

Die hier untersuchten Muscarinverbindungen bestätigen die auf Grund der Wirkung von Thiomuscarin gemachte Annahme, dass die muscarinische Wirkung durch Bindung der kationischen Ammoniumgruppe und durch Wasserstoffbrückenbindung am nucleophilen Sauerstoff des Furanringes erfolgt. Die mit der 2-Methylgruppe transständige Hydroxylgruppe verstärkt diese Bindung wahrscheinlich durch H-Brücken mit dem Receptor und bedingt die hohe Stereospezifität. Eine Bindung an nikotinischen Rezeptoren scheint nicht möglich zu sein. Sterische Hinderung der H-Brückenbildung des Receptors zum Äthersauerstoff vermindert die muscarinische Wirkung, während sterische Hinderung der Hydroxylgruppe die Aktivität kaum ändert.

Bei Muscaron dagegen haben die Abschirmung des Äthersauerstoffs durch 2 benachbarte Methylgruppen am C-Atom 2 wie auch der Austausch des Sauerstoffs mit dem weniger elektronegativen Schwefelatom im Ring nur wenig Einfluss auf die muscarinische Wirkung. Die Wasserstoffbrücke geht hier vom Receptor zum durch Polarisation viel stärker nucleophilen Carbonylsauerstoff.

Da Muscarin und Muscaron stärkste muscarinische Wirkung haben, müssen die verantwortlichen funktionellen Gruppen auf die gleichen cholinergischen Rezeptoren passen. Sie müssen daher auch ähnliche Atomabstände besitzen. Der maximale Abstand des quaternären N vom Äthersauerstoff im Muscarin beträgt 3,8 Å, wenn die Ammoniumseitenkette vom Furanring seitlich absteht. Beim Muscaron beträgt der minimal mögliche Atomabstand zwischen dem Stickstoffatom und dem Carbonylsauerstoff 4,2 Å, wenn die Ammoniumseitenkette über den Furanring hochgeschlagen ist. Diese Konformation ist im Dreiding-Stereo-Modell ohne starke Hinderung durch die N-Methylgruppen möglich. Sie erklärt, dass *D*-Muscaron, welches in seiner absoluten Konfiguration dem wenig aktiven *D*-Muscarin entspricht, wirksamer als *L*-Muscaron ist, indem die Seitengruppen relativ zur Carbonylgruppe sterisch eine ähnliche Lage wie die Seitengruppen des *L*-Muscarins zum Äthersauerstoff erhalten.

Die kürzlich von BECKETT et al.³ publizierte Struktur des muscarinischen Receptors verlangt für Muscarin einen Atomabstand vom Stickstoffatom zum Äthersauerstoff

von ca. 3,0 Å, was für die Bindung des Carbonylsauerstoffs des Muscarons unmöglich ist. Eine weiter entfernte zweite Bindungsstelle müsste befähigt sein, sowohl zur Carbonylgruppe H-Brücken zu bilden wie auch das Proton der Hydroxylgruppe des Muscarins aufzunehmen. Auch wird damit die gegenüber Muscarin umgekehrte Stereospezifität des Muscarons nicht erklärt.

Die nikotinische Wirkung des Muscarons beruht wahrscheinlich auf den polarisierbaren Elektronenwolken (π - und p -Orbitale) über dem Kohlenstoff der polaren Carbonylgruppe und dem Äthersauerstoff⁴. In der Konformation mit hochgeschlagener Ammoniumseitenkette ist der quartäre Stickstoff beinahe gleich weit vom Äthersauerstoff (3,4 Å) wie vom Carbonylkohlenstoff (3,6 Å) entfernt, das heisst das Molekül ist angenähert symmetrisch, was auch die geringe Stereospezifität des Muscarons erklären würde.

Basierend auf den gefundenen Relationen zwischen Konstitution und Wirkung kann eine Theorie der cholinergischen Wirkung von Muscarin und dessen Analoga aufgestellt werden⁵, mit deren Hilfe möglicherweise Aufschlüsse über die aktive Form des Acetylcholins und den Bau des cholinergischen Receptors gewonnen werden können.

Summary. Relations between structure and biological activity of some new analogues of muscarine are demonstrated. From the results a theory of cholinergic action and the structure of active acetylcholine, as well as the cholinergic receptor, may be developed.

P. WASER

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich (Schweiz),
20. März 1961.

³ A. H. BECKETT, N. J. HARPER, J. W. CLITHEROW und E. LESSER, *Nature* 189, 671 (1961).

⁴ R. B. BARLOW, *Introduction to Chemical Pharmacology* (Methuen, London 1955), p. 127.

⁵ P. G. WASER, *Chemistry and Pharmacology of Muscarine, Muscarone and some Related Compounds, Pharmacological Reviews*, in Vorbereitung.

