

VLIV BÍLKOVIN NA POLAROGRAFICKÉ CHOVÁNÍ KOVŮ A JEJICH
SLOUČENIN S 2,3-DIMERKAPTOPROPANOLEM

R. ZUMANOVÁ, J. TEISINGER, P. ZUMAN

Ústav hygieny práce a chorob z povolání v Praze
Polarografický ústav Československé akademie věd v Praze

Při intoxikacích těžkými kovy hraje významnou roli vazba těžkých kovů na bílkoviny. I když někteří autoři (na př. Šantaový [1]) připisují význačnou roli vazbě kovů — na př. kadmia — na lipidní složky, přece při velké afinitě kovů k bílkovinám bude nejspíše mít tato vazba rozhodující vliv. Proto je v poslední době v širokém rozsahu a nejrůznějšími metodami studována [2] reakce mezi kovy a bílkovinami. Největší pozornost byla věnována běžným kovům jako mědi [3], zinku [4—8] a kadmiu [9] a dále též organickým a anorganickým sloučeninám rtuti [10—14] s ohledem na jejich fyziologické účinky. Byl studován především rozsah vazby a dále způsob vazby. Bylo zjištěno, kolik iontů kovu je bílkovinou za různých podmínek vázáno, případně byly určeny průměrné rovnovážné konstanty. Pod způsobem vazby chápeme, jaké funkční skupiny jsou pro vznik vazby důležité a zda je vazba reversibilní. Co se týče účinných funkčních skupin, liší se nejspíše pro různé kovy a podmínky, neboť názory a vývody autorů se v tomto směru velmi od sebe liší. Lze považovat za pravděpodobné, že vazby kovů v bílkovinách se účastní skupiny —SH, —NH₂, —COO⁻, imidazolová jádra, případně další dusíkaté heterocykly a jiné skupiny. Z těchto údajů vyplývá, že problém kvantitativního vyhodnocení vztahů mezi bílkovinami a kovy je velmi složitý a uplatní se zde vlivy prostředí, pH, stupně zředění bílkoviny, vedle okamžitého stavu molekuly bílkoviny.

Naším úkolem bylo zjistit, zda sloučeniny kovů s 2,3-dimerkaptopropanolem, studované v dřívější práci [15], jsou natolik pevné, aby mohly uvolnit kov z vazby s bílkovinou. Toto bylo u As a Hg v literatuře předpokládáno, nebyl však podán experimentální důkaz. Rovněž nebyla věnována pozornost ostatním těžkým kovům. Řešení této otázky bylo prováděno polarografickou metodou.

Na vliv bílkovin na polarografické vlny kovů — olova — upozornil první Teisinger [16], který zjistil, že při stanovení olova v krvi je olovo vázáno v polarograficky inaktivní formě, z níž se uvolní po okyselení kyselinou chlorovodíkovou. Vedle acidity se zde uplatní i vliv chloridových iontů [17, 18], který působí proti povrchové aktivitě bílkovin. Při okyselení na př. H₂SO₄ by nebylo možno získat vyvinuté vlny olova. Že se nejedná pouze o vliv ery-

throcytů prokázal Teisinger [16], když zjistil maskování olova i v přítomnosti 5 % albuminu, 1 % želatiny a 0,5 % agaru. Pfankuch a Hagenguth [19] prokázali, že v kyselém prostředí (0,5 M H_2SO_4), kde vlny mědi a manganu nejsou přítomností bílkovin ovlivňovány, dochází k poklesu vln železa. Suzutani [20] našel pokles po přidání haemoglobinu a albuminu k olovu ve tvaru diskontinuitní adsorpční isothermy. Tento výsledek, nejspíše zaviněný nedostatečnou experimentální technikou, vysvětluje autor různými aktivními středisky v adsorbens. Po dalších informativních pracích, v nichž bylo prokázáno, že u některých kovů (na př. Fe) u většiny bílkovin, u některých bílkovin (na př. u adrenokortikotropického hormonu [21]) i u Zn, Cu, Ni, Mn a Co dochází k poklesu vln i v kyselém prostředí, vykrystalovala otázka, co způsobuje pokles polarografické vlny kovu po přidání bílkoviny — zda vazba a tvorba komplexu nebo adsorpce bílkovin na povrchu kapkové elektrody. Zde je třeba uvést, že i jiné povrchově aktivní látky, u nichž nelze předpokládat chemickou interakci — na př. kafr — způsobují pokles polarografických vln [18]. Tyto látky jsou naadsorbovány na povrchu kapkové elektrody a brání tak přístupu iontů k povrchu. Podle dnešního stavu našich vědomostí předpokládáme, že adsorptivní vlastnosti některých bílkovin — na př. želatiny — uplatní se především v kyselých roztocích, zatím co ve středním oboru pH má se podle Tanforda [17, 22] jednat pouze o vazbu do komplexu.

