

## 6. Qualitativer Nachweis von Glykokoll.

Manchmal wird es von Nutzen sein, im Reagensglas festzustellen, ob eine Lösung überhaupt Glykokoll enthält oder nicht. Man kann dazu folgendermassen verfahren: Etwa 5 cm<sup>3</sup> der zu prüfenden Lösung (mit mindestens 1 mg Glykokoll darin) werden mit einem Spatel voll Aktivkohle kurz geschüttelt. Es wird von der Kohle abfiltriert und die Lösung mit 2–3 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt. Dazu fügt man 1 cm<sup>3</sup> 5-proz. wässrige Ninhydrinlösung und kocht etwa 1 Minute. Es wird gekühlt und die Lösung mit dem gleichen Volumen konz. Schwefelsäure unterschichtet. Dann wird unter fliessendem Wasser gemischt (Glasstab mit breitgedrücktem Ende). Nach Zugabe von einigen Krystallen Chromotropsäure wird wieder aufgeköcht (Vorsicht!). Entstehung einer violetten Farbe zeigt das Vorhandensein von Glykokoll an. Die Probe ist in dieser Form nicht ausführbar, wenn die Lösung Substanzen enthält, die von der Schwefelsäure verkohlt werden. In diesem Falle destilliert man nach Zufügen der Ninhydrinlösung mit einem Knierohr in ein zweites Reagensglas über und nimmt die Chromotropsäurereaktion im Destillat vor.

Herrn P.-D. Dr. O. Wiss danke ich für Anregung und Förderung bei dieser Arbeit.

## Zusammenfassung.

Es wird nachgewiesen, dass die Bestimmungsmethode von *Alexander, Landwehr* und *Seligman* (l. c.) zu niedrige Glykokollwerte liefert, wenn sie in Lösungen ausgeführt wird, die freie Aminosäuren enthalten.

Es wird eine Bestimmungsmethode für das Glykokoll beschrieben, die auch auf aminosäurehaltige Lösungen anwendbar ist.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

---

### 34. Der Einfluss zugeführter natürlicher Aminosäuren auf den Alanin- und Brenztraubensäuregehalt des Blutes<sup>1)</sup>

von F. Hatz.

(20. XII. 48.)

*Hier*<sup>2)</sup> untersuchte vor kurzem beim Hunde, wie 11 verschiedene Aminosäuren den Gehalt von 12 einzelnen freien Aminosäuren im Blute beeinflussen. Der Gehalt der jeweils enteral verabreichten Aminosäure steigt im Blut an. Leucin, Isoleucin und Methionin bewirken, wenn ihr Gehalt im Blut selbst hoch ist, eine Senkung des Gehaltes einiger anderer Aminosäuren. Der Tyrosingehalt des Blutes

<sup>1)</sup> Teilweise vorgetragen an der 33. Tagung des Schweizerischen Vereins der Physiologen und Pharmakologen (3. Juli 1948 in Bern).

<sup>2)</sup> S. W. Hier, J. Biol. Chem. **171**, 813 (1947).

steigt, wenn Phenylalanin gegeben wird. Das Alanin wurde nicht bestimmt. In einer kürzlich erschienenen Arbeit hat *Wiss*<sup>1)</sup> mitgeteilt, dass der Alaningehalt des Blutes bei der Ratte durch Verabreichung von eiweissreicher Kost im Vergleich zum Hungerzustand deutlich ansteigt. Als Fortsetzung dieser Arbeiten wurde untersucht, wie die einzelnen Aminosäuren, in Einzeldosen verabreicht, den Gehalt des Blutes an freiem Alanin beeinflussen. Mit dem Alanin wurde der Brenztraubensäuregehalt des Blutes bestimmt.

## Experimenteller Teil.

### Methoden.

Zur Alaninbestimmung wurde 1 cm<sup>3</sup> Citratblut mit 7 cm<sup>3</sup> 1-proz. Pikrinsäure enteiweisst und der Niederschlag durch Zentrifugieren abgetrennt. Im Filtrat wurde das freie Alanin kolorimetrisch nach *Wiss*<sup>2)</sup> bestimmt.

