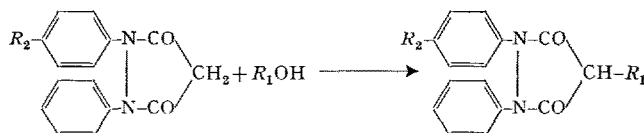

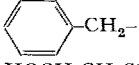
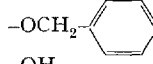
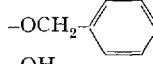


Tabelle



R_1	R_2	Reaktionsbedingungen	Ausbeute	Schmelzpunkte
CH_3-	H	22 h Rückfluss.	—	—
CH_3CH_2-	H	7 h Rückfluss.	53%	105–106°C
$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-$	H	22 h Rückfluss.	54%	144–145°C
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	H	10 min 70–80°C	20%	105,5–106,5°C
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	H	4 h 70–80°C	50%	—
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	H	4 h Rückfluss; Zusatz von 150 ml Benzol	66%	—
	H	5 h 70–80°C, 1 h Rückfluss	12%	174–175°C
	H	22 h 70–80°C	38%	135–137°C
$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	H	4 h Rückfluss; Benzolzusatz	34%*	112–114°C
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	$-\text{OCH}_2-$ 	4 h Rückfluss; Benzolzusatz	53%	129–130°C
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$	$-\text{OH}$ 	4 h Rückfluss; Benzolzusatz	55%	119–120°C

* Es wurde nur das 1,2-Diphenyl-4-(4'-hydroxybutyl)-3,5-dioxo-pyrazolidin isoliert.

Die Reaktion des 1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-pyrazolidins mit Phenylcellosolve (22 h 70–80°C, dann 6 h 90–100°C) ergab überraschenderweise die 4-Äthylverbindung vom Smp. 105–106°C in 12%iger Ausbeute.

Als Nebenprodukte konnten bei einigen Versuchen in geringer Menge Malonsäuredianilid und die monosubstituierten Malonsäuredianilide isoliert werden. Sowohl beim Ausgangsmaterial als auch beim Endprodukt tritt also als Nebenreaktion Spaltung der N–N-Bindung ein. Wie auch WENKERT und BRINGI¹ annehmen, dürfte die Reaktion über folgende Stufen verlaufen: 1. Dehydrierung des Alkohols zum Aldehyd, 2. Knoevenagelkondensation des Aldehyds mit der aktivierten CH_2 -Gruppe des Diaryl-dioxo-pyrazolidins und Wasserabspaltung, 3. Hydrierung der Doppelbindung mit Hilfe des bei der Dehydrierung des Alkohols frei werdenden Wasserstoffs.

R. DENSS

Wissenschaftliche Laboratorien der J. R. Geigy A.G., Basel, 5. Januar 1959.

Summary

The monoalkylation in 4-position of pyrazolidine-3,5-dione derivatives with primary and secondary alcohols, in the presence of Raney-Nickel, is described.

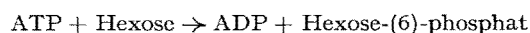
Zur Metallspezifität der Hexokinase

Für zahlreiche Fermentreaktionen ist das Komplexbildungsvermögen von Metallionen von Bedeutung. Solche Metallionen können entweder im Ferment als Koordinationsverbindung vorliegen, oder aber sie werden erst bei der Reaktion aus dem Milieu gebunden. Koordinationschemisch ist es von Interesse, dass bei jedem Metall-

ferment nur ein bestimmtes Metallion optimal wirksam ist. Es stellt sich die Frage, wie eine solche «Spezifität» vom koordinationschemischen Standpunkt aus zu verstehen ist.

Erklärungsbedürftig ist weiterhin die Beobachtung, dass auch schwach komplexbildende Metallionen wie Mg^{2+} und Mn^{2+} in der Natur an zahlreichen Fermentreaktionen beteiligt sind.

Zur Beantwortung dieser Frage untersuchten wir den Einfluss verschiedener zweiwertiger Metallionen auf die Aktivität der Hexokinase¹, eines typisch durch Mg^{2+} aktivierten Phosphat-übertragenden Ferments². Bei den von uns durchgeführten Versuchen wurde die Aktivität des Ferments – unter sonst gleichen Bedingungen – in Gegenwart steigender Mengen verschiedener Metallionen gemessen. Die Aktivität der Hexokinase lässt sich manometrisch in einem Bicarbonatpuffer ermitteln^{3,4}, da bei der Spaltungsreaktion



H^+ frei wird, wodurch sich ein Äquivalent CO_2 bildet.

