

Bedeutung der freien Nucleotide

Unter diesem Thema fand am 29. und 30. April 1960 das 11. Mosbacher Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie statt. Aus den Vorträgen:

H. SCHMITZ, Marburg: *Die freien Nucleotide in den Geweben und ihre Bedeutung.*

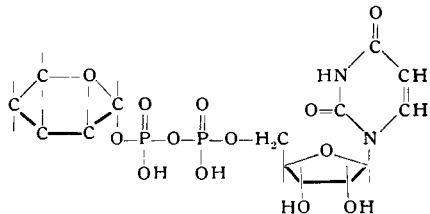
Freie Nucleotide besitzen zwei verschiedene Funktionen; sie sind Bausteine höhermolekularer Verbindungen und dienen zur Gruppen-Übertragung, wodurch sie im Zellstoffwechsel die Bedeutung von Koordinatoren erhalten. Adenin-nucleotide sind u. a. an der Aktivierung bzw. Übertragung von Methylgruppen, Aminosäuren und Schwefelsäure beteiligt.

Mit Hilfe der Ionenaustausch-Chromatographie wurde der Nucleotid-Gehalt verschiedener Säugetiergewebe, Tumoren und Hefen untersucht. Die Gewebe lassen sich danach in Energie- und Stoffwechseltypen einteilen. Beim Energietyp (quergestreifter Muskel, Herzmuskel, Flugmuskel der Heuschrecke und Erythrocyten) machen die Adenin- und Pyridin-nucleotide (DPN, TPN, AMP, ADP, ATP) etwa 90 % des gesamten Nucleotid-Gehaltes aus. Daneben kommen kleinere Mengen GTP und UTP sowie in Spuren CTP vor. Die Nucleotid-Ausrüstung des Stoffwechseltyps ist wesentlich vielgestaltiger. Gewebe dieser Art enthalten neben den Nucleotiden des Energietyps vor allem eine Reihe „belasteter“ Transport-Metabolite wie CDP-Cholin, UDP-Acetylglucosamin, UDP-Glucose, UDP-Galaktose, UDP-Glucuronsäure sowie verschiedene ADP-Derivate. Die Ausstattung der Gewebe mit freien Nucleotiden richtet sich also nach ihren Funktionen.

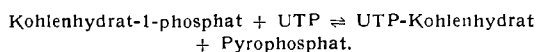
Außerdem wurde über die Isolierung und teilweise Identifizierung von fünf neuen Nucleotiden aus Bäckerhefe berichtet, die spektroskopisch keinem der bisher bekannten Nucleotide entsprechen.

G. T. MILLS, New York: *Uridin-diphosphate und ihre Funktion im Stoffwechsel.*

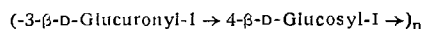
Uridin-diphosphat (UDP) spielt als Coenzym im Kohlenhydrat-Stoffwechsel eine wichtige Rolle. Bekannt ist u. a. seine Beteiligung an der Umwandlung von Glucose in Galaktose durch Epimerisierung an C-4, bei der Oxydation von Glucose zu Glucuronsäure und bei der Epimerisierung von Glucuronsäure zu Galakturonsäure. In allen Fällen vollzieht sich die Umwandlung an einem UDP-Derivat der Struktur



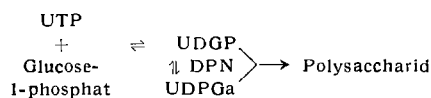
Diese Derivate bilden sich nach der Reaktion



Offenbar besitzen die UDP-Kohlenhydrate den Charakter aktivierter Verbindungen, denn sie können den Zucker-Anteil unter Disaccharid-Bildung auf andere Monosaccharide übertragen und beteiligen sich an der Biosynthese von Polysacchariden (Chitin, Cellulose, Glykogen, Hyaluronsäure). Ein neues Beispiel dafür ist die Synthese der Kapsel-Polysaccharide von Pneumococcen. Die Kapsel von Pneumococcus Typ III besteht aus Glucose und Glucuronsäure:

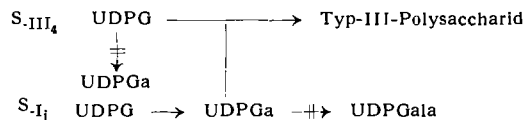


Zerstört man die Kapseln einer Typ-III-Kultur mit einem spezifischen Enzym und inkubiert die entkapselten Zellen mit UDP-Glucose (UDPG) und UDP-Glucuronsäure (UDPGa), die radioaktiv (^{14}C) markiert sind, so entsteht ein Polysaccharid, das von Typ-III-Antiserum gefällt wird und die gesamte Radioaktivität enthält. ^{14}C -Glucose- und ^{14}C -Glucuronsäure-phosphat werden nicht in das Polysaccharid eingebaut, nur die UDP-Derivate sind also für die Synthese wirksam:



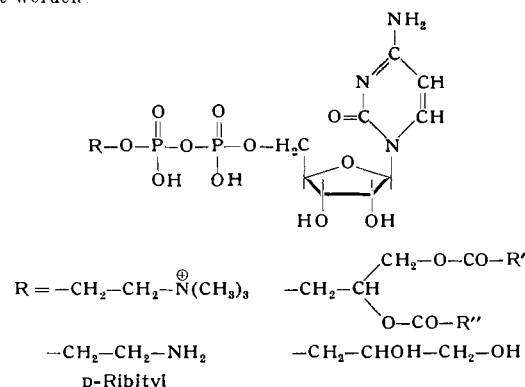
Das polysaccharid-synthetisierende Enzymsystem ist noch unbekannt. Entsprechend dem Synthese-Schema enthalten kapselbildende Typ-III-Zellen sowohl UDPGa als auch die zur Umwandlung $\text{UDPG} \rightleftharpoons \text{UDPGa}$ notwendige Dehydrogenase. Typ-III-Mu-

tanten, denen die Fähigkeit zur Kapselbildung verlorengegangen ist, vermögen zwar noch UDPG zu synthetisieren, sie besitzen aber höchstens Spuren von UDPGa und keine Dehydrogenase. Ebenso fehlt kapsellosen Typ-I-Mutanten entweder die UDPG-Dehydrogenase oder die zur Umwandlung von UDPGa in UDP-Galakturonsäure (UDPGa) notwendige Epimerase. (Die Kapsel von Pneumococcus Typ I besteht zu 60 % aus Galakturonsäure). Daß die Unfähigkeit zur Kapselsynthese tatsächlich auf dem Fehlen dieser Enzyme beruht, zeigte folgender Versuch: Eine kapsellose Typ-III-Kultur (S_{III}) wurde mit Desoxy-ribonucleinsäure (DNS) aus kapsellosen Typ-I-Zellen (S_{II}), die keine UDPGa-Epimerase besitzen, transformiert. Dabei bilden sich Zellen mit einer Typ-III-Kapsel, d. h. die DNS von S_{II} vermittelt den transformierten Zellen wieder die Möglichkeit zur UDPGa-Synthese:



E. P. KENNEDY, Chicago, z. Zt. Oxford: *Cytidindiphosphat-Derivate und ihre Funktion im Stoffwechsel.*

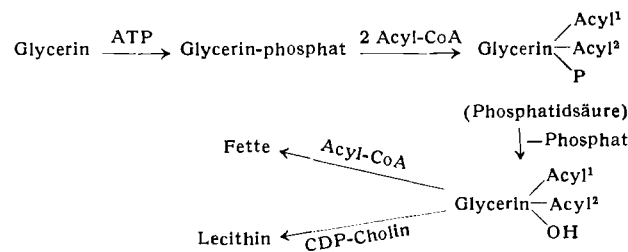
Bisher sind fünf Cytidin-diphosphat (CDP)-Coenzyme aus biologischem Material isoliert und auch auf chemischem Wege dargestellt worden:



Sie bilden sich durch Cytidyl-Übertragung nach dem Schema $\text{CTP} + \text{R-O-P} \rightleftharpoons \text{CDP-R} + \text{Pyrophosphat}$ (P = Phosphorsäure) und können unter Spaltung der Pyrophosphat-Bindung den R-Phosphat-Rest auf einen zweiten Alkohol übertragen, so daß Phosphorsäure-diester entstehen:



Auf dieser Reaktion beruht die Bedeutung der CDP-Derivate für die Synthese von Phospholipiden (Lecithin, Sphingomyelin). So läßt sich für die Biosynthese des Lecithins folgendes Schema aufstellen:



M. KLINGENBERG, Marburg: *Pyridinnucleotide und biologische Oxydation.*

Pyridinnucleotide überführen Wasserstoff zwischen den relativ unbeweglichen Dehydrogenasen und Flavoproteinen. Zwei Faktoren ordnen diesen Wasserstoffaustausch: 1. Die Trennung der Pyridinnucleotide in die DPN- und TPN-Gruppe, 2. die Impermeabilität der Zell- und Mitochondrien-Membranen für die Pyridinnucleotide. Unter diesem Gesichtspunkt wird der Status der Pyridinnucleotide in der Leber, dem Herz, der Skelettmuskulatur und dem Hirn der Ratte sowie im Flugmuskel der Wanderheuschrecke untersucht. Der DPN-Gehalt variiert zwischen diesen Organen nur um den Faktor 2, der TPN-Gehalt jedoch um den Faktor 30. Die Aufteilung des DPN- und TPN-Gehaltes auf den

extra- und intramitochondrialen Raum gelang mit Hilfe des Cytochrom-c-Gehaltes, welcher der Konzentration der Mitochondrien proportional ist. Der mitochondriale DPN-Anteil beträgt entsprechend der großen Schwankung des Mitochondrien-Gehalts der Organe 10–65 %. TPN ist in allen Organen zu 70 % mitochondrial. Diese Pyridinnucleotid-Verteilung steht in enger Beziehung zur Konzentration extra- und intra-mitochondrialer DPN- und TPN-spezifischer Dehydrogenasen.

Es wird versucht, den Redox-Status der Pyridinnucleotide in beiden intrazellulären Räumen zu erfassen. Die enge Parallelität zwischen DPNH-Gehalt und mitochondrialem Anteil am Gesamt-DPN-Gehalt der Ratten-Organe deutet darauf hin, daß DPNH vor allem den Mitochondrien zuzuordnen ist. Demnach ist der extramitochondriale Anteil des DPN nur zu wenigen Prozent, der mitochondriale Anteil jedoch überwiegend reduziert. Der größte Teil des extramitochondrialen DPNH ist wahrscheinlich an Dehydrogenasen gebunden, so daß im extramitochondrialen Raum ein Verhältnis freies DPN:freies DPNH = 1000 resultiert. Eine weitgehende Reduktion des TPN ist für den extra- und intra-mitochondrialen Anteil wahrscheinlich. Dieses stimmt mit dem relativ negativen Mittel-Potential der mit dem TPN gekoppelten Substrat-Systeme überein. Der reduzierte Status des TPN begünstigt seine Rolle bei biosynthetischen Reaktionen. Hauptquelle des TPN-Wasserstoffes dürfte die Isocitrat-Oxydation sein.

In Lebermitochondrien ist TPN stets stärker reduziert als DPN. Dieser Unterschied hängt mit der Beziehung der Pyridinnucleotide zur oxydativen Phosphorylierung zusammen, da Entkopplung den Redoxstatus des DPN dem des TPN angleicht. Eine weitgehende Reduktion des mitochondrialen DPN läßt sich nur mit flavinspezifischen Substraten wie Succinat, Glycerin-1-phosphat und Fettsäuren, dagegen nicht mit DPN-spezifischen Substraten erreichen. Diese Wasserstoff-Übertragung erfordert die Zuführung von Energie, welche aus der oxydativen Phosphorylierung bereitgestellt werden kann. Es gelang, die Reduktion des mitochondrialen DPN mit flavin-spezifischen Substraten durch ATP auszulösen, und damit erstmals eine vollständige Umkehrung der oxydativen Phosphorylierung zu demonstrieren. Es wird die Zufuhr von Energie bereits auf der Flavoprotein-Stufe angenommen. Ein Redox-Gleichgewicht stellt sich darauf zwischen dem Flavoprotein und DPN-System ein. Es ist anzunehmen, daß so die oxydative Phosphorylierung die weitgehende Reduktion des mitochondrialen DPN- und damit auch des TPN-Systems in vivo aufrecht erhält.

