

Quellung. Hier seien nur folgende Zahlen angeführt. Ein in Chloroform hergestelltes Gelstück von 600 mg schrumpfte im Exsikkator auf ein formgleiches von 18 mg. Im Lösungsmittel quoll es wieder auf 595 mg, wobei die Gestalt mit der des ursprünglichen aber auch in allen Einzelheiten übereinstimmte.

Alle derartigen Versuche sind natürlich unter sorgfältigem Wasserausschluss vorzunehmen. Wie diese Forderung erfüllt wurde, ist in der ausführlichen Publikation<sup>1)</sup> beschrieben. Dort finden sich auch nähere Angaben über die Herstellung und die analytische Charakterisierung der Methylcellulose.

Chemisches Laboratorium der Universität Bern  
Organische Abteilung.

---

### 177. Die Beeinflussung des Histidinstoffwechsels durch Vitaminmangel und verschiedene Ernährungsweise

von S. Edlbacher und G. Viollier.

(8. IX. 43.)

In einer früheren Mitteilung konnte gezeigt werden<sup>2)</sup>, dass in der Leber von B<sub>1</sub>-avitaminotischen Ratten die Histidase- und Arginasespaltung um das zwei- bis dreifache der Norm erhöht ist. Die Unterschiede waren besonders nach einer durch längere Zeit dauernden B<sub>1</sub>-Mangelperiode deutlich vorhanden und blieben selbst 8 Tage nach Zufütterung von Hefe oder Aneurinhydrochlorid bei solchen scheinbar geheilten Tieren erkennbar, so dass also bei Aneurin-Avitaminose eine tiefgreifende Umstellung im Stoffwechsel bestimmter Aminosäuren angenommen werden musste.

Nun ist es im Laufe der letzten Jahre gelungen, von der Histidase ein weiteres, scharf umrissenes und ausreichend charakterisiertes Enzym abzutrennen, welches den Imidazolring der Urocaninsäure (Imidazolyl-acrylsäure) unter Abspaltung von Ammoniak zu öffnen vermag und daher als Urocaninase bezeichnet wird. Die beiden Enzyme sind auf adsorptivem Wege voneinander getrennt und in bezug auf ihre Hemmbarkeit näher untersucht worden<sup>3)</sup>. Es lag daher nahe, auch das Verhalten der Urocaninsäurespaltung bei B<sub>1</sub>-Avitaminose zu untersuchen. Wie in einer vorläufigen Mitteilung berichtet<sup>4)</sup> wurde, fanden sich auch für die Urocaninsäurespaltung

---

<sup>1)</sup> Diss. P. von Tavel, Bern, 1939.

<sup>2)</sup> Z. physiol. Ch. **265**, 72 (1940).

<sup>3)</sup> Z. physiol. Ch. **276**, 108 (1942).

<sup>4)</sup> Helv. physiol. et pharm. acta **1**, C 43 (1943).

erhöhte Werte in der Leber von Beri-Beri-Ratten. Ganz allgemein kann also gesagt werden, dass drei Fermente des Aminosäurestoffwechsels: Histidase, Arginase und Urocaninase bei B<sub>1</sub>-Avitaminose eine parallelgehende Erhöhung ihrer Aktivität erfahren.

Hand in Hand mit der Ausarbeitung der oben erwähnten Bestimmung der Enzymaktivität im Leberextrakt untersuchten wir mit einer anderen Versuchstechnik den Histidinabbau im Organismus des B<sub>1</sub>-avitaminotischen Tieres selbst. Zu diesem Zwecke eignen sich Histidinbelastungsversuche in ausgezeichneter Weise, da wir in der schon früher von uns<sup>1)</sup> angegebenen kolorimetrischen Histidin-Bestimmung eine Methode besitzen, die es gestattet, das im Harn unverändert ausgeschiedene Histidin sehr exakt zu ermitteln. Bei diesem Verfahren, das eine Modifikation der *Pauly*'schen Diazoreaktion darstellt, wird an Stelle der Sulfanilsäure p-Monochloranilin verwendet. Es entsteht dann ein Azofarbstoff, der mit Butylalkohol ausgeschüttelt wird und seine Farbe längere Zeit unverändert beibehält. Mit dieser stufenphotometrischen Methode erhält man, besonders bei Belastungsversuchen, konstante Werte. Spritzt man z. B. normalen Ratten oder Meerschweinchen pro 100 g Tiergewicht 0,2 g *l*-Histidin-hydrochlorid subkutan, so werden in 24 Stunden 20% der verabreichten Dosis durch den Harn ausgeschieden. Die Menge des vom Tierkörper zurückgehaltenen Histidins gibt dann ein Mass für die Intensität des Histidinabbaus *in vivo*. Wir haben in früheren Mitteilungen mit *H. Baur* und *H. R. Staehelin*<sup>2)</sup> diese Methodik am Meerschweinchen ausführlich beschrieben.

Durch Kombination solcher Belastungsversuche mit parallel durchgeführten Bestimmungen der Histidase in der Leber kann man das Verhalten des Histidins im Organismus genau verfolgen. Insbesondere können auch verschiedene pathophysiologische Fragen des Histidinstoffwechsels, wie z. B. die der Aneurin-Avitaminose in Angriff genommen werden. Es zeigte sich, dass B<sub>1</sub>-avitaminotische Ratten, entsprechend ihrem erhöhten Histidasespiegel, nach subkutaner Injektion von 0,2 g *l*-Histidin pro 100 g Körpergewicht bedeutend kleinere Mengen im Harn ausscheiden als normale Tiere. Die Resultate dieser Belastungsversuche sind ebenfalls in der oben erwähnten vorläufigen Mitteilung veröffentlicht worden. Wir brauchen deshalb an dieser Stelle nur die genauen Versuchsprotokolle wiederzugeben. Werden nun dieselben Beri-Beri-kranken Tiere mit Hefe oder Aneurin behandelt (bzw. geheilt), so steigt die Histidinausscheidung im Harn wieder an. Die beobachtete Erhöhung der Histidasewerte in der Leber findet also in diesen Belastungsversuchen ihr Spiegelbild.

