

66. Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der Leber bei verschiedener Ernährung.

I. Alanin, Glutaminsäure (bzw. Glutamin) und Asparaginsäure

von O. Wiss und R. Krueger.

(I. II. 49.)

Die Umwandlung von Aminosäuren in Kohlehydrate ist als Gegenstand einer grossen Anzahl von Arbeiten eingehend untersucht worden¹⁾. Der umgekehrte Vorgang, die Bildung von Aminosäuren aus Kohlehydraten, ist viel weniger erforscht. Hier sind die Kenntnisse im wesentlichen auf die enzymatischen Vorgänge beschränkt, die der Umwandlung von Kohlehydratabbauprodukten in Aminosäuren zugrunde liegen. Es wird allgemein angenommen, dass Aminosäuren durch Aminierung bzw. Umaminierung der aus den Kohlehydraten stammenden α -Ketosäuren entstehen. Nicht abgeklärt hingegen ist die Frage, welche Ketosäuren in Frage kommen. Als sicher kann angenommen werden, dass die α -Ketoglutar säure eine bevorzugte Stellung einnimmt, denn *v. Euler*²⁾ hat nachweisen können, dass eine spezifisch eingestellte Glutaminsäuredehydrase existiert, die unter geeigneten Bedingungen, das heisst in Gegenwart der hydrierten Form der Codehydrase, befähigt ist, aus α -Ketoglutar säure und Ammoniak Glutaminsäure aufzubauen. *Braunstein* und *Kritzmann*³⁾ sind geneigt, die entsprechende Aminierungsreaktion für die Bildung der Asparaginsäure aus Oxalessigsäure anzunehmen, ohne dass sie das dafür verantwortliche Enzym nachgewiesen haben. Auch die Bildung von Alanin aus Brenztraubensäure erfolgt nach *Kritzmann*⁴⁾ über die Aminierung der Oxalessigsäure zu Asparaginsäure. In einer früheren Arbeit⁵⁾ wurden jedoch Versuche mitgeteilt, die gegen eine solche Annahme sprechen.

Auf Grund der Tatsache, dass diese drei erwähnten Aminosäuren durch die Umaminierungsreaktion miteinander verknüpft sind und dass die ihnen entsprechenden Ketosäuren in enger Beziehung mit dem Kohlehydratabbau stehen, ist zu vermuten, dass ihnen als Bindeglied zwischen Kohlehydrat und Aminosäure besondere Bedeutung zukommt.

¹⁾ Zusammenfassende Darstellung: *S. Soskin* und *R. Levine*, Carbohydrate Metabolism, Chicago, 1946, Seite 133.

²⁾ *H. von Euler*, *E. Adler* und *T. Steenhoff Erikson*, Z. physiol. Ch. **248**, 157 (1935).

³⁾ *A. E. Braunstein*, Adv. in Protein Chem. **III**, 1 (1947).

⁴⁾ *M. G. Kritzmann*, J. Biol. Chem. **167**, 77 (1947).

⁵⁾ *O. Wiss*, Helv. **31**, 1189 (1948).

Vor kurzem haben wir über das Verhalten der freien Aminosäuren im Blute der Ratte bei verschiedener Ernährung berichtet¹⁾. Es hat sich gezeigt, dass durch Kohlehydrat-Futter der Gehalt einiger essentieller Aminosäuren herabgesetzt wird, dass aber die Glutaminsäure und das Alanin stark ansteigen. Auch einmalige Verabreichung von Glucose hatte beim Kaninchen und Menschen eine deutliche Erhöhung des Alaningehaltes des Blutes zur Folge²⁾. Auffallend war der niedrige Gehalt an Asparaginsäure, der durch verschiedene Kost nicht beeinflusst wurde. Es kam somit auch in dieser Versuchsanordnung zum Ausdruck, dass die Glutaminsäure und das Alanin mit dem Kohlehydratstoffwechsel Beziehungen haben. Immerhin war die Gesamtmenge der so angereicherten Aminosäuren so klein, dass wir als Erweiterung dieser Untersuchungen dazu übergegangen sind, den Einfluss der verschiedenen Ernährung auf den Gehalt an freien Aminosäuren der Leber zu untersuchen. Im folgenden berichten wir über das Verhalten von Alanin, Glutaminsäure und Asparaginsäure.

Experimenteller Teil.

Ernährungsversuche.