Es ergab sich, dass das Ferment ausser durch Mg^{2+} auch durch Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} und Cd^{2+} aktiviert wird. Mit Cu^{2+} , Be^{2+} und Ca^{2+} konnte keine Aktivität ermittelt werden.

Versuchsreihen mit jedem der Metallionen ergaben weiterhin, dass die Aktivität der Hexokinase eine charakteristische Abhängigkeit von der Konzentration des akti-

¹ Für die freundliche Überlassung von Hefe-Hexokinase Typ 5 möchten wir an dieser Stelle der Firma SIGMA Chem. Co., St. Louis, Missouri, USA, bestens danken.

² Eine ausführliche Mitteilung mit allen Daten erfolgt an anderer Stelle.

³ L. BERGER, M. W. SLEIN, S. P. COLOWICK und C. F. CORI, J. gen. Phys. 29, 379 (1946).

⁴ J. RAAFLAUB und I. LEUPIN, Helv. chim. Acta 39, 832 (1956).

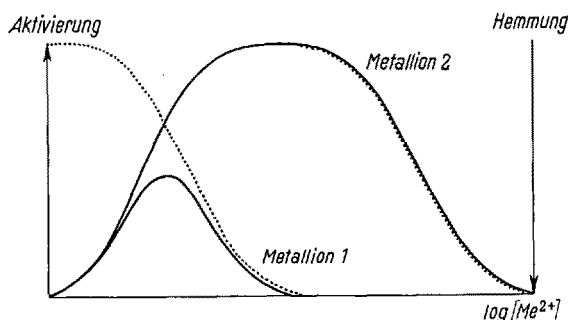
vierenden Metallions zeigt. Sie nimmt zunächst mit steigender Metallionen-Konzentration zu, um dann nach Durchlaufen eines Optimums mit weitersteigender $[Me^{2+}]$ wieder abzunehmen⁵. Die erzielbaren maximalen Aktivitäten sind zusammen mit den optimalen Konzentrationen in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Hexokinase-Aktivitäten (Konzentrationen der Reaktionspartner im Endvolumen von 2 ml: ATP⁶ 0,01 M, Fruktose 0,04 M, NaHCO₃ 0,02 M, Hexokinase¹ 20 γ /ml·pH = 7,5 nach Sättigung mit 5% CO₂/95% N₂, T = 25,0 °C).

Metallion	Optimale $[Me^{2+}]$ (Totalkonzentration)	Maximale Aktivität	
		mm ³ CO ₂ /min	% ⁷
Mg ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$ – $2,5 \cdot 10^{-2}$	8,8	100
Co ²⁺	10^{-2} – $1,25 \cdot 10^{-2}$	7,3	83
Ni ²⁺	10^{-2}	5,8	66
Mn ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$	5,2	59
Zn ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$ – 10^{-2}	4,8	55
Cd ²⁺	$6 \cdot 10^{-3}$	1,4	16
—	—	0,2	2

Die Tabelle zeigt, dass die mit Mg²⁺ erzielte Aktivität mit keinem anderen der untersuchten Metallionen erreicht wird, dass jedoch einige Metallionen vergleichbare Aktivitäten hervorzurufen vermögen.

Bei allen aktiven Metallionen zeigte sich, wie schon erwähnt, ein gleichartiger, glockenförmiger Verlauf der Aktivität als Funktion von $\log [Me^{2+}]$. Dieser Verlauf lässt sich verstehen aus einer Überlagerung einer aktivierenden und einer – bei höherer $[Me^{2+}]$ einsetzenden – hemmenden Wirkung des Metallions (siehe schematische Abbildung).

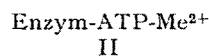
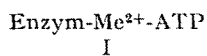


Zu beobachtende Aktivitäten (—) für zwei verschiedene Me^{2+} verschiedener Hemmwirkung (·····) und gleicher Aktivierung⁸

Die unterschiedlichen Aktivitätsmaxima erklären sich alsdann dadurch, dass die Hemmung des Ferments bei den verschiedenen Metallionen bei verschiedener Konzentration einsetzt.

Die Mechanismen von Aktivierung und Hemmung sind im einzelnen noch nicht geklärt. Es wird jedoch allgemein angenommen^{4,9}, dass die Aktivierung des Ferments von

der Ausbildung von Komplexen der Art I oder II abhängt.