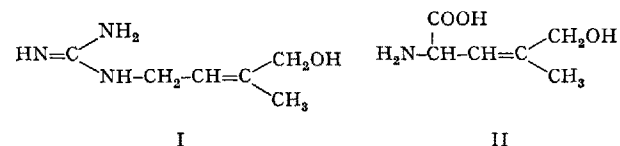
Isolierung eines neuen Guanidin-Derivates aus der Geissraute, *Galega officinalis* L.

Aus Samen der Geissraute isolierten wir durch Chromatographie von Roh-Galeginsulfat¹ an Cellulosepulver (Schleicher & Schüll Nr. 123, Laufmittel *n*-Butanol, gesättigt mit 1,5 *n* HCl) neben Galegin [3-Methyl-but-2-enyl-guanidin-(1)]² ein weiteres Guanidinderivat (I). Sein Hydrochlorid kristallisiert aus *n*-Propanol in Form farbloser Prismen vom Smp. 133–134° (korr.) und besitzt auf Grund der Elementaranalyse³ die Summenformel $C_6H_{13}N_3O \cdot HCl$ (ber. 40,11% C, 7,85% H, 23,39% N; gef. 40,06, 40,19% C, 7,82, 7,76% H, 23,24, 23,29% N). Papierchromatographie: Papier Schleicher & Schüll 2043 b Mgl, 24 h aufsteigende Entwicklung bei 21–23° mit *n*-Butanol/1,5 *n* HCl gesättigt; Nachweis mit Sakaguchi-Reagens (Guanidin-Gruppe) bzw. alkal. $KMnO_4$ -Lösung (C=C-Doppelbindung); Rf-Werte Galeginsulfat 0,80, I-Hydrochlorid 0,59.

Die wegen der positiven Sakaguchi-Reaktion wahrscheinliche Guanidinstruktur wird durch das IR-Spektrum⁴ bestätigt [Banden bei 1620 und 1645 (monosubstituiertes Guanidin⁵), 3160, 3310 cm^{-1}]. Bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig oder Äthanol

ist die H_2 -Aufnahme (1 Mol) wie bei Galeginsulfat nach 5 min beendet; auf dem Chromatogramm ist dann keine $KMnO_4$ -Reaktion mehr festzustellen. Der Sauerstoff liegt als leicht acetylierbare Hydroxygruppe vor.

Auf Grund dieser und weiterer experimenteller Befunde wird für das neue Guanidinderivat die Hydroxy-galeginstruktur I [4-Hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-guanidin-(1)] vorgeschlagen.



¹ E. SPÄTH und S. PROKOPF, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 57, 474 (1924).

² G. TANRET, *C. R. Acad. Sci.* 158, 1182 (1914). – G. BARGER und F. D. WHITE, *Biochem. J.* 17, 827 (1923).

³ Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. A. SCHOELLER, Kronach (Obfr.), ausgeführt.

⁴ Herrn Dr. K. HELLER, Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena, danken wir für die Aufnahme der IR-Spektren.

⁵ T. GOTO, K. NAKANISHI und M. OHASHI, *Bull. chem. Soc. Japan* 30, 723 (1957).

Eine analoge Verbindung, und zwar die ungesättigte Aminosäure 5-Hydroxy-leucenin (II), wurde von WIELAND und SCHÖN⁶ als Baustein des Knollenblätterpilz-Peptides Phalloidin festgestellt. Denkbar wäre, dass 5-Hydroxy-leucenin (II) und I biogenetisch miteinander verbunden sind (Decarboxylierung von II zu 4-Hydroxy-3-methyl-but-5-enyl-amin-(1) und Guanidierung dieser Verbindung zu I).

Papierchromatographisch konnten wir I in Blättern, Wurzeln, Blüten und Samen der Geissraute nachweisen; es war stets in geringerer Menge als Galegin vorhanden (Verhältnis etwa 1:4). Im alkoholischen Samenextrakt liessen sich noch drei weitere Guanidine (Sakaguchi-Reaktion) in weit geringeren Konzentrationen feststellen. Eine dieser Substanzen konnte mit Hilfe zweidimensionaler Papierchromatographie sowie authentischer Vergleichssubstanz als Arginin identifiziert werden⁷.

Bei I handelt es sich wahrscheinlich um die bereits früher in *G. officinalis* neben Galegin papierchromatographisch nachgewiesene zweite Sakaguchi-positive Substanz⁸. Ob die Verbindung jedoch mit der schon von

MÜLLER⁹ aus *Galega*-Samen isolierten, aber nicht näher untersuchten Base identisch ist, bleibt fraglich.

Über weitere Arbeiten zur Konstitution und Synthese von I wird an anderer Stelle berichtet.

Summary. A new guanidine derivative has been isolated from the seeds of *Galega officinalis* L., for which the structure 4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl-guanidine-(1) was proposed.

K. PUFAHL und K. SCHREIBER

Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Pflanzenzüchtung, Quedlinburg (Deutschland), 24. April 1961.

