

POLAROGRAPHISCHE STUDIE DER REAKTIONEN DES 2:3-DIMERCAPTOPROPANOLS (BAL) MIT SCHWERMETALLEN UND EINIGEN OXYDATIONSMITTELN

P. ZUMAN und R. ZUMANOVÁ

Aus dem Polarographischen Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften,

Prag (Direktor: Prof. Dr. J. Heyrovský)/

und dem Institut für Arbeitshygiene und -schutz, Prag

(Direktor: Prof. Dr. J. Teisinger) /

(Received 10 May 1957)

Abstract—In solutions of 2:3-dimercaptopropanol an anodic polarographic wave, corresponding to the formation of an insoluble mercury-salt, was observed. Using this wave the reactions of 2:3-dimercaptopropanol with heavy metals and some oxidants were followed. Further anodic and cathodic polarographic waves formed were used for the identification of reaction products. Metals of the first analytical group form insoluble bidentate-chelate complexes, those of the arsenic-group soluble monodentate compounds. It was confirmed that after adding 2:3-dimercaptopropanol the metal-ions, bound to proteins, are set free. Most of the 2:3-dimercaptopropanol in a living body is inactivated by oxidation. Due to this fact it is necessary to use great doses of the 2:3-dimercaptopropanol in clinical treatments. Disulphide is formed in oxidation by H_2O_2 or cystine. Monothiolecompounds are also formed during the reaction with cystine. In solutions of *p*-benzoquinone no disulphide results. Both SH-groupings react by 1:4-addition with two molecules of quinone.

Zusammenfassung—Mit Hilfe der polarographischen anodischen Stufe des 2:3-Dimercaptopropanols, welche einer Quecksilbersalzbildung entspricht, sowie mit Hilfe weiterer anodischer und kathodischer Stufen der Produkte wurde die Reaktion des 2:3-Dimercaptopropanols mit Schwermetallen und verschiedenen Oxydationsmitteln studiert. Die Metalle der ersten analytischen Gruppe bilden unlösliche Bidentat-Chelat-Komplexverbindungen, die der Arsengruppe lösliche Monodentatverbindungen. Die Lockerung der Metalle aus der Bindung an Eiweissstoffe durch Zugabe von 2:3-Dimercaptopropanol wurde bestätigt. Die Inaktivierung des grössten Teiles des 2:3-Dimercaptopropanols im Organismus wird durch Oxydationsreaktionen erklärt. Bei Oxydation durch Wasserstoffperoxyd oder Cystin entsteht ein Disulfid, bei der Behandlung mit *p*-Benzochinon geht—unter Teilnahme beider SH-Gruppen—eine 1:4-Addition vor sich.

DAS 2 : 3-Dimercaptopropanol (BAL), das anfangs gegen Vergiftungen durch Lewisit und andere organische Arsenverbindungen angewandt wurde, wurde später auch bei Intoxikationen durch andere Schwermetalle injiziert. Es wurde vorausgesetzt, dass BAL mit Metallen feste lösliche Komplexe bildet, welche die Ausscheidung der

¹ R. A. Peters, L. A. Stocken und H. S. Thompson *Nature, Lond.* **156**, 616 (1945).

² L. L. Waters und Ch. Stock *Science* **102**, 601 (1945).

³ S. Lewi *Pr. Méd.* **62**, 841 (1946).

⁴ A. Gilman, F. S. Phillips, R. P. Allen, und E. S. Koelle *J. Pharmacol.* **87**, Suppl. 85 (1946).

⁵ A. Gilman, R. P. Allen, F. S. Phillips, und E. St. John *J. Clin. Invest.* **25**, 549 (1946).

⁶ E. S. G. Barron, Z. B. Hiller, und G. Kalnitsky *Biochem. J.* **41**, 62 (1947).

⁷ L. A. Stocken *J. Chem. Soc.* 592 (1947).

Metalle aus dem Organismus ermöglichen. In einigen Fällen¹⁻²⁰ wurde, vor allem auf Grund von Farbreaktionen^{1,5,6,10,11,20} geschlossen, dass es zwischen den Metallen und dem Dimercaptopropanol zur Ausbildung von Komplexen kommt, welche sich durch eine Verfärbung und durch ihre Löslichkeit äussern, doch wurde ihre Existenz in der Mehrzahl der Fälle nicht nachgewiesen. Nur bei einigen wenigen Verbindungen, besonders beim Lewisit,^{1-3,12,13,15} den Dichlorarsinen⁷ und beim Oxophenarsin,⁸ sowie weiter beim Quecksilber^{5,15,19} und seinen Organoverbindungen,^{17,18} wurde die Zusammensetzung der Komplexe vorgeschlagen oder bestimmt. Eine Studie der Reaktionen des 2 : 3-Dimercaptopropanols mit Quecksilber, Phenylquecksilber, Zink-, Kadmium-, Blei- und Silberacetat wurde in letzter Zeit konduktometrisch²¹ durchgeführt. In dieser Arbeit wurde jedoch Pyridin als Lösungsmittel benützt, so dass die Bedingungen hier ziemlich weit von den physiologischen liegen.

R. Benesch und R. E. Benesch¹⁸ untersuchten polarographisch die Komplexbildung organischer Quecksilberverbindungen (besonders von "Salyrgan" und Phenylquecksilber) mit Glutathion, einigen Peptiden und Dimercaptopropanol auf Grund der Reduktionsstufe des Komplexes, welche bei negativeren Potentialen als die Reduktionsstufe des an die Organoverbindung gebundenen Quecksilbers entsteht. Mit den anodischen Stufen befassten sich diese Verfasser nicht.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, eingehendere Kenntnisse über die Zusammensetzung, das Verhalten und die Stabilität der Komplexe des 2 : 3-Dimercaptopropanols mit Schwermetallen zu gewinnen. Es wurde versucht, ob in dieser Weise die unterschiedliche Wirkung des Dimercaptopropanols bei Vergiftungen mit verschiedenen Schwermetallen nicht näher beleuchtet werden könnte. Dazu wurden die polarographischen anodischen Stufen des Dimercaptopropanols sowie die anodischen und kathodischen Stufen der entstehenden Komplexe untersucht. Weiter war es notwendig festzustellen, warum es den klinischen Erfahrungen gemäss notwendig ist, sehr hohe Tagesdosen der Ölsuspension des Dimercaptopropanols zu injizieren.

Um diese Fragen beantworten zu können war es notwendig:

- (1) Das polarographische Verhalten des 2 : 3-Dimercaptopropanols zu studieren und die zweckmässigsten Bedingungen für das Studium der Reaktion aufzufinden.
- (2) Den Einfluss der Metalle auf die Kurven des Dimercaptopropanols zu beobachten.
- (3) Die Beeinflussung der Reaktion zwischen Dimercaptopropanol und Metallen durch die Anwesenheit von Eiweissstoffen zu studieren.
- (4) Die Wirkung verschiedener Oxydationsmittel, welche in den Organismen vorliegen können (wie Sauerstoff, Peroxyde, Chinone und Disulfide), zu verfolgen.

⁸ E. A. H. Friedheim und H. J. Vogel *Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y.* **64**, 418 (1947).

⁹ W. C. Kuzell, P. L. Pillsbury, und S. A. Gellert *Stand. Med. Bull.* **5**, 197 (1947).

¹⁰ G. H. Spray *Biochem. J.* **41**, 360 (1947).

¹¹ N. D. Edge und G. F. Somers *Quart. J. Pharm.* **21**, 364 (1948).