---

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. **270**, 158 (1941).

<sup>2)</sup> Z. physiol. Ch. **270**, 165 und 176 (1941).

Aus den bisher mitgeteilten Befunden ergibt sich nun die Frage, ob die festgestellten Tatsachen als eine spezifische Folge der B<sub>1</sub>-Avitaminose aufzufassen oder auch bei anderen Mangelzuständen wahrzunehmen sind.

Die äusseren Erscheinungen von E- und B<sub>1</sub>-Avitaminose sind bekanntlich sehr ähnlich. Um nun die Spezifität der Steigerung der Histidase bei B<sub>1</sub>-Avitaminose zu demonstrieren, wurden die Versuche auch bei E-Avitaminose ausgeführt. Der grundsätzliche Unterschied der beiden Avitaminosen zeigte sich auch im Ergebnis dieser Versuche. Wie zu erwarten war, führte ein Mangel an Vitamin E keine Beeinflussung des Histidinumsatzes herbei.

Unter der Annahme, dass im Verlaufe der B<sub>1</sub>-Avitaminose die Tiere unter einer teilweisen Anorexie stehen könnten, war gegen diese Deutung unserer Versuche der Einwand zu erheben, dass die Steigerung des Histidasespiegels nur der Ausdruck eines solchen allgemeinen Mangelzustandes wäre. Aus diesem Grunde untersuchten wir den Einfluss einer eiweissarmen Kost auf den Histidasegehalt der Leber und die Histidinausscheidung nach Histidinbelastung. Die Versuche sind weiter unten ausführlich beschrieben. Die eiweissarme Kost vermochte wohl eine Veränderung der Histidasewerte herbeizuführen, jedoch im Sinne einer Herabsetzung der Histidase-Aktivität der Leber, und dementsprechend war die Ausscheidung im Harn nach Histidinbelastung erhöht.

Eiweissarm ernährte Tiere verhalten sich also gerade umgekehrt wie Beri-Beri-Tiere.

Es wurde ferner der Einfluss einer fettfreien Diät bei Belastungsversuchen untersucht. Es zeigte sich bei derselben keinerlei Einfluss.

Ganz anders verhielten sich jedoch die beiden Vitamine Lactoflavin und Adermin. Bei deren Mangel zeigte sich das gleiche Bild wie bei den Tieren mit B<sub>1</sub>-Avitaminose, also Erhöhung der Histidaseaktivität der Leber und verminderte Ausscheidung nach Histidinbelastung.

Über die Bedeutung dieser Beobachtungen wird am Schlusse dieser Abhandlung gesprochen werden.

#### Enzym-Aktivität und *l*-Histidinbelastung bei B<sub>1</sub>-Avitaminose.

Wie bereits oben erwähnt, ist über diese Versuche an anderer Stelle berichtet worden. Hier sollen deshalb nur die methodischen Unterlagen dieser Arbeit beschrieben werden. Zur Bestimmung der Urocaninase in der Leber B<sub>1</sub>-avitaminotischer Ratten wurde die gleiche Versuchsanordnung angewendet, wie in früheren Mitteilungen dieser Reihe.

Enzymbereitung.

Leber mit Quarzsand und der vierfachen Menge 0,067-m. Phosphatpuffer  $p_H$  8,0 verrieben und zentrifugiert.

Ansätze.

1  $cm^3$  von diesem Leberextrakt (entsprechend 0,25 g frischer Leber) + 3  $cm^3$  einer 0,1-m. Urocaninsäure- bzw. 0,1-m. Histidinlösung (die mit Natronlauge vorher auf  $p_H$  8,0 gebracht wurden) + 16  $cm^3$  0,067-m. Phosphatpuffer  $p_H$  8,0.

Zur Bestimmung der Arginase wurde die Leber wegen der hohen Arginaseaktivität mit der hundertfachen Menge Glykokollpuffer  $p_H$  9,4 verrieben und zentrifugiert. Verwendet wurde 1  $cm^3$  der überstehenden Flüssigkeit, entsprechend 0,01 g Frischleber, + 3  $cm^3$  einer 0,1-m. Arginincarbonatlösung und 16  $cm^3$  Glykokollpuffer  $p_H$  9,4. Die Spaltungsdauer betrug für Urocaninase und Histidase 17 Stunden, die Temperatur im Wasserthermostaten  $38^\circ$ . Die Arginasespaltung dagegen wurde auf zwei Stunden bei  $38^\circ$  beschränkt. Daran anschließend Harnstoffbestimmung mittels der Ureasemethode nach *Folin* und *Wu*. Bezüglich weiterer methodischer Einzelheiten verweisen wir auf die kürzlich erschienene zusammenfassende Darstellung von *S. Edlbacher*<sup>1)</sup>.

Die Tiere wurden während zwei Monaten  $B_1$ -frei ernährt und erhielten in kurzen Zeitabschnitten minimalste Mengen  $B_1$ -haltiger Präparate zu Testzwecken zugefüttert. Es handelt sich also bei diesen Tieren um eine chronische latente  $B_1$ -Avitaminose, die täglich elektrokardiographisch kontrolliert wurde. Zur Untersuchung gelangten nur Tiere mit hochgradiger Bradykardie (280—380 Pulsschläge pro Minute). Die  $B_1$ -freie Diät enthielt als Kohlehydratquelle Rohrzucker. Ein Teil der Tiere erhielt jedoch statt der Saccharose Reisstärke (vitaminfrei). Es ergab sich, dass die verschiedene Form der Kohlehydratzufuhr auf den Fermentspiegel der Leber ohne jeden Einfluss ist.

