

Die Anwendung dieser modellmässigen Betrachtung erlaubt nun interessante Feststellungen hinsichtlich des Metallionen-Haushalts in Organismen.

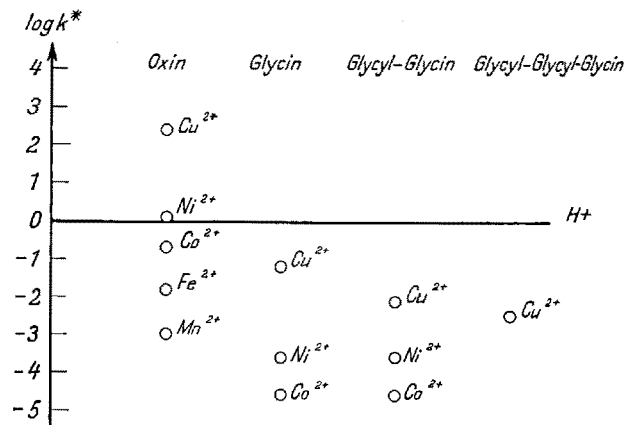


Abb. 1.

Der Cu-Gehalt im Plasma des Menschen wird zu $100 \pm 10 \cdot 10^{-6}$ g/100 cm³ angegeben¹. Das entspricht einer Konzentration von $1,6 \cdot 10^{-5}$ mol/l. Bei einem Gesamt-Proteingehalt von 6% und unter der Annahme eines mittleren Molekulargewichts von 90000⁴ ergibt sich eine Proteinkonzentration von $6,7 \cdot 10^{-2}$. Da, wie KOEHLIN² gezeigt hat, ein Proteinmolekül zwei Metallionen bindet, so wird die Konzentration der zur Metallkomplexbindung befähigten Molekülreste R rund $1,3 \cdot 10^{-3}$. Unter der Voraussetzung eines mittleren $\log k^*$ -Wertes von $-3,0$ findet man dann beim pH 7 für das Verhältnis gebundenes Metall zu freiem Metall $|RMe^{2+}|/|Me^{2+}| = 13$. Das bedeutet, dass die im Plasma vorhandenen Cu²⁺ zur Hauptsache an das Protein gebunden sind.

Die Konzentration der im Plasma frei vorkommenden Cu²⁺ wäre demnach etwa 10^{-6} . Es ist anzunehmen, dass dies einem Gleichgewichtszustand entspricht, der durch den ständigen Zufluss neuer Metallionen von aussen aufrechterhalten wird.

Die Abweichungen des Kupferspiegels im kranken Organismus gegenüber der Norm können erhebliche Werte erreichen. So kann im Falle einer Leukämie und einiger Infektionskrankheiten die Cu-Menge im Plasma verdoppelt werden³. Fasst man diese Erhöhung des Kupferspiegels als eine Erhöhung der Kupferkapazität des Systems bei gleichbleibender Cu-Zufuhr von aussen – das heisst bei gleichbleibender Konzentration an freiem Cu²⁺ – auf, so kann dies durch verschiedene Faktoren bedingt sein:

1. Durch eine Erhöhung des pH um 0,3 Einheiten.
2. Durch eine Änderung im mittleren k^* des Systems um einen Faktor 2 durch Auftreten stärkerer Komplexbildner.
3. Durch eine Verkleinerung des mittleren Molekulargewichts der Cu-bindenden Proteine.

S. FALLAB und H. ERLNMEYER

Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel,
den 8. Februar 1955.

¹ G. E. CARTWRIGHT, *Copper Metabolism in Human Subjects* (The John Hopkins Press, Baltimore 1950), p. 274.

² B. E. KOEHLIN, *J. Amer. Soc.* **74**, 2649 (1952).

³ G. E. CARTWRIGHT, *Copper Metabolism in Human Subjects* (The John Hopkins Press, Baltimore 1950), p. 274.

Summary

The affinity of H⁺ and various metal-ions towards complexing agents of biological importance is characterised by the formation constant k^* . The binding state of Cu²⁺ in human plasma is discussed and the amount of free Cu²⁺ is estimated to about 10^{-6} moles per liter.

The Steric Course of Hydrogenation of Δ^4 and Δ^5 Steroids¹

In order to rationalize and predict the steric course of catalytic hydrogenation occurring close to room temperature and atmospheric pressure there has developed the notion of a *simultaneous cis attack* on the least hindered side of the unsaturated substrate by hydrogen adsorbed on the catalyst surface². In the text below the current concepts of axial³ and equatorial analysis⁴ have been applied to the hydrogenation of carbon to carbon double bonds.