¹² R. A. Peters *Proc. IX. Intern. Congr. Ind. Med.* **S. 563** London (1948).

¹³ L. A. Stocken und R. H. S. Thompson *Physiol. Rev.* **29**, 168 (1949).

¹⁴ H. Irving, E. J. Ridson, und G. Andrew *J. Chem. Soc.* 537 (1949).

¹⁵ M. L. Belenskij und V. J. Rozengart *Usp. Sovr. Biol.* **28**, 387 (1949).

¹⁶ M. M. P. Paulssen *Acta Pharm. Intern.* **1**, 161 (1950).

¹⁷ L. P. Barrack und R. A. Lehman *Science* **113**, 410 (1951).

¹⁸ R. Benesch und R. E. Benesch *Arch. Biochem. Biophys.* **35**, 425 (1952).

¹⁹ A. Mosig *Pharmazie* **8**, 403 (1953).

²⁰ R. Pribil und Z. Roubal *Chem. Listy.* **48**, 818 (1954).

²¹ D. H. Rosenblatt und G. N. Jean *J. Phys. Chem.* **59**, 626 (1955).

EXPERIMENTELLER TEIL

Die polarographischen Kurven wurden mit den Polarographen des Systems Heyrovský, Erzeugung der Firma Zbrojovka n.p., Type V 301, in der üblichen polarographischen Schaltung und im Gefäß nach Kalousek mit getrennter Kalomelektrode durchgeführt. Die verwendete Kapillare besaß bei einer Quecksilberbehälterhöhe $h = 50$ cm eine Tropfzeit von $t = 3,4$ s und eine Durchflussgeschwindigkeit von $m = 1,90$ mg/s.

Das zur Verwendung gelangende 2 : 3-Dimercaptopropanol wurde von Dr. Ing. V. Hach (Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie, Prag) hergestellt. Weiter wurde auch ein Präparat der Firma SPOFA verwendet.

Zur Herstellung der Puffer nach Britton und Robinson sowie des Acetat-, Citrat-, Phosphat-, Veronal- und Boratpuffers, des Puffergemisches Ammoniak-Ammoniumchlorid und der Natriumhydroxydlösung dienten Chemikalien vom Reinheitsgrad p.a. 0,01M Vorratslösungen der Metallsalze, verschiedener Oxydationsmittel und des Cysteins wurden von reinsten Chemikalien durch Auflösen in destilliertem Wasser vorbereitet. Die 0,01M Vorratslösung des 2 : 3-Dimercaptopropanols wurde täglich durch Auflösen der eingewogenen Menge in destilliertem Wasser oder in 20%-igem Äthanol frisch zubereitet, ebenso wie die äthanolische 0,01M Chinonlösung, welche im Dunkeln bei 0°C aufbewahrt wurde. 0,01M Cystinlösung wurde durch Auflösen des Präparats in 1M-NH₃ vorbereitet. Serumalbumin aus Pferdeblut wurde in destilliertem Wasser bei 20°C nach Anschwellen aufgelöst.

Die Mehrzahl der Versuche bei der Verfolgung der Komplexbildung der Schwermetalle mit 2 : 3-Dimercaptopropanol sowie der Oxydation dieser Verbindung wurde so durchgeführt, dass zu der sauerstoffbefreiten Pufferlösung, die das Dimercaptopropanol in einer Konzentration von 1×10^{-4} M bis 2×10^{-4} M enthielt, die Metallsalzlösung oder die Lösung des Oxydationsmittels allmählich zugegeben und nach jeder einzelnen Zugabe die polarographische Kurve aufgenommen wurde.

Da die erhaltenen Ergebnisse die Ausgangspunkte zur Feststellung der Beziehungen zwischen dem chemischen und physiologischen Verhalten der einzelnen Komplexe sein sollten, wurden nicht zu weit vom pH-Wert 7 liegende Bedingungen gewählt. Mit Rücksicht auf die Unlöslichkeit der Phosphate der Schwermetalle konnten bei der Verfolgung der Komplexbildung die Phosphatpuffer nicht verwendet werden. Sofern die Bestandteile des Grundelektrolyten, z.B. Citrate oder Ammoniak, Komplexe mit den untersuchten Metallen bildeten, waren diese durchwegs wesentlich schwächer als die Komplexe mit dem Dimercaptopropanol und ihr Einfluss konnte in der Mehrzahl der Fälle vernachlässigt werden.

Bei Verfolgung der Oxydation der Lösungen des 2 : 3-Dimercaptopropanols durch Sauerstoff wurde das Gas in die Lösung aus einer Stahlflasche mit der Geschwindigkeit 50 ml/Min eingeleitet und nach Zeitintervallen wurden die Proben entnommen.

Bei der Verfolgung der Reaktion zwischen 2 : 3-Dimercaptopropanol und Cystin wurde der Einfluss der Cystinkonzentration in der Weise studiert, dass die Reaktionsgemische, welche eine konstante Dimercaptopropanolmenge und verschiedene Cystinkonzentrationen enthielten, bis zur Beendigung der Reaktion (etwa 2 Stunden) in der inerten Stickstoffatmosphäre gehalten wurden. Nach dem Ablauf der Reaktion wurden die polarographischen Kurven registriert.

Die anodischen Stufen des 2:3-Dimercaptopropanols

Bei sehr kleinen Konzentrationen des Dimercaptopropanols wurde im gesamten pH-Bereich eine anodische^{22,23} Stufe beobachtet (Abb. 1), welche der Bildung eines Komplexes mit dem Quecksilber zukommt. Die Stufe entspricht einem Zweielektro-nenvorgang. Aus dem Verhalten der anodischen Stufe²² kann nicht entschieden

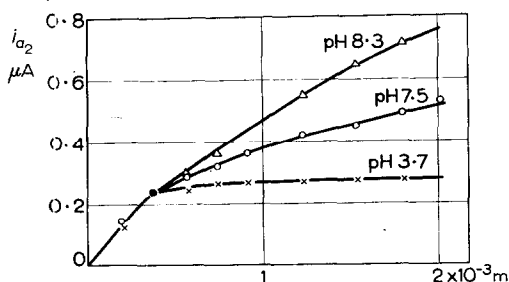
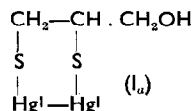
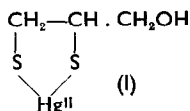


ABB. 3. Abhängigkeit des Stromes beim Potential der Adsorbatbildung (i_{a2}) von der Konzentration des 2:3-Dimercaptopropanols bei verschiedenen pH-Werten.

werden, ob der entstehenden Verbindung die Formel (I) oder (I_a) zugeschrieben werden soll.



Aus dem Verhalten nach der Zugabe von Quecksilber(II)-verbindungen (S) kann mit Sicherheit geschlossen werden, dass sich eine Quecksilberbindung bildet, die keine freie SH-Gruppe enthält.

Bei höheren Konzentrationen des Dimercaptopropanols wird die Stufe durch Adsorptionserscheinungen kompliziert (Abb. 2). Im ganzen pH-Bereich wurde eine negativere Adsorptionsvorstufe, bei pH > 8 noch eine positivere Adsorptionsstufe beobachtet. Daneben wird die gesamte Stufe bei höheren Konzentrationen adsorptionsbedingt. Die Abhängigkeit der Stufenhöhe von der Konzentration bei verschiedenen pH-Werten ist aus Abb. 3 ersichtlich. Im mittleren pH-Bereich bildet sich das Adsorbat bei positiveren Potentialen als die Hauptstufe, so dass die Kurven die Form besitzen, die aus der Abb. 4 ersichtlich ist.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen folgt, dass beim Studium der Reaktionen des 2:3-Dimercaptopropanols die Konzentration des Dithiols in der polarographierten Lösung höchstens $2 \times 10^{-4} \text{M}$ sein darf. Unter solchen Bedingungen ist die Gesamthöhe der anodischen Stufe eine lineare Funktion der Konzentration des Dimercaptopropanols und die störenden Adsorptionseinflüsse machen sich nicht geltend.

