

Sämtliche Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Analysen: Mikroanalytisches Laboratorium des organisch-chemischen Instituts der Universität Mainz.

Wir danken Herrn Professor Dr. W. Grab, Pharmakologisches Laboratorium der Farbenfabriken Bayer, Werk Elberfeld, für die Durchführung der Testierungen. Herrn Professor Dr. Junkmann, Schering A.G., Berlin, danken wir für die lebenswürdige Überlassung von Östron und Östradiol.

Eine nochmalige eingehende Prüfung auf östrogene Wirkung im Allen-Doisy-Test, die wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Dr. Tschopp, Ciba A.G. Basel, verdanken, ergab für

2 Jod-östradiol einen Schwellenwert von 2–3 γ

2 Jod-östron einen Schwellenwert von 70 γ

bei subkutaner Applikation (Vergleichswerte: Östradiol — 0,3 γ , Östron — 1 γ).

Zur Physiologie des ^{14}C -radioaktiven Mescalins im Tierversuch. IV. Mitt.*

Vergleichende Untersuchungen mit ^{14}C -Mescaline und ^{14}C - β -Phenyl-äthylamin

VON WOLFRAM BLOCK

Aus dem Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Abt. für klinische Psychiatrie und Konstitutionsforschung, Marburg (Lahn). Leiter: Dr. B. Patzig

(Z. Naturforschg. 8b, 440–444 [1953]; eingegangen am 20. Juli 1953)

Mit ^{14}C - β -Phenyl-äthylamin werden ähnliche Versuche am Tier zur Analyse der Abbauprodukte und der Verteilung in den Organen durchgeführt wie früher mit ^{14}C -Mescaline. Das unterschiedliche Verhalten eines „körpereigenen“ und eines „körperfremden“ Amins im Organismus wird an Hand dieser beiden chemisch ähnlichen Stoffe aufgezeigt. Die Anwesenheit von spezifischen Aminoxydasen ist hierfür entscheidend verantwortlich. Ein Einbau in Proteine wie beim Mescaline konnte beim β -Phenyl-äthylamin nicht nachgewiesen werden.

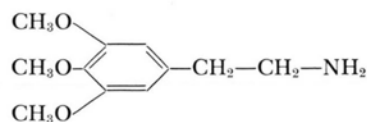
Zum Abschluß der in-vivo-Reihe der Mescalinarbeiten sollte eine Substanz im Tierversuch geprüft werden, die dem Mescaline chemisch nahesteht, jedoch keine Halluzinationen beim Menschen auslöst und als körpereigenes Amin im intermediären Proteinstoffwechsel des Tierkörpers oder beim bakteriellen Nahrungsabbau im Intestinaltrakt auftritt. Es sollte hiermit geprüft werden, ob ein „körpereigenes“ Amin ebenfalls in Proteine eingebaut werden kann, oder ob dies eine spezielle Eigenschaft „körperfremder“ Amine ist. Unter „körperfremden“ Aminen sollen vorläufig in diesen Arbeiten nur die der Phenylalkylaminreihe angehörenden Amine verstanden werden, die:

1. nicht im Säugetierkörper auftreten und
2. nicht durch eine stark wirksame Aminoxydase dem schnellen Abbau unterliegen.

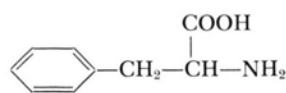
Diese Forderungen erfüllen z. B. Mescaline, Benzedrin, Ephedrin usw.¹, aber nicht Sympatol, das schnell von einer Aminoxydase angegriffen wird².

Wir wählten als „körpereigenes“ Amin das β -

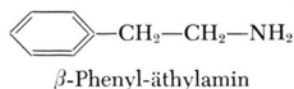
Phenyl-äthylamin (PHA), welches aus Phenylalanin durch Decarboxylierung zu entstehen vermag, und synthetisierten am α -Kohlenstoffatom markiertes PHA (siehe Versuchsteil), das weißen Mäusen injiziert wurde.



