

Bei einem anderen Ansatz wurden derbe, gelbe Kryställchen erhalten. Aus Äther-Alkohol, dann aus Aceton-Alkohol: Schmp. 123°. In Aceton leicht, in Äther mäßig und in Alkohol wenig löslich.

$C_{27}H_{11}O_7$. Ber. C 70.73, H 4.84. Gef. C 71.02, H 4.80.

7.8-Dimethoxy-2.4-diphenyl-benzopyrylium-perchlorat: 1 g Anhydrobase XIa in Methanol mit äther. Diazomethan-Lösung versetzt; nachdem das Reaktionsgemisch hell geworden, eingengt. $HClO_4$ fällt das Perchlorat, gelbrote Nadelchen. 1-mal aus Methanol unter Zusatz von $HClO_4$: Schmp. 184°.

$C_{27}H_{11}O_7Cl$. Ber. C 62.38, H 4.32. Gef. C 62.11, H 4.44.

7-Oxy-8-methoxy-2.4-diphenyl-benzopyrylium-pikrat: 500 mg Anhydrobase XIa wurden in trockenem Chloroform mit trockner äther. Diazomethan-Lösung versetzt. Nach 24 Stdn. war die anfangs blauviolette Lösung rotviolett geworden. Ihr Verdampfungsrückstand wurde aus Chloroform-Benzol (1:1) an Aluminiumoxyd V¹²⁾ chromatographisch adsorbiert und dann nach Elution in Alkohol mit Pikrinsäure versetzt. Feine braune Nadeln, Schmp. 245—248°.

$C_{28}H_{11}O_{10}N_3$. Ber. C 60.32, H 3.44, N 7.53. Gef. C 60.23, H 3.51, N 7.75.

6.7-Dimethoxy-2.4-diphenyl-benzopyranol-methyläther (XIV f): 1 g Anhydrobase XIIIa wurde in 1.5 l Methanol mit einem Überschuß an äther. Diazomethan-Lösung versetzt. Nach 24 Stdn. durch Einengen im Vak. 710 mg rosa angefarbte Krystalle. Leicht löslich in $CHCl_3$, wenig in Äther und Alkoholen. 1-mal aus Chloroform-Methanol: Farblose Krystalle, Schmp. 122—123°.

$C_{24}H_{23}O_4$. Ber. C 76.98, H 5.92. Gef. C 77.27, H 5.91.

Anhydro-[7-oxy-6-methoxy-2.4-diphenyl-benzopyranol] (XIII g): 400 mg Anhydrobase XIIIa wurden in Chloroform mit trockner äther. Diazomethan-Lösung versetzt. Verdampfungsrückstand aus Benzol an Aluminiumoxyd V chromatographisch adsorbiert. Rückstand des Eluates aus Benzol-Benzin, rote glänzende Nadelchen. 1-mal aus Benzol-Benzin: Schmp. 184°.

$C_{22}H_{16}O_3$. Ber. C 80.47, H 4.91. Gef. C 80.43, H 4.94.

11. Gerhard Schramm und Heinz Dannenberg: Über die Ultraviolettabsorption des Tabakmosaikvirus.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 8. November 1943.)

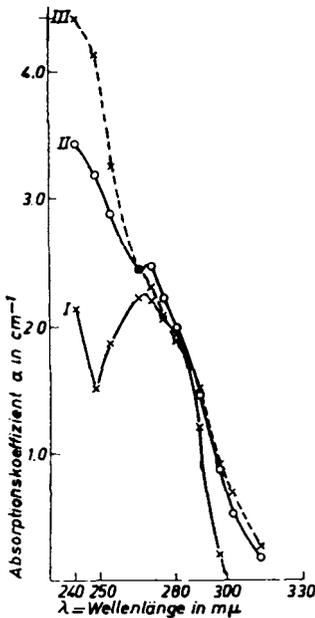
Die charakteristische Ultraviolettabsorption des Tabakmosaikvirus (TM-Virus) wird verursacht durch die aromatischen Eiweißbausteine Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin sowie durch die Purin- und Pyrimidinringe der in dem Virus enthaltenen Nucleinsäure¹⁾. Durch eine nähere Analyse des UV-Spektrums müßte es daher möglich sein, den Gehalt an diesen verschiedenen Bausteinen zu ermitteln und mit verhältnismäßig geringen Virusmengen vergleichende Untersuchungen zwischen verschiedenen Virusarten durchzuführen. Versuche von Lavin, Loring und Stanley²⁾ in dieser

¹⁾ A. Butenandt, H. Friedrich-Freksa, S. Hartwig u. G. Scheibe, Ztschr. physiol. Chem. **274**, 276 [1942].