Zur Brenztraubensäurebestimmung wurde 0,2 cm<sup>3</sup> Citratblut mit 3,3 cm<sup>3</sup> 8,7-proz. Trichloressigsäure enteiweisst und der Niederschlag durch Zentrifugieren abgetrennt. Im Filtrat (3 cm<sup>3</sup>) erfolgte die Bestimmung der Brenztraubensäure kolorimetrisch nach der Methode von *Friedemann* und *Haugen*<sup>3)</sup>.

Bei der Verabreichung von Histidin wurde in einzelnen Fällen das freie Histidin im Blut nach der kolorimetrischen Methode von *Edlbacher* und Mitarbeitern<sup>4)</sup> bestimmt: 0,2 cm<sup>3</sup> Citratblut wurden mit 2,3 cm<sup>3</sup> 2,2-proz. Trichloressigsäure enteiweisst, der Niederschlag durch Zentrifugieren abgetrennt und 2 cm<sup>3</sup> des Filtrates zur Weiterverarbeitung verwendet.

Nach Verabreichung von Tryptophan wurde in den meisten Fällen das freie Tryptophan im Blut mit der mikrobiologischen Methode nach *Greene* und *Black*<sup>5)</sup> bestimmt. Das Blut wurde nach *Schenck* enteiweisst: 0,5 cm<sup>3</sup> Citratblut wurden mit 2,5 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt und mit je 3 cm<sup>3</sup> 2-proz. Salzsäure und 5-proz. Sublimatlösung versetzt. Die so enteiweusste Lösung wurde neutralisiert und mit Wasser auf 10 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Zur mikrobiologischen Bestimmung wurden 2,5 cm<sup>3</sup> Analyse verwendet.

### Durchführung der Versuche.

Männliche Kaninchen von 2—4 kg Körpergewicht liessen wir vor dem Versuch 24 Stunden hungern. Am Versuchstag wurde ihnen zuerst eine Nüchternblutprobe aus der Ohrvene entnommen und durch Zusatz von einigen Milligramm festem Natriumcitrat ungerinnbar gemacht. Die zu untersuchende natürliche Aminosäure wurde in wässriger, neutralisierter Lösung oder Suspension einerseits intravenös oder subcutan, andererseits enteral mit der Magensonde verabreicht. Cystin und Tyrosin wurden wegen ihrer schlechten Löslichkeit als Suspension, alle anderen untersuchten Aminosäuren als Lösung gegeben. Pro Kilogramm Körpergewicht wurde den Tieren durchschnittlich 0,5 g der Aminosäure verabreicht, mit Ausnahme von Tyrosin und Tryptophan, von welchen nur der zehnte Teil gegeben wurde. In bestimmten Zeitabständen nach der Verabreichung — in der Regel nach 15 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden — wurden weitere

<sup>1)</sup> *O. Wiss*, *Helv. physiol. pharmacol. acta* **6**, 135 (1948); *Helv.* **32**, 153 (1949).

<sup>2)</sup> *O. Wiss*, *Helv.* **31**, 22 (1948).

<sup>3)</sup> *T. E. Friedemann* und *G. E. Haugen*, *J. Biol. Chem.* **147**, 415 (1943).

<sup>4)</sup> *S. Edlbacher*, *H. Baur*, *H. R. Stachelin* und *A. Zeller*, *Z. physiol. Ch.* **270**, 158 (1941).

<sup>5)</sup> *R. D. Greene* und *A. J. Black*, *J. Biol. Chem.* **155**, 1 (1944).

Blutproben entnommen. Zwischen den einzelnen Versuchen hatten die Kaninchen eine Ruhepause von 8 Tagen. In der Zwischenzeit wurden sie normal ernährt (Kartoffeln, Grünfütter, Heu, Wasser).