Tato otázka měla zásadní důležitost pro studium vlivu dimerkaptopropanolu na roztok kovu, obsahující bílkovinu. Kdyby totiž se uplatnily povrchové vlivy, nemohla by se po přidání dimerkaptopropanolu zvýšit vlna kovu na původní hodnotu, neboť obsazení povrchu bílkovin nemohlo být ovlivněno.

Experimentální část

Vliv bílkovin na vlny kovů

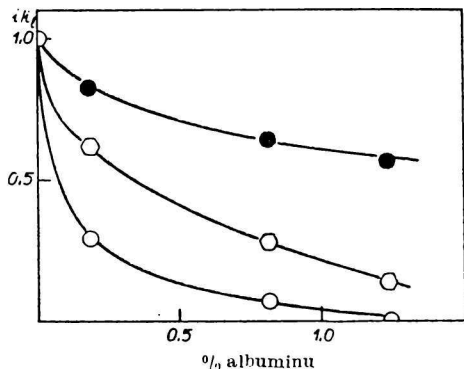
Byla především věnována pozornost otázce, zda a u kterých kovů dochází po přidání bílkoviny k poklesu proudu a je-li proud po značném snížení limitován adsorpcí či difusí.

U všech dosud publikovaných prací bylo pH upravováno tak, že roztok bílkoviny byl titrován louhem do zvoleného pH. Při tomto pokusném uspořádání nebylo možno zajistit pufrovací kapacitu a nebylo možno vyloučit změnu pH během přidávání kovu (vzhledem k blokování ionisovatelných skupin). Proto bylo zvoleno prostředí citrátu pH 6,3 jako nejbližší k fyziologickým podmínkám. Jsme si vědomi, že touto úpravou roztoku mohlo dojít ke změně stavu molekul bílkovin, nicméně ani při nastavování pH louhem nelze vyloučit částečnou denaturaci. Proto byla dána přednost tomu, aby aspoň jedna proměnná (pH) byla s jistotou známa.

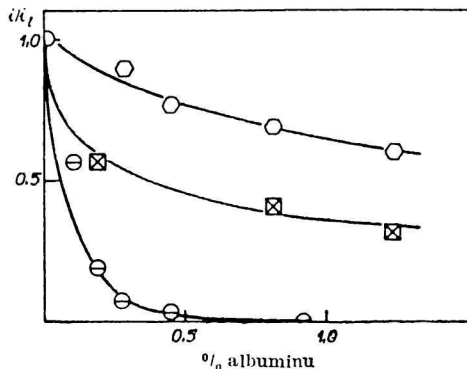
Pokusy byly prováděny tak, že k roztoku kovového iontu v citrátovém pufru byl přidáván roztok albuminu. Tento roztok byl připravován z krystalického albuminu z koňské krve. Byl sledován úbytek výšek vln s rostoucí koncentrací albuminu, vliv na tvar a charakter vln (závislosti na výšce reservoiru) a dále vliv teploty.

Bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací bílkoviny dochází k poklesu vln Au, Ag, Hg, Cu, Sb, Bi, Zn, Cd, Pb. Vlna Tl se po přidání bílkoviny nemění. Závislost výšky vlny na

koncentraci albuminu má obecně tvar exponenciální křivky. S rostoucí koncentrací albuminu klesá výška vlny kovů buď k nule (Au, Ag, Hg, Bi; viz obr. 1—3) nebo k limitní hodnotě, která se s rostoucí koncentrací bílkoviny již prakticky nemění (Cu, Cd, Pb; obr. 1 a 2). U vln Zn a Sb dochází k deformaci křivek, znemožňující proměření vln, vlny však při vyšší koncentraci bílkoviny zcela vymizí.



Obr. 1.



Obr. 2.

Obr. 1. Závislost poměru i/i_1 kovů Hg, Au, Pb na koncentraci albuminu.

i_1 — výška vlny před přidáním albuminu

i — výška vlny po přidání albuminu

○ Hg

○ Au

● Pb

Obr. 2. Závislost poměru i/i_1 kovů Ag, Cu, Cd na koncentraci albuminu.

