

am 21. Juli 1961

J. F. DIEHL, Little Rock, Arkansas (USA): Untersuchungen zur Biosynthese der Muskelproteine mittels radioaktiv markierter Aminosäuren.

Mit ^{14}C markierte Aminosäuren werden in zunehmendem Umfang zur Untersuchung des Protein-Stoffwechsels eingesetzt. Man kann eine Tierserie mit einer radioaktiven Aminosäure injizieren und zu bestimmten Zeitpunkten danach Proteine, Aminosäuren, Kreatin usw. aus dem Tierkörper isolieren. Die Bestimmung der spezifischen Aktivität dieser Verbindungen ermöglicht Rückschlüsse auf die Geschwindigkeit der auf- und abbauenden Vorgänge (turnover) im Körper. Die spezifische Aktivität von Proteinen wird jedoch nicht nur von deren Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeit bestimmt, sondern auch von der spezifischen Aktivität der freien Aminosäure am Ort der Protein-Synthese. Diese Tatsache wird bei manchen Arbeiten nicht genügend berücksichtigt.

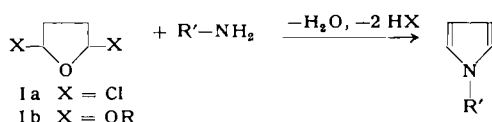
So wurde der im Vergleich zum gesunden Tier sehr stark erhöhte Einbau von ^{14}C -Glycin in die Skelettmuskel-Proteine dystrophischer Kaninchen früher als Folge eines beschleunigten turnover dieser Proteine gedeutet. Bei beschleunigtem turnover eines Proteins müßte, falls alle anderen Faktoren gleich bleiben, der Einbau aller Aminosäuren gleichermaßen verstärkt sein. Versuche des Vortr.¹⁾ haben jedoch gezeigt, daß der Einbau von ^{14}C -Leucin und -Lysin nicht in gleicher Weise wie der des Glycins durch die Dystrophie beeinflusst wird. Ein beschleunigter turnover der Muskelproteine scheidet daher als alleinige Erklärung für den verstärkten Einbau des ^{14}C -Glycins aus. Fraktionierte Zentrifugierung der Muskelhomogenate hat gezeigt, daß sich der beim dystrophischen Tier verstärkte Einbau des ^{14}C -Glycins in die Proteine der Kern-, Mitochondrien-, Mikrosomen- und überstehenden Fraktion in den ersten Stunden nach der Injektion viel deutlicher zeigt als nach 12 Stunden. Die spezifische Aktivität des papierchromatographisch isolierten freien Glycins des Muskels ist 30 min nach der Injektion beim dystrophischen Tier höher als beim Kontrolltier und fällt dann rascher ab. Bei dieser durch Vitamin-E-Mangel verursachten Muskeldystrophie sollte man also weniger von einem beschleunigten turnover der Muskelproteine sprechen als vielmehr von einem beschleunigten turnover des freien Glycins im Muskel. [VB 523]

GDCh-Ortsverband Nordbayern

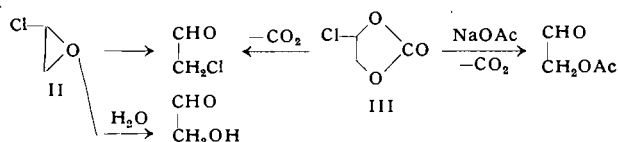
Erlangen, am 6. Juli 1961

HANS GROSS, Berlin-Adlershof: Darstellung und Reaktionen einiger cyclischer α -Halogenäther.

Das durch Tieftemperaturchlorierung von Tetrahydrofuran erhältliche 2,5-Dichlor-tetrahydrofuran (Ia) gibt mit primären Aminen N-substituierte Pyrrole²⁾. Diese Synthese verläuft besonders glatt und mit guten Ausbeuten, wenn man Ia zunächst zum 2,5-Dialkoxy-tetrahydrofuran (Ib) umsetzt und dieses mit primärem Amin in Gegenwart von Toluolsulfosäure erwärmt:



Durch Chlorierung von Äthylenoxyd konnte das wenig stabile Chloräthylenoxyd (II) erhalten werden, das sich beim Versuch der Destillation ($K_p \approx 35^\circ\text{C}$) z. T. in Chloracetaldehyd umlagert. Durch Schütteln mit kaltem Wasser erhält man eine wäßrige Lösung von Glykolaldehyd:

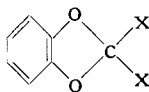


Chloracetaldehyd wurde auch durch thermische Zersetzung von Monochloräthylencarbonat (III) erhalten. Aus III und Natriumacetat ist das Monoacetat des Glykolaldehyds zugänglich, während symmetrisches Dichloräthylencarbonat mit Natriumbisulfid leicht in Glyoxalbisulfid überführbar ist (80 % Ausb.).

