

Protonentransfer zwischen dem Stickstoff und dem Sauerstoff in Position 3. Bei Pyridoxal-5'-phosphat und dessen Analoga tritt zusätzlich *intramolekularer* Protonentransfer auf, an dem drei Protonen-Donor-Acceptor-Gruppen beteiligt sind<sup>[4]</sup>. Um zu prüfen, ob auch das Pyridoxal-5'-phosphat in der Phosphorylase als „Protonenleitstelle“ in eine enzymatische Säure-Basen-Katalyse eingreift, wurden die drei protonierbaren Gruppen des Pyridoxal-5'-phosphats modifiziert. Außer dem 3-O-Methyl-derivat, das bereits *Pocker* und *Fischer*<sup>[5]</sup> synthetisiert und untersucht hatten, und dem *N*-Oxid, das *Fukui*<sup>[6]</sup> erhalten hatte, wurden der Pyridoxal-5'-phosphat-monomethylester und das 3-O-Methyl-pyridoxal-5'-phosphat-*N*-oxid erstmals synthetisiert und untersucht. Diese Analoga werden mit ausreichender Affinität stöchiometrisch an das Apoenzym gebunden. Die Phosphorylasen mit diesen Analoga haben die gleiche Quartärstruktur wie die nativen aktiven Enzyme, jedoch sind mit Ausnahme der 3-O-Methyl-pyridoxal-5'-phosphat-Phosphorylase alle hier besprochenen Phosphorylasen mit Analoga inaktiv. Die 20-proz. Aktivität der Pyridoxal-5'-phosphat-*N*-oxid-Phosphorylase beruht auf der Reduktion des *N*-Oxids zum Pyridoxal-5'-phosphat durch einen Cysteinrest der Apophosphorylase<sup>[7]</sup>.

Um zu entscheiden, ob 1. der Ringstickstoff oder die Phosphatgruppe oder beide als Protonen-Donor-Acceptor-Gruppen an der Katalyse beteiligt sind, oder ob 2. diese Gruppen eine für die Katalyse nötige Konformation des aktiven Zentrums induzieren oder 3. beide Funktionen erfüllen, wurde die pH-abhängige Fluoreszenzquantenausbeute der an das Enzym kovalent gebundenen, durch  $\text{NaBH}_4$  reduzierten Pyridoxamin-Verbindungen (1) und (2) sowie der Analoga – einem Vorschlag von *Cortijo* und *Shaltiel*<sup>[8]</sup> folgend – gemessen<sup>[9]</sup>. Mit dieser Methode und durch kinetische Messungen des Tritium-Wasserstoff-Austausches<sup>[10]</sup> wurde nach einem analogon-tragenden Enzym gesucht, das die gleiche oder zumindest eine sehr ähnliche Konformation des aktiven Zentrums wie die Pyridoxal-5'-phosphat-Phosphorylase besitzt. Die inaktive Phosphorylase mit dem Pyridoxal-5'-phosphat-monomethylester ist aufgrund dieser Kriterien dem aktiven Enzym am ähnlichsten. Es fehlt jedoch noch der Beweis der Konformationshomologie durch Hybridisierung der aktiven und der genannten inaktiven Phosphorylase. Ist auch dieser Beweis erbracht, so darf man schließen, daß die Phosphorylase mit der Estergruppe inaktiv ist, weil die Phosphatgruppe ( $\text{pK} = 6.2$ ), die für die chemische Reaktion – eine Säure-Basen-Katalyse – benötigt wird, blockiert ist. Versuche, diese Annahme zu beweisen oder zu widerlegen, sind im Gange.

