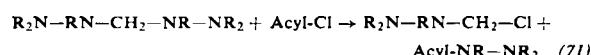


Substituierte Acetylde des Goldes sind gut extrahierbar. Gold kann ferner als Bis-(trimethyl)-hexamethylendiammonium-tetrabromo-aurat-(III) von großen Überschüssen anderer Metalle getrennt und gravimetrisch bestimmt werden.

Die mit Formaldehyd gebildeten Hydrazinale erleiden eine der Böhme-Reaktion analoge Acylchloridspaltung zu beständigen festen Chlormethylhydrazinen (71).

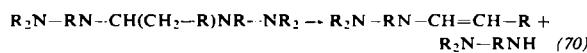


Über Halb- und Vollacetale mit Hydroxylaminen und Hydrazinen

G. Zinner, Marburg (Lahn)

Destillationsbeständige O- und N-Halbacetale aus der Hydroxylaminreihe $R_2N-O-CHR'-OH$ und $RO-RN-CHR'-OH$ ließen sich zu verschiedenartigen neuen Vollacetalen umsetzen, z.B. zu $R_2N-O-CH_2-NR_2$, $R_2N-O-CH_2-NR-NR_2$, $RO-RN-CH_2-NR_2$, $RO-RN-CH_2-NR-NR_2$, $RO-RN-CH_2-SR$, $RO-RN-CHR'-NR-OR$.

In der Hydrazinreihe erleiden die mit höheren Aldehyden gebildeten Vollacetale („Hydrazinale“) eine Mannich-analoge Thermolyse zu N-Dialkylamino-enaminen („En-hydrazinen“) (70).



Bei Anwendung von Alkan-sulfinsäurechloriden wurden nur $R-SO-S-R$ und $R-S-S-R$, aber keine Sulfinylhdydrazide $R_2N-RN-SO-R$ isoliert; die Spaltung mit Chlorsulfinsäureestern führte jedoch glatt zu $R_2N-RN-SO-OR$. Dagegen konnten Aminale und Alkoxyaminale auch von Alkan-sulfinsäurechloriden zu $R_2N-SO-R$ und $RO-RN-SO-R$ gespalten werden.

Hydroxylaminale ergaben bei der Einwirkung von Chlor(thio)ameisensäureestern wie erwartet $HO-RN-C(O,S)-OR$, die durch Umsetzung mit C_6H_5NCO und Cyclisierung in 3,5-Dioxo-1,2,4-oxadiazolidine [43] übergeführt wurden.

Die Spaltung der N,S-Acetale (wie $R_2N-RN-CH_2-SR$ und $RO-RN-CH_2-SR$) mit Chlorsulfinsäureestern führte zu den Thioschwefligsäureestern $RS-SO-OR$.

[VB 704]

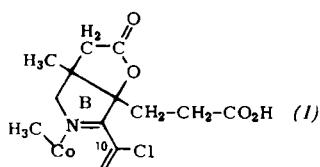
[43] G. Zinner, Arch. Pharmaz. 294, 765 (1961).

Vitamin-B₁₂-Coenzyme

Tagung der New York Academy of Sciences am 10. und 11. April 1963 in New York (USA)

Im ersten Vortrag wies H. P. C. Hogenkamp (Vancouver, B.C.) nach, daß sich das Cobalt in den Cobamid-Coenzymen im dreiwertigen Zustand befindet. ESR-Messungen an festen und in Wasser gelösten Coenzymen ergaben Diamagnetismus und sprachen damit für das Vorliegen von Co(III). Unter anaeroben Bedingungen photolysiertes Material hatte paramagnetische Eigenschaften, die bei Zutritt von Luft verschwanden. Die Bindung zwischen Cobalt und dem Nucleotid (5,6-Dimethylbenzimidazol im Vitamin-B₁₂-Coenzym) ist im Coenzym viel schwächer als im Cyanocobalamin. Der Vortr. vermutet daher, daß sich diese Bindung bei der Reaktion zwischen Coenzym und Substrat öffnet.