Mescaline



Phenylalanine



β -Phenyl-äthylamin

Harnversuche

Beim Erscheinen des ersten Harnes, 2 Stdn. nach der Injektion, waren bereits 64% der gesamten injizierten Aktivität wieder ausgeschieden, insgesamt wurden 80% im Harn zurückerhalten. Etwa 5% erscheinen im Kot und Spuren als $^{14}\text{CO}_2$ in der Atemluft, die aber keine genaue Analyse zulassen. Auf Grund von Radioautogrammen der Papierchromato-

* I., II. u. III. Mitteilung: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 290, 160, 230; 291, 119 [1952].

¹ D. Richter, Biochem. J. 32, 1763 [1938].

² H. Blaschko, J. Physiology 103, 13. proc. [1944/1945].

gramme und Papierelektrophoresen des innerhalb von 40 Stdn. gesammelten Harnes ergab sich im Gegensatz zu den Mescalinversuchen³, bei denen große Mengen unverändertes Mescalol ausgeschieden wurden, daß kein PHA im Harn nachweisbar ist, sondern fast ausschließlich die daraus gebildete Phenyl-essigsäure (PHE). Dieser Abbauweg wurde mit der Isotopenverdünnungsmethode mit reiner PHE geprüft und sichergestellt.

Die Gegenüberstellung der Radioautogramme von Papierchromatogrammen eines Mescalol- und eines PHA-Versuches zeigt die Verschiedenheit des Abbaues (Abb. 2 und 3).

Die Elektrophoresestreifen des PHA-Versuches weisen keine Besonderheiten auf, dagegen die des Mescalolversuches, der nicht nur bei Mäusen, sondern auch bei Ratten durchgeführt wurde (Abb. 4). Man erkennt, wie wir auch früher schon durch Elution der Papierelektrophoresen gemessen hatten³, daß die Ratte einen größeren Teil des Mescalins (72%) zu Trimethoxyphenyl-essigsäure abbaut, während die Maus viel unverändertes Mescalol (79%), ähnlich dem Menschen¹, wieder ausscheidet. Eine Anzahl anderer Schwärzungen weisen wahrscheinlich auf Peptide, Ester oder Aminosäuren hin, die durch Aufnahme von $^{14}\text{CO}_2$ radioaktiv geworden sind. Derartige Peptide und Aminosäuren können durch weiter als bis zur Stufe der Trimethoxyphenyl-essigsäure führenden Abbau des Mescalins durch Aufnahme des dadurch abgespaltenen $^{14}\text{CO}_2$ vom Körper synthetisiert werden. Mit Sicherheit konnten wir keine Peptide oder Ester nachweisen, da sich nach der Hydrolyse des Harnes mit Bariumhydroxyd an der Lage und Stärke der Streifen der Chromatogramme und Elektrophoresen nicht so viel ändert, daß hieraus eindeutig auf Peptide oder auf Bindungen von Mescalol an einzelne Substanzen geschlossen werden kann. Wir unterziehen diese Frage einer weiteren Klärung.

Verteilung von β -Phenyl-äthylamin in den Organen

Die Verteilung der Radioaktivität in den Organen, wie sie früher beim Mescalol durchgeführt wurde⁴, ergab nach der Injektion von ^{14}C - β -Phenyl-äthylamin das in der Abb. 5 dargestellte Bild. Die spezifischen Aktivitäten der Organe, die mit gestrichelten Kurvenzügen wiedergegeben sind, stehen im Gegen-

satz zu dem gleichartigen Mescalolversuch, da sie bei fast allen Organen die gleiche Höhe aufweisen. Die einzige Ausnahme bilden die Nieren. Selbst das Gehirn weist eine hohe spezifische Aktivität auf, während beim Mescalolversuch nur Spuren in das Gehirn gelangen. Der größte Teil der Radioaktivität kann nicht auf das Ausgangsprodukt PHA zurückgeführt werden, sondern auf PHE (Abb. 6—8). Dies ist ein weiterer Unterschied zu den früheren Mescalolversuchen.

