

nicht – wie ursprünglich angenommen – als Derivat des Phytols wiedergefunden. – Wird markiertes Dicumarol Versuchstieren gleichzeitig mit einer Dosis von Phyllochinon injiziert, die genügt, um die Dicumarolwirkung wieder aufzuheben, so wird der Dicumarolgehalt der Organe niedriger gefunden als in Kontrollen ohne Phyllochinon. Der Differenzbetrag, d. h. die Menge des aus offenbar spezifischer Bindung durch das Phyllochinon verdrängten Dicumarols entspricht größtenteils dem Gehalt der betreffenden Organe an Vitamin K-Reduktase. Er ist am höchsten bei der Ratte, gleich Null bei der Taube, die praktisch keine K-Reduktase enthält, und liegt beim Huhn dazwischen. – Wirbellose Tiere (Schnegel, Regenwurm), die keine Gerinnungsproteine bilden, vermögen trotzdem Methylnapthochinon in Vitamine der K₂-Reihe umzuwandeln. Nachgewiesen wurde die Bildung von u. a. Vitamin K₂₍₂₀₎ und K₂₍₅₀₎.

Wirkung von Polypeptiden auf Stoffwechselvorgänge und die Struktur isolierter Mitochondrien

D. Neubert, Berlin-Dahlem

Die Wirkung einiger Gruppen von Polypeptid-Antibiotica auf die Mitochondrienatmung, die oxidative Phosphorylierung und auf bestimmte strukturelle Veränderungen an den Zellpartikeln (Wasseraufnahme (Schwellung) und ATP-abhängige Wasseraustreibung aus geschwollenen Partikeln) wurde untersucht, besonders eingehend am Beispiel des Gramicidin S. Diese Verbindung hemmt die Atmung und die Atmungskettenphosphorylierung isolierter Rattenlebermitochondrien. Die mit Succinat als Substrat erhaltenen Ergebnisse unterscheiden sich dabei deutlich von Befunden mit α -Ketoglutarat. Während mit $1-2 \times 10^{-5}$ M Gramicidin S weder die Succinatatmung noch die hiermit gekoppelte Phosphorylierung geschädigt wird, führt die gleiche Konzentration des Polypeptids bei Verwendung von α -Ketoglutarat zu einer Entkopplung (P/O etwa 1) bei vollständig erhaltener Atmung. Dieser Befund könnte als weiterer Hinweis für die vor mehreren Jahren bei der Untersuchung der Phosphorvergiftung ausgesprochene Vermutung dienen (AePP 236, 61, 1959), daß mindestens eine der beiden Phosphorylierungsstufen der Succinatkette nicht mit einer der drei Stufen der NAD-Kette identisch ist. Bei dem Effekt handelt es sich um keine Hemmung der phosphorylierenden Atmung wie sie z. B. unter Oligomycin auftritt, da die Atmungshemmung durch 2,4-Dinitrophenol nicht aufgehoben werden kann. Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Aminosäure-Sequenz im Gramicidin S für die biochemische Wirkung zeigten, daß der Ersatz der Orn-Reste durch Lys keine Wirkungsveränderung verursacht, der weitere Ersatz des Val durch Gly den Effekt auf die Atmung, Phosphorylierung und die Mitochondrienstruktur jedoch völlig verschwinden läßt. Damit ergibt sich eine interessante Parallel zu Befunden Schwyzers [1] über die antibiotische Wirkung dieser Derivate. Die Beteiligung einer hydrophoben Bindung zwischen dem Peptid und dem Rezeptor in der Mitochondrienmembran erscheint wahrscheinlich.

Zur Entstehung und Beeinflussung der Lebernekrose nach Allylalkohol-Vergiftung

G. Richarz, Konstanz

Allylalkohol per os verursacht bei der Ratte umschriebene Lebernekrosen. Dieses „Modell“ dient vielfach zur Ermittlung nekrotischer Eigenschaften von Pharmaka. Eine Bestätigung der Hypothese (H. Schön), daß Acrolein die Nekrosen verursacht und nekrosevermindernde Stoffe lediglich eine Hemmung der Alkohol-Dehydrogenase (ADH) bewirken, würde diesen Test wertlos machen. Durch folgende Befunde konnte die erwähnte Hypothese widerlegt werden: 1. Acro-

lein per os führt unter gleichen Bedingungen nur zu geringfügigen morphologischen und funktionellen Leberveränderungen. 2. Das in diesem Test ausgeprägt nekrotrop wirkende Cystein bewirkte bei der Ratte eine beschleunigte Abnahme der Allylalkohol-Konzentration im Blut. 3. In therapeutisch wirksamen Konzentrationen ($< 10^{-3}$ Mol/l) erhöht Cystein die Aktivität von ADH aus Pferdeleber. – Die im Allylalkohol-Test beobachtete nekrotrope Wirkung des Cysteins muß daher auf einem direkten Eingreifen im Stoffwechselmechanismen der Leber beruhen.

