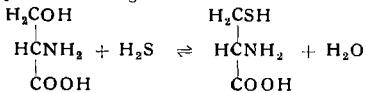


## Biosynthese des Cysteins aus Serin und Schwefelwasserstoff

Von K. SCHLOSSMANN\*) und Prof. Dr. F. LYNEN  
Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere der Universität München und Max-Planck-Institut für Zellchemie, München

Wir konnten in Hefezellen ein Enzym nachweisen, das L-Serin und H<sub>2</sub>S zu Cystein vereinigt.



Aus Hefezellen, durch hochtouriges Schütteln mit Glasperlen zertrümmert, wird es extrahiert und durch drei Reinigungsstufen (Abtrennung von Begleitstoffen mit Protaminsulfat, Fraktionierung mit Ammoniumsulfat (0,4–0,65 Sättigung), Adsorption des aktiven Eiweißkörpers an Al(OH)<sub>3</sub>-Gel) rund 50fach angereichert. Das Enzymprotein allein ist nahezu wirkungslos; erst mit katalytischen Mengen Pyridoxalphosphat<sup>1)</sup> wird Cystein gebildet. Die Reaktionsgleichung für die Cystein-Bildung stützt sich auf:

1.) Beim Inkubieren des gereinigten Enzyms mit Pyridoxalphosphat und überschüssigem H<sub>2</sub>S entsteht unterhalb des Sättigungsbereichs die dem zugesetzten L-Serin stöchiometrisch entsprechende Menge Cystein. Bei Zugabe von DL-Serin beteiligt sich nur die L-Komponente am Umsatz.

2.) In Abwesenheit von H<sub>2</sub>S läßt sich das zugesetzte Serin am Versuchsende quantitativ wiederfinden.

3.) Mit H<sub>2</sub><sup>35</sup>S entsteht radioaktives Cystein. Dessen Oxydation mit Perameisensäure führt zu radioaktiver Cysteinsäure, die papierchromatographisch und durch Hochspannungselektrophorese einwandfrei identifiziert wurde. Weitere Versuche werden zeigen, ob aus L-Serin, wie zu vermuten ist, nur L-Cystein entsteht.

Glykokoll und Alanin können am gereinigten Enzym Serin nicht ersetzen; auch mit Threonin wurde keine Sulfhydryl-Verbindung gebildet. Weder mit Thiosulfat noch mit Sulfit an Stelle des H<sub>2</sub>S entsteht Cystein. Die Assimilation des anorganischen Schwefels erfolgt also erst auf der Stufe des H<sub>2</sub>S.

Obwohl das neue Enzym, das, ohne einer späteren systematischen Nomenklatur vorzugeben, als Serinsulfhydrase zu bezeichnen ist, bisher nur in Bäckerhefe nachgewiesen wurde, darf man vermuten, daß die Umsetzung von H<sub>2</sub>S mit Serin auch bei anderen, zur Sulfat-Verwertung befähigten Mikroorganismen anzutreffen ist.

Der Mechanismus des Austauschs der β-Hydroxyl-Gruppe des Serins gegen die Sulfhydryl-Gruppe unter der katalytischen Wirkung von Pyridoxalphosphat fügt sich zwangsläufig den Anschauungen über die Pyridoxalkatalyse ein<sup>2)</sup>. Somit ist die Biosynthese des Cysteins den Biosynthesen des Tryptophans aus Serin und Indol oder des Cystathionins aus Serin und Homocystein an die Seite zu stellen.

K. Schloßmann dankt Prof. Brüggemann für die ihm gewährte wohlwollende Unterstützung. — Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, danken wir für die Gewährung von Beihilfen.

Ein eingegangen am 11. Februar 1957 [Z 438]

\*) Dissert. Univers. München 1957.