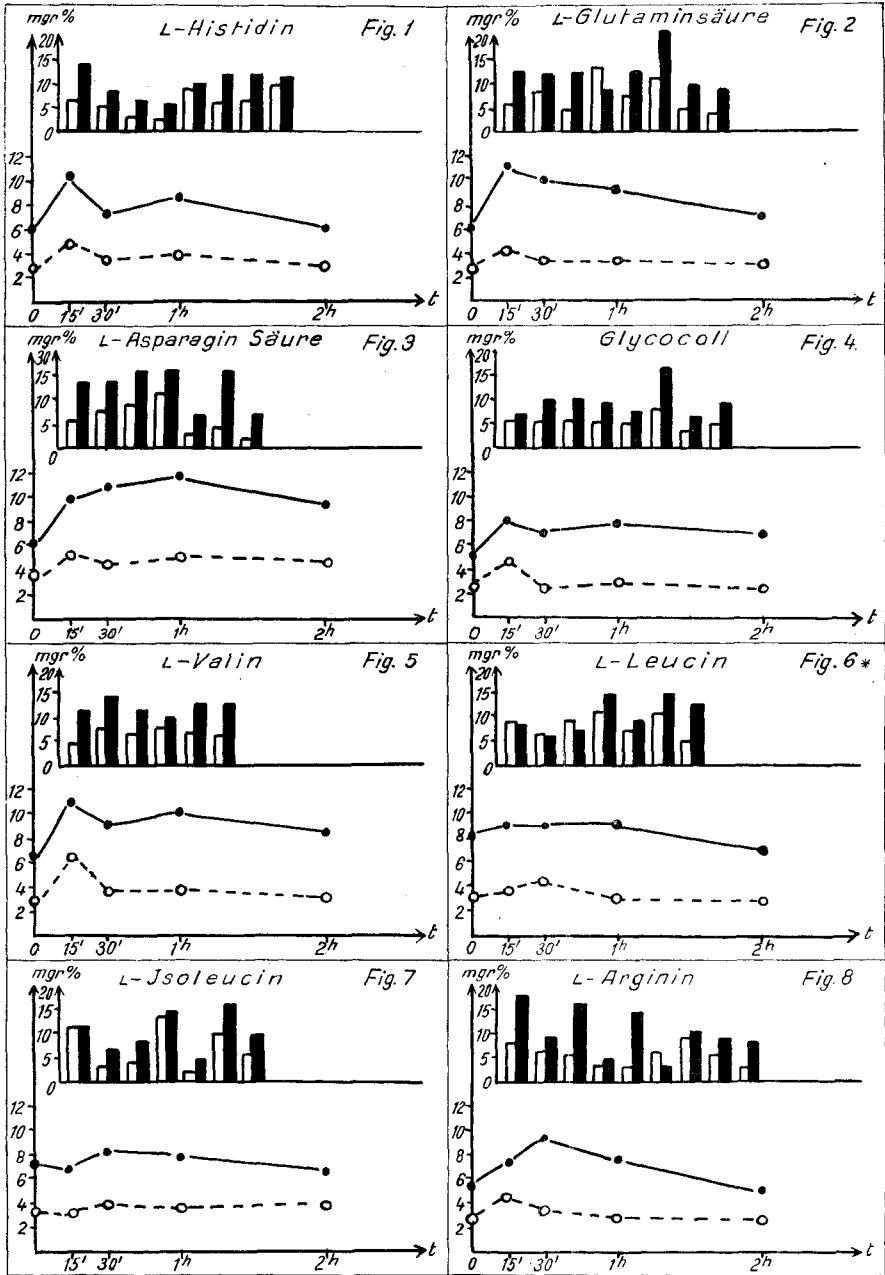
### Ergebnisse

Wie aus den folgenden Figuren hervorgeht, hat sich gezeigt, dass alle verabreichten Aminosäuren einen Anstieg des Alaningehaltes im Blut verursachen, nämlich L-Histidin, L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, Glykokoll, L-Valin, L-Leucin, L-Isoleucin, L-Arginin, L-Lysin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Tryptophan, L-Tyrosin und L-Cystin. Dabei fällt auf, dass das Tryptophan und das Tyrosin schon in 10fach geringerer Dosis verabreicht einen deutlichen Alaninanstieg bewirken. Bei den Kurven handelt es sich um Durchschnittswerte von 6—10 Einzelversuchen. Da sich zwischen den einzelnen Verabreichungsformen (enteral und parenteral) keine Unterschiede ergaben, wurde der Durchschnitt aller einzelnen Versuche in Form einer einzigen Kurve dargestellt. Bei jeder Abbildung sind zudem für die einzelnen Versuche Ausgangswert und maximaler Anstieg einander gegenübergestellt. Zu Kontrollversuchen wurde den Kaninchen ohne Zufuhr von Aminosäuren oder nach Verabreichung der entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung Blut entnommen. Es hat sich ergeben, dass der Alaningehalt dabei nicht ansteigt, oft nach mehrmaliger Punktion leicht absinkt, was offenbar durch die relativ grosse Blutentnahme bedingt ist.

