

weisen, dass ihre Biosynthese formell durch Cinnamyllierung von Phenolen oder den entsprechenden Polyketiden vor sich geht. Diese Annahme hat dazu geführt, dass man nach Fällen gesucht hat, in denen Neoflavanole und C-Cinnamylphenole gleichzeitig auftreten; Beispiele dafür können jetzt angegeben werden.

Die Neoflavanole wurden bisher aus *Dalbergia* und *Machaerium*-Arten isoliert und umfassen Dalbergichinole, Dalbergione und Dalbergine. Es ist wahr-

scheinlich, dass diese Verbindungen in der Natur durch Biooxydation ineinander übergehen und dies erklärt ihr gemeinsames Vorkommen mit strukturell verwandten Benzophenonen. Man kann erwarten, dass auch Neoflavene als Naturstoffe gefunden werden.

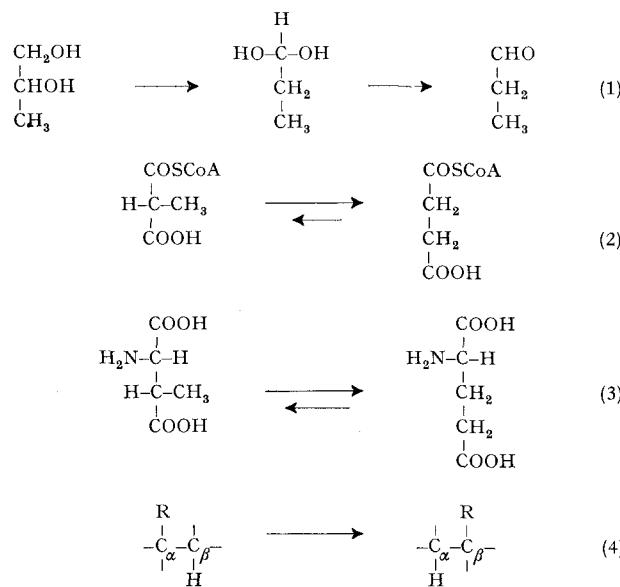
Die Dalbergione stellen ein interessantes Beispiel dar für das gleichzeitige natürliche Vorkommen von strukturell verwandten Naturstoffen entgegengesetzter Konfiguration und dies war der Grund dafür, dass man ein Dalbergion-Paar zuerst als Quasirazemat isolierte.

SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos, está el autor.

Coenzym B₁₂ als gemeinsamer Wasserstoffüberträger der Dioldehydrase- und der Methylmalonyl-CoA-Mutase-Reaktion

Vor kurzem konnte nachgewiesen werden, dass bei der durch Propandioldehydrase katalysierten Umwandlung von (R)- und (S)-Propan-1,2-diol zu Propionaldehyd (Gl. 1) neben der Wanderung eines Wasserstoffatoms von C-1 und C-2 auch eine Wanderung der sekundären OH-Gruppe von C-2 nach C-1 stattfindet, wobei Propan-1,1-diol als Zwischenstufe auftritt¹. Daraus ergibt sich eine formale Analogie zwischen der Propandioldehydrase-Reaktion und zwei weiteren durch Coenzym B₁₂ katalysierten Umlagerungen, der Methylmalonyl-CoA-Mutase (Gl. 2) und der Methylasparaginsäure-Mutase-Reaktion (Gl. 3)^{2,3}. Die drei Reaktionen lassen sich durch das allgemeine Schema (Gl. 4) darstellen.



Nachfolgend wird über Versuche berichtet, welche weitere mechanistische Ähnlichkeiten zwischen zwei dieser Reaktionen aufzudecken.

Der hohe Wert ($k_H/k_D \sim 10$) des für die Propandioldehydrase-Reaktion auftretenden Isotopeneffektes⁴ liess a priori als wenig wahrscheinlich erscheinen, dass die Wanderung des Wasserstoffatoms intramolekular erfolgt⁵. Tatsächlich konnten vor kurzem ABELES et al.⁶ zeigen, dass diese Wanderung einen intermolekularen Prozess darstellt und darüber hinaus, dass die wandernen Wasserstoffatome intermediär an das C-5' des Coenzymes gebunden werden⁷. Die intermolekulare Natur des Vorganges konnten wir auf folgendem Wege bestätigen.