Unterschiedliche Ergebnisse, die F. Wagner (Stuttgart) und A. W. Johnson (Nottingham) bei der Umsetzung von Cobamid-Coenzymen mit Chloramin T erhielten, konnten auf Unterschiede in der Versuchstechnik zurückgeführt werden.



Wagner und Mitarbeiter waren nicht in der Lage, aus Methylcobalamin das chlorierte Lacton (I) zu erhalten. Ihnen gelang lediglich die Chlorierung. Unter anderen Bedingungen gelang Johnson die Synthese des Lactons und seine Chlorierung mit überschüssigem Chlor. Beide Gruppen stimmen jetzt darin überein, daß der Chromophor im Cyanocobalamin und im Coenzym der gleiche ist. Wagner und Bernhauer konnten Methylcobalamin synthetisieren, das in der Methylgruppe mit Tritium markiert war. Überraschenderweise ließen sich die ³H-Atome leicht austauschen.

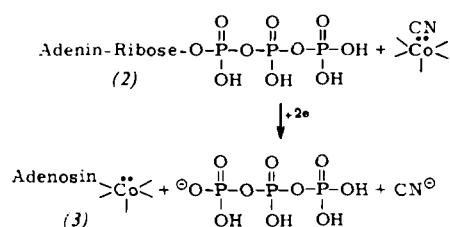
E. L. Smith (Greenford, England) zeigte, daß das grau-grüne Reduktionsprodukt, das man aus Vitamin B₁₂ mit Natriumborhydrid oder Zink/Essigsäure erhält, eindeutig ein Hydrid ist. Es reagiert unter Anlagerung mit Acetylen-Verbindungen und mit aktivierten Äthylen-Verbindungen, sofern deren Stereochemie es gestattet. Obwohl Alkylcobalamine im Sy-

stem von Abeles (Propylenglykol → Propionaldehyd) kräftige kompetitive Antagonisten des Coenzyms sind, haben sie in vivo keine Wirkung. Vielmehr wird hier die Co-C-Bindung leicht gespalten, und es entsteht Hydroxocobalamin. Keines der untersuchten Analoga hatte bei Mäusen einen signifikanten Einfluß auf implantierte Tumoren. Zwei weitere Arbeitsgruppen berichteten gleichfalls über die biologische Aktivität substituierter Cobalamine: H. R. V. Arnstein (London) zeigte, daß acht Analoga, unter ihnen Methylcobalamin und das Uridin-Analoge des Coenzyms, die Propionat-Oxydation von *Ochromonas Malhamensis* stimulieren. Keine der Verbindungen hatte eine zum Cyanocobalamin antagonistische Wirkung. Auch M. E. Coates (Reading) berichtete, daß mehrere Analoga in Hühnern mit Vitamin-B₁₂-Mangel keine Antivitamin-Wirkung entfalteten.

Die Untersuchung der Alkylcobalamine durch A. W. Johnson (Nottingham) ergab, daß sie bei 10^{-6} Torr gegen Photolyse beständig sind, bei 10^{-4} Torr hingegen zu Vitamin B₁₂r sowie Olefinen und Paraffinen zerfallen. Das Coenzym ist weniger beständig und photolysiert schon bei 10^{-6} Torr. Die pK_S-Werte mehrerer Alkylcobalamine stehen in Beziehung zum induktiven Effekt, den die am Co stehende Alkylgruppe ausübt. O. Müller (Stuttgart) zeigte, daß der pH-Wert, bei dem die Co-Nucleotid-Bindung bricht, in dieser Reihenfolge ansteigt: Cobalamin-Coenzym, Methylcobalamin, Cobalamin-kohlensäureäthylester. Es scheint also, daß die in den Coenzym-Analoga direkt am Cobalt stehende Gruppe ihren induktiven Effekt durch das Cobalt hindurch und möglicherweise sogar in einem rechten Winkel zur Bindung mit dem Cobalt ausüben kann und so die Elektronenverteilung im Chromophor ändert.