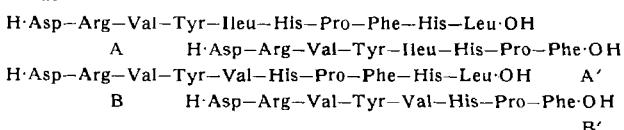
1) Wir danken der Fa. Hoffmann-La Roche AG. für die Überlassung von Pyridoxalphosphat.

2) D. E. Metzler, M. Ikawa u. E. E. Snell, J. Amer. chem. Soc. 76, 648 [1954].

## Synthese von Hypertensin-II-peptiden

Von Dr. W. RITTEL, Dr. B. ISELIN, Dr. H. KAPPELER, Dr. B. RINIKER und P.-D. Dr. R. SCHWYZER<sup>1)</sup>  
Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel

Aus Rinder- und Pferdeserum wurden drei Peptide mit Hypertensin-(Angiotonin)-Wirkung an der Ratte isoliert<sup>2)</sup>. Zwei sind Dekapeptide und unterscheiden sich artspezifisch in Bezug auf die fünfte Aminosäure; wir möchten sie als Ileu<sup>5</sup>-hypertensin I<sup>3)</sup> (Formel A, Pferd) und als Val<sup>5</sup>-hypertensin I (Formel B, Rind) bezeichnen. Das dritte, ein Oktapeptid (Ileu<sup>5</sup>-hypertensin II; A') wurde aus Pferdeserum isoliert und entsteht aus dem entspr. Dekapeptid A unter dem Einfluß des Hypertensin-Umwandlungsenzymes; es scheint der eigentliche gefäßverengende Wirkstoff zu sein<sup>4)</sup>. Das entspr. Val<sup>5</sup>-hypertensin II (B'), welches beim Rinde der eigentliche Wirkstoff sein dürfte, ist bisher noch nicht isoliert worden.



Nachdem wir aktives Val<sup>5</sup>-hypertensin I hergestellt hatten<sup>5)</sup>, haben wir nun die Asp-β-amide der beiden Oktapeptide A' und B' synthetisiert. Beide besitzen in der Versuchsanordnung von Pearl<sup>6)</sup> die zwei- bis vierfache Wirkung des Noradrenalin, was den besten durch Isolierung gewonnenen Präparaten entspricht<sup>7)</sup>.

Aus Derivaten der Dipeptide Val-Tyr, Val-His und Pro-Phe wurde das Hexapeptid-Derivat H-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OCH<sub>3</sub> aufgebaut, welches mit Cbo-Asparaginyl-nitro-arginin zu Cbo-Asp(NH<sub>2</sub>)-Nitro-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OCH<sub>3</sub> kondensiert wurde (Fp 214–216 °C (Zers.); [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -27 ± 4 ° in Dimethylformamid; G = 4,17 im System n-BuOH 0,1 proz. Essigsäure 1:1; C<sub>58</sub>H<sub>77</sub>O<sub>15</sub>N<sub>15</sub> (1224,37). Ber. C 56,90, H 6,34, N 17,16%; Gef. 56,59, 6,56 und 17,15%). Durch katalytische Hydrierung entstand das Trihydrochlorid des Oktapeptid-esters H-Asp(NH<sub>2</sub>)-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-OCH<sub>3</sub>. Alkalische Verseifung ergab das freie Val<sup>5</sup>-hypertensin-II-Asp-β-amid, farbloses, papierchromatographisch einheitliches Pulver.

Cbo-Asp(NH<sub>2</sub>)-Nitro-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-OCH<sub>3</sub> (Fp 205 °C (Zers.); [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -29 ± 4 ° in Dimethylformamid; G = 0,71 im System CH<sub>3</sub>OH–H<sub>2</sub>O–HCCl<sub>3</sub>–CCl<sub>4</sub> 9:3:8:4; C<sub>59</sub>H<sub>79</sub>O<sub>15</sub>N<sub>15</sub> (1238,40). Ber. O 19,38, (O)CH<sub>3</sub> 2,50%, Gef. 19,59 und 2,56%). Ileu<sup>5</sup>-hypertensin-II-Asp-β-amid wurde in gleicher Weise wie für die Val<sup>5</sup>-Verbindung beschrieben als farbloses, papierchromatographisch einheitliches Pulver erhalten.

