

WILHELM FRIEDRICH und KONRAD BERNHAUER

VITAMIN B₁₂-FAKTOR III

6. Mitteil.¹⁾: Spektrophotometrisches und elektrophoretisches Verhalten in schwach alkalischen wäßrigen Medien

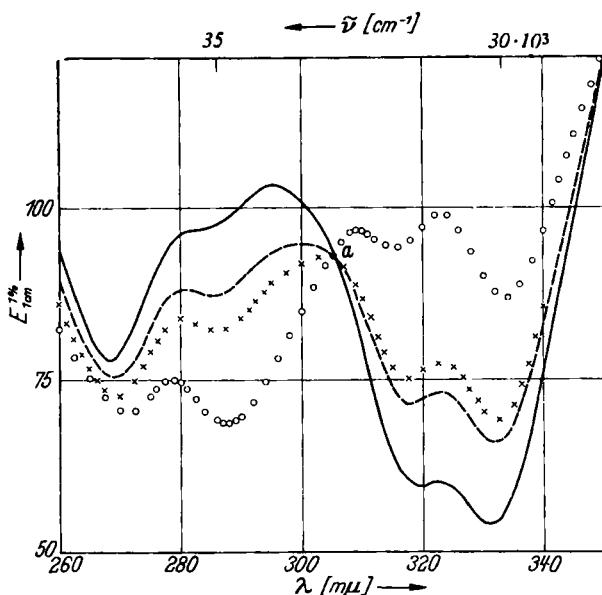
Aus dem Biochemischen Forschungslaboratorium
der Aschaffenburger Zellstoffwerke A. G., Stockstadt a. M.

(Eingegangen am 1. Dezember 1956²⁾)

Das phenolische Hydroxyl des Faktors III wird spektrophotometrisch und elektrophoretisch nachgewiesen. In schwach alkalischen Puffern lassen sich Faktor III und Vitamin B₁₂ elektrophoretisch voneinander trennen.

Die strukturchemischen Untersuchungen ergaben, daß Faktor III³⁾ als Basenanteil des Nucleotides 5-Hydroxy-benzimidazol enthält^{1,3-6)}. Es konnte erwartet werden, daß das phenolische Hydroxyl sich im nativen Faktor III auch spektrophotometrisch und elektrophoretisch nachweisen läßt. Hierüber wird nachfolgend berichtet.

Wie Abbild. 1 zeigt, findet in dem für den Benzimidazol-Anteil charakteristischen Spektralbereich des Absorptionsspektrums des Faktors III beim Übergang ins Alka-



Abbild. 1. Absorptionsspektrum des Faktors III (Monocyanoform) in 0.1 n Na₂CO₃-NaHCO₃-Puffer vom p_H 8.0 (—), p_H 9.6 (---), p_H 9.95 (× ×) und p_H 10.6–11.0 (○ ○).
a = Isosbestischer Punkt für das Gleichgewicht Phenol ⇌ Phenolat (p_K ca. 10.1).

lische eine Bandenverschiebung von $295\text{ m}\mu$ auf $310\text{ m}\mu$ statt. Eine ähnliche Bandenverschiebung (von $302.5\text{ m}\mu$ auf $312.5\text{ m}\mu$) ist noch deutlicher bei der Dicyanoform des Faktors III (Abbildung 2) zu sehen, da hier infolge des Fehlens der koordinativen Bin-