Die anodische Stufe des 2:3-Dimercaptopropanols eignet sich auch zu analytischen Zwecken. Bei der Bestimmung z.B. in Injektionslösungen löst man die Ölsuspension in Chloroform und Äthanol und registriert die polarographische Kurve nach Vermischen mit dem Acetatpuffer vom pH 4,7.²⁴

²² P. Zuman, R. Zumanová und J. Teisinger *Chem. Listy* **48**, 1499 (1954); *Collection* **20**, 139 (1955).

²³ C. Calzolari und A. Donda *Univ. Studi. Trieste, Fac. Sci. Ist. Chim.* No. 3, 16 (1954); *Chem. Abstr.* **49**, 7449 (1955).

²⁴ R. Zumanová und P. Zuman *Pharmazie* **9**, 554 (1954).

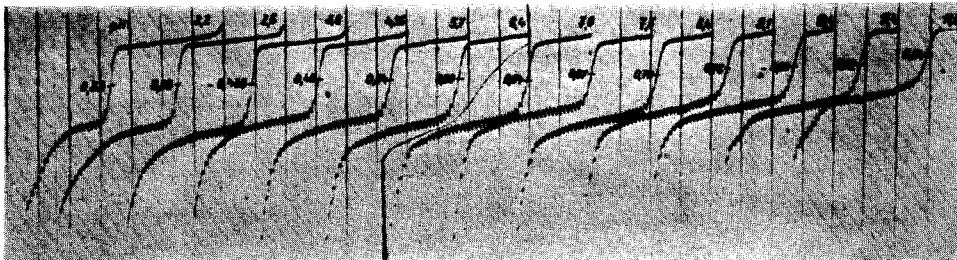


ABB. 1. pH-Abhängigkeit des 2:3-Dimercaptopropanols bei der Konzentration 9×10^{-5} M. Britton-Robinson-Pufferlösungen, pH-Werte am Polarogramm angegeben. Kurven von der 9. Drahtwindung zurück, anod.-kathod., SKE, 200 mV/Absz., $h = 50$ cm, Empf. 1:10.

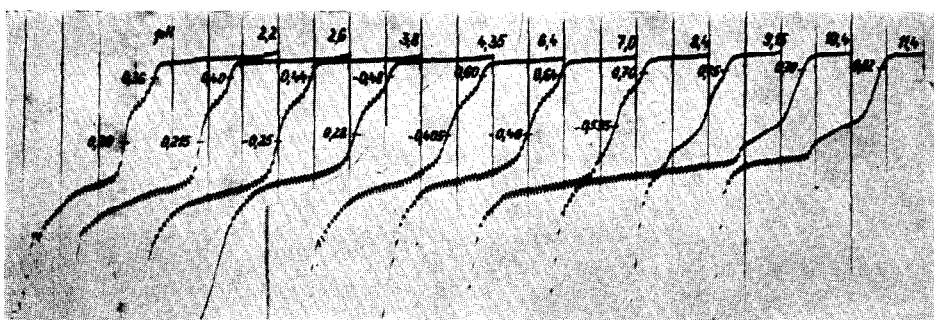


ABB. 2. pH-Abhängigkeit der Dimercaptopropanolstufe bei der Konzentration 3×10^{-4} M. Britton-Robinson-Pufferlösungen, pH-Werte am Polarogramm angegeben. Kurven von der 9. Drahtwindung zurück, anod.-kathod., SKE 200 mV/Absz., $h = 50$ cm, Empf. 1:30.

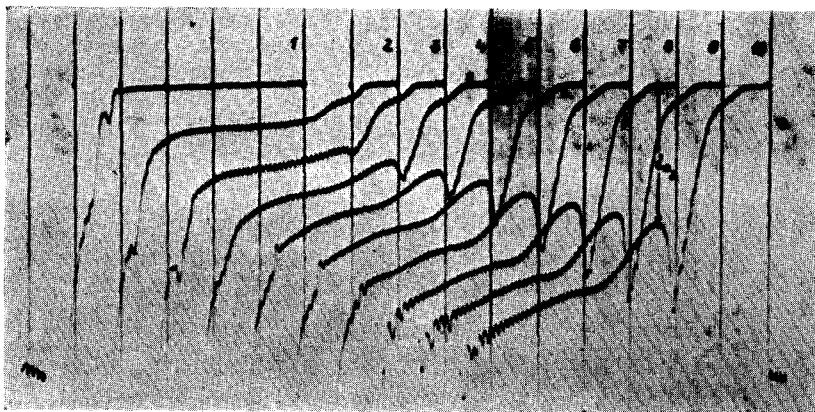


ABB. 4. Konzentrationsabhängigkeit der 2:3-Dimercaptopropanolstufen im Britton-Robinson-Puffer vom pH 7,5. Konzentration des Dimercaptopropanols: (1) 0; (2) 1,0; (3) 1,96; (4) 2,91; (5) 3,85; (6) 4,75; (7) 6,65; (8) 8,25; (9) 9,1; (10) $12,3 \times 10^{-4}$ M. Kurven von der 8. Drahtwindung zurück, anod.-kathod., SKE, 200 mV/Absz., $h = 50$ cm, Empf. 1:70.

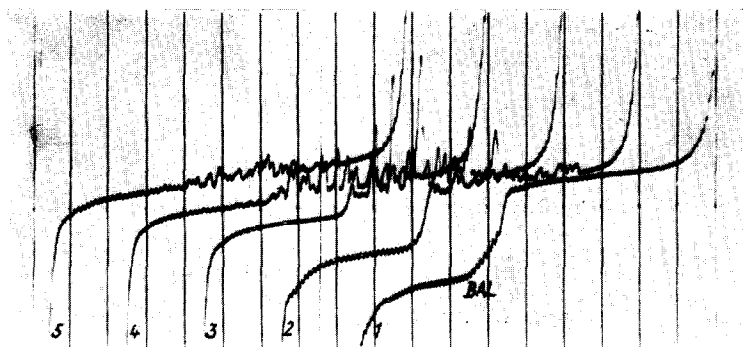


ABB. 5.
Komplex des Quecksilbers
mit 2:3-Dimercaptopropanol. 5 ml Acetatpuffer vom
pH 4,7 bis $1,97 \times 10^{-4}$ M
2:3-Dimercaptopropanol.
Zugegeben (1) 0; (2) 0,59;
(3) 1,16; (4) 1,74; (5) $3,2$
 $\times 10^{-4}$ M- Hg^{2+} . Kurven
von der 12. Drahtwindung
zurück aufgenommen, SKE,
200 mV/Absz., $h = 50$ cm,
Empf. 1:20.

ABB. 6.
Komplex des Antimons mit 2:3-Dimer-
captopropanol. 5 ml Veronalpuffer vom
pH 7 mit $1,97 \times 10^{-4}$ M 2:3-Dimercaptopro-
panol. Zugegeben: (1) 0; (2) 0,39; (3) 0,59;
(4) 1,16; (5) $1,74 \times 10^{-4}$ M- Sb^{3+} . Kurven
von der 11. Drahtwindung zurück auf-
genommen, SKE, 200 mV/Absz., anod.-
kathod., $h = 50$ cm, Empf. 1:20.