Wie gesagt zeigen Beri-Beri-Tiere eine deutliche Erhöhung der Urocaninsäurespaltung, die mit der Histidasespaltung parallel geht. Der Durchschnittswert der Beri-Beri-Tiere beträgt 6,3, derjenige der Normaltiere 3,2 ( $cm^3$  0,02-n. Ammoniak). In der folgenden Tabelle 1 sind die Durchschnittswerte von insgesamt 56 Tieren zusammengestellt.

Tabelle 1.

	Leber- Gewicht g	Histidase $cm^3$ 0,02-n. Ammoniak	Urocaninase $cm^3$ 0,02-n. Ammoniak	Arginase $cm^3$ 0,02-n. Ammoniak
Beri-Beri-Ratten .	3,09	12,9	6,3	11,2
Normal-Ratten .	4,65	5,9	3,2	6,6

<sup>1)</sup> Erg. Enzymforschg. **9**, 131 (1943).

Diese Zahlen stimmen mit den früher von *S. Edlbacher* und *Becker*<sup>1)</sup> ermittelten Werten gut überein. Dass die beobachtete Erhöhung der Fermentaktivität auch im lebenden Organismus stattfindet, beweisen die Belastungsversuche mit *l*-Histidin. Die ausführlichen Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Als Versuchstiere verwendeten wir die gleichen B<sub>1</sub>-Testratten, die sich bereits bei der Untersuchung der Fermentaktivität als geeignet erwiesen hatten.

Belastung 100, 200 oder 300 mg *l*-Histidin-hydrochlorid pro 100 g Körpergewicht subkutan in neutraler Lösung von 10 % injiziert. Während der Dauer des Belastungs-Versuches wurden die Tiere in Stoffwechselfähigen gehalten und erhielten ausser Wasser keine Nahrung.

Der 24-Stundenharn wurde unter Toluol gesammelt und nach sorgfältigem Nachspülen des Glaskäfigs mit Wasser auf 500 cm<sup>3</sup> verdünnt und filtriert. 1 cm<sup>3</sup> des Filtrats wurde zur stufenphotometrischen Histidinbestimmung verwendet.

Tabelle 2.

Beri-Beri-Tiere					Normaltiere		
Belastung	Puls	Tier-gew. g	mg Histidin-ausschdg.	Aus-schdg. in %	Tier-gew. g	mg Histidin-ausschdg.	Aus-schdg. in %
0,1 g pro 100 g Tier-gewicht	320	88	1,8	2,0	139	3,5	2,5
	300	68	1,2	1,8	132	3,8	2,9
Mittel 1,9					Mittel 2,7		
0,2 g pro 100 g Tier-gewicht	Krämpfe	52	4,9	4,7	118	46,5	19,7
	320	69	10,7	7,8	134	31,3	11,7
	300	109	19,4	8,9	105	59,6	28,4
	300	93	12,3	6,6	130	53,3	20,5
	300	98	14,1	7,2	115	38,7	16,8
	300	58	3,9	3,4	75	12,5	8,1
	340	68	5,6	4,1	128	33,4	13,0
	320	64	4,3	3,3	72	42,8	29,7
	340	103	12,7	6,2	79	37,6	23,8
	Krämpfe	66	6,2	4,7			
	360	82	14,6	8,9			
	360	56	4,7	4,2			
340	87	17,1	9,8				
Mittel 6,1					Mittel 19,1		
0,3 g pro 100 g Kör-pergewicht	340	94	44,9	15,9	82	66,8	27,1
	300	45	15,7	11,6	57	44,0	25,7
	260	98	47,0	16,0			
Mittel 14,5					Mittel 26,5		

<sup>1)</sup> Z. physiol. Ch. 265, 72 (1940).

Aus Tabelle 2 geht hervor, dass B<sub>1</sub>-avitaminotische Ratten, ganz gleich, ob sie 100, 200 oder 300 mg pro 100 g Körpergewicht subkutan injiziert erhalten, nach 24 Stunden bedeutend weniger Histidin ausscheiden als die normal ernährten Kontrollratten. Dem erhöhten enzymatischen Abbau in vitro entspricht also ein erhöhter Verbrauch des Histidins in vivo.

Es fragt sich nun, ob nach Heilung der Beri-Beri durch Zufuhr von Vitamin B<sub>1</sub> oder Hefe, die Histidinausscheidung wieder auf normale Höhe ansteigt. Wie bereits *Edlbacher* und *Becker* (l. c.) feststellen konnten, sinkt bei einem solchen Heilungsversuch die Aktivität der Leberhistidase nur langsam zur Norm zurück. Es wurde deshalb bei einer Anzahl B<sub>1</sub>-avitaminotischer Tiere vor und nach 6- bzw. 12-tägiger Behandlung mit Hefe oder reinem Aneurin-hydrochlorid der Histidinbelastungsversuch durchgeführt. Dabei ergab sich, dass schon nach 6 Tagen Behandlung mit Hefe die Histidinausscheidung wieder normalisiert wird, während bei Zufütterung von reinem Aneurin-hydrochlorid dies nach 12 Tagen immer noch nicht der Fall ist.

### Heilungsversuche.

Die Tiere erhielten pro Tag 5 mg reines Aneurin-hydrochlorid oder 1 g Trockenhefe neben der B<sub>1</sub>-freien Diät zugefüttert. Der Belastungsversuch bestand in 200 mg *l*-Histidin pro 100 g Tiergewicht.

Tabelle 3.

