

in Ampullen eingeschmolzen, aufbewahrt. Auch die Berührung mit Schwermetall wird während der ganzen Aufarbeitung vermieden.

Löslichkeit: Der Stoff „NR“ ist in 90-proz. Alkohol vollständig löslich. Er lässt sich auf Grund dieser Eigenschaft von Salzen, Phosphaten und andern alkoholl unlöslichen Stoffen trennen und so aus den Dialysaten anreichern. Der Stoff verliert bei längerem Stehen in alkoholischer Lösung seine Wirksamkeit.

In 90-proz. Aceton ist der Stoff „NR“ nur wenig löslich. Nach mehrfachem Ausfällen aus wässriger Lösung mit der 9-fachen Menge Aceton scheint die Wirksamkeit auf die acetonunlösliche und die lösliche Fraktion verteilt zu sein. In Estern, Äther, Benzol und Petroläther ist der „NR“-Stoff unlöslich. Der „NR“-Stoff wird bei p_H 2 an Frankonit adsorbiert.

Durch Bleiacetat wird „NR“ in alkalischer Lösung zum Teil ausgefällt. Ausfällen der Silbersalze mit Silbernitrat bei p_H 8 hat ein Verschwinden der Wirksamkeit zur Folge. Weder das Filtrat, noch das Ausgefällte sind wirksam. Es ist noch nicht möglich, zu entscheiden, ob „NR“ ein einziger Stoff ist oder eine Gruppe von Stoffen darstellt.

Wirksamkeit des Stoffes „NR“.

Das Dialysat zeigt eine Wirksamkeit, die auf die Gehirnefeuchtsubstanz zurückgerechnet einer Ausgangsmenge von 1 mg pro Injektion von 1 cm³ am Versuchstier entspricht. Dies bedeutet, dass der NR-Stoff in ausserordentlich kleinen Mengen vorkommt und wirksam ist. Seine regenerative Wirkung entfaltet er unabhängig vom Ort der Injektion. Intraperitoneale oder subcutane Injektion bringt den Wirkstoff, vermutlich auf dem Blutwege, in das Operationsgebiet und führt dort zu einer wesentlichen Beschleunigung der Regeneration.

Hallerianum, Bern.

64. Krystallisiertes, synthetisches Pyridoxal-acetal-phosphat als Coferment von *l*-Aminosäuren-decarboxylasen

von P. Karrer und M. Viscontini.

(29. I. 47.)

Pyridoxal-phosphat ist in letzter Zeit als Coferment zahlreicher Enzyme angesprochen worden. Man hält es für das Coferment der *l*-Tyrosin-decarboxylase¹⁾, der *l*-Lysin-decarboxylase²⁾, der *l*-Arginin-decarboxylase³⁾, der *l*-Glutaminsäure-decarboxylase³⁾, der *l*-Ornithin-decarboxylase⁴⁾, der *l*-Dioxyphenylalanin-decarboxylase⁴⁾, der Trans-

¹⁾ Gunsalus, Bellamy, Umbreit, J. Biol. Chem. **155**, 685 (1944). — Bellamy, Umbreit, Gunsalus, J. Biol. Chem. **160**, 461 (1945).

²⁾ Baddiley, Gale, Nature **155**, 727 (1945).

³⁾ Umbreit, Gunsalus, J. Biol. Chem. **159**, 333 (1945).

⁴⁾ Lichstein, Gunsalus, Umbreit, J. Biol. Chem. **161**, 311 (1945).

aminase¹), welche den Aminostickstoff der Glutaminsäure auf Brenztraubensäure oder Oxalessigsäure überträgt, und eines Fermentes, welches Tryptophan aus Indol und Serin synthetisiert²). Es ist allerdings hervorzuheben, dass in allen diesen Arbeiten kein einheitliches, reines Präparat von Pyridoxal-phosphat zur Verfügung stand, so dass es unsicher ist, welche Komponente der Präparate wirksam gewesen sein soll.

Kürzlich haben wir das reine Pyridoxal-acetal-phosphat in kristallisiertem Zustand synthetisiert und gezeigt, dass es die Decarboxylierung des *l*-Tyrosins durch eine Decarboxylase aus *Streptococcus faecalis* stark stimuliert und daher ohne Zweifel das Coferment dieses Enzyms ist³).

Wir haben nunmehr untersucht, ob unser kristallisiertes Pyridoxal-acetal-phosphat auch als Coferment von Enzymen wirksam ist, die Lysin und Arginin decarboxylieren.

Als Fermentquelle für Lysin- und Arginin-decarboxylasen dienten zwei verschiedene Stämme von *Escherichia coli*, die wir als Stamm Z (aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Zürich) und Stamm P (aus dem Laboratorium einer gynäkologischen Klinik) bezeichnen.

Der Coli-Stamm Z besass die Fähigkeit, Lysin zu decarboxylieren. Der Stamm P decarboxylierte Arginin, doch bestand diese Aktivität, wie Fig. 2 zeigt, nur für kurze Zeit und hörte schon nach ca. 20 Minuten auf.