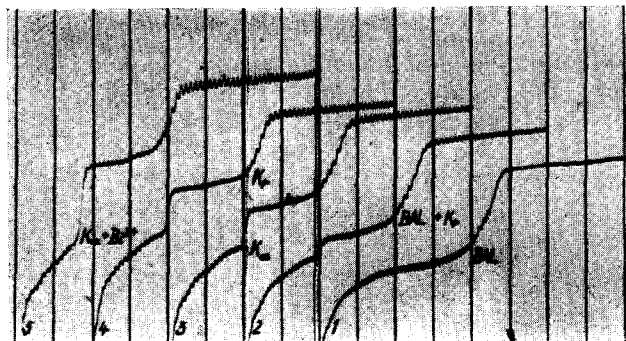
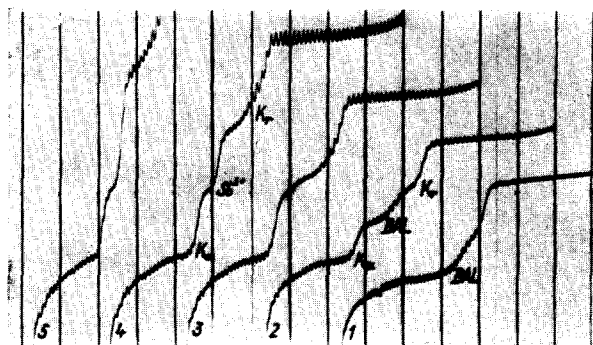
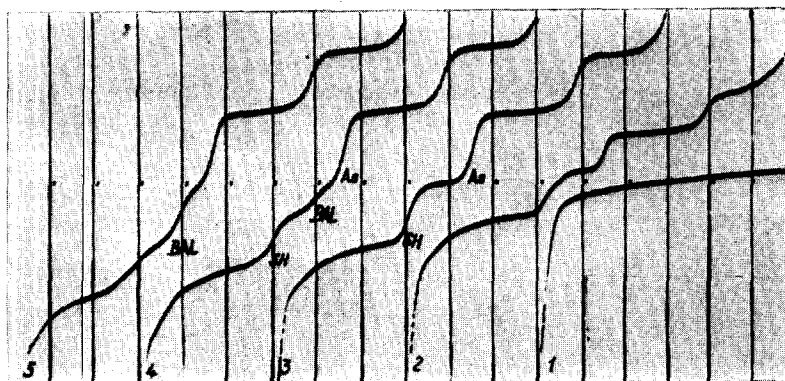


ABB. 7.
Komplex des Wismuts mit 2:3-Dimer-
captopropanol. 5 ml Boratpuffer vom
pH 8,6 mit $1,97 \times 10^{-4}$ M 2:3-Dimer-
captopropanol. Zugegeben: (1) 0; (2)
0,196; (3) 0,39; (4) 0,59; (5) $1,16 \times 10^{-4}$
M- Bi^{3+} . Kurven von der 11. Draht-
windung zurück aufgenommen, SKE,
200 mV/Absz., anod.-kathod., $h =$
50 cm, Empf. 1:20.

ABB. 8.
Komplex des Arsens
mit 2:3-Dimercapto-
propanol. 5 ml Citrat-
puffer vom pH 5,35 mit
 $9,4 \times 10^{-4}$ M- As^{3+} .
Zugegeben (1) 0; (2)
0,84; (3) 1,54; (4) 3,21;
(5) $2,86 \times 10^{-3}$ M 2:3-
Dimercaptopropanol.
Kurven von der 14.
Drahtwindung zurück
aufgenommen, SKE,
200 mV/Absz., anod.-
kathod., $h = 50$ cm,
Empf. 1:100.



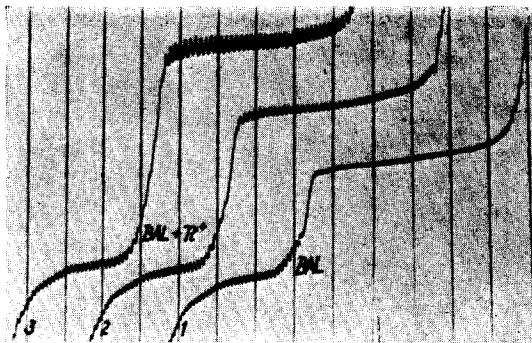


Abb. 9.

Kurven einer 2:3-Dimercaptopropanollösung in Gegenwart von Thallium. 5 ml Acetatpuffer vom pH 4,7 mit $1,97 \times 10^{-4}$ M 2:3-Dimercaptopropanol. Zugegeben: (1) 0; (2) 0,59; (3) $1,16 \times 10^{-4}$ M-Tl⁺. Kurven von der 12. Drahtwindung zurück aufgenommen, SKE, 200 mV/Absz., $h = 50$ cm, Empf. 1:15.

Abb. 10.

Einfluss des 2:3-Dimercaptopropanols auf Sb³⁺ in 2% iger Albuminlösung. 2% Albumin im Citratpuffer pH 5,8 mit 6×10^{-5} M-Sb³⁺. Zugegeben: (1) 0; (2) 0,6; (3) 1,18; (4) $1,76 \times 10^{-4}$ M Dimercaptopropanol. Kurven von der 2. Drahtwindung aufgenommen, SKE, 200 mV/Absz., anod.-kathod., $h = 50$ cm, Empf. 1:20.

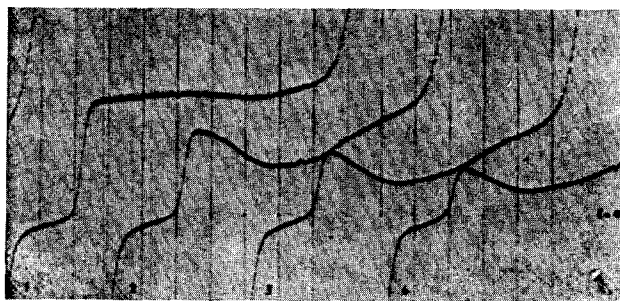
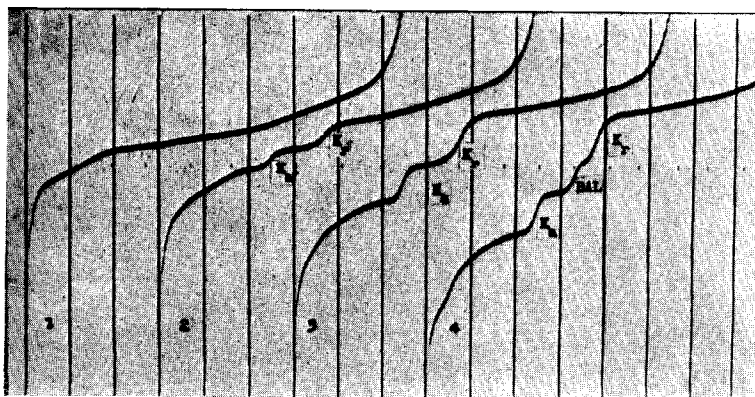
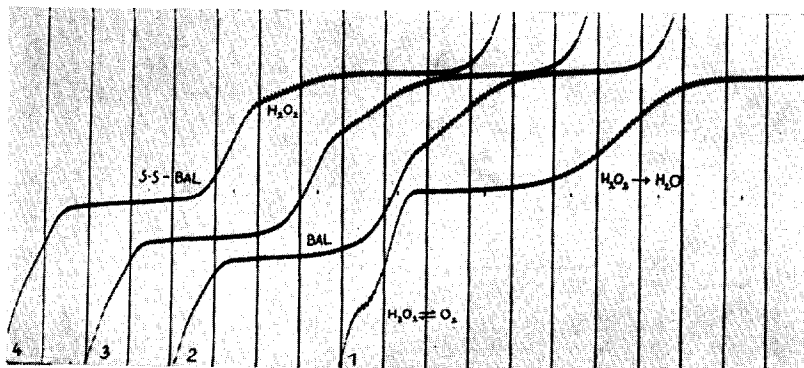


Abb. 11.