#### I.

Vor der Behandlung				Nach 6-tägiger Behandlung mit Hefe			
Puls	Gewicht g	mg Histidin- ausschdg.	Aus- schdg. in %	Puls	Gewicht g	mg Histidin- ausschdg.	Aus- schdg. in %
300	73	11,5	7,9	420	102	68,1	33,4
340	69	1,5	1,1	480	102	21,9	10,7
360	74	12,5	8,5	500	110	33,4	15,2
	82	3,1	1,9	400	108	51,2	23,7
Mittel 4,8				Mittel 20,7			

#### II.

Vor der Behandlung				Nach 12-tägiger Behandlung mit Aneurin			
Puls	Gewicht g	mg Histidin- ausschdg.	Aus- schdg. in %	Puls	Gewicht g	mg Histidin- ausschdg.	Aus- schdg. in %
380	51	3,7	3,4	456	81	15,7	9,7
400	64	10,2	8,0	495	93	18,8	10,1
300	69	7,3	5,3	422	96	21,9	11,4
400	80	9,6	6,0	518	78	8,4	5,4
320	76	10,5	6,9				
	64	3,7	2,9				
Mittel 5,5				Mittel 9,1			

Die mit Hefe behandelten Tiere nahmen nach 6 Tagen im Durchschnitt 31 g zu, während bei den mit reinem Aneurin behandelten Tieren das Körpergewicht in 12 Tagen nur um 19 g anstieg.

#### *l*-Histidinbelastung bei E-Avitaminose.

Um die Frage nach der Spezifität der beobachteten Erscheinungen zu klären, untersuchten wir aus den oben angeführten Gründen zunächst den Histidinstoffwechsel bei E-Avitaminose.

Die Versuchstiere waren während 4 Monaten Vitamin E-frei ernährt worden. Sie waren also bestimmt E-avitaminotisch, was durch Beobachtung des vorzeitigen Fruchtabganges bei Kontrolltieren einwandfrei festgestellt werden konnte. Den Tieren wurde ebenfalls 0,2 g *l*-Histidin-hydrochlorid pro 100 g Körpergewicht subkutan injiziert. Die Ausscheidung im Harn betrug im Mittel 17,8% (14 Tiere). Die normal ernährten Kontrollratten schieden ungefähr gleichviel Histidin im Harn aus (18,9%). Die für Beri-Beri charakteristische Beeinflussung der Histidinausscheidung ist also nach den Versuchen bei E-Avitaminose nicht zu erzielen. Wir können daher auf eine ausführliche Wiedergabe dieser Versuchsprotokolle verzichten. Erwähnenswert erscheint uns jedoch die Tatsache, dass von 14 Tieren 6 innerhalb von 24 Stunden und 2 noch innerhalb von 48 Stunden nach der Histidininjektion eingingen. Die Sektion liess keine pathologischen Veränderungen erkennen.

#### *l*-Histidinbelastung und Histidasespaltung bei eiweissarmer Diät.

Wie bereits erwähnt, wird nach eiweissarmer Kost der umgekehrte Effekt wie bei B<sub>1</sub>-Avitaminose erzielt, nämlich Erhöhung der Histidinausscheidung im Harn und dementsprechend verminderte Histidaseaktivität im Leberextrakt. Die Versuche sind in den folgenden drei Tabellen zusammengefasst.

Die Belastung bestand wiederum in subkutaner Injektion von 2 cm<sup>3</sup> einer neutralisierten 10-proz. Lösung von *l*-Histidin-hydrochlorid pro 100 g Körpergewicht. Das eiweissarme Futter hatte folgende Zusammensetzung: Cocosfett 13%, Lebertran 2%, Salzgemisch (*Mc Collum*) 5%, Reisstärke 80%. Die Kontrolltiere erhielten ein caseinreiches Futter, das neben den oben erwähnten Bestandteilen noch 18% völlig vitaminfreies Casein und dementsprechend weniger Reisstärke enthielt. Die Tiere wurden auf Drahtgeflechten gehalten. Wasser und Futter erhielten sie ad libitum. Allen Tieren wurde anfänglich 4 cm<sup>3</sup> Hefeextrakt pro Woche verabreicht, später 0,7 g Trockenhefe statt des Extraktes und ausserdem noch 20 mg Cholin pro Woche. Die Futtermischung war also nicht absolut eiweissfrei. Denn ausser den in der Hefe enthaltenen Eiweissstoffen hatte diese eiweissarme Diät in der Reisstärke einen nicht zu vernachlässigenden

Eiweissträger. Aus *Kjeldahl*-Bestimmungen geht hervor, dass in 1 g der fertigen „eiweissarmen“ Futtermischung immer noch 8,4 mg Stickstoff enthalten waren, was einem Eiweisssgehalt von 5,46 % entspricht. Trotzdem verloren die Tiere während der Dauer des Versuches (70 bzw. 90 Tage) durchschnittlich 13 bzw. 17 % ihres Anfangsgewichtes. Einzelnen Tieren genügte offenbar schon dieser geringe Eiweisssgehalt, um ihr Körpergewicht konstant zu halten. Da bei ihnen kein Gewichtsabfall eintrat, wurden sie nicht in den Versuch aufgenommen.

Tabelle 4 zeigt die Histidinausscheidung im Harn bei eiweissarmer Diät nach subkutaner Belastung. Man sieht, dass die Werte bei chronischer eiweissarmer Ernährungsweise erhöht sind.

**Tabelle 4.**

Eiweissarm ernährte Tiere				Mit 18% Casein im Futter			
Anfangsgewicht g	Gewichtsabnahme g	mg Histidinausschdg.	Ausschdg. in %	Anfangsgewicht g	Gewichtszunahme g	mg Histidinausschdg.	Ausschdg. in %
Versuchsdauer 70 Tage							
120	- 19	49,1	24,3	130	+ 22	49,1	16,2
133	- 20	15,7	6,9	165	+ 18	15,6	4,3
131	- 5	70,2	27,8	128	+ 31	62,9	19,8
131	- 17	49,1	21,5				
131	- 14	55,3	23,9				
154	- 39	21,9	9,5				
154	- 39	65,0	28,3				
151	- 35	60,8	26,2				
Mittel 21,0				Mittel 13,4			
Versuchsdauer 90 Tage							
137	- 30	38,0	17,7	147	+ 36	38,0	10,4
202	- 22	104,0	28,9	113	+ 17	15,5	6,0
131	- 20	49,0	21,1	112	+ 26	51,0	18,5
183	- 36	94,0	32,0	165	+ 31	33,5	8,5
161	- 14	75,0	25,5	112	+ 37	31,5	10,6
250	- 19	65,5	14,2	128	+ 45	58,5	16,7
125	- 34	52,0	28,6	163	+ 31	76,0	19,8
117	- 16	51,0	25,2				
144	- 15	76,0	29,5				
133	- 20	43,8	19,4				
140	- 15	56,5	22,6				
141	- 17	61,5	24,8				
103	- 4	50,0	25,3				
Mittel 24,2				Mittel 12,9			



