

nicht – wie ursprünglich angenommen – als Derivat des Phytols wiedergefunden. – Wird markiertes Dicumarol Versuchstieren gleichzeitig mit einer Dosis von Phyllochinon injiziert, die genügt, um die Dicumarolwirkung wieder aufzuheben, so wird der Dicumarolgehalt der Organe niedriger gefunden als in Kontrollen ohne Phyllochinon. Der Differenzbetrag, d. h. die Menge des aus offenbar spezifischer Bindung durch das Phyllochinon verdrängten Dicumarols entspricht größtenteils dem Gehalt der betreffenden Organe an Vitamin K-Reduktase. Er ist am höchsten bei der Ratte, gleich Null bei der Taube, die praktisch keine K-Reduktase enthält, und liegt beim Huhn dazwischen. – Wirbellose Tiere (Schnegel, Regenwurm), die keine Gerinnungsproteine bilden, vermögen trotzdem Methylnaphthochinon in Vitamine der K₂-Reihe umzuwandeln. Nachgewiesen wurde die Bildung von u. a. Vitamin K₂₍₂₀₎ und K₂₍₅₀₎.

Wirkung von Polypeptiden auf Stoffwechselvorgänge und die Struktur isolierter Mitochondrien

D. Neubert, Berlin-Dahlem

Die Wirkung einiger Gruppen von Polypeptid-Antibiotica auf die Mitochondrienatmung, die oxidative Phosphorylierung und auf bestimmte strukturelle Veränderungen an den Zellpartikeln (Wasseraufnahme (Schwellung) und ATP-abhängige Wasseraustreibung aus geschwollenen Partikeln) wurde untersucht, besonders eingehend am Beispiel des Gramicidin S. Diese Verbindung hemmt die Atmung und die Atmungskettenphosphorylierung isolierter Rattenlebermitochondrien. Die mit Succinat als Substrat erhaltenen Ergebnisse unterscheiden sich dabei deutlich von Befunden mit α -Ketoglutarat. Während mit $1-2 \times 10^{-5}$ M Gramicidin S weder die Succinatatmung noch die hiermit gekoppelte Phosphorylierung geschädigt wird, führt die gleiche Konzentration des Polypeptids bei Verwendung von α -Ketoglutarat zu einer Entkopplung (P/O etwa 1) bei vollständig erhaltener Atmung. Dieser Befund könnte als weiterer Hinweis für die vor mehreren Jahren bei der Untersuchung der Phosphorvergiftung ausgesprochene Vermutung dienen (AePP 236, 61, 1959), daß mindestens eine der beiden Phosphorylierungsstufen der Succinatkette nicht mit einer der drei Stufen der NAD-Kette identisch ist. Bei dem Effekt handelt es sich um keine Hemmung der phosphorylierenden Atmung wie sie z. B. unter Oligomycin auftritt, da die Atmungshemmung durch 2,4-Dinitrophenol nicht aufgehoben werden kann. Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Aminosäure-Sequenz im Gramicidin S für die biochemische Wirkung zeigten, daß der Ersatz der Orn-Reste durch Lys keine Wirkungsveränderung verursacht, der weitere Ersatz des Val durch Gly den Effekt auf die Atmung, Phosphorylierung und die Mitochondrienstruktur jedoch völlig verschwinden läßt. Damit ergibt sich eine interessante Parallel zu Befunden Schwyzers [1] über die antibiotische Wirkung dieser Derivate. Die Beteiligung einer hydrophoben Bindung zwischen dem Peptid und dem Rezeptor in der Mitochondrienmembran erscheint wahrscheinlich.

Zur Entstehung und Beeinflussung der Lebernekrose nach Allylalkohol-Vergiftung

G. Richarz, Konstanz

Allylalkohol per os verursacht bei der Ratte umschriebene Lebernekrosen. Dieses „Modell“ dient vielfach zur Ermittlung nekrotischer Eigenschaften von Pharmaka. Eine Bestätigung der Hypothese (H. Schön), daß Acrolein die Nekrosen verursacht und nekrosevermindernde Stoffe lediglich eine Hemmung der Alkohol-Dehydrogenase (ADH) bewirken, würde diesen Test wertlos machen. Durch folgende Befunde konnte die erwähnte Hypothese widerlegt werden: 1. Acro-

lein per os führt unter gleichen Bedingungen nur zu geringfügigen morphologischen und funktionellen Leberveränderungen. 2. Das in diesem Test ausgeprägt nekrotrop wirkende Cystein bewirkte bei der Ratte eine beschleunigte Abnahme der Allylalkohol-Konzentration im Blut. 3. In therapeutisch wirksamen Konzentrationen ($< 10^{-3}$ Mol/l) erhöht Cystein die Aktivität von ADH aus Pferdeleber. – Die im Allylalkohol-Test beobachtete nekrotrope Wirkung des Cysteins muß daher auf einem direkten Eingreifen im Stoffwechselmechanismen der Leber beruhen.

