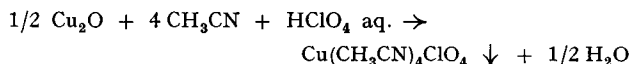


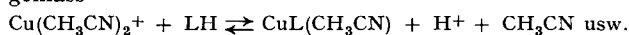
0.1–2.0 N CH_3CN aq. Cu praktisch ausschliesslich in Form des komplexen Kations $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_2^+$ aq. vorliegt. Die Beständigkeit dieser Partikel fanden wir zu $\log \beta_2 = 4.35^5$, die Reversibilität der Reduktion ist befriedigend.

Das Meerweinsche Darstellungsverfahren lässt sich weiter vereinfachen:



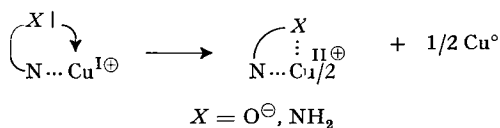
Diese Reaktion verläuft in 2 N HClO_4 bei 100° quantitativ unter Abscheidung des Komplexsalzes beim Abkühlen. Entzieht man dem Kristall CH_3CN , z. B. im Hochvakuum, so tritt Disproportionierung des Cu^{I} auf. Unter N_2 sind die Kristalle im Exsikkator unbeschränkt haltbar, auch bei gelegentlichem Luftzutritt. In molarem wässrigem CH_3CN werden zwei Solvatmoleküle gegen H_2O ausgetauscht. Hydrolyse tritt bei ca. pH 6 auf, scharf erkennbar am Farbumschlag nach Gelb und Ausflockung von Cu_2O .

Das Komplexsalz reagiert mit Nukleophilen reversibel gemäss



Mit eizähnigen N-Liganden entstehen direkt die farblosen, linearen 1:2-Komplexe (z. B. $\text{L} = \text{NH}_3$, Pyridin, Imidazol, Uracil-Anion). Die Komplexbildung lässt sich in normaler Weise pH-metrisch verfolgen. Unter Benutzung der oben erwähnten polarographisch ermittelten Beständigkeitskonstanten ergibt sich für $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2^+$ $\log \beta_2 = 10.18$ bei 25°C in 0.1 N NaClO_4 , in guter Übereinstimmung mit dem reduktometrisch ermittelten Wert⁶ von $\log \beta_2 = 10.86$ bei 18°C in 2 N NH_4NO_3 . Die neue pH-metrische Methode ist an Einfachheit und Anwendungsbreite jedoch weit überlegen. Reine O-Liganden ($\text{L} = \text{Acetat}$, Brenzkatechinat, Acetylacetonat) setzen sich nicht mit $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_2^+$ um unterhalb des Hydrolysen-pH.

Überraschend ist das Verhalten zweizähniger N-Liganden: Glycin z. B. bildet zunächst den Diammin-analogen farblosen Komplex $\text{HOOCCH}_2\text{H}_2\text{N}-\text{Cu}-\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}]^+$, welcher aber bei Neutralisation der COOH -Gruppen momentan autoxydiert bzw. (in anaerobem Milieu) disproportioniert unter Abscheidung von metallischem Cu und tiefblauem Cu^{II} -Glycinat. Entsprechendes gilt für Aethylendiamin:

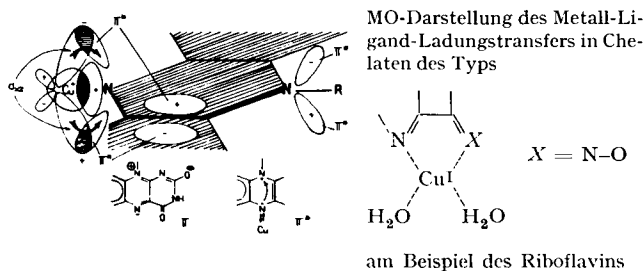


Eine Ausnahme bilden zweizähnige heteroaromatische Akzeptorliganden (2,2'-Dipyridyl, 8-Hydroxychinolin, Riboflavin, im einfachsten Fall Pyridin-2-aldehyd), welche sehr stabile, tiefgefärbte 1:1-Chelate ausbilden. Die Stabilität dieser Chelate ist durch (d, π)-Ladungstransfer zu erklären, aufgrund dessen d-Elektronen aus der gefüllten Schale des Metallions in energetisch günstige, unbesetzte antibindende Orbitale des Liganden delokali-

siert werden (Figur). Dies bedeutet, dass regulär tetraedrische Koordination beim Cu^{I} nur mit Akzeptorliganden möglich ist. Die Wertigkeit des Cu ist in solchen Komplexen nicht streng festlegbar (Valenzmesomerie).

Sehr kompliziert liegen die Verhältnisse bei der Reaktion von $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_2^+$ mit Mercaptiden, Disulfiden, Thioäthern. Hier treten mehrkernige Komplexe auf, vermutlich auch solche gemischter Wertigkeit, welche tiefartig sind und insbesondere für die Biochemie des Cu grosse Bedeutung haben dürften.