Bemerkt sei, dass 9 der eiweissarm ernährten Tiere in den ersten 24 Stunden nach der Einspritzung, wahrscheinlich an deren Folgen eingingen, was bei den mit Casein ernährten Kontrolltieren nie eintrat. Eiweissarm ernährte Ratten scheiden nach subkutaner Injektion von 200 mg *l*-Histidin-hydrochlorid pro 100 g Körpergewicht 21% bzw. 24,3% im Harn wieder aus, während bei den mit 18% Caseinbeimischung ernährten Kontrollratten 12,9% bzw. 13,4% des injizierten Histidins im Urin wieder erscheinen.

Entsprechend verhält sich auch die Leberhistidase, welche bei den meisten Tieren 3—4 Tage nach dem Belastungsversuch (gleichzeitig neben Urocaninase und Arginase) bestimmt wurde. Die Resultate dieser Bestimmungen sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Man sieht, dass die drei Fermente Histidase, Urocaninase und Arginase bei eiweissarmer Diät eine parallelgehende Erniedrigung erfahren.

Tabelle 5.

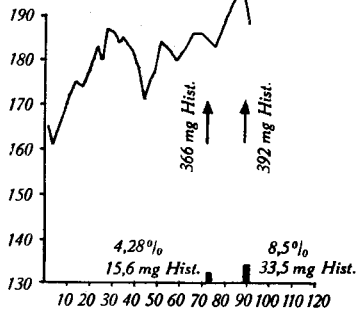
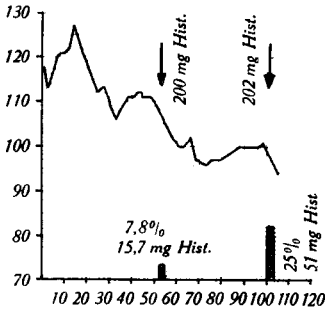
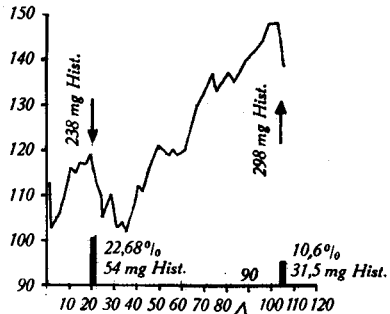
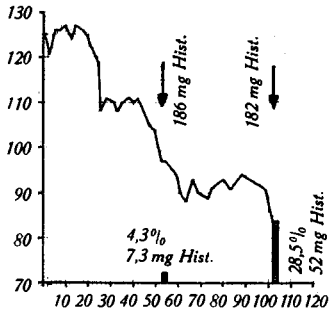
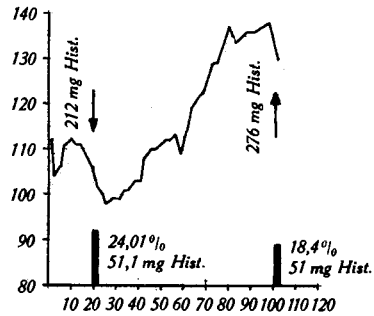
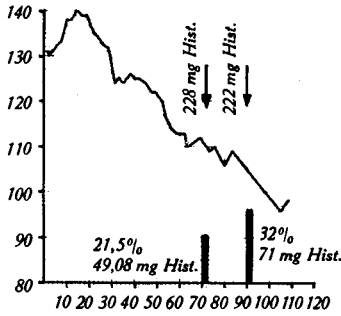
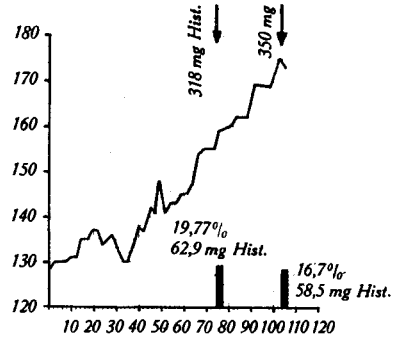
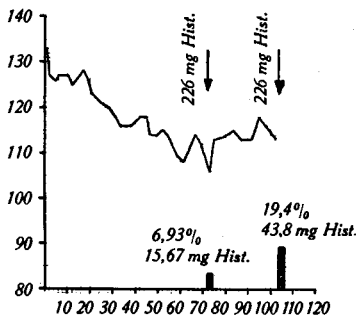
Eiweissarm ernährte Tiere					mit 18% Casein im Futter				
Gewichts- abnahme g	Leber- gew. g	cm <sup>3</sup> Histi- dase	0,02-n. NH <sub>3</sub> Uroca- ninase	Argi- nase	Gewichts- zunahme g	Leber- gew. g	cm <sup>3</sup> Histi- dase	0,02-n. NH <sub>3</sub> Uroca- ninase	Argi- nase
-44	—	5,6	4,0	13,4	+30	—	9,7	5,9	10,3
-48	—	3,6	2,1	3,5	+34	6,7	8,1	—	8,6
-49	—	2,5	1,8	8,5	+17	5,3	14,2	9,6	11,6
-35	5,4	3,4	3,3	1,3	+18	4,6	4,3	3,3	—
-39	6,3	4,2	3,1	2,5	+31	7,7	14,2	12,1	4,9
-33	4,3	5,9	4,1	1,4	+45	6,2	17,1	9,7	—
-44	5,7	5,1	4,0	3,4	+27	5,0	15,8	7,9	—
-31	7,1	4,2	3,2	7,4	+23	7,3	10,8	7,4	—
-24	4,6	5,1	2,7	13,2	+51	8,0	12,0	8,3	12,3
-15	5,8	—	—	4,9	+37	11,6	14,9	7,4	12,0
-17	4,5	3,1	2,9	5,1	+31	6,7	12,5	5,8	15,1
- 4	3,8	3,4	3,1	14,6	+47	6,8	9,2	3,0	12,7
-16	5,9	6,7	4,3	4,2	+72	10,5	7,2	3,9	6,5
-23	4,5	6,9	6,2	7,2					
Mittel	5,2	4,6	3,4	6,4	Mittel	7,2	11,5	7,0	10,4