Umsetzung eines Gemisches von an C-1 dideuteriertem und von isotopenfreiem (RS)-Propan-1,2-diol mit der Propandioldehydrase aus *Aerobacter aerogenes* in Gegenwart von Coenzym B₁₂, gefolgt von *in situ*-Reduktion des entstandenen Propionaldehyds mit Hefe-Alkohol-Dehydrogenase und NADH lieferte Proben von Propan-1-ol, deren Isotopenzusammensetzung in Funktion der Reaktionszeit nach Bildung der Phenylurethane massenspektrometrisch⁸ untersucht wurde. Die erhaltenen Resultate (vgl. Tabelle) zeigen, dass das Produkt erhebliche Mengen monodeuterierter Moleküle enthält, obwohl der Gesamt-

¹ J. RÉTEY, A. UMANI-RONCHI, J. SEIBL und D. ARIGONI, *Experientia* 22, 502 (1966).

² H. EGGERER, P. OVERATH, F. LYNEN und E. R. STADTMAN, *J. Am. chem. Soc.* 82, 2643 (1960).

³ A. MUNCH-PETERSEN und H. A. BARKER, *J. biol. Chem.* 230, 649 (1958).

⁴ R. H. ABELES und H. A. LEE, *Brookhaven Symp. Biol.* 15, 310 (1962).

⁵ Für allgemeine Diskussion vgl. F. H. WESTHEIMER, *Chem. Rev.* 61, 265 (1961).

⁶ R. H. ABELES und B. ZAGALAK, *J. biol. Chem.* 241, 1245 (1966).

⁷ P. A. FREY und R. H. ABELES, *J. biol. Chem.* 241, 2732 (1966).

⁸ Die Aufnahme und Auswertung der Massenspektren verdanken wir Herrn Dr. J. SEIBL.

gehalt an Deuterium am Ende der Reaktion unverändert geblieben ist. Dieses Ergebnis ist nur durch die Annahme einer intermolekularen Wasserstoffwanderung zu deuten. Bei statistischer Übertragung der wandernden Atome würde der theoretisch zu erwartende Wert für das Verhältnis d_1/d_2 9 betragen. Das beobachtete zeitabhängige Absinken dieses Wertes ist eine Folge des hohen Isotopeneffektes, der eine fortschreitende und verhältnismässig rasche Anreicherung der dideuterierten Moleküle im verbleibenden Edukt verursacht.

In Anbetracht der obenerwähnten Analogie zwischen den Reaktionen 1-3 schien es angebracht zu überprüfen, ob ähnliche Verhältnisse auch für die Methylmalonyl-CoA-Mutase-Reaktion gültig sind. Zu diesem Zweck wurde (*RS*)-1-³H-Propan-1,2-diol mit dem Coenzym B₁₂ in Gegenwart der Propandioldehydrase aus *Aerobacter aerogenes* umgesetzt. Das aus dem Reaktionsgemisch zurückgesetzte Coenzym wies nach Reinigung durch Elektrophorese und Papierchromatographie⁷ eine konstante spezifische Radioaktivität von $4,3 \cdot 10^5$ Imp/min pro μM auf⁸. Inkubation dieses tritiierten Coenzymes ($8 \cdot 10^{-3} \mu M$ entsprechend $3,45 \cdot 10^3$ Imp/min) mit 20 μM Succinyl-CoA und 40 Einheiten Methylmalonyl-CoA-Mutase aus *Propionibacterium shermanii*¹¹ und anschlies-

sende alkalische Hydrolyse des Reaktionsgemisches lieferte nach Zugabe von 80 μM Bernsteinsäure als Trägersubstanz eine Probe von radioaktiver Bernsteinsäure mit der konstanten spezifischen Radioaktivität von 11,1 Imp/min/ μM . Dies entspricht einer Übertragung von 32% der ursprünglich am Coenzym gebundenen Tritiumatome. Ein ähnlicher Versuch, in welchem 3 μM Methylmalonyl-CoA anstelle von Succinyl-CoA verwendet wurden, zeigte eine Tritiumübertragung von 16% auf die gebildete Bernsteinsäure. Daraus folgt, dass die Wanderung des Wasserstoffatoms bei der Methylmalonyl-CoA-Succinyl-CoA-Mutase-Reaktion ebenso wie bei der Propandioldehydrase-Reaktion intermolekular erfolgt, und dass in beiden Fällen die gleiche Stelle des Coenzymes die wandernden Wasserstoffatome zu binden vermag.