Einfluss des Albumins auf die Kupferstufe, Citratpuffer pH 6,1; $3,85 \times 10^{-4}$ M-Cu²⁺ Zugegeben: (1) 0; (2) 0,19%; (3) 0,81%; (4) 1,23% Albumin aus Pferdeblut. Kurven von der 2. Drahtwindung aufgenommen, SKE, 200 mV/Absz., anod.-kathod., $h = 50$ cm, Empf. 1:30.

Abb. 12.

Reaktion des Dimercaptopropanols mit Hydroperoxyd. Zeitabhängigkeit der Disulfidbildung durch Hydroperoxyd-Oxydation des Dimercaptopropanols. Boratpuffer pH 9,3. (1) $2,94 \times 10^{-4}$ H₂O₂ allein; (2) $2,88 \times 10^{-4}$ M-H₂O₂ mit 2:3-Dimercaptopropanol gleich nach Vermischen; (3) nach 8 Minuten; (4) nach 45 Minuten. Kurven von der 14. Drahtwindung zurück aufgenommen, SKE, 200 mV/Absz., anod.-kathod., $h = 50$ cm. Empf. 1:20. $T = 20^\circ\text{C}$.



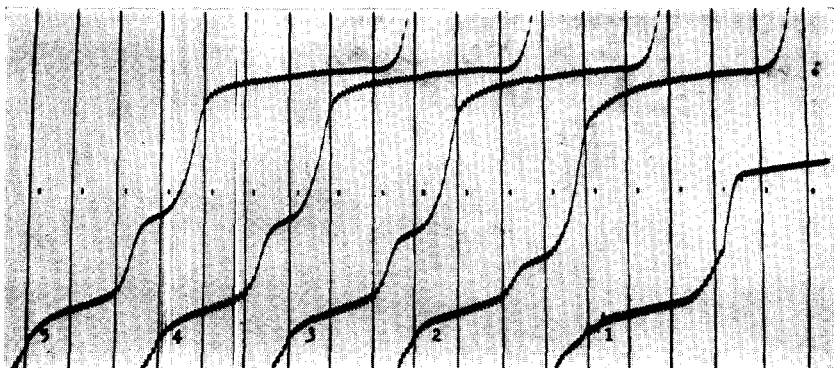


ABB. 13. Reaktion des Dimercaptopropanols mit Cystin. Zeitabhängigkeit der Reaktion bei dem Verhältnis Dimercaptopropanol:Cystin = 2:1. Phosphatpuffer pH 6,8. Kurve (1) $1,96 \times 10^{-4}$ M Dimercaptopropanol. Dazu wurde zugegeben $0,94 \times 10^{-4}$ M Cystin und die Kurven wurden (2) gleich; (3) nach 10 Minuten; (4) nach 20 Minuten; (5) nach 30 Minuten von der 14. Drahtwindung zurück registriert, SKE, 200 mV/Absz., anod.-kathod., $h = 50$ cm, Empf. 1:20.

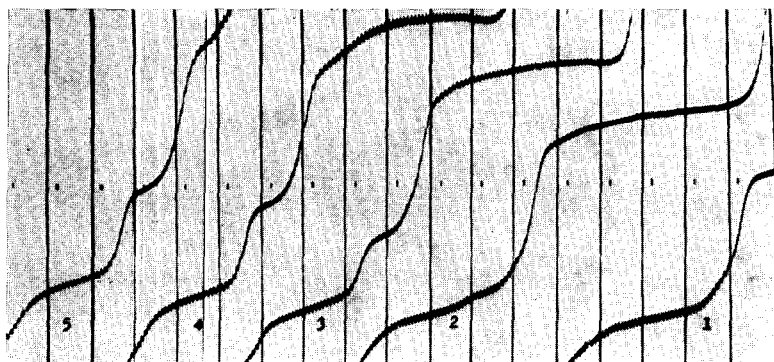


ABB. 14. Reaktion des Dimercaptopropanols mit Cystin. Abhängigkeit von der Cystinkonzentration. Phosphatpuffer pH 6,8 mit $1,96 \times 10^{-4}$ M Dimercaptopropanol. Cystinkonzentration: (1) 0; (2) 0,59; (3) 1,15; (4) 1,74; (5) $2,3 \times 10^{-4}$ M. Kurven von der 14. Drahtwindung nach 20 Minuten Stehens zurück aufgenommen, SKE, 200 mV/Absz., anod.-kathod., $h = 50$ cm, Empf. 1:20.

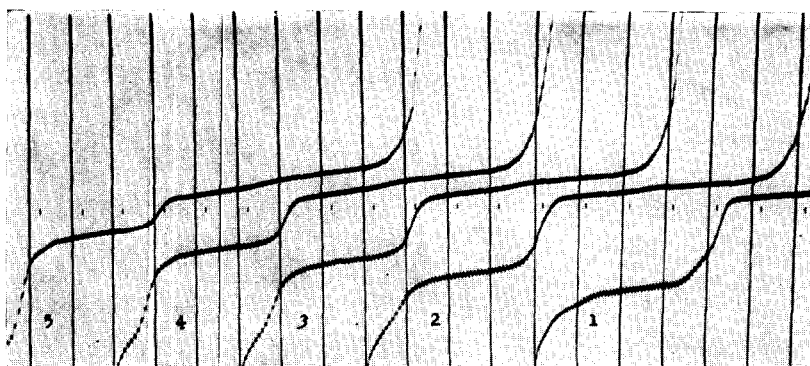


ABB. 15. Reaktion des Dimercaptopropanols mit Chinon. Phosphatpuffer pH 6,8 mit $1,96 \times 10^{-4}$ M Dimercaptopropanol. Chinonkonzentration: (1) 0; (2) 0,59; (3) 1,15; (4) 1,74; (5) $3,2 \times 10^{-4}$ M. Kurven von der 14. Drahtwindung zurück aufgenommen, SKE, 200 mV/Absz., anod.-kathod., $h = 50$ cm, Empf. 1:30.

Die Verbindungen der Schwermetalle mit dem 2:3-Dimercaptopropanol

Als so die Bedingungen der Reaktion sichergestellt wurden, wurde der Einfluss der Zugabe der Lösungen von 17 der häufigsten Schwermetalle auf die polarographischen Kurven der Dimercaptopropanollösungen studiert. Die einzelnen Stufen bei verschiedenen Konzentrationen der Metalle wurden verglichen.

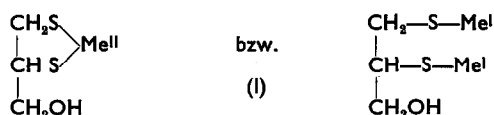
So war es möglich zu bestimmen, welche anodische Stufe (a) dem Rest des 2:3-Dimercaptopropanols und welche (b) den gebildeten Komplexverbindungen mit einer freien SH-Gruppe (Typus $\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CHS}(\text{Me})\text{CH}_2\text{SH}$) entsprechen. Beide diese Stufen sind durch die Bildung eines Quecksilbersalzes limitiert bei 2:3-Dimercaptopropanol mit zwei SH-Gruppen, bei den Komplexverbindungen mit einer SH-Gruppe. Die Quecksilberverbindungen, welche an der Elektrodenoberfläche gebildet werden, sind bei Dithiolen fester als bei Monothiolen. Im Einklang damit liegen die Stufen der Monothiole bei positiveren Potentialwerten als diejenigen der Dithiole.