Schon 30 Min. nach der Injektion getötete Tiere weisen neben kaum erkennbaren Spuren von PHA nur noch radioaktive PHE auf, die in den Nieren in großer Menge, in Leber und anderen Organen nur

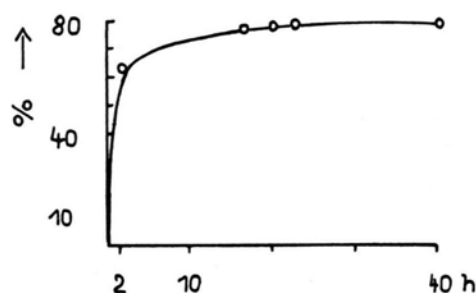


Abb. 1. Ausscheidung der Radioaktivität im Harn der weißen Maus nach intraperitonealer Injektion von 2 mg = 7 μC β -Phenyl-äthylamin in Abhängigkeit von der Zeit. Abszisse: Zeit in Stunden; Ordinate: Prozent der insgesamt verabreichten Aktivität.

schwach neben einem noch nicht identifizierten Stoff zu erkennen ist (Abb. 6).

Ein weiterer Fleck auf dem Papierchromatogramm und die Schwärzung dicht neben dem Auftragstrich der Papierelektrophorese deuten auf Aminosäuren hin, wie wir sie auch im Mescalolversuch finden.

Beim Vergleich mit entsprechenden Mescalolradioautogrammen (Abb. 8) fällt auf, daß noch nach 8 (!) Stdn. die meiste Radioaktivität auf unverändertes Mescalol zurückzuführen ist, während beim PHA schon nach 2 Stdn. keine Schwärzung des Filmes mehr gelingt. Neben Mescalol- und Trimethoxyphenyl-essigsäure-Flecken finden sich Schwärzungen, die an der Stelle von Aminosäuren liegen, wenn man diese mit Ninhydrin sichtbar macht. Die Punkte d und e fallen besonders ins Auge (Abb. 7 und 8). Sie kommen nur in Leber und Niere und ganz schwach auch in der Milz vor. Auch die Radioautogramme der Elektrophoresen von Leber-, Schilddrüsen-, Milz- und

³ W. Block, K. Block u. B. Patzig, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 160 [1952].

⁴ W. Block, K. Block u. B. Patzig, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 230 [1952].