[GDCh-Ortsverband Gießen, am 9. Februar 1971] [VB 295]

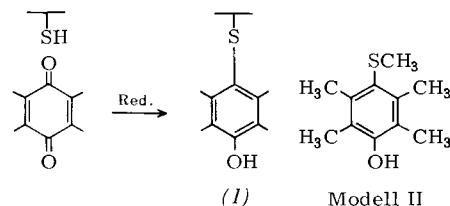
- [1] *T. Baranowski, B. Illingworth, D. H. Brown u. C. F. Cori*, Biochim. Biophys. Acta 25, 16 (1957).  
 [2] *E. H. Fischer, A. Pocker u. I. C. Saari*, Essays in Biochem. 6, 23 (1970).  
 [3] *E. H. Fischer, A. B. Kent, E. R. Snyder u. E. G. Krebs*, J. Amer. Chem. Soc. 80, 2906 (1958).  
 [4] *M. L. Ahrens, G. Maas, P. Schuster u. H. Winkler*, FEBS-Lett 5, 327 (1969).  
 [5] *A. Pocker u. E. H. Fischer*, Biochemistry 8, 5181 (1969).  
 [6] *S. Fukui, N. Ohishi, Y. Nakai u. S. Shimizu*, Arch. Biochem. Biophys. 130, 584 (1969).  
 [7] *Th. Pfeuffer, J. Ehrlich u. E. Helmreich*, unveröffentlicht.  
 [8] *M. Cortijo u. S. Shaltiel*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 39, 212 (1970).  
 [9] *K. Feldmann, H. Winkler u. E. Helmreich*, unveröffentlicht.  
 [10] *D. Palm u. D. Weisshaar*, unveröffentlicht.

## Modellreaktionen zur oxidativen Phosphorylierung. Schwefelverbindungen als Überträger der Phosphorylgruppe

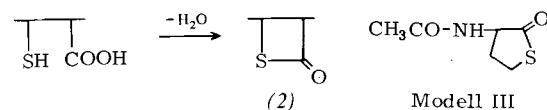
Von *Edmund Bäuerlein* (Vortr.) und *Theodor Wieland*<sup>[\*]</sup>

Im Arbeitskreis *Th. Wielands*<sup>[1]</sup> wurde schon früh den Mercaptogruppen bei der Übertragung der Phosphorylgruppe durch Oxidation in lipophiler Phase besondere Bedeutung beigemessen. Als Modell für ein schwefelhaltiges Coenzymphosphat<sup>[2]</sup>, das CoA-Phosphat, wurde n-Butylthiophosphat ( $\text{C}_4\text{H}_9-\text{S}-\text{PO}_3^{\ominus}$ , Modell I) synthetisiert und untersucht.

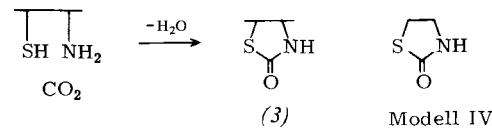
Eine Reaktion zwischen einem Partner der Elektronen-transportkette und den Mercaptogruppen der Proteine kann zum S-Alkylmonothiohydrochinon (1)<sup>[3]</sup> führen.



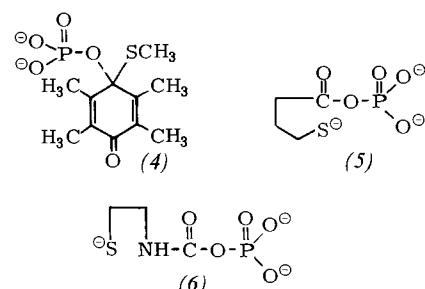
Funktionelle Gruppen am Protein, zum Beispiel Carboxy- und Mercaptogruppen, können miteinander zu cyclischen Thioestern vom Typ (2) reagieren<sup>[4]</sup>.



Mercapto- und Aminogruppen am Protein können sich mit  $\text{CO}_2$  zum cyclischen Carbaminsäurethioester vom Typ (3) umsetzen<sup>[5]</sup>.



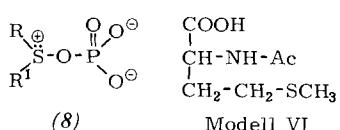
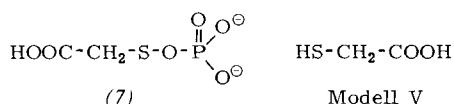
Oxidiert man die Modellverbindungen II, III und IV mit Brom in wasserfreiem Pyridin in Gegenwart von ADP und Phosphat, so erhält man über die nicht faßbaren, energiereichen, phosphorylierten Verbindungen wie Chinolophosphate (4), Acylphosphate (5) bzw. Carbamylphosphate (6) in hohen Ausbeuten ATP (27–38%).