The favored steric course of reduction passes through the most stable intermediate complex⁵. This complex I, a quasi six-membered ring (axial bonds are solid lines, equatorial bonds are broken lines) is held together by partial bonds⁶ between two active centres on the catalyst⁷, two hydrogen atoms, and the two originally unsaturated carbon atoms. Entering hydrogen, which is axial, is sterically hindered by *meta cis axial* substituents of the substrate, while hindrance to new equatorial hydrogen is neglected⁴. This hindrance to the new hydrogens is termed the *primary steric factor*. Another steric factor called the *secondary steric factor* is the interactions between rings and substituents as the molecule assumes its reduced form. This latter steric factor is usually but not necessarily of minor importance.

Catalytic reduction of Δ^4 steroids has been considered usually to give an excess of *A/B cis* compounds⁸, while reduction of Δ^5 steroids invariably yielded a preponderance of *A/B trans* products⁹. Thus hydrogenation of cholestene-4¹⁰ in a neutral medium gave principally coprostane (*A/B cis*), while in a similar reduction of cholestene-5¹¹, cholestane (*A/B trans*) was the main product.

Structures II and III represent the two possible complexes for the reduction of Δ^4 steroids. BARTON⁴ deduced the conformations for the *A/B cis* and *A/B trans* steroids with a maximum number of rings in the chair form. In the *A/B trans* series only one conformation is possible as the *trans* substituents at C.5 and C.10

¹ Based in part on a portion of the Ph. D. Thesis of the author, University of Wisconsin, 1951.

² R. P. LINSTAD, W. E. DOERING, S. B. DAVIS, P. LEVINE, and R. R. WHETSTONE, *J. Amer. Chem. Soc.* **64**, 1985 (1942).

³ D. H. R. BARTON, O. HASSEL, K. S. PITZER, and V. PRELOG, *Nature* **172**, 1096 (1953).

⁴ D. H. R. BARTON, *J. Chem. Soc.* **1953**, 1027.

⁵ A. C. GLASSTONE, F. H. LAIDLER, and H. E. EYRING, *Theory of Rate Processes*, McGraw-Hill Book Co., New-York, N. Y. (1941).

⁶ F. DANIELS, *Ind. Eng. Chem.* **35**, 504, (1943).

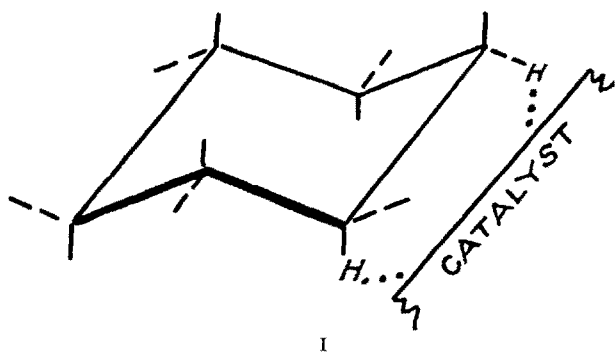
⁷ H. ADKINS in H. GILMAN, Editor-in-Chief, *Organic Chemistry An Advanced Treatise*, 2nd ed. (John Wiley and Sons, Inc., New York, N.Y., 1943), p. 793.

⁸ The subsequent text considers the occasional formation of *A/B trans* products from Δ^4 steroids.

⁹ F. FIESER and M. FIESER, *Natural Products Related to Phenanthrene*, 3rd ed., Reinhold Publishing Corporation, New York, N. Y., 1949, pp. 442, 635, 668. – H. H. INHOFFEN, G. STOECK, G. KOLLING, and V. STOECK, *Ann.* **568**, 52 (1950).

¹⁰ A. WINDAUS, *Ber.* **52**, 170 (1919), reference 9, p. 121.

¹¹ J. MAUTHNER, *Monatsh.* **30**, 635 (1909), reference 9, p. 121.



are each axial to rings *A* and *B*. A decision must be made between the two possible all chair conformations for the *A/B cis* steroids. In one conformation the angular methyl group at C.10 is simultaneously axial to ring *B* and equatorial to ring *A*, while the hydrogen at C.5 is axial to ring *A* and equatorial to ring *B*. In the other possible conformation the axial and equatorial relationships are reversed at C.5 and C.10. Since *B/C* ring fusion is *trans* the hydrogen at C.9 is axial to ring *B* and the *anti* angular methyl group at C.10 must be axial to ring *B*. Thus the choice for the *A/B cis* steroids is the former of the two conformations. In II, as the new hydrogen at C.4 is equatorial, the *primary steric factor* is only due to the new hydrogen at C.5 which is axial to rings *A* and *B*. The *meta cis axial* substituents causing the hindrance are axial hydrogens at C.1, C.3, C.7 and C.9. Similarly, the *primary steric factor* in III only includes the axial hydrogens at C.1 and C.3. From this analysis III is the most

stable intermediate, in agreement with the *A/B cis* product¹.