²⁾ G. J. Lavin, N. S. Loring u. W. M. Stanley, Journ. biol. Chem. **180**, 259 [1939].

Richtung verliefen wenig befriedigend, da die Absorptionshöhe der verschiedenen Präparate desselben Virus stark schwankte und somit von der Darstellungsart des Virus abhängig zu sein schien.

Unsere eigenen Versuche zeigen nun, daß bei der Bestimmung der Ultraviolettabsorption des TM-Virus zwei Tatsachen besonders zu berücksichtigen sind: 1) Die Absorption des TM-Virus ist stark vom p_H der untersuchten Lösung abhängig und 2) Die Differenz der Intensität des in die Viruslösung eintretenden und des austretenden Lichtes und damit die gemessene Extinktion wird nicht nur durch Absorption allein bewirkt, sondern beruht zu einem beträchtlichen Teil auf einem Lichtverlust durch seitliche Streuung. Durch chemische Einwirkungen während der Aufarbeitung kann eine Aggregation der Virusteilchen bewirkt werden, die zu einer Zunahme der Streuung führt. Hierdurch wird dann eine scheinbare Erhöhung des Absorptionskoeffizienten vorgetäuscht. Die widerspruchsvollen Versuchsergebnisse der amerikanischen Autoren erklären sich durch die Nichtbeachtung dieser Tatsachen.



Abbild. 1. Abhängigkeit der Absorption des TM-Virus vom p_H .

Absorptionskoeffizient:

$$\alpha = \frac{1}{c \cdot d} \cdot \log \frac{J_0}{J} \text{ cm}^{-1}$$

c Konzentration in g/l, d = Schichtdicke in cm

I. —x—x—x—x— $p_H = 7$
(reine Absorptionskurve; s. u.)

II. —o—o—o—o— $p_H = 9,8$
(geringe Trübung nicht berücksichtigt)

III. —x---x---x---x— $p_H = 12,0$
(keine Trübung)

Für unsere Versuche benutzten wir den Doppelmonochromator von R. W. Pohl, mit dem eine Meßgenauigkeit von 2–3% erreicht wird. Die bei verschiedenen p_H -Werten gemessenen Absorptionskurven des TM-Virus sind in Abbild. 1 zusammengestellt. Es zeigt sich, wie stark der Charakter der Absorption durch eine p_H -Verschiebung verändert wird. Diese p_H -Abhängigkeit wird wohl in erster Linie durch das Tyrosin verursacht, dessen Absorption stark von dem Dissoziationszustand der phenolischen Hydroxylgruppe abhängt. Um ein reproduzierbares Absorptionsspektrum des TM-Virus zu erhalten, ist es daher notwendig, das Virus stets unter gleichen p_H -Bedingungen zu untersuchen. Alle folgenden Messungen wurden daher im $m/10$ -Phosphatpuffer bei $p_H 7$ durchgeführt.

Lösungen des TM-Virus zeigen bereits im sichtbaren Licht einen deutlichen Tyndall-Effekt. Da die Streuung mit abnehmender Wellenlänge stark zunimmt, darf man erwarten, daß die Streuung im ultravioletten Licht noch sehr viel stärker ist als im sichtbaren. Daß sich die gemessene Extinktion tatsächlich aus einem absorbierten und gestreuten Lichtbetrag zusammensetzt, geht aus folgendem hervor: Aus der Messung der Absorption der Einzelbestandteile des Virus ergibt

sich, daß oberhalb 310 m μ keine Absorption mehr zu erwarten ist. Tatsächlich zeigt die Viruslösung jedoch in diesem Gebiet noch eine deutliche Extinktion (s. Abbild. 2, Kurve I). Diese kann also nur auf Streuung und nicht auf Absorption beruhen.