¹⁾ J. F. Diehl, Arch. Biochem. Biophysics 87, 339 [1960].

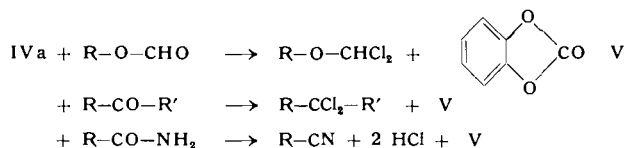
²⁾ H. Groß, Angew. Chem. 72, 268 [1960]; 73, 29 [1961].

Brenzkatechin-dichlormethylenäther (IVa) gibt mit Alkoholen und Phenolen Orthokohlensäureester (IVb), mit Grignard-Verbindungen cyclische Ketonacetale (IVc).

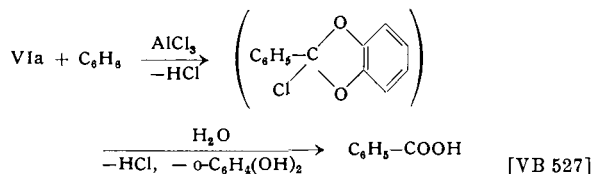
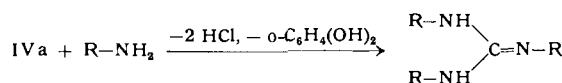


IVa X = Cl; IVb X = OR; IVc X = Alkyl, Aryl

Alkylformiate werden von IVa unter Abspaltung von Brenzkatechincarbonat (V) in die entsprechenden Dichlormethylalkyläther übergeführt; Ketone geben geminale Dichloride, Säureamide werden zu Nitrilen entwässert.



Primäre Amine geben mit IVa N,N',N''-trisubstituierte Guanidine, während man unter den Bedingungen der Friedel-Crafts-Reaktion eine Carboxyl-Gruppe in aromatische Kohlenwasserstoffe einführen kann (Ausbeuten 50–80 %).



2. Europäisches Symposium über Vitamin B₁₂ und Intrinsic Faktor

Hamburg, 2. bis 5. August 1961

Aus den Vorträgen:

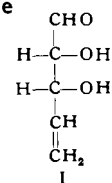
Chemische und biologische Synthese

W. Friedrich (Hamburg) beschrieb die Partialsynthese von B₁₂-Analogen: Er ließ die Ca-Salze cyclischer 2'.3'-Nucleotide mit geschützten Aminoalkoholen reagieren und kondensierte die so erhaltenen Nucleotidester mit Cobyrynsäure-abcdg-hexamid (Faktor V_{1a}). Gleichfalls mit Faktor V_{1a} als Ausgangsmaterial gelang K. Bernhauer und F. Wagner (Stuttgart) die Synthese von N-Cobrinyl-abcdg-hexamid-f-serinphosphat und des entsprechenden Theoninphosphates. Auch über die Synthese von Cobinamidphosphat, Cobinamid-pyrophosphat-guanosin und Cobinamid-pyrophosphat-adenosin wurde berichtet. Die drei zuletzt genannten Verbindungen fördern das Wachstum von *E. coli* 113-3, was als weiterer Hinweis für ihre Rolle als Zwischenprodukte der Vitamin-B₁₂-Biosynthese gewertet wurde. Ein vollständigeres Schema für die Biosynthese des Vitamins B₁₂ schlugen K. Bernhauer, O. Müller und F. Wagner vor: Cobinamid → Cobinamid-phosphat → Cobinamid-pyrophosphat-guanosin → Cobinamid-phosphoribose-1-phosphat → Anlagerung der Base (z. B. 5,6-Dimethylbenzimidazol) ans Co-Atom → Bildung der α -ribosidischen Bindung. Di Marco et al. (Mailand) konnten aus Mutanten von *Nocardia Rugosa* den Faktor V_{1a} in der Coenzymform isolieren.

