

(stabil) $b // b$ Chitin (Faserachse) mit $2 \times b$ Pentachlorphenol = 9,94 Å und b Chitin = 10,46 Å³. Für die beschriebenen Verwachsungen auf Nylon 6,6 sind die Übereinstimmungen der korrespondierenden Gitterperioden bedeutend weniger befriedigend, zum Beispiel ergibt sich für Pentachlorphenol (instabil) mit der Nadelachse $b // c$ Nylon 6,6 (Faserachse) mit $4b = 4 \cdot 3,84 \text{ Å} = 15,36 \text{ Å}$ und $c = 17,20 \text{ Å}$ eine Abweichung von 10,8% bei tetramerem b .

J. WILLEMS

Krefeld, Tiergartenstrasse 21, den 25. Januar 1957.

Summary

Orientated overgrowth on organic high-polymers is as yet only known for organic crystals of which the molecules are closely similar in shape to the molecules of the high-polymer substrate.

The present investigation reports the orientated overgrowth on organic high-polymers by crystals of organic molecules thoroughly unlike in shape compared with the molecules of the substrate.

Orientated overgrowth of organic crystals on tendons of arthropodes is especially emphasized.

³ K. H. MEYER und G. W. PANKOW, *Helv. chim. Acta* 18, 589 (1935).

⁴ C. W. BUNN und E. V. GARNER, *Proc. Roy. Soc. (London)* (A) 189, 39 (1947).

Triterpenes of *Alstonia scholaris* (Dita-Bark)

Recently, dita-bark was found to contain a product which after several crystallisations from alcohol and ether had a constant m.p. 160°. Repeated chromatography of this over alumina, using petroleum ether (40–60°) as eluent, in the last stage using a very long column, yielded two crystalline products—(A) and (B). Product (A) had 224–225°, $[\alpha]_D^{25} + 80^\circ$ (CHCl₃), molecular formula C₃₂H₅₂O₂ with one acetoxy group and no active hydrogen. On hydrolysis with methanolic potassium hydroxide, it gave a product m.p. 184°, identical with α -amyrin. Product (B) had m.p. 215–216°, $[\alpha]_D^{25} + 40^\circ$ (CHCl₃), molecular formula C₃₂H₅₂O₂ with one acetoxy group and no active hydrogen, mixed m.p. with product (A) 175–177°. On hydrolysis with methanolic potassium hydroxide, it gave a product m.p. 212–213°, identical with lupeol.

It is thus clear that dita-bark contains α -amyrin and lupeol as the acetates. It is of interest to note that it is better to isolate such products without hydrolysis as otherwise it becomes difficult to find out whether the triterpenes occur in the plant in the free state or as acetate or other similar derivative. Also, according to our experience, fractional crystallisation is of very little help for separation of the constituents in such cases, and this may explain the difficulties experienced by previous workers¹ in proper purification and separation of the constituents.

Mrs. D. CHAKRAVARTI,
R. N. CHAKRAVARTI*, and
Miss R. GHOSE

Departments of Chemistry, Bethune College and School of Tropical Medicine*, Calcutta (India), December 19, 1956.

¹ J. JOBST and O. HESSE, *Liebigs Ann. Chem.* 178, 49 (1875). – A. I. ULTEE, *Chem. Weekblad* 11, 456 (1914).

Résumé

Le triterpène majeur de l'écorce d'*Alstonia scholaris* est identifié comme acétate d' α -amyrine et acétate de lupéol.

Hemmung der Azetylierungsfunktion des Coenzym A

Die von COTTET, REDEL *et al.*¹ erstmalig beschriebene blutcholesterin-senkende Wirkung bestimmter Phenyl-alkyl-essigsäuren soll nach Ansicht dieser Autoren auf einer Hemmung der Aktivierung der Essigsäure durch Coenzym A beruhen, womit auch die endogene Synthese des Cholesterins eine Blockierung erleiden würde. ROSSI und SANGUINETTI² zeigten später, dass Phenyl-äthyl-essigsäure eine nicht kompetitive Hemmung der enzymatischen Azetylierung von Sulfanilamid oder Hydroxylamin *in vitro* hervorruft, die durch Coenzym A wieder aufgehoben wird. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten auch MILHAUD und AUBERT³ in Versuchen mit Phenyl-äthyl-essigsäure (α -Phenylbuttersäure) und Phenyl-propyl-essigsäure (α -Phenylvaleriansäure).