Zur teilweisen Trennung von Apo- und Cofermenten wurden die Pulver der beiden Coli-Bazillen autolytisch und die Cofermente durch Dialyse teilweise entfernt. Mit den an Coferment verarmten Apofermenten haben wir hierauf die Decarboxylierung von Lysin und Arginin teils ohne, teils mit Zusatz von kristallisiertem Pyridoxal-acetal-phosphat ausgeführt. Die Figuren 1 und 2 lassen erkennen, dass in beiden Fällen Pyridoxal-acetal-phosphat als Coferment wirkt und die CO₂-Abspaltung stark erhöht. Daraus darf geschlossen werden, dass Pyridoxal-acetal-phosphat bzw. Pyridoxal-phosphat mit veresteter phenolischer Hydroxylgruppe nicht nur das Coferment der *l*-Tyrosin-decarboxylase, sondern auch dasjenige der *l*-Lysin- und *l*-Arginin-decarboxylase ist. Die Spezifität der genannten drei *l*-Aminosäuren-decarboxylasen ist somit ausschliesslich auf die Apoferment-Komponente, d. h. den Proteinanteil, zurückzuführen.

¹) *H. C. Lichstein, J. C. Gunsalus, W. W. Umbreit*, J. Biol. Chem. **161**, 311 (1945). — *Schlenk und Snell*, J. Biol. Chem. **157**, 425 (1945). — *D. E. Green, L. F. Leloir, V. Nocito*, J. Biol. Chem. **161**, 559 (1945).

²) *Umbreit, Wood, Gunsalus*, J. Biol. Chem. **165**, 731 (1946).

³) *P. Karrer und M. Viscontini*, Hely. **30**, 52 (1947).

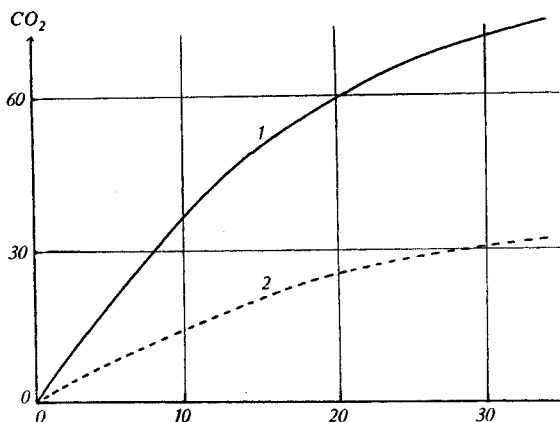


Fig. 1.

Decarboxylierung von Lysin durch Ferment aus *B. coli* Stamm Z.

Kurve 1: mit 30 γ synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

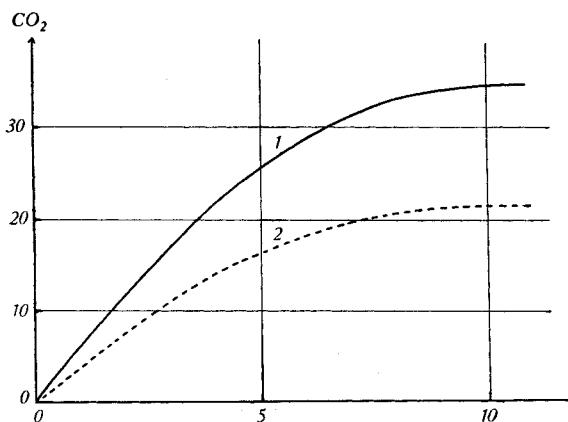


Fig. 2.

Decarboxylierung von Arginin durch Ferment aus *B. coli* Stamm P.

Kurve 1: mit 30 γ synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Während die Zerlegung der Decarboxylasen des *l*(-)-Tyrosins, *l*(+)-Lysins, *l*(+)-Arginins und *l*(+)-Ornithins in Apo- und Cofermente verschiedenen Autoren gelang¹⁾, wurde die Auffassung vertreten, dass *l*(-)-Histidin-decarboxylase und *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase keine durch Dialyse abtrennbaren Cofermente enthalten¹⁾. Für die *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase stimmen unsere Erfahrungen mit

¹⁾ Vgl. z. B. *J. Baddiley, E. F. Gale, Nature* **155**, 727 (1945).

jenen Angaben nicht überein. Die Fig. 3 und 4 zeigen, dass Pyridoxal-acetal-phosphat auch bei der *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase die Rolle eines Cofermentes spielt. Für diese Versuche konnte sowohl der Coli-Stamm Z als auch ein Coli-Stamm M (aus verunreinigter Milch gewonnen) Anwendung finden. Wiederum wird die Spezifität der *l*(+)-Glutaminsäure-decarboxylase allein durch die Proteinkomponente bedingt.

