

Co α /Co β -Isomerie der am Kobalt methylierten Corrinoiden. Über die CD- und ORD-Spektren einiger Isomerenpaare

Co α /Co β -Isomerism of the Cobalt Methylated Corrinoids. CD and ORD Spectra of Several Isomer Pairs

Matthäus Moskophidis

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Hamburg, Grindelallee 117,
D-2000 Hamburg 13

Z. Naturforsch. **36 c**, 497–505 (1981); eingegangen am 16. Oktober 1980/25. Februar 1981

Herrn Prof. Dr. J. Kühnau zum 80. Geburtstag gewidmet

Vitamin B₁₂, Methyl Corrinoids, Co α /Co β -Isomerism, CD Spectra, ORD Spectra

The CD and ORD spectra of the Co α - and Co β -methyl isomers of cobalamin, 2-methylthioadenyl cobamide (factor S), cobyric acid and *p*-kresyl cobamide (factor Ib) were recorded in water and acidic solution. In complete and incomplete (nucleotide free) (Co α -methyl)-corrinoids the axial ligands CH₃ and H₂O are unalterable (fixed) within a wide range of pH (about 1 to 12) at room temperature in the dark. Thus the spectra in this pH range are constant at $\lambda > 350$ nm; spectral differences at $\lambda < 350$ nm are effects of the nucleotide bases. The spectra of complete "base-on" (Co β -methyl)-corrinoids are, like the spectra of (Co α -methyl)-corrinoids, at $\lambda > 350$ nm not dependent on the nucleotide base. If the nucleotide base is not coordinated ("base-off"), the spectra change strikingly and at $\lambda > 350$ nm are nearly identical with those of incomplete corrinoids e. g. cobyric acid.

Die Co α /Co β -Isomerie* wurde zuerst an inkompletten (nucleotidfreien) Cyano-aqua-corrinoidcarbon-säuren [4, 5], dann an (Co-Methyl)-Derivaten von Cobalamin [6], Cobyrsäure [7], *p*-Kresylcobamid [8] und anderen B₁₂-Corrinoiden [3] beobachtet. Die Trennung der Isomere α und β gelang bei (Co-Methyl)-cobalamin im System CM-Cellulose/Wasser, weitere Reinigung des α -Isomers erfolgte im System Sephadex-DEAE A-50-CN[®]/Wasser [6]. Das zuletzt genannte System bewährte sich ferner bei der Gewinnung der Isomerenpaare von (Co-Methyl)-cobyrsäure [7] und (Co-Methyl)-*p*-kresylcobamid [8] aus Methylierungsansätzen. Die Trennung der beiden Isomere von (Co-Methyl)-2-methylmercaptoadenylcobamid [9] gelang durch Papierelektrophorese bei pH 2,5 sowie Papierchromatographie im wassergesättigten *sec*-Butanol. Beim Cobinamid konnte die Co α /Co β -Isomerie bisher nur mittels ¹³C-NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden (Isomerenverhältnis etwa 50/50) [10].

* Frühere Bezeichnung: *a-b*-Isomerie. Zur Nomenklatur vgl. Zit. [1–3]. Hier benützte Abkürzungen: α -CH₃-Faktor S für (Co α -Methyl)-2-methyl-mercaptoadenylcobamid; β -CH₃-Faktor S für 2-Methylmercaptoadenyl-(Co β -methyl)-cobamid; α -CH₃-Faktor Ib für (Co α -Methyl)-*p*-kresylcobamid; β -CH₃-Faktor Ib für (Co β -Methyl)-*p*-kresylcobamid.

Sonderdruckanforderungen an Dr. M. Moskophidis.

0341-0382/81/0700-0497 \$ 01.00/0

Durch Wärme (80 °C) bzw. Licht lassen sich einheitliche (Co-Methyl)-corrinoiden in Isomerenpaare umwandeln, wobei stets ein spezifisches Gleichgewicht der beiden Formen, α -Isomer \rightleftharpoons β -Isomer, erreicht wird. Die Reaktion verläuft in CO-Atmosphäre besonders rasch und fast ohne Nebenprodukte [8]. Radikalmechanismus wurde angenommen [2].

Das Interesse an methylierten Corrinoiden ist unter anderem darauf zurückzuführen, daß (Co-Methyl)-cobalamin an der Methioninsynthese in Bakterien und in höheren Organismen teilnimmt und daß methylierte Corrinoiden Zwischenstufen der bakteriellen Synthese von Methan und Acetat sind [2, 3]. Es sei schließlich erwähnt, daß die biologische Methylierung von Quecksilbersalzen unter Bildung stark toxischer, flüchtiger Produkte wahrscheinlich über (Co-Methyl)-corrinoiden abläuft [3].