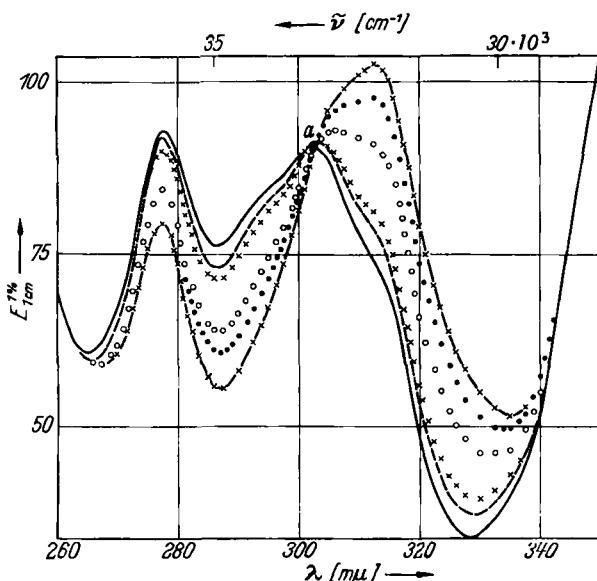


Abbildung 2. Absorptionsspektrum des Faktors III (Dicyanoform) in 0.1 n $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$ -Puffer, enthaltend 0.04% HCN, vom p_{H} 8.3 (—), p_{H} 9.5 (---), p_{H} 9.9 ($\times \times \times$), p_{H} 10.3 (○○○), p_{H} 10.6 (•••••) und p_{H} 11.0 (x-x-x).

a = Isosbestischer Punkt für das Gleichgewicht Phenol \rightleftharpoons Phenolat (p_K ca. 10.2)

dung zwischen dem Kobalt-Atom und N-3 der Benzimidazol-Komponente die letztere nicht deformiert ist und im Spektrum deutlicher erscheint. Diese Bandenverschiebung ist die Folge der Dissoziation des phenolischen Hydroxyls und entspricht der gleichen Erscheinung, die von uns am 5-Hydroxy-benzimidazol⁵⁾ und am Nucleotid des Faktors III⁶⁾ beobachtet wurde. Im Absorptionsspektrum der Faktoren III m und III e⁶⁾, in denen das phenolische Hydroxyl methyliert bzw. äthyliert ist, findet erwartungsgemäß keine derartige Bandenverschiebung statt.

1) 5. Mitteil.: W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 68, 439 [1956].

2) Das Manuscript war als versiegeltes Schreiben bei der Redaktion der Zeitschrift „Angewandte Chemie“ am 10. Sept. 1956 hinterlegt worden und wurde auf Grund einer Vereinbarung mit der Redaktion der „Chemischen Berichte“ dieser zur Veröffentlichung übergeben.

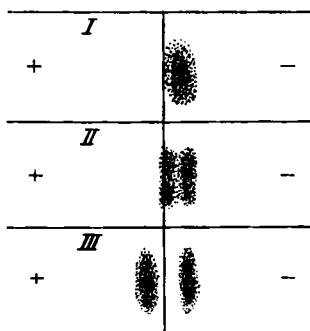
3) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 65, 627 [1953]; W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Angew. Chem. 67, 619 [1955].

4) F. M. ROBINSON, I. M. MILLER, J. F. MCPHERSON und K. FOLKERS, J. Amer. chem. Soc. 77, 5192 [1955].

5) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Z. Naturforsch. 11b, 68 [1956].

6) W. FRIEDRICH und K. BERNHAUER, Chem. Ber. 89, 2030 [1956].

Dem Vorhandensein eines freien phenolischen Hydroxyls im Faktor III entspricht auch sein elektrophoretisches Verhalten. Im p_H -Bereich ab etwa 9.8 lässt er sich von Vitamin B₁₂ trennen, wie papierelektrophoretische Versuche zeigten (Abbild. 3). Der



Abbild. 3. Papierelektrophorese eines Gemisches aus Faktor III und Vitamin B₁₂ bei 200 Volt während 4 Stdn. in 0.1 n Na₂CO₃-NaHCO₃-Puffer vom p_H 8.0 (I), p_H 9.8 (II) und p_H 10.6 (III). In II und III wandert Faktor III gegen die Anode. Papier: Schleicher & Schüll, Nr. 2045 b GI.

Unterschied in der elektrophoretischen Beweglichkeit von Vitamin B₁₂ und Faktor III im kritischen alkalischen p_H -Bereich war den schwedischen Autoren⁷⁾ bei ihrer vergleichenden Prüfung entgangen.

⁷⁾ H. NIHLEN und L. E. ERICSON, Acta chem. scand. 9, 351 [1955].