

Reversibilität der Dissoziation in die Polypeptidketten bei Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber [1]

Von Dr. H. Sund

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg/Brsg.

Im assoziierten Zustand ist Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber ein langgestrecktes Teilchen mit einem Teilchengewicht von $2 \cdot 10^6$. Betrachtet man es als Rotationsellipsoid, dann sind dessen lange und kurze Achse etwa 930 Å und 70 Å lang [2]. Dieses Teilchen steht im reversiblen, spontan sich einstellenden Assoziations-Dissoziations-Gleichgewicht mit solchen vom Teilchengewicht $1 \cdot 10^6$, $0,5 \cdot 10^6$ und $0,25 \cdot 10^6$, die alle enzymatisch aktiv sind. Eine weitere Aufspaltung in die Polypeptidketten in Gegenwart von Harnstoff oder langketigen Alkylsulfaten sowie bei pH-Werten unterhalb 4 oder oberhalb 10 ist vom Verlust der nativen Kettenkonformation und der Enzymaktivität begleitet und verlief bisher irreversibel [2–7].

Wir konnten nun zeigen, daß auch diese Dissoziation reversibel ist. Inkubation von Glutaminsäuredehydrogenase in Gegenwart von Mercaptoäthanol bei pH = 2,0 bis 2,2 führt zur vollständigen Inaktivierung. Durch anschließende Dialyse gegen Mercaptoäthanol bei pH = 7,6 wird eine weitgehende Reaktivierung erreicht: Spezifische Aktivität [8] vor der Säuredenaturierung: 6200 min^{-1} , nach der Säuredenaturierung: 10 min^{-1} , nach der Dialyse bei pH = 7,6: 4500 min^{-1} . Dieses Ergebnis zeigt, daß auch im Falle der Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber die Information für die Kettenkonformation des nativen, katalytisch wirksamen Enzymproteins in der Aminosäuresequenz enthalten ist.

Eingegangen am 12. Oktober 1964 [Z 841]

[1] Vorgetragen am 29. April 1964 auf der Westdeutschen Chemiedozenten-Tagung in Freiburg/Brsg. [vgl. Angew. Chem. 76, 611 (1964)].

[2] H. Sund, Acta chem. scand. 17, S 102 (1963) und unveröffentlichte Ergebnisse.

[3] B. Jirgensons, J. Amer. chem. Soc. 83, 3161 (1961).

[4] H. F. Fisher, L. L. McGregor u. D. G. Cross, Biochim. biophysica Acta 65, 175 (1952).

[5] J. Wolff, J. biol. Chemistry 237, 230 (1962).

[6] C. Frieden, J. biol. Chemistry 237, 2396 (1962); 238, 146 (1963).

[7] H. Sund in: Mechanismen enzymatischer Reaktionen (14. Mosbacher Colloquium der Gesellschaft für Physiologische Chemie). Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964, S. 318.

[8] H. Sund u. Å. Åkeson, Biochem. Z. 340, 421 (1964).

Chinoide Diazoverbindungen

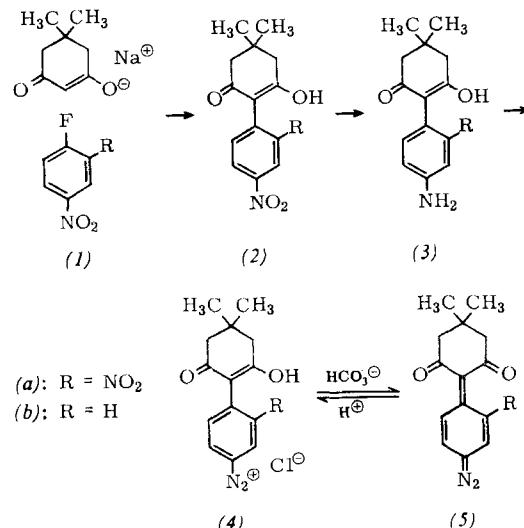
Von Doz. Dr. Th. Severin und Apotheker J. Dahlström

Institut für Pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie der Universität Marburg/Lahn