H. BEINERT, Madison: *Die Flavoproteide*.

Freies Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) existiert in Lösung in zwei Formen, die miteinander im Gleichgewicht stehen. Von diesen ist eine cyclisch gebaut, indem sich der Adenin- über den Isoalloxazin-Rest legt. Diese Form fluoresziert nicht und macht sich außerdem durch eine Verschiebung des UV-Spektrums bemerkbar, die etwa der Verschiebung gleicht, die bei der Bindung von FAD an Protein auftritt.

Bei der Reduktion von Flavoproteiden bildet sich eine Zwischenstufe, die bei etwa 580 m μ absorbiert. Ihr wird die Struktur eines Semichinons zugeschrieben, denn reduziert man Flavinmononucleotid (FMN) mit Zn/HCl, friert die Reduktion nach verschiedenen Zeiten ein und mißt das elektronen-paramagnetische Resonanzspektrum (EPR), so geht dieses gleichfalls durch ein Maximum. Allerdings gibt es Flavin-Enzyme, bei deren Reduktion

die Maxima der optischen Dichte bei 580 m μ und des EPR-Spektrums zeitlich nicht zusammenfallen.

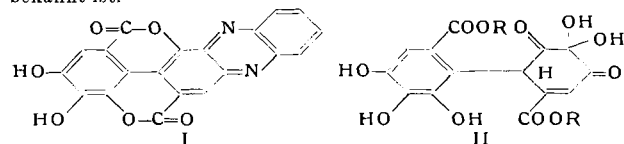
Am Beispiel einer Acyl-CoA-Dehydrogenase mit besonders geringer Wechselzahl ließ sich zeigen, daß die bei 580 m μ absorbierende Zwischenstufe auftritt, sobald das Substrat zugesetzt wird. Gleiches gilt für Flavin-Enzyme mit höheren Wechselzahlen. Dies bedeutet jedoch nicht, daß die Zwischenstufe sogleich im ersten Reaktionsschritt entstehen muß. Es wäre denkbar, daß sie sich erst sekundär durch eine Oxydoreduktion zwischen bereits voll reduzierten und noch nicht umgesetzten Flavin-Gruppen bildet. Auf jeden Fall dürfte der Semichinon-Struktur eine Bedeutung bei der Rückoxydation reduzierter Flavoproteide durch die Cytochrome zukommen, die in jedem Reaktionsschritt nur ein Elektron übernehmen können. Flavoproteide sind also geeignete Übersetzer von Zwei-Elektronen- zu Ein-Elektronen-Prozessen. EPR-spektroskopisch ließ sich zeigen, daß bei der DPN-Cytochrom-Reduktase aus Rinderherz zunächst das Eisen reduziert wird, ehe die Semichinon-Bande auftritt. Trotzdem scheinen Metalle bei der Reduktion und Oxydation von Flavin-Enzymen keine notwendige Rolle zu spielen, denn auch metallfreie Flavin-Enzyme bilden die semichinon-artige Zwischenstufe. [VB 316]

GDCh-Ortsverband Darmstadt

am 3. Mai 1960

O. TH. SCHMIDT, Heidelberg: *Neuere Ergebnisse aus der Konstitutionserforschung der pflanzlichen Gerbstoffe¹⁾*.

Aus den getrockneten Früchtschoten der südamerikanischen Akazienart *Caesalpinia brevifolia*, die als „Algarobilla“ im Handel sind, wurden zwei kristallisierte Gerbstoffe, „Brevilagin I“ und „Brevilagin II“, isoliert. Beide Verbindungen sind gelb und enthalten Glucose, jeweils mit zwei C₁₄-Bausteinen verknüpft. Einer dieser Bausteine, im Brevilagin II enthalten, erwies sich als 1-Hexahydroxy-diphenylsäure. Der andere Baustein, im Brevilagin I zweimal und im Brevilagin II einmal vorkommend, ist ein o-chinon-artiges Dehydrierungsprodukt der Hexahydroxy-diphenylsäure, das als Phenazin-Derivat (I) isoliert und charakterisiert wurde. Dem Baustein selbst, der über beide Carboxyl-Gruppen mit der Glucose (R) verknüpft ist, muß die Formel II zukommen, wobei der Ort der Hydratisierung einer Carbonyl-Gruppe nicht bekannt ist.



