

# DIE CHEMIE

(Angew. Chemie, neue Folge)

55. Jahrgang, Nr. 19/20, Seiten 147-162, 9. Mai 1942

## Desaminierung, Aminierung und Umaminierung

Von Dr. THEODOR WIELAND

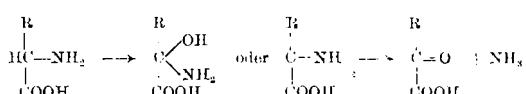
Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg

Die Reaktionen der Aminogruppe, ihre Abspaltung aus der Bindung an Kohlenstoff, ihre Einführung in organische Verbindungen und ihre Übertragung vom einen zum anderen Molekül sind für die biologische und präparative Chemie von hoher Bedeutung. In diesem Zusammenhang soll nicht die Rede sein von allen hydrolytischen Abspaltungen, also dem Austausch der Aminogruppe gegen Hydroxyl, wie er für die Umwandlung gewisser Aminosäuren im Organismus erörtert worden ist<sup>1)</sup> und bei allen chemischen und enzymatischen Verseifungen von Säureamiden auftritt. Auch sollen alle die Verbindungen, bei denen die Aminogruppe an einem doppelt gebundenen C-Atom haftet, wie bei den Aminopurinen und Guanidinabkömmlingen, hier nicht behandelt werden, sondern nur Reaktionen von Aminoverbindungen der allgemeinen Formel  $\text{R}_1\text{C}-\text{NH}_2$  und einiger N-Alkylderivate, wobei  $\text{R}_1$  und  $\text{R}_2 = \text{H}$  sein können. Die wichtigsten Aminoverbindungen, die hier interessieren, sind die Bausteine des Eiweißes, die Aminosäuren.

Über den biologischen Ab- und Aufbau der Aminosäuren hat W. Franke vor einiger Zeit in dieser Zeitschrift eine ausführliche Zusammenfassung veröffentlicht, worin insbesondere die an diesen Reaktionen beteiligten Fermente genau behandelt sind<sup>2)</sup>, so daß in vorliegendem Aufsatz, in dem den biologischen Reaktionen der Aminogruppe die ähnlichen präparativen gegenübergestellt werden, auf eine eingehende Darstellung der fermentchemischen Seite verzichtet wird. Doch ließ sich eine Wiederholung von bereits Gesagtem, wenn sie zum Verständnis unerlässlich ist, nicht überall vermeiden.

### Aminosäureoxydation.

Die ersten Erkenntnisse über das Verhalten der Aminosäuren im Verlauf ihrer Verbrennung in der lebenden Zelle stammen aus den Jahren um 1910. Damals wurde auf Grund von Versuchen, die Knoop durch Verfütterung von phenylsubstituierten Aminosäuren<sup>3)</sup> und Neubauer außerdem am Leberdurchströmungspräparat<sup>4)</sup> und mit gärendem Hefe<sup>5)</sup> anstellten, der Schluß gezogen, daß der erste Schritt des oxydativen Abbaus der Aminosäuren zu den entsprechenden  $\alpha$ -Ketosäuren führe. Als Zwischenprodukt wurde eine Oxyamino- oder Iminosäure angenommen:



Es wird also die Aminogruppe im Verlauf einer Dehydrierungsreaktion als Ammoniak abgespalten, man spricht von einer oxydativen Desaminierung.

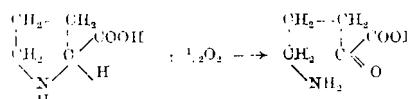
Eine solche war schon viel früher von Strecker aufgefunden worden. Er zeigte, daß Aminosäuren durch  $\text{PbO}_2$  unter Eliminierung von Ammoniak oxydiert werden<sup>6)</sup>. Dabei findet jedoch quantitativ Decarboxylierung statt, so daß als Produkte  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  und der um ein C-Atom ärmer Aldehyd erhalten werden. Nach Neubauers und Knoops physiologischen Versuchen hat es nicht an Arbeiten gefehlt, die den im Organismus aufgefundenen Reaktionsverlauf, die primäre Bildung einer  $\alpha$ -Ketosäure, in vitro nachzuahmen versuchten. Als Fermentmodelle wurden Fe-haltige Tierkohle<sup>7)</sup> oder Palladium<sup>8)</sup> und Sauerstoff gewählt, doch gelang es nie, aus den Ansätzen die  $\alpha$ -Ketosäure, geschweige denn die Iminosäure zu fassen. Immer trat Abspaltung von  $\text{CO}_2$  ein. Dasselbe beobachtete

man bei Anwendung von Oxydationsmitteln, wie Chloramin<sup>9)</sup>, Peroxyd<sup>10)</sup>, Silberoxyd<sup>11)</sup>, Ozon<sup>12)</sup> u. a.

Erst Krebs<sup>13)</sup> gelang es, auf enzymatischem Weg in vitro den exakten Beweis für die Richtigkeit der bestehenden Ansicht zu erbringen. Über die erfolgreiche Darstellung und Aufklärung der d-Aminosäure-oxydase hat W. Franke in dieser Zeitschrift seinerzeit genau berichtet<sup>2)</sup>.