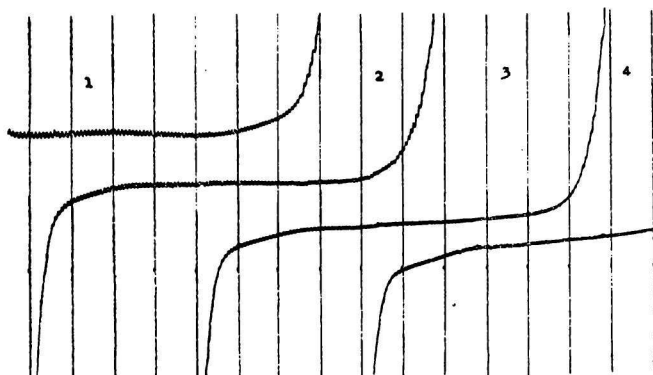
i_1 — výška vlny před přidáním albuminu

i — výška vlny po přidání albuminu

○ Ag

⊠ Cu

○ Cd

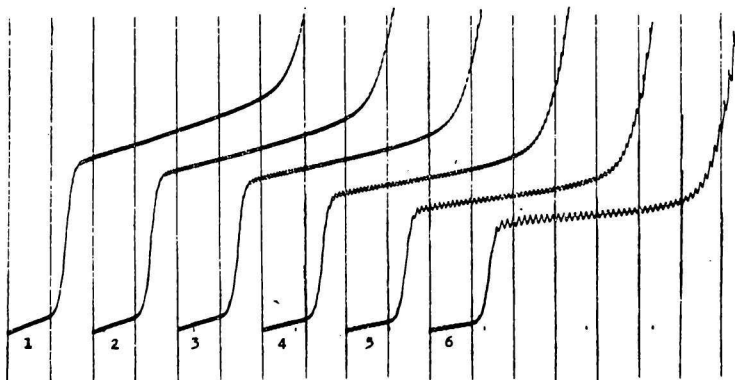
Obr. 3. Vliv albuminu na limitní proud Au^{3+} .

Křivka (1) $3,85 \cdot 10^{-4}$ M- Au^{3+} v citrátovém pufru pH 6,3; (2) v 0,186 %; (3) v 0,81 %; (4) v 1,23 % albuminu. Křivky zaznamenány od 2.závitu, SKE, 200 mV/absc., anod.-kathod. zapoj., $h = 50$ cm, citl. 1 : 30.

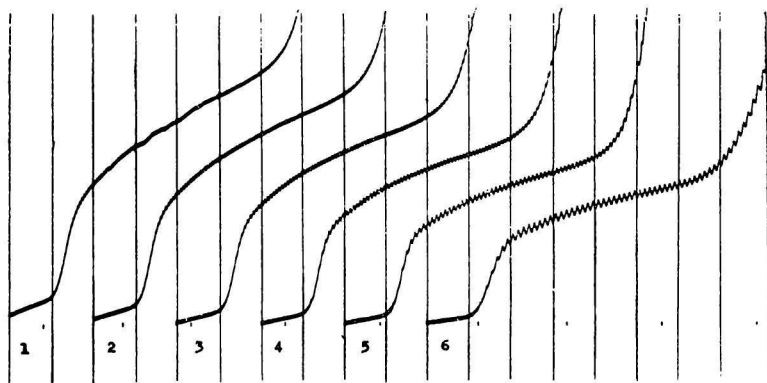
Zaznamenáváme-li polarografické křivky kovů za takových podmínek, že výška vlny kovů je jen asi 10 % původní výšky vlny při různých výškách reservoiru rtuti, leží závislosti mezi závislostmi pro adsorpční ($i_a \sim h$) a difusní ($i_d \sim \sqrt{h}$) proud (obr. 4 a 5).

Z výsledků pokusů lze odvodit, že nesporně dochází k tvorbě komplexů bílkovin s kovy, o čem svědčí tyto skutečnosti:

a) U některých kovů dospívá pokles do limitní hodnoty. Tento zbývající proud odpovídá redukcí komplexu. Snížení proudu ve srovnání s vlnou volného iontu je způsobeno změnou difusního koeficientu. U těch kovů, kde dochází k úplnému vymizení vlny, je vzniklý komplex neredukovatelný. Vymizení vlny by mohlo nastat, kdyby se jednalo pouze o povrchový zjev, pokles k limitní hodnotě však nikoliv.



Obr. 4. Závislost vln Pb^{2+} na výšce reservoiru v citrátovém pufru pH 6,3. Citrátový pufr pH 6,3 s $9,8 \cdot 10^{-5}$ M- Pb^{2+} ; $h = (1) 80; (2) 70; (3) 60; (4) 50; (5) 40; (6) 30$ cm. Křivky zaznamenány od 5. závitů, SKE, 200 mV/absc., anod.-kathod. zapoj., citl. 1 : 10.