Im Bereich der Corrinoiden reagiert das CD-Spektrum noch empfindlicher auf einen Ligandenwechsel als das Elektronenspektrum (Beispiel: Cyano- und Aqua-cobalamin mit entgegengesetzten CD-Maxima, jedoch mit ähnlichen Absorptionsmaxima [11, 12]). Außerdem erlaubt das CD-Spektrum die Unterscheidung zwischen der "base-on" und "base-off"-Form des (Co-Methyl)-cobalamins in der Holomethioninsynthetase [13].

Diese Erfahrungen veranlaßten uns zur Aufnahme und zum Vergleich der CD-Spektren sowie auch der



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

ORD-Spektren einiger Isomerenpaare aus dem Bereich der (Co-Methyl)-corrinoiden. Wir hofften, so zu Gesetzmäßigkeiten zu gelangen, die einige Aussagen über die Lage der Methylgruppe und der Nucleotidbase ("base-on" bzw. "base-off") in freien und in enzymgebundenen Corrinoiden erlauben.

Experimenteller Teil

Alle Arbeiten mit den Corrinoiden wurden bei stark gedämpftem Licht durchgeführt.

Methylierung der Corrinoiden sowie Darstellung der Isomere α und β

Die Methylierung des Cobalamins [6], der Cobyrsäure [7], des *p*-Kresylcobamids [8] und des 2-Methylmercaptoadenylcobamids [9] am Kobaltatom sowie die Darstellung der Isomere α und β erfolgte nach bereits beschriebenen Methoden. Als Reduktionsmittel zur Darstellung von Co(I)-Corrinoiden wurde Zinkpulver/10% NH₄Cl verwendet. Als Methylendonator diente Methyljodid.

Aufnahme der Spektren

Man benutzte die Geräte Beckman DU sowie Shimadzu/Bausch u. Lomb Spectronic 200 für die Absorptionsspektren, Dichrograph III für die CD-Spektren und Cary 60 für die ORD-Spektren. Die gemessenen Corrinoidlösungen waren 17×10^{-6} M bei den CD-Spektren und 84×10^{-6} M bei den ORD-Spektren. Dabei basierte die Konzentrationseinstellung auf dem Wert $\epsilon_{368\text{ nm}} = 30400$ nach Belichtung der (Co-Methyl)-corrinoiden in Gegenwart von einer Spur KCN und Bildung von Dicyano-corrinoiden.

Ergebnisse und Diskussion

Das Mengenverhältnis von α -Isomer zu β -Isomer bei den durch Partialsynthese dargestellten (Co-Methyl)-corrinoiden ist pH-abhängig [9] und beträgt bei pH 4,9 für CH₃-Cobalamin (7:93), CH₃-Faktor S (15:85), CH₃-Cobyrsäure (10:90) und CH₃-Faktor Ib (50:50).

Aus Abb. 1 sind die schematischen Strukturformeln der untersuchten (Co β -Methyl)-corrinoiden in Wasser und in 0,05 N HCl ersichtlich. Diese Corrinoiden lassen sich in zwei Gruppen einteilen: I. β -CH₃-Cobyrsäure und β -CH₃-Faktor Ib mit gleicher Struktur in beiden Medien; hier ist der Nucleotidanteil entweder nicht vorhanden (Cobyrsäure)

oder nicht koordinierbar (Faktor Ib). II. β -CH₃-Cobalamin und β -CH₃-Faktor S, welche in Wasser (Abb. 1, obere Reihe) eine an Kobalt α -ständig gebundene Imidazolgruppe enthalten; in 0,05 N HCl (Abb. 1, untere Reihe) ist wegen Protonierung des Imidazolanteils die Koordination aufgehoben (auch bei Faktor S) [9].

Durch Methylierung des Kobaltatoms in der β -Position wird die Koordination der Nucleotidbase zwar beträchtlich geschwächt (starker Transeffekt der CH₃-Gruppe!), jedoch nicht aufgehoben, auch nicht bei den Purin-corrinoiden. Dagegen hebt die Adenosylgruppe bei den Purin-corrinoiden die Basenkoordination auf [14].

Bei den ebenfalls untersuchten (Co α -Methyl)-corrinoiden kann die Nucleotidbase nicht koordinieren. Da in der β -Position des Kobalts wahrscheinlich stets ein Wassermolekül gebunden ist, unterscheiden sich die (Co α -Methyl)-corrinoiden untereinander nur durch die Struktur der an Carboxyl (f) gebundenen, nicht koordinativ fixierten, schwenkbaren Seitenkette.