D. Perlman, J. M. Barrett und P. W. Jackson (New Brunswick, USA) berichteten über Cobamide, die von Propionibakterien und *Streptomyces*-Arten synthetisiert werden. Propionibakterien können in der Natur nicht vorkommende, radioaktiv markierte Basen verwerten und ermöglichen damit die Gewinnung radioaktiver Cobamid-Coenzyme ohne Verdünnung und mit spezifischen Aktivitäten zwischen 0,2 und 0,4 $\mu\text{C}/\mu\text{g}$.

Chemie und Biologie der Vitamin B₁₂-Coenzyme

Nach H. A. Barker (Berkeley, USA) hat der Zucker, den man durch milde Säurehydrolyse aus 5,6-Dimethyl-benzimidazolcobamid-Coenzym erhält (Corrinose) D-Konfiguration und die Struktur I. Doch ist es unwahrscheinlich, daß der Zucker in dieser Form auch im intakten Coenzym enthalten ist.



In einer von *Dorothy Crowfoot Hodgkin* vorgetragenen Arbeit zeigte *P. G. Lenhert* (Oxford) durch röntgenkristallographische Untersuchungen, daß im B_{12} -Coenzym Adenosin mit seinem C-Atom 5' direkt an das zentrale Co-Atom gebunden ist. Ob es sich dabei um eine einfache oder doppelte Bindung handelt, konnte noch nicht mit Sicherheit festgestellt werden. In der Diskussion wies *A. W. Johnson* (Nottingham, England) darauf hin, daß hier die erste in der Natur gefundene metallorganische Verbindung vorliegt. Polarographische Untersuchungen von *K. Bernhauer*, *O. Müller* und *F. Wagner* (Stuttgart) nach Spaltung des B_{12} -Coenzym und der Cobinamid-Konjugate durch Licht (in Abwesenheit von Sauerstoff) sprechen dafür, daß Kobalt in diesen Verbindungen als Co^{2+} enthalten ist.

Vitamin B₁₂ im Stoffwechsel

P. Overath (München) gab eine Übersicht derjenigen Befunde, die eine Mitwirkung von Vitamin B₁₂ bei der Propionatbildung in Propionibakterien beweisen. Er berichtete über die teilweise Reinigung der Methylmalonyl-CoA-Isomerase. Nach *B. C. Johnson et al.* (Urbana, USA) wird vollständige Methylmalonyl-CoA-Isomerase der Ratte (im Gegensatz zu der aus Bakterien) durch Behandlung mit Aktivkohle oder Cyanid oder durch Bestrahlung nicht gehemmt. In der Diskussion berichtete *B. C. Johnson* über die Biosynthese (in Ratten) von ⁶⁰Co-¹⁴C-markiertem B₁₂-Coenzym nach Applikation von ⁶⁰Co-Cyanocephalamin und ¹⁴C-Adenin.

Zwei Gruppen beschrieben die Verwendung der Protozoen *O. malthamensis* zum Studium des B_{12} -Mangels. *S. L. Marchese* und *L. G. Lajtha* (Oxford) untersuchten die Entwicklung eines B_{12} -Mangels an Hand des Einbaus ^{14}C -markierter Verbindungen in die Zellsubstanz. Die Unfähigkeit zum Einbau von ^{14}C -Propionat war die erste nachweisbare Störung des Stoffwechsels. *H. R. V. Arnstein* und *A. M. White* (London) zeigten, daß unter allen Stoffwechselvorgängen, die untersucht wurden, bei B_{12} -Mangel nur die Isomerisierung von Methylmalonat zu Succinat vollständig blockiert war.

L. A. Manson (Philadelphia, USA) berichtete über die Synthese von Desoxyribose in zellfreien Extrakten leukämischer Zellen von Mäusen. Die Fähigkeit zur Desoxyribose-Synthese wird durch Bestrahlung der Extrakte oder Behandlung mit Aktivkohle geschädigt. Ein Zusatz von Vitamin B₁₂ stellt sie wieder her.

