ETH zürich

ETH Library

# Stereochemische Untersuchungen an den durch Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A-Reduktase- und Dihydroorotat-Dehydrogenase katalysierten Reaktionen

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**
Blattmann, Paul Felix

**Publication date:**
1972

**Permanent link:**
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-000190647

**Rights / license:**
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

Diss. Nr. 4836

# Stereochemische Untersuchungen an den durch Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A-Reduktase- und Dihydroorotat-Dehydrogenase katalysierten Reaktionen

ABHANDLUNG

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

PAUL FELIX BLATTMANN
dipl. Naturwissenschafter ETH
geboren am 16. Juni 1944
von Wädenswil (Kt. Zürich)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. D. Arigoni, Referent
Dr. J. Rétey, Korrefent

Juris Druck + Verlag Zürich
1972

## ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die folgenden stereochemischen Untersuchungen an zwei pyridinnukleotidabhängigen Enzymreaktionen durchgeführt:

A) NMR-spektroskopische Untersuchungen an der Modellverbindung (3RS)-Mevaldinsäure-N-acetylcysteamin-Halbmercaptal ergaben, dass das Halbmercaptal bei pH 3 in der cyclischen Form und bei pH 7,2 überwiegend in der offenen Form vorliegt. Bis jetzt konnte nicht ermittelt werden, ob das Enzym spezifisch für eines der beiden C-5-Epimeren ist.

(3RS)-Mevaldinsäure-CoA-Halbmercaptal, (3RS)-Mevaldinsäure-Pantetheïn-Halbmercaptal und (RS)-Mevaldinsäure wurden als Substrate für die HMG-CoA-Reduktase aus Hefe untersucht. In allen drei Fällen wird unter Verwendung von [$^3$H]-NADPH die bisher unbekannte (3R, 5S)-[$^3H_1$]-Mevalonsäure gebildet. Die Reduktase wirkt also stereospezifisch inbezug auf die Atome C-3 und C-5 der drei untersuchten Substrate.

Kinetische Messungen erlaubten die Bestimmung von $K_m$ und $V_{max}$ für (3RS)- und (3S)-Mevaldinsäure-CoA-Halbmercaptal. Für die andern Substrate konnten diese Werte nicht bestimmt werden, da deren Affinität zum Enzym zu klein ist. Es konnte aber gezeigt werden, dass bei gleicher Konzentration in allen Fällen das (3RS)-Epimerengemisch langsamer reagiert als das Substrat, welches die der natürlichen Mevalonsäure entsprechende absolute Konfiguration an C-3 besitzt.

B) Mit Hilfe des NMR-Spektrums von synthetisch hergestellter (4S, 5R)-[5-$^2H_1$]-Dihydroorotsäure gelang die Zuordnung der Signale im Spektrum von (S)-Dihydroorotat an die diastereotopen H-Atome. Das Signal bei höherem Feld entspricht dem 5-$H_S$-Atom, das Signal bei tieferem Feld dem 5-$H_R$-Atom.

Durch NMR-spektroskopisches Verfolgen des Dehydrogenase-katalysierten H/D-Austausches an (S)-Dihydroorotat und der enzymatischen Reduktion von Orotat in $D_2O$ wurde ermittelt, dass die Dehydrogenase in beiden Fällen ausser dem 4-H-Atom das 5-$H_S$-Atom beansprucht. Dies entspricht, wie bei den früher untersuchten Flavin-abhängigen Dehydrierungen, einer anti-Eliminierung der zwei H-Atome.