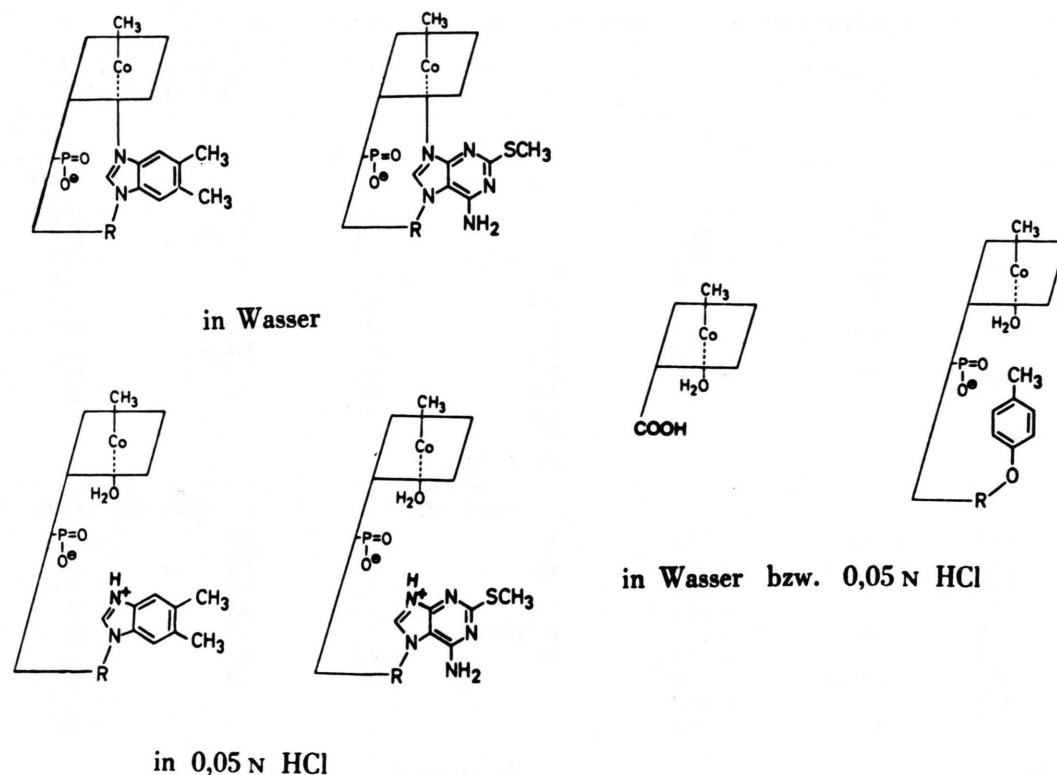
Im spektroskopischen Verhalten der (Co α -Methyl)-corrinoiden sind deshalb Gemeinsamkeiten zu erwarten, vor allem bei $\lambda > 300$ nm (außerhalb des Absorptionsbereiches der Nucleotidbase).

Dies zeigte bereits das Absorptionsspektrum, welches bei allen bisher untersuchten (Co α -Methyl)-corrinoiden im Bereich 300–600 nm identisch ist. Besonders charakteristisch ist das Maximum bei 492 nm [6–9].

Innerhalb der (Co β -Methyl)-corrinoiden sind zwei spektroskopisch gut unterscheidbare Gruppen zu erwarten: a) Corrinoiden mit koordiniertem Imidazolstickstoff (β -CH₃-Cobalamin und β -CH₃-Faktor S) in Wasser; hier hat das Kobaltatom stets eine fast identische Umgebung, nämlich den α -ständigen Stickstoff und die β -ständige Methylgruppe; b) Corrinoiden mit einem Wassermolekül als α -ständigem Liganden (β -CH₃-Cobalamin und β -CH₃-Faktor S in 0,15 N HCl, ferner β -CH₃-Cobyrsäure und β -CH₃-Faktor Ib in Wasser oder in 0,15 N HCl).

Corrinoiden der Gruppe (a) unterscheiden sich im Absorptionsspektrum im Bereich 320–600 nm nicht (typische Maxima bei 340 nm, etwa 375 nm und etwa 520 nm). Die Vertreter der Gruppe (b) haben bei $\lambda > 300$ nm ein gemeinsames Maximum bei 462 nm [6–9].

Erwartungsgemäß lassen sich die untersuchten Corrinoiden in bezug auf ihre ORD- und CD-Spek-



in Wasser bzw. 0,05 N HCl

(Co- β -Methyl)-
cobalamin

(Co- β -Methyl)-
Fakt. S

(Co- β -Methyl)-
cobyrinsäure

(Co- β -Methyl)-
Fakt. I b

Abb. 1. Schematische Strukturformeln der (Co β -Methyl)-corrinoide. R, Ribose.

tren in drei Gruppen einteilen: a) (Co α -Methyl)-corrinoide b) (Co β -Methyl)-corrinoide mit koordiniertem Imidazolstickstoff und c) (Co β -Methyl)-corrinoide ohne koordinierten Imidazolstickstoff.

ORD-Spektren

Die (Co α -Methyl)-corrinoide (Tab. I, Abb. 2a–2c) haben bei etwa 250–330 nm eine starke, breite negative Bande mit einem scharfen Hauptmaximum bei etwa 269 nm und bis zu zwei weitere niedrigere Maxima bzw. Schultern. Es folgen ein positives Maximum bei etwa 340 nm, ein negatives Maximum bei etwa 369 nm und eine relativ niedrige breite positive Bande bei etwa 380–440 nm mit einem Maximum und meist einer Schulter. Schließlich gibt es zwei ausgeprägte Maxima, ein negatives bei etwa 481 nm und ein positives bei etwa 528 nm.