GARRATINI *et al.*⁴ konnten dann zeigen, dass die von CAVALLINI und MASSARINI⁵ dargestellte α -p-Biphenylbuttersäure die durch Coenzym A katalysierten *in vitro*-Azetylierungen viel stärker hemmt als Phenyl-äthyl-essigsäure und Phenyl-propyl-essigsäure. Auch im Tierexperiment (durch Triton hervorgerufene Hypercholesterinämie⁶) und in klinischen Untersuchungen an hypercholesterinämischen Patienten⁷ soll sich die neue Säure zur Senkung des Cholesterin-Blutspiegels gut bewährt haben.

Uns interessiert zunächst die Frage, in welchem Masse die Hemmung von *in vitro*-Azetylierungen durch Phenyl-alkyl-essigsäuren als spezifisch für diese Substanzklasse betrachtet werden kann. In Coenzym A-abhängigen enzymatischen Azetylierungssystemen, die Taubenleberextrakte als Ferment enthielten, wurde eine grössere Anzahl von Verbindungen auf ihre Hemmwirkung geprüft. Die Ergebnisse einiger dieser Versuche sind in Tabelle Ia und b wiedergegeben.

Die Versuchsserien a und b unterscheiden sich nicht nur durch das Azetylierungssubstrat (a Sulfanilamid und b p-Aminoazobenzol) sondern auch durch die angewandte Konzentration von Natriumazetat und Coenzym A. Daher sind die durch die verschiedenen Zusätze erzeugten Hemmungen der Azetylierung in den beiden Versuchsserien nicht die gleichen, aber ihre Reihenfolge ist grössenordnungsmässig nicht sehr unterschiedlich.

Die Tabelle zeigt, dass enzymatische Azetylierungen in Gegenwart von Coenzym A keineswegs nur durch Phenyl-alkyl-essigsäuren in spezifischer Weise gehemmt werden. Es gibt zahlreiche andere Verbindungen, meist mindestens 2 Phenylreste bzw. Benzolkern und eine Carboxyl- oder phenolische Hydroxylgruppe enthal-

¹ J. COTTET und J. REDEL, *C. r. Acad. Sci.* 236, 2553 (1953). – J. COTTET, A. MATHIVAT und J. REDEL, *Pr. méd.* 62, 939 (1954).

² C. A. ROSSI und F. SANGUINETTI, *Giorn. Bioch.* 4, 210, 385 (1955); ref. in: *Chem. Abstr.* 50, 7912 i, 11812 f (1956).

³ G. MILHAUD und J. P. AUBERT, *Exper.* 12, 99 (1956).

⁴ S. GARRATINI *et al.* *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 31, 1653 (1955).

⁵ G. CAVALLINI und E. MASSARINI, *Farmaco*, ed. sc. 11, 167 (1956).

⁶ S. GARRATINI, C. MORPURGO und N. PASSERINI, *Exper.* 12, 317 (1956).

⁷ G. ANNONI, *Farmaco*, ed. sc. 11, 214 (1956).

Tabelle I
Enzymatische Azetylierung von Sulfanilamid und p-Aminoazobenzol in Gegenwart verschiedener Substanzen.

Die in den Kolonnen eingetragenen Zahlen bedeuten den nach Zusatz eines Inhibitors verbleibenden prozentualen Anteil der Azetylierung. Die Berechnung der Werte erfolgt nach der Formel:
$$100 \frac{\text{gef. \% Azetylierung in Anwesenheit des Inhibitors}}{\text{gef. \% Azetylierung in Abwesenheit des Inhibitors}}$$

Die den Nenner der Formel darstellenden Zahlen sind in der letzten Zeile der Tabelle (unter dem Strich) angegeben. Sie sind abhängig von der Aktivität des angewandten Enzympräparates und den im Taubenleberextrakt noch vorhandenen geringen Mengen von Coenzym A. Wo zwei Zahlen angegeben sind (von-bis) handelt es sich um die Grenzwerte für Versuche mit verschiedenen Enzymextrakten.