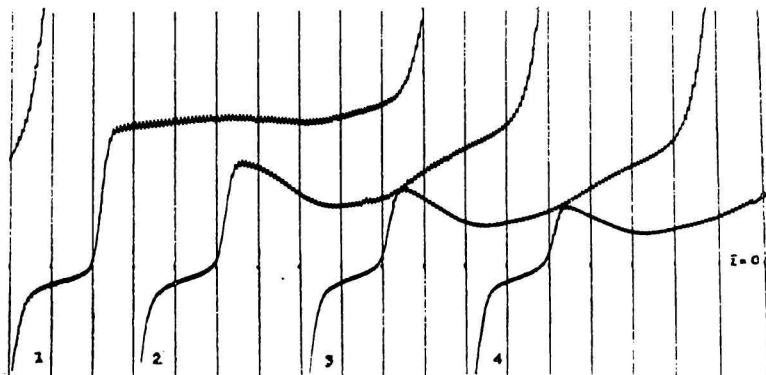
Obr. 5. Závislost vln Pb^{2+} na výšce reservoiru v 3 % albuminu. 3 % albumin s $9,8 \cdot 10^{-5}$ M- Pb^{2+} ; $h = (1) 80; (2) 70; (3) 60; (4) 50; (5) 40; (6) 30$ cm. Křivky zaznamenány od 5. závitů, SKE, 200 mV/absc., anod.-kathod. zapoj., citl. 1 : 10.

b) Pokles vlny je větší při větším pH. To je v soulase s představou interakce mezi pozitivně nabitým iontem a bílkovinou, u níž s rostoucím pH roste negativní náboj.

c) Vliv bílkovin je různý pro různé kovy. Tak na př. ke snížení výšky vlny na 50 % dochází u Hg^{2+} v 0,05 % albuminu, u Ag^+ v 0,15 %, u Bi^{3+} v 0,2 % a u Au^{3+} v 0,4 % albuminu. Na rozdíl od jednomocného Ag^+ u Tl^+ nedochází vůbec ke snížení vlny. To je

možno vysvětlit jen chemickou interakcí, protože povrchové vlivy nemohou být do té míry specifické (ani kdybychom místo prosté mechanické zábrany adsorpci uvažovali zpomalení elektrodového děje).

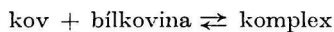
Na druhé straně v menší míře se uplatňují i povrchové vlivy. Pro to svědčí: změna tvaru vln — protažení u pozitivnějších potenciálů, pokles vlny mědi (sedlovitý) (obr. 6) — zcela analogický poklesu, způsobenému jinými povrchově aktivními látkami [18], na př. thymolem, kafrem a j. Konečně pak též závislosti na výšce reservoiru rtuti svědčí o tom, že se při elektrodovém ději uplatňuje i adsorpce. Přesné vyhodnocení výsledků nebylo provedeno též proto, že vliv roztoků albuminu, připravovaných vždy stejným způsobem z krystalické bílkoviny, nebyl dostatečně reprodukovatelný.



Obr. 6. Vliv albuminu na vlny Cu^{2+} .

Křivka (1) $3,85 \cdot 10^{-4}$ M- Cu^{2+} v citrátovém pufru pH 6,3; (2) v 0,18 %; (3) v 0,18 %; (4) v 1,23 % albuminu. Křivky zaznamenány od 2. závitů, SKE. 200 mV/absc., anod.-kathod. zpoj., $h = 50$ cm, citl. 1 : 30.

Je tedy třeba brát kvantitativní vyhodnocení, navržená Tanfordem [22] a Kačounou [23, 24], při nichž je určována rovnovážná konstanta reakce



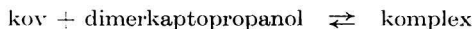
s jistou rezervou.

Z tohoto výsledku také vyplývalo, že po přidání dimerkaptopropanolu nelze očekávat vzrůst výšky vlny na původní výšku, ale že je třeba počítat se snížením, způsobeným povrchovými jevy.

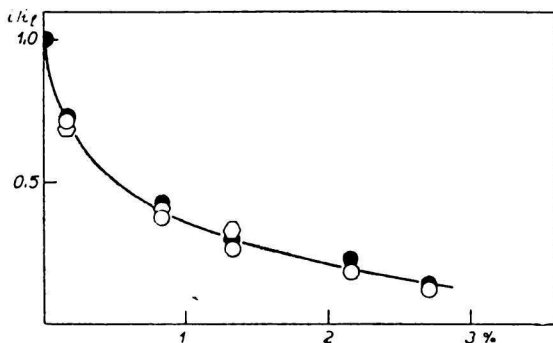
Vliv bílkovin na vlny komplexů kovů s 2,3-dimerkaptopropanolem

Vliv bílkovin na komplexy dimerkaptopropanolu s kovy byl studován tak, že k roztoku komplexů kovů s dimerkaptopropanolem byl postupně přidáván roztok albuminu. Komplex s dimerkaptopropanolem byl připraven přidáním roztoku dimerkaptopropanolu k roztoku kovového iontu buď ve stechiometrickém poměru (u rozpustných komplexů) nebo při takové koncentraci dimerkaptopropanolu, že všechny kov nebyl vázán v komplexu. Charakter těchto závislostí byl podobný jako u volných kovů (obr. 7). Pokles bylo možno pozorovat i u komplexu As, jehož volný ion v citrátovém pufru je neredukovatelný (obr. 8). S rostoucí koncentrací bílkoviny klesá výška vlny komplexu $(\text{As}-)(\text{BAL})_3$ téměř až na nulu.