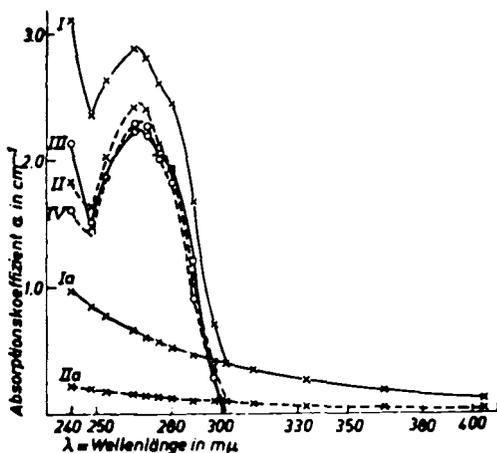
Bei Teilchen, deren Dimensionen klein sind gegen die Wellenlänge des Lichts, sollte das Rayleighsche Gesetz gelten:

$$K = \frac{C}{\lambda^4}$$

worin K die von der Streuung herrührende Extinktionskonstante, λ die Wellenlänge und C eine Konstante ist, deren Größe von verschiedenen Eigenschaften, insbesondere von dem Volumen des streuenden Teilchens abhängt. Beim TM-Virus handelt es sich um stäbchenförmige Moleküle mit einer Dicke von 15 m μ und einer Länge von etwa 250 m μ . Man darf daher annehmen, daß für sie das Rayleighsche Gesetz Gültigkeit hat. Wenn der gemessene Absorptionskoeffizient α oberhalb 310 m μ gleichgesetzt wird mit der von der Rayleighschen Streuung herrührenden Extinktionskonstanten K, läßt sich aus den α -Werten bei zwei Wellenlängen zunächst der Exponent der Wellenlänge x und dann die Konstante C berechnen. Der Exponent x wurde aus den Absorptionskoeffizienten bei den Wellenlängen 313 und 405 m μ nach der Formel

$$x = \frac{\log \alpha_{313} - \log \alpha_{405}}{\log 405 - \log 313}$$

berechnet. Unterliegt die Lichtstreuung an den Virusteilchen dem Rayleighschen Gesetz, dann muß sich für x der Wert 4 ergeben; dies ist in der Tat der Fall. Bei fünf verschiedenen Viruspräparaten wurden folgende Werte für den Exponenten gefunden: 3.70, 3.85, 3.97, 4.17, 4.17 (Mittelwert 3.93). Wird der Exponent der Wellenlänge gleich 4 gesetzt, so läßt sich die Konstante C berechnen. Das im Versuchsteil angegebene Beispiel zeigt, daß im Gebiet zwischen 313 und 405 m μ diese Konstante keinen systematischen Gang aufweist. Dies zeigt besonders deutlich, daß in diesem Gebiet keine Absorption, sondern Streuung vorliegt.



Abbild. 2. Extinktion von nativem und denaturiertem TM-Virus.

Kurve I. x—x—x nativer TM-Virus; gemessene Extinktionskurve

Kurve Ia. x—x—x nativer TM-Virus; gemessene und berechnete Streuungskurve

Kurve II. x—x—x denat. TM-Virus; gemessene Extinktionskurve

Kurve IIa. x—x—x denat. TM-Virus; gemessene und berechnete Streuungskurve

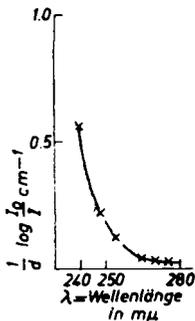
Kurve III. o—o—o nativer TM-Virus; reine Absorptionskurve; Differenz I—Ia

Kurve IV. o—o—o denat. TM-Virus; reine Absorptionskurve; Differenz II—IIa

Bei verschiedenen Viruspräparaten ergab sich ein verhältnismäßig konstanter C-Wert. Bei fünf verschiedenen Versuchen wurden die Werte 2.83, 2.99, 3.13, 3.14 und 3.23×10^{-19} ccm (Mittelwert 3.06×10^{-19} ccm) gefunden.