In allen Versuchen wurde mit dem Alanin die Brenztraubensäure bestimmt. Es zeigte sich, dass die Vergleichswerte in ziemlich weiten Grenzen schwanken und die Beeinflussung durch verabreichte Aminosäuren unterschiedlich ist, dass in vielen Fällen jedoch ein deutlicher Anstieg der Brenztraubensäure sichtbar ist.

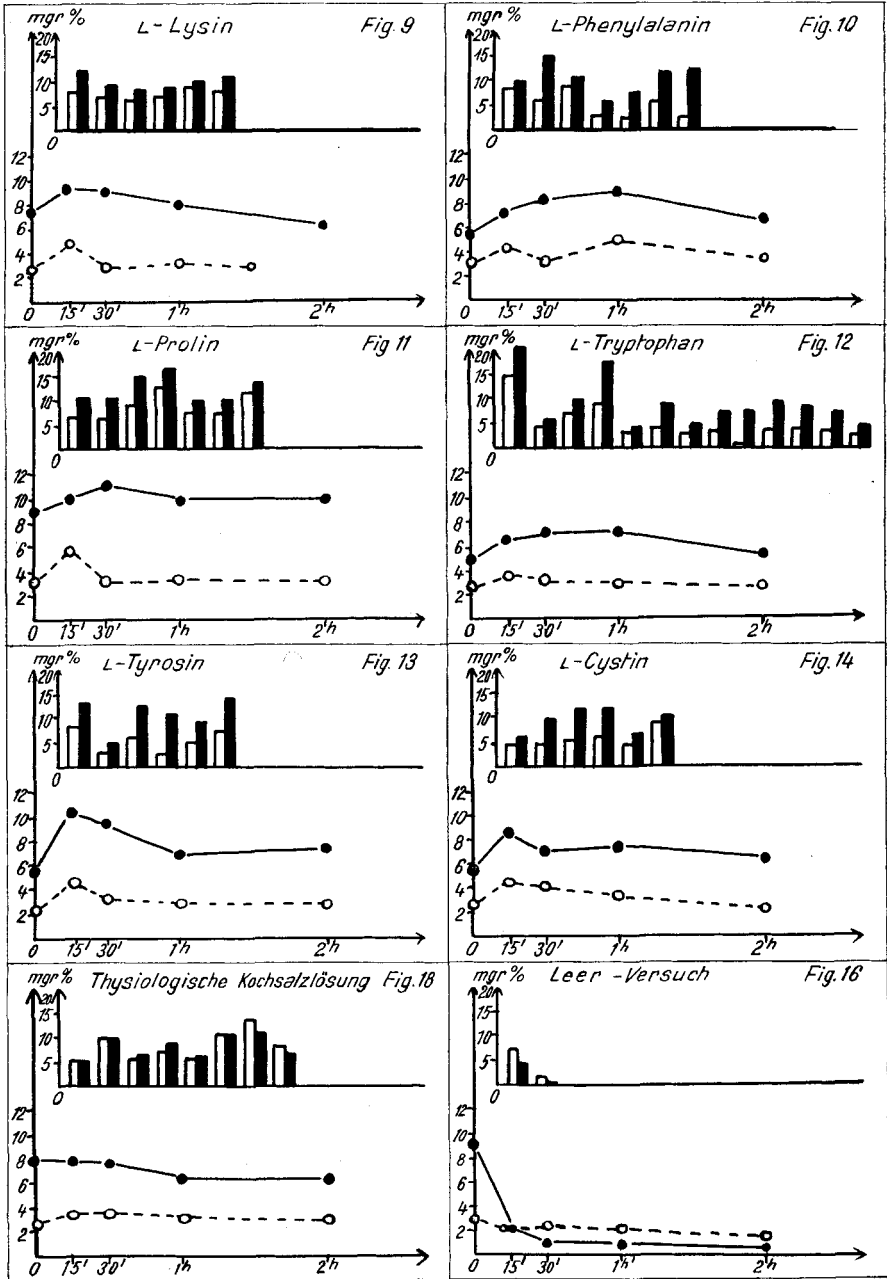
Nach Histidin- und Tryptophanverabreichung wurde neben Alanin und Brenztraubensäure auch der Gehalt der verabreichten Aminosäure ermittelt. Wie zu erwarten war, ist kurze Zeit nach der Injektion ein hoher Anstieg zu verzeichnen, der bei kleiner verabreichter Menge (Tryptophan) nach kurzer Zeit zur Norm absinkt, während bei hohen Dosen (Histidin) der Gehalt über mehrere Stunden erhöht bleibt.

