

Isolierung aus dem Nährmedium entfällt. Die Bakterien können mehrmals verwendet werden. Erst ab der dritten Inkubation tritt eine geringe Ausbeute-Minderung ein.

Bei der Einwirkung von *P. shermanii* auf δ-Aminolaevisäure wird nicht nur Porphobilinogen an das Medium abgegeben. Wir prüfen, ob die weiteren Verbindungen [3] Zwischenprodukte der Porphyrinbildung oder der Biosynthese des Corrin-Ringes sind.

Arbeitsvorschrift:

Man läßt einen kobaltsfreien Ansatz (4 Liter) von *P. shermanii* unter bereits beschriebenen Bedingungen [4] drei Tage wachsen. Die durch Zentrifugieren gewonnene Bakterienfeuchtmasse (ca. 100 g) wird mit Tris(hydroxymethyl)aminomethan/HCl-Puffer (pH = 8,2) [5] gewaschen und in 1500 ml des Puffers suspendiert. Nach Zusetzen einer Lösung von 820 mg δ-Aminolaevisäure-hydrochlorid in 100 ml Wasser, deren pH-Wert mit NaOH auf 7 eingestellt worden war, inkubiert man 1 Std. bei 70 °C unter Röhren und Durchleiten von Stickstoff. Die durch Zentrifugieren von den Bakterien befreite Lösung wird mit verdünnter Salzsäure auf pH = 7,2 eingestellt und auf eine Säule (10 cm Länge, 4,5 cm Durchmesser) aus DEAE-Cellulose (DEAE-Sephadex A-25) gegeben, deren Chlorid-Form mit Tris(hydroxymethyl)aminomethan/HCl-Puffer (pH = 7,2) so lange gewaschen worden war, bis das Eluat pH = 7,2 hatte. Man eluiert mit Puffer, bis kein Porphobilinogen mehr von der Säule kommt, engt im Vakuum auf ca. 1800 ml ein, stellt mit verdünnter Salzsäure auf pH = 4 ein und fällt mit 20-proz. Quecksilber(II)-acetat-Lösung. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, mit 1-proz. Quecksilber(II)-acetat-Lösung gewaschen und in ca. 3 ml Wasser suspendiert. Zur Zersetzung der Quecksilverbverbindung leitet man H₂S in die Suspension ein. Man zentrifugiert ab, leitet zur Vertreibung von H₂S Stickstoff durch die Lösung und stellt mit verdünntem Ammoniak auf pH = 4 ein, wobei sich Porphobilinogen als Rohprodukt abscheidet [6]. Nach 12 Stunden im Kühlschrank wird abzentrifugiert. Im Zentrifugenbecher fügt man die zur Auflösung des Porphobilinogen eben erforderliche Menge 0,5 N Ammoniak hinzu, zentrifugiert vom nicht Gelösten ab, stellt zur Fällung des Porphobilinogen mit Eisessig vorsichtig auf pH = 4 ein und läßt über Nacht im Kühlschrank stehen. Die Kristalle werden abgesaugt, mit eiskalter verdünnter Essigsäure (pH = 4) und gleich anschließend mit wenig kaltem Aceton gewaschen. Man trocknet im Vakuumexsiccator über P₂O₅. Ausbeute: 73 mg Porphobilinogen (12 %).

Eingegangen am 1. August 1967 [Z 588]

[*] Dipl.-Chem. G. Bezold, Dr. G. Müller und Dr. O. Müller Isotopenlaboratorium der Abteilung für Chemie, Geologie und Biologie der Universität
7 Stuttgart, Azenbergstraße 14–16

[1] Literaturzusammenstellung: J. E. Falk: Porphyrins and Metalloporphyrins. Elsevier, Amsterdam 1964.

[2] W. Walerych, Acta Biochim. Polon. 10, 243 (1963).

[3] Die Identifizierung der Substanzen befindet sich ebenfalls in Arbeit.

[4] K. Bernhauer, E. Becher u. G. Wilharm, Arch. Biochem. 83, 248 (1959).

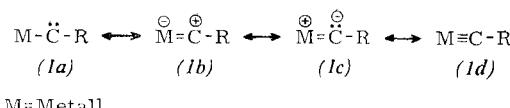
[5] Biochemisches Taschenbuch. 2. Auflage, Springer-Verlag, Heidelberg 1964, 2. Teil, S. 99.

[6] G. H. Cookson u. C. Rimington, Biochem. J. 57, 476 (1954).