Pokles výšek vln volných kovů i komplexů s dimerkaptopropanolem svědčí nejspíše o tom, že i zde se uplatňují povrchové zjevy, jak je vidět ze závislosti i na h mezi $i_d \sim \sqrt{h}$ a $i_a \sim h$. Porušování rovnováhy

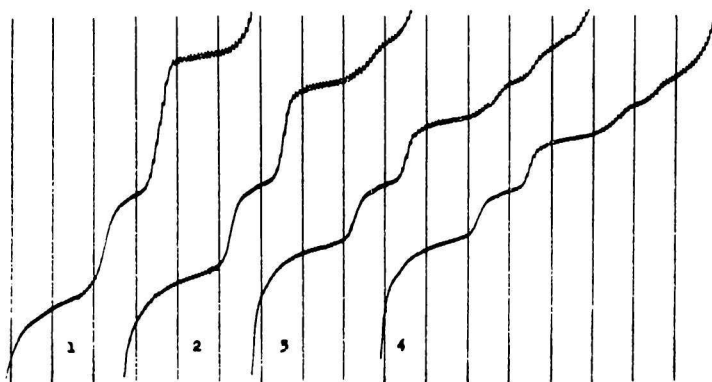


přidáním bílkoviny se příliš neuplatní, neboť nadbytek dimerkaptopropanolu již neovlivňuje závislost na koncentraci přidané bílkoviny (obr. 7).



Obr. 7. Vliv albuminu na vlny komplexu $(\text{As}^{\text{III}})\text{-(BAL)}_3$.

- i_1 — výška redukční vlny komplexu před přidáním albuminu
 i — výška redukční vlny komplexu po přidání albuminu
 ○ — As : BAL v poměru 2 : 1
 ◊ — As : BAL v poměru 1 : 3 — ekvivalence
 ● — As : BAL v poměru 2 : 1

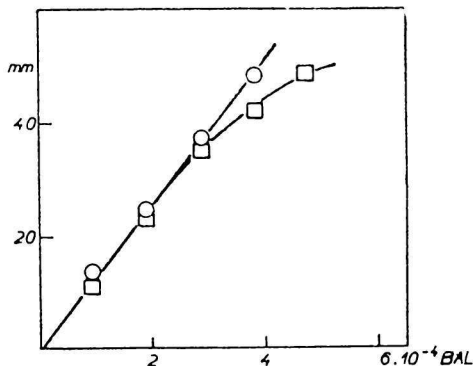


Obr. 8. Vliv albuminu na křivky komplexu $(\text{As}^{\text{III}})\text{-(BAL)}_3$.

Křivka (1) $1,72 \cdot 10^{-4}$ M- As^{3+} , $3,43 \cdot 10^{-4}$ M-BAL v citrátovém pufru pH 6,3; (2) v 0,19 %; (3) v 0,84 %, (4) v 1,33 % albuminu. Křivky zaznamenány od 2. závitů SKE, 200 mV/absc., anod.-kathod. zapoj., $h = 50$ cm, citl. 1 : 30.

O vlivu adsorpčních sil svědčí i to, že vlny komplexů s dimerkaptopropanolem s rostoucí koncentrací bílkoviny klesají k nule. To bylo patrné i u těch kovů, jejichž vlny volných iontů (případně citrátových komplexů) k nule neklesají.

Dimerkaptopropanol není přítomností bílkoviny ovlivněn. To je patrné z toho, že polarografická anodická vlna dimerkaptopropanolu není přítomností albuminu příliš ovlivněna (obr. 9). Dochází pouze k menšímu snížení výšky anodické vlny, které může být způsobeno jednak zvýšením viskosity roztoku, jednak interakcí dimerkaptopropanolu s disulfidickými skupinami bílkovin [25].