An einzelnen Tieren konnte die Zunahme der Histidinausscheidung im Harn bei eiweissarmer Kost zeitlich verfolgt werden. In den Kurven der Tabelle 6 ist das Körpergewicht dargestellt. Der Tag, an dem Histidin gespritzt wurde, ist durch einen Pfeil markiert. Am unteren Rande findet sich dann die im Harn ausgeschiedene Menge in Prozenten als Stäbe verschiedener Höhe eingetragen. Man sieht, dass mit der Abnahme des Körpergewichtes die Histidinausscheidung im Harn ansteigt, währenddem bei den mit Casein ernährten Ratten mit der Zunahme des Körpergewichtes die Histidinausscheidung fast ausnahmslos abnimmt.

Tabelle 6.

Eiweissarm ernährte  
Ratten:

Mit 18% Casein im  
Futter:



Ordinate: Körpergewicht in g. Abscisse: Zeit in Tagen

### *l*-Histidinbelastung bei fettfreier Diät.

Es wurden Tiere untersucht, welche während 10 Wochen vollkommen fettfrei ernährt worden waren. Die Diät nach *Burr*<sup>1)</sup> bestand aus: Salzgemisch (*Mc Collum*) 3,9%, fettfreies Casein (extrahiert und vitaminfrei) 12%, Rohrzucker 84%, Hefe (entfettet) 0,65 g p. d., von den Vitaminen A und D erhielten die Tiere täglich 40  $\gamma$  Carotin und 5  $\gamma$  Calciferol in gehärtetem Cocosfett gelöst, ausserdem 25  $\gamma$  Tocopherol-acetat p. d. Um die Leberverfettung zu verhüten, wurden 20 mg Cholin pro Woche zugefüttert. Als Fettzulage erhielten die Kontrolltiere neben dieser *Burr*'schen Diät pro Woche noch 400 mg Sonnenblumenöl, das bekanntlich zu 50% aus Linolsäure besteht. Diese Menge hat sich bei allen unseren Testversuchen auf essentielle Fettsäuren als vollauf genügend erwiesen.

Belastet man nun solche *Burr*-Tiere nach 10 Wochen Vorbehandlung mit 0,2 g *l*-Histidin-hydrochlorid pro 100 g Körpergewicht, so scheiden sie durchschnittlich 28,9% (8 Tiere) im Harn wieder aus, während bei den mit Sonnenblumenöl behandelten Kontrolltieren die Histidinausscheidungsquote 25,4% beträgt (9 Tiere). Es ist also kein wesentlicher Unterschied in der Histidinausscheidung bei fettfreier Ernährung festzustellen, wenn man dafür Sorge trägt, dass die Tiere, wie dies bei der *Burr*'schen Diät zutrifft, alle Vitamine in genügender Menge zugeführt erhalten. Die ausführliche Wiedergabe dieser Versuche erscheint uns deshalb in diesem Zusammenhang nicht als notwendig.

### *l*-Histidinbelastung bei B<sub>2</sub>- und B<sub>6</sub>-Avitaminose.

Um zu entscheiden, ob nun die beobachtete Erhöhung der Histidasewerte für den B<sub>1</sub>-Mangel spezifisch ist, lag es nahe, die Histidinbelastungsversuche auch beim Fehlen anderer B-Vitamine in der Nahrung zu untersuchen. Wir verwenden zur Erzeugung von B<sub>2</sub>- und B<sub>6</sub>-Avitaminose eine Diät, welche von *Moll*<sup>2)</sup> angegeben wurde und ausser Lebertran keine anderen Vitaminträger enthält. Es werden dann die verschiedenen B-Vitamine zusätzlich zugefüttert.

Die Kost setzt sich also folgendermassen zusammen: Stärke (erschöpfend gewaschen und vollkommen vitaminfrei) 50%, Casein (vitaminfrei) 22%, Lebertran 3%, Cocosfett 6%, Salzgemisch (*Mc Collum*) 5%.

Zur Erzeugung von B<sub>2</sub>-Mangel erhielten die Tiere neben dieser Diät pro Woche 50  $\gamma$  Aneurin, 100  $\gamma$  Adermin, sowie 3 mg Nicotinsäure-amid zusätzlich zugefüttert. Den Kontrolltieren wurde ausser diesen Vitaminen noch 70  $\gamma$  Lactoflavin pro Woche verabreicht. Diese Kost erhielten die Tiere 9 Wochen lang, ehe sie in den

<sup>1)</sup> J. Biol. Chem. **82**, 345 (1929).

<sup>2)</sup> E. Merck's Jahresber. **1938**; vgl. auch H. Pfaltz, Z. Vitaminforschg. **12**, 193 (1942).

Belastungsversuch genommen wurden. Nach subkutaner Injektion von 0,2 g *l*-Histidin-hydrochlorid pro 100 g Tiergewicht scheiden B<sub>2</sub>-avitaminotische Tiere nur 6,3%, die mit Lactoflavin gefütterten Ratten 23,4% im Harn wieder aus. B<sub>2</sub>-avitaminotische Tiere verhalten sich also bei der Histidinbelastung wie Beri-Beri-Ratten. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7.