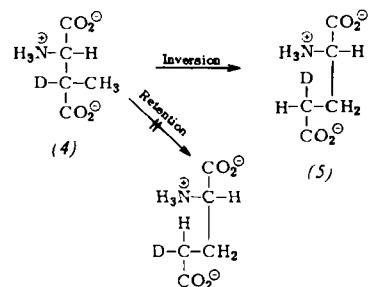
A. Peterkofsky (Bethesda) berichtete über die Phosphat-Freisetzung beim Übergang des Adenosinrestes von ATP auf Cyanocobalamin in zellfreien Systemen von *P. Shermanii* und *C. tetanomorphum*, die das Coenzym bilden können. Nach sorgfältiger Entfernung aller ATPase ergab sich mit Hilfe markierten Adenosintriphosphats, daß das Phosphat als Triphosphat-Einheit frei wird. Vitamin B₁₂r ist kein notwendiges Zwischenprodukt, obwohl das Coenzym bildende zellfreie System diese Verbindung umsetzen kann. Offenbar ist ein

reduziertes Flavin für die Adenosin-Übertragung notwendig, so daß man die gleichzeitige Übertragung von zwei Elektronen annehmen kann [(2) → (3)].



In der Diskussion wurde darauf hingewiesen, daß die Umwandlung von Cyanocobalamin ins Coenzym mit zellfreien Systemen von Säugetieren noch nicht gelungen ist.

H. A. Barker et al. (Berkeley) beschrieben die 75-fache Anreicherung von Glutamat-Mutase aus *Clostridium tetanomorpha*. Die Wasserstoff-Verschiebung bei der vom Enzym katalysierten Isomerisierung ist intramolekular, denn ³H oder D aus dem Medium erscheint nicht im Produkt. α -Ketoglutarat, Glycin, Acrylat oder Propionat sind nicht Zwischenprodukte der Isomerisierung, und der Stickstoff der isomeren Verbindungen tauscht mit ¹⁵NH₄Cl nicht aus. In der Diskussion berichtete *D. Sprinson* (New York) über neue

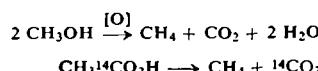


Arbeiten, bei denen deuterierte β -Methylasparaginsäure als Substrat der Mutase verwendet worden waren. Überführung des gebildeten Glutamates in Bernsteinsäure und Messung der Rotationsdispersion ergaben, daß bei der Isomerisierung Inversion eingetreten war [(4) → (5)]. Dies spricht dafür, daß intermediär ein Carbonium-Ion auftritt.

Im Anschluß an eine Übersicht von *H. G. Wood* (Cleveland), in der die Bedeutung von Methylmalonyl-Mutase für den Stoffwechsel Propionat vergärender Bakterien behandelt wurde, beschrieb *S. Ochoa* (New York) einige bemerkenswerte Eigenschaften des aus Schafsniere gewonnenen Holoenzymes. Durch Behandlung mit Cyanid, Aktivkohle, Licht oder intrinsic factor wird das Enzym nicht inaktiviert, im Gegensatz zum bakteriellen Enzym. Entfernt man jedoch das Coenzym mit saurem Ammoniumsulfat und reaktiviert die Mutase durch erneutes Zufügen des Coenzymes, so wird das Holoenzym durch die genannten Einflüsse leicht inaktiviert. Offenbar ist also die Bindung zwischen Coenzym und Apoenzym in der reaktivierte Mutase etwas anders als im nativen Enzym.

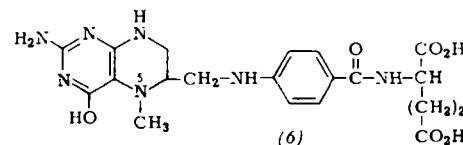
B. C. Johnson (Illinois) fand, daß vollkommen deuteriertes Methylmalonyl-CoA (Masse 121) bei der Isomerisierung im üblichen zellfreien System Succinyl-CoA, gleichfalls mit der Masse 121, ergibt. Das stimmt mit den Ergebnissen von *Overath* überein, der schon früher gezeigt hatte, daß die Wasserstoff-Verschiebung bei der Umlagerung von Methylmalonyl-CoA in Succinyl-CoA intramolekular ist.