Die d-Aminosäureoxydase dehydriert mehr oder weniger rasch alle  $\alpha$ -Aminosäuren der d-Reihe, außer  $\beta$ -Oxy-glutaminsäure. Ist die Möglichkeit zu einer paarigen Abgabe der Wasserstoffatome nicht gegeben, so findet, wie im Beispiel der  $\alpha$ -Amino-isobuttersäure  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ , keine Reaktion statt.

Auch Glykokoll, das kein optisch aktives C-Atom besitzt, wird nicht angegriffen. Hingegen reagieren auch  $\alpha$ -Aminosäuren mit einer sek. Aminogruppe. Aus d-N-Methylalanin entsteht unter Abspaltung von Methylamin Brenztraubensäure, und d-Prolin wird zu  $\alpha$ -Keto- $\delta$ -amino-valeriansäure dehydriert<sup>14)</sup>, zur selben Säure, die auch bei der oxydativen Desaminierung von d-Ornithin entsteht:



Auch die  $\alpha,\alpha'$ -Imino-dipropionsäure, welche an beiden asymmetrischen Kohlenstoffatomen d-Konfiguration besitzt, wird durch d-Aminosäureoxydasepräparate zu 2 Mol Brenztraubensäure und 1 Mol Ammoniak dehydriert<sup>14)</sup>.

Das Enzymsystem, das die oxydative Desaminierung der l-Aminosäuren katalysiert, die l-Aminosäureoxydase, ist wesentlich empfindlicher<sup>15)</sup>. Sie wird durch Cyanid oder Octylalkohol gehemmt und ist an die Struktur der Zelle gebunden, so daß es nicht möglich ist, sie aus Gewebeschnitten in Lösung zu bringen. Aber auch der Rückstand eines solchen Extraktionsversuches hat seine l-Aminosäure-dehydrierende Eigenschaft verloren, ohne daß sie nach Zugabe des Extraktes wieder zurückkehren würde.

Krebs wies nach, daß es sich dabei um einen Verdünnungseffekt an dem aus mehreren Komponenten bestehenden Enzymsystem handelt, wie er auch von Macfadyen u. a. bei Enzymen der Gärung und der Atmung festgestellt wurde<sup>16)</sup>. Nierenbrei desaminiert nämlich in 4facher Verdünnung mit Pufferlösung l-Aminosäuren ebenso rasch, wie Nierenschnitten dies tun, die Desaminiergeschwindigkeit nimmt aber mit zunehmender Verdünnung des Brois schnell auf den Leerwert ab. Da es sich bei der l-Aminosäureoxydase, wie später sehr wahrscheinlich gemacht werden konnte, um ein System aus mehreren Komponenten handelt, muß mit wachsender Verdünnung die Wahrscheinlichkeit eines gleichzeitigen Zusammentreffens aller Reaktionsteilnehmer stark absinken. Der Struktur der Zelloberflächen kommt in dem heterogenen System, wie es bei all diesen enzymatischen Reaktionen vorliegt, die Aufgabe zu, alle Reaktionspartner in einer solchen Weise anzurufen, daß es dennoch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit zu Dreier- oder Mehrfachstößen kommt.

Beide Enzyme, die l- und die d-Aminosäureoxydase, kommen immer zusammen in den Organen vor und haben möglicherweise eine gemeinsame Komponente.

Für die oxydative Desaminierung der 1-Glutaminsäure, die im Stoffwechsel eine zentrale Stellung einnimmt,

<sup>1)</sup> Kotake u. Mitarb., Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **89**, 232 [1916]; Biochemie, J. **10**, 319 [1916], **11**, 79 [1917].

<sup>2)</sup> Diese Ztschr. **52**, 695, 708 [1939].

<sup>3)</sup> Oxydationen im Tierkörper, Stuttgart 1931.

<sup>4)</sup> Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **67**, 219, 230 [1910].

<sup>5)</sup> Ebenda **70**, 1, 326 [1911].

<sup>6)</sup> Liebigs Ann. Chem. **75**, 27 [1880].

<sup>7)</sup> Warburg u. Negelein, Biochem. Z. **113**, 257 [1921], **142**, 493 [1923].

<sup>8)</sup> Wieland u. Bergel, Liebigs Ann. Chem. **493**, 196 [1924]; Bergel u. Boltz, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **220**, 20 [1933].

<sup>9)</sup> Dakin u. Mitarb., Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **89**, 232 [1916]; Biochemie, J. **10**, 319 [1916], **11**, 79 [1917].

<sup>10)</sup> Dakin, J. biol. Chemistry **1**, 171 [1905], **4**, 63 [1908], **5**, 409 [1909].

<sup>11)</sup> Herbst u. Clarke, ebenda **104**, 769 [1934].

<sup>12)</sup> Krebs, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **217**, 191 [1933]; Biochemie, J. **29**, 1620 [1935].

<sup>13)</sup> Krebs, Enzymologia [Den Haag] **7**, 53 [1939].

<sup>14)</sup> Karrer, Koenig u. Legler, Helv. chim. Acta **24**, 861 [1941].