B <sub>2</sub> -avitaminotische Ratten			Kontrollratten 70 γ Lactoflavin pro W.		
Gewicht g	mg Histidin- ausschdg.	Ausschdg. in %	Gewicht g	mg Histidin- ausschdg.	Ausschdg. in %
56	7,1	6,3	95	55,0	28,9
55	9,7	8,8	80	42,8	26,7
55	11,3	10,0	76	32,4	21,3
55	4,4	4,0	81	39,7	24,5
54	7,3	6,7	88	38,2	21,6
62	6,0	4,9	105	36,6	17,4
50	4,8	4,8			
51	6,5	6,3			
53	5,0	4,7			
Mittel 6,3			Mittel 23,4		

Die B<sub>6</sub>-freie Kost bestand ebenfalls aus *Moll*'scher Diät mit wöchentlicher Zugabe von 50 γ Aneurin und 70 γ Lactoflavin. Nicotinsäure-amid wurde nicht verfüttert. 7 Wochen nach Beginn dieser B<sub>6</sub>-freien Kost wurde der Belastungsversuch durchgeführt (Belastung: 200 mg *l*-Histidin pro 100 g Tiergewicht). Das Resultat dieser Versuche ist in Tabelle 8 wiedergegeben. Wie ersichtlich ist, scheiden

Tabelle 8.

B<sub>6</sub>-avitaminotische Ratten.

Gewicht g	Histidin- ausscheidung mg	Ausscheidung in %
68	10,4	7,7
85	19,8	11,6
88	19,8	11,3
68	14,6	10,7
80	11,5	7,2
73	6,2	4,2
85	12,5	7,9
100	26,1	13,0
Mittel		9,2

B<sub>6</sub>-Tiere im Durchschnitt nur 9,2% der verabreichten Dosis im Harn wieder aus. Als Kontrolltiere können die gleichen Ratten wie im

vorigen B<sub>2</sub>-Versuch figurieren. Es ist also bei B<sub>6</sub>-avitaminotischen Ratten eine ähnliche Verminderung der Histidinausscheidungsquote festzustellen wie nach B<sub>1</sub>- oder B<sub>2</sub>-Mangel.

Veränderungen im Stoffwechsel der Aminosäuren waren bisher bei B<sub>1</sub>-Avitaminose nicht bekannt. Wohl wusste man, dass im Blut von Beri-Beri-Tieren eine beträchtliche Vermehrung der Serumproteine und daher eine Anhydrämie besteht. Doch konnten *Sure*, *Kik* und *Buchanan*<sup>1)</sup> für die eiweisspaltenden Enzyme Trypsin und Erepsin bei B<sub>1</sub>-avitaminotischen Tieren keine Veränderung der Fermentaktivität feststellen. Wir werden diese Frage in einem späteren Zeitpunkt behandeln. Andererseits ist die B<sub>1</sub>-Avitaminose bekanntlich durch eine Störung des Kohlehydrat-Stoffwechsels gekennzeichnet, indem die Wegschaffung der Brenztraubensäure bei Aneurinmangel nicht mehr erfolgen kann. Bei dem Fettstoffwechsel konnten dagegen die gleichen Autoren eine Herabsetzung der Aktivität von Leberlipase, Pankreaslipase und Pankreasesterase beobachten, welche 20 bis 40 % betrug und von ihnen als charakteristische Folge des Aneurinmangels betrachtet wurde.

Das Verhalten des Histidin- und Argininstoffwechsels bei B<sub>1</sub>-Avitaminose wurde erstmals von *S. Edlbacher* und *Becker* (l. c.) untersucht. Die Histidase- und Arginasespaltung wurde um das 2—3fache der Norm erhöht gefunden.

Durch die hier mitgeteilten Versuche werden die bisherigen Ergebnisse neuerdings bestätigt und erweitert. Ausserdem wird an Hand von Belastungsversuchen mit *l*-Histidin-hydrochlorid der Beweis erbracht, dass der erhöhte Histidasespiegel der Leber einem erhöhten Umsatz dieser Aminosäure im lebenden B<sub>1</sub>-avitaminotischen Organismus der Ratte tatsächlich entspricht. Da nun sowohl bei Belastung von B<sub>2</sub>-avitaminotischen als auch von B<sub>6</sub>-avitaminotischen Ratten ein gleiches Verhalten des Histidins im Organismus festgestellt wird, glauben wir, in der beobachteten Erhöhung der Histidase-Aktivität ein Spiegelbild des gestörten Kohlehydratstoffwechsels zu sehen. Die Überlegung, die uns zu dieser Vermutung führt, ist die folgende: Durch den hydrolytischen Histidinabbau in der Leber entstehen bekanntlich Produkte, welche äusserst leicht in *l*-Glutaminsäure übergehen können. Da die Glutaminsäure-Bildung aus *l*-Histidin sowohl auf dem Wege der direkten Histidasespaltung, als auch auf dem Nebenweg über die Urocaninase erfolgen kann, findet beim B<sub>1</sub>-, B<sub>2</sub>-, und B<sub>6</sub>-avitaminotischen Tiere eine ständige Mehrbildung von Glutaminsäure statt. Nun ist es ja bekannt, dass *l*-Glutaminsäure durch das Eingreifen der Glutaminsäuredehydrase (*von Euler*) in der Leber in  $\alpha$ -Ketoglutarinsäure übergehen kann. Diese Säure wird weiter in Oxalessigsäure umgewandelt. Nun spielt die letztgenannte Säure im intermediären Kohlehydratstoffwechsel eine eminente Rolle.

<sup>1)</sup> J. Biol. Chem. 108, 19 und 27 (1935).