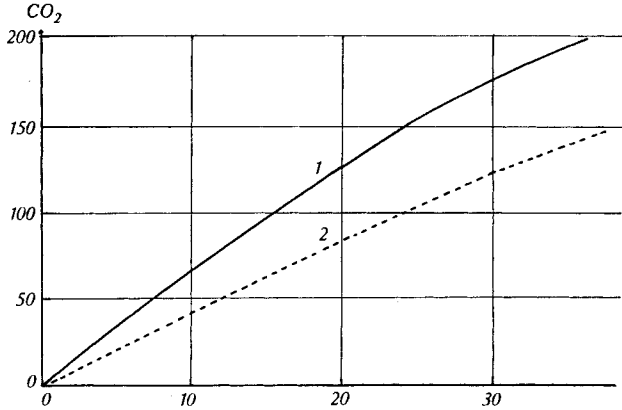


Fig. 3.

Decarboxylierung von Glutaminsäure durch Ferment aus *B. coli* Stamm Z.
 Kurve 1: mit 30 γ synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).
 Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

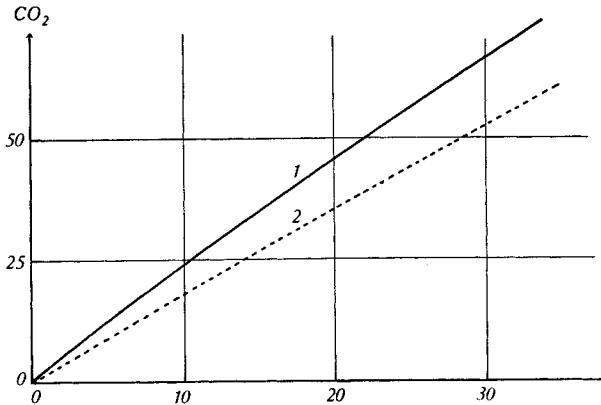


Fig. 4.

Decarboxylierung von Glutaminsäure durch Ferment aus *B. coli* Stamm M.
 Kurve 1: mit 30 γ synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).
 Kurve 2: ohne synthet. Codecarboxylase (Pyridoxal-acetal-phosphat).

Experimentelles.

Ca. 50 mg des Pulvers der Coli-Bazillen werden in 10 cm³ 0,15-molarer Na₂HPO₄-Lösung suspendiert und zur Autolyse 2 Stunden bei 37° gehalten. Hierauf bringt man die Suspension ohne irgendwelche Trennung in einen Kollodiumsack und dialysiert während 48 Stunden gegen einen 0,2-molaren Acetatpuffer von p_H 5,5 bei 0° (4-malige Erneuerung des Acetatpuffers). Die im Kollodiumsack zurückgebliebene, etwas opaleszierende Flüssigkeit, die pro cm³ ca. 5 mg Mikroorganismen-Trockengewicht enthält, dient direkt zu den Ferment-Versuchen.

Ausführung der Decarboxylierungen. In den zentralen Teil des *Warburg*-Gefäßes bringt man 2 cm³ der dialysierten Fermentlösung und 1 cm³ Acetatpuffer p_H 5,5 bzw. 1 cm³ Acetatpuffer + 30γ Pyridoxal-acetal-phosphat. — In den Seitenansatz des *Warburg*-Gefäßes kommen 0,5 cm³ 0,05 molare Lösung der zu prüfenden Aminosäure, die nach erfolgtem Temperatúrausgleich (28° C) eingekippt werden.

Herrn Prof. *A. Grumbach* (Institut für Bakteriologie und Hygiene, Universität Zürich) danken wir sehr für seine Hilfe bei der Beschaffung und Züchtung der verwendeten Mikroorganismen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

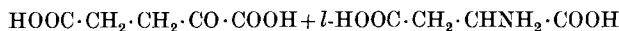
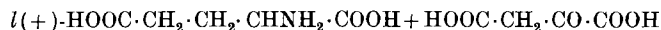
65. Zur Frage der Wirkungsgruppe der Transaminasen

von P. Karrer und M. Viscontini.

(29. I. 47.)

Nachdem Transaminierungsvorgänge zwischen Aminosäuren und α-Ketocarbonsäuren bei Tieren und höheren Pflanzen aufgefunden worden waren¹⁾, suchte man solche auch in Mikroorganismen nachzuweisen. Die Ergebnisse waren positiv. *Adler*, *Hellström*, *Günther* und *H. v. Euler*²⁾ fanden, dass der *Bacillus coli* gewisse Transaminierungen durchführen kann; zum selben Ergebnis gelangte *Diczfalusy*³⁾.

Lichstein und *Cohen* griffen das Problem erneut auf⁴⁾. Sie studierten die Transaminierungsreaktion zwischen *l*(+)-Glutaminsäure und Oxalessigsäure einerseits, α-Ketoglutarsäure und *l*(+)-Asparaginsäure andererseits



und fanden, dass sich dieser Vorgang mit sehr verschiedenen Mikroorganismen, wie Streptokokken, Pneumokokken, *Acetobacter vine-landii*, *Bacillus Welchii* und *Bacillus coli* durchführen lässt.

¹⁾ Literaturzusammenstellung bis 1939 vgl. *Braunstein*, *Enzymol.* **7**, 25 (1939).

²⁾ *Z. physiol. Ch.* **255**, 14 (1938).

³⁾ *Bioch. Z.* **313**, 75 (1942).

⁴⁾ *J. Biol. Chem.* **157**, 85 (1945).