<sup>15)</sup> Harden: Alcoholic fermentation; Warburg, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **70**, 413 [1911]; Ergebn. Physiol., biol. Chem. exp. Pharmacol. **14**, 323 [1914]; Lyuen, Liebigs Ann. Chem. **539**, 1 [1939].

konnte von v. Euler u. Mitarb. die Notwendigkeit eines eigenen Fermentes nachgewiesen werden, welches je nach Herkunft durch Codehydrase I oder II aktiviert wird<sup>16)</sup>. Die experimentell gesicherte Umkehrbarkeit dieser Reaktion zeigt einen Weg der biologischen Aminosäuresynthese, nämlich den aus  $\alpha$ -Ketosäuren + Ammoniak, wie er für viele Aminosäuren durch Fütterungs- und Organdurchströmungsversuche bereits sehr wahrscheinlich gemacht war und auch im Reagensglas verwirklicht werden konnte (vgl. den Aufsatz von Franke).

In den letzten Jahren haben Schoenheimer u. Mitarb. in Amerika das Stickstoffisotop N<sup>15</sup> zu Fütterungsversuchen herangezogen, um zu sehen, in welchem Maß und in welchem Verhältnis die Aminosäuresynthese im Tierkörper vor sich geht<sup>17)</sup>. Zu diesem Zweck wurde N<sup>15</sup>-haltiges Ammoniumcitrat an proteinärn ernährte Ratten verfüttert und das Gesamtprotein der Versuchstiere nach einiger Zeit analysiert. Dabei zeigte es sich, daß die Aminodicarbonsäuren Glutaminsäure und Asparaginsäure besonders viel N<sup>15</sup> enthielten, also am intermediären Ammoniakstoffwechsel hervorragend beteiligt sein müssen; in Glykokoll, Prolin und Histidin wurde auch isotoper Stickstoff wiedergefunden. Beim Arginin jedoch saß der markierte Stickstoff nur in der Guanidogruppe. Die  $\alpha$ -Aminogruppe enthielt keinen N<sup>15</sup>, ebensowenig die des Lysins. Diese Aminosäuren werden also im Körper nicht synthetisiert und ebensowenig desaminiert. Unnatürliches Lysin wird demgemäß auch von Mäusen nicht verwertet, während z. B. d-Tryptophan und d-Histidin an Stelle der natürlichen Formen verwendet werden können<sup>18)</sup>. Der Organismus desaminiert diese natürlichen Säuren zu den entsprechenden  $\alpha$ -Ketosäuren und synthetisiert sich daraus die natürlichen Aminosäuren, wie er sie zum Einbau in sein Eiweiß braucht.

### Desaminierung von Aminen.

#### Monoaminoxydase.

Das Prinzip der oxydativen Desaminierung im Organismus trifft man auch für viele Amine an. Die bisher in tierischen Organen aufgefundenen Aminoxydasen sind: 1. Die Adrenalinoxydase<sup>19a)</sup>, 2. die Tyraminoxydase<sup>19b)</sup>, 3. die Aminoxydase für aliphatische Amine<sup>20)</sup> und 4. die Histaminoxydase<sup>21)</sup>.

Die drei ersten Oxydasen, die nach dem Substrat, an dem sie entdeckt wurden, benannt sind, sind höchstwahrscheinlich keine verschiedenen Enzyme, sondern stellen ein Individuum dar, die Monoaminoxydase<sup>22)</sup>. Sie kommt in Säugetierleber, -darm, -niere, -hirn und -lunge vor und läßt sich nach dem Vermahlen dieser Organe mit Quarzsand mit Phosphatpuffer extrahieren. Die so gewonnenen Fermentlösungen desaminieren unter Sauerstoff, der sich nicht durch Methylenblau ersetzen läßt, mehr oder weniger rasch eine große Reihe von biogenen und künstlichen Aminen:

	Verbindung	Oxydierbarkeit durch Monoaminoxydase
Tyramin .....		.. ++ +
Adrenalin .....		.. .. +
Sympatol .....		++ +
Isoamylamin .....		++ +
Hordenin .....		..
Ephedrin .....		..
Isopropylamin .....		..
Histamin .....		..
Taurin .....		-

<sup>16)</sup> v. Euler, Adler, Günther u. Dus, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **254**, 61 [1938].

<sup>17)</sup> Foster, Schoenheimer u. Rittenberg, J. biol. Chemistry **127**, 319 [1939].

<sup>18)</sup> Conrad u. Berg, ebenda **117**, 351 [1937]. <sup>19a)</sup> Blaschko, J. Physiology **90**, 1 [1937].

<sup>19b)</sup> Hare, Biochemie, J. **22**, 968 [1928]; Kohn, ebenda **31**, 1693 [1937].

<sup>20)</sup> Pugh u. Quastel, ebenda **31**, 286, 2306 [1937].

<sup>21)</sup> Best u. McHenry, J. Physiology **70**, 349 [1930].

<sup>22)</sup> Blaschko u. Mitarb., Biochemie, J. **31**, 2187 [1937], **33**, 1338 [1939].