Nach der ursprünglichen Anschauung von *Knoop* und *Martius* und von *Krebs* reagiert die Oxalessigsäure direkt mit der Brenztraubensäure und ist also am Abbau dieser Ketonsäure beteiligt. Nach den neuesten Ansichten von *H. Wieland*<sup>1)</sup>, denen sich nun auch *C. Martius*<sup>2)</sup> angeschlossen hat, ist es nicht direkt die Brenztraubensäure, welche mit der Oxalessigsäure reagiert, sondern möglicherweise kommen hier Umwandlungsprodukte der Brenztraubensäure in Frage. So nimmt *H. Wieland* die Acetessigsäure als Zwischenprodukt an und möglicherweise könnte auch nach *Martius* ein freies Radikal, das aus der Brenztraubensäure hervorgeht, mit der Oxalessigsäure sich kondensieren. Auf jeden Fall liegen die Verhältnisse aber so, dass die Oxalessigsäure bei der Wegschaffung der Intermediärprodukte des Kohlehydratstoffwechsels eine integrierende Rolle spielt. Eine andere Reaktionsmöglichkeit wäre die, dass die aus dem Histidin stammende Glutaminsäure auf dem Wege der Umaminierung nach *Braunstein* und *Kritzmann* die sich anhäufende Brenztraubensäure direkt weggeschaffen wird. Ob dieser Weg über die Oxalessigsäure oder direkt geht, wird noch durch weitere Untersuchungen zu klären sein. Wir glauben deshalb, in dem erhöhten Umsatz des Histidins bei denjenigen Avitaminosen, welche den Kohlehydratstoffwechsel beeinflussen, eine Kompensationsreaktion zu erblicken. Durch ständige Neubildung von Oxalessigsäure aus Histidin wird der gestörte Kohlehydratstoffwechsel wieder normalisiert. Diese Hypothese gibt zunächst eine befriedigende Erklärung für die beobachtete Anomalie des Histidinstoffwechsels. Da nun aber auch das harnstoffbildende Enzym Arginase deutlich vermehrt ist, lässt sich auch hier eine Brücke zu der eventuell vermehrten Bildung von Oxalessigsäure schlagen.

Nach *Wood*, *Werkman* und *F. Leuthardt* spielt ja die Oxalessigsäure bei der Harnstoff-Synthese wahrscheinlich eine grosse Rolle. Dementsprechend ist auch zu erwarten, dass eine vermehrte Harnstoffbildung als indirekte Folge des gestörten Kohlehydrat-Stoffwechsels stattfindet, um so mehr da durch die sehr starke Steigerung der Desaminierung des Histidins das abgespaltene Ammoniak in Harnstoff übergeführt werden muss. Mit grosser Wahrscheinlichkeit sind also die hier mitgeteilten Veränderungen des Histidin- und Arginin-Stoffwechsels als Erscheinungen aufzufassen, welche primär durch Störungen des Kohlehydratstoffwechsels bedingt werden.

Das Fehlen anderer Vitamine wie z. B. von Tocopherol oder Linolsäure sowie eiweissarme oder fettfreie Diät haben auf den Histidin- und Argininstoffwechsel keinen Einfluss. Dies steht in vollkommener Übereinstimmung mit der oben ausgesprochenen Hypothese. Wie weit sich die primäre Störung im Kohlehydrat-Stoffwechsel auch

<sup>1)</sup> A. 554, 241 (1943).

<sup>2)</sup> Z. physiol. Ch. 279, 96 (1943).

auf den Stoffwechsel anderer Aminosäuren auswirkt, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

### Zusammenfassung.

Es wird die Erscheinung des erhöhten enzymatischen Histidin-Abbaus im B<sub>1</sub>-avitaminotischen Organismus weiter untersucht. Dabei ergibt sich:

1. Parallel zum Verhalten der Histidase und der Arginase findet bei B<sub>1</sub>-Avitaminose auch eine Erhöhung der Urocaninasespaltung statt.

2. Entsprechend dem erhöhten Histidasespiegel der Leber ist die Histidin-Ausscheidungsquote nach Belastung bei B<sub>1</sub>-Mangel erniedrigt.

3. B<sub>2</sub>- und B<sub>6</sub>-avitaminotische Ratten zeigen nach Belastung das gleiche Verhalten wie Beri-Beri-Ratten.

4. Die beobachtete Erhöhung des Histidinumsatzes wird als eine Folge der Störung des intermediären Kohlehydrat-Stoffwechsels betrachtet.

5. Eiweissarme oder fettfreie Diät ist ohne Einfluss auf den Histidinabbau in vivo. Desgleichen Vitamin E-Mangel.

Physiologisch-chemisches Institut der  
Universität Basel

---

**178. Etudes sur les matières végétales volatiles XXV<sup>1</sup>.**  
**Sur la présence de l'alcool de Matsutake (n-octène-1-ol-(3)) et du**  
**méthyl-1-cyclohexanol-(3) dans l'essence de menthe pouliot**  
**(*Mentha Pulegium* L.)**

par Y. R. Naves.

(9 IX 43)

Nous avons précédemment annoncé la présence du *d*-n-octanol-(3) et de son ester acétique dans l'essence de menthe pouliot<sup>2</sup>.

Au cours du traitement de divers lots d'essence, et particulièrement de lots renfermant de la pipériténone, il arrive que, même au prix de traitements distillatoires attentifs, on ne puisse isoler de la fraction alcoolique p. d'éb. 50—55<sup>0</sup>/2 mm.<sup>3</sup>), une préparation de n-octanol-(3) convenablement purifiée. Toutefois la distillation répétée des esters acétiques permet d'obtenir entre autres produits l'acétate du *l*-n-octène-1-ol-(3). Après la bromuration en solution chloroform-

<sup>1</sup>) XXIVème communication, Helv. **26**, 1181 (1943).

<sup>2</sup>) Helv. **26**, 1034 (1943).      <sup>3</sup>) Helv. **26**, 168 (1943).