Bei Kenntnis der Wellenlängenabhängigkeit der Streuung läßt sich nunmehr für den gesamten untersuchten Wellenlängenbereich die reine Absorption ermitteln, wenn man von der gemessenen Extinktionskurve die Streuung abzieht. Hierbei ist die Voraussetzung gemacht, daß Streuung und Absorption innerhalb der Fehlergrenzen unserer Methode voneinander unabhängig sind und das Rayleighsche Gesetz auch in dem Gebiet gilt, wo eine Absorption stattfindet. Daß diese Annahme tatsächlich zutrifft, geht daraus hervor, daß man für das TM-Virus unabhängig von der Größe der Streuung des untersuchten Präparats stets die gleiche Absorption findet. Experimentell läßt sich die Menge des gestreuten Lichtes dadurch variieren, daß man das Virusmolekül in kleinere Bruchstücke spaltet. Hierbei wird die Absorption nur wenig verändert, während die Streuung, die eine Funktion der Molekülgröße ist, stark vermindert wird. In Abbild. 2 ist dieser Befund graphisch dargestellt. Kurve I gibt die Extinktion des nativen Virus, Kurve II die Extinktion der gleichen Lösung nach der Denaturierung und Spaltung des Nucleoproteids mit Trichloressigsäure wieder. Wenn man aus dem Anfangsteil der beiden Kurven oberhalb $310 \text{ m}\mu$ nach dem im Versuchsteil angegebenen Verfahren die Streuungskurve Ia und IIa berechnet und von der Gesamtextinktion in Abzug bringt, so erhält man aus beiden Kurven eine in der Höhe und Form nahezu übereinstimmende Absorptionsbande (Kurve III und IV). Eine kleine Abweichung ergibt sich lediglich in kurzwelligem UV unterhalb $250 \text{ m}\mu$. Die Virusbruchstücke zeigen in diesem Gebiet eine geringere Absorption als das intakte Virusmolekül. Wir führen dies auf die Strukturänderung und die damit verbundene Änderung der Absorption bei der Spaltung zurück.

Auf anderem Wege ist es auch möglich, die reine Absorption des TM-Virus direkt zu bestimmen, ohne rechnerisch die Streuung in Abzug zu bringen. Auch diese nur auf gemessenen Werten beruhende Absorptionkurve stimmt der Höhe und Form nach mit Kurve IV überein. Hierauf soll weiter unten eingegangen werden.



Abbild. 3. Absorption der Trichloressigsäure (Konzentration und Behandlung entsprechend den Versuchsbedingungen der Denaturierung und Spaltung).

Unter Berücksichtigung der Streuung und der p_H -Abhängigkeit der Absorption ist es also möglich, das Absorptionsspektrum des TM-Virus eindeutig festzulegen. Damit sind die Voraussetzungen geschaffen, um aus dem Spektrum Rückschlüsse auf den Gehalt an den einzelnen absorbierenden Bestandteilen zu ziehen.

Durch ein einfaches Verfahren gelingt es, die Nucleinsäure von dem Eiweiß quantitativ abzutrennen und die Absorption jeder Komponente für sich zu messen: Durch Behandlung des Virus mit Trichloressigsäure in der Wärme wird das Protein unlöslich, während die Nucleinsäure in Lösung bleibt. Das ausgefallene Protein wird abzentrifugiert und ausgewaschen und in der vereinigten Flüssigkeit die Absorption der Nucleinsäure gemessen. Hierbei muß die Absorption der Trichloressigsäure von der gefundenen Gesamtaborption abgezogen werden. Diese ist

jedoch nur gering (s. Abbild. 3), so daß hierdurch keine Fehlerquelle entsteht. Versuche, das TM-Virus mit nicht absorbierenden Säuren, wie z. B. HCl, zu spalten, verliefen unbefriedigend. Durch Bestimmung des Phosphorgehalts des Eiweißniederschlags und der Lösung stellten wir fest, daß durch 15 Min. langes Erwärmen mit 5-proz. Trichloressigsäure die Nucleinsäure bereits vollständig abgespalten wird (Tafel 1).

Tafel 1. Spaltung des TM-Virus mit 5-proz. Trichloressigsäure.

t	Dauer der Einwirkung in Min.	% Spaltung
20°	240	0
40°	3	0
47°	5	5
90°	5	70
100°	15	100

Um das ausgefallene Eiweiß jedoch wieder völlig klar und ohne Trübung lösen zu können, muß die Viruslösung mindestens 30 Min. bei 100° mit Trichloressigsäure behandelt werden. Das auf diese Weise vollständig denaturierte Eiweiß löst sich leicht in $n/10$ -NaOH. Die alkalische Lösung kann durch Zugabe von primärem Phosphat auf p_H 7 gebracht werden. Hierbei darf die Salzkonzentration nicht zu hoch werden, da man sonst trübe Lösungen erhält. Als obere Grenze ergab sich eine Konzentration von 0.2-m. Phosphat für die zur Untersuchung gelangende Eiweißlösung. Diese zeigt dann oberhalb 310 $m\mu$ keine meßbare Extinktion, so daß eine Korrektur für die Streuung nicht notwendig ist. In Abbild. 4 sind die auf diese Weise einzeln gemessenen Absorptionskurven der Nucleinsäure und der Proteinkomponente wiedergegeben. Bei Addition beider Kurven ergibt sich wieder die reine Absorptionsbande des Virus entsprechend Abbild. 2. Da in diesem Falle keine Korrektur für die Streuung notwendig ist, wird hierdurch die Zulässigkeit der oben durchgeführten Subtraktion des Streuungsbetrages bei den trüben Lösungen erwiesen.