Wie aus der Tabelle hervorgeht, werden durch die Monoaminoxydase alle Monoamine gespalten, die an ihrem Gerüst keine polare Gruppe tragen, seien sie nun primär oder wie im Falle des Adrenalin und Sympatols am Stickstoff sekundär. Interessanterweise wird auch Hordenin, wenn auch in geringem Maß, angegriffen, obwohl es mit seinem tertiären N-Atom nicht in ein Imin übergehen kann.

Man formuliert den ersten Schritt der Aminoxydation folgendermaßen:



Wasserstoffperoxyd konnte zwar nicht als solches nachgewiesen, sein Auftreten aber aus der Tatsache geschlossen werden, daß zugesetzter Alkohol unter Vermittlung einer Häminverbindung zu Acetaldehyd dehydriert wird<sup>23)</sup>. Wenn die Aminoxydasepräparate auch bei der Weiterreinigung die Fähigkeit zur Oxydation von tert. Aminen beibehalten sollten, so muß der Mechanismus dieser Desaminierung ein anderer sein, als der für die  $\alpha$ -Aminosäuren geltende. Eine Dehydrierung zur Iminogruppe ist ja für tert. Amine nicht möglich.

Unerlässlich für die Oxydierbarkeit durch Aminoxydase ist ein unsubstituiertes  $\alpha$ -Kohlenstoffatom. Isopropylamin und Ephedrin werden z. B. nicht oxydiert, obwohl letzteres eine starke Affinität zum Ferment besitzt, was sich in der stark hemmenden Wirkung zeigt, die es auf die Oxydation anderer Amine durch Monoaminoxydase ausübt.

Der Nachweis der Notwendigkeit einer prosthetischen Gruppe konnte für das Ferment bis heute nicht erbracht werden.

#### Diaminoxydase.

Aus der Tabelle geht auch hervor, daß Histamin, das außer der Aminogruppe noch eine polare Stelle enthält, durch Monoaminoxydase nicht angriffen wird. In Säugetierorganen, besonders in Schweineniere, kommt aber ein anderes Ferment vor, welches Histamin und, wie Zeller später zeigen konnte, auch Putrescin, Cadaverin und andere Diamine an einer Aminogruppe zu oxydieren vermag. Man nennt es heute Diaminoxydase. Die von ihr katalysierte Reaktion wird wie bei der Monoaminoxydase formuliert. Auch hier tritt Wasserstoffperoxyd als Zwischenprodukt auf. Zeller konnte durch Extraktion mit 50%igem Aceton bei 38° ein Coferment abtrennen, das vielleicht Flavinnatur hat. Bei seiner Autoxydation bildet sich Wasserstoffperoxyd, welches durch eine in allen Organen vorkommende Häminverbindung Indigo-disulfonat oxydierend entfärbt kann. Mit dieser empfindlichen Farbreaktion hat Zeller eine große Reihe von Organen der verschiedensten Tiere auf ihren Diaminoxydase-Gehalt hin untersucht. Die menschliche Placenta ist ziemlich reich an dem Ferment, so daß im Blutserum schwangerer Frauen ein erhöhter Diaminoxydase-Spiegel festzustellen ist.

Wie bei der Monoaminoxydase, so hemmt auch bei der Diaminoxydase Ephedrin die Oxydation des Substrats. Die Bindungsverhältnisse Substrat/Ferment sind möglicherweise bei beiden Fermenten ähnlich. Außer Ephedrin hemmen die Diaminoxydase alle Carbonylreagentien, wie Hydroxylamin, Semicarbazid, Thiosemicarbazid, Dimethylcyclohexandion und Bisulfit, wie Zeller glaubt, durch Besetzung einer Carbonylgruppe des Ferments, welche die Aminogruppe des Substrats als Schiff'sche Base zu binden hätte.

Ein weiteres physiologisch wichtiges Amin, das Aneurin, wird nicht oxydiert, hat aber eine doppelt so große Affinität zum Enzym wie Histamin, was sich in einer Hemmung des Histaminabbaus durch Aneurin kundtut. Demgemäß zeigt die Niere B<sub>1</sub>-avitaminotischer Ratten eine deutliche Histaminoxydase-Aktivität im Gegensatz zu der normalen. Bei der physiologischen Aktivität des Histamins kommt diesen Verhältnissen vielleicht eine große Bedeutung zu<sup>24)</sup>.

Für den oxydativen Abbau von Dioxyphenylalanin gibt es nach Holtz u. Mitarb.<sup>25)</sup> einen mit Hilfe von zwei getrennten Fermenten verlaufenden Mechanismus. Dabei wird zunächst die Aminosäure durch eine in Niere, Leber und Darm einiger Tierarten vorkommende, durch Blausäure hemmbare „Aminosäuredcarboxylase“ quantitativ unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung in das Amin übergeführt, welches dann der Oxydation durch Aminoxydase und Sauerstoff anheimfällt. Dieses Fermentsystem ist nur auf natürliches Dioxyphenylalanin eingestellt.

<sup>23)</sup> Keilin u. Hartree, Proc. Roy. Soc. [London], Ser. B **119**, 141 [1936].

<sup>24)</sup> Zeller u. Mitarb., Helv. chim. Acta **20**, 717 [1937], **21**, 880, 1645 [1938], **22**, 837, 1381 [1939], **23**, 3, 1418, 1502 [1940], **24**, 117, 539 [1941].