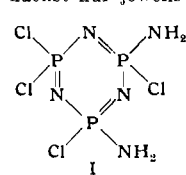
Die gleiche Dehydro-hexahydroxy-diphenylsäure (II) ist auch in einem bisher unbekannten, kristallisierten, gelben Gerbstoff aus Myrobalanen, neben Gallussäure ebenfalls „beidarmig“ an Glucose gebunden, enthalten.

Die Auffindung dieses Dehydrierungsproduktes der Hexahydroxy-diphenylsäure ist von Bedeutung für Überlegungen über die Entstehung der Chebulsäure und der Brevifolin-carbonsäure in der Pflanze. Die Frage der möglichen genetischen Zusammenhänge wurde diskutiert. [VB 317]

¹⁾ Vorgetragen am 22. April 1960 beim Symposium der „Plant phenolic group“ in Egham, England.

Rundschau

Substitutionsregeln für die nucleophile Substitution des quasi-aromatischen Triphosphornitrilchlorids fanden Margot Becke-Goehring, K. John und E. Fluck. Starke Basen substituieren zunächst nur jeweils ein Cl-Atom an verschiedenen P-Atomen des



Moleküls. Somit kommt z. B. dem Diamino-tetrachlor-triphosphor-nitril Formel I zu. Maßgeblich ist die Elektronendichte an den einzelnen P-Atomen nach vorangegangener Primärsubstitution des Rings. Der Beweis gelang durch Darstellung isomerer di-tetra-substituierter Triphosphornitrile und tri-substituierter Triphosphornitril-chloride sowie durch Auswertung der Kernresonanz-Spektren substituierter Triphosphornitril-Verbindungen. (Z. anorg. allg. Chem. 302, 103 [1959]). — Ko. (Rd 170)

Ein neues Silicium-borid, SiB₄, identifizierten C. F. Cline und D. E. Sands. Bei der Untersuchung des Systems SiB₆—Si wurde eine neue, in Rhomben und hexagonalen Platten auftretende Phase

beobachtet. Die Kristalle erscheinen unter reflektiertem Licht rötlichbraun und haben die Dichte 2,44 g/cm³. Die röntgenographische Untersuchung ergab ein rhomboedrisches Gitter mit a = 5,52 Å und $\alpha = 69,1^\circ$, während die entspr. hexagonalen Zellkonstanten A = 6,35 Å und C = 12,69 Å sind. Die rhomboedrische Elementarzelle enthält 3 Moleküle SiB₄. Die Raumgruppen sind wahrscheinlich R₃₂, R₃ m und R₃ m. Die berechnete Dichte ist 2,41 g/cm³. SiB₄ hat mit B₄C und verschiedenen Formen von elementarem Bor gewisse strukturelle Eigenschaften gemeinsam. (Nature [London] 185, 456 [1960]). — Ma. (Rd 132)

Di-vanadium-dodecacarbonyl, das erste reine Metallocarbonyl der Gruppe IVB oder VB, erhielten R. L. Pruett und J. E. Wyman. V₂(CO)₁₂ ist eines der bei Reaktion von Di-toluol-vanadium mit CO gebildeten Produkte. Es ist eine dunkelblaue Substanz, die sich in Toluol gelb bis orange löst und bei Raumtemperatur sublimiert. Kernmagnetische und elektronparamagnetische Resonanzmessungen ergaben Diamagnetismus der festen Verbindung und ihrer benzolischen Lösung. Die Verbindung ist pyrophor; ihre Lösun-