Summary. Tritiated α -(dimethylbenzimidazolyl)-Co-5'-deoxyadenosyl-cobamide, as obtained in the propanediol dehydrase reaction from (*RS*)-1-³H-propane-1,2-diol, is shown to transfer substantial amounts of radioactivity to the substrate when used as a catalyst for the reversible enzymatic conversion of methylmalonyl-CoA to succinyl-CoA. Thus, both reactions involve an intermolecular transfer of hydrogen which is mediated by the same site of the coenzyme.

J. RÉTEY und D. ARIGONI

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.
Technischen Hochschule, Zürich (Schweiz),
30. September 1966.

Reak- tions- zeit (min)	Umsatz (%)	Isotopenzusammensetzung (%) ^a		
		<i>d</i> ₁	<i>d</i> ₂	<i>d</i> ₁ / <i>d</i> ₂
Edukt	0	0	0	10
Produkt	8	~ 50	5,7	1,3
	14	~ 75	7,1	1,7
	26	~ 95	10	5
	35	~ 100	9,3	5,0
				1,86

^a Genaugigkeit $\pm 0,3$.

⁹ Die Tritiumanalysen wurden nach der Methode von WILZBACH et al.¹⁰ im Isotopenlaboratorium unseres Institutes (Leitung PD. Dr. P. JORDAN) ausgeführt.

¹⁰ K. E. WILZBACH, L. KAPLAN und W. G. BROWN, *Science* 118, 522 (1953).

¹¹ R. W. KELLERMAYER, S. H. G. ALLEN, R. STJERNHOLM und H. G. WOOD, *J. biol. Chem.* 239, 2562 (1964).

Strukturspezifischer Abbau von Polypeptid-Metall-Komplexen. V. Abbau des Cu²⁺-Polymyxin-B-Komplexes durch NH₂OH

ZILLIG et al.¹ haben – mit dem speziellen Ziel neue Methoden für die Sequenzanalyse zu entwickeln – die Reaktionen von Hydroxylamin und Hydrazin mit Ribonukleinsäure untersucht. Kürzlich haben sie diese Arbeiten auf das mit NH₂OH und H₂N-NH₂ isoelektronische H₂O₂ ausgedehnt und dabei gefunden, dass wohl gewisse Nucleotidbasen spezifisch abgebaut werden, dass jedoch diese Spezifität weniger ausgeprägt ist als bei Hydroxylamin.

Da wir nun mit ähnlichem Ziel den Abbau von Polypeptid-Metall-Komplexen mittels H₂O₂ untersuchten und dabei im Falle der Cu²⁺- bzw. Ni²⁺-Komplexe⁴ von Polymyxin B und von Angiotensin⁵ fanden, dass ein vom Metallion gesteuerter Abbau – also keine statistische «Zerstörung» – stattfindet (vgl. auch⁶), lag es nahe, unsere Untersuchungen auf Hydroxylamin als Reagens auszudehnen.

Wir fanden hierbei, dass der Cu²⁺-Komplex des Dekapeptids Polymyxin B⁷ tatsächlich durch NH₂OH in dünnenschichtchromatographisch gut differenzierbare Spaltprodukte abgebaut wird (vgl. Figur).

¹ D. W. VERWOERD, H. KOHLHAGE und W. ZILLIG, *Nature* 192, 1038 (1961); D. W. VERWOERD, W. ZILLIG und H. KOHLHAGE, *Hoople-Seyler's Z. physiol. Chem.* 332, 184 (1963); D. W. VERWOERD und W. ZILLIG, *Biochim. biophys. Acta* 68, 484 (1963).

² H. PRIESS und W. ZILLIG, *Hoople-Seyler's Z. physiol. Chem.* 342, 73 (1965).

³ H. ERLENMEYER, H. SIGEL, H. CH. CURTIUS und P. ANDERS, *Helv. chim. Acta* 49, 19 (1966).

⁴ H. CH. CURTIUS, P. ANDERS, R. ZELL, H. SIGEL und H. ERLENMEYER, *Helv. chim. Acta* 49, 260 (1966).

⁵ H. SIGEL und H. CH. CURTIUS, *Experientia* 22, 649 (1966).

⁶ H. SIGEL und H. ERLENMEYER, *Helv. chim. Acta* 49, 1266 (1966).

⁷ Das verwendete Polymyxin B war ein Gemisch aus B₁ (Fettsäure: (+)-6-Methyloctansäure) und B₂ (Fettsäure: 6-Methylheptansäure). Zur Struktur und Synthese von Polymyxin B₁ vgl. K. VOGLER, R. O. STUDER, P. LANZ, W. LERGIER und E. BÖHNI, *Helv. chim. Acta* 48, 1161 (1965).