Für die Hemmung besteht bei der Annahme einer Zwischenstufe I die Möglichkeit, dass mit der Erhöhung der $[Me^{2+}]$ die Ausbildung von I zugunsten der Partikeln Me^{2+} -Enzym und Me^{2+} -ATP nach der Gleichung



zurückgedrängt wird. Bei Fall II ist denkbar, dass Me^{2+} mit einer funktionellen Gruppe des Enzyms reagiert, die andererseits – zum Beispiel über H-Brücken – als Haftstelle für das Substrat in Betracht kommt; dadurch würde die Ausbildung von II behindert.

Nach den Versuchsergebnissen lässt sich nun die Sonderstellung des Magnesiums dadurch erklären, dass hier die Aktivierung erst bei sehr hoher $[Me^{2+}]$ durch eine Hemmung überlagert wird. Es bedeutet dies, dass der für die Reaktion entscheidende Komplex I oder II für Mg²⁺ über einen wesentlich weiteren Konzentrationsbereich existiert als für die anderen Metallionen (siehe Abbildung, in der die Kurve für Metallion 2 dem Verhalten des Mg²⁺ entsprechen würde).

Die aus der Tabelle abzulesende Folge der Me^{2+} zeigt keine Beziehung zu einer Ordnung der Ionen nach steigender Komplexstabilität, wie sie zuerst von PFEIFFER¹⁰ angegeben worden ist.

Für die Spezifität, die in der Tabelle zum Ausdruck kommt, ist demnach nicht das unterschiedliche Komplexbildungsvermögen der verschiedenen Metallionen verantwortlich, sondern es ist zu vermuten, dass hierfür das Verhältnis zwischen der Stabilität des Substrat- zu dem des Enzym-Komplexes eines jeden Metallions von Bedeutung ist. Dieses Verhältnis kann innerhalb der erwähnten Pfeifferschen Ordnung der Metallionen stark variieren.

H. BRINTZINGER,
S. FALLAB und H. ERLNMEYER

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel,
19. Dezember 1958.

Summary

The activity of hexokinase has been determined in the presence of different metal ions. Besides Mg²⁺, the ions Co²⁺, Ni²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, and Cd²⁺ show remarkable activation. The differences are explained by superposition of an activating and an inhibiting function. The specificity problem is discussed.

¹⁰ P. PFEIFFER, H. THIELERT und H. GLASER, J. prakt. Chem. 152, 145 (1939). – Siehe auch H. IRVING und R. J. P. WILLIAMS, J. Brit. chem. Soc. 1953, 3192.

⁵ Über ähnliche Befunde bei andern Enzymen berichten: N. VAN THOAI, J. ROCHE und M. ROGER, Biochem. biophys. Acta 1, 61 (1947). – J. F. SPECK, J. biol. Chem. 178, 315 (1948). – L. H. STIKLAND, Biochem. J. 44, 190 (1949). – C. S. VAIDYANATHAN und K. V. GIRI, Enzymol. 16, 167 (1953). – B. G. MALMSTRÖM, Arch. biochem. biophys. 58, 381, 398 (1955).

⁶ Na₂ATP SIGMA Chem. Co.

⁷ Mg²⁺-Aktivität = 100% gesetzt.

⁸ Eine ausführliche Diskussion erfolgt an anderer Stelle.

⁹ H. G. HERS, Biochem. biophys. Acta 8, 424 (1952). – C. LIÉ-BECQ, Biochem. J. 54, p. xxii (1953). – N. C. MELCHIOR und J. B. MELCHIOR, J. biol. Chem. 231, 609 (1958).

Die Wirkung von Herzglykosiden und Kalzium auf den Kaliumtransport im Herzmuskel

VON SZENT-GYÖRGYI¹ und HAJDU^{2,3} wurde gezeigt, dass beim Froschherzen das Phänomen der Bowditchschen Treppe sowohl durch kaliumfreie Ringerlösung als auch

¹ A. SZENT-GYÖRGYI, Chemical Physiology of Contraction in Body and Heart Muscle (New York 1953).

² S. HAJDU und A. SZENT-GYÖRGYI, Amer. J. Physiol. 168, 159, 171 (1952).

³ S. HAJDU, Amer. J. Physiol. 174, 371 (1953).