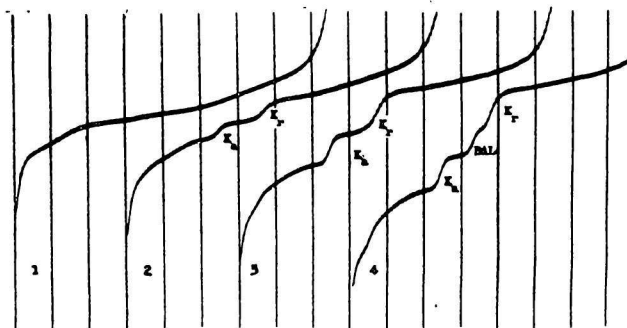
Obr. 9. Závislost limitního proudu 2,3-dimerkaptopropanolu na koncentraci.

- — výška vln v 0,5 % albuminu
 □ — výška vln v 1 % albuminu

Vliv 2,3-dimerkaptopropanolu na komplexy bílkovin s kovy

Nejpozoruhodnější výsledky byly získány po přidání dimerkaptopropanolu k roztoku obsahujícímu bílkovinu a kov — tedy opačně než v predešlém případě. Tak byl studován vliv dimerkaptopropanolu na vazbu kovů s bílkovinou.

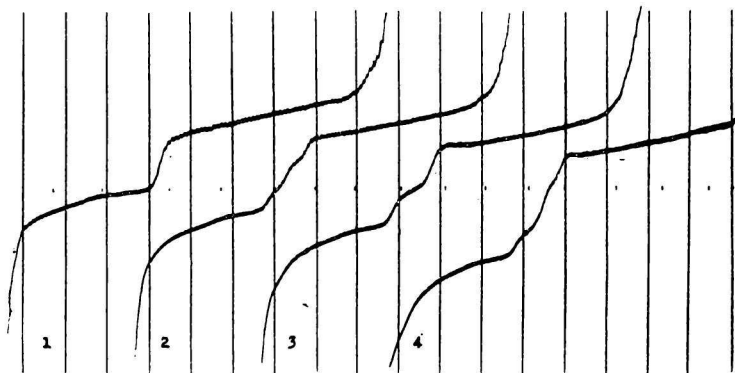
Bylo dokázáno, že po přidání dimerkaptopropanolu dochází k uvolnění kovů z vazby s bílkovinou. Tento závěr vyplývá z pozorování, že u kovů, tvořících nerozpustné sloučeniny s dimerkaptopropanolem dochází k úbytku zbývající vlny volného kovu. Současně je i anodická vlna BALu nižší než v čistých roztocích. Ještě průkaznější je chování kovů,



Obr. 10. Vliv 2,3-dimerkaptopropanolu na Sb^{3+} v 2 % albuminu.

2 % albumin v citrátovém pufru pH 5,8 s $6 \cdot 10^{-5}$ M- Sb^{3+} . Přidáno (1) 0; (2) 0,6; (3) 1,18; (4) $1,76 \cdot 10^{-4}$ M-dimerkaptopropanol. Křivky zaznamenány od 2. závitů, SKE, 200 mV/absce., $h = 50$ cm, citl. 1 : 20.

tvorících s dimerkaptopropanolem rozpustné sloučeniny. U Sb, As, Bi nejsou v přítomnosti nadbytku bílkoviny na křivce patrný žádné vlny. Po přidání dimerkaptopropanolu rostou na křivkách charakteristické vlny komplexů dimerkaptopropanolu s kovem — redukční vlna komplexu i anodická vlna, příslušející tvorbě soli se rtuť (obr. 10). Podobně se chovají i roztoky olova, kde ovšem na křivce před přidáním dimerkaptopropanolu je patrna zbyvající redukční vlna komplexu kovu s bílkovinou (obr. 11). Vlna komplexu



Obr. 11. Vliv 2,3-dimerkaptopropanolu na Pb^{2+} v 1 % albuminu.

1 % albumin v citrátovém pufru pH 5,8 s $1 \cdot 10^{-4}$ M- Pb^{2+} . Přidáno (1) 0; (2) 0,6; (3) 1,17; (4) $1,95 \cdot 10^{-4}$ M-dimerkaptopropanol. Křivky zaznamenány od 2. závitů, SKE, 200 mV/absc., anod.-kathod. zapoj., $h = 50$ cm, citl. 1 : 20.

kovu s dimerkaptopropanolem je v přítomnosti bílkovin nižší než v roztoku bez bílkoviny a to i v takové koncentraci dimerkaptopropanolu, kdy vlna komplexu po přidání dimerkaptopropanolu již dále neroste (t. j. při dosažení rovnovážného stavu). Nelze tedy uplatnit u těchto závislostí kvantitativní vyhodnocení a přesvědčit se z měření výšek vln o tom, zda veškerý kov může být dimerkaptopropanolem z bílkoviny uvolněn či zda část kovu je vázána nevratně. Ekvivalenční bod, nad nímž již neroste výška vlny komplexu s rostoucí koncentrací dimerkaptopropanolu, odpovídá však přibližně stechiometrickým poměrům, zjištěným v roztocích bez bílkovin. Lze tedy soudit, že dimerkaptopropanol uvolní prakticky všechny atomy kovu z bílkoviny.