Die (Co β -Methyl)-corrinoide mit koordiniertem Imidazolstickstoff (Tab. I, Abb. 2a) haben drei ausgeprägte negative Banden im Bereich von etwa 265 nm, 371 nm und 455 nm sowie eine starke breite positive Bande bei etwa 516 nm. Die von Tkachuck *et al.* [15] publizierten ORD-Daten für β -CH₃-Cobalamin unterscheiden sich bei 516 nm ($\Phi = +3,5 \cdot 10^3$) von unseren ($\Phi = +38,5 \cdot 10^3$; s. auch Tab. I).

Ähnlich wie die zwei anderen Gruppen haben auch die (Co β -Methyl)-corrinoide ohne koordinierten Stickstoff (Tab. I, Abb. 2b und 2c) bei 260–330 nm jeweils eine starke negative Bande mit zwei bis drei Maxima (Hauptmaximum bei 269 nm). Weitere Charakteristika: ein stark ausgeprägtes positives Maximum bei etwa 340 nm, ein schwächeres positives Maximum bei etwa 400 nm, ein negatives Maximum bei etwa 518 nm und ein – zumeist schwaches – positives Maximum bei etwa 590 nm.

Tabelle I. ORD-Spektren einiger Isomerenpaare am Kobalt methylierter Corrinoide. Sch. = Schulter.

λ_{\max} [nm] in H ₂ O	$\Phi \cdot 10^{-3}$	λ_{\max} [nm] in 0,15 N HCl	$\Phi \cdot 10^{-3}$	λ_{\max} [nm] in H ₂ O	$\Phi \cdot 10^{-3}$	λ_{\max} [nm] in 0,15 N HCl	$\Phi \cdot 10^{-3}$
α-CH₃-Cobalamin				β-CH₃-Cobalamin			
				(Base koordiniert)		(Base nicht koordiniert)	
243	+ 11,7	270	− 62,8	247	+ 17,7	268	− 68,0
269	− 55,4	304	− 28,5	265	− 30,8	290 (Sch.)	− 46,0
302	− 29,1	339	+ 14,3	283 (Sch.)	− 4,0	313	− 40,8
340	+ 14,3	365	− 13,1	307	+ 19,1	341	+ 33,7
369	− 11,4	395	+ 0,9	328	− 5,7	367	− 6,9
396 (Sch.)	+ 2,3	424	+ 11,4	342	+ 10,9	401	+ 14,9
424	+ 10,8	479	− 48,3	371	− 44,0	444 (Sch.)	− 10,0
481	− 51,4	528	+ 23,4	396	+ 4,6	518	− 14,9
527	+ 23,7			455	− 30,0	590	+ 2,3
				516	+ 38,5		
α-CH₃-Faktor S				β-CH₃-Faktor S			
				(Base koordiniert)		(Base nicht koordiniert)	
267	− 51,8	269	− 66,6	270	− 50,4	268	− 69,4
300	− 29,1	291 (Sch.)	− 38,2	323	− 18,4	289 (Sch.)	− 44,8
340	+ 15,5	312	− 32,6	345	+ 4,0	312	− 35,4
369	− 15,0	339	+ 13,1	371	− 28,0	340	+ 20,2
400 (Sch.)	0,0	367	− 14,1	420 (Sch.)	− 9,1	367	− 13,4
422	+ 5,4	418	+ 4,4	445	− 15,7	402	+ 8,5
438 (Sch.)	− 0,8	438 (Sch.)	− 4,0	506	+ 30,2	444	− 8,5
477	− 35,8	477	− 40,2			520	− 2,2
525	+ 22,7	529	+ 14,3			590	+ 6,0
α-CH₃-Cobyrssäure				β-CH₃-Cobyrssäure			
269	− 50,5			269	− 60,0		
294 (Sch.)	− 36,2			285	− 47,7		
340	+ 15,5			312	− 34,5		
369	− 11,4			340	+ 34,5		
398 (Sch.)	+ 1,2			403	+ 18,1		
430	+ 11,5			450 (Sch.)	0,0		
481	− 48,9			518	− 12,5		
528	+ 21,5			590	+ 7,8		
α-CH₃-Faktor Ib				β-CH₃-Faktor Ib			
269	− 51,0			269	− 60,1		
293	− 38,8			287	− 48,9		
340	+ 15,6			314	− 36,6		
369	− 11,4			340	+ 34,3		
398 (Sch.)	+ 1,2			403	+ 18,3		
430	+ 11,5			450 (Sch.)	0,0		
481	− 49,6			518	− 12,6		
528	+ 21,1			590	+ 6,9		

Ein Vergleich der drei Spektrenguppen ergibt Folgendes:

1. Inversion am Kobaltatom bringt zumeist keine wesentliche Modifikation der starken Bande bei etwa 250–330 nm, es ändert sich lediglich ihre Feinstruktur; die den beiden Diastereomeren eigene starke positive Bande bei etwa 340 nm ist in der

β -Form meist wesentlich stärker als in der α -Form; in der Position der mittelstarken positiven Bande der β -Form bei etwa 400 nm besitzt die α -Form eine solche bei etwa 425 nm; die starke negative Bande bei etwa 481 nm und die meist schwächere positive Bande bei etwa 528 nm der α -Form fehlen in der β -Form; dafür besitzt diese eine meist mittelstarke negative Bande bei etwa 518 nm.