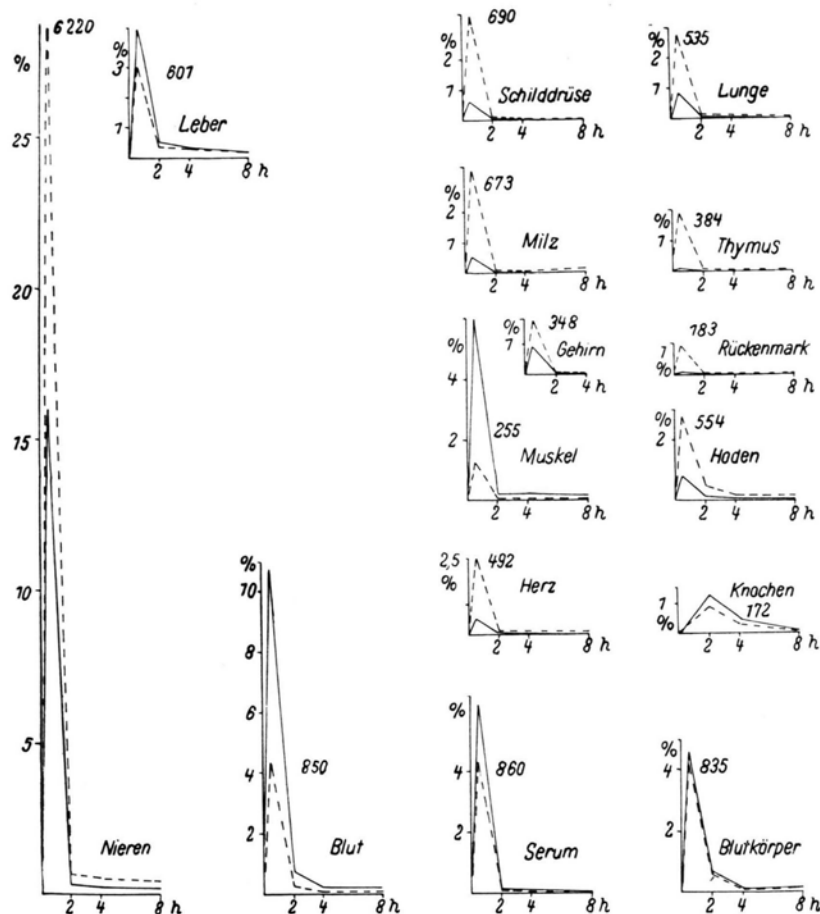


Abb. 5. Bestimmung der Aktivität der Organe von Mäusen nach i.p. Injektion von 2 mg = 7 μ C 14 C- β -Phenyl-äthylamin. Abszissen: Zeit in Stunden. Ordinaten: Prozente der gesamten injizierten Aktivität. Die ausgezogenen Kurven geben die wiedergefundene Aktivität der Organe in Prozenten der gesamten injizierten Aktivität an. Die gestrichelten Kurven geben die spezifische Aktivität der Organe an (absolute Impulse/mg Feuchtgewebe). Der genaue Maßstab der gestrichelten Kurven ist der Übersicht halber nicht aufgetragen, jedoch ist an den Spitzen der gestrichelten Kurven die größte absolute Impulszahl angegeben.

Serumeiweiß einer 20 Min. nach der Injektion von 2 mg 14 C-Mescaline getöteten Maus (Abb. 9) zeigen eine starke Schwärzung beim Lebereiweiß neben dem Auftragstrich, die an der Stelle der neutralen Aminosäuren liegt. Die Schwärzung ist nicht auf an Eiweiß gebundenes Mescaline zurückzuführen, dazu ist die eingebaute Menge zu gering, sondern sie tritt in derselben Stärke auch bei enteiweißten Leberpräparaten auf. Interessant ist die Schnelligkeit des Erscheinens dieser Substanz (20 Min.). Ferner ist zu erkennen, daß zu diesem Zeitpunkt die Konzentration von Trimethoxyphenylelessigsäure im Serum größer ist als die Mescalinkonzentration. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangten wir früher auf Grund analytischer Ergebnisse³.

Lebereiweiß-Einbauversuche

Bei der Prüfung der Frage, ob 14 C-PHA ähnlich wie 14 C-Mescaline in das Leberprotein der Maus eingebaut werden kann, maßen wir die Radioaktivität der Leberproteine, angefangen von der 30 Min. bis zu 8 Stdn. nach der Injektion getöteten Maus. Dabei gelang es uns nicht, einen Einbau nachzuweisen. Wir weisen darauf hin, daß das Auswaschen der mit Trichloressigsäure gefällten Proteine nach der ersten von uns angegebenen Methode erfolgen muß⁵, nämlich mit Wasser, Alkohol und Äther nach der Trichloressigsäurewäsche und nicht mit Aceton, da sonst

⁵ W. Block, K. Block u. B. Patzig, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **291**, 119 [1952].

streuende Ergebnisse erhalten werden. Trotzdem wurden noch geringe Impulswerte selbst bei der 8-Stdn.-Maus erhalten, die aber bei der Nachprüfung mit Hilfe der Pikratdarstellung sich nicht als vom PHA herrührend erwiesen.

Diskussion

Aus den Versuchen ist zu ersehen, daß sich PHA, bei großer chemischer Verwandtschaft zum Mescaline, grundsätzlich anders als dieses im Organismus verhält. Wir glauben nicht fehlzugehen, wenn wir diesen Befund auch auf andere (zunächst) Phenylalkylamine erweitern in dem Sinne, daß ein grundsätzlicher Unterschied zwischen „körpereigenen“ und „körperfremden“ Aminen in ihrem Verhalten im gesunden Organismus besteht, der nicht nur mit dem Fehlen einer Aminoxydase erklärt werden kann. Es bleibt offen, ob dieser Unterschied unter bestimmten krankhaften Bedingungen so verwischt werden kann, daß auch im Körper gebildete eigene Amine Giftwirkung zeigen können.