Kürzlich beschrieb Hartzler die Darstellung von 3-Diazo-6-dicyanomethylen-1,4-cyclohexadien aus p-Aminophenyl-malodinitril [1]. Dies veranlaßt uns, über eigene Synthesen von chinoiden Diazoverbindungen zu berichten. Wir erhielten (5a) und (5b) auf dem im Formelschema angegebenen Weg. 2-p-Nitrophenyl-dimedon (2b), Fp = 231 °C, entsteht in 55-proz. Ausbeute, wenn man p-Nitro-fluorbenzol (1b) mit dem Natrium-Salz des Dimedons in Dimethylformamid 4 Std. am Rückfluß kocht. 2-(2,4-Dinitrophenyl)-dimedon (2a)^[2] wird in siedendem Äthanol/konz. Ammoniak (50:1) durch 24-stündiges Einleiten von H₂S in 51-proz. Ausbeute zum Amin (3a), Fp = 202 °C, reduziert. Zur Darstellung von (3b), Fp = 218 °C, versetzt man (2b) in 2 N NaOH bei 90 °C bis zur Entfärbung mit Natriumdithionit (Ausb. 75 %). Durch Umsetzung des Hydrochlorids von (3a) oder (3b) mit Amylnitrit in Eisessig erhält man nach Zugabe von Äther das gelbe Diazonium-Salz (4a) (Ausb. 72 %), Diazo-Bande bei

2270 cm⁻¹) bzw. das hellgelbe Salz (4b) (Ausb. 67 %, Diazo-Bande bei 2260 cm⁻¹). (4a) reagiert mit hypophosphoriger Säure zu 2-(o-Nitrophenyl)-dimedon [3]. Dadurch ist bewiesen, daß die para-ständige Nitrogruppe in (2a) reduziert worden ist.

Gibt man zur wäßrigen Lösung von (4a) NaHCO₃, so fällt die chinoide Verbindung (5a) (Diazo-Bande bei 2220 cm⁻¹) als roter Niederschlag aus (Ausb. 63 %). Im Gegensatz zu der von Hartzler dargestellten Dicyanomethylen-Verbindung läßt sich (5a) umkristallisieren (aus Methanol durch Zusatz von Äther) und gibt auch nach 24 Std. bei der Elementaranalyse noch gute Werte. Beim Erhitzen zersetzt sich (5a) langsam, ohne vorher zu schmelzen. Wesentlich instabiler ist die ebenfalls mit Bicarbonat erhältliche Diazo-Verbindung (5b). Sie läßt sich aus Wasser mit Methylenechlorid oder Essigester ausschütteln, zersetzt sich aber innerhalb einiger Minuten, so



dass die Isolierung in fester Form nicht gelang. Leitet man in die frisch bereitete Methylenchlorid-Lösung Chlorwasserstoff ein, so erhält man wieder (4b). Auch kuppelt (5b) mit β-Naphthol zum Azofarbstoff.

Eingegangen am 12. Oktober 1964 [Z 842]

[1] H. D. Hartzler, J. Amer. chem. Soc. 86, 2174 (1964).

[2] H. G. Garg, J. Indian chem. Soc. 38, 343 (1961).

[3] F. M. Beringer, P. S. Forgione u. M. D. Yudis, Tetrahedron 8, 49 (1960).

Azaflavazol-Derivate, neue Heterocyclen

Von Prof. Dr. G. Henseke und Dipl.-Chem. D. Lehmann

Institut für Organische Chemie
der Bergakademie Freiberg/Sa.

Auf drei Wegen erhielten wir Azaflavazole.

2,3-Diamino-5-brompyridin kondensiert mit 1-Phenyl-3-methyl-4,5-dioxopyrazolin in schwach essigsaurer Lösung zum Anil (1), Fp = 218–220 °C (Zers.), rotbraune Kristalle aus Eisessig/Wasser. Bei kurzem Erhitzen in 1 N NaOH bildet sich daraus 6-Brom-3-methyl-1-phenyl-4-azaflavazol (2a) [1], gelbe Stäbchen, Fp = 223–224 °C (aus Äthanol), Ausbeute: 80 %.

