

führenden Anodenvorgängen. Zwischen Stromdichte und Passivierungszeit gilt eine Beziehung, die formal dem Flächenbedeckungsgesetz von *W. J. Müller* entspricht.

4. Wird während des Stromdurchgangs der Elektrolyt gerührt, so bildet sich zuerst eine Schicht von Kupfer(I)-oxyd, die allmählich in (II)-Oxyd übergeht. Wenn dieser Übergang vollzogen ist, so tritt der Passivierungssprung ein. Wird der Elektrolyt nicht gerührt, so bildet sich über dem (I)-Oxyd eine Schicht von Hydroxyd. Die Dicke und Struktur der Deckschichten ist von der Orientierung der Krystallite abhängig.

5. Es wird eine Reihe von Vorgängen diskutiert, die sich beim anodischen Angriff des Kupfers in Natronlauge abspielen können und die ihnen entsprechenden Potentiale gegenüber der Normalwasserstoffelektrode werden für 1-n. Natronlauge berechnet. Die Beobachtungen gestatten eine Auswahl der wahrscheinlichsten Vorgänge zu treffen. Es ergibt sich, dass sich stets mehrere Reaktionen nebeneinander abspielen, und dass das Passivwerden für eine bestimmte Wertigkeitsstufe die weitere Bildung dieser nicht ausschliesst.

Bern, Chemisches Institut der Universität,  
Anorganische Abteilung.

---

92. Über die Wirkung der Lipoxydase auf die Oxydation  
von Eläostearinsäure

von H. Stüllmann.

(24. III. 44.)

In den bisherigen Untersuchungen über die pflanzliche Lipoxydase<sup>1)</sup> wurden vorwiegend Linolsäure und Linolensäure (bzw. diese Säuren enthaltende Fette und Phosphatide) als Substrate verwendet. Die Oxydation dieser Fettsäuren mit isolierten Doppelbindungen wird von dem Enzym wirksam beschleunigt. Um über den Wirkungsbereich der Lipoxydase weiteren Aufschluss zu erhalten, war es von Interesse, das Verhalten des Enzyms gegenüber einer Fettsäure mit einem System konjugierter Doppelbindungen kennen zu lernen. Hierzu wurde uns von Herrn Dr. *W. Treibs* in entgegenkommender

---

<sup>1)</sup> Vgl. die vorhergehende Mitteilung: *Helv.* **26**, 2253 (1943).

Weise ein von ihm aus Holzöl dargestelltes Präparat der  $\alpha$ -Eläostearinsäure zur Verfügung gestellt<sup>1)</sup>.

Nach *R. J. Sumner*<sup>2)</sup> wird die „Peroxydation“ der  $\alpha$ -Eläostearinsäure durch die Lipoxydase nicht beschleunigt. Ergebnisse dieser Arbeit sind uns vorerst nur durch ein kurzes Referat zugänglich; sie stützen sich vermutlich auf die Bestimmung des Peroxydsauerstoffs. Unsere bei der zeitlichen Verfolgung des Sauerstoffverbrauchs gemachten Beobachtungen geben Anhaltspunkte dafür, dass die Oxydation der Eläostearinsäure von lipoxydasehaltigen Enzymlösungen in einem gewissen Umfange beschleunigt werden kann. Die stark ausgeprägte Neigung der Eläostearinsäure zur Autoxydation gestaltet jedoch den Nachweis des Vorliegens oder der Abwesenheit einer Enzymkatalyse schwieriger als bei der viel weniger autoxydablen isomeren Linolensäure. Ferner liess sich auf dem Wege über Sekundäroxydationen der eindeutige Nachweis einer enzymatischen Oxydation der Eläostearinsäure nicht erbringen.

Eine Entscheidung der Frage, ob die Eläostearinsäure als Substrat der Lipoxydase dienen kann, stellen wir deshalb noch zurück. Die gemachten Beobachtungen dürften für weitere Untersuchungen von Wert sein und zur Kenntnis des Verhaltens der verschiedenen ungesättigten Fettsäuren bei dieser biologischen Oxydation beitragen.