| Inhibitor | a Azetylierung von Sulfanilamid | | | b Azetylierung von p-Aminoazobenzol | | | |
|--|---------------------------------|-----------|------|-------------------------------------|------|-------|------|
| 1. p-Biphenylglyoxylsäure | 0 | 0 | | | | 24,1 | |
| 2. α-Naphtol | 0* | | | | | 24,4* | |
| 3. β-Naphtol | 1,3* | | | ** | | 23,6* | |
| 4. α-[p-Biphenyl]-buttersäure | 0,8–4,9 | 1,0–5,6 | | 13,1–20,4 | 14,3 | | |
| 5. Morin | | | | 12,2** | | | |
| 6. Rutin | | | | 27,2** | | | |
| 7. α,α,β-Triphenyl-propionsäure | | | | 32,8 | | | |
| 8. 9-Xanthylelessigsäure | | 6,4 | | | | | |
| 9. p-Biphenylelessigsäure | | 7,4 | | | | | |
| 10. 4'-Chlor-2-benzoylbenzoesäure | 8,3 | | | | | | 37,0 |
| 11. 9-Anthracen-carbonsäure-2 | 11,6 | | | | | | |
| 12. 3-Oxynaphtoesäure-2 | 12,8 | | | | | | 34,9 |
| 13. p-Biphenyl-äthyl-glykolsäure | 14,3 | | | | | | |
| 14. β-Naphtoesäure | 14,8 | | | | | | 35,5 |
| 15. Ölsäure | | | 21,8 | | | | |
| 16. mono-Cholesterylphosphat | 22,9 | | | | | | |
| 17. α-[Naphtyl-(1)]-buttersäure | | 24,1 | | | | | |
| 18. α-Naphtoesäure | | | | 46,2 | | | |
| 19. mono-Cholesterylphosphit | | 30,4 | | | | | |
| 20. mono-Sitosterylphosphit | | 31,1 | | | | | |
| 21. Phenyl-benzyl-essigsäure | | 36,0 | | | | | |
| 22. mono-Dihydrocholesterylphosphit | | 38,2 | | | | | |
| 23. 9-Fluoren-carbonsäure | | 38,6 | | | | | |
| 24. α-Phenylbuttersäureamid | | | 46,6 | | | | |
| 25. α-(5-Indanyl)-buttersäure | | 47,0 | | | | | |
| 26. Diphenylelessigsäure | 46,1–51,6 | | | | 34,6 | | |
| 27. 1-Indencarbonsäure | | 55,6 | | | | | |
| 28. Undecylensäure | 66,7 | | | | | | |
| 29. Dicyclopentylelessigsäure | | 67,4 | | | | | |
| 30. α-Naphtylelessigsäure | 71,4 | | | | | | |
| 31. Jod-oxy-chinolinsulfonsäure | 76,0 | | | | | | |
| 32. Erucasäure | 76,5 | | | | | | |
| 33. β-Phenylvaleriansäure | | 82,5–84,5 | | | | | |
| 34. Stearinsäure | 91,0 | | | | | | |
| 35. α-Phenylbuttersäure | | 92,8 | 78,7 | 100 | 75,1 | | |
| 36. Nikotinsäure | 97,0 | | | | | | |
| 37. Phenylelessigsäure | | 98,8 | | | | | |
| 38. Benzoesäure | | 106,8 | | | | | |
| ohne Inhibitor (als 100 angenommen) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | |
| ohne Inhibitor (tatsächlich gemessene Azetylierungswerte in Prozent) | 91,9–95,5 | 76,7–87,2 | 59,8 | 90–91,5 | 83,6 | 61,9 | 49,9 |

* pH 8. ** 2 h Inkubationszeit.