Einfacher war die Identifizierung der kathodischen Stufen. Wenn neben der Stufe des Überschusses des freien Metalls eine andere Reduktionsstufe beobachtet wurde, konnte diese Stufe der Reduktion des Metalls aus der Verbindung mit 2:3-Dimercaptopropanol zugeschrieben werden. Die Reduktion der Komplexverbindung verlief in allen Fällen (ähnlich wie es bei den von Benesch¹⁸ studierten Beispielen der Fall war) bei negativeren Potentialen als diejenigen des freien Metalls.

Die Interpretation der polarographischen Kurven wurde dadurch erschwert, dass die anodische Stufe des 2:3-Dimercaptopropanols bei ziemlich negativen Potentialen liegt (etwa bei $-0,8$ V im untersuchten pH-Bereich). Dadurch war die Bildung von gemischten Strömen entweder mit der Reduktionsstufe des freien Metalls oder mit der Reduktionsstufe des Metalls aus der Komplexverbindung möglich. In solchen Fällen wurde z.B. die anodische Stufe des 2:3-Dimercaptopropanols (oder seiner Metallverbindung) über die Galvanometernulllinie hinaus verschoben. Auch die Koinzidenz der Halbstufenpotentiale einer der anodischen mit einer der kathodischen Stufen erschwerte die Identifizierung der Stufen.

Nach ihrem polarographischen Verhalten konnten die studierten Metalle in einige Gruppen²⁵ eingeteilt werden. Die Einteilung ist ähnlich wie bei den analytischen Gruppen des Schwefelwasserstoffsystems, was in Anbetracht der Ähnlichkeit der Liganden begreiflich ist.

Au^{III} , Ag^{I} , Hg^{II} , Phenylquecksilber und Cu^{II} bilden in allen verwendeten Puffern Verbindungen vom Typus (I)

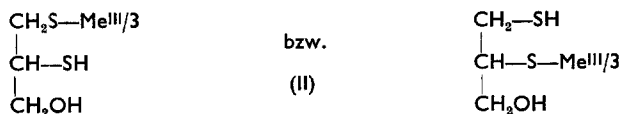


in welchen beide SH-Gruppen des Dimercaptopropanols durch das Metall besetzt sind und welche durchwegs wenig löslich sind. Auf den Polarogrammen beobachten wir nach Zugabe des Metalls eine Erniedrigung der anodischen Stufe des Dimercaptopropanols (Abb. 5). Die entstehende Verbindung bildet kolloidale Lösungen, so dass keine Reduktionsstufe des Metalls aus der Verbindung, sondern nur eine unregelmässige Depolarisation durch die kolloidalen Teilchen beobachtet wird

²⁵ Zuman P. und R. Zumanová *Chem. Listy*, 49, 652 (1955); *Collection* 21, 123 (1956).

(Abb. 5). Das Verhältnis des Metalls zum Dimercaptopropanol in der gebildeten Verbindung wurde durch polarometrische Titration bestätigt (Tabelle 1).

As^{III} , Sb^{III} , Bi^{III} bilden lösliche farbige Verbindungen vom Typus (II)



in welchem mit einem Mol des Metalls drei Mole des Dimercaptopropanols reagieren, wie aus der Abnahme der anodischen Stufe des Dimercaptopropanols mit Hilfe der polarometrischen Titration mit einer Metallsalzlösung festgestellt wurde.

Nach der Metallzugabe verkleinert sich in diesen Fällen die anodische Stufe des

TABELLE 1. BEOBACHTETE KURVENARTEN UND ZUSAMMENSETZUNG DER ENTSPRECHENDEN KOMPLEXE

Verhältnis Metall: 2:3-Dimercaptopropanol†					Metall	Komplextypus‡				
Puffer						Puffer				
Acetat pH 4,7	Citrat pH 5,9	Veronal pH 7,3	NH ₃ , NH ₄ Cl pH 8,5	Borat pH 8,6		Acetat pH 4,7	Citrat pH 5,9	Veronal pH 7,3	NH ₃ , NH ₄ Cl pH 8,5	Borat pH 8,6
1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	Au	I	I	I	I	I
2:1	2:1	—	2:1	2:1	Ag	I	I	—	I	I
1:1	1:1	1:1	(1:1,5)	1:1	Hg	I	I	I	I	I
1:1	1:1	2:1	2:1	1:1	Phenyl- queck- silber	I	I	I	I	I
1:1	1:1	1:1	(1:1,5)	1:1	Cu	I	I	I	I	I
1:3	1:3	1:3	1:3	1:3	As	II	II	II	II	II
1:3	1:3	1:3	1:3	1:3	Sb	II	II	II	II	II
1:3	1:3	1:3	1:3	1:3	Bi	II	II	II	II	II
0	0	0	0	0	Tl	0	0	0	0	0
1:1	0	1:1	(1:1,5)	1:1	Ni	I	0	—	I	II
0	0	1:2	1:1,5	1:1	Co	0	0	I	I	I
0	0	1:2	1:2	1:2	Zn	0	0	II§	II	II
1:1	1:1	1:1,5	1:1,5	1:1,5	Cd	I	I	I	I	I
1:2	1:1,5	1:2	1:1,5	1:1,5	Pb	II	II	I	I	I

* Keine Komplexbildung.

† Aus polarometrischen Titrationen.

‡ Aus polarographischen Kurven.

§ pH 9.

Dimercaptopropanols und es bildet sich eine neue anodische Stufe bei positiveren Potentialen. Diese Stufe entspricht der freien SH-Gruppe der Verbindung (II). und ist durch Quecksilbersalzbildung an der Elektrodenoberfläche begrenzt (Abb. 6, 7, 8).

In der entstandenen Verbindung unterliegt das Zentralatom einer Reduktion, welche sich durch eine Stufe äußert, die bei negativeren Potentialen liegt als die Reduktionsstufe des freien Metalls (Tabelle 2).*

Ni^{II} , Co^{II} , Zn^{II} bilden bei niedrigeren pH-Werten keine Verbindungen mit Dimercaptopropanol (ähnlich wie Sulfide). Bei höheren pH-Werten bildet Zink

* Beim Arsen wird die Verbindung des Typus II in zwei Stufen reduziert. Das freie Arsen unterliegt unter den angewandten Bedingungen nicht der Reduktion.