Zur Struktur und Wirkungsweise der Alkoholdehydrogenase aus Hefe

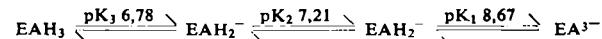
H. Sund, A. Arens, K. Weber und K. Wallenfels, Freiburg/Breisgau

Bestimmt man die N-terminalen Gruppen der Alkoholdehydrogenase (ADH) aus Hefe nach der DNP-Methode, so findet man, daß alle als N-terminale Gruppen in Frage kommenden zehn DNP-Aminosäuren im Verlauf der Umkristallisation der ADH so stark abnehmen, daß sie schließlich nach der 19. Umkristallisation nur noch in Mengen von 0,07 bis 0,56 Mol/Mol ADH (Molekulargewicht 150000) vorliegen. Es wird angenommen, daß Hefe-ADH keine realen NH₂-endständigen Aminosäurereste besitzt, und die gefundenen „Endgruppen“ aus am Protein festhaftenden Verunreinigungen stammen. Der Zinkgehalt [1] kristallisierter Alkoholdehydrogenase aus Hefe nimmt von fünf Atomen Zink pro Enzymmolekül nach der 1. Kristallisation auf 3,3 nach der 8. Umkristallisation ab, um dann bis zur 19. Umkristallisation praktisch konstant zu bleiben.

Die Untersuchungen der pH-Abhängigkeit [2] der durch Hefe-ADH katalysierten DPN⁺-Reduktion im Bereich von pH 6 bis 9,5 zeigte, daß die kinetisch bestimmten Dissoziationskonstanten der binären Enzym-Substrat-Komplexe im Falle des DPN⁺ pH-unabhängig sind und beim Äthanol zwischen pH 6 und 8,5 eine geringe Abnahme aufweisen, um dann oberhalb pH 8,5 konstant zu bleiben. Die pH-Abhängigkeit der maximalen Geschwindigkeiten (V) gehorcht in dem untersuchten pH-Bereich der Gleichung:

$$V_{\max} = \frac{[H^+]^3 V_3 + [H^+]^2 K_3 V_2 + [H^+] K_2 K_3 V_1 + K_1 K_2 K_3 V_0}{[H^+]^3 + [H^+]^2 K_3 + [H^+] K_2 K_3 + K_1 K_2 K_3}$$

Die pK-Werte der verschiedenen, unterschiedlichen Aktivität besitzenden ternären Enzym-Substrat-Komplexe liegen bei 8,67; 7,21 und 6,78:



Der Komplex EAH₂⁻ besitzt die größte Aktivität.

Zur Struktur und Wirkungsweise der Glutaminsäuredehydrogenase aus Rinderleber

H. Sund, Freiburg/Breisgau

In Konzentrationen von 10–17 mg/ml besitzt die Diffusionskonstante der Glutaminsäuredehydrogenase (Glu-DH) aus Rinderleber einen Wert von $1,1 \cdot 10^{-7}$ cm²/sec. Für diesen Konzentrationsbereich errechnet sich mit $s_{20,w} = 30,1$ S ein Teilchengewicht von 2,6 Millionen und f/f_0 zu 2,1. Bei höheren Konzentrationen liegt die Diffusionskonstante bei $0,6 \cdot 10^{-7}$ cm²/sec und das Teilchengewicht bei etwa 5 Millionen [3].

[1] B. L. Vallee u. F. L. Hoch, Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 41, 327 (1955); K. Wallenfels, H. Sund, A. Faessler u. W. Burchard, Biochem. Z. 329, 31 (1957).

[2] Vgl. auch I. W. Sizer u. A. Gierer, Disc. Faraday Soc. 20, 248 (1955); K. Wallenfels u. H. Sund, Biochem. Z. 329, 17 (1957).

[3] Vgl. auch J. A. Olson u. C. B. Anfinsen, J. biol. Chemistry 197, 67 (1952).

[1] Helv. chim. Acta 41, 1582 (1958).