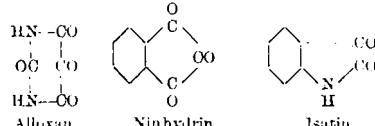
<sup>25)</sup> Holtz, Reinhold u. Credner, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **261**, 278 [1939].



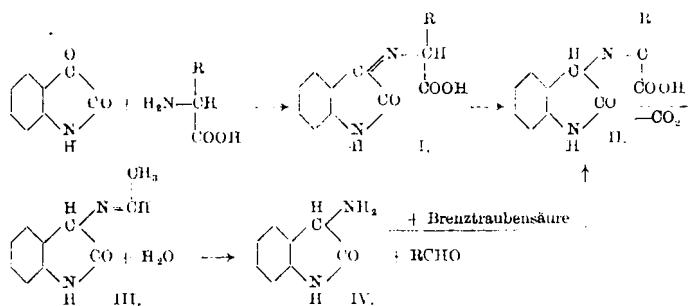
Deuterium gelangt auf beiden Wegen bei der Decarboxylierung in Bindung mit Kohlenstoff und bei der Verschiebung der Doppelbindung in die  $\alpha$ -Stellung.

### Reaktionen der Carbonylgruppe mit der Aminogruppe.

Die Reaktion  $\text{CO} + \text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{H} \rightarrow \text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2$ , bei der unter Wasseraustritt die Gruppierung der „Schiff'schen Basen“ gebildet wird, ist sehr häufig anzutreffen. Sie führt, auf die Aminosäuren im Reagensglas bei höherer Temperatur angewendet, immer zur Desaminierung und  $\text{CO}_2$ -Abspaltung und zur Bildung der um ein C-Atom ärmeren Aldehyde. Die Beobachtung Streckers, daß Aminosäuren mit Alloxan oxydativ desaminiert und decarboxyliert werden, ist die erste dieser Art<sup>38)</sup>. Später hat man noch weitere carbonylhaltige Verbindungen aufgefunden, welche dieselbe Reaktion geben und die auch zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren auf Grund des entwickelten  $\text{CO}_2$  oder des gebildeten Aldehyds herangezogen worden sind, so das Ninhydrin<sup>39)</sup> und Isatin<sup>40)</sup>:

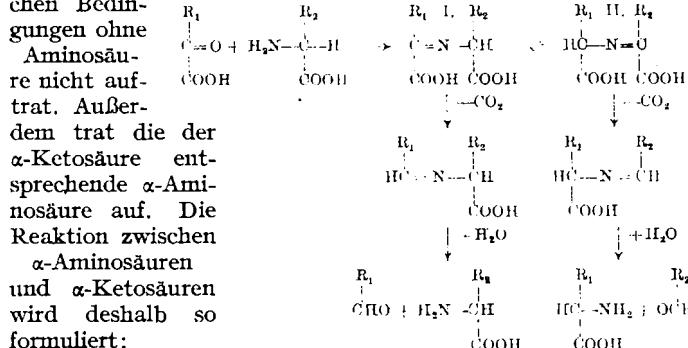


Für die Reaktion von Aminosäuren mit Isatin hat Franke folgenden Mechanismus vorgeschlagen<sup>41)</sup>:



Wie Langenbeck gezeigt hat, spaltet nämlich Verbindung II außerordentlich leicht  $\text{CO}_2$  ab<sup>42)</sup>. Sie entsteht auch aus Brenztraubensäure und Amino-oxindol (IV). Da sich die Schiff'sche Base III mit überschüssiger Brenztraubensäure wieder zu II und Aldehyd umsetzt, wirkt IV als ausgezeichnetes Decarboxylierungsmittel für  $\alpha$ -Ketosäuren.

Die Reaktion Carbonyl-Aminogruppe wurde auch auf Carbonylverbindungen übertragen, die natürlicherweise im Stoffwechsel auftreten. Neuberg beobachtete z. B., daß Aminosäuren mit Methylglyoxal bei gewöhnlicher Temperatur unter Verlust der optischen Aktivität reagieren und unter  $\text{CO}_2$ - und  $\text{NH}_3$ -Entwicklung dehydriert werden<sup>43)</sup>. Dieselbe Spaltung konnte Akabori mit Glucose erreichen<sup>44)</sup>. Herbst u. Mitarb. haben diese Reaktion später auch auf  $\alpha$ -Ketosäuren übertragen<sup>45)</sup>. Dabei wurde beim Kochen in wässriger Lösung neben dem Aldehyd, der durch Dehydrierung und Decarboxylierung aus der Aminosäure entsteht, auch das Decarboxylierungsprodukt der verwendeten  $\alpha$ -Ketosäure, der um 1 C-Atom ärmeren Aldehyd gefunden, der unter gleichen Bedingungen ohne



<sup>38)</sup> Liebigs Ann. Chem. **123**, 363 [1862]; Hurtley u. Wootten, J. chem. Soc. [London] **99**, 288 [1911].