Abb. 2. ORD-Spektren der (Co α -Methyl)- (---) und (Co β -Methyl)-corrinoide (—). 2a, α - und β -CH₃-Cobalamin in H₂O; 2b, α - und β -CH₃-Cobalamin in 0,15 N HCl; 2c, α - und β -CH₃-Cobyrssäure in H₂O.

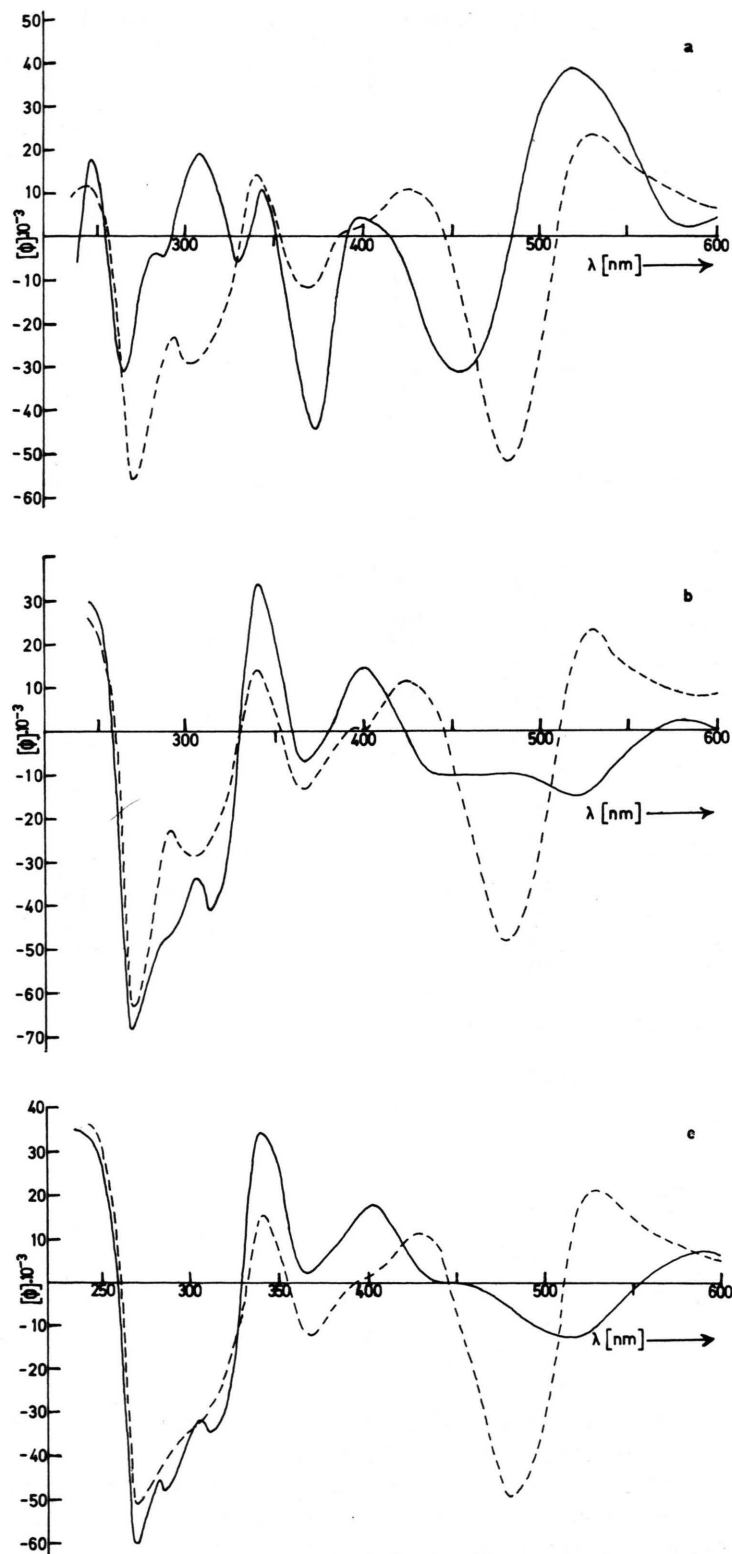


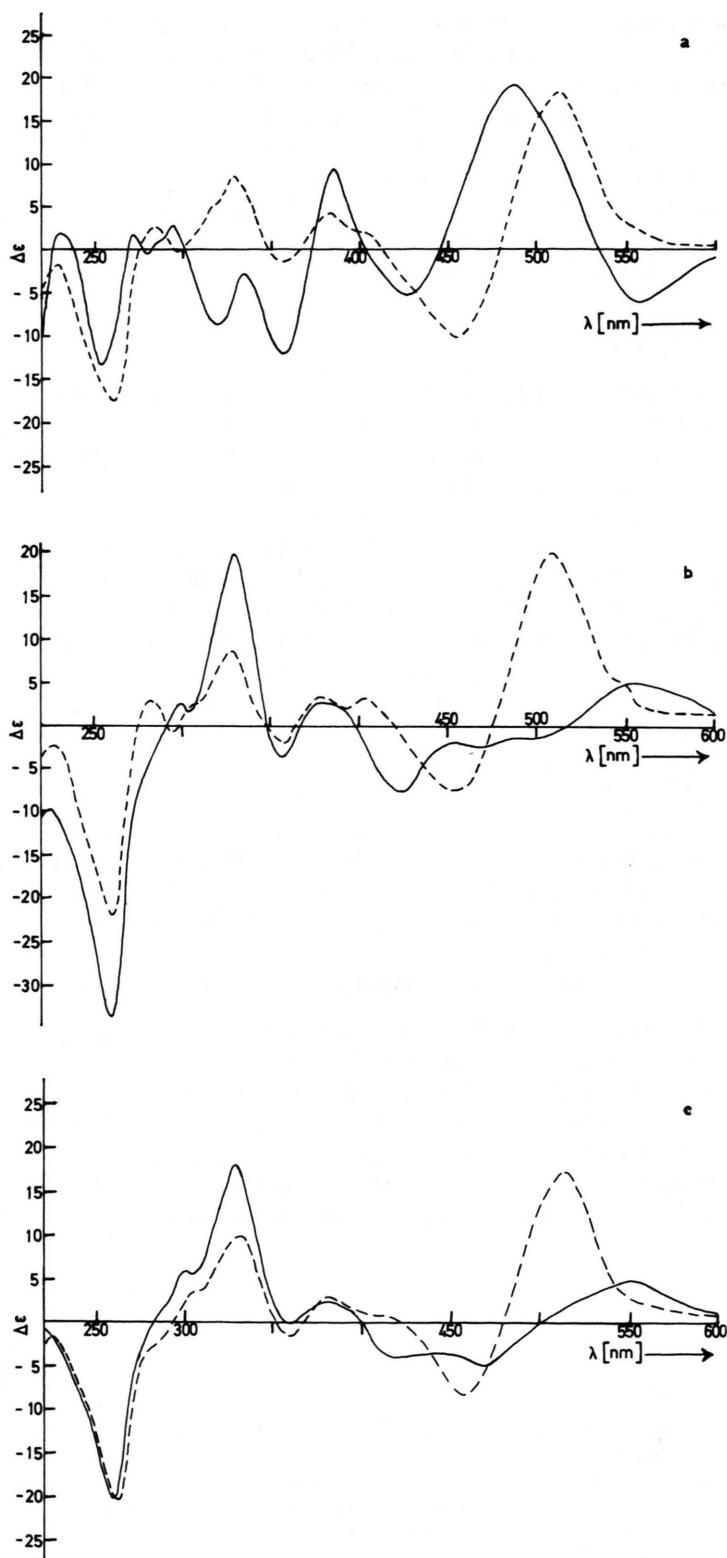
Tabelle II. CD-Spektren einiger Isomerenpaare am Kobalt methylierter Corrinoiden. Sch. = Schulter.