Souhrn

Bylo prokázáno, že vlny kovů jsou v citrátovém pufru pH 6,3 snižovány bílkovinou buď k nulové (Au, Ag, Hg, Bi) nebo k limitní (Cu, Cd, Pb) hodnotě. Snížení je způsobeno jednak tvorbou komplexů, jednak adsorpcí bílkoviny na povrchu kapkové elektrody. Vliv adsorpce byl dobře patrný ze sedlovitých poklesů na limitním proudu mědi. Polarografická metoda se za těchto podmínek nehodí ke kvantitativnímu studiu interakce kovů s bílkovinami. Vliv roztoků albuminu, připravovaných vždy stejným způsobem z téhož krystalického přípravku bílkoviny, byl špatně reprodukovatelný.

Bylo prokázáno, že prakticky stechiometrické množství dimerkaptopropanolu stačí k uvolnění kovu vázaného na bílkovinu. To je patrné ze vzrůstu vln komplexů kovů s dimerkaptopropanolem po přidání dimerkaptopropanolu k roztokům, obsahujícím bílkovinu a kov. I zde se však projeví povrchová aktivita bílkovin. Vlny komplexů jsou v přítomnosti bílkovin nižší než v roztocích bez bílkovin. Pokles výšky vln zde probíhá až k úplnému vymizení. Protože pokles vlivem bílkoviny nezávisí téměř na nadbytku dimerkaptopropanolu, jde patrně o jiný zjev, než je porušení rovnováhy mezi dimerkaptopropanolem a kovem působením bílkoviny. Vazba mezi dimerkaptopropanolem a kovem je daleko pevnější než vazba kovu na bílkovinu.

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВ НА ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ МЕТАЛЛОВ И ИХ СОЕДИНЕНИЙ С 2,3-ДИМЕРКАПТОПРОПАНОЛОМ

Р. ЗУМАНОВА, И. ТАЙСИНГЕР, И. ЗУМАН

Институт гигиены труда и болезней по профессии
Полярграфический институт Чехословацкой Академии Наук в Праге

Выводы

Было доказано, что волны металлов в цитратном буферном растворе pH 6,3 присутствием белков уменьшаются, падая до нуля (Au, Ag, Hg, Bi) или к предельному значению (Cu, Cd, Pb). Снижение волны обусловлено с одной стороны возникновением комплексов, с другой стороны адсорбцией белков на поверхности ртутного капельного электрода. Влияние адсорбции хорошо видно из седловатых понижений предельного тока меди. Полярграфический метод при этих условиях неудобен к полярграфическому исследованию реакции металлов с белками. Влияние растворов альбумина, приготовленных тем самым образом и из того же кристаллического препарата белкового вещества, было плохо воспроизводимо.

Было определено, что практически стехиометрическое количество димеркаптопропанола достаточно к освобождению металла соединенного с белковым веществом. Это видно из повышения высоты волны комплекса металла с димеркаптопропанолом после прибавления димеркаптопропанола к растворам, содержащим белковое вещество и металл. Здесь тоже проявляется поверхностно-активное действие белков. Волны комплексов в присутствии белков всегда низшие, чем в растворах не содержащих белки. Падение высоты волны здесь происходит до полного исчезновения. Потому что понижение высоты волны действием белков почти не зависит от избытка димеркаптопропанола, идет здесь по всей вероятности о ином явлении, чем о нарушении равновесия между димеркаптопропанолом и металлом под действием белков. Связь между димеркаптопропанолом и металлом далеко крепче, чем связь металла с белками.

Поступило в редакцию 10. 5. 1956 г.

EINFLUSS VON EIWEISSSTOFFEN AUF DAS POLAROGRA- PHISCHE VERHALTEN VON METALLEN UND IHRER VERBIN- DUNGEN MIT 2,3-DIMERCAPTOPROPANOL

R. ZUMANOVA, J. TEISINGER, P. ZUMAN

Institut für Arbeitshygiene und Berufskrankheiten
Polarographisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften
in Prag

Zusammenfassung

Es wurde nachgewiesen, dass die Stufen der Metalle im Citratpuffer pH 6,3 durch Eiweiss entweder zum Nullwert (Au, Ag, Hg, Bi) oder zum Grenzwert (Cu, Cd, Pb) erniedrigt werden. Diese Erniedrigung wird einerseits durch die Bildung von Komplexen, andererseits durch die Adsorption des Eiweiss an der Oberfläche der Tropfenelektrode hervorgerufen. Der Einfluss der Adsorption war gut ersichtlich aus den sattelförmigen Abnahmen am Limitstrom des Kupfers. Die polarographische Methode eignet sich unter diesen Bedingungen zum quantitativen Studium der Interaktion der Metalle mit Eiweissstoffen nicht. Der Einfluss von Albuminlösungen, die stets in gleicher Weise aus demselben kristallisierten Eiweisspräparat hergestellt wurden, war schlecht reproduzierbar.