T. Stadtman (Bethesda) berichtete über einen neuen Organismus, *Methanosarcina Barkeri*, der Methanol oder Essigsäure zu Methan vergärt.



Der Organismus enthält Cobalamin-Derivate in so hoher Konzentration, daß er rosa aussieht. Zerstört man die Zellen und fügt ¹⁴CH₃-Cobalamin hinzu, so entsteht ¹⁴C-Methan praktisch ohne Oxydation der Methylgruppe zu CO₂. Daraus läßt sich folgern, daß Methylcobalamin auch ein natürliches Stoffwechselprodukt sein kann. Die Wirkungsweise von Dehydratases, die Äthylenglykol oder Propandiol in die entsprechenden Desoxyaldehyde überführen und die mit Dimethylbenzimidazolyl-cobamid als Coenzym arbeiten können, untersuchte *R. M. Abeles* (Ann Arbor). Inkubiert man Vitamin-B₁₂-Coenzym, Substrat und Dehydratase, so findet man im Spektrum des Coenzyms eine reversible Verschiebung. Sobald das Substrat aufgebraucht ist, erscheint wieder das ursprüngliche Spektrum. Mit Glykolaldehyd als Substrat ist die Änderung des Spektrums hingegen irreversibel. Unter diesen Bedingungen ließ sich daher die Natur des intermediären Enzym-(Dimethylbenzimidazolyl-cobamid)-Komplexes prüfen: Milde saure Hydrolyse des Komplexes ergab Hydroxo-cobalamin, woraus folgt, daß die Co-C-Bindung des Coenzyms im Komplex geöffnet ist. Dem entspricht, daß man mit ⁶⁰Co-Coenzym aus dem Komplex zwar 100 % der Radioaktivität, aber nur 23 % der Coenzym-Aktivität zurückgewinnen kann.

Ein bedeutender Beitrag kam von *J. M. Buchanan* und seinen Mitarbeitern (Cambridge). Ihnen gelang die 100-fache Anreicherung eines Enzyms aus Schweineleber, das eine Methylgruppe vom 5-Methyl-tetrahydropteroylglutamat (6) auf Homocystein überträgt. Dieses Enzym enthält Vitamin-B₁₂-Aktivität, was der Test mit *L. Leichmannii* zeigte. Als Arbeitshypothese wurde angenommen, daß der Vitamin-B₁₂-Spiegel



in Säugetieren die Menge reduzierten Folates bestimmt. Die klinisch gut bekannte Beziehung zwischen Vitamin B₁₂ und Folsäure kann jetzt also auf dem Niveau der Enzyme studiert werden.

Folsäuregaben vermindern bei Patienten mit einem Rückfall perniciöser Anämie nicht die Ausscheidung von Methylmalonsäure (*A. M. White*, London). Das spricht dafür, daß eine Vermehrung zirkulierender Methylmalonsäure für die neurologischen Symptome des Vitamin-B₁₂-Mangels verantwortlich ist. Der gleichen Gruppe gelang der Nachweis, daß beim Menschen die Ausscheidung von Methylmalonsäure nach oralen Propionatgaben ansteigt, d. h. daß Propionsäure auch beim Menschen eine Vorstufe des Methylmalonats ist. Arbeiten von *Luhby* (New York) ermöglichen vielleicht einen neuen chemischen Nachweis des Vitamin-B₁₂-Mangels: *Luhby* und Mitarbeiter fanden, daß Patienten mit perniciöser Anämie etwa siebenmal so viel 4(5)-Amino-5(4)-imidazolcarboxamid-ribotid ausscheiden wie normale Kontrollpersonen. Hingegen ist der Gehalt dieser Verbindung im Urin bei Folsäremangel praktisch unverändert.

[VB 700]