a Azetylierung von Sulfanilamid⁸

| Versuchsansätze: | «Reaktionsgemisch» pro Ansatz (0,5 ml) | mg | μM |
|---|--|---------------------|------|
| 0,25 ml Taubenleber-Enzymlösung | KCl | 0,24 | |
| 0,50 ml «Reaktionsgemisch» | Na-Bikarbonat | 6,7 | 80 |
| 0,30 ml 0,0333 molare Lösung (10 μ M) des Inhibitors, mit verdünntem NaOH bzw. KOH in Lösung gebracht (pH 7 bis 8; beim α- und β-Naphtol stärker alkalisch) | Zystein × HCl | 1,57 | 10 |
| | ATP (Dinatriumsalz) | 2,2 | 4 |
| | Na-Zitrat | 7,14 | 20 |
| 1,05 ml Gesamtvolumen | Na-Azetat × 3 H ₂ O | 0,68 | 5 |
| | Sulfanilamid | 0,068 | 0,40 |
| | Coenzym A* | 24,5 γ | |
| | | (etwa 7,5–10 Einh.) | |

Die Konzentration des Inhibitors im Versuchsansatz war $9,5 \times 10^{-3}$, rund 10^{-2} molar; pH ~ 7,2, Temperatur = 37°; Inkubationszeit = 120 min.

⁸ N. O. KAPLAN und F. LIPMANN, J. biol. Chem. 174, 37 (1948).

* Präparat der Firma Pabst Laboratories, Milwaukee, Wisc.

b Azetylierung von p-Aminoazobenzol⁹

Versuchsansätze:

Wie unter a angegeben.

«Reaktionsgemisch» pro Ansatz (0,5 ml)

| | mg | μ M |
|--|------------------------------------|---------|
| Na-Bikarbonat | 6,7 | 80 |
| Glutathion | 3,38 | 11 |
| ATP (Di-Na-Salz) | 2,39 | 4,34 |
| Na-Zitrat | 7,14 | 20 |
| Na-Azetat $\times 3 \text{ H}_2\text{O}$ | 3,4 | 25 |
| p-Aminoazobenzol | 0,065 | 0,33 |
| Coenzym A* | 49 γ (etwa 15–20 Einheiten) | |

Konzentration des Inhibitors wie unter a angegeben; pH \sim 7,2; Temperatur = 37°. Inkubationszeit = 30 min, in den besonders angezeichneten Fällen 2 h.

* R. E. HANDSCHUMACHER, G. C. MUELLER und F. M. STRONG, J. biol. Chem. 189, 335 (1951).

tend, die zum Teil sehr aktive Inhibitoren darstellen. α - und β -Naphthol erwiesen sich zum Beispiel als ebenso wirksam wie α -p-Biphenylbuttersäure und p-Biphenylglyoxylsäure. Zwischen diesen und der nicht hemmenden Phenylessigsäure und Benzoesäure stehen eine grosse Anzahl von Säuren der verschiedensten Konstitution mit allmählich abfallendem Hemmungsvermögen. In der Reihe der arylsubstituierten Essigsäuren scheint durch Anwesenheit eines zweiten Substituenten in Form einer Äthylgruppe stets eine Verstärkung der Inhibitorwirkung aufzutreten (vgl. in der Tabelle Nr. 4 mit Nr. 9, Nr. 17 mit Nr. 30 und Nr. 35 mit Nr. 37). Bemerkenswert ist auch die Überlegenheit der Hemmwirkung des Amides der α -Phenylbuttersäure (Nr. 24) über diejenige des entsprechenden Na-Salzes (Nr. 35). Alle als stark wirksame Inhibitoren erkannten Säuren sind in Wasser schwer löslich; diese Regel ist nicht umkehrbar.

Es wird von Interesse sein, festzustellen, ob die geprüften *in vitro*-Inhibitoren der Acetylierung auch imstande sind, im Tierexperiment den Blutcholesterinspiegel zu senken.

Die Enzymversuche wurden, zum Teil unter Mitwirkung von Dr. RUDOLF GRIOT, durch Herrn WALTER VOGEL durchgeführt. Eine grosse Anzahl der in der Tabelle I angeführten Substanzen wurden von Dr. HANS SANER hergestellt.

TH. WAGNER-JAUREGG

Forschungsabteilung der Siegfried AG., Zofingen, den 1. März 1957.