Fast alle Phenylalkylamine, sofern sie untersucht wurden, sind als giftig zu bezeichnen, d. h. sie weisen eine mehr oder minder ausgeprägte physiologische Wirksamkeit auf^{6,7}. Die Stufe der Amine wird im intermediären Eiweißstoffwechsel im Zuge des Aminosäuremetabolismus mit Sicherheit von einigen Aminosäuren durchlaufen. Unter normalen Umständen kann jedoch keine für den Organismus schädliche Konzentration an Aminen erreicht werden, da spezifisch eingestellte Fermente mit ausreichenden Affinitäten zum Substrat bereitstehen, um sie unschädlich zu machen. Nach unseren heutigen Kenntnissen ist dies in vielen Fällen die Oxydation zu Säuren, die in mehreren Stufen abläuft⁸. Eine Aminoxydase eliminiert zunächst die NH_2 -Gruppe unter Bildung eines Aldehyds, der in der Folge von einem andern Ferment zur Säure oxydiert wird^{8,9}.

Dem Menschen fehlt eine „Mescalinoxydase“. Auch die Maus besitzt nur geringe Möglichkeiten, das Mescaline abzubauen. Es vermag daher nach der Injektion über Stunden im Körper wirksam zu sein und dabei auch in Reaktion mit Proteinen zu treten. Angesichts des komplizierten Aufbaus und der vielfältigen spezifischen Zusammensetzung der Eiweißstoffe ist es verwunderlich, daß ein künstlich in den Organismus gebrachter Stoff mit einem Protein in

Reaktion tritt. Hierbei ist auch zu bedenken, daß ein relativ hoher Prozentsatz des Organeisweißes der Leber, nämlich über 50%, aus Fermenteisweiß besteht. Es bleibe dahingestellt, inwieweit hierdurch fermentative Anomalien ausgelöst werden können.

Es wäre interessant, einen Amineinbau *in vivo* auch mit anderen Aminen nachzuweisen. Man benötigt hierzu ein genügend aktives ^{14}C -Präparat, das auch kleine Mengen von physiologisch stark aktiven Aminen aufzufinden gestattet. Die heutigen Möglichkeiten lassen die Synthese genügend aktiver Präparate noch nicht zu. In den folgenden Arbeiten, die sich mit *in-vitro*-Versuchen befassen werden, soll gezeigt werden, daß sich unter bestimmten Bedingungen auch PHA in Proteine einbauen läßt.

Beschreibung der Versuche

Darstellung von ^{14}C - β -Phenyl-äthylamin: Ausgangsmaterial: Na^{14}CN und Benzylchlorid. Das für die Nitrilsynthese benötigte Na^{14}CN wurde aus $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ nach der Methode von McCarter¹⁰ mit 90% Ausbeute gewonnen. Es standen 70 mg Na^{14}CN , entspr. 1,674 mC, zur Verfügung. Obwohl die Darstellung teilweise im Gattermann-Wieland zu finden ist, wollen wir die Synthese wegen der extrem kleinen Mengen, mit denen sie durchgeführt werden mußte, beschreiben.

Es stellte sich heraus, daß die Verwendung von gewöhnlichem Glasrohr, das für den jeweiligen Zweck durch einfache Manipulationen hergerichtet werden kann, in bezug auf Schnelligkeit, Sauberkeit, Ausbeute und nicht zuletzt auf den Preis, Vorteile gegenüber der Verwendung komplizierter Apparaturen bietet.

In ein einseitig abgeschmolzenes Glasrohr von etwa 5 mm lichter Weite werden 70 mg Na^{14}CN eingebracht und mit 0,1 ccm kohlensäurefreiem Wasser versetzt. Man bringt den unteren, das Na^{14}CN enthaltenden Teil etwa 2 cm tief in ein siedendes Wasserbad, deckt das Bad mit einem durchlöchernten Deckel ab und umwickelt das herausstehende Ende des Glasrohres mit feuchtzuhaltendem Filterpapier (Rückflußkühler). Nun gibt man mit einer aus einem Glasrohr fein ausgezogenen Haarpipette 0,12 ccm Alkohol und darauf 0,15 ccm frisch destilliertes Benzylchlorid auf den Boden des Röhrchens. Nach Einführung eines als Rührwerk fungierenden Glasstabes hält man 3 Stdn. bei 100°C . Das untere Ende des Glasrohres, welches das Reaktionsgemisch enthält, wird nun mit einem Glasmesser abgetrennt und der Inhalt mit wenig Äther in einen kleinen Scheidetrichter gespült. Nach Zugabe eines Körnchens trocknen Natriumsulfates wird nach 2 Stdn. durch ein Mikrofilter in ein 20-ccm-Kölbchen unter Waschen mit Äther filtriert. Das Alkohol-Äther-Gemisch wird bei 50°C im schwachen Vakuum verdampft