### Versuchsteil.

**Methodisches.** Abgewogene Mengen Eläostearinsäure wurden in Wasser suspendiert, unter schwachem Erwärmern mit der äquivalenten Menge Natronlauge umgesetzt und die Lösung mit Salzsäure annähernd neutralisiert. Die Säure kam so in feiner Suspension zur Anwendung. Die Lösungen wurden unmittelbar vor dem Einpipettieren in die Versuchsgefässe, die die übrigen Flüssigkeiten bereits enthielten, jedesmal frisch bereitet. Manometrische Messung des Sauerstoffverbrauchs bei 37°; Sauerstoff im Gasraum; Natronlauge im Einsatz; Eläostearinsäure im Anhang; Enzym und Phosphatpuffer im Hauptaum. Die bis zum Messbeginn verstreichende Zeit wurde möglichst kurz gehalten. Die Bereitung der dialysierten Enzymlösungen aus Sojabohnen und aus Kartoffeln (unverdünnter Presssaft) erfolgte entsprechend den Angaben in der vorhergehenden Arbeit. Inaktivierung der Enzymlösungen durch 20 Minuten langes Erwärmen auf 75–80°. Lösungen aus Hanfsamen wurden durch Extraktion von 10 g entfettetem Pulver mit 100 cm<sup>3</sup> Wasser bereitet. Die Versuche über Sekundäroxydationen wurden in der früher<sup>3)</sup> geschilderten Weise angestellt.

Die Kurven in den Figuren 1 und 2 und die in der Tabelle aufgeführten Werte veranschaulichen die bei der Messung der Sauerstoffaufnahme erhaltenen Ergebnisse.

<sup>1)</sup> Herrn Dr. Treibs möchten wir dafür auch an dieser Stelle unseren herzlichen Dank aussprechen.

<sup>2)</sup> *R. J. Sumner, J. Biol. Chem.* **146**, 211 (1942); zit. n. *Brit. Abstr. (III)*, **1943**, 200.

<sup>3)</sup> *Helv.* **24**, 465, 646 (1941).

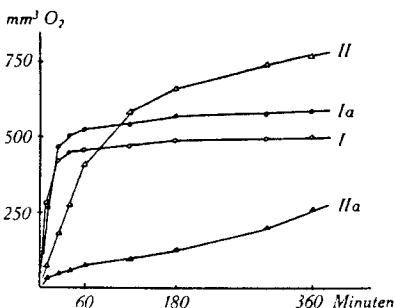


Fig. 1. Versuche mit aktivem und inaktiviertem Kartoffelenzym.  
Phosphatpuffer,  $p_H = 6,1$

- I: 1  $\text{cm}^3$  Enzym + 1  $\text{cm}^3$  0.025-m. Eläostearinsäure  
Ia: wie I, + 1  $\text{cm}^3$  inaktiviertes Enzym  
II: 1  $\text{cm}^3$  0.025-m. Eläostearinsäure  
IIa: wie II, + 1  $\text{cm}^3$  inaktiviertes Enzym.

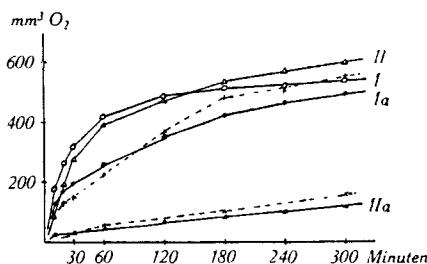


Fig. 2. Versuche mit Sojaenzym, inaktiviertem Kartoffelpresssaft und mit Hanfsamenextrakt. — Phosphatpuffer,  $p_H = 6,6$

Ausgezogene Kurven:

- I: 1  $\text{cm}^3$  Enzym + 1  $\text{cm}^3$  0.025-m. Eläostearinsäure  
Ia: wie I, + 1  $\text{cm}^3$  inaktiv. Kartoffelsaft  
II: 1  $\text{cm}^3$  0.025-m. Eläostearinsäure  
IIa: wie II, + 1  $\text{cm}^3$  inaktiv. Kartoffelsaft.

Gestrichelte Kurven:

Obere Kurve: 1  $\text{cm}^3$  Enzym + 1  $\text{cm}^3$  Hanfsamenextrakt + 1  $\text{cm}^3$   
0.025-m. Eläostearinsäure

Untere Kurve: 1  $\text{cm}^3$  Hanfsamenextrakt + 1  $\text{cm}^3$  0.025-m. Eläostearinsäure.