Die Nucleinsäure des TM-Virus enthält nach Loring³⁾ die gleichen Purinbasen wie die Hefenucleinsäure. Es ist daher anzunehmen, daß sie auch die gleiche Absorption wie diese besitzt. Unter dieser Voraussetzung läßt sich auch der Absolutgehalt des TM-Virus an Nucleinsäure angeben. In Abbild. 5 (Kurve II) ist 4.9% der Absorption einer reinen Hefenucleinsäure von Boehringer (Phosphorgehalt = 9.91%) wiedergegeben. Diese Kurve stimmt

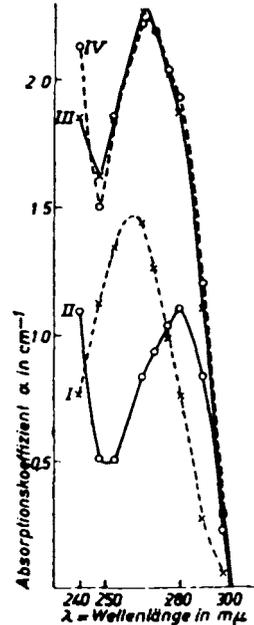
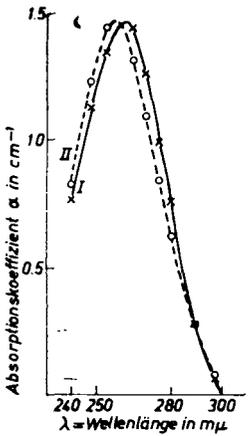


Abbildung 4. Zusammensetzung der TM-Virus-Absorption.

- Kurve I. Proteinkomponente des TM-Virus
- Kurve II. Nucleinsäurekomponente des TM-Virus
- Kurve III. Additionskurve I + II
- Kurve IV. reine Absorption des TM-Virus (vergl. Abbild. 2, Kurve III)

³⁾ H. S. Loring, Journ. biol. Chem. 120, 251 [1939].

der Form und Höhe nach mit der Nucleinsäurebande des TM-Virus überein, unterscheidet sich aber von dieser, indem sie um 3—4 μ ins Kurzwellige verschoben ist. Das TM-Virus weist also einen Nucleinsäuregehalt von 4.9%, bezogen auf Hefenucleinsäure, auf.



Abbild. 5. Absorption der TM-Virus- und Hefenucleinsäure.

Kurve I. $\times-\times-\times$

Nucleinsäurekomponente des TM-Virus

Kurve II. $\circ-\circ-\circ$

4.9% der Absorption von Hefenucleinsäure

Mit Hilfe der UV-Absorption läßt sich also der Nucleinsäuregehalt der Viren von der Art des TM-Virus mit einem verhältnismäßig geringen Materialverbrauch mit einer Genauigkeit von etwa 3% bestimmen. Aus der Höhe der Proteinabsorption ist es weiterhin möglich, Rückschlüsse auf den Gesamtgehalt an aromatischen Aminosäuren zu ziehen. Wie weit eine Aufteilung der Proteinabsorption auf ihre Einzelbestandteile (Tyrosin, Tryptophan und Phenylalanin) möglich ist, müssen weitere Versuche zeigen. Es sind Versuche im Gange, den Nucleinsäuregehalt verschiedener Mutanten des TM-Virus nach dem hier geschilderten Verfahren zu bestimmen, um die Frage zu entscheiden, ob bei der Mutation des TM-Virus eine Veränderung im Nucleinsäuregehalt stattfindet oder nicht.

Einige Versuche wurden unter Mitarbeit von Hrn. Dipl.-Chem. H. Flammersfeld und Frl. I. Brachmann durchgeführt.

Beschreibung der Versuche.

Spaltung des TM-Virus in Eiweiß und Nucleinsäure.