The two possible complexes for the reduction of cholestene-5 are shown by IV and V. In IV the *primary steric factor* is determined by the axial hydrogens at C.1, C.3, C.7 and C.9. The *primary steric factor* in V is determined by the axial hydrogens at C.1, C.3 and C.8 and the angular methyl group at C.10. Thus IV is the most stable intermediate in agreement with the *A/B trans* product².

Every analysis thus far has included axial hydrogen at C.3. If a 3-keto group does not invalidate the analysis for the remainder of the molecule the above prediction should hold for 3-keto steroids being reduced by a 1,2 addition mechanism. Such continuity is illustrated by the reduction of cholestene-4-one-3³ to coprostanone (*A/B cis*) and cholestene-5-one-3 to a mixture of the C.3 epimers of cholestanol-3 (*A/B trans*)⁴. This datum is complicated as the Δ^5 double bond migrates easily to a position in conjugation with the 3-keto group⁵. In agreement with the theory is the reduction of cholesterol to 3- β -cholestanol (*A/B trans*)⁶, the stereospecificity being aided by the 3- β -hydroxyl which is *meta, cis* and *axial* to a β incoming hydrogen at C.5.

¹ A. WINDAUS, Ber. dtsch. chem. Ges. 52, 170 (1919), ref. 9, p. 121.

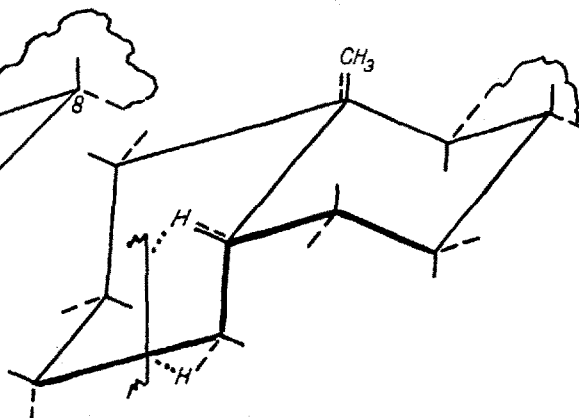
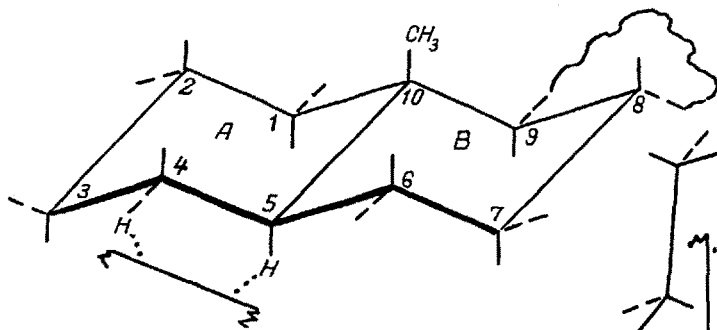
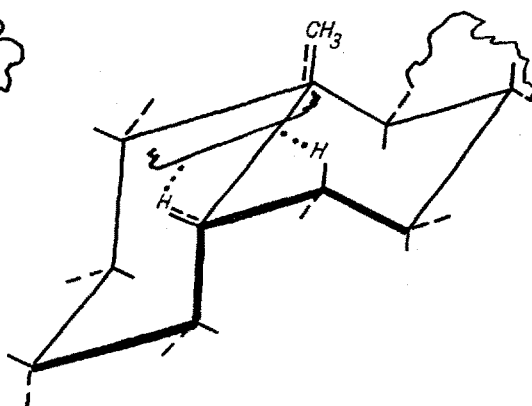
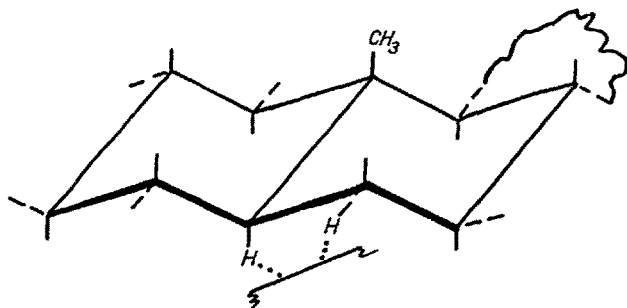
² J. MAUTHNER, Monatsh. 30, 635 (1909), ref. 9, p. 121.

³ H. GRASSHOF, Z. Physiol. Chem. 223, 249 (1934), ref. 9, p. 98.

⁴ L. RUZICKA and M. W. GOLDBERG, Helv. chim. Acta 19, 1407 (1936), ref. 9, p. 261.

⁵ C. W. SHOPPEE and G. H. SUMMERS, J. Chem. Soc. 1950, 687.

⁶ R. WILLSTATTER and E. W. MAYER, Ber. dtsch. Chem. Ges. 41, 2199 (1908), ref. 9, p. 97.



The *primary steric factor* is more prominent in the Δ^5 series because only in this series is the role of C.10 angular methyl group significant. The *secondary steric factor* for both Δ^4 and Δ^5 steroids may be approximated since in the decalins *trans* fusion is more stable than *cis* fusion¹. Other factors, such as bulky substituents, electronically polarizable groups and the acidity of the medium may either assist or oppose the *primary steric factor*. As the above considerations have not involved charged entities the mechanism may be quite different when the proton concentration of the medium is increased. BARTON's remarks on the influence of acidity on the steric course and rate of hydrogenation of ketones are in keeping with this concept².

The summation of both types of steric factors indicates that the course of reduction determined by the *primary steric factor* would be most easily reversed in the Δ^4 steroids. Indeed it has been noted that while there are examples when the reduction of Δ^4 compounds leads primarily to *A/B trans* products, there has only recently accumulated specialized instances of Δ^5 steroids yielding *A/B cis* compounds in preponderance³. Hence under acidic conditions, due to the intervention of a different mechanism poorer yields of *A/B cis* and *A/B trans* compounds may be obtained from Δ^4 and Δ^5 steroids respectively. In agreement is: the reduction under acidic condition of cholestene-4 to cholestane (*A/B trans*)⁴; the improved yield of stigmast-22-en-3-one (*A/B cis*) from the Δ^4 compound stigmast-4,22-dien-3-one under alkaline conditions⁵. The hydrogenation of several Δ^5 steroids³ (3- α -methoxycholest-5-ene, 3- α -acetoxycholest-5-ene, 3- α -hydroxycholest-5-ene) gave principally *A/B cis* products in an acidic medium. Because in these examples the 3 α substituents would be *meta*, *cis* and *axial* to an α incoming hydrogen at C.5 a decision cannot be reached as to whether the results were due to the acidity of the medium or the hindrance of the 3 α substituents which would compete with the angular methyl group at C.10 when estimating the *primary steric factor*. It is of interest, as mentioned by LEWIS and SHOPPEE, that MARKER⁶ reported a quantitative yield of the *A/B trans* product from 3- α -hydroxycholest-5-ene for hydrogenation in the absence of additional acid.

The author is indebted to Professor WILLIAM S. JOHNSON and Dr. LELAND J. CHINN for stimulating discussion concerning this topic.

H. I. HADLER

Division of Oncology, The Chicago Medical School, Chicago 8, Ill., October 1, 1954.

Zusammenfassung

Bei der katalytischen Hydrierung von Steroiden mit Doppelbindung in 4-Stellung entstehen überwiegend *A/B-cis*-Verbindungen, während Doppelbindung in 5 vor allem *A/B-trans* liefert. Dieser Unterschied wird mit Hilfe der Konstellationsanalyse erklärt: die als Zwischenformen angenommenen Komplexe aus Substrat, Wasserstoff und Katalysator weisen unterschiedliche sterische Hinderung auf.

¹ R. B. TURNER, J. Amer. Chem. Soc. 74, 2119 (1952).

² D. H. R. BARTON, J. Chem. Soc. 1953, 1027.

³ J. R. LEWIS and C. W. SHOPPEE, Chem. and Ind. 1953, 897.

⁴ A. WINDAUS, Ber. dtsch. chem. Ges. 52, 170 (1919), ref. 9, p. 121.

⁵ G. SLOMP, Jr., Y. F. SHEALY, J. L. JOHNSON, R. A. DONTA, and B. A. JOHNSON, 124th meeting, Amer. Chem. Soc., Chicago, Ill., Sept. 6–11, 1953.