TABELLE 2. HALBSTUFENPOTENTIALE DER METALLE UND KOMPLEXE IN GEGENWART VON 2:3-DIMERCAPTOPROPANOL

Puffer	Acetat pH 4,7			Citrat pH 5,9			Veronal pH 7,3			NH ₃ , NH ₄ Cl pH 8,5			Borat pH 8,6		
Stufe Metall	Me	K _a	K _r	Me	K _a	K _r	Me	K _a	K _r	Me	K _a	K _r	Me	K _a	K _r
As	→	-0,30	-0,55*	→	-0,25	-0,53	→	-0,36	-0,63	→	-0,5	-0,76	→	-0,5	-0,75
Sb	-0,35	-0,26	-1,0	-0,35	-0,24	-1,0	-0,42	-0,31	-1,08	-0,59	-0,49	-1,20	-0,85	-0,48	-1,20
Bi	-0,20	-0,17	-0,49	+0,03	-0,05	-0,43	-0,1§	-0,07	-0,63	-0,31	-0,28†	-0,65	-0,23§	-0,19	-0,81
Tl	-0,50	0	0	-0,50	0	-1,30	-0,50	0p	-1,30	-0,50	0p	0	-0,50	0p	-0,68
Ni	-1,13	0	-0,80†	(-0,86)	0	0	—	—	—	-0,92	0	(-1,0)r	-1,10	0	0
Co	-1,38	0	-0,65	(-1,7)	0	0	-1,25	0	(-1,1)	-0,99	0	(-1,1)	-0,90	0	(-1,1)
Zn	-1,10	0	0	-1,23	0	0	-1,15	-0,36	—	-1,09	-0,51	-1,16	-1,09	-0,45	—
Cd	-0,66	0	-1,06†	-0,61	0	Ndschl.	-0,60	0	(-0,83)m	-0,65	0	(-0,93)m	-0,63	0	Ndschl.m
Pb	-0,51	-0,43	-0,61	-0,48	-0,35	-0,60	→	0	(-0,66)m	Ndschl.	0	(-0,7)m	Ndschl.	(-0,33)	-0,83m
E ₁ (BAL)		-0,52		-0,50		-0,61		-0,79							

* Verhältnis der Stufen verändert sich mit der Konzentration;

† bei höherer Konzentration gelangt es zur Bildung kolloidaler Lösungen;

‡ Konzentrationsabhängig;

§ im Puffer allein eine zweite negativere Stufe des Wismuts sichtbar;

() schlecht ausgebildete Stufen, verändern sich mit der Zeit;

→ das Metall scheidet sich bis zu den Reduktionspotentialen der Teilchen

des Grundelektrolyten nicht ab;

t gedehnte Stufe;

m kleine Stufe;

Me Stufe des Metalls;

K_a anodische Stufe des Komplexes;K_r kathodische Stufe des Komplexes;

Ndschl. Niederschlag;

p teilweiser Abfall.

lösliche Verbindungen vom Typus (II), Nickel und Kobalt Chelatverbindungen vom Typus (I).

Tl^I reagiert im gesamten studierten pH-Bereich mit dem Dimercaptopropanol nicht. Seine Stufen addieren sich mit den Stufen des Dimercaptopropanols (Abb. 9).

Pb^{II} , Cd^{II} verhalten sich je nach den angewandten Bedingungen verschieden. Lösliche Verbindungen des Bleis mit freien SH-Gruppen entstehen bei $pH < 6$, bei Kadmium herrscht die Bildung wenig löslicher Komplexe vor.

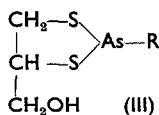
Fe^{III} , Sn^{II} . Die in Lösungen von Dimercaptopropanol nach Zugabe von zweiwertigem Zinn und dreiwertigem Eisen erhaltenen Kurven werden durch Oxydations Reduktionswirkungen dieser Metalle kompliziert. Das Verhalten von Sn^{II} nähert sich demjenigen des As^{III} , Sb^{III} und Bi^{III} .

As^V , Sb^V reagieren mit Dimercaptopropanol weder in anorganischen noch in organischen Verbindungen (wie in Phenylarson oder Kakodylsäure). Das Verhalten von "Neosalvarsan" und "Spironovan" ist durch die polarographische Aktivität der anwesenden Sulfoxylatgruppen kompliziert, man kann jedoch eine Reaktion dieser Verbindungen mit Dimercaptopropanol beobachten.

In Lösungen von Kobalt, Nickel, Eisen, Wismut und Arsen wurden Maxima bei $-1,4$ bis $1,6$ V beobachtet, welche der katalytischen Wasserstoffabscheidung angehören.

Es handelt sich durchwegs um sehr feste Verbindungen, die manchmal fester als die entsprechenden Sulfide sind. Polarographisch können in solchen Fällen direkt nur die Zusammensetzung der Verbindung, jedoch nicht die Gleichgewichtskonstanten bestimmt werden.

Die wichtigste Folgerung dieser Arbeit ist die Aufklärung der Struktur der Verbindungen der Arsengruppe, die der Zusammensetzung der Merkaptide des Glutathions entspricht. Beim Lewisit und anderen Organoarsenverbindungen wurden nämlich cyclische Verbindungen (III) beschrieben^{1,2,7,8,12} und eine ähnlich Konstitution wurde auch bei den anorganischen Verbindungen angenommen. Bei den Quecksilberverbindungen wurde im Einklang mit anderen Autoren^{5,17,18} gefunden, dass je nach den Bedingungen verschiedene Verbindungen entstehen können. Zeitliche Veränderungen der Komplexe¹⁸ konnten unter den gegebenen Bedingungen innerhalb einer Stunde weder bei den Quecksilberionen noch beim Phenylquecksilber nachgewiesen werden.



Es handelt sich in diesem Fall um das erste Beispiel, bei dem aus der anodischen Stufe der im Komplex gebundenen Liganden auf die Zusammensetzung des Komplexes geschlossen wurde.

Der Einfluss der Eiweissstoffe auf die Reaktion zwischen Dimercaptopropanol und Metallen

Weiter wurde untersucht, ob eine Zugabe von Dimercaptopropanol die Metalle aus ihrer Bindung an Proteine freimachen kann. Zu diesem Zwecke wurde Albumin

aus Pferdeserum gewählt, denn bei diesem Protein wurde eine ziemlich feste Bindung der Metalle an Thiol- und andere funktionelle Gruppen festgestellt.²⁶

Zu einer gepufferten Metalllösung wurde das Albumin in einer so grossen Konzentration zugegeben, dass die Metallstufe völlig unterdrückt wurde. Nach Zugabe von Dimercaptopropanol wuchsen auf den polarographischen Kurven die Reduktionsstufen (und in manchen Fällen auch die anodischen Stufen), welche den löslichen Verbindungen des Metalls mit dem Dimercaptopropanol entsprechen (Abb. 10). Quantitative Messungen in diesen Reaktionsgemischen wurden dadurch erschwert, dass das Eiweiss die Metallstufen nicht nur durch Bindung, sondern auch durch seine Oberflächenaktivität unterdrückt. Auch die Stufen der Metall-Dimercaptopropanol Verbindungen wurden durch die Oberflächenaktivität unterdrückt (Abb. 11). Trotzdem konnte ermittelt werden, dass zur Lockerung der Metalle aus ihrer Bindung an Proteine praktisch eine äquimolare Menge des Dimercaptopropanols genügt (d.h. z.B. beim Arsen ein Dreifaches der Metallkonzentration). Der Typus der Verbindungen zwischen Dimercaptopropanol und den Metallen war durch die Anwesenheit der Proteine nicht beeinflusst. Nur die Löslichkeit der kolloidalen Substanzen vom Typus I wurde erhöht.

Einfluss der Oxydationsmittel

Nach den oben erwähnten Ergebnissen sollte bei Intoxikationen eine sehr kleine Tagesdosis des Dimercaptopropanols genügen, die Spuren der Schwermetalle aus dem Organismus abzuschneiden. Nach den klinischen Erfahrungen ist jedoch, wie bereits oben erwähnt wurde (S), das Gegenteil der Fall, und es müssen sehr grosse Tagesdosen gegeben werden. Der Grund hierfür wurde darin gesucht, dass nur ein sehr kleiner Teil des Dimercaptopropanols in wirksamer Form ausgenützt wird. Der Rest unterliegt im Organismus Veränderungen hauptsächlich durch Oxydation, durch welche das Dimercaptopropanol inaktiviert wird.