Zur Struktur und Wirkungsweise der Alkoholdehydrogenase aus Hefe

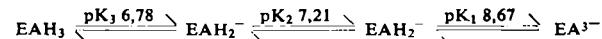
H. Sund, A. Arens, K. Weber und K. Wallenfels, Freiburg/Breisgau

Bestimmt man die N-terminalen Gruppen der Alkoholdehydrogenase (ADH) aus Hefe nach der DNP-Methode, so findet man, daß alle als N-terminale Gruppen in Frage kommenden zehn DNP-Aminosäuren im Verlauf der Umkristallisation der ADH so stark abnehmen, daß sie schließlich nach der 19. Umkristallisation nur noch in Mengen von 0,07 bis 0,56 Mol/Mol ADH (Molekulargewicht 150000) vorliegen. Es wird angenommen, daß Hefe-ADH keine realen NH₂-endständigen Aminosäurereste besitzt, und die gefundenen „Endgruppen“ aus am Protein festhaftenden Verunreinigungen stammen. Der Zinkgehalt [1] kristallisierter Alkoholdehydrogenase aus Hefe nimmt von fünf Atomen Zink pro Enzymmolekül nach der 1. Kristallisation auf 3,3 nach der 8. Umkristallisation ab, um dann bis zur 19. Umkristallisation praktisch konstant zu bleiben.

Die Untersuchungen der pH-Abhängigkeit [2] der durch Hefe-ADH katalysierten DPN⁺-Reduktion im Bereich von pH 6 bis 9,5 zeigte, daß die kinetisch bestimmten Dissoziationskonstanten der binären Enzym-Substrat-Komplexe im Falle des DPN⁺ pH-unabhängig sind und beim Äthanol zwischen pH 6 und 8,5 eine geringe Abnahme aufweisen, um dann oberhalb pH 8,5 konstant zu bleiben. Die pH-Abhängigkeit der maximalen Geschwindigkeiten (V) gehorcht in dem untersuchten pH-Bereich der Gleichung:

$$V_{\max} = \frac{[H^+]^3 V_3 + [H^+]^2 K_3 V_2 + [H^+] K_2 K_3 V_1 + K_1 K_2 K_3 V_0}{[H^+]^3 + [H^+]^2 K_3 + [H^+] K_2 K_3 + K_1 K_2 K_3}$$

Die pK-Werte der verschiedenen, unterschiedlichen Aktivität besitzenden ternären Enzym-Substrat-Komplexe liegen bei 8,67; 7,21 und 6,78:



Der Komplex EAH₂⁻ besitzt die größte Aktivität.

Zur Struktur und Wirkungsweise der Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber

H. Sund, Freiburg/Breisgau

In Konzentrationen von 10–17 mg/ml besitzt die Diffusionskonstante der Glutaminsäuredehydrogenase (Glu-DH) aus Rinderleber einen Wert von $1,1 \cdot 10^{-7}$ cm²/sec. Für diesen Konzentrationsbereich errechnet sich mit $s_{20,w} = 30,1$ S ein Teilchengewicht von 2,6 Millionen und f/f_0 zu 2,1. Bei höheren Konzentrationen liegt die Diffusionskonstante bei $0,6 \cdot 10^{-7}$ cm²/sec und das Teilchengewicht bei etwa 5 Millionen [3].

[1] B. L. Vallee u. F. L. Hoch, Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 41, 327 (1955); K. Wallenfels, H. Sund, A. Faessler u. W. Burchard, Biochem. Z. 329, 31 (1957).

[2] Vgl. auch I. W. Sizer u. A. Gierer, Disc. Faraday Soc. 20, 248 (1955); K. Wallenfels u. H. Sund, Biochem. Z. 329, 17 (1957).

[3] Vgl. auch J. A. Olson u. C. B. Anfinsen, J. biol. Chemistry 197, 67 (1952).