⁶ R. E. MARKER, T. S. OAKWOOD, and H. M. CROOKS, J. Amer. Chem. Soc. 55, 481 (1936).

Die Wirkung der Nukleinsäuren auf die Bakterienphagozytose der Leukozyten

In den letzten Jahren durchgeführte Untersuchungen über Funktion und physiologische Eigenschaften der Nukleoproteide zeigten immer deutlicher, dass diese Eiweiße in enger Beziehung stehen zu Fortpflanzung, Vererbung und Wachstum¹. Desoxyribonukleinsäure ist hauptsächlich im Zellkern, Ribonukleinsäure vorwiegend im Zytoplasma zu finden. MANDEL, MÉTAIS und CUNY² wiesen nach, dass auch die Leukozyten Nukleinsäuren enthalten. Zwischen den einzelnen Tierarten besteht in dieser Hinsicht kein signifikanter Unterschied. Bei örtlichen Entzündungsprozessen werden infolge der Ansammlung und des Zerfalls der Leukozyten die Abbauprodukte der Nukleoproteide, vor allem die Nukleinsäuren, lokal vermehrt. Daraus ergab sich für uns die Frage nach der Wirkung der Nukleinsäuren auf die Bakterienphagozytose der Leukozyten. Zu ihrer Abklärung haben wir in-vitro-Versuche an überlebenden Leukozyten durchgeführt.

In unseren Experimenten verwendeten wir Rattenleukozyten, die nach steriler Bouillonimpfung aus der Bauchhöhle der Tiere gewonnen wurden. Den Phagozytosegrad der Zellen bestimmten wir nach der Methode von WRIGHT. Das Phagozytosesystem bestand aus 0,5 cm³ Leukozytensuspension (1 mm³: 10000 Leukozyten), 0,1 cm³ Rattenserum, 0,1 cm³ Bakteriensuspension (1 mm³: 10000000 *Staphylococcus pyogenes aureus*). Dazu wurde 0,1 cm³ ribonukleinsäures bzw. desoxyribonukleinsäures Na verschiedener Konzentration oder, in den Kontrollversuchen, physiologische Kochsalzlösung zugesetzt. Das pH des Systems lag zwischen 7,0 und 7,2. Das Gemisch wurde 60 min im Thermostaten bei 37°C gehalten und alle 15 min durchgeschüttelt. Danach wurden Ausstrichpräparate der sedimentierten Leukozyten nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt und für jeden Versuch ausgezählt, wie viele Kokken von je 400 Leukozyten phagozytiert worden waren. Statistische Auswertungen ergaben eine Streuung $\sigma < \pm 9\%$. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, wurden die verschiedenen Proben aus einem Versuch immer gleichzeitig bearbeitet und damit Unterschiede von Faktoren, wie Zeit, Temperatur, Zellenzahl usw., ausgeschaltet.

Die Resultate unserer Versuche sind in Tabelle I und II dargestellt, wobei die absolute Zahl der von 400 Leukozyten aufgenommenen Staphylokokken und, in Klammer, die Abweichung vom Kontrollwert angegeben werden. Nach unseren Befunden hat sowohl das ribonukleinsäure Na wie das desoxyribonukleinsäure Na eine phagozytosefördernde Wirkung. Ein schwacher Effekt lässt sich schon in verhältnismässig niedriger Konzentration nachweisen. Ribonukleinsäure ergibt in Verdünnung von 1:100000 eine Zunahme von 10 bis 20%, Mittelwert + 13%, in Verdünnung von 1:10000 eine solche von 20 bis 37%, Mittelwert + 29%. Ähnlich waren die Ergebnisse mit desoxyribonukleinsäurem Na. Verdünnung von 1:100000 bewirkte eine Zunahme der Phagozytose um 14–18%, Mittelwert + 14%, Verdünnung von 1:10000 zeigte einen verstärkten Effekt von 20 bis 42%, Mittelwert + 33%. Wie aus den Tabellen hervorgeht, erfolgten bei stärkeren Verdünnungen keine signifikanten Abweichungen vom Kontrollwert.

Auf Grund dieser Befunde können wir feststellen, dass bei entzündlichen Prozessen mit der phagozytosefördernden

¹ H. V. EULER, Dtsch. Med. Wschr. 73, 265 (1948).

² P. MANDEL, P. MÉTAIS und S. CUNY, C. r. Soc. Biol. (Paris) 131, 1172 (1950).