Ein eingegangen am 14. Februar 1957 [Z 437]

1) Privatdozent an der Universität Zürich.

2) D. F. Elliott u. W. S. Pearl, Nature [London] 177, 527 [1956]; L. T. Skeggs, K. E. Lenz, J. R. Kahn, N. P. Shumway u. K. R. Woods, J. exper. Med. 104, 193 [1956].

3) Die römische Ziffer I kennzeichnet die Hypertensin-dekapeptide, II die Oktapeptide.

4) L. T. Skeggs, J. R. Kahn u. N. P. Shumway, J. exper. Med. 103, 295 [1956].

5) Chimia 10, 265 [1956].

6) W. S. Pearl, Biochemic. J. 59, 300 [1955].

7) Für die pharmakologische Testung danken wir Dr. Gross und Dr. Turrian von unserer biologischen Abteilung.

## Versammlungsberichte

### GDCh-Ortsverband Mainz-Wiesbaden am 29. November 1956

G. SIEBERT, Mainz: Über Reinigung und Eigenschaften der TPN-gebundenen Isocitronensäure-Dehydrogenase.

Die ca. 80fache Reinigung der Triphosphopyridinucleotid-Iso-citronensäure-Dehydrogenase wird beschrieben; Ultrazentrifugierung ergibt einen Homogenitätsgrad von 95%, Elektrophoresevereuche sind wegen der Instabilität des Enzyms in verdünnten Salzlösungen schwer deutbar (Mol.-Gew. ca. 60000, Wechselzahl bei 25 °C mit Isocitrat = 4300). Die Reaktionen α-Isocitrat → α-Ketoglutarat + CO<sub>2</sub>, Oxalsuccinat → α-Ketoglutarat + CO<sub>2</sub> und Oxalsuccinat → Isocitrat werden katalysiert. Die Reaktionen sind metallabhängig, indem Mn<sup>2+</sup> stärker und in geringeren Konzentrationen als Mg<sup>2+</sup> aktiviert. Die Empfindlichkeit des Enzyms und die Instabilität von Oxalsuccinat erschweren ein eingehendes Studium der beiden letztgenannten Reaktionen. — Der Quotient der Aktivitäten von Isocitronensäure-Dehydrogenase und Oxalber-

steinsäure-Decarboxylase bleibt über alle Reinigungsstufen konstant. Beide Aktivitäten werden durch p-Chlor-quecksilber(II)-benzoat gehemmt (50% Aktivität bei 2·10<sup>-8</sup> M, gleich Mol-Verhältnis von Protein:Inhibitor wie 1:10). Diese Befunde weisen ebenso wie Hemmversuche mit α-Isocitrat bei der Oxalsuccinat-Decarboxylierung und mit Oxalsuccinat bei der Isocitrat-Dehydrogenierung auf ein einziges Protein mit doppelter enzymatischer Aktivität und auf Identität der Bindungsstellen für die beiden Substrate hin. — Freies Oxalsuccinat ist während der Isocitratdehydrogenierung nicht abfangbar. Wenn die Reaktionen <sup>14</sup>C-α-Isocitrat → α-Ketoglutarat + <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> und α-Ketoglutarat + <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> → <sup>14</sup>C-Isocitrat in Gegenwart eines Oxalsuccinat-Pools ablaufen, findet sich keine Isotopenverdünnung zwischen Isocitrat und CO<sub>2</sub>, jedoch nur eine ganz geringfügige Markierung des Oxalsuccinat-Pools. Freies Oxalsuccinat ist daher kein Zwischenprodukt der Reaktion. Die Diskussion berührt Fragen zweiköpfiger Enzyme und enzymgebundener Zwischenprodukte sowie das Ausmaß der Analogie zu Ochoas malic enzyme. [VB 872]