

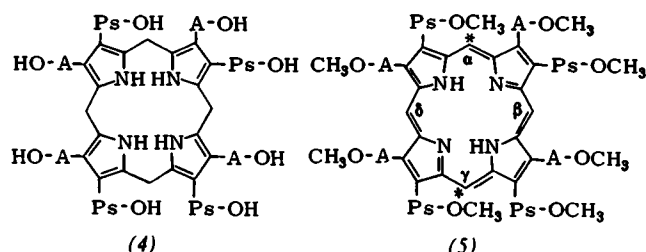
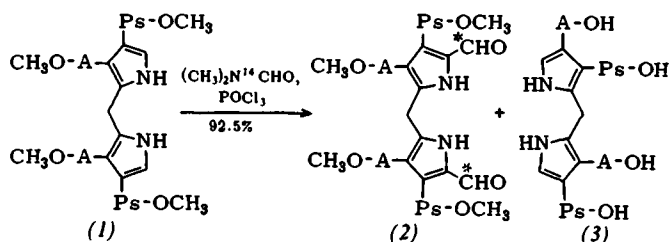
In Anlehnung an MacDonald<sup>[7]</sup> und Treibs<sup>[8]</sup> wurden in 13- bzw. 11-stufigen Synthesen die Dipyrromethane (1) und (3) dargestellt. Um (1) für einen anschließenden säurekatalysierten Porphyrin-Ringschluß in den radioaktiven Dialdehyd (2) zu überführen, kam nur die Vilsmeier-Reaktion mit  $[\text{C}^{14}\text{O}]$ -Dimethylformamid/ $\text{POCl}_3$  in Betracht. Bei anderen Aldehydsynthesen beeinträchtigt der erforderliche höhere Überschuß an radioaktivem Formylierungsreagens die Radioaktivitätsausbeute erheblich. Auch bei der Vilsmeier-Reaktion von (1) wurde das radioaktive Dimethylformamid entgegen der sonst bei Isotopenmarkierungen üblichen Verfahrensweise in einem wenn auch geringeren Überschuß eingesetzt, um das wegen der langwierigen Darstellung wertvollere Dipyrromethan (1) mit optimaler Ausbeute reagieren zu lassen. So betrug die Gewichts- und Radioaktivitätsausbeute der Überführung von (1) in den  $^{14}\text{C}$ -markierten Dialdehyd (2) 92,5% bei einer Radioaktivitätsausbeute von 17%. Kondensation des radioaktiven Dialdehyds (2) mit dem Dipyrromethan (3) in Eisessig bei Gegenwart von Jodwasserstoffsäure, anschließende Luftoxidation und Methylierung mit Methanol/ $\text{HCl}$  ergaben mit 52% Ausbeute, bezogen auf (2), den radioaktiven, kristallisierten Uroporphyrin-III-octamethylester (5),  $\text{Fp} = 258-261^\circ\text{C}$  ( $258-260^\circ\text{C}^{[7]}$ ).

### $[(^{14}\text{CHO})_2]$ -Dipyrromethan-dicarbaldehyd (2):

Zu 140 mg (1.9 mmol, 2.5 mCi)  $[\text{C}^{14}\text{O}]$ -Dimethylformamid<sup>[9]</sup> in 0.2 ml wasserfreiem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurden unter Eiskühlung nacheinander 0.18 ml (2.0 mmol)  $\text{POCl}_3$ , tropfenweise eine Lösung von 100 mg (0.22 mmol) des Dipyrromethans (1) in 1 ml wasserfreiem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  und 0.05 ml (0.54 mmol)  $\text{POCl}_3$  gegeben. Diese Reaktionsmischung hielt man 1 Std. auf  $20^\circ\text{C}$ , erwärmte dann 1 Std. auf  $50^\circ\text{C}$ , wobei das  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  abdestillierte, kühlte wieder auf  $0^\circ\text{C}$  ab, löste in 100 ml Eiswasser und versetzte bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Natriumacetat. Nach drei Tagen wurde das Reaktionsprodukt abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus 60-proz. Äthanol umkristallisiert; 103 mg (92,5%), 0.43 mCi (17%) Dialdehyd (2).

### $[\alpha, \gamma-^{14}\text{C}_2]$ -Uroporphyrin-III-octamethylester (5):

Eine Lösung von 99 mg (0.19 mmol, 0.15 mCi) (2) und 77.6 mg (0.19 mmol) (3) in 120 ml Eisessig wurde mit 0.6 ml 56-proz. HJ in 28 ml Eisessig versetzt<sup>[7]</sup>. Nach 20 min. gab man zu der tiefroten Reaktionsmischung 1.9 g Natriumacetat in 28 ml Eisessig, leitete Luft ein, saugte nach 24 Std. den dunkelbraunen Niederschlag ab, ließ ihn gelöst in 5-proz. methanolischer HCl 24 Std. bei  $20^\circ\text{C}$  stehen und extrahierte nach Zugabe von Eiswasser mit  $\text{CHCl}_3$ . Der getrocknete Rückstand des  $\text{CHCl}_3$ -Auszugs wurde durch Schichtchromatographie



A =  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$

Ps =  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$  (6), A-OH, Ps-OH statt A-OCH<sub>3</sub>, Ps-OCH<sub>3</sub>

[\*] Prof. Dr. B. Franck und Dr. D. Gantz  
Organisch-Chemisches Institut der Universität  
44 Münster, Orléans-Ring 23  
Dr. F. Hüper, jetzige Anschrift:  
Farbenfabriken Bayer AG  
56 Wuppertal-Elberfeld