⁸ C. E. M. Pugh u. J. H. Quastel, *Biochem. J.* **31** (2), 2306 [1937].

⁶ Guggenheim, *Die biogenen Amine*, S. Karger Verlag, Basel 1951.

⁷ Handb. d. experim. Pharmakologie, II. Bd., 2. Hälfte, 1277 [1924].

⁹ M. L. C. Hare, *Biochem. J.* **22**, 968 [1928].

¹⁰ J. A. McCarter, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 483 [1951].

und darauf kurz an der Ölpumpe vollständig evakuiert. Mit Hilfe einer Pipette und Äther bringt man den Kolbeninhalt in einen aus einem Glasrohr hergestellten „Destillierapparat“ (Abb. 10).

Nach dem vorsichtigen Verdampfen des Lösungsmittels ohne Erwärmung im Vakuum, wobei man darauf zu achten hat, daß sich die Substanz am abgeschmolzenen Ende des Rohres ansammelt, bringt man in ein Glycerin-

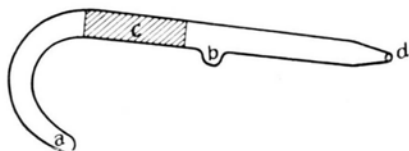


Abb. 10. „Destillierapparat“. a = Substanz, b = Destillat, c = feuchtes Filterpapier, d = Pumpenanschluß.

bad von 80° C und fängt bei 5 mm Hg den Vorlauf auf. Mit Haarpipette und Äther wird dieser vorsichtig herausgespült. Bei einer Badtemperatur von 110–120° C wird darauf das Benzylcyanid bei 5 mm Hg übergetrieben. Der das Destillat enthaltende Teil wird mit einem Glasmesser abgetrennt und einseitig abgeschmolzen. Man spült in mehreren Portionen mit insgesamt 1,2 ccm Alkohol in ein 20-ccm-Kölbchen, versieht mit Rückflußkühler und versetzt im 90° C-Wasserbad mit 118 mg Natrium. Nach der Reaktion gibt man nach dem Abkühlen 0,4 ccm Wasser zu und treibt die Base mit Wasserdampf ab. Nach der Neutralisation des Destillates mit 1-n. Salzsäure

wird unter Nachspülen mit Wasser filtriert und anschließend über Ätzkali und Calciumchlorid im Vakuum eingedunstet.

Reinigung: Das rohe, salzsaure Salz des PHA wird in 0,6 ccm Wasser im kleinen Scheidetrichter gelöst und zweimal mit 5 ccm Petroläther ausgeschüttelt. Man versetzt mit 0,2 ccm 5-n. Kalilauge und extrahiert die Base sechsmal mit 2 ccm Äther. Die Ätherphase wird in einem Scheidetrichter so lange mit 1/10-n. Salzsäure versetzt und geschüttelt, bis die wäßrige Phase neutrale Reaktion zeigt. Nach deren Eindunsten über Ätzkali im Vakuum ergeben sich 34,5 mg reines salzsaures Salz des PHA, entspr. einer 15,4-proz. Ausbeute, bezogen auf eingesetztes Na¹⁴CN. Die spezifische Aktivität müßte 7,46 µC/mg betragen. Die Nachprüfung ergab jedoch wiederum wie bei der Mescalinsynthese¹¹ weniger, nämlich nur 3,54 µC. Auf dem Papierchromatogramm und der Papirelektrophorese erwies sich das Präparat als einheitlich.