Im gleichen System wurde ein neuer Reaktionstyp gefunden: die direkte Oxidation einer Mercaptoverbindung,

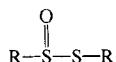
[\*] Dr. E. Bäuerlein und Prof. Dr. Th. Wieland  
 Max-Planck-Institut für medizinische Forschung,  
 Abteilung Chemie  
 69 Heidelberg, Jahnstraße 29

der Thioglykolsäure<sup>[6]</sup> (Modell V, 34% ATP). Als energiereiche phosphorylierte Verbindung wird dabei das gemischte Anhydrid (7) zwischen Sulfensäure und Phosphorsäure angenommen. Von *Lambeth* und *Lardy*<sup>[7]</sup> wurde im gleichen System ein Thioäther, *N*-Acetylmethionin (Modell VI) verwendet (36% ATP). Vermutlich ist (8) die energiereiche phosphorylierte Zwischenstufe.



Als Modell für die Cytochrome konnte Hämin<sup>[8]</sup> erfolgreich als Oxidationsmittel der Thioglykolsäure eingesetzt werden (15% ATP), die unter weiteren geprüften Mercaptoverbindungen am besten die ATP-Bildung vermittelte<sup>[9]</sup>. Thiole sind bessere Mediatoren<sup>[\*]</sup> als  $\text{H}_2\text{S}$  oder Thioäther.

Unsere Untersuchungen in lipophilem Milieu zeigten, daß die ATP-Ausbeute bei der Oxidation von Thioglykolsäure mit Hämin in Gegenwart ihres Disulfids, der Dithioglykolsäure, erheblich ansteigt<sup>[9]</sup> (22% ATP). Überraschenderweise führte auch die Oxidation des Disulfids allein (in Gegenwart von ADP und Phosphat) zu einer ATP-Synthese (13.7%). Als erstes Produkt dieser oxidativen Phosphorylierung muß das Thiosulfinat, das „Disulfidmonoxid“



angenommen werden.

Vergleichsversuche unter Sauerstoff- oder Stickstoffatmosphäre zeigten bei allen untersuchten Häminansätzen eine eindeutige Sauerstoffabhängigkeit der ATP-Bildung<sup>[10]</sup>. Demnach weisen unsere Ergebnisse eher auf die Cytochrome-c-Oxidase (mit ihrer wahrscheinlich quartären Struktur) als Ort der Redoxreaktion zwischen Mercaptogruppen und zwei Gruppen von Häminverbindungen (Cytochrome a und a<sub>3</sub>) verschiedenen Redoxpotentials als auf das monomere Cytochrome c hin.

[Vortrag im Max-Planck-Institut für Ernährungsphysiologie, am 25. Januar 1971 in Dortmund] [VB 297]

[\*] Unter Mediatoren versteht man Reaktionsvermittler.

- [1] *Th. Wieland u. E. Bäuerlein*, Naturwissenschaften 54, 80 (1967).
- [2] *Th. Wieland u. R. Lambert*, Chem. Ber. 89, 2476 (1956).
- [3] *Th. Wieland u. E. Bäuerlein*, Monatsh. Chem. 98, 1381 (1967).
- [4] *Th. Wieland u. E. Bäuerlein*, Chem. Ber. 100, 3869 (1967).
- [5] *Th. Wieland u. H. Aquila*, Chem. Ber. 101, 3031 (1968).
- [6] *Th. Wieland u. E. Bäuerlein*, Angew. Chem. 80, 915 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. 7, 893 (1968).
- [7] *D. O. Lambeth u. H. A. Lardy*, Biochemistry 8, 3395 (1969).
- [8] *E. Bäuerlein u. Th. Wieland*, Chem. Ber. 103, 648 (1970).
- [9] *E. Bäuerlein u. Th. Wieland*, Proceedings of the Colloquium on Bioenergetics, Bari, Sept. 1970: "Energy transduction in respiration and photosynthesis".
- [10] *E. Bäuerlein, Th. Wieland u. M. Klingenfuss*, noch unveröffentlicht.