Antagonisten und Strukturspezifität der Vitamin B₁₂-Wirkung

E. Lester Smith (Greenford/England) untersuchte die Hemmwirkung von Substanzen, die durch milde chemische Behandlung des Vitamins entstehen. Eine dieser Substanzen, eine Monocarbon-säure (wahrscheinlich die d-Säure), blockiert bei Hühnern und Hühnerembryonen die Umwandlung von Vitamin B₁₂ in die Coenzymform. Die Anilide dieser Säure wirken ebenso.

W. Friedrich, H. C. Heinrich und P. Reidel (Hamburg) gelang die Synthese vollständiger B₁₂-Analoge, die verschiedene Alkanolamine statt des üblichen 1-Amino-2-propanols enthalten. Analoge mit 2-Methyl-2-amino-äthanol oder 2-Methyl-2-amino-propanol sind sehr kräftige, spezifische Inhibitoren für Vitamin B₁₂.

Verwendung radioaktiv markierten Vitamins B₁₂

Vitamin B₁₂ mit ⁶⁰Co bestrahlt den Testorganismus besonders stark. ⁵⁸Co ist in dieser Hinsicht günstiger, doch sind ⁵⁸Co-markierte Verbindungen in Lösung nicht stabil. Neuerdings wurde ⁶⁷Co zugänglich, das nach Ch. Rosenblum (Rahway, USA) für Un-

tersuchungen an Menschen bevorzugt werden sollte. A. Doscherholmen (Mineapolis, USA) berichtete über einen verbesserten Plasmaabsorptionstest zur Diagnose der perniziösen Anämie. Man gibt dem Patienten oral ^{57}Co -Vitamin B_{12} und bestimmt die Radioaktivität des Plasmas durch Scintillations-Spektrometrie. Das günstige Energiespektrum des ^{57}Co ermöglicht es, die Untergrundimpulse um 95 % zu reduzieren und gleichzeitig nur 54,5 % der ^{57}Co -Impulse zu verlieren. H. C. Heinrich (Hamburg) zeigte, daß sich die bei Verwendung von ^{60}Co -Vitamin B_{12} übliche Radioaktivitätsmenge von 0,2 bis 1 μC auf 0,01 μC herabsetzen läßt, wenn man die Strahlung mit einem Gesamtkörper-Radioaktivitäts-Detektor mit flüssigen Scintillatoren mißt. Die Strahlenbelastung des Patienten wird so von 1 bis 5 mrem/Woche auf 0,05 mrem/Woche vermindert, d. h. sie beträgt nur noch etwa 1 % der natürlichen Strahlenbelastung des Menschen.

Intrinsic Faktor und Vitamin-B₁₂-Absorption

W. W. Bromer und E. O. Davison (Indianapolis, USA) beschreiben Gewinnung und Eigenschaften eines homogenen Intrinsic-Faktor/Vitamin-B₁₂-Komplexes aus Pylorus-Schleimhaut vom Schwein. Weniger als 100 µg des Komplexes/Tag genügen zur Behandlung der perniziösen Anämie. Nach R. Gräsbeck et al. (Helsingfors, Finnland) kann das Bindungsvermögen für Vitamin B₁₂ als Maß für die Intrinsic-Faktor-Aktivität angesehen werden. Auf Grund dieser Beobachtung gelang es den Autoren aus Magensaft durch Reinigung an DEAE-Cellulose und Sephadex einen menschlichen Intrinsic-Faktor zu isolieren. Die Reinheit des Präparates ist mit der Reinheit der aktivsten Präparate vom Schwein vergleichbar.

G. B. J. Glzss et. al. (New York) elektrophoretisierten menschlichen Magensaft nach Inkubation mit ^{60}Co -Vitamin B_{12} . Dabei zeigt eine der erhaltenen Fraktionen eine verminderte Bindungsfähigkeit für Vitamin B_{12} , wenn man Magensaft von Patienten mit perniziöser Anämie untersucht. Das Auftreten dieser Fraktion ermöglicht eine bequeme und zuverlässige Diagnose.

Nach G. B. J. Glass et al. (New York) ist es vorteilhafter Hydroxocobalamin statt Cyanocobalamin zu verabreichen: nach intramuskulärer Injektion wird Hydroxocobalamin langsamer absorbiert, es wird langsamer ausgeschieden und führt zu deutlich höheren und länger aufrechterhaltenen Vitamin-B₁₂-Spiegeln im Blut.