Es konnte nachgewiesen werden, dass die praktisch stöchiometrische Menge von Dimercaptopropanol zur Freimachung des an Eiweiss gebundenen Metalls ausreicht. Dies wird aus dem Anwachsen der Stufen der Metallkomplexe mit Dimercaptopropanol nach der Zugabe desselben zu den Lösungen, welche Eiweiss und Metall enthalten, ersichtlich. Auch hier äussert sich jedoch die Oberflächenaktivität der Eiweissstoffe. Die Stufen der Komplexe sind in Gegenwart von Eiweissstoffen niedriger als in Lösungen ohne Eiweissstoffen. Die Abnahme der Stufenhöhe verläuft hier bis zum völligen Verschwinden. Nachdem die Abnahme durch den Einfluss des Eiweiss fast nicht vom Überschuss des Dimercaptopropanols abhängig ist, handelt es sich hier offenbar um eine andere Erscheinung, als um die Störung des Gleichgewichts zwischen Dimercaptopropanol und dem Metall durch Einwirkung des Eiweiss. Die Bindung zwischen Dimercaptopropanol und dem Metall ist weit fester als jene des Metalls am Eiweiss.

In die Redaktion eingelangt den 10. 5. 1956

LITERATURA

1. Mačák V., Černocho M., Bartek J., Wiedermann D., Šantavý F., Lék. Listy 9, 27 (1954). — 2. Březina M., Zuman P., *Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie*, Leipzig 1956, 601. — 3. Klotz I. M., Faller I. L., Urquhart J. M., J. phys. colloid Chem. 54, 18 (1950). — 4. Cohn E. J., Gurd F. R. N. a j., J. am. chem. Soc. 72, 465 (1950). — 5. Gurd F. R. N., Goodman D. S., J. am. chem. Soc. 74, 670 (1952). — 6. Gurd F. R. N., J. phys. Chem. 58, 788 (1954). — 7. Klotz I. M., Urquhart J. M., Fiess H. A., J. am. chem. Soc. 74, 5537 (1952). — 8. Tanford Ch., Epstein J., J. am. chem. Soc. 76, 2170 (1954). — 9. Tanford Ch., Wagner M. L., J. am. chem. Soc. 75, 434 (1953). — 10. Hughes W. L., Jr., J., am. chem. Soc. 69, 1836 (1947).
11. Hughes W. L., Jr., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 14, 79 (1949). — 12. Edelbach H., Katchalski E., Maybury R. H., Hughes W. L., Edsall J. T.,

J. am. chem. Soc. 75, 5058 (1953). — 13. Edsall J. T., Maybury R. H., Simpson R. B., Straessle R., J. am. chem. Soc. 76, 3131 (1954). — 14. Boyer P. D., J. am. chem. Soc. 76, 4331 (1954). — 15. Zuman P., Zumanová R., Chem. Listy 49, 652 (1955); Collection 21, 123 (1956). — 16. Teisinger J., Čas. Lék. čes. 73, 430, 864 (1934); Biochem. Z. 277, 178 (1935); Sborník lék. 38, 1 (1936); Z. ges. exp. Med. 98, 520 (1936). — 17. Tanford Ch., J. am. chem. Soc. 74, 6036 (1952). — 18. Zuman P., Chem. Zvesti 8, 789 (1954). — 19. Pfankuch E., Hagenguth K., Biochem. Z. 313, 1 (1942). — 20. Suzutani T., Proc. I. Intern. Polarograph. Meet., Prague 1951, vol. I, 425, Praha 1951; Japan J. Physiol. 1, 213 (1951).

21. Carr J. E., Conn J. B., Wartmann T. G., Science 116, 566 (1952). — 22. Tanford Ch., J. am. chem. Soc. 73, 2066 (1951); 74, 211 (1952). — 23. Kačena V., Matoušek L., Chem. Listy 46, 525 (1952); Collection 18, 294 (1953). — 24. Kačena V., Chem. Listy 47, 1279 (1953); 48, 7 (1954); Collection 19, 428 (1954). — 25. Zuman P., Zumanová R., Chem. Listy 50, 1908 (1956); Collection 22, 929 (1957).

Došlo do redakcie 10. 5. 1956