<sup>39)</sup> Ruemann, ebenda **97**, 2025 [1910], **99**, 792, 1486 [1911]; Van Slyke u. Dillon, C. R. Trav. Lab. Carlberg, Sér. chim. **22**, 480 [1938]; Mason, Biochemic. J. **32**, 719 [1938]; Virtanen, Laine u. Toivonen, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **266**, 193 [1940].

<sup>40)</sup> Traube, Ber. dtsch. chem. Ges. **44**, 3145 [1911].

<sup>41)</sup> Biochem. Z. **288**, 280 [1938].

<sup>42)</sup> Langenbeck, Hutschenreuter u. Jüttmann, Liebigs Ann. Chem. **485**, 53 [1931].

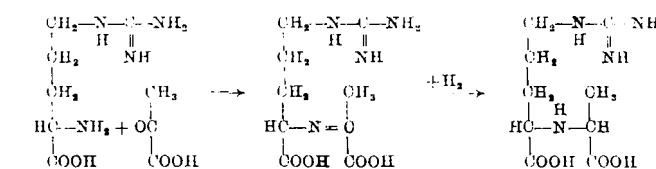
<sup>43)</sup> Neuberg u. Kobel, Biochem. Z. **188**, 197 [1927].

<sup>44)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 143 [1933].

<sup>45)</sup> Herbst, Engel, J. biol. Chemistry **107**, 505 [1934]; Herbst, J. Amer. chem. Soc. **58**, 2239 [1937].

Das primäre Reaktionsprodukt I kann sich also, ähnlich wie vorhin, unter Verschiebung der Doppelbindung zu II umlagern.

Die Zwischenprodukte I und II lassen sich nicht isolieren. Knoop unterwarf aber ein Gemisch von Arginin und Brenztraubensäure der katalytischen Hydrierung und konnte auf diese Weise Octopin synthetisieren<sup>46)</sup>.



Octopin, das aus Octopus oder Kammuscheln isoliert werden kann, entsteht auch im Kammmuskelmuskel aus Arginin bei der Autolyse<sup>47)</sup>.

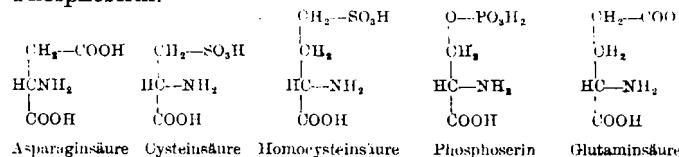
### Umaminierung.

Die Octopinbildung ist das einzige Beispiel einer spontanen Kondensation einer Aminosäure mit einer Ketosäure bei gewöhnlicher Temperatur. Für andere Aminosäuren, bei denen die Aminogruppe als Ammoniumion fungiert, konnte eine Kondensation weder durch Hydrierung des Gemisches mit  $\alpha$ -Ketosäure noch durch potentiometrische Titration nachgewiesen werden<sup>48)</sup>. Im Organismus hingegen findet eine fermentative Reaktion zwischen Aminosäuren und  $\alpha$ -Ketosäuren statt. Nachdem schon 1930 Moyle-Needham beobachtet hatte, daß im Muskelbrei Glutaminsäure anaerob verschwindet, ohne daß sich der Aminostickstoffgehalt des Ansatzes änderte<sup>49)</sup>, untersuchten Braunstein u. Mitarb. den Umsatz von Glutaminsäure mit Brenztraubensäure in Gegenwart von Muskelbrei und konnten eine Vermehrung des Alaningehalts feststellen<sup>50)</sup>. Dabei hatte die Aminosäure ihre Aminogruppe auf die  $\alpha$ -Ketosäure übertragen und war selbst in eine solche,  $\alpha$ -Keto-glutarsäure, übergegangen. Die in der organischen Welt weitverbreitete Umaminierung<sup>51)</sup> ist in der Folgezeit einer sehr genauen Untersuchung unterzogen worden.

Experimentelle Schwierigkeiten boten anfänglich die Methoden für die genaue Bestimmung von Alanin und Glutaminsäure. Fremegeot und Heitz haben nun eine sehr spezifische Reaktion für Alanin ausgearbeitet<sup>52)</sup>. Dabei werden die durch Umsetzung mit Nitrit erhaltenen Oxysäuren mit Permanganat unter Zusatz von Quecksilberacetat oxydiert, wodurch die Bildung von Acetaldehyd aus Äpfelsäure (aus Asparaginsäure) verhindert wird, und nur Milchsäure in Acetaldehyd übergeht. Dieser wird nach dem Destillieren in einer Farbreaktion mit Piperazin und Nitroprussidnatrium colorimetrisch bestimmt.

Für Glutaminsäure hat Cohen eine sehr empfindliche Bestimmungsmethode ausgearbeitet<sup>53)</sup>. Dabei wird Glutaminsäure mit Chloramin T zum Halbnitril der Bernsteinsäure oxydiert und dieses zu Bernsteinsäure verseift. Diese wird auf Grund ihres Sauerstoffverbrauchs mit Succinodehydrase manometrisch bestimmt.

