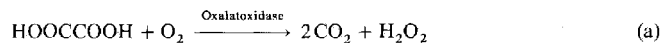


- [1] Übersichten: a) D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard III, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 119; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 138; b) G. R. Newkome, C. N. Moorefield, *Aldrichimica Acta* **1992**, *25*, 31; c) H.-B. Melk-burger, W. Jaworek, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1609; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1571; d) D. A. Tomalia, *Aldrichimica Acta* **1993**, *26*, 91.
- [2] I. Gitsov, K. L. Wooley, J. M. J. Fréchet, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1282; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1200.
- [3] R.-H. Jin, T. Aida, S. Inoue, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1260.
- [4] Z. Xu, J. S. Moore, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1394; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1354.
- [5] T. M. Miller, T. X. Neenan, E. W. Kwock, S. M. Stein, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 356.
- [6] C. Wörner, R. Mülhaupt, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1367; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1306.
- [7] E. M. M. de Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1370; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1308.
- [8] K. L. Wooley, C. J. Hawker, J. M. Fréchet, F. Wudl, G. Srdanov, S. Shi, C. Li, M. Kao, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9836.
- [9] Y.-H. Liao, J. R. Moos, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1774.
- [10] F. Moulines, L. Djakovitch, R. Boese, B. Gloaguen, W. Thiel, J.-L. Fillaut, M.-H. Delville, D. Astruc, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 1132; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1075.
- [11] a) S. Serroni, G. Denti, S. Campagne, A. Juris, M. Ciano, V. Balzani, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1540; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1493; b) G. R. Newkome, F. Cardullo, E. C. Constable, C. N. Moorefield, A. M. W. Cargill Thompson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 925.
- [12] A. Rajca, S. Utamapanya, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10688.
- [13] Alternative Zugänge zu Multi(TTF)-Systemen: a) M. L. Kaplan, R. C. Haddon, F. Wudl, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 338; b) M. Adam, P. Wolf, H. J. Räder, K. Müllen, *ibid.* **1990**, 1624; c) F. Bertho-Thoroval, A. Robert, A. Souizi, K. Boubekeur, P. Batail, *ibid.* **1991**, 843; d) M. Jørgensen, K. A. Lestrup, K. Bechgaard, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5684; e) M. R. Bryce, G. J. Marshall, A. J. Moore, *ibid.* **1992**, *57*, 4859; f) M. Fourmigué, Y.-S. Huang, *Organometallics* **1993**, *12*, 797.
- [14] D. C. Green, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1476; für eine verbesserte Herstellung von 1 siehe: J. Garin, J. Orduna, S. Uriel, A. J. Moore, M. R. Bryce, S. Wegener, D. S. Yufit, J. A. K. Howard, *Synthesis* **1994**, 489.
- [15] T. M. Miller, E. W. Kwock, T. X. Neenan, *Macromolecules* **1992**, *25*, 3143.
- [16] Einzelheiten der elektrochemischen Versuche mit 3, 7 und 12, die in Zusammenarbeit mit Professor M. Jubault, Université d'Angers, durchgeführt wurden, werden an anderer Stelle veröffentlicht.
- [17] J. B. Torrance, B. A. Scott, B. Welber, F. B. Kaufman, P. E. Seiden, *Phys. Rev. B* **1979**, *19*, 730.

Humanes Oxalat – tatsächlich nur ein Stoffwechsel-Endprodukt?

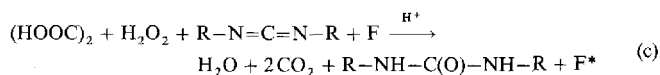
Steffen Albrecht*, Herbert Brandl und Christoph Schönfels

Nach dem bisherigen Kenntnisstand ist Oxalat ein humanes Stoffwechselprodukt ohne physiologische Bedeutung. Allerdings werden Steinleiden und Organverkalkungen oft durch Calciumoxalatkristallisationen hervorgerufen. Lediglich von Pflanzenzellen^[1] und bestimmten Bakterien (*Oxalobacter formigenes*, *Pseudomonas oxalaticus*) ist bekannt, daß Oxalat metabolisiert wird [Gl. (a), (b)].



