

Natur und Geometrie der Oberfläche von Glutamat-Dehydrogenase

H. F. Fischer und E. B. Ford, Detroit, Mich. (USA)

Stellt man vom Molekülmodell der L-Glutaminsäure einen Gipsabdruck her, so läßt sich damit – sofern die richtige Oberfläche des Molekülmodells zum Abdruck gewählt wurde – abschätzen, ob eine Verbindung Substrat der Glutamat-Dehydrogenase sein wird oder nicht: Verbindungen, deren Modelle in den Gipsabdruck vom Molekülmodell des Glutamates passen, sind Substrate, wogegen Verbindungen, deren Modelle nicht passen, weder Substrate noch kompetitive Inhibitoren sind. Mit Hilfe des Gipsabdrucks ließ sich voraussagen, daß ein Substituent am β -C-Atom einer L- α -Aminosäure die Geschwindigkeit der vom Enzym katalysierten Reaktion nur wenig beeinflussen sollte, was vom Experiment bestätigt wurde. Dagegen bewirkt sterische Hinderung am γ -C-Atom, daß die betreffende Verbindung kein Substrat sein kann.

Metallbindende Gruppen der Carboxypeptidase A und ihr Einfluß auf die Aktivität

J. E. Coleman, B. L. Vallee und P. Bent, Boston, Mass. (USA)

Ein Zinkmercaptid ist Teil des aktiven Zentrums der Carboxypeptidase A. Potentiometrische Titrationen zeigen, daß das Zn^{2+} außerdem an ein N-Atom gebunden ist. Bei der Vereinigung von Apoenzym und Zn^{2+} werden zwei Protonen frei. Der pK-Wert des ersten ist 7,7, der des zweiten > 9. Untersuchungen an Modellspezies zeigen, daß der erste pK-Wert für ein Proton am Stickstoff (α -Amino- oder vielleicht Imidazol-Proton) typisch ist, der zweite für eine SH-Gruppe. Bindung des Metalls an N und S ergibt sich weiterhin, wenn man die Stabilität verschiedener enzymatisch wirksamer Metallcarboxypeptidasen (Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+}) mit der Stabilität anderer S-N-Komplexe der gleichen Metalle vergleicht. Unter den Metallcarboxypeptidasen wirken die mit Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} und Zn^{2+} als Peptidasen und Esterasen, die mit Cd^{2+} , Hg^{2+} und Pb^{2+} nur als Esterasen.

Enzymatische Reduktion von Diphosphopyridinucleotid mit gasförmigem Wasserstoff

R. Repaske, Bethesda, Md. (USA)

Zellfreie Extrakte von autotroph gewachsenem *Hydrogenomonas eutropha* (Bovell) reduzieren Diphospho-pyridinucleotid (DPN) rasch in einer Wasserstoff-Atmosphäre. Die Reaktion läßt sich manometrisch oder spektrophotometrisch bei 340 m μ verfolgen. Sie erfordert die Anwesenheit von Flavinmononucleotid (FMN). Weder Flavinadenin-dinucleotid noch Riboflavin können FMN ersetzen. Maximale Aktivität ergab sich bei einer FMN-Konzentration von $3,3 \cdot 10^{-7}$ M. Das pH-Optimum liegt bei pH = 8. Man benötigt ein Reduktionsmittel (Mercaptoäthanol oder, weniger gut, Cystein bzw. Glutathion), um das Enzym zu aktivieren. Das Enzym konnte durch Fällung mit Protaminsulfat und Behandlung mit Calciumphosphatgel siebenfach angereichert werden. Es katalysiert die Reduktion von 12 μ mol DPN/min/mg Protein.

Nitrilase, ein Enzym, das Nitrile zu Carbonsäuren hydrolysiert.