Vergleicht man die nach längeren Versuchszeiten (etwa über 90 Minuten) von Eläostearinsäure allein (autoxydativ) aufgenommenen Sauerstoffmengen mit dem Sauerstoffverbrauch von Eläostearinsäure + Soja- bzw. Kartoffelenzym, so ist keine Beschleunigung, sondern eine gewisse „Hemmung“ der Eläostearinsäure-Oxydation durch die lipoxydasehaltigen Enzymlösungen festzustellen<sup>1)</sup>. Dagegen wird in der ersten Messzeit (10 Minuten) in den Versuchen mit Enzym immer bedeutend mehr Sauerstoff

<sup>1)</sup> Dieser Verlauf könnte sowohl dadurch zustande kommen, dass die Oxydation der Säure durch die Lipoxydase in andere Bahnen gelenkt wird, als auch durch das Vorhandensein von Inhibitoren in den Enzymlösungen (s. weiter unten). Zu gegebener Zeit sollen ergänzende Versuche mit weitergehend gereinigtem Enzym erfolgen.

aufgenommen, als von Eläostearinsäure allein. Im Durchschnitt von 7 Versuchsreihen mit  $1 \text{ cm}^3$  0,025-m. Eläostearinsäure werden von der letzteren allein in 10 Minuten  $90 \text{ mm}^3$  Sauerstoff, bei gleichzeitiger Anwesenheit von  $1 \text{ cm}^3$  Soja- oder Kartoffelenzym  $220 \text{ mm}^3$  Sauerstoff aufgenommen<sup>1)</sup>. Die Differenz wird im weiteren Verlauf durch die erhebliche Autoxydation der Eläostearinsäure ziemlich schnell ausgeglichen, so dass nach etwa 30 bis 90 Minuten in den Versuchen mit Enzym nicht mehr Sauerstoff aufgenommen worden ist als in den Versuchen ohne Enzym.

Tabelle.

Versuche mit aktivem und inaktiviertem Kartoffelpresssaft bei verschiedenem  $\text{p}_\text{H}$ .

Ansätze mit :  $1 \text{ cm}^3$  Kartoffelenzym;  $1 \text{ cm}^3$  inaktiviertem Presssaft;  $1 \text{ cm}^3$  0,025-m. Eläostearinsäure;  $1 \text{ cm}^3$  0,2-m. Phosphatpuffer. —  $\text{mm}^3 \text{O}_2$  nach den angegebenen Zeiten in Minuten (2. Zeile).

Versuche mit	Puffer $\text{p}_\text{H} = 5,8$				Puffer $\text{p}_\text{H} = 6,6$			
	10	30	60	180	10	30	60	180
Eläostearinsäure . . . . .	94	301	424	616	72	301	500	735
„ + inaktiv. Enzym . . .	41	114	237	476	31	50	80	183
„ + Enzym . . . . .	284	423	456	495	262	374	436	505
„ + „ + inaktiv. Enzym	284	425	464	501	216	305	357	491

Diese, also nur für die ersten Versuchszeiten festzustellende Mehraufnahme von Sauerstoff bei Gegenwart der Enzymlösungen könnte auf einer unspezifischen, durch Begleitstoffe der Lipoxydase verursachten Wirkung beruhen. Um diese Frage zu prüfen, wurde 1. der Einfluss von Enzylösungen aus Soja und Kartoffeln, in denen die Lipoxydase durch Erwärmung bei  $75-80^\circ$  unwirksam gemacht worden war, und 2. der Einfluss eines Extraktes aus Hanfsamen, der keine Lipoxydase enthält, auf die Eläostearinsäure-Oxydation — sowohl in Abwesenheit als auch in Anwesenheit aktiver Enzylösungen — untersucht.

Die inaktivierten Lösungen und die Hanfsamenextrakte bewirken in keiner Phase der Oxydation eine Mehraufnahme von Sauerstoff. Der mit den aktiven Enzylösungen in den ersten Messzeiten beobachtete erhöhte Sauerstoffverbrauch bleibt hier also vollständig aus und könnte demnach auf einer spezifischen Wirkung der Lipoxydase beruhen. Die inaktivierten Lösungen sowohl als auch die Hanfsamenextrakte hemmen — im Gegensatz zu den lipoxydasehaltigen Lösungen — die Autoxydation der Eläostearinsäure bereits zu Beginn in bedeutendem Masse. Mit inaktivierten Lösungen aus der Kartoffel wird in der Regel eine stärkere Hemmung der Autoxydation erzielt als mit den entsprechenden Lösungen aus der Sojabohne. Diese hemmende Wirkung nimmt in vielen Fällen nach längeren Versuchszeiten deutlich ab (vgl. Kurve IIa in Fig. 1), was wahrscheinlich auf einem Verbrauch der in den Extrakt vorliegenden Inhibitoren beruht.