[*] Dr. rer. nat. habil. S. Albrecht
Universitätsklinikum der Technischen Universität
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Fetscherstraße 74, D-01307 Dresden
Telefax: Int. + 351/458-4340
StR H. Brandl
Gymnasium Kaltenkirchen
Dipl.-Biochem. C. Schönfels
Medizinisches Labor Dr. Schottmann, Freiberg

Entwickelt wurde ein hochempfindliches und spezifisches chemiluminometrisches Verfahren zur Bestimmung von Oxalat in Körperflüssigkeiten^[2]. Es beruht auf der schnellen Oxidation von Oxalat durch H_2O_2 in Gegenwart von Carbodiimid und einem geeigneten Fluorescer bei niedrigem pH. Die dabei intermediär entstehende Monoperoxyoxalsäure zerfällt unter Anregung des Fluorescers in CO_2 und H_2O . Die Gesamtreaktion wird durch Gleichung (c) und die Lichtemission durch Gleichung (d) beschrieben.



(R = Cyclohexyl; F = Fluorescer, z.B. 9,10-Diphenylanthracen;
F* = Fluorescer im ersten angeregten Singulettzustand)

Mit empfindlichen Luminometern lassen sich durch die Messung der Lichtemission sehr kleine Oxalatkonzentrationen bis 200 nmol L^{-1} erfassen. Da keine Interferenzen durch andere organische Moleküle auftreten, ist die Methode für Oxalatbestimmungen in biologischen Proben prädestiniert.

Bei der Bestimmung des Oxalatgehalts in humanen Serum- und Plasmaproben ergaben sich reproduzierbar unterschiedliche Werte in den beiden Medien^[3], die sich beim Vergleich mit Angaben in der neueren Literatur bestätigen ließen^[4]. Unsere Experimente ergaben durchschnittlich $4.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ Oxalat im Plasma und $12.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ Oxalat im Serum – ein zunächst schwer interpretierbarer Befund.

Bei der Untersuchung von Hämodialyse-Patienten trat ein weiteres bemerkenswertes Resultat auf: Die Gesamtmenge an ausgeschiedener Oxalsäure im Dialysat überstieg deutlich die Menge, die sich unter Berücksichtigung des Gesamtblutvolumens aus der Differenz der Oxalatkonzentrationen im Plasma vor und nach der Dialyse ergab.

Möglicherweise sind hohe intrazelluläre Oxalatkonzentrationen Ursache dieser Diskrepanzen. In beiden Fällen – einerseits durch den Gerinnungsprozeß und das hochtourige Zentrifugieren, andererseits durch den Blutstrom in den Kapillarröhrchen der Dialysekapeln – kommt es bekanntermaßen zur partiellen Läsion humaner Blutzellen. Daher wurden intrazelluläre Oxalatkonzentrationen in Erythrocyten, Thrombocyten, Granulo-cyten und Monocyten bestimmt, da keine verlässlichen Angaben vorliegen.

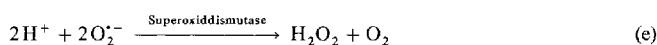
Separiert wurden die genannten Blutzellen von 60 gesunden, erwachsenen Personen im Alter von 20 bis 40 Jahren nach bekannten Methoden (vgl. *Experimentelles*). Nach einem letzten Waschschrift mit physiologischer NaCl-Lösung wurden die Zellsuspensionen, die 10^5 bis 10^6 Zellen pro mL enthielten, dreifach in flüssigem Stickstoff schockgefrostet und mit $100 \mu\text{L}$ 15proz. HCl pro mL Zellsuspension versetzt, was eine vollständige Läsion der Zellen zur Folge hat. Anschließend wurde die Oxalatkonzentration im Überstand chemiluminometrisch bestimmt. Es ergaben sich Werte zwischen 0.1 und 10 mg L^{-1} . Das mittlere Erythrozyten- und Thrombozytenvolumen wurde an hämatologischen Automaten ermittelt. Für Granulozyten und Monozyten wurde ein aus Literaturangaben gemitteltes Volumen von 1100 bzw. 3100 fL angenommen^[5]. Unter Berücksichtigung der entsprechenden Zellzahl und -volumina wurden die in Tabelle 1 zusammengefaßten intrazellulären Oxalatkonzentrationen berechnet. Unabhängig von der Zellart übersteigen die intrazellulären Oxalatkonzentrationen die im Plasma um mindestens zwei Größenordnungen. Die Frage, ob das Oxalat extra- oder intrazellulär gebildet wird, kann gegenwärtig nicht

Tabelle 1. Mittlere intrazelluläre Oxalatkonzentrationen humaner Blutzellen und extrazelluläre Oxalatkonzentration von Heparin-Plasma (SD = Standardabweichung).