4 Gruppen von je 7 männlichen, ausgewachsenen Ratten wurden während 3 Tagen verschieden gefüttert: eine Gruppe erhielt kohlehydratreiches Futter (80% Saccharose, 15% Cocosfett, 5% Salzgemisch *Mc. Collum*³⁾); eine zweite erhielt eiweissreiches Futter (80% Pferdefleisch, 15% Weizen, 5% Hefe und NaCl); eine dritte erhielt fettreiches Futter (80% Schweineschmalz, 15% Weizen, 5% Salzgemisch *Mc. Collum*), während die vierte Gruppe während derselben Zeit ohne Futter blieb. Nach 3 Tagen wurden die Tiere getötet, die Lebern entnommen und gewogen und nach Zusatz von Secesand einzeln vollständig homogenisiert. Das Lebergewicht der gefütterten Tiere betrug im Durchschnitt 10 g, dasjenige der Hungertiere 5—6 g. Der erhaltene Brei wurde mit der 10-fachen Menge Wasser extrahiert, durch Zentrifugieren die festen Anteile abgetrennt und die flüssige Phase enteieisst: 1 cm³ wurde mit 5 cm³ 1-proz. Pikrinsäurelösung versetzt, der Rest mit Wolframat und Schwefelsäure nach *Folin*⁴⁾ enteieisst und so verdünnt, dass 13 cm³ der Flüssigkeit 1 g Frischleber entsprachen.

Methoden.

Das Alanin wurde in dem mit Pikrinsäure enteieissten Anteil nach einer früher beschriebenen Methode bestimmt⁵⁾.

In dem nach *Folin* enteieissten Extrakt wurden Asparaginsäure und Glutaminsäure auf mikrobiologischem Wege bestimmt⁶⁾.

Die Berechnung der Signifikanz erfolgte nach dem t-Test von *Fisher*⁷⁾. Die Unterschiede der Zahlenreihen werden als signifikant angenommen, wenn das errechnete t grösser ist als der von *Fisher* angegebene Wert für P = 0,01.

¹⁾ *O. Wiss*, *Helv.* **31**, 2148 (1948); **32**, 153 (1949).

²⁾ *O. Wiss* und *R. Krueger*, *Helv.* **31**, 1774 (1948).

³⁾ *E. V. Mc. Collum* und *N. Simmonds*, *J. Biol. Chem.* **33**, 55 (1918).

⁴⁾ *O. Folin* und *H. Wu*, *J. Biol. Chem.* **38**, 81 (1919); **41**, 367 (1920); *Laborat. Manual of biol. Chemistry*, S. 227, New York-London, 1925.

⁵⁾ *O. Wiss*, *Helv.* **31**, 22 (1948).

⁶⁾ *L. R. Hac* und *E. E. Snell*, *J. Biol. Chem.* **159**, 291 (1945); *L. R. Hac*, *E. E. Snell* und *R. J. Williams*, *J. Biol. Chem.* **159**, 273 (1945).

⁷⁾ *R. A. Fisher*, *Statistical Methods for Research Workers*, 1946.

Alanin.

Chemische Bestimmungsmethode (l. c.).

Alaningehalt in mg%			
Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
54,8	123,2	69,1	46,9
52,8	108,0	58,7	46,9
48,8	112,7	54,8	50,8
43,0	128,4	75,6	63,2
43,0	108,0	71,7	80,2
56,7	71,7	67,1	67,1
46,9	112,7	61,3	48,9
		t	Signifikanz
Hunger-Kohlehydrat . .		8,26	+
Hunger-Eiweiss		4,58	+
Hunger-Fett		1,57	-
Kohlehydrat-Eiweiss . .		5,85	+
Kohlehydrat-Fett . . .		6,1	+
Eiweiss-Fett		1,39	-

Glutaminsäure und Glutamin.

Bestimmung mit *Lactobacillus arabinosus* nach *Hac* und Mitarbeitern (l. c.).Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: 0--150 γ L-Glutaminsäure.Analyse: 1 cm³ des enteiwisssten Extraktes (*Folin*).

Glutaminsäuregehalt in mg%			
Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
106,8	118,3	126,0	130,7
132,5	122,2	161,0	117,0
128,0	127,4	136,5	113,2
123,5	118,3	140,4	128,7
150,8	113,2	131,3	134,5
136,5	126,0	135,0	123,5
135,0	121,5	141,7	115,7
		t	Signifikanz
Hunger-Kohlehydrat . .		1,77	-
Hunger-Eiweiss		1,29	-
Hunger-Fett		1,205	-
Kohlehydrat-Eiweiss . .		3,93	+
Kohlehydrat-Fett . . .		0,662	-
Eiweiss-Fett		2,99	-

Asparaginsäure.

Bestimmung mit *Leuconostoc mesenteroides* P-60 nach *Hac* und *Snell* (l. c.).Ansätze: Gesamtlüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: 0—50 γ L-Asparaginsäure.Analyse: 1 cm³ des enteweissten Extraktes (*Folin*).

Asparaginsäuregehalt in mg%			
Hunger	kohlehydrat- reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
15,0	33,1	17,9	22,8
26,0	34,6	14,6	24,0
27,3	22,1	13,0	27,3
14,9	30,2	19,5	24,0
28,6	32,5	17,9	26,7
20,1	25,0	15,0	29,2
20,8	31,8	14,9	23,7
		t	Signifikanz
Hunger-Kohlehydrat . .		2,93	—
Hunger-Eiweiss		2,46	—
Hunger-Fett		1,55	—
Kohlehydrat-Eiweiss . .		7,07	+
Kohlehydrat-Fