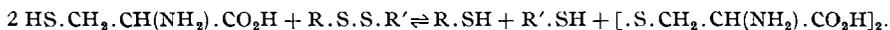


**238. Fritz Micheel und Heinrich Schmitz:
Zur Kenntnis der Schlangengifte (VII. Mitteil.¹⁾).**

[Aus d. organ. Abteil. d. Chem. Instituts d. Universität Münster i. W.]
(Eingegangen am 8. Juni 1938.)

Ein durch Ultrafiltration und Dialyse gereinigtes Neurotoxin der *Naja tripudians* (indische Cobra) enthält, wie in der IV. Mitteil.²⁾ über Schlangengifte gezeigt wurde, eine Komponente (zu etwa 10—25%), die durch Reduktion mit Cystein inaktiviert werden kann. Das die Atmung lähmende Neurotoxin hingegen ist völlig beständig gegen Reduktion mit Cystein. Dies ist infolge des Nachweises, daß in seiner aktiven Gruppe keine S-S-Bindungen vorliegen³⁾, durchaus zu erwarten. Über die physiologische Wirksamkeit der durch Cystein inaktivierbaren Komponente des Cobragiftes konnten noch keine Versuche ausgeführt werden. Da sie in chemischer Hinsicht der von Slotta⁴⁾ untersuchten Hauptkomponente des Giftes von *Crotalus terrificus* ähnelt, könnte für beide eine ähnliche Struktur der aktiven Gruppe erwogen werden⁵⁾. Slotta⁴⁾ hatte bei der Untersuchung des *Crotalus*giftes unter anderem die Auffassung vertreten, daß die Reduktion der aktiven Gruppe mit Cystein eine Gleichgewichtsreaktion sei, die durch größere Mengen Cystein im Sinne einer weitgehenden Inaktivierung verschoben wird:



Wie wir schon in der IV. Mitteil. am Gift der *Naja tripudians* gezeigt hatten, ist die Inaktivierung durch Cystein irreversibel. Es kann sich also nicht um ein Gleichgewicht im Sinne obiger Gleichung handeln, sondern die reduzierte Giftkomponente erleidet wahrscheinlich eine weitere Umlagerung, die sie einer rückläufigen Reaktion entzieht. Ähnliches wird bei der Reduktion von Insulin mit Cystein beobachtet⁶⁾.

Wir haben die weiteren Versuche, die unsere früheren Feststellungen über die Stabilität des Neurotoxins gegen Cystein und das Nichtvorliegen eines Gleichgewichts erhärten, folgendermaßen durchgeführt: in einer Versuchsreihe wurde das Gift mit Cystein unter völligem Ausschluß von Sauerstoff reduziert. Die Wirksamkeit ging auf etwa 85% zurück. Nun wurde die Lösung bis zur Oxydation aller SH-Gruppen mit Sauerstoff behandelt. Dabei hätte, wie früher festgestellt wurde²⁾, an sich schon eine Reaktivierung des Giftes eintreten müssen, sofern sich die ursprüngliche R-S-S-R'-Gruppe im Sinne der obigen Gleichgewichtsformulierung zurückbilden könnte. Wir haben nun die durch Sauerstoff-Behandlung von SH-Gruppen befreite Lösung, deren Wirksamkeit dabei unverändert blieb, durch Abzentrifugieren von ausgefallenem Cystin befreit, den Sauerstoff völlig durch Stickstoff verdrängt und sodann die Lösung einer erneuten Behandlung mit Cystein unterworfen. Eine Änderung der Wirksamkeit trat jetzt nicht mehr ein.

¹⁾ VI. Mitteil.: Micheel u. Bode, B. **71**, 1302 [1938].

²⁾ Micheel u. Schmitz, B. **71**, 703 [1938].

³⁾ Micheel u. Bode, Naturwiss. **26**, 298 [1938].

⁴⁾ Slotta u. Fraenkel-Conrat, B. **71**, 264 [1938].

⁵⁾ Vielleicht handelt es sich bei unserem Colubridengift um die in kleinen Mengen vorhandene kreislauf lähmende Komponente, die im Viperidengift in bedeutenden Mengen enthalten ist.

⁶⁾ du Vigneaud, Fitch, Pekarek u. Lockwood, Journ. biol. Chem. **94**, 233 [1931].

Damit ist gezeigt, daß es sich keineswegs bei der Wirksamkeitsabnahme des Naja-Giftes in Gegenwart von Cystein um eine im Sinne eines Gleichgewichts unvollständige Schwächung des Neurotoxins handelt, sondern daß die Reaktion in einer Richtung zu Ende gegangen ist. Das die Atmung lähmende Neurotoxin ist gegen Cystein völlig beständig.

Auch auf anderem Wege konnte gezeigt werden, daß die Inaktivierung der Begleitkomponente keine reversible ist. Die Versuchsreihen wurden in folgendem Sinne durchgeführt: zunächst wurde wiederum das Gift durch Cystein auf etwa 85% der ursprünglichen Wirksamkeit inaktiviert. Wäre diese Inaktivierung ein echtes Gleichgewicht, so müßte durch Zugabe eines großen Überschusses einer S-S-Verbindung zu der Lösung eine Verschiebung des Gleichgewichtes nach links (siehe die Gleichung) und damit eine Reaktivierung eintreten. Als wasserlösliche disulfidhaltige Verbindung wählten wir das S-S-Glutathion, von dessen Harmlosigkeit im Tierversuch in den angewandten Konzentrationen wir uns überzeugten. Es zeigte sich, daß das Disulfidglutathion keineswegs eine Reaktivierung des Giftes herbeiführt. Damit ist nochmals festgestellt, daß die Annahme von Slotta, die Inaktivierung der durch Cystein reduzierbaren Giftkomponente sei eine Gleichgewichtsreaktion, nicht haltbar ist⁷⁾.

Bei den Untersuchungen erfreuten wir uns der Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Roche-Fonds) und der Firma C. F. Boehringer u. Söhne, Mannheim-Waldhof. Wir danken den Genannten dafür bestens.

Beschreibung der Versuche.

Einwirkung von Cystein auf Neurotoxin.

507 γ Neurotoxin (ultrafiltriert und dialysiert) wurden in 15 ccm Phosphatpuffer (mit N_2 gesättigt) vom p_H 7.5 gelöst und zu dieser Lösung unter Durchleiten von Stickstoff⁸⁾ 10.1 mg Cystein-hydrochlorid und 5.5 mg $NaHCO_3$ hinzugesetzt. Nach 24-stdg. Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurden 2 ccm der Lösung zur Auswertung im Tierversuch entnommen⁹⁾. Durch die restlichen 13 ccm wurde bis zum Verschwinden der SH-Reaktion Sauerstoff geleitet. Dann wurde 40 Stdn. lang Stickstoff eingeleitet, um den gelösten Sauerstoff auszutreiben, und sodann das abgeschiedene Cystein abzentrifugiert. Zu der Lösung wurden nun 10 mg Cystein-hydrochlorid und 5.5 mg $NaHCO_3$ zugegeben. Nach 24-stdg. Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurde wiederum im Tierversuch getestet. Die Wirksamkeit war unverändert geblieben.

⁷⁾ Leider mußten wir bisher davon Abstand nehmen, gleichartige Versuche am Gift von *Crotalus terrificus* auszuführen (mit dem Slotta seine Versuche ausführte), weil ein vom Instituto Butantan käuflich erworbenes Gift dieser Viperide nur etwa 25% der Wirksamkeit des von Slotta verwandten nativen Giftes (B. 71, 262 [1938]) der gleichen Schlangenart besaß: 1 ME=1.85 γ gegen 1 ME=0.45 γ .

⁸⁾ Die verwendeten Gase waren mit Wasserdampf bei der gleichen Temperatur gesättigt, wie sie die Versuchslösungen hatten.

⁹⁾ Die Testung erfolgte in der üblichen Weise (Micheel u. Jung, Ztschr. physiol. Chem. 239, 219 [1936]).

Wirksamkeit:

des Neurotoxins in Phosphatpuffer		24 Stdn. nach der ersten Cysteinzugabe		24 Stdn. nach der zweiten Cysteinzugabe	
1 ME in γ	%	1 ME in γ	%	1 ME in γ	%
0.27	100	0.32	84	0.31	87

Einwirkung von Disulfid-Glutathion.

500 γ Neurotoxin und 10 mg Cystein-hydrochlorid wurden mit 5.5 mg NaHCO₃ in 15 ccm Phosphatpuffer (pH 7.5, mit N₂ gesättigt) gelöst. Nach 24-stdg. Aufbewahren unter Stickstoff wurde die Abnahme der Wirksamkeit im Tierversuch ermittelt. Dann wurden 80 mg S-S-Glutathion hinzugesetzt und die Lösung wiederum 24 Stdn. unter Stickstoff stehen gelassen. Die Versuchsergebnisse ergeben sich aus folgender Tabelle:

Wirksamkeit:

des Neurotoxins in Phosphatpuffer		24 Stdn. nach Zugabe von Cystein		24 Stdn. nach Zugabe von S-S-Glutathion	
1 ME in γ	%	1 ME in γ	%	1 ME in γ	%
0.27	100	0.31	87	0.30	90

239. Gustav Wanag und Udo Walbe: Über Isomerisierungs-Erscheinungen bei 2-Amino-indandion-(1.3)-Derivaten.

[Aus d. Synthet. Laborat. d. Universität Riga, Lettland.]

(Eingegangen am 3. Juni 1938.)

Mehrfach ist die Beobachtung gemacht worden, daß bestimmte Indandione durch Erweiterung ihres 5-gliedrigen Ringes zu einem 6-gliedrigen in Naphthalin-Derivate übergeführt werden können¹⁾. Obwohl diese Umwandlung durchaus keine allgemeine ist — gerade die Arbeit von Gh. Gheorgiu zeigt, wie eng die strukturellen Voraussetzungen sind, unter denen sie stattfindet — schien es uns nicht aussichtslos zu sein, die von uns dargestellten Amino-indandione²⁾ (I, R u. R' Alkyl oder Aryl) auf eine mögliche Ring-Erweiterung hin zu untersuchen. Gelingt eine solche, und tritt der an das ursprüngliche Indandion-Molekül herangebrachte Stickstoff in den Ring, so wäre eine Möglichkeit gegeben, von verhältnismäßig einfach darstellbaren Verbindungen aus zu Isochinolin-Derivaten (II, R u. R' Alkyl oder Aryl) zu gelangen.

Die Anwendung der in den angeführten Arbeiten¹⁾ erwähnten Reagenzien führte zunächst zu keinem Erfolg. Sauren Mitteln gegenüber sind die Amino-indandion-Derivate sehr resistent, während Alkalien, besonders das von Gheorgiu mit so guten Resultaten angewandte Natriummethylat, mit

¹⁾ z. B. D. Radulescu u. Gh. Gheorgiu, B. **60**, 186 [1927]; A. Hantzsch u. E. Czapp, B. **63**, 566 [1930]; Gh. Gheorgiu, C. **1934** I, 2926.

²⁾ G. Wanag u. U. Walbe, B. **69**, 1054 [1936].