Im Vergleich zu der beträchtlichen Hemmung der Autoxydation wird die in Gegenwart des aktiven Enzyms erfolgende Sauerstoffaufnahme durch die oxydatisch unwirksamen Lösungen nur wenig gehemmt. In manchen Versuchen, besonders in solchen bei niedrigem  $\text{p}_\text{H}$  (vgl. Fig. 1 und die Tabelle), wirken die inaktivierten Lösungen auf die in Gegenwart der Lipoxydase erfolgende Oxydation der Eläostearinsäure überhaupt nicht hemmend, während sie die Autoxydation — wie gezeigt — regelmässig in bedeutendem Masse hemmen.

<sup>1)</sup> In gleichartigen Versuchen mit Leinölsäure und Enzym ist der Sauerstoffverbrauch bedeutend grösser.

Will man den in Gegenwart der lipoxydasehaltigen Enzymlösungen von der Eläostearinsäure aufgenommenen Sauerstoff ausschliesslich auf autoxydative Vorgänge zurückführen, so ist die sehr verschieden starke hemmende Wirkung der inaktiven Lösungen — einserseits in den Versuchen mit Eläostearinsäure allein, andererseits mit Eläostearinsäure + Lipoxydase — nicht leicht zu verstehen. Es sei denn, man nimmt an, dass die in den inaktiven Lösungen vorhandenen Inhibitoren bei Anwesenheit der lipoxydasehaltigen Enzymlösungen ihre Wirkung auf die Autoxydation verlieren oder doch zum grossen Teil einbüssen. Vorerst liegen keine Beobachtungen vor, die für diese Annahme sprechen würden.

Abschliessend seien kurz Ergebnisse von Versuchen zum Nachweis von Sekundäroxydationen im System: Lipoxydase + Eläostearinsäure + Sauerstoff und einem „Akzeptor“ erwähnt. Diese Versuche konnten vorerst nur in beschränktem Umfange durchgeführt werden.

Mit Guajakharz wurde weder mit Eläostearinsäure allein, noch bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sojaenzym eine Blaufärbung erzielt, während diese in entsprechenden Versuchen mit einer der Leinölsäuren und dem Sojaenzym immer sofort auftritt<sup>1)</sup>. Versuche mit Carotin fielen nicht einheitlich aus: In einigen Versuchen mit Enzym + Eläostearinsäure erfolgte zunächst ein etwas schnelleres Ablassen der Carotinfarbe als in Parallelversuchen mit Eläostearinsäure allein; in anderen Versuchen war der Zusatz von Enzym ohne Einfluss auf die Entfärbungsgeschwindigkeit.

Auf diesem Wege konnte also keine sichere Beschleunigung der Eläostearinsäure-Oxydation durch die Lipoxydase festgestellt werden.

Basel, Laboratorium der Univ.-Augenklinik.

---

### 93. Über Steroide und Sexualhormone.

(98. Mitteilung<sup>2</sup>)).

**Herstellung des  $\beta$ -(trans-p-Oxy-cyclohexyl)- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -butenolids**

von E. Hardegger, Pl. A. Plattner und F. Blank.

(30. III. 44.)

Im Zusammenhang mit unseren Arbeiten über Herzgift-Aglucone<sup>3</sup>) schien es von Bedeutung zu sein, einige einfache, in  $\beta$ -Stellung substituierte  $\Delta^{\alpha,\beta}$ -Butenolide herzustellen<sup>4</sup>).

Es erschien besonders reizvoll, ein Modell-Lacton aus einem hydroaromatischen Gerüst mit einer Hydroxyl-Gruppe und einem

<sup>1)</sup> Helv. **24**, 646 (1941); vgl. auch Helv. **26**, 2253 (1943).

<sup>2)</sup> 97. Mitt., Helv. **27**, 748 (1944).

<sup>3)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Heusser, Helv. **27**, 186 (1944) und frühere Mitt.

<sup>4)</sup> Vgl. dazu die Untersuchungen von R. C. Elderfield und Mitarbeitern, J. Org. Chem. **8**, 29 (1943); B. C. A. **1943**, A. II, 191 und frühere Arbeiten.