## Reaktionen an koordinativ ungesättigten Oberflächenverbindungen

Von H. L. Krauss<sup>[\*]</sup>

Ausgehend vom Phänomen der Bildung von Oberflächenverbindungen bei der Absättigung „reiner“ Oberflächen und dem speziellen Beispiel der Absättigung von  $\text{SiO}_2$  mit den Bestandteilen des Wassers (Silicagel  $\equiv$  Polykieselsäure) wurde die Reaktion dieser Polykieselsäure mit anderen Säuren zu gemischten Säureanhydriden am Beispiel der Chromsäure näher untersucht. In günstigen Fällen werden unter Bildung von Bichromat-Brücken etwa 85% der  $\text{SiOH}$ -Gruppen verbraucht. Je nach Oberfläche und nach Anzahl der verfügbaren OH-Gruppen ist diese Anhydrid-Bildung, d. h. die Bildung der Oberflächenverbindungen, nach oben hin begrenzt; in günstigen Fällen kommt man zu Verbindungen mit einem Chromgehalt von etwa 6.5%.

Das Chromsäure-Polykieselsäure-Anhydrid ist bis zu ca. 1000°C stabil, gegenüber Reduktion jedoch empfindlich; z. B. läßt es sich durch  $\text{H}_2$ , CO oder Kohlenwasserstoffdämpfe quantitativ zu Cr(II)-Verbindungen reduzieren. CO ist hierbei optimal wirksam, da kein  $\text{H}_2\text{O}$  als Reaktionsprodukt auftritt. Die entstandene Cr(II)-Oberflächenverbindung ist koordinativ ungesättigt und ähnlich reaktionsfähig und energiereich wie eine „nackte“ Oberfläche. Sie ist daher bestrebt, entweder durch Reoxidation oder durch zusätzliche Koordination in einen energetisch günstigeren Zustand zu gelangen.

Die Reoxidation – sie tritt ein mit  $\text{O}_2$ , Halogenen, NO usw. – führt zu Cr(VI)-Verbindungen zurück, wobei im Falle der Reoxidation mit Sauerstoff eine auffallende orangefarbene Chemilumineszenz (616 nm) auftritt. Die Verbindung ist ein außerordentlich guter Sauerstoff-Fänger; der Sauerstoff-Gleichgewichtsdruck beträgt  $10^{-27}$  Atmosphären. (Analog reagiert  $\text{Cl}_2$  über eine Chrom(IV)-Verbindung, aus der schließlich Chromylchlorid abgespalten wird.) Entsprechende Reaktionen werden bei fast allen Übergangsmetallen beobachtet.

Als „nackte Oberflächen“ versuchen die reduzierten Oberflächenverbindungen auch durch Adsorption zusätzlicher Koordinationspartner ihre Energie zu erniedrigen. Die Cr(II)-Verbindung reagiert z. B. mit  $\text{N}_2$ , CO,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{HCl}$ , Aromaten-Dämpfen, Olefinen usw. unter Komplexbildung. Diese Addukte wurden mit optischen und gravimetrischen Methoden genauer untersucht.

Olefine reagieren über die Komplexbildung hinaus unter Polymerisation, Acetylene unter Bildung der 1,3,5-substituierten Phenyldeivate.

Für die Polyreaktionen wird das Vorhandensein von drei freien Koordinationsstellen am Metall postuliert. Die Äthylenpolymerisation könnte sich dann im Sinne eines  $\sigma/\pi$ -Wechselmechanismus abspielen; an die primäre  $\pi$ -Komplex-Bildung mit zwei Olefinen würde sich ein Disproportionierungsschritt (Äthyl- oder H—Cr- $\sigma$ -Bindung) anschließen. In diese Arbeitshypothese fügen sich alle experimentellen Daten zwangsläufig ein, so z. B. die Bildung von ataktischem Polypropylen, das Auftreten von  $\alpha$ -Methylketonen bei Verwendung von Äthylen als Reduktionsmittel etc.

[GDCh-Ortsverband Berlin, am 4. Februar 1971] [VB 296]

[\*] Prof. Dr. H. L. Krauss

Institut für Anorganische Chemie der Freien Universität  
1 Berlin 33, Fabeckstraße 34–36