Folsäure und Vitamin B₁₂

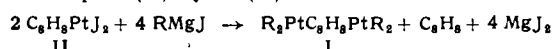
Nach J. R. Guest und D. D. Woods (Oxford) wird Methionin in *E. coli* auf zwei Wegen aus Homocystein synthetisiert: Der erste Weg ist vom Cobalamin unabhängig, benötigt aber eine konjugierte Folsäure (Tetrahydropteroyl-triglutamat) als Cofaktor. Er wird durch Tetrahydropteroyl-monoglutamat gehemmt und ist in auxotrophen Mutanten, die Cobalamin oder Methionin benötigen, blockiert. Der zweite, cobalamin-abhängige Weg wird durch Tetrahydropteroyl-monoglutamat nicht gehemmt. Man findet ihn in Stämmen, die Cobalamin benötigen. Über Nachweis und Reinigung eines cobamid-enhaltenden Enzyms aus einem zur Methionin-Synthese fähigen *E. coli*-Stamm wurde berichtet.

L. Jaenicke (München) konnte weder bei der gegenseitigen Umwandlung von C₁-Einheiten an Folsäure-Cofaktoren noch beim Stoffwechsel der N(5)-Methyl-dihydrofolsäure eine Beteiligung von Vitamin B₁₂ nachweisen. Nach *Noronha* und *Silverman* (Bethesda, USA) scheint Praefolsäure N(5)-Methyl-tetrahydrofolsäure zu sein. [VB 525]

Rundschau

Die Bildung von Ferrat(VI) bei Einwirkung von überschüssigem H_2O_2 auf eine gekühlte, stark alkalische Suspension von Eisen-(III)-hydroxyd in Gegenwart von Äthylendiamin-tetraacetat beobachteten *G. L. Kochanny jr. und A. Timnick*. Die Absorption der (nach Abfiltrieren von nicht umgesetztem $\text{Fe}(\text{OH})_3$) erhaltenen Lösung im Sichtbaren war gegenüber einer alkalischen K_2FeO_4 -Lösung (ohne ÄDTA) nach längeren Wellen verschoben; ähnliche Verschiebungen wurden beim Versetzen einer K_2FeO_4 -Lösung mit ÄDTA beobachtet. Die Oxydation zu Ferrat(VI) durch H_2O_2 gelang bei Abwesenheit von ÄDTA nicht. (J. Amer. chem. Soc. 83, 2777 [1961]). — Ko. (Rd 883)

Organoplatin-cyclooctatetraen-Komplexe (I) stellten J. R. Doyle et al. durch Einwirkung von Grignard-Verbindungen auf Cyclooctatetraen-platin(II)-dijodid (II) dar:



Ia, R = CH₃, entsteht in Form gelber Nadeln (Zers. 161–175 °C, Ausb. 36 %) aus II und überschüssigem CH₃MgJ. Die Phenyl-Verbindung Ib, R = C₆H₅ (Zers. 155–165 °C, Ausb. 41 %), entsteht analog aus C₆H₅MgJ und I und bildet hellgelbe Plättchen. Die Verbindungen I sind in chlorierten Kohlenwasserstoffen und Benzol mäßig löslich. Sie reagieren mit Phosphinen und Aminen unter Ersatz des Cyclooctatetraens und Bildung von beispielsweise Dimethyl-bis-(triphenylphosphin)-platin(II), [(C₆H₅)₃P]₂Pt(CH₃)₂. (J. Amer. chem. Soc. 83, 2768 [1961]). – Ko. (Rd 881)

Das Calciumcarbonat der Gallensteine tritt nach IR-Untersuchungen von *William Meier* und *H. Moenke* in Form der instabilen hexagonalen Modifikation (Vaterit) und daneben als Aragonit auf. Manche Gallensteine enthalten CaCO_3 nur als Vaterit. Kalkspat wurde in keiner Probe gefunden. Ferner enthalten Gallensteine Calciumphosphat, und zwar in Form von Apatit. (Naturwissenschaften 48, 521 [1961]). —Ko. (Rd 879)