

## 2. Eugen Bamann und Kurt Diederichs: Abtrennung der begleitenden Esterase von der im sauren Gebiete wirksamen Leber-Phospho-esterase (4. Abhandlung zur Kenntnis der Phosphatasen).

[Aus d. Pharmazeut. Abteil. d. Laborat. für organ. u. pharmazeut. Chemie d. Techn. Hochschule Stuttgart.]

(Eingegangen am 22. November 1934.)

Die Unterschiede in der Stabilität der beiden isodynamen Leber-Phospho-esterasen unter dem Einfluß von Wasserstoff- und Hydroxyl-Ionen sind so ausgeprägt, daß sich darauf ein einfaches Verfahren zur Gewinnung der Einzel-enzyme aus dem Gemisch durch selektive Inaktivierung gründen läßt<sup>1)</sup>. Auf diesem Wege gewannen wir Lösungen, die entweder nur die Phospho-esterase vom Wirkungs-Optimum  $p_h = 9.5$  oder nur das Isodyname vom Wirkungs-Optimum  $p_h = 5.5$  enthielten. Immer war aber noch die Leber-Esterase anwesend, die in dem alkalischen Milieu ( $n/_{20}$ -Ammoniak-Lösung) nichts, im sauren ( $n/_{20}$ -Essigsäure) nur wenig an Wirksamkeit einbüßte.

Nunmehr gelingt es uns, auf ebenso einfachem Wege die Phospho-esterase vom Wirkungs-Optimum  $p_h = 5.5$  frei von der begleitenden Esterase darzustellen. Die Möglichkeit der Abtrennung der Esterase ergibt sich aus der leichten Zerstörbarkeit der Esterase-Wirkung einerseits und der auffallenden Beständigkeit der Phospho-esterase andererseits in  $n/_{1}$ -Essigsäure-Lösungen.

### Beschreibung der Versuche.

I) Verhalten der beiden Enzyme gegenüber  $n/_{1}$ -Essigsäure.

Die Esterase verliert ihre Wirksamkeit in  $n/_{1}$ -essigsaurer Lösung innerhalb kürzester Zeit. Schon Auszüge mit 1-n. Essigsäure aus Leber-Trockenpräparaten sind gegenüber Buttersäure-methylester (Esterase) völlig unwirksam. Diese Beobachtung haben wir im Fall der Aceton-Trockenpräparate aus 6 verschiedenen Schweine-Lebern gemacht, wobei die Extraktionsdauer 2 Stdn. betrug. Die phosphatatische Wirkung bei  $p_h = 5.5$  erfährt unter der gleichen Bedingung nur langsam eine Abnahme. In 2 Beispielen, bei denen verschiedene Lebern als Ausgangsmaterial dienten, fanden wir beim Stehen einer 1-n. essigsaurer Lösung nach 2 Stdn. noch 80 bzw. 90 % und nach 26 Stdn. 60 bzw. 70 % Phospho-esterase vor.

II) Beispiele für die Gewinnung der Phospho-esterase, frei von wirksamer Esterase.

Beispiel 1: 20 g Trockenpräparat (Schweine-Leber C) wurden 2 Stdn. bei 20° mit 600 ccm  $n/_{20}$ -Essigsäure ausgezogen. In 490 ccm abgetrennter Lösung bestimmten wir 28.0 Ph.-E.-[e]<sub>5.5</sub> und 820 E.-E. Nach Zugabe von 2-n. Essigsäure (1 Tl. Enzym-Lösung + 1 Tl. 2-n. Essigsäure) fanden sich nach 2-stdg. Stehen bei 20° in der entsprechenden Menge Lösung: 25.5 Ph.-E.-[e]<sub>5.5</sub> und 0 E.-E. Und nach 26-stdg. Aufbewahrung zeigte die Analyse 18.6 Ph.-E.-[e]<sub>5.5</sub>, 0 E.-E., 0 Ph.-E.-[e]<sub>9</sub> und 0 Ph.-E.-[e]<sub>7</sub>.

<sup>1)</sup> 3. Abhandl.: B. 67, 2019 [1934].

Beispiel 2: 25 g Trockenpräparat (Schweine-Leber D) lieferten beim Ausziehen (2 Stdn. bei 20°) mit 500 ccm  $n/1$ -Essigsäure nach dem Abtrennen des Rückstandes in der Zentrifuge 360 ccm Enzym-Lösung. Diese stand dann zum Zwecke der vollständigen Zerstörung der im alkalischen Gebiete wirksamen Phospho-esterase 15 Stdn. bei 30°. Nach einer 1 $\frac{1}{2}$ -tägigen Dialyse gegen fließendes destilliertes Wasser in Hammel-Blinddärmen ergab die enzymatische Analyse für das Gesamt-dialysat: 32.0 Ph.-E.-[e]<sub>5.5</sub>, 0 E.-E., 0 Ph.-E.-[e]<sub>9</sub><sup>-</sup> und 0 Ph.-E.-[e]<sub>9</sub><sup>+</sup>.

Für die Förderung dieser Untersuchung sprechen wir dem Ingenieurdienst E. V., Bezirksstelle Stuttgart, sowie der Vereinigung von Freunden der Technischen Hochschule Stuttgart unseren herzlichsten Dank aus.

### 3. R. Tschesche: Über pflanzliche Herzgifte, V. Mitteil.: Ätio-allocholansäure und ihre Identifizierung mit der Abbausäure aus Uzarigenin.

[Aus d. Allgem. Chem. Universitäts-Laborat. in Göttingen.]

(Eingegangen am 29. November 1934.)

In der 3. und 4. Mitteilung über pflanzliche Herzgifte<sup>1)</sup> war gezeigt worden, daß die bisherigen Formeln für die Gene der pflanzlichen Herzgifte nicht richtig sein können; es wurden neue Formeln für Strophanthidin (I), Uzarigenin (II) und Digitoxigenin (III) entwickelt, die sich eng an die gesicherte Konstitution der Sterine und Gallensäuren anschließen. Durch den Abbau von 3 C-Atomen aus der Lacton-Seitenkette der gesättigten Lactone aus Uzarigenin konnte eine Säure C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> isoliert werden, die sehr wahrscheinlich mit der Ätio-allocholansäure (IV) identisch war. Es war damals nicht möglich gewesen, eine genügend große Menge Ätio-allocholansäure herzustellen, um die Identität der beiden Säuren mit völliger Sicherheit zu beweisen. Jetzt wurden 100 mg der Ätio-allocholansäure durch Abbau von Bisnor-allocholansäure nach dem Verfahren von Wieland<sup>2)</sup> gewonnen, und nunmehr konnte mit völliger Sicherheit bewiesen werden, daß die beiden Säuren identisch sind. Damit ist für die Gene der Herzgifte das Kohlenstoff-Gerüst der Sterine und Gallensäuren sichergestellt. Die durch weiteren Abbau der Säure C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> gewonnene Säure C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> ist dann die Ätio-allobiliansäure (V), die wie die Ätio-biliansäure von Wieland<sup>2)</sup> bei der Brenzreaktion ein Anhydrid liefert.

<sup>1)</sup> R. Tschesche, Ztschr. physiol. Chem. **229**, 219 [1934]; R. Tschesche u. H. Knick, Ztschr. physiol. Chem. **229**, 233 [1934].

<sup>2)</sup> H. Wieland, O. Schlichting u. R. Jacobi, Ztschr. physiol. Chem. **161**, 80 [1926].