

Isothebaine is cryptophenolic and presumably has an *o: o'*-substituted phenolic nucleus, and for the alkaloid itself we propose the structure (III, $R = H$), which is strongly supported by the fact that isothebaine gives only a pale fawn colour when treated with diazotized sulphanilic acid in alkaline solution. All 4-hydroxy-bases of the aporphine and morphine groups with a vacant position 1 that we have examined couple immediately with diazotized sulphanilic acid under these conditions to give intensely red solutions, and thus the only other possible cryptophenolic structure, (II, $R = H$) can be ruled out of consideration. Indeed the structure (III, $R = H$) is the only phenolic structure based on a 4:5:6- or a 3:4:5-trioxyaporphine that has not got a free position *ortho* or *para* to hydroxyl available for coupling with diazonium salts.

In further pursuit of this problem the synthesis and resolution of 5-ethoxy-4:6-dimethoxyaporphine for comparison with (+)-isothebaine ethyl ether is now in progress.

We wish to thank Professor T. R. GOVINDACHARI for the kind gift of a sample of ($\pm$)-4:5:6-trimethoxyaporphine hydriodide, Dr. J. MÜLLER of CIBA Limited, Basle, for the very generous gift of 1.5 g of isothebaine hydrochloride, and Dr. F. B. STRAUSS and Mr. F. H. L. H. HASTINGS of the Dyson Perrins Laboratory, Oxford, for the determination of the infra-red spectra.

K. W. BENTLEY and S. F. DYKE

The Chemistry Department, The University, Aberdeen, March 10, 1956.

Zusammenfassung

Beweismaterial wird vorgelegt, das entschieden darauf hindeutet, dass Isothebain-methyläther (+)-4:5:6-Tri-methoxyaporphin und Isothebain (+)-5-Oxy-4:6-dimethoxyaporphin ist.

Zur biologischen Bedeutung von Fe^{3+} und Cu^{2+} als Komplexbildner

Die Frage, in welcher Weise sich die von den Organismen aufgenommenen Metallionen auf die verschiedenen, für das biochemische Geschehen wichtigen – und in den Fermenten zum Beispiel sicher sehr spezifisch strukturierten – Chelatgruppen verteilen und wie, angesichts des stark unterschiedlichen Komplexbildungsvermögens der «biologischen» Ionen, diese Verteilung aufrechterhalten werden kann, oder aber mit welchen Änderungen in dieser Ordnung im Laufe der Zeit zu rechnen ist, ist in mehrfacher Hinsicht von Interesse. Anlässlich der Tagung der Gerontologischen Gesellschaft in Basel wurde¹ auf Grund der aus der «Irving-Williams-Reihe»² für die M^{2+} abzuleitenden Gefährdung der Metallenzyme im Organismus durch die «stärksten» Ionen dieser Reihe, insbesondere durch Cu^{2+} , das Problem formuliert, ob sich Alternerscheinungen mit einer zunehmenden Besetzung von Chelatgruppen durch diese die beständig-

sten Komplexe bildenden Ionen und mit den nach solchen Austauschreaktionen besonders für die Fermentaktivität zu erwartenden Störungen in Zusammenhang bringen lassen.

Die kürzlich am Hämatologenkongress in Freiburg von RECHENBERGER³ mitgeteilte Beobachtung:

«Im Laufe des Lebens nimmt der Depoteisengehalt in den Depotorganen chemisch und histochemisch signifikant zu und erreicht in den höchsten Altersklassen bei beiden Geschlechtern sein Maximum»

veranlasst uns, über Untersuchungen zu berichten, die wir – da die angegebene «Irving-Williams-Reihe» nur die M^{2+} berücksichtigt – unternommen haben, um uns über die Konkurrenzierung von Fe^{3+} und Cu^{2+} bei der Besetzung verschiedener Chelatgruppen zu informieren.

Über das Verhältnis der Fe^{3+} - zu den Cu^{2+} -Ionen in bezug auf Stärke der Komplexbildung gegenüber verschiedenen Liganden ist bisher wenig bekannt geworden. Aus Versuchen mit Salizylsäure⁴ und Zitronensäure⁵ geht hervor, dass bei diesen Verbindungen Fe^{3+} stärker gebunden wird als Cu^{2+} . Über eine ähnliche Beobachtung mit Proteinen berichtet KLORZ⁶.

Wir benutzten bei unseren Untersuchungen ein Austauschgleichgewicht vom Typus:



Die stöchiometrische Zusammensetzung sowohl der Chelatkomplexe als auch der in hydratisierter Form oder in Gegenwart von CH_3COO' als Azetatokomplex vorliegenden Metallionen bleibt ungewiss. Die Lage des angeführten Gleichgewichtes wurde spektrophotometrisch ermittelt unter Verwendung von geeigneten Absorptionsbanden des im System vorliegenden Cu- oder Fe-Komplexes.