λ_{\max} [nm] in H ₂ O	$\Delta\epsilon$	λ_{\max} [nm] in 0,03 N HCl	$\Delta\epsilon$	λ_{\max} [nm] in H ₂ O	$\Delta\epsilon$	λ_{\max} [nm] in 0,03 N HCl	$\Delta\epsilon$
α-CH₃-Cobalamin				β-CH₃-Cobalamin			
				(Base koordiniert)	(Base nicht koordiniert)		
261	-17,5	262	-21,8	230	+1,8	261	-33,6
285	+2,6	284	+2,8	254	-13,4	300	+2,7
296	-0,3	295	-0,7	272	+1,7	330	+19,8
318 (Sch.)	+5,2	308 (Sch.)	+2,7	280	-0,5	358	-3,7
329	+8,7	328	+8,8	295	+2,7	379	+2,7
358	-1,4	358	-2,0	320	-8,7	426	-7,6
384	+4,1	379	+3,6	358	-12,0	470	-2,3
401 (Sch.)	+2,0	404	+3,3	386	+9,5	490	-1,4
456	-10,1	452	-7,4	425	-4,6	552	+5,2
512	+18,5	509	+20,0	488	+19,3		
				557	-6,2		
α-CH₃-Faktor S				β-CH₃-Faktor S			
				(Base koordiniert)	(Base nicht koordiniert)		
234	+0,8	262	-26,5	235	+6,9	261	-33,1
257	-18,9	297	+5,5	260	-22,0	299	+4,7
278	+2,3	330	+14,3	279	+0,7	330	+18,8
330	+10,7	358	-1,5	285	0,0	358	-2,5
356	-3,8	383	+4,8	298	+4,0	382	+5,4
381	+5,5	392 (Sch.)	+2,6	314	-3,0	423	-6,9
398 (Sch.)	+2,6	453	-7,8	333	+5,4	488	+2,9
447	-6,5	512	+15,6	358	-7,6	525	-0,5
508	+16,0			384	+7,6	560	+2,0
				424	-0,7		
				483	+14,9		
				550	-6,4		
α-CH₃-Cobyrssäure				β-CH₃-Cobyrssäure			
262	-20,4			260	-20,2		
284 (Sch.)	-2,1			302	+5,9		
308 (Sch.)	+3,7			328	+18,0		
332	+10,0			380	+2,4		
359	-1,6			422	-4,0		
382	+3,2			470	-5,0		
405 (Sch.)	+0,9			555	+4,9		
458	-8,2						
514	+17,5						
α-CH₃-Faktor Ib				β-CH₃-Faktor Ib			
262	-20,4			217	+1,4		
284 (Sch.)	-2,4			261	-21,6		
308 (Sch.)	+3,7			298	+4,9		
332	+10,0			329	+18,0		
382	+3,5			382	+4,4		
405 (Sch.)	+2,3			422	-2,6		
458	-8,2			470	-2,4		
514	+17,5			555	+4,9		

2. Koordination der Stickstoffbase bringt beim β -CH₃-Cobalamin bereits im kurzwelligen Bereich eine Modifikation des ORD-Spektrums: die starke negative Bande bei etwa 255–325 nm (Abb. 2b) weicht einer schmalen, viel schwächeren negativen

Bande bei etwa 265 nm und einer positiven Bande bei etwa 307 nm (Abb. 2a); diese Änderung ist bei β -CH₃-Faktor S nur angedeutet, vermutlich wegen der schwachen Koordination der Purinbase; die relativ starken positiven Banden des β -CH₃-Cobal-

Abb. 3. CD-Spektren der (Co α -Methyl)-(- - -) und (Co β -Methyl)-corrinoid (—). 3 a, α - und β -CH₃-Cobalamin in H₂O; 3 b, α - und β -CH₃-Cobalamin in 0,03 N HCl; 3 c, α - und β -CH₃-Cobyrssäure in H₂O.



amins ohne koordinierte Base bei etwa 341 nm und 401 nm werden nach erfolgter Basenkoordination viel schwächer, dafür hat die koordinierte Form eine starke negative Bande bei etwa 371 nm; auch dieser Effekt ist bei β -CH₃-Faktor S viel schwächer; die zwei starken Banden – negative bei etwa 455 nm und positive bei etwa 516 nm – des β -CH₃-Cobalamins mit koordinierter Base fehlen nach Verlust der Koordination (Abb. 2 a und 2 b).

CD-Spektren

Erwartungsgemäß sind die CD-Spektren aller hier untersuchten (Co α -Methyl)-corrinoiden (Tab. II, Abb. 3 a–3 c) einander weitgehend ähnlich. Man findet zwei ausgeprägte negative Banden, eine starke bei etwa 261 nm und eine schwächere bei etwa 458 nm. Von den positiven Banden ist die bei etwa 330 nm und vor allem die bei etwa 510 nm stark ausgeprägt.

Die beiden (Co β -Methyl)-corrinoiden mit koordiniertem Stickstoff (Tab. II, Abb. 3 a) haben gemeinsam fünf unterschiedlich ausgeprägte negative Banden bei etwa 260 nm, 320 nm, 358 nm, 425 nm und 550 nm sowie fünf bzw. sechs positive Banden, von denen die bei etwa 485 nm besonders stark ist.

Die CD-Spektren der (Co β -Methyl)-corrinoiden ohne koordinierten Stickstoff (Tab. II, Abb. 3 b) sind erwartungsgemäß einander sehr ähnlich. Unter den negativen Banden dominiert die bei etwa 261 nm. Es folgen drei positive Banden bei etwa 330 nm, 380 nm und 555 nm.

Ein Vergleich der drei Spektrengruppen ergibt:

1. Inversion am Kobaltatom führt zu markanten Veränderungen. Die Bande bei etwa 260 nm (negativ) zeigt keine Veränderungen; die höhere Bande hier bei β -CH₃-Cobalamin und β -CH₃-Faktor S ist wahrscheinlich durch die Nucleotidbase bedingt. Die fast Verdoppelung der positiven Bande bei etwa 330 nm bei der β -Form sowie die Ausbildung einer

sehr starken positiven Bande bei etwa 510 nm bei der α -Form (letzte fehlt bei der β -Form) sind auf Konformationsänderungen am Corrinring zurückzuführen.