[1] Helv. chim. Acta 41, 1582 (1958).

[γ] beträgt oberhalb 10 mg/ml 14,4 ml/g und unterhalb dieser Konzentration 8,7 ml/g. Die Ergebnisse zeigen, daß Glu-DH im assoziierten Zustand eine sehr unsymmetrische Form besitzt und beim Verdünnen in symmetrischer aufgebaute Teilchen dissoziiert. Die Zahl der Bindungsstellen für DPNH, die mit Hilfe der Fluoreszenztechnik untersucht wurde, ist im Gegensatz zu allen bisher untersuchten Enzymen nicht konstant. Entsprechend der Dissoziation des Enzymproteins in Untereinheiten nehmen die DPNH-Bindungsstellen zu. Zink-Ionen, die dieses Enzym sehr stark hemmen, erhöhen die Fluoreszenz des Enzym-DPNH-Komplexes. Die Komplexbildungskonstante für die relativ feste Enzym-Zink-Bindung liegt bei 10^6 l/Mol, das Äquivalentgewicht pro Zinkbindungsstelle bei 14000. Die pH-Abhängigkeit der K_m - und V_{max} -Werte für DPN^+ und Glutaminsäure zeigt, daß im pH-Bereich von 5,9–8,0 bei der enzymatisch katalysierten Glutamatoxidation Gruppen mit pk-Werten von 6,5 und 7,3 bis 7,5 beteiligt sind. Auf Grund der Aminosäureanalyse ist das kristallisierte Enzym durch einen relativ niedrigen Gehalt an Tryptophan (1,8 %) und Cystin/2 (1 %) charakterisiert. Der niedrige N-Gehalt des Proteins von 15,5 % ist bedingt durch einen Kohlenhydratanteil von etwa 10 %, der sich zu etwa 8 % aus einem Zuckeralkohol und zu etwa 2 % aus Glucose zusammensetzt.

Über die renale Manipulierung von Herzglykosiden als Ursache ihrer unterschiedlichen diuretischen Aktivität

G. Vogel, Köln

Zur Klärung der Frage, welche renalen und extrarenalen Faktoren für die unterschiedliche diuretische Wirksamkeit von Herzglykosiden verantwortlich sind, erhielten 15–20 kg schwere Bastardhunde während 2 h eine Infusion von $2,3 \times 10^{-8}$ Mol/min der Glykoside Convallatoxin, Digoxin und Digitoxin in eine A. renalis, die kontralaterale Niere diente als Kontrolle. Convallatoxin bewirkt die bekannte Natriurese und Diurese, Einschränkungen von glomerulärer Filtrationsrate und effektivem renalem Plasmafluß können eintreten. Isomolare Dosen von Digitoxin lassen diese Effekte vermissen. Vom infundierten Convallatoxin werden 16 % durch die Versuchsniere ausgeschieden. Digitoxin ist im Harn nicht nachweisbar, die Convallatoxin-Clearance ist – bezogen

auf die des Insulin – größer als die von Digoxin. Die Ursache der unterschiedlichen Wirksamkeit wird in der unterschiedlichen Filtrierbarkeit und Diffusibilität der Glykoside gesehen, diese wiederum ist Folge unterschiedlicher Bindungsraten an Plasmaproteine. So läßt sich an der isolierten Froschniere zeigen, daß Anwesenheit von 2 g/100 ml Serum-Albumin vom Rind den natriuretischen Digitoxineffekt aufhebt, die Convallatoxinwirkung dagegen nicht beeinflußt. Digitoxin diffundiert aus proteinhaltigen Medien (Dialyseversuche) kaum, während Convallatoxin frei diffundiert. Glykosidausscheidung und -clearance sowie die natriuretische Wirksamkeit sind der Bindungsrate an Plasmaprotein umgekehrt proportional. Die renale Manipulierung von Herzglykosiden weist demzufolge in Abhängigkeit vom Umfang der Plasmaproteinbindung beträchtliche Unterschiede auf, die sich daraus ergebenden Differenzen in Filtrierbarkeit und Diffusibilität – Penetrationsfähigkeit in die transportierenden Tubuluszellen – erklären die unterschiedlichen diuretischen und natriuretischen Aktivitäten.