Diese Untersuchungen sind noch im Gange. Erste experimentelle und rechnerische Daten werden derzeit zur Publikation vorbereitet⁸.



Summary. The quantitative acidimetric investigation (Bjerrum's method) of Cu^{I} coordination reactions in homogeneous aqueous medium is feasible by application of the easily accessible, well crystallized stable complex $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{ClO}_4$ in 0.1 to 1 molar CH_3CN aq., the stability of particles present in the system Cu^{I} , CH_3CN , H_2O being previously established polarographically. The advantage of the new acidimetric method lies in the possibility of investigating Cu^{I} in absence of Cu^{II} .

P. HEMMERICH und C. SIGWART

Institut für Anorganische Chemie, Universität Basel (Schweiz), 10. Juni 1963.

¹ Habilitationsschrift P. HEMMERICH, Basel (1963).

² P. HEMMERICH, *Exper.* **16**, 534 (1960).

³ P. HEMMERICH, 14. Mosbacher Koll. der deutschen physiol. Gesellschaft: *Mechanismen enzymatischer Reaktionen* (Springer-Verlag, Berlin), im Druck.

⁴ H. MEERWEIN, V. HEDERICH und K. WUNDERLICH, *Ber. dtsch. pharm. Ges.* **63**, 548 (1958).

⁵ Zur Methode vgl. E. I. ONSTOTT und H. A. LAITINEN, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 4724 (1950).

⁶ J. BJERRUM, *Kgl. danske videnskab. Selskab mat.-fys. Medd.* **12**, No. 15 (1934), vgl. auch M. v. STACKELBERG und H. v. FREYHOLD, *Z. Elektrochem.* **46**, 120 (1940).

⁷ Zur Übersicht vgl. R. S. NYHOLM, *Proc. chem. Soc.* **1961**, 284.

⁸ Herrn Prof. Dr. H. ERLNMEYER danken wir für sein Interesse an diesen Studien, ebenso dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für materielle Unterstützung.

The Concentration of Vasopressin and Oxytocin in the Human Hypothalamo-Hypophyseal System

Although the distribution of vasopressin and oxytocin in the hypothalamo-hypophyseal system of different mammals has been extensively studied¹⁻⁴, very scanty quantitative data are available concerning the distribution of these hormones in the human⁵⁻¹³. The present

study was undertaken in an attempt to gain more information on this subject.

Hypothalamus, hypophyseal stalk, and pituitary lobes were obtained from 50 individuals who died from different causes in the hospital of this Medical School. The time elapsing between death and the removal of the glands varied from 1 to 12 h. The glands and the regions of the nervous system shown in the Figure were dissected and

dehydrated in acetone. The pooled material was homogenized and extracted twice with 0.25% acetic acid in a boiling water bath. The extraction periods were 10 min. The combined supernatants were lyophilized and the residue dissolved in physiological saline solution. The oxytocic activity was evaluated by the isolated rat uterus method¹⁴ (working range 20 to 80 μ U of oxytocin per ml of bath solution); the vasopressor activity was assayed on the blood pressure of anesthetized pentapyrrolydinium-treated rats¹⁵. In normal rat the hypothalamic extracts produce a biphasic effect due to the presence of pressor and depressor substances in this region, while in pentapyrrolydinium-treated rats only a rise of the blood pressure was observed. The amount of vasopressin and oxytocin present in the hypothalamus was determined by treating the extracts with 0.01M sodium thioglycollate for 6 h at 38°C, and the destroyed activities were replaced by arginine vasopressin and oxytocin in order to obtain a pressor and uterotonic effect equal to the untreated samples. Synthetic oxytocin (Syntocinon, Sandoz) and arginine vasopressin (AVS-3, lot no. 413089, kindly provided by Prof. DU VIGNEAUD) were used as standards. The oxytocic potencies obtained were corrected for the intrinsic oxytocic activity of vasopressin¹⁶ which amounts to 15% of its pressor activity with our assay method.

The Table gives the result of this study.

The oxytocic activity of the hypothalamic extracts was completely destroyed by thioglycollate. The vasopressor activity decreased 85% in the pentapyrrolydinium-treated rats; the remaining activity of 15% could be accounted for by the presence of other substances such as substance P, serotonin, acetylcholine, etc. The vasopressor and oxytocic activities found in the hypophysial stalk extracts were completely destroyed by thioglycollate, suggesting a very low concentration of other active substances in this region.

The concentration of hormones encountered in the neural lobe agrees with those reported by SIMON and NAGY⁵, and BARNAFI and CROXATTO¹³; the values obtained by HELLER and ZAIMIS⁷ being somewhat higher. The vasopressor and oxytocic activities found in the anterior pituitary lobe confirm earlier reports of this laboratory¹¹. Treatment with proteolytic enzymes and thioglycollate, and preliminary paper chromatographic studies indicate that arginine vasopressin and oxytocin are responsible for these actions¹². The physiological meaning of the different vasopressin to oxytocin ratios found in the hypothalamus and in the anterior and neural

lobes is a matter for further studies. However, according to the concept that the adeno-hypophysis is under hypothalamic control, the presence of vasopressin and oxytocin and their different proportion in this gland, seems to be understandable¹⁷.