Deshalb wurden einige Modellreaktionen studiert, und zwar die Oxydation durch Sauerstoff, Wasserstoffperoxyd und Cystin und die Reaktion mit Chinon.

Oxydation durch Sauerstoff und Wasserstoffperoxyd. Bei der Oxydation wässriger Lösungen von Dimercaptopropanol durch Sauerstoff bei grösseren pH-Werten als etwa 6 wurde gefunden, dass bei der Reaktion Wasserstoffperoxyd entsteht, welches weiter mit dem Dimercaptopropanol reagiert (S). Bei der Oxydation durch Sauerstoff entsteht ein Disulfid, das weiter zu einer wasserunlöslichen Verbindung oxydiert wird. Diese komplizierte Folge von Reaktionen, teilweise wahrscheinlich mit Radikalmechanismus,²⁷ wurde z.Z. nicht eingehender studiert und es wurde nur konstatiert, dass die Oxydationsgeschwindigkeit mit steigendem pH-Wert (d.h. mit steigender Dissoziation des Dimercaptopropanols) steigt.

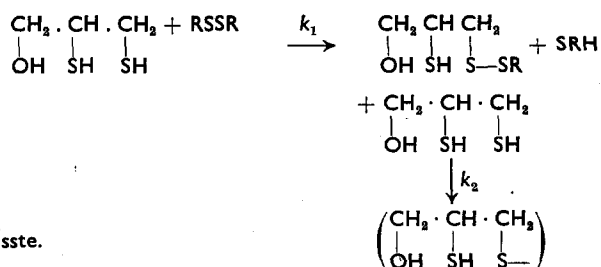
Flüssiges Dimercaptopropanol (Substanz) unterliegt dagegen bei Aufbewahrung an der Luft auch bei erhöhter Temperatur innerhalb von 20 Tagen nicht der Oxydation.

Nach der Zugabe von Wasserstoffperoxyd nimmt die anodische Stufe des Dimercaptopropanols ab. Auf Kosten der Wasserstoffperoxydstufe wächst eine Reduktionsstufe des Disulfids des Dimercaptopropanols. Diese Stufe hat praktisch dasselbe Halbstufenpotential wie die anodische Stufe der Thiolform. Aus der zeitbedingten Abnahme der anodischen Stufe des Dimercaptopropanols (Abb. 12) wurde für die

²⁶ z. B. I. M. Klotz, J. M. Urquart und H. A. Fiess *J. Amer. Chem. Soc.* 74, 5537 (1952).

²⁷ G. Barron und U. Flood *J. Gen. Physiol.* 33, 229 (1950).

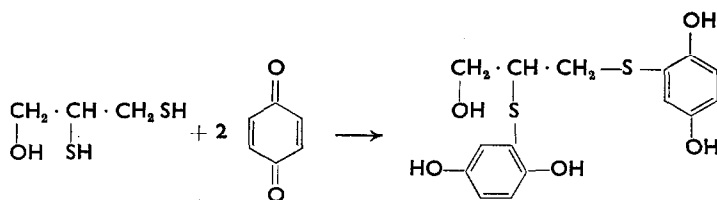
Der Reaktionsmechanismus könnte z.B. der folgende sein:



wo $k_2 \gg k_1$ sein müsste.

Die Kinetik dieser Reaktion wird weiter studiert. Bei Cystinüberschuss (Abb. 14, Kurve 5) nimmt die Höhe der Monothiolstufe ab. Monothiolverbindungen unterliegen einer weiteren Reaktion mit Cystin.

Reaktion des Dimercaptopropanols mit Chinon. Ähnlich wie bei anderen Thiolverbindungen³⁶ verläuft auch bei Dimercaptopropanol in Gegenwart von Chinon eine schnelle 1:4-Addition. Die anodische Stufe des 2:3-Dimercaptopropanols verschwindet beim Verhältnis 1 Mol Dimercaptopropanol: 2 Molen Chinon (Abb. 15). Auf der Kurve entsteht keine Stufe des Disulfids. Weil endlich keine neue anodische Stufe einer Monothiolverbindung (S), sondern lediglich die Stufe des Hydrochinons entsteht, kann der Reaktion nur folgendes Schema beigeordnet werden:



Schlussfolgerung

Es war möglich, die Bildung, die Bedingungen der Entstehung und die Zusammensetzung der Verbindungen von Dimercaptopropanol mit Schwermetallen polarographisch zu beweisen. Die gebildeten Verbindungen sind viel fester als die Bindung der Metalle an Proteine. Bereits eine äquivalente Menge des Dimercaptopropanols genügt zur Lockerung praktisch des gesamten Metalls. Der notwendige grosse Dimercaptopropanolüberschuss, welcher bei Intoxikationen durch Schwermetalle injiziert werden muss, ist dadurch begründet, dass das Dimercaptopropanol im Organismus der Reaktion mit verschiedenen Oxydationsmitteln unterliegt. Von den Reaktionen, die zur Inaktivierung des Dimercaptopropanols führen könnten, wurde der Verlauf der Oxydation durch Wasserstoffperoxyd und Cystin sowie die Reaktion mit Chinon, wo sich eine 1:4-Addition abspielt, bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG

(1) 2:3-Dimercaptopropanol (BAL) äussert sich auf den polarographischen Kurven durch eine anodische Stufe, welche einer Quecksilbersalzbildung entspricht. Bei höheren Konzentrationen als etwa $2 \times 10^{-4}\text{M}$ machen sich Adsorptionerscheinungen geltend.

³⁶ G. H. Meguerrian *J. Amer. Chem Soc.* 77, 5019 (1955).

(2) Mit Hilfe dieser Stufe und weiter der Reduktions- bzw. anodischen Stufe der Komplexverbindung wurde die Zusammensetzung der Verbindungen zwischen Dimercaptopropanol und Schwermetallen studiert. Die Metalle der ersten analytischen Gruppe bilden unlösliche Chelatverbindungen, die der Arsengruppe lösliche. Das Verhalten anderer Metalle hängt von den Bedingungen ab.

(3) Es wurde bestätigt, dass die Zugabe von Dimercaptopropanol die Metalle aus ihrer Bindung an Eiweissstoffe freimachen kann. Zur Lockerung der Metalle genügt praktisch eine äquimolare Menge des Dimercaptopropanols.

(4) Die grossen Tagesdosen des Dimercaptopropanols bei der klinischen Behandlung der Intoxikationen durch Schwermetalle wurden durch Inaktivierung des grössten Teiles des Dimercaptopropanols im Organismus erklärt. Es wurden einige Modellreaktionen für diese Inaktivierung studiert.

(5) Bei der Oxydation durch Sauerstoff entsteht bei $\text{pH} > 6$ Wasserstoffperoxyd, das weiter mit Dimercaptopropanol in einer Reaktion zweiter Ordnung unter Entstehung des Disulfids reagiert.

(6) Durch Reaktion des Dimercaptopropanols mit Cystin entstehen neben Disulfiden auch Monothiolverbindungen. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist eine Reaktion zweiter Ordnung.

(7) Durch Reaktion des Benzochinons mit Dimercaptopropanol verschwindet die anodische Stufe des Dimercaptopropanols. Es entsteht kein Disulfid, sondern es findet eine 1:4-Addition statt. Ein Mol Dimercaptopropanol reagiert mit 2 Molen Chinon. •An der Reaktion, die bei pH 4 bis 7 schnell verläuft, nehmen beide SH-Gruppen des Dimercaptopropanols teil.