Zellart	Zahl der Probanden	Oxalatkonzentration [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	2 SD [$\mu\text{mol L}^{-1}$]
Erythrocyten	60	615	± 183
Thrombocyten	36	890	± 223
Granulocyten	60	1830	± 411
Monocyten	26	2910	± 638
Heparin-Plasma	60	3.98	± 1.68

beantwortet werden. Auf aktive ATP-abhängige Transportprozesse, wie sie für Alkali- oder Erdalkalimetall-Ionen bekannt sind, gibt es bei Oxalat keine Hinweise. Wahrscheinlicher ist, daß Oxalat intrazellulär aus den Vorstufen Serin, L-Hydroxyprolin, Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan und L-Ascorbinsäure enzymkatalysiert gebildet wird^[4]. Die intrazellulären Oxalatkonzentrationen sind ähnlich groß wie die bekannten Konzentrationen anderer Substrate in humanen Zellen. Beispielsweise beträgt die Konzentration von 2,3-Diphosphoglycerat in Erythrozyten $4720 \mu\text{mol L}^{-1}$ ^[5]. Allerdings sind die in Tabelle 1 angegebenen Oxalatkonzentrationen als „Gesamt-oxalat“ zu verstehen. Es kann keine Aussage darüber gemacht werden, wie das Oxalat in vivo vorliegt. Da es sich um ein kleines, als Mono- oder Dianion geladenes Molekül handelt, sollte der überwiegende Anteil des Oxalats gebunden sein, z.B. in Komplexen mit Übergangsmetall-Kationen. Da bei unserer Methode die Oxalatkonzentrationen bei pH = 1 bestimmt werden, liegt der überwiegende Anteil des gebundenen Oxalats als freies Monoanion oder als neutrale Säure vor; selbst Calcium-oxalat-Mikrokristalle würden unter diesen Bedingungen aufgelöst. Es stellen sich daher folgende Fragen: Ist humanes Oxalat tatsächlich nur ein Stoffwechsel-Endprodukt? Wenn ja, welchen Sinn haben die hohen intrazellulären Oxalatkonzentrationen?

Von den aus dem Pflanzenreich bekannten enzymkatalysierten Oxalat-Metabolisierungen könnte dem Oxalatoxidase-Weg [Gl. (a)] auch im humanen Stoffwechsel Bedeutung zukommen. Dazu wäre ein humanes Enzym mit Oxalatoxidase-Aktivität und die genetische Determinierung dieses Enzyms erforderlich, was wir gegenwärtig untersuchen. Die Reaktionsprodukte H_2O_2 und CO_2 haben wichtige biochemische Funktionen: H_2O_2 ist wesentlicher Bestandteil des „respiratory burst“ phagocytosefähiger Zellen und wird bei entzündlichen Prozessen größtenteils aus O_2^- gebildet [Gl. (e)].



Möglicherweise ist der Oxalatoxidase-Weg eine Alternative zu Gleichung (e). Daß Mechanismen existieren, über die Oxalat enzymkatalysiert auch in humanen Blutzellen umgesetzt werden kann, bekräftigt folgender von uns kürzlich erhaltener experimenteller Befund^[9]: Stimuliert man separierte humane neutrophile Granulocyten mit endogenen Noxen wie Zymosan oder Endotoxin, so beträgt die intrazelluläre Oxalatkonzentration im Vergleich zu der bei unstimulierten Zellen nur 60 bis 65 % der in Tabelle 1 angegebenen Werte. Sollten die molekularbiologischen Untersuchungen die Existenz und die genetische Determinierung eines oder mehrerer Enzyme mit Oxalatoxidase-Aktivität erbringen, wäre damit erstmals gezeigt, daß Oxalat im humanen Stoffwechsel nicht nur ein nutzloses Endprodukt ist.