Die untersuchten Systeme waren durch 0,5*m* Azetatt-puffer auf pH 4,15 $\pm$ 0,05 eingestellt und enthielten Cu^{2+} , Fe^{3+} und auch den Komplexbildner in einer Konzentration von 10^{-3} – 10^{-4} .

Es zeigte sich in unseren Versuchen, dass Glutaminsäure, Histidin und Histidyl-Histidin Cu^{2+} stärker binden als Fe^{3+} , während durch Weinsäure, *o*-Methoxyphenol, *o*-Aminophenol und Natrium-Pyrophosphat Fe^{3+} stärker als Cu^{2+} gebunden werden, das heisst, es wird entsprechend diesen Angaben durch das eine Ion das Gegenion aus dem vorgelegten Komplex verdrängt.

Diese Ergebnisse zeigen bereits, dass in bezug auf die Stabilität der Fe^{3+} - und Cu^{2+} -Komplexe eine Strukturspezifität für die verschiedenen Chelatverbindungen anzunehmen ist. Entsprechendes wird auch für die Fermentchelate gelten, so dass sowohl Cu^{2+} als aber auch Fe^{3+} die weniger stark gebundenen Metallionen verdrängen können. In welcher Weise und in welchem Umfang die Organismen dieser Gefährdung der Metallfermente begegnen können, ist zu untersuchen. Zu berücksichtigen ist, dass die Unterschiede in den Beständigkeitskonstanten der mit verschiedenen Verbindungen und mit verschiedenen Ionen aufgebauten Chelate nicht, wie man nach der Irving-Williams-Reihe vermuten

³ J. RECHENBERGER, *Europäischer Hämatologen-Kongress 1955*, Autorreferate, S. 42.

⁴ A. K. BABKO, *Zavodskaya Lab.* 13, 645 (1947); ref. in *Chem. Abstr.* 43, 3306h.

⁵ R. C. WARNER und I. WEBER, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 5086 (1953).

⁶ I. KLOTZ, *A Symposium on the Mechanism of Enzyme Action* (Baltimore 1954) S. 266.

¹ S. FALLAB, *Schweiz. med. Wschr.* 85, 687 (1955).

² H. IRVING und R. J. P. WILLIAMS, *J. chem. Soc.* 1953, 3192. – Siehe auch: P. G. LÄUGER, S. FALLAB und H. ERLÉNMEYER, *Helv. chim. Acta* 37, 1050 (1954); 38, 92 (1955). – W. REGENASS, S. FALLAB und H. ERLÉNMEYER, *Helv. chim. Acta* 38, 1448 (1955).

könnte, stets die gleichen sind, sondern starke strukturspezifische Verschiedenheiten zeigen. Die Werte zum Beispiel für $K_{Cu^{2+}}/K_{Fe^{2+}}$ zeigen starke Schwankungen, so dass je nach dem Konzentrationsverhältnis der Metallionen einerseits und der Liganden andererseits auch das «schwächere» Metallion Chelate ausbilden kann. Die Beobachtung von RECHENBERGER weist jedoch darauf hin, dass im Laufe der Zeit in zunehmendem Umfange eine Anreicherung der «starken» Metallionen eintreten kann.

S. FALLAB, MARGRITH SCHUSTER
und H. ERLÉNMEYER

Anstalt für Anorganische Chemie der Universität Basel,
den 12. März 1956.

Summary

The possible role of the metabolism of heavy metal ions in the process of ageing is discussed. It is suggested that, during this process, Cu^{2+} and Fe^{3+} as strong complexing ions, inhibit the activity of other metal enzymes by replacing their metal ion-activator. The relative stability of Cu^{2+} - and Fe^{3+} -complexes with various chelating compounds related to biological systems has been determined.

A New Concept of the Alkaline Oxidation of Uric Acid¹

Scheme I shows the concept of the alkaline oxidation of uric acid (I), as based on the work of several German

¹ Communication V in the series: *Isotope experiments on the degradation of uric acid*. Communication IV see H. BRANDENBERGER, *Biochim. biophys. Acta* 18, 519 (1955). – Presented at the 128th National Meeting of the American Chemical Society, Minneapolis, Minn., September 1955.

authors², and as generally accepted prior to 1953³. The key intermediate in this series of reactions is II, the so-called BEHREND compound or hydroxy-acetylene-diureido-carboxylic acid (octahydro-6 α -hydroxy-2,5-dioxoimidaz[*d*]imidazole-3 α -carboxylic acid). This intermediate was postulated by BEHREND⁴, on the basis of work of FISCHER and ACH⁵, as the only possible symmetrical compound from uric acid able to undergo transformation into the following: uroxic acid (III) by simple hydrolysis; allantoin (IV) by decarboxylation and hydrolysis with or without rearrangement (this reaction has been formulated in different ways); oxonic acid (allantoxanic acid) (V) and allantoxaidine (VI) by further oxidation, deamination and decarboxylation. Cyanuric acid (VII) was thought to result mainly from III by oxidative decarboxylation and ring closure with release of NH_3 . However, it was stated that VII could also be formed from V or VI in a reaction believed to be an oxidative rearrangement⁶.