K. V. Thimann und S. Mahadevan, Boston, Mass. (USA)

Indol-3-acetonitril, das bei einigen Pflanzenarten als Wuchsstoff wirkt, wird in den Pflanzen zu Indol-essigsäure hydrolysiert. Das dafür verantwortliche Enzym findet sich in den Blättern von Gerste (*Hordeum*), Hafer (*Avena*), *Brassica*-Ar-

ten (Weißkohl, Blumenkohl, Rosenkohl) und einiger Musaceen (z. B. Banane). In 17 weiteren höheren Pflanzen konnte es nicht nachgewiesen werden, doch tritt das Enzym in mehreren Fusarien auf. Es ist nicht für Indol-3-acetonitril spezifisch, sondern hydrolysiert 32 aromatische und vier aliphatische Nitrile. In der Benzonitril-Reihe ist der Logarithmus der relativen Hydrolysegeschwindigkeit der jeweiligen Hammettschen Konstante ungefähr proportional. Daraus folgt, daß es von der negativen Partialladung am N-Atom der CN-Gruppe abhängt, ob ein Nitril vom Enzym hydrolysiert wird oder nicht. Das als Zwischenstufe vermutete Amid wird nicht freigesetzt, denn Amide werden durch das Enzym nur sehr wenig hydrolysiert. Stärke-Elektrophorese zeigt, daß es sich nur um ein Enzym handelt. Dieses wird als Nitrilase bezeichnet.

Einfluß von Papaverin auf die Kreatinkinase im Herzmuskel und in der glatten Muskulatur

E. P. Chetverikova, Moskau

Papaverin wird in der Medizin als krampflösendes Mittel für die glatte Muskulatur verwendet. In Dosen, die eine Erweiterung der Coronargefäße verursachen, bewirkt Papaverin in Homogenaten von Kaninchenherzmuskel eine erhöhte Sauerstoff-Aufnahme, eine vermehrte Phosphorylierung und eine verstärkte Bildung von Kreatinphosphat. Unter anaeroben Bedingungen und in Gegenwart von Jodacetat wird unter dem Einfluß von Papaverin im Homogenat mehr Phosphat vom Adenosintriphosphat (ATP) auf Kreatin übertragen. Versuche mit Herzmuskelextrakten von Kaninchen, denen Papaverin injiziert worden war, zeigten, daß die vermehrte Bildung von Kreatinphosphat einer erhöhten Kreatinkinase-Aktivität zuzuschreiben ist. Die ATPase-Aktivität ist unverändert. Auch *in vitro* erhöht Papaverin die Aktivität der Kreatinkinase. Gleches gilt für die Aktivität der Kreatinkinase in der Rattenaorta.

Hemmung von Redoxenzymen durch Radikalfänger

N. M. Emanuel et al., Moskau

n-Propylgallat, Rutin und Gallussäure, die als Radikalfänger wirken, hemmen die Aktivität der D-Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, der Lactat-Dehydrogenase und der Alkohol-Dehydrogenase, sind aber ohne Einfluß auf Enzyme, wie Aldolase oder Enolase, deren Reaktionen nicht über radikalische Zwischenstufen verlaufen. Die Hemmung wächst mit der Konzentration des Radikalfängers, n-Propylgallat hemmt stärker als Rutin und dieses stärker als Gallussäure. Nicht nur isolierte Enzyme werden beeinflußt, sondern die genannten Verbindungen stören auch die Glykolyse in normalen Zellen und Krebsgewebe. Propylgallat in einer Konzentration von 50 μ M hemmt bei pH = 6,8 die Glykolyse in Ascites-Hepatomzellen zu 50 %, dagegen nur zu 7 % in Homogenaten gesunder Rattenleber. Ein Zusatz von Citrat wirkt synergistisch, d. h. verstärkt die Wirkung des Propylgallates. In Tumorzellen (Ehrlich Ascites, Acridin-Sarkom, leukämisches Gewebe, Brown-Pearce-Tumor) wird durch Propylgallat auch die Cytochromoxydase gehemmt. Die dazu benötigte Propylgallat-Konzentration genügt nicht, um die Cytochromoxydase in normaler Leber und Milz zu hemmen. 0,3 % Propylgallat unterdrückt den Einbau von 1,14C-Glycin in das Protein von Yoshida-Asciteszellen praktisch vollständig. Der Effekt ist reversibel: nach dem Auswaschen des Radikalfängers beginnt die Proteinsynthese wieder. Diese Ergebnisse lassen erwarten, daß Radikalfänger eine neue Krebstherapie ermöglichen. Butylhydroxyanisol (ein Gemisch aus 2- und 3-tert. Butyl-4-hydroxyanisol), Ionol (2,6-Di-tert. butyl-4-methylphenol), Propylgallat und 3,5-Di-tert. butyl-4-hydroxybenzylamin wirken bei Mäusen antileukämisch und reduzieren das Wachstum von Sarkom-180-Tumoren in Mäusen um 40-60 %.