1 ccm einer etwa 1-proz. TM-Virus-Lösung wurde im Zentrifugenglas mit 0.2 ccm einer 35-proz. Trichloressigsäure-Lösung versetzt. Das Gemisch wurde 30 Min. im siedenden Wasserbad auf 100° erhitzt. Nach Zugabe von 1 ccm Wasser wurde der Eiweiß-Niederschlag bei 3000 U/Min. abzentrifugiert. Die klare überstehende Lösung, in der die Nucleinsäure enthalten war, wurde abgegossen und der Eiweißniederschlag auf der Zentrifuge noch 3-mal mit 1.5 ccm Wasser gewaschen. Die vereinigten Lösungen wurden dann mit 2 ccm einer bei 20° gesättigten Lösung von sek. Natriumphosphat versetzt und auf 10 ccm aufgefüllt. Das p_H lag dann bei etwa 7.3 und war hiermit genügend definiert, da die Absorption der Nucleinsäure in diesem p_H -Gebiet kaum vom p_H abhängig ist.

Das im Zentrifugenglas verbliebene Eiweiß wurde in 0.5 ccm n_{10} -Natronlauge gelöst und in ein 10-ccm-Meßkölbchen übergespült. Dann wurden 0.8 ccm einer m_{20} -primären Kaliumphosphatlösung zugegeben und auf 10 ccm aufgefüllt. Das p_H der Lösung soll zwischen 6.9 und 7.1 liegen.

Die Absorptionsmessungen.

Sämtliche Absorptionsmessungen wurden mit einem Doppelmonochromator von R. W. Pohl durchgeführt. Als Lichtquelle diente eine Quarzglas-Quecksilberlampe, zur Bestimmung der Lichtintensitäten wurden Natriumphotzellen verwendet. Die Schichtdicke betrug 0.1 und 1.0 cm. Zur Messung

kamen etwa 0.1- bis 0.2-proz. Viruslösungen. Die Lösungen des nativen Virus wurden vor der Messung bei 15 000 U/Min. zentrifugiert, um etwa vorhandene gröbere Partikel zu entfernen. Die Konzentration wurde durch Bestimmung des Protein-N und Multiplikation mit dem Faktor 6.20 ermittelt.

Zur Bestimmung der Extinktion (Absorption und Streuung) der Lösungen von nativem und denaturiertem TM-Virus wurden je 5 ccm Lösung (5—10 mg Virus), zur Bestimmung der Absorption der Nucleinsäure und der Eiweißkomponente je etwa 1 ccm Lösung (entsprechend 1—2 mg Virus) benötigt.

Es wurde der Absorptionskoeffizient berechnet, der durch folgende Gleichung definiert ist:

$$\text{Absorptionskoeffizient } \alpha = \frac{1}{c \cdot d} \cdot \log \frac{J_0}{J} \text{ cm}^{-1}.$$

Darin bedeuten c die Konzentration in g/l, d die Schichtdicke in cm, J_0 die Intensität des auffallenden und J die Intensität des durchfallenden Lichtes. Die Fehlergrenze beträgt etwa 3 %.

Da die Absorption bei dem angewendeten Verfahren nur bei den Wellenlängen der Linien der Hg-Lampe bestimmt werden kann, geben die gemessenen Absorptionsbanden nur die grobe Form an, kleine Nebenbanden werden nicht erfaßt.

Versuchsbeispiel: Bestimmung der Streuungskurve und reinen Absorptionskurve von nativem TM-Virus.

Zur Messung gelangte eine 0.112-proz. Virus-Lösung ($c = 1.12$ mg/ccm). Im Gebiet der Absorption unterhalb $302 \mu\mu$ wurde eine Cuvette mit der Schichtdicke 0.097 cm, im Gebiet der reinen Streuung oberhalb $302 \mu\mu$ zur genaueren Bestimmung der Größe $\log J_0/J$ eine Cuvette mit der Schichtdicke 1.0 cm verwendet. Die Auswertung der Meßkurve erfolgte derart, daß zunächst, wie oben angegeben, nach dem Rayleighschen Gesetz aus den Werten des Absorptionskoeffizienten α bei 2 Wellenlängen im Gebiet der reinen Streuung (405 und $313 \mu\mu$) unter Eliminierung der Konstanten C der Exponent der Wellenlänge x berechnet wurde. x ergab sich bei diesem Beispiel zu 4.17. Dann wurde nach der Gleichung $C = \alpha \cdot \lambda^x$ die Streuungskonstante bei den gemessenen Wellenlängen oberhalb $302 \mu\mu$ berechnet:

$$\text{Schichtdicke } 1.0 \text{ cm; } \alpha = \frac{1}{c \cdot d} \cdot \log \frac{J_0}{J} = \frac{C}{\lambda^x}$$