Es reagieren direkt mit Brenztraubensäure (schwächer mit anderen  $\alpha$ -Ketosäuren, wie  $\alpha$ -Keto-buttersäure, Dimethyl-, Methyl-äthyl-brenztraubensäure, Oxalessigsäure und Phenylbrenztraubensäure) nur die Aminodicarbonsäuren Glutaminsäure und Asparaginsäure und die in ihrer polaren Struktur ähnlichen Verbindungen Cysteinsäure, Homocysteinsäure und Phosphoserin.



Die Übertragung der Aminogruppe von Glutamin- und Asparaginsäure auf  $\alpha$ -Ketosäuren ist reversibel und führt zu einem Gleichgewicht. Dabei sind zwei spezifische auf die natürlichen Formen eingestellte Fermente beteiligt, die Aminopherasen. Man spricht von der Glutamico- und

<sup>46)</sup> Knoop u. Martin, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **254**, 1 [1938], **258**, 238 [1939].

<sup>47)</sup> Irvin u. Wilson, J. biol. Chemistry **127**, 575 [1939].

<sup>48)</sup> Braunstein, Enzymologia [Den Haag] **7**, 40 [1939].

<sup>49)</sup> Needham, Biochemic. J. **24**, 206 [1930].

<sup>50)</sup> Braunstein u. Kitzmann, Enzymologia [Den Haag] **8**, 129, 138 [1937].

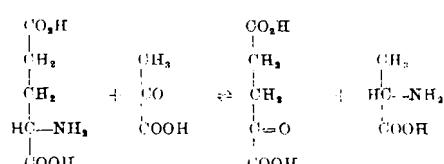
<sup>51)</sup> Die Umaminierungsreaktion wird auch bei Pflanzen beobachtet. Virtanen u. Laine, Nature [London] **141**, 748 [1938]; Biochem. Z. **308**, 213 [1941].

<sup>52)</sup> Mikrochim. Acta [Wien] **3**, 52 [1938].

<sup>53)</sup> Biochemic. J. **33**, 551 [1939].

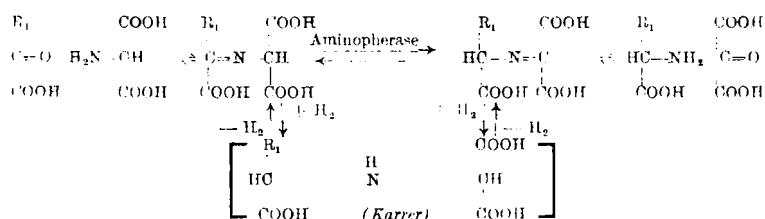
Asparticoaminopherase. Aus letzterer ließ sich ein niedermolekulares, dialysierbares Coenzym abtrennen, dessen Konstitution noch nicht bekannt ist.

Eine direkte Übertragung der Aminogruppe einer Aminoiminoacidsäure auf eine  $\alpha$ -Ketosäure ist nicht möglich. Da aber die Umanaminierung eine reversible Reaktion ist,



kann  $\alpha$ -Keto-glutarsäure oder Oxalessigsäure die Aminogruppe, die sie von einer beliebigen  $\alpha$ -Aminosäure aufgenommen hat, auf eine andere  $\alpha$ -Ketosäure übertragen. Demgemäß wirken kleine Mengen von Asparaginsäure, Oxalessigsäure, Glutaminsäure und  $\alpha$ -Keto-glutarsäure katalytisch bei einer Umaminierung zwischen  $\alpha$ -Amino- und  $\alpha$ -Keto monooxcarbonsäuren. Die schwefel- und phosphorhaltigen Analoga zeigen diese Wirkung aber nicht<sup>54)</sup>. Nach Cohen ist die Auswahl der zur gegenseitigen Umaminierung befähigten Säuren eine strenger spezifische<sup>55)</sup>.

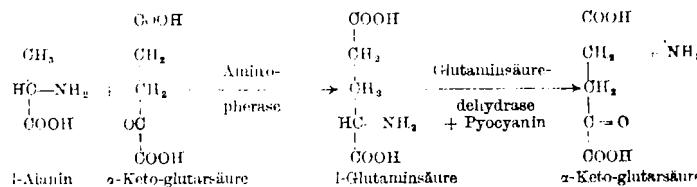
Der Uraminierungsreaktion liegt nach *Braunstein* folgende Reaktion zugrunde, deren Abbild die *Herbstsche* Reaktion darstellt:



Karrer erwägt die Möglichkeit, daß die Verschiebung der Doppelbindung über eine reversible enzymatische Hydrierung und Dehydrierung des Kondensationsproduktes beider Komponenten verlaufen könnte<sup>16a,66</sup>). Octopin wird nämlich nach ihm durch Leberbrei glatt dehydriert. Nach Braunstein greift das Ferment „Aminopherasc“ ebenfalls bei der Gleichgewichtsreaktion zwischen den beiden Kondensationsprodukten ein, während die Kondensationsreaktion selbst eine spontane sein soll. Allerdings kann, wie schon gesagt, eine spontane Kondensation von Aminodicarbonsäure und  $\alpha$ -Ketosäure nicht beobachtet werden. Die einzige Reaktion, die für die Annahme einer Spontankondensation bei der Umanimierung sprechen würde, nämlich die Bildung des Dehydrooctopins aus Arginin und