Vasopressin and oxytocin concentrations in human hypothalamus and hypophysis

	Dry weight mg		mU/mg dry tissue		V/O
	Tissue	Lyophilized extract	Vasopressin (V)	Oxytocin (O)	
Hypothalamus	22,700	2456	0.153	0.039	3.90
Hypophysial stalk	527	197	14.4	7.2	2.00
Neural lobe	906	354	391.0	332.3	1.18
Anterior lobe (anterior pole)	1,842	588	2.0	2.8	0.72

Zusammenfassung. Hypothalamus, Hypophysenstiel, Hypophysenhinterlappen und -vorderlappen wurden bei 50 Menschen auf Oxytocin- und Arginin-Vasopressin-aktivität untersucht. In allen 4 Geweben wurde Vasopressin und Oxytocin gefunden, wobei das Verhältnis der beiden Polypeptide (V/O) von 3.9 (Hypothalamus) bis 0.7 (Vorderpol der Adenohypophyse) variierte. Der quantitative Nachweis der beiden Polypeptide im Hypophysenvorderlappen ist speziell interessant im Hinblick auf die Auffassung, dass die Adenohypophyse unter hypothalamischer Kontrolle steht.

L. BARNAFI and H. CROXATTO

Laboratorio de Fisiología, Escuela de Medicina, Universidad Católica de Chile, Santiago (Chile), July 2, 1963.

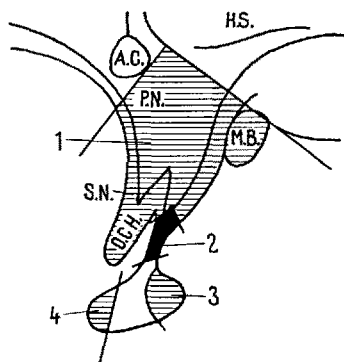


Diagram showing the regions (horizontal hatching and black area) assayed in this study. 1. Hypothalamus; 2. Hypophysial stalk; 3. Neural lobe; and 4. Anterior lobe (anterior pole). H.S. hypothalamic sulcus; A.C. anterior commissure; M.B. mammillary body; O.C.H. optic chiasma; P.N. paraventricular nucleus; S.N. supraoptic nucleus. Sagittal section.

- 1 A. V. SCHLICHTEGROLL, *Naturwiss.* **41**, 188 (1954).
- 2 H. B. VAN DYKE, K. ADAMSONS, and S. L. ENGEL, in *The Neurohypophysis* (Ed. H. HELLER, Butterworths, London 1957).
- 3 H. HELLER, in *Oxytocin* (Ed. R. CALDEYRO-BARCIA and H. HELLER, Pergamon Press, London 1961).
- 4 K. LEDERIS, in *Neurosecretion* (Ed. H. HELLER and R. B. CLARK, Academic Press, London 1962).
- 5 A. SIMON and F. NAGY, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **176**, 243 (1934).
- 6 A. JORES and E. ZSCHIMMER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **174**, 715 (1934).
- 7 H. HELLER and E. J. ZAIMIS, *J. Physiol.* **109**, 162 (1949).
- 8 W. HILD and G. ZETLER, *Klin. Wschr.* **30**, 433 (1952).
- 9 G. ZETLER, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* **218**, 239 (1953).
- 10 H. HELLER and K. LEDERIS, *J. Physiol.* **147**, 299 (1959).
- 11 M. DE LA LASTRA and H. CROXATTO, 4th Pan-American Congress of Endocrinology, Buenos Aires, Argentina (1957).
- 12 M. DE LA LASTRA, L. BARNAFI, and H. CROXATTO, *Commun. Soc. Biol. Santiago, Chile* (1962).
- 13 L. BARNAFI and H. CROXATTO, XXII. International Congress of Physiological Sciences, Leiden, The Netherlands (1962).
- 14 R. ROSAS, L. BARNAFI, T. PEREDA, and H. CROXATTO, *Amer. J. Physiol.* **202**, 901 (1962).
- 15 L. BARNAFI, R. ROSAS, T. PEREDA, and H. CROXATTO, *Amer. J. Physiol.* **202**, 593 (1962).
- 16 E. A. POPENOE, J. G. PIERCE, V. DU VIGNEAUD, and H. B. VAN DYKE, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **81**, 506 (1952).
- 17 We thank Prof. R. BARAHONA for his cooperation in obtaining the human material, Prof. V. DU VIGNEAUD for the argvasopressin and Miss C. BASTIANI for her able technical assistance. - This research was supported by the United States Air Force under Grant AF-AFOSR-61-58; monitored by the Air Force Office of Scientific Research of the Air Research and Development Command.