λ in $\mu\mu$	$\log J_0/J$	$\alpha = 0.893 \times \log J_0/J$	$C \times 10^{19}$ ccm
405	0.1307	0.117	3.15
365	0.204	0.182	3.25
334	0.288	0.257	3.20
313	0.387	0.345	3.31

Mittelwert 3.23

Unter Benutzung dieser Streuungskonstante wurde nun die Streuungskurve für das Gebiet unterhalb $310 \mu\mu$ nach dem Rayleighschen Gesetz berechnet. Durch Subtraktion dieser berechneten Streuungskurve von der gemessenen Extinktionskurve (α) erhält man die reine Absorptionskurve des TM-Virus.

Streuungskonstante $C = 3.23 \times 10^{-19}$ ccm; Schichtdicke 0.097 cm.

λ in $\mu\mu$	$\log J_0/J$	$\alpha = 9.184 \times \log J_0/J$	Streuung C/λ^4	Reine Absorption
302	0.0457	0.420	0.388	0.031
297	0.0757	0.695	0.415	0.28
289	0.180	1.66	0.46	1.20
280	0.268	2.46	0.53	1.93
275	0.284	2.61	0.57	2.04
270	0.305	2.80	0.61	2.19
265	0.314	2.88	0.66	2.22
254	0.288	2.64	0.78	1.86
248	0.256	2.35	0.85	1.50
240	0.337	3.10	0.97	2.13

Die Absorptionskurve des denaturierten TM-Virus wurde entsprechend berechnet. Der Exponent der Wellenlänge ergab sich aus der Streuungskurve oberhalb $310 \mu\mu$ zu 3.83. Die Streuungskonstante C hatte einen erheblich kleineren Wert und betrug 0.74×10^{-19} ccm.

Die gemessenen Extinktionskurven des denaturierten TM-Virus und der TM-Nucleinsäure benötigen eine Korrektur wegen der zur Denaturierung und Spaltung verwendeten Trichloressigsäure. Diese besitzt im Gebiet zwischen 240 und $280 \mu\mu$ eine Endabsorption (s. Abbild. 3). Zur genaueren Bestimmung der Korrektionsgrößen wurde eine Trichloressigsäurelösung gleicher Konzentration den Versuchsbedingungen der Virusspaltung unterworfen. Die Absorption der erwärmten Trichloressigsäurelösung ist niedriger als die der unbehandelten Lösung, was auf Verdampfung oder Veränderung der Trichloressigsäure zurückzuführen ist. Bei den wiedergegebenen Kurven für das denaturierte Virus und die TM-Nucleinsäure ist diese Korrektur bereits berücksichtigt.

12. Hermann Bretschneider: Notiz zu einer Arbeit von D. A. Peak und W. F. Short*) über die gegenseitige Umwandlung von Hexoestrol und Isohexoestrol.

(Eingegangen am 9. November 1943.)

Zu der genannten Arbeit der englischen Autoren ist zu bemerken, daß die Umwandlung des physiologisch bedeutungslosen racemischen 4,4'-Dioxy- γ,δ -diphenyl-hexans (von den englischen Autoren Isohexoestrol genannt) in Form seines Dimethyläthers in den Dimethyläther der physiologisch wirkungsvollen Form (Hexoestrol) von mir und meinen Mitarbeitern im Zuge unserer Arbeiten über Synthetische Oestrogene der Diphenyläthanreihe¹⁾ schon vor längerer Zeit beschrieben und mit besserer Ausbeute erreicht wurde. Im Gegensatz zu D. A. Peak und W. F. Short, die am Palladiumkohle-Kontakt nur die Bildung von Spuren (Traces) an Hexoestroldimethyläther aus Isohexoestroldimethyläther erzielen konnten, erhielten wir ebenfalls am Palladiumkohle-Kontakt eine 70-proz. Ausbeute, wenn das regenerierte Ausgangsmaterial in Rechnung gesetzt wird; hingegen beträgt die Ausbeute der englischen Autoren bei ihrem Verfahren der Isomerisierung mit Schwefelwasserstoff nur 50%.

*) Journ. chem. Soc. London 1943, 232.

¹⁾ B. 74, 582 [1941].