Summary

It is demonstrated that the acetylation of sulfanilamide and of p-amino-azobenzene, in the presence of pigeon liver extract and coenzyme A, is not only inhibited by α -phenyl fatty acids but also by a considerable number of other substances. The most effective inhibitors contain at least two benzene nuclei and one acidic group (phenolic hydroxyl or a carboxyl group).

Über die Wirkung von Cobalt-II-nitrat auf Kern und Cytoplasma von *Acetabularia mediterranea**

Nachdem die Wirkungen von Dunkelheit¹, 2,4-Dinitrophenol² und Monojodessigsäure³ einerseits, sowie von

Trypaflavin andererseits⁴ auf Zytoplasma und Kern von *Acetabularia* näher untersucht waren, schien es wünschenswert, auch die Wirkung von Cobalt (Co) zu untersuchen, das ebenfalls als zytostatisches Zellgift bekannt ist⁵.

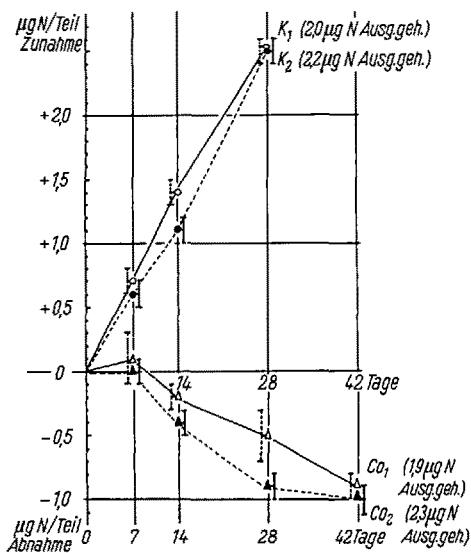


Abb. 1. Verringerung des nicht in Trichloressigsäure löslichen N bei Co-behandelten, kernhaltigen, basalen Stielteilen (Co₁, Co₂ = Versuchsserien 1 und 2; dieselbe Kultur zu verschiedenen Zeiten). K₁ und K₂ die entsprechenden, nicht mit Co behandelten Kontrollserien. Ausgangs-Stiellängen für alle Versuchsserien 10 mm. Alle Bestimmungen erfolgten nach Abtrennung der Rhizoide. Zur Methode siehe WERZ⁶. Jeder Messpunkt: Mittelwert aus 5 Bestimmungen je an mindestens 20 Teilen. Streuungsangaben als 3facher mittlerer Fehler.

Co-II-nitrat wirkte bei der geprüften Kultur von *Acetabularia mediterranea* sehr giftig. In der Konzentration von 5×10^{-4} g/cm³ Erdschreiber waren nach 3–4 Wochen viele Teile stark kontrahiert, eine Reihe irreversibel geschädigt oder abgestorben. Bereits nach 4tägiger Einwirkung, nach der alle Teile (10 mm lange kernhaltige Hinterstücke von Hutzpflanzen mit maximalem Kern⁷) noch reversibel geschädigt waren, begann das Wiederwachsen des Stieles erst nach 30–40 Tagen; er war zudem anfänglich sehr dünn. Aus diesen Gründen konnten Versuche mit langfristiger Einwirkung von Co nicht durchgeführt werden.

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

¹ H. STICH, Z. Naturforsch. 6b, 319 (1951); 8b, 36 (1953); Chromosoma 7, 693 (1956).

² H. STICH, Chromosoma 7, 693 (1956). – J. BRACHET, Exper. 7, 347 (1952).

³ H. STICH, Chromosoma 7, 693 (1956).

⁴ H. STICH, Chromosoma 7, 693 (1956); Naturwissenschaften 18, 435 (1951). – G. WERZ, Z. Naturforsch. (1957) im Druck.

⁵ H. B. LEVY, E. T. SKUTCH und A. L. SCHADE, Arch. Biochem. 24, 198 (1949).

⁶ G. WERZ, Exper. 13, 79 (1957).

⁷ K. BETH, Z. Naturforsch. 8b, 771 (1953).