

voorkomen. Voor determinatie zij verwezen naar het artikel van Ginns & Sunhede, maar schrijver dezes is gaarne bereid om eventuele vondsten te determineren. Vers materiaal zou ook de mogelijkheid geven tot isolatie en kweek in reinkultuur. Wie dus wat aandacht wil schenken aan een van onze gewoonste paddestoelen, *Collybia dryophila*, kan helpen bij het vinden van een antwoord op de vragen die in bovenstaande regels nog onbeantwoord zijn gebleven.

Literatuur:

- Donk, M.A. (1966). Checklist of European hymenomycetous Heterobasidiae. Persoonia 4: 145-335.
- Ginns, J. & Sunhede, S. (1978). Three species of Christiansenia (Corticaceae) and the teratological galls on *Collybia dryophila*. Bot. Notiser 131: 167-173.
- Hauerslev, K. (1969). *Christiansenia pallida* gen. nov. sp. nov., a new parasitic homobasidiomycete from Denmark. Friesia 9: 43-45. 1969.
- Michael, E. & Hennig, B. (1970). Handbuch für Pilzfreunde, Jena.

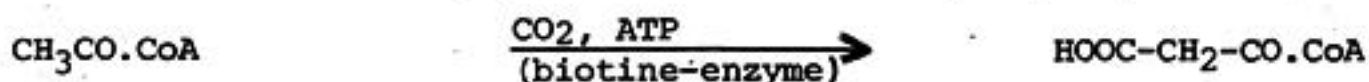
BIOSYNTHESE VAN SCHIMMELMETABOLIETEN II

G.W. van Eijk

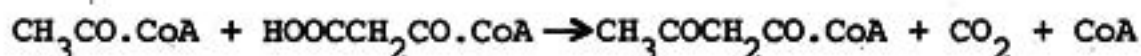
Prof. Fockema Andreaelaan 79
3741 EK Baarn

In een eerste artikeltje (I) gaf ik in een schema de samenhang van de primaire met de sekundaire metabolieten weer en werd tevens de biogenetische oorsprong van laatstgenoemde verbindingen aangeduid. Vermeld werd eveneens dat biosynthetische problemen onderzocht worden met behulp van radio-actief gemerkte stoffen. Op eenvoudige wijze werd de biosynthese van emodine uit radio-actief gemerkt azijnzuur behandeld. Er werd toen geen aandacht geschonken aan de rol, die malonaat bij de biosynthese uit acetaat-eenheden speelt. Dit komt nu ter sprake. Allereerst dient vermeld te worden dat de biosynthetische reacties verlopen via

z.g. geactiveerd azijnzuur en geactiveerd malonzuur, te weten acetyl-CoA (co-enzyme A) en malonyl-CoA. Acetyl-CoA kan gevormd worden door een reactie van azijnzuur met CoA in aanwezigheid van de energierijke verbinding ATP (adenosine trifosfaat) via de z.g. oxidatieve dekarboxylering van aminozuren of via de normale afbraak van koolhydraten en vetten. Malonyl-CoA wordt gevormd uit acetyl-CoA door een karboxyleringsreactie waarbij als CO_2 -donor optreedt een enzyme-gebonden biotine-derivaat. Dit karboxybiotine-enzyme kompleks wordt gevormd in aanwezigheid van ATP. De totale reactie kan weergegeven worden in de vergelijking:



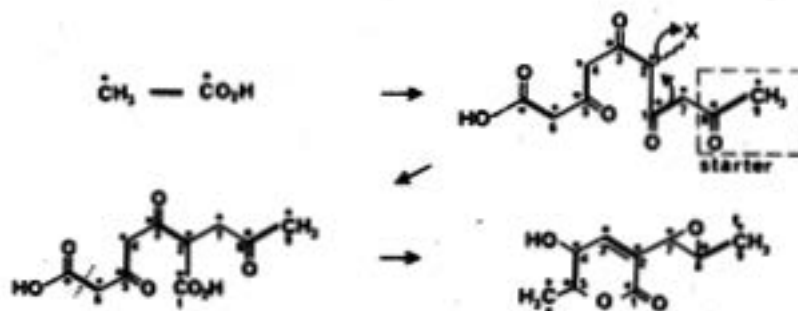
Dit aktieve malonaat is nu in de polyketide (= polyacetaat) synthese het ketenverlengende agens. Het is reactiever dan acetyl-CoA en het afsplitsen van CO_2 tijdens de ketenverlenging maakt de reactie aflopend. Schematisch en sterk vereenvoudigd ziet dit er als volgt uit:



Het ontstane produkt kan weer opnieuw reageren met een molekuul malonyl-CoA tot een molekuul met één azijnzuur meer en dit proces kan zich telkens weer herhalen. Schreven wij in het eerste artikel dat 8 molekulen azijnzuur leiden tot de vorming van 1 molekuul emodine, nu is het beter te zeggen, dat 1 molekuul acetyl-CoA met 7 molekulen malonyl-CoA in elkaar opvolgende reacties voert via het polyacetaat naar de verbinding emodine. Acetyl-CoA fungeert in vele gevallen, ook in bovenstaand voorbeeld, als starter. Echter andere Acyl-CoA (= R-COCoA) starters, zoals propionyl- en isobutyryl-CoA in de vetzuur biosynthese, zijn ook bekend. Zoals reeds eerder vermeld, heeft men tot nu toe vrije polyketomethyleen (= poly-acetaat) verbindingen niet kunnen aantonen. Alle reacties spelen zich af aan één enzymkompleks. Dit maakt het moeilijk om in het molekuul aan te geven welke acetaatgroep de starter is en in wat voor gevouwen toestand de polyacetaat keten reageert tot een metaboliet. Ook deze moeilijkheid is nu overwonnen. Men maakt nu veelvuldig gebruik van een spektroskopische techniek, die kernmagnetische resonantie (= NMR = nuclear magnetic resonance) spektrometrie genoemd wordt. De toepassing berust op het verschijnsel van kernmagnetisme, dat aanwezig is bij atoomkernen met een oneven atoomnummer of oneven massanummer. (^1H , ^{13}C , ^{14}N etc.). Deze kernen hebben een magnetisch moment. Dit soort kernen, zelf een eigen magnetisch veld producerend, kunnen een interactie aangaan met een extern aangelegd magnetisch veld. Voor absorptie van energie (b.v. voor resonantie) door de kernen is een bepaalde frekwentie nodig. Alleen

onder geschikte kondities kan een monster elektromagnetische straling in het radio-frekwentiegedeelte absorberen bij frekwenties beheerst door de karakteristieken van het monster. Een weergave van de frekwentie van de absorptiepieken tegen de piek-intensiteiten levert een NMR spectrum. Kernmagnetische resonantie wordt beheerst door de regels beschreven in de kwantummechanika, een materie, die in het kader van dit stukje niet behandeld kan worden. Er zou echter nooit een absorptie-spectrum, b.v. een ^1H -NMR spectrum ontstaan, als alle H atomen hetzelfde effect zouden geven. Gelukkig voor de chemikus en de bioloog treden er verschillen op doordat de absorptie van een kern mede bepaald wordt door zijn omgeving en dit zowel in chemisch als in magnetisch opzicht. Deze verschillen worden uitgedrukt in z.g. chemische verschuivingen. Ook kunnen signaal gevende kernen met elkaar "koppelen". Deze "koppelingen" laten zich ook herkennen. Zo kan er dus gediskrimineerd worden tussen de verschillende groepen, die in een molekuul aanwezig zijn en dit leidt weer, al dan niet in combinatie met andere technieken, tot een struktuuropheldering.

Is de kernmagnetische resonantie spektrometrie gestart met het meten van protonen (^1H -NMR), de laatste jaren heeft de ^{13}C -NMR dank zij verbeterde apparatuur grote toepassing gevonden in het oplossen van biosynthetische problemen. Eén voorbeeld wil ik hier behandelen. Het betreft een pyron metaboliet van *Aspergillus melleus* (Simpson and Holker, 1975). Proeven met (^{14}C)-acetaat hadden reeds de radio-actieve plaatsen in het molekuul vastgelegd, zoals hieronder weergegeven. De aanwezigheid van een binding tussen 2 C atomen (C2 en C7) beiden afkomstig van de methyl van azijnzuur, maakte het moeilijk de synthese te verklaren op basis van een normale polyketide biosynthese. Onderzoekingen waarbij ^{13}C "labeling" in het molekuul werd nagegaan, na *A. melleus* te hebben laten groeien in aanwezigheid van dubbel gemerkt ^{13}C -acetaat, d.w.z. ^{13}C zowel in de methylgroep als in de karboxylgroep van het molekuul azijnzuur, brachten dit probleem tot een oplossing. Zonder op details in te gaan maakte het ^{13}C -NMR onderzoek het zeer aannemelijk dat de pyron-verbinding gevormd wordt uit een pentaketide precursor zoals aangegeven in het schema. In dit verband kan nog opgemerkt worden dat een andere wijze van vouwen van dezelfde pentaketide met daaropvolgende reactie aanleiding geeft tot de biosynthese van melleine, een andere metaboliet van *A. melleus*.



Het symbool X staat voor een halogeen atoom. De aangegeven reaktie staat in de organische chemie bekend als de Favorskii-omlegging. Of de reaktie inderdaad zo verloopt als aangegeven is nog niet bewezen.

Summary

In a second paper of a series entitled "Biosynthesis of fungal metabolites" the role of malonyl-CoA in the biosynthesis of secondary metabolites via the polyketide pathway is described. The importance of ^{13}C -NMR spectroscopy in structural elucidation of natural compounds is briefly mentioned. The application of this spectroscopic technique is indicated, e.g. to identify the starter and to demonstrate the folding patterns of the polyketide during reaction.

Literatuur

1. Eijk, G.W. van (1975). Biosynthese van Schimmelmetabolieten - Coolia 18: 99.
2. Simpson, T.J. and Holker, J.S.E. (1975). The biosynthesis of a pyrone metabolite of *Aspergillus melleus* an application of long-range ^{13}C - ^{13}C coupling constants. Tetrahedron Letters: 4693.

DE SOORTEN VAN HET GESLACHT PANAEOLUS II. SLEUTEL TOT DE EUROPESE SOORTEN

E. Kits van Waveren

Koninginneweg 136
1075 EL Amsterdam

Deze sleutel is deels gebaseerd op eigen onderzoek, deels op gegevens uit de sleutels van Kühner & Romagnesi (1953), Hora (1957) en Ola'h (1969), daar van enkele soorten geen materiaal ter beschikking stond. Zoals al in de inleiding vermeld, nemen wij als belangrijk sleutelkenmerk van Hora de sporevorm en van Ola'h de sporegrootte over. Achter elke soort staat het aantal