

a conformational change. If the "on" velocity constants are equal for the addition of a ligand to form a binary and a ternary complex it is reasonable to assume that the "on" reactions take place with similar conformations. If the "off" velocity constants differ in the same system it is a strong indication that the ternary complex has another enzyme conformation than the binary complex. This is the case with horse-liver alcohol dehydrogenase, for which Theorell and McKinley-McKee² observed this regularity for the velocity constants and for which we have subsequently shown that the ternary complex has another crystal structure than the binary complex.^{3,4} The results have been corroborated by optical rotation studies.^{5,6}

1. Monod, J., Wyman, J. and Changeux, J. P. *J. Mol. Biol.* **12** (1965) 88.
2. Theorell, H. and McKinley-McKee, J. S. *Acta Chem. Scand.* **15** (1961) 1834.
3. Brändén, C.-I., Larsson, L. M., Lindqvist, I., Theorell, H. and Yonetani, T. *Arch. Biochem. Biophys.* **109** (1965) 504.
4. Brändén, C.-I. *Arch. Biochem. Biophys.* *In press.*
5. Rosenberg, A., Theorell, H. and Yonetani, T. *Nature* **203** (1964) 755.
6. Rosenberg, A., Theorell, H. and Yonetani, T. *Arch. Biochem. Biophys.* **110** (1965) 413.

Received November 4, 1965.

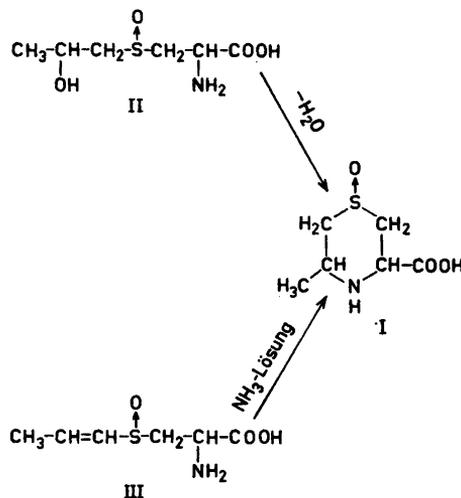
Über die Biosynthese von Cycloalliin

ASMUS L. MÜLLER und
ARTTURI I. VIRTANEN

Laboratorium der Stiftung für Chemische
Forschung, Biochemisches Forschungsinstitut,
Helsinki, Finnland

Cycloalliin (I) in reduzierter Form wurde erstmals in diesem Laboratorium von Virtanen und Matikkala¹ aus der Küchenzwiebel, *Allium cepa*, isoliert. Dass die Verbindung als Sulfoxid in der Zwiebel vorkommt wurde später bewiesen.² Nach

der Aufklärung der Struktur des Cycloalliins und der Synthese desselben wurde es möglich gehalten, dass die Biosynthese von I über die bisher unbekannt Aminosäure II verläuft.³



Etwas später wurde in diesem Laboratorium die Vorstufe der tränentreibenden Substanz der Zwiebel isoliert und als S-(1-Propenyl)-L-cystein-S-oxid (III) charakterisiert.^{4,5} Diese Verbindung (LP) cyclisiert in schwach ammoniakalischer Lösung zu I. Da beide Substanzen in der Zwiebel in grösseren Mengen nachgewiesen werden konnten, lag der Schluss nahe, dass auch die Biosynthese des Cycloalliins in der Zwiebel über die Stufe des LP verläuft.

Um diese Vermutung zu beweisen, wurde ³⁵S-(1-Propenyl)-L-cystein-S-oxid (LP-³⁵S) synthetisiert und Zwiebeln, welche eine Woche in feuchtem Sand gewesen waren, in Form einer wässrigen Lösung eingespritzt. Einen bzw. sieben Tage nach der Injektion wurden die Zwiebeln aufgearbeitet und die Aminosäuren auf einem 2-dimensionalen Chromatogramm getrennt (vgl. Etta-la und Virtanen⁶). Die Lage und Grösse der radioaktiven Flecken wurde durch Autoradiogramme festgestellt, die Intensität mit einem β -Zählrohr gemessen. Aus diesen Daten wurde der Anteil der ³⁵S-Aktivität im Cycloalliin an der gesamten auf dem Chromatogramm vorhandenen ³⁵S-Aktivität bestimmt. Da sich LP während des Aufarbeitens der Zwiebeln teilweise in I umlagert, wurden Kontroll-

Tabelle 1.