⁶ TH. WIELAND und W. SCHÖN, Liebigs Ann. 593, 157 (1955).

⁷ Vgl. dagegen ⁸.

⁸ M. MOURGUE und R. DOKHAN, C. R. Soc. Biol. 148, 1434 (1954). - J. KOLOUŠEK, M. KUTÁČEK und J. BÍLEK, Sbornik českoslo. Akad. Zemědělské věd 28, 649 (1955).

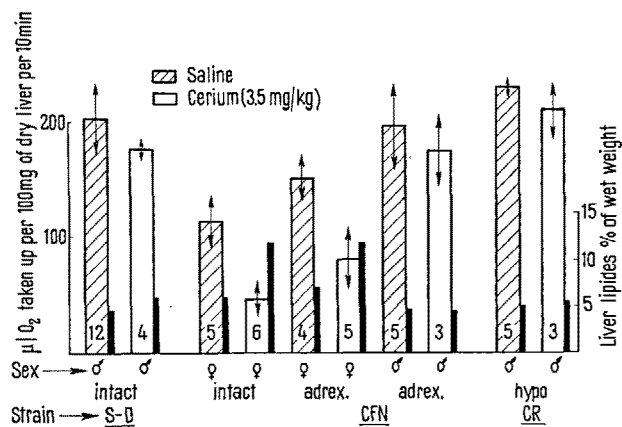
⁹ H. MÜLLER, Z. Biol. 83, 239 (1925).

Choline Oxidase in Fatty Livers Induced by Cerium¹

We have previously shown that lipotropic substances, including choline, have no effect in preventing the fatty liver degeneration caused by cerium², and in this respect the rare-earth fatty liver is different from the ethionine-fatty liver³. Since the choline result was negative in rare-earth injected rats, we wondered whether the metal in any way influenced choline oxidase. Furthermore, the possible correlation of the hepatic choline oxidase activity in various species to the ease with which fatty infiltration of liver occurs during dietary choline deficiency has been stressed by some investigators^{4,5}. SIDRANSKY and FARBER⁶ have re-emphasized the point that the choline pool varies inversely with the choline oxidase activity. Animals with a larger choline pool might thereby be expected to be more resistant to fatty infiltration brought about by a choline deficiency. We were especially concerned with the possible involvement of this enzyme in the development of fatty livers caused by certain members of the cerium rare earth group⁶; of seven species tested, the rat and mouse are most susceptible to the fatty infiltration induced by these elements. Both of these species have very high levels of choline oxidase and are extremely susceptible to fatty infiltration triggered by a choline deficiency. Under certain hormonal conditions² rats injected with cerium do not develop fatty livers; in this paper we have tried to determine whether this difference in lipide response of the rats injected with cerium could be related to the hepatic choline oxidase level and in turn to the ease with which choline deficiency can be induced under these hormonal conditions.

Rats weighing between 150 and 200 g were maintained on Rockland Rat Diet until 24 h before sacrifice, at which time all animals were fasted. Water was always available. The cerium-treated rats were injected intravenously with 2 mg of the metal/kg of body weight in the form of the chloride salt; control animals received an equivalent volume of saline. All rats were killed 48 h after the injections. Choline oxidase was determined in liver homogenates according to the technique of WILLIAMS⁷. Total lipides were extracted and determined as described before².

It is apparent from the data in the Figure that the animals eventually developing fatty livers always had a lower liver choline oxidase activity than those not developing the fatty infiltration. For example, this enzyme is significantly lower in the intact CFN female controls and the adrenalectomized CFN females, both of which get fatty livers if cerium is given intravenously. On the other



Liver choline oxidase 48 h after intravenous cerium. → represents ± 1 standard deviation from the mean value. SD = Sprague-Dawley; CFN = Carworth Farm Nelson; CR = Charles River; adrex. = adrenalectomized; hypo. = hypophysectomized. The large hatched bars (saline controls) and open bars (cerium-injected) represent $\mu\text{l O}_2/100 \text{ mg dry liver}/10 \text{ min}$. The solid bars represent the average of total liver lipides.

¹ Under contract with the United States Atomic Energy Commission.

² F. SNYDER, E. A. CRESS, and G. C. KYKER, J. Lipid Res. 1, 125 (1959).

³ E. FARBER, M. V. SIMPSON, and H. TARVER, J. biol. Chem. 182, 91 (1950).

⁴ P. HANDLER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 70, 70 (1949).

⁵ H. SIDRANSKY and E. FARBER, Arch. Biochem. Biophys. 87, 129 (1960).

⁶ F. SNYDER, E. A. CRESS, and G. C. KYKER, Nature 185, 480 (1960).

⁷ J. N. WILLIAMS, JR., G. LITWACK, and C. A. ELVEHJEM, J. biol. Chem. 192, 73 (1951).