Unsere Ergebnisse lassen keine Aussagen darüber zu, wie Oxalat in humanen Blutzellen vorliegt, sondern nur darüber, daß es in erheblichen Mengen vorhanden ist.

Experimentelles

Zellseparationen: Die Separation der Erythrocyten gelang durch Dextranultraschallsedimentation. Aus dem Überstand wurden die Granulocyten durch Dichtegradientenzentrifugation nach Eckert [6] isoliert. Die Thrombocyten wurden durch Zentrifugation gemäß den Angaben vom Kazemi [7] abgetrennt. Die Monozyten wurden nach Hamid [8] isoliert. Alle Zellzählungen erfolgten an einem hämatologischen STKS-Automaten der Fa. Coulter, Krefeld.

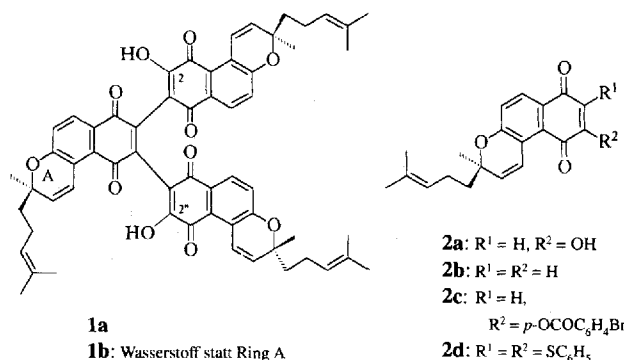
Chemiluminometrische Messung: Die Zellysate-Überstände wurden nach Zentrifugation mit einem Luminometer LB 9503 der Fa. Berthold, Wildbad (100 μL Probenvolumen, Meßzeit 4 s) untersucht. Weitere Einzelheiten sind Lit. [2] zu entnehmen. Es wurden Doppelbestimmungen vorgenommen, wobei die Standardabweichung in jedem Fall unter 4 % lag.

Eingegangen am 17. März 1994 [Z 6769]

- [1] B. G. Lane, J. M. Dunwell, J. A. Ray, M. R. Schmitt, A. C. Cuming, *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 12239–12242.
- [2] S. Albrecht, H. Hornak, T. Freidt, W. D. Böhm, K. Weis, A. Reinschke, *J. Biolumin. Chemilumin.* **1993**, 8, 21–24.
- [3] S. Albrecht, A. Reinschke, W. D. Böhm, A. Blatter, K. Weis, J. U. Leitis, *Z. Urol. poster* **1993**, 22–24.
- [4] S. Albrecht, „Zur Anwendung moderner Chemilumineszenzmethode in der biochemischen Analytik“, Habilitationsschrift, Technische Universität Dresden, **1993**, S. 28–60.
- [5] H. Arnold, K. Hass in *Praktische Blutzelldiagnostik* (Hrsg.: I. Boll, S. Heller), Springer, Berlin, **1991**, S. 101–108.
- [6] R. Eckert in *Immunologische Arbeitsmethoden* (Hrsg.: H. Friemel), Fischer, Jena, **1984**, S. 252–254.
- [7] A. Kazemi, A. K. Singh, N. G. P. Slater, *Br. J. Haematol.* **1991**, 79, 624–627.
- [8] A. Hamid, „Monozytenfunktionen und Immunstatus bei Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphomen“, Dissertation, Medizinische Akademie, Dresden, **1992**, S. 32–33.
- [9] S. Albrecht, H. Brandl, C. Schöfens, unveröffentlichte Ergebnisse.

Corrigenda

In dem Highlight „Conocurvon – Prototyp einer neuen Wirkstoffklasse mit Anti-HIV-Aktivität?“ von H. Laatsch (*Angew. Chem.* **1994**, 106, 438) sind zum Teil fehlerhafte Formeln wiedergegeben. Richtig sind folgende:



In der Zurschrift „Neuartige makrocyclische Flüssigkristalle“ von P. R. Ashton, D. Joachimi, N. Spencer, J. F. Stoddart, C. Tschierske, A. J. P. White, D. J. Williams und K. Zab (*Angew. Chem.* **1994**, 106, 1563) muß in Tabelle 1 die Angabe S_p bei 9, 10 und 12 durch S_A ersetzt werden.