2. Koordination der Stickstoffbase führt ebenfalls zu Konformationsänderungen am Corrinring und somit zu einem markanten Wechsel; die negative Bande bei etwa 260 nm wird kleiner, die stark positive Bande bei etwa 330 nm geht fast gänzlich ein. Nur die mittelstarken Banden bei etwa 380 nm (positiv) und etwa 425 nm (negativ) werden durch die Koordination weniger beeinflusst. Die Koordination führt ferner zur Bildung einer starken positiven Bande bei etwa 485 nm und zur Bandeninversion bei etwa 550 nm.

Die von Tachkova *et al.* [16] beschriebenen CD-Spektren von Co α - und Co β -Methyl-cobalamin unterscheiden sich beträchtlich in bezug auf ihre Maxima und $\Delta\epsilon$ -Werte von den Spektren der vorliegenden Arbeit. Ferner fehlen die entsprechenden CD-Spektren im sauren pH-Bereich, die einen direkten Vergleich zwischen dem α - und β -Isomer ohne den Effekt der Koordination mit der Nucleotidbase ermöglichen würden [17].

Die CD-Spektren des Adenosyl-cobalamins [18] und des β -CH₃-Cobalamins bei pH 8,0 und 2,0 unterscheiden sich wenig. Dies spricht dafür, daß die Unterschiede der CD-Spektren der Alkylcorrinoiden mit und ohne koordinierten Imidazolstickstoff in erster Linie auf Konformationsänderungen am Corrinring zurückzuführen sind, d. h. die Größe des Alkylrestes spielt eine untergeordnete Rolle.

Danksagungen

Die CD-Spektren wurden im Institut von Herrn Prof. Dr. G. Snatzke, Bochum, aufgenommen, wofür ihm der Verfasser zu Dank verpflichtet ist. Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Prof. Dr. W. Friedrich für seine wertvolle Unterstützung bei dieser Arbeit.

- [1] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Biochemistry* **13**, 1555 (1974).
- [2] J. M. Pratt, *Inorganic Chemistry of Vitamin B₁₂*, Academic Press, New York 1972.
- [3] W. Friedrich, Vitamin B₁₂ und verwandte Corrinoiden, **Bd. III/2**, S. 130 ff. (R. Ammon u. W. Dirschel, Hrsg.), Thieme-Verlag, Stuttgart 1975.
- [4] W. Friedrich, H. Ohlms, W. Sandeck u. R. Bieganski, *Z. Naturforsch.* **22 b**, 839 (1967).
- [5] W. Friedrich u. M. Moskophidis, *Z. Naturforsch.* **23 b**, 804 (1968).
- [6] W. Friedrich u. J. P. Nordmeyer, *Z. Naturforsch.* **24 b**, 588 (1969).
- [7] W. Friedrich u. R. Messerschmidt, *Z. Naturforsch.* **24 b**, 465 (1969); **25 b**, 972 (1970).
- [8] W. Friedrich u. M. Moskophidis, *Z. Naturforsch.* **25 b**, 979 (1970).
- [9] M. Moskophidis, C. M. Klotz u. W. Friedrich, *Z. Naturforsch.* **31 c**, 255 (1976).
- [10] T. E. Needham, N. A. Matwiyoff, T. E. Walker u. H. P. C. Hogenkamp, *J. Amer. Chem. Soc.* **95**, 5019 (1973).

- [11] M. Legrand u. R. Viennet, Bull. Soc. Chim. Biol. **29**, 1435 (1962).
- [12] H. A. O. Hill, J. M. Pratt u. R. J. P. Williams, Proc. Roy. Soc. A **288**, 352 (1965).
- [13] R. I. Taylor u. M. L. Hanna, Arch. Biochem. Biophys. **158**, 526 (1973).
- [14] J. N. Ladd, H. P. C. Hogenkamp u. H. A. Barker, J. Biol. Chem. **236**, 2114 (1961).
- [15] R. D. Tkachuck, M. E. Grant u. H. P. C. Hogenkamp, Biochemistry **13**, 2645 (1974).
- [16] E. M. Tachkova, I. P. Rudakova, N. V. Myasisheva u. A. M. Yurkevich, Bioorgan. Khim. **2**, 535 (1976).
- [17] M. Moskophidis, Vitamin B₁₂ S. 189 ff. (B. Zagalak u. W. Friedrich, Hrsg.) Walter de Gruyter-Verlag, Berlin 1979.
- [18] T. A. Pospelova, I. P. Rudakova u. A. M. Yurkevich, J. gen. Chem. (USSR) **44**, 413 (1974) translated from Zh. Obshch. Khim. **44**, 434 (1974).