Expt.	Dauer	Zwiebel pro Chromatogramm	Aktivitätskennzahl		Aktivität des Cycloalliins/ Gesamtaktivität %
			Cycloalliin	Gesamt	
A	24 h	ca. 0,5 g	265	3 062	8,6
B	24 h	ca. 1 g	621	8 052	7,7
B	24 h	ca. 2 g	1136	14 684	7,7
B	Kontrolle	ca. 1 g	508	6 348	8,1
C	7 Tage	ca. 1 g	676	2 777	24,3 ^a
C	7 Tage	ca. 2 g	1495	6 209	24,0 ^a
C	Kontrolle	ca. 2 g	948	5 520	17,1 ^a

^a Der verwendete LP-³⁵S war vor der Injektion in die Zwiebel, zwecks Reinigung einmal von Dowex IR 120 eluiert worden. Der „Kontrollwert“ ist deshalb doppelt so hoch wie in A und B.

bestimmungen unter identischen Aufarbeitungsbedingungen durchgeführt.

Ergebnis. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, ist die Aktivität des Cycloalliins, das man 24 Stunden nach der Injektion von LP-³⁵S aus der Zwiebel isoliert, nicht höher als die des Cycloalliins im Kontrollexperiment. In früheren Versuchen haben Ettala und Virtanen ^{6,7} gefunden, dass ³⁵SO₄²⁻ von I schneller als von jeder anderen Aminosäure eingebaut wird, sodass, 12 Stunden nach Injektion von ³⁵SO₄²⁻ in Zwiebeln, Cycloalliin als einzige Aminosäure auf dem Autoradiogramm gefunden wird.

Aus der Gegenüberstellung dieser beiden Versuche darf der Schluss gezogen werden, dass in der Zwiebel LP nicht die direkte Vorstufe von Cycloalliin ist. Dass man 7 Tage nach der Injektion von LP-³⁵S eine deutlich über dem Kontrollwert liegende Markierung von I findet, kann auf Sekundärreaktionen, z.B. enzymatischen Ab- oder Umbau des LP-³⁵S und Wiedereinbau des ³⁵S in I auf einem noch unbekanntem Syntheseweg, zurückzuführen sein.

Es ist noch zu erwähnen, dass die *in vitro* Cyclisierung der Cystein-S-oxide anscheinend stark von sterischen Faktoren beeinflusst wird. So cyclisiert S-Vinylcystein-S-oxid (Däbritz und Virtanen ^{8,9}) in schwach ammoniakalischer Lösung innerhalb 24 Stunden fast quantitativ zu Norcycloalliin. Unter den gleichen Bedingungen cyclisiert LP nur teilweise zu I,

während eine Cyclisierung von S-Butenylcystein-S-oxid (Müller und Virtanen ¹⁰) garnicht beobachtet werden konnte.

Diese Untersuchung wurde zum Teil durch einen Zuschuss des U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, unterstützt.

1. Virtanen, A.I. und Matikkala, E.J. *Suomen Kemistilehti B* 29 (1956) 134.
2. Matikkala, E.J. und Virtanen, A.I. *Suomen Kemistilehti B* 30 (1957) 219.
3. Virtanen, A. I. und Matikkala, E.J. *Acta Chem. Scand.* 13 (1959) 623.
4. Virtanen, A.I. und Späre, C.-G. *Suomen Kemistilehti B* 34 (1961) 72.
5. Virtanen, A.I. und Späre, C.-G. *Suomen Kemistilehti B* 35 (1962) 28.
6. Ettala, T. und Virtanen, A.I. *Acta Chem. Scand.* 16 (1962) 2061.
7. Ettala, T. und Virtanen, A.I. *Unveröffentlicht.*
8. Däbritz, E. und Virtanen, A.I. *Acta Chem. Scand.* 18 (1964) 837.
9. Däbritz, E. und Virtanen, A. I. *Chem. Ber.* 98 (1965) 781.
10. Müller, A.L. und Virtanen, A.I. *Unveröffentlicht.*

Eingegangen am 11. Oktober, 1965.