Triphenylstannylyl- und Trimethylsilyl-äthoxycarbonyl-carben aus Triphenylstannylyl- bzw. Trimethylsilyl-diazoessigsäureäthylester

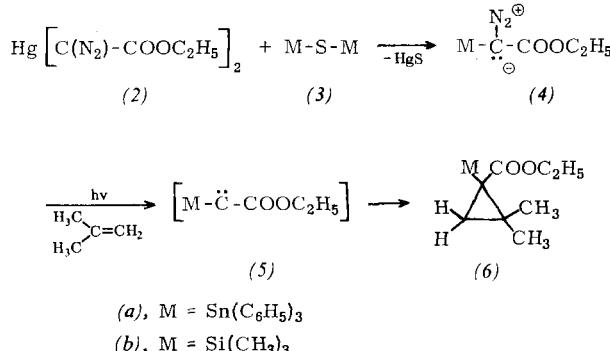
Von U. Schöllkopf und N. Rieber [*]

Für metallsubstituierte Carbene sind ungewöhnliche Eigenschaften zu erwarten, weil das Metallatom mit seinen leeren und/oder gefüllten Elektronenbahnen mit den gefüllten und/oder leeren Orbitalen des Carbenkohlenstoffs in Wechselwirkung treten kann [mesomere Grenzstrukturen (1a) bis (1d)].



Als erste metallsubstituierte Carbene konnten wir Triphenylstannylyl- und Trimethylsilyl-äthoxycarbonyl-carben (5) darstellen, indem wir Triphenylstannylyl- bzw. Trimethylsilyldiazoessigsäureäthylester (4) [$\nu(\text{N}_2) = 2080 \text{ cm}^{-1}$ für (4a), 2090 cm^{-1} für (4b), $\nu(\text{CO}) = 1670 \text{ cm}^{-1}$ für (4a), 1685 cm^{-1} für (4b)] in Isobuten bis zur Entfärbung der Lösung photolysierten [1]. Dabei entstanden mit 35 bzw. 49 % Ausbeute 1-Triphenylstannylyl- bzw. 1-Trimethylsilyl-1-äthoxycarbonyl-2,2-dimethylcyclopropan (6) [$\nu(\text{CO}) = 1710 \text{ cm}^{-1}$ für (6a), 1715 cm^{-1} für (6b); NMR: AB-Spektrum der Cyclopropylprotonen; $\tau = 8,7$ (CCl₄), J_{AB} = 4,5 Hz für (6a), $\tau = 9,0$ (C₆D₆), J_{AB} = 4 Hz für (6b)]. Die Addukte (6) wurden durch Chromatographie über Kieselgel (eluiert mit Petroläther/Äther = 5:1) isoliert.

Die Ausgangsstoffe (4a) und (4b) gewannen wir mit 95 bzw. 75 % Ausbeute durch 5- bzw. 3-stündiges Erhitzen von Quecksilber-bis-diazoessigsäure-äthylester (2) [2] in Benzol (80 °C) mit etwas mehr als einem Äquivalent Bis-triphenylstannylyl- bzw. Bis-trimethylsilyl-sulfid (3a) bzw. (3b). Zur Isolierung wurde filtriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer (30 °C/12 Torr) vom Benzol befreit.



Eingegangen am 1. August 1967 [Z 589]

[*] Prof. Dr. U. Schöllkopf und Dr. N. Rieber
Organisch-Chemisches Institut der Universität
34 Göttingen, Windausweg 2

[1] Bedingungen: -7 °C, Hanovia Hg-Hochdrucklampe 450 Watt, Pyrexfilter: bei (4a) 0,0025 M, 3 Std.; bei (4b) 0,003 M, 8 Std.

[2] Vgl. F. Gerhart, U. Schöllkopf u. H. Schumacher, Angew. Chem. 79, 50 (1967); Angew. Chem. internat. Edit. 6, 74 (1967).

Thermophile und mesophile Aminopeptidasen aus *Bacillus stearothermophilus* [1]

Von H. Zuber und G. Roncaro [*]

Aus mehreren Stämmen von *Bacillus stearothermophilus* [2] konnten wir drei Aminopeptidasen isolieren, die sich in Molekulargewicht, Thermostabilität und Substratspezifität unterscheiden. Aminopeptidase I (AP I) ist thermostabil und wird daher als thermophiles Enzym bezeichnet. Die Aminopeptidasen II und III (AP II und AP III) sind mesophile Enzyme und thermostabil. Alle drei Enzyme sind Metallenzyme. In der nativen Form dürften sie als Co²⁺- oder Mn²⁺-Enzyme vorliegen, da Co²⁺ und Mn²⁺ nach Inaktivierung der Enzyme mit EDTA am besten reaktivieren (Co²⁺ = Mn²⁺ > Mg²⁺ > Ni²⁺ > Cd²⁺). Ca²⁺, Zn²⁺ und Fe²⁺ aktivieren nicht, sondern hemmen in Konzentrationen von 0,001 bis 0,05 M. Das pH-Optimum aller drei Enzyme liegt bei pH = 7,5 bis 9. Die Substratspezifität (Tabelle 2) ist zum Teil stark verschieden von der Spezifität der Leucinaminopeptidase (LAP) [3] aus Schweineintestinen.