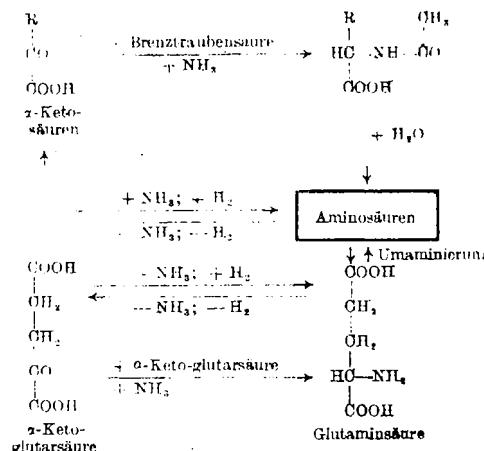
Hier soll auch noch einmal an die Befunde von Schoenheimer bei der Verfütterung von N<sup>15</sup>-haltigem Ammoniumcitrat erinnert werden. Die, wie man nun versteht, im Mittelpunkt des Aminosäurestoffwechsels stehenden Aminodicarbonsäuren zeigten den höchsten Gehalt an N<sup>15</sup>, und die  $\alpha$ -Aminogruppe des Arginins enthielt keinen isotopen Stickstoff<sup>16</sup>). Das Arginin scheint also auch nach diesen Befunden bei der Umaminierung im Organismus nicht beteiligt zu sein, und seine Kondensation mit Brenztraubensäure darf daher wohl nicht als Modell zur echten Umaminierung herangezogen werden.

Die Gewinnung zellfreier Glutamico-aminopherasepräparate versetzte Braunstein in die Lage, ein zellfreies Modell der l-Aminosäureoxydase aufzubauen. Man erinnert sich, daß dieses Ferment an die Zellstruktur gebunden ist<sup>12)</sup>. Braunsteins Modell arbeitet nach folgendem Schema:

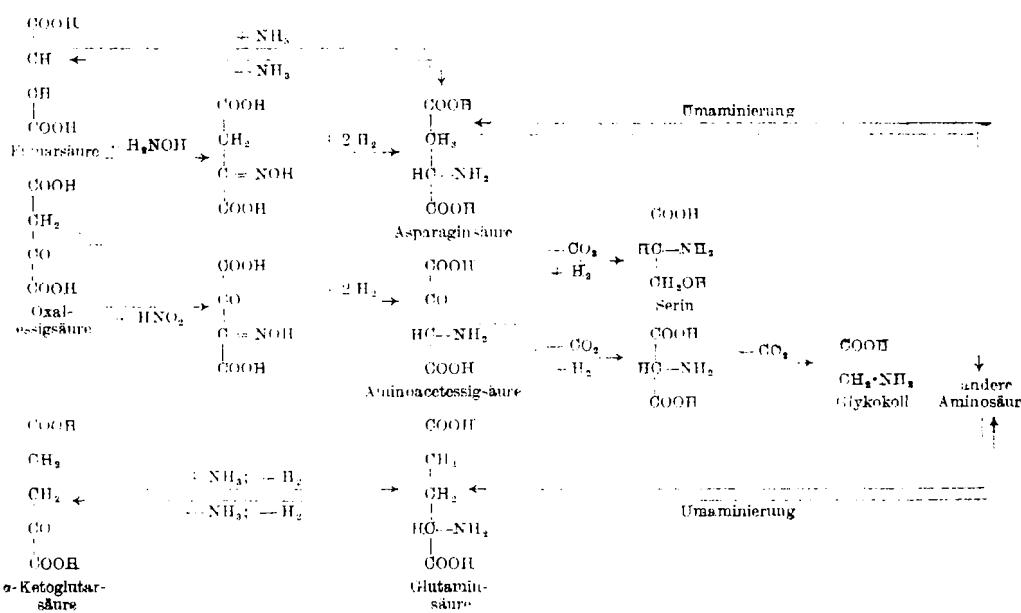


Das Modell desaminiert dehydrierend L-Alanin mit  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{4}$  der Geschwindigkeit wie natürliche L-Aminooxydase.

Zusammenfassend seien hier die Wege des Auf- und Umbaus der Aminosäuren im tierischen und pflanzlichen Organismus noch einmal aufgewiesen:



Auf- und Umbau der Aminosäuren in der Tierzelle



## Auf- und Umbau der Aminosäuren in der Pflanze.

Brenztraubensäure, darf wohl als Beispiel für die wahre Umamierung nur mit Vorbehalt angeführt werden. Arginin wird nämlich mit Ketosäuren nicht umaminiert.

<sup>54</sup>) Braunstein, Enzymologia [Den Haag] 7, 25 [1939].

<sup>55</sup>) Biochemic. J. **33**, 1478 [1939].

<sup>58</sup>) Karrer, Koenig u. Legler, Helv. chim. Acta **24**, 127 [1941].

Diese Desamidierungen und Aminierungen und die in allen lebenden Zellen gleichartig verlaufende Ummannosidierung stellen die Verbindung dar zwischen dem intermediären Stoffwechsel der Proteine auf der einen und dem der Kohlenhydrate und Fette auf der anderen Seite. *Biochim. 4. Juli 1941.* [A. 53.]