Histidin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Glykokoll, Valin, Leucin, Isoleucin, Arginin, Lysin und Phenylalanin wurden Ratten und Meerschweinchen nach einer 24stündigen Hungerperiode subcutan verabreicht (1 g pro kg Körpergewicht). Die Tiere wurden nach verschiedenen Zeiten (15 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde, 2 Stunden) getötet und im Blut der Alaningehalt bestimmt. Auch in dieser Versuchsanordnung konnte durch alle verabreichten Aminosäuren ein Anstieg des Alaningehaltes beobachtet werden, der nach einigen Stunden wieder auf die Normalwerte abfiel.



Kurven: Alanin —●— Säuren: Alanin □ vor dem Versuch  
 Brenztraubensäure —○— ■ maximaler Anstieg

\* In den 3 ersten, in Fig. 6 dargestellten Versuchen erfolgte nach Verabreichung von Leucin kein Anstieg des Alaningehaltes. In allen 3 Fällen wurde das Leucin subcutan gegeben.



Kurven: Alanin —●—●—● Brenztraubensäure ○- - -○  
 Säulen: Alanin □ vor dem Versuch ■ maximaler Anstieg

## Zusammenfassung

1. 14 Aminosäuren, nämlich L-Histidin, L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, Glykokoll, L-Valin, L-Leucin, L-Isoleucin, L-Arginin, L-Lysin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Tryptophan, L-Tyrosin und L-Cystin, wurden Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen verabreicht und die Beeinflussung des Alaningehaltes im Blut ermittelt.

2. Es ist nicht verwunderlich, dass durch Verabreichung von Glutaminsäure und Asparaginsäure eine Erhöhung des Alaningehaltes im Blut auftritt, da Alanin durch die Umaminierungsreaktion aus diesen Aminosäuren sehr leicht entstehen kann.

3. Überraschenderweise hat sich aber ergeben, dass auch die übrigen Aminosäuren einen Anstieg des Alanins bedingen.

4. Vor allem ist auffallend, dass das Tryptophan und das Tyrosin schon in geringen Mengen verabreicht einen deutlichen Anstieg der Alaninwerte bewirken.

Herrn Priv.-Doz. Dr. O. Wiss, der die Anregung zu diesen Untersuchungen gegeben hat, sei hiefür sowie für seine freundlichen Ratschläge auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

---

### 35. Zur Kenntnis des Kohlenstoffringes.

49. Mitteilung<sup>1)</sup>.

#### Vielgliedrige Cyclanole und Cyclanol-acetate

von Margrit Kobelt, P. Barman, V. Prelog und L. Ruzicka.

(21. XII. 48.)

Für Untersuchungen über den Einfluss der Ringgrösse auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften bei vielgliedrigen Ringverbindungen bereiteten wir die Reihe der ringhomologen Cyclanole mit 8- bis 20-gliedrigem Ring durch katalytische Hydrierung der entsprechenden Cyclanone mit Raney-Nickel<sup>2)</sup>. Die Cyclanole mit 10, 11, 12, 16, 18, 19 und 20 Ringgliedern sind bisher nicht beschrieben worden.

Der Geruch der Cyclanole ist erwartungsgemäss schwächer als derjenige der entsprechenden Cyclanone<sup>3)</sup>. Die Alkohole mit 14—19 Ringgliedern zeigen jedoch einen schwachen moschusartigen Geruch. Die niedrigeren Homologen mit 9—13 Ringgliedern besitzen eigenartige, an bicyclische Terpenalkohole erinnernde Gerüche, während das Cycloekosanol mit 20 Ringgliedern fettartig riecht.

<sup>1)</sup> 48. Mitt. Helv. **31**, 1325 (1948).

<sup>2)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner und H. Wild, Helv. **28**, 395 (1945).

<sup>3)</sup> Vgl. L. Ruzicka und Mitarb. Helv. **9**, 722 (1926); **10**, 696 (1927).