In 1953 the present author called attention to the fact that oxonic acid and allantoxaidine cannot have structures V and VI, and he proposed *s*-triazine formulas for these compounds and their derivatives³. By degrading 2-, 4-, 6- and 8-labelled ¹⁴C-uric acids and 7-labelled ¹⁵N-uric acid, it could be shown that the uric acid carbon atoms 2, 4 and 8, and the nitrogen atoms 3 and 9 are incorporated into the ring of oxonic acid and into allantoxaidine. The third nitrogen in the two degradation products is contributed 50% each from former uric acid positions 1 and 7, and the carboxyl carbon of oxonic

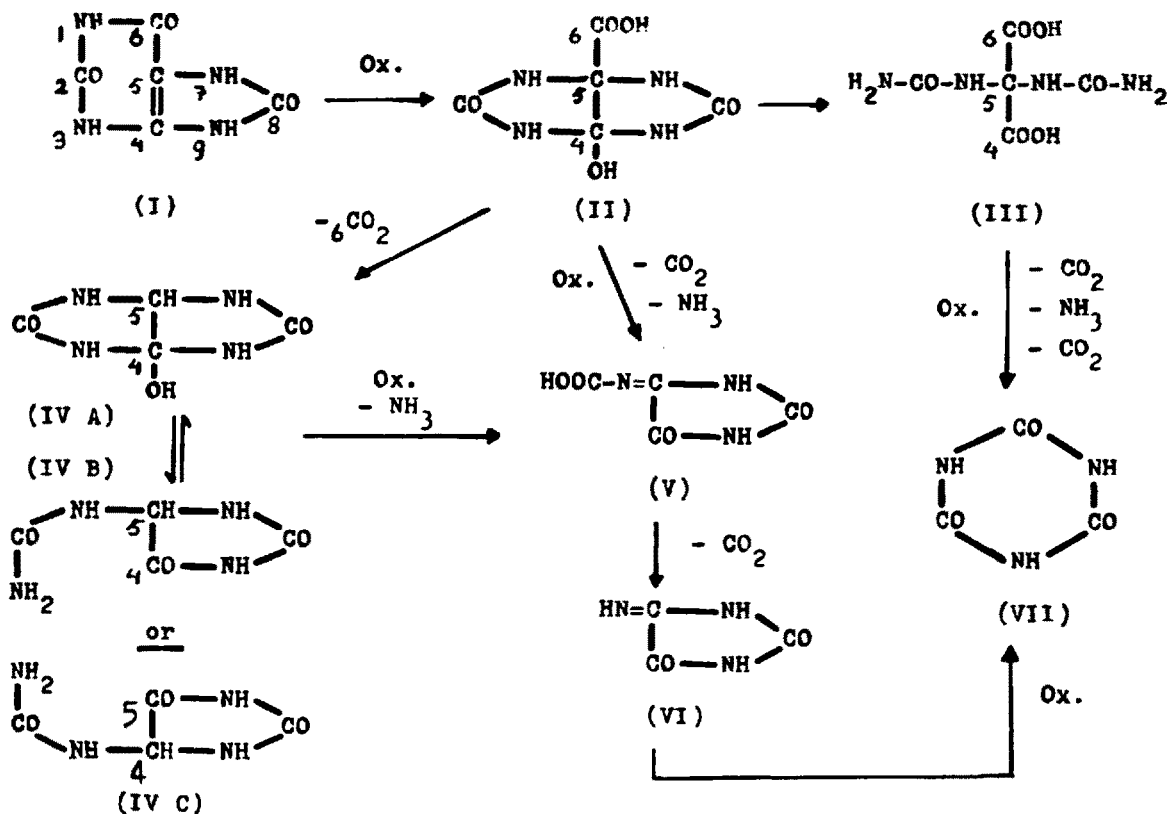
² H. BILTZ and H. SCHAUDER, *J. prakt. Chem.* 106, 108 (1923).

³ H. BRANDENBERGER, *Chimia* 7, 233 (1953); *Helv. chim. Acta* 37, 641 (1954).

⁴ R. BEHREND, *Liebigs Ann. Chem.* 333, 141 (1904).

⁵ E. FISCHER and F. ACH, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 32, 2726 (1899).

⁶ H. BILTZ and R. ROBL, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 53, 1967 (1920); 54, 2441 (1921).



Scheme I.—Old concept of the alkaline uric acid oxidation.