Isolierung multipler Formen menschlicher Lactatdehydrogenasen

E. D. Wachsmuth und G. Pfeiderer, Frankfurt/M.

Es wurde erstmals über Isolierung von Isozytmen der Lactatdehydrogenase, hier am Beispiel des Enzyms aus menschlichen Organen, berichtet, die kristallin gewonnen wurden. Aus Gehirn, Herzmuskel und Niere gelang eine Reindarstellung der drei am stärksten anodisch wandernden Isozytmen. Bei der Isolierung folgen auf die Extraktion ein pH-Schritt, eine Calcium-Phosphat-Gel-Adsorption, eine Ammoniumsulfatfraktionierung, ein Hitzeschritt und schließlich die Rohkristallisation. Bei dieser Methode kann die prozentuale Aktivitätsverteilung der Isozytmen weitgehend konstant gehalten werden. Das gewonnene Präparat wird auf einer DEAE-Sephadex-Säule durch einen NaCl-Gradienten in die einzelnen Isozytmen getrennt. Die reinen Isozytmen wurden kristallisiert und vier- bis fünfmal umkristallisiert. An diesen Präparaten wurden biochemische, chemische und physikalische Studien durchgeführt, die u. a. die Aussage zulassen, daß die Isozytmen gleicher Ladung, aber verschiedener Organherkunft, bei Herz, Niere und Gehirn des Menschen identisch sind.

[VB 650]

R UNDSCHAU

Die Anfänge der indischen Alchemie lassen sich weiter zurückverfolgen als in anderen Kulturkreisen des Altertums. P. Ray wies nach, daß bereits in der Ayurveda-Periode die Verwendung gewisser pflanzlicher Drogen mit Vorstellungen von Zauberei, Dämonologie, Astrologie und Magie verquickt war. Der Begriff „Ayusyani“ im Atharvaveda (etwa 1000 bis 800 v. Chr.) stellt das Sanskrit-Äquivalent des Wortes „Alchemie“ dar. Hymnen dieser Sammlung preisen die das Leben verlängernde und die Gesundheit erhaltende Wirkung bestimmter Stoffe. Bis zum Ende der Tantra-Epoche (etwa 1300 n. Chr.) wird damit die Alchemie Teil der Medizin, und nun tritt auch in Indien das Quecksilber als Panacee wie als Mittel zur Transmutation unedler Metalle in Gold in den Vordergrund. Etwa um die Zeitwende wird daher die Alchemie als „Rasayana“, als Wissenschaft vom Quecksilber, bezeichnet. / 142. Meeting Amer. chem. Soc. 1962, 6 L / –Ru. [Rd 363]

Zur Strahlengefährdung durch frische troposphärische Spaltprodukte stellte R. E. Lapp Überlegungen an. Die Zahlen wurden einem Beispiel entnommen, bei dem in Troy, N.Y., von einem Bombenversuch in Nevada am 26. 4. 1953 ein ungewöhnlich starker „Fallout“ auftrat. Auf Grund der Daten wird geschätzt, daß in diesem Falle 10^{-10} Curie Jod-131 je

Quadratzentimeter Boden abgelagert wurde. Dem würde nach den Erfahrungen bei dem Windscale-Unfall eine Milch-Kontaminierung von 10^{-7} Curie pro Liter Milch entsprechen. Bei Kindern zwischen 6–18 Monaten ist eine Retention von 30 % des Jod-131 in der Schilddrüse zu erwarten. In dem untersuchten Fall wird die gesamte vom Jod-131 herrührende Bestrahlungsdosis für ein Individuum auf etwa 10 bis maximal 30 rad geschätzt. Die Untersuchung der damals in dem genannten Alter befindlichen Individuen auf eine etwaige statistisch signifikante Erhöhung der Schilddrüsenkrebs-Rate würde eine Grundlage liefern für die Beurteilung solcher Dosen, die nach der heutigen Kenntnis in der Gegend der Gefährdungsgrenze liegen. / Science (Washington) 137, 756 (1962) / –Sn [Rd 369]

Disauerstoff-chlortrifluorid, O_2ClF_3 , haben A. V. Grosse und A. G. Streng durch Addition von ClF an O_2F_2 bei 110 bis 140 °K dargestellt. Die feste Verbindung ist tief violett und in reiner Form bis etwa 195 °K stabil. Bei höheren Temperaturen zerfällt sie quantitativ in O_2 und ClF_3 . Diese beiden Produkte entstehen direkt, wenn man die Reaktionsbedingungen nicht sorgfältig einhält. / 142. Meeting Amer. chem. Soc., Sept. 1962, 11N / –Ko. [Rd 391]