Tiere: Drei Monate alte, weiße, männliche Mäuse eigener Zucht von 24–26 g Gewicht und männliche Ratten von etwa 250 g wurden verwendet. Sowohl für die Harnversuche wie für die Bestimmung der Verteilung in den Organen injizierten wir i.p. 2 mg HCl-Salz des PHA, in 0,5 ccm Wasser gelöst, entsprechend 7,08 µC.

Die Technik der Aufarbeitung der Harn- und Organversuche sowie die Umrechnung von unter dem Glimmerfensterzählrohr gemessenen Impulsen auf absolute Impulse ist ausführlich bei den Mescalinarbeiten beschrieben worden (s. Fußnote * am Beginn der Arbeit).

¹¹ W. Block u. K. Block, Chem. Ber. **85**, 1009 [1952].

NOTIZEN

Di-cyclopentadienyl-chrom

Von E. O. Fischer und W. Hafner

Anorganisch-chemisches Laboratorium der Techn. Hochschule München

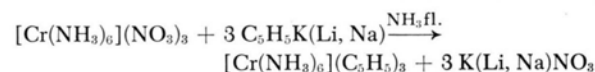
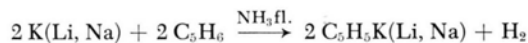
(Z. Naturforschg. **8b**, 444–445 [1953]; eingeg. am 30. Juli 1953)

Durch thermischen Abbau von [Cr(NH₃)₆](C₅H₅)₃ läßt sich in sehr geringen Mengen rotes, flüchtiges Di-cyclopentadienyl-chrom Cr^{II}(C₅H₅)₂ darstellen. Debye-Scherrer-Diagramm, Schmelzpunkt und sonstige Eigenschaften beweisen die Strukturanalogie mit Fe^{II}(C₅H₅)₂, Co^{II}(C₅H₅)₂ und Ni^{II}(C₅H₅)₂.

In letzter Zeit konnten durch neuartige Fällungsreaktionen der Alkaliverbindungen des Cyclopentadiens mit geeigneten löslichen Metallsalzen in flüssigem Ammoniak verschiedene Cyclopentadienylsalze von Hexaammoniakaten der betreffenden Metalle erstmals dargestellt werden^{1,2}. Im Vakuum lassen sich teilweise bereits bei nor-

maler Temperatur aus derartigen Komplexsalzen wie z. B. [Ni(NH₃)₆](C₅H₅)₂ oder [Co(NH₃)₆](C₅H₅)₂ unter völliger NH₃-Abspaltung alsdann die entsprechenden flüchtigen, metallorganischen Durchdringungskomplexe Ni^{II}(C₅H₅)₂¹ bzw. Co^{II}(C₅H₅)₂² erhalten.

Im Verlauf solcher Untersuchungen war gemäß



bereits vor einiger Zeit auch ein hellgelbes, salzartiges [Cr(NH₃)₆](C₅H₅)₂² dargestellt worden. Entsprechend der Beständigkeit der Luteokomplexe erwies es sich jedoch im Gegensatz zu den vorerwähnten Ammoniakaten des Nickel(II) und Kobalt(II) bei normaler Temperatur selbst im Hochvakuum als völlig stabil. Erst als Abbauversuche bei 80–120° durchgeführt wurden, trat in einer offensichtlich uneinheitlichen Reaktion NH₃-Abspaltung ein; dabei wird zugleich in größeren Mengen Cyclopentadien frei. Überraschenderweise ergab sich außerdem, daß der entweichende Gasstrom stets noch äußerst geringe Mengen einer flüchtigen Chromverbindung mit sich führt.

¹ E. O. Fischer u. R. Jira, Z. Naturforschg. **8b**, 217 [1953]; vgl. auch die andersartige Darstellung von Ni(C₅H₅)₂ nach G. Wilkinson, P. L. Pauson, J. M. Birmingham u. F. A. Cotton, J. Amer. chem. Soc. **75**, 1011 [1953].

² E. O. Fischer u. R. Jira, Z. Naturforschg. **8b**, 327 [1953].