

Über die Darstellung einiger Selenouroniumsalze und Selenouroniumbetaine

ALEXANDER SENNING und
OLE NØRGAARD SØRENSEN

Chemisches Institut der Universität Aarhus,
Aarhus C, Dänemark

Eine systematische pharmakologische Untersuchung organischer Selenverbindungen stösst immer wieder auf die Schwierigkeiten, die sich aus der Instabilität vieler solcher Verbindungen ergeben. Ziel der vorliegenden Untersuchung war daher vor allem, einfache, verhältnismässig haltbare Selenverbindungen für eine derartige Untersuchung zu beschaffen.

Die Wahl fiel dabei einerseits auf die α,ω -Polymethylen-*Se,Se*-bisselenouroniumbromide und andererseits auf die *Se*-(ω -Carboxyalkyl)-selenoharnstoffe mit Betainstruktur. Während über die Darstellung und pharmakologischen Eigen-

schaften der α,ω -Polymethylen-*S,S*-bisithiouroniumsalze zahlreiche Veröffentlichungen vorliegen,¹ waren unseres Wissens α,ω -Polymethylen-*Se,Se*-bisselenouroniumsalze noch nicht bekannt. Sie lassen sich unschwer aus Selenoharnstoff und α,ω -Dibromalkanen in siedendem Äthanol darstellen und können monatelang ohne Veränderung aufbewahrt werden. Selenouroniumbetaine waren offenbar bisher ebenfalls unbekannt und wurden von uns nach den für die entsprechenden Thiouroniumbetaine beschriebenen Methoden^{2,3} dargestellt. Diese Verbindungen sind ebenfalls recht stabil. In den Tabellen 1 und 2 sind die dargestellten Verbindungen aufgeführt. Bei der Elementaranalyse der Bisselenouroniumbromide fallen die Kohlenstoffwerte durchwegs zu hoch aus. Offenbar werden die Elementaranalysen systematisch gestört.

Eine vorläufige pharmakologische Untersuchung der Bisselenouroniumbromide zeigte im Ratten- und insbesondere im Mäuseversuch eine deutliche carcinostatische Wirkung. Die biologischen Untersuchungen werden fortgesetzt.

Tabelle 1. $[\text{H}_2\text{N}(\text{H}_2\text{N}=\text{C}-\text{Se}-(\text{CH}_2)_n-\text{Se}-\text{C}(=\text{NH}_2)\text{NH}_2)]^{2+} 2 \text{Br}^-$.

<i>n</i>	F:	Ausb. %	Summenformel	Gef.	Ber.
1	194,5–197°	49	C ₃ H ₁₀ Br ₂ N ₄ Se ₂	C 9,33; H 2,44; N 13,40	C 8,58; H 2,40; N 13,34
2	238–241°	73	C ₄ H ₁₂ Br ₂ N ₄ Se ₂	C 13,98; H 3,12; N 13,15	C 11,07; H 2,79; N 12,91
3	200–202,5°	76	C ₅ H ₁₄ Br ₂ N ₄ Se ₂	C 14,17; H 3,18; N 11,95	C 13,40; H 3,16; N 12,51
4	215–217°	60	C ₆ H ₁₆ Br ₂ N ₄ Se ₂	C 17,16; H 3,68; N 12,58	C 15,60; H 3,49; N 12,13
5	165–169°	87	C ₇ H ₁₈ Br ₂ N ₄ Se ₂	C 19,23; H 3,94; N 12,44	C 17,66; H 3,81; N 11,77
6	225,5–227°	91	C ₈ H ₂₀ Br ₂ N ₄ Se ₂	C 20,78; H 4,28; N 11,38	C 19,61; H 4,11; N 11,43
<i>n</i>	Gef.*		Ber.*		
1	202,0		210,0		
2	231,4		217,0		
3	228,5		224,0		
4	243,6		231,0		
5	234,5		238,0		
6	249,6		245,0		

* Äquivalentgewicht (Bromid nach Volhard)

Tabelle 2. $\text{H}_2\text{N}(\text{H}_2\text{N}=\text{C}-\text{Se}-(\text{CH}_2)_n-\text{COO}^-)$.

<i>n</i>	F:	Ausb. %	Summenformel	Gef.	Ber.
1	ca. 140° (Zers.)	ca. 60	C ₃ H ₉ N ₂ O ₂ Se	N 15,34; Se 43,48	N 15,47; Se 43,60
2	164–165° (Zers.)	ca. 60	C ₄ H ₉ N ₂ O ₂ Se	C 25,37; H 4,13; N 14,50; Se 40,31	C 24,62; H 4,14; N 14,36; Se 40,48

Zur Darstellung der Bisselenouroniumbromide werden 0,05 Mol Selenoharnstoff, 0,0275 Mol α,ω -Dibromalkan und 50 ml absolutes Äthanol eine halbe Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wird abfiltriert, in Dimethylformamid gelöst und mit Äther wieder ausgefällt. Nach mehrmaligem Umfällen fallen die Verbindungen analysenrein an.

Se-Carboxymethyliselenoharnstoff erhielten wir nach der Vorschrift für *S*-Carboxymethylisothioharnstoff² und *Se*-(2-Carboxyäthyl)-iselenoharnstoff nach der Vorschrift für *S*-(2-Carboxyäthyl)-isothioharnstoff.³ Beide Verbindungen wurden aus Wasser umkristallisiert.

Wir danken den Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen (Deutschland) für Unterstützung unserer Arbeit und für die pharmakologischen Befunde. Dem Institutsvorstand, Herrn Professor Dr. Hakon Lund, sind wir für die Bereitstellung von Institutsmitteln zu Dank verpflichtet.

1. Senning, A. *Acta Chem. Scand.* **19** (1965) 1993.
2. Maly, R. *Ann.* **189** (1877) 380.
3. Gresham, T. L., Jansen, J. E. und Shaver, F. W. *J. Am. Chem. Soc.* **70** (1948) 1001.

Eingegangen am 23. Mai 1966.

Time Course of the Action of Pepsin on Insoluble and Soluble Collagens

K. LAMPIAHO, A. KARI, J. NIINIKOSKI
and E. KULONEN

*Department of Medical Chemistry,
University of Turku, Turku 3, Finland*

In our first paper on this subject¹ we presented a typical starch-gel electrophoretic pattern of pepsin-treated soluble collagen. The sharp resolution of the fragments could not be achieved by column chromatography on CM-cellulose, by gel filtration, or by preparative starch-gel electrophoresis. Pepsin is the most suitable

proteolytic enzyme for this kind of study because the collagen fragments yield a distinct electrophoretic pattern and pepsin seems to migrate in these conditions in a direction opposite to that of the collagen fragments.

We wished to extend this procedure to "Nishihara collagens" (acid-soluble collagens obtained from insoluble collagenous fibres by treatment with enzymes, *e.g.* with pepsin.) Electrophoretic patterns of such preparations have not been recorded. The second purpose of this note is to present an integrated scheme of the course of the digestion of soluble collagen by pepsin in terms of gel-electrophoretic patterns.

The insoluble collagen was prepared from the skins of adult rats. The material was cleaned, homogenized (homogenizer No. 21 00 00, E. Bühler, Tübingen, West Germany), and extracted two times with 0.1 M sodium phosphate buffer of pH 7.5, once with 0.9 % (w/v) sodium chloride solution and finally five times with molar sodium chloride solution. The salts were removed from the residue by washing three times with water. The air-dried residue contained 10.3 % hydroxyproline and 12.2 % proline (w/w). This residue contained both the acid-soluble and insoluble fractions of collagen. The terms soluble and insoluble collagen are a matter of definition² and true dissolution may be confused with solution following slight hydrolysis at a low pH. Soluble collagen was obtained from rat-tail-tendon by extraction with 3.0 % acetic acid.

Insoluble collagen, 100 mg, was suspended in 200 ml of 0.5 % acetic acid, the pH of the suspension was brought to 2.0 with hydrochloric acid, and 1 mg of pepsin (DAB, 1:3 500) was added. Control experiments were carried out without pepsin present. The mixture was continuously shaken at room temperature for 48 h, a new 1-mg portion of pepsin was added, and the shaking continued for a further 48 h. The solution was isolated by filtration and lyophilized. About 88.5 % of the original collagen treated with pepsin was solubilized to a viscous gel. In the control experiments only 28.8 % was dissolved and a gel was not formed. Eventual complex formation between pepsin and insoluble collagen or inactivation of the pepsin were not studied.

Fig. 1 shows the gel-electrophoretic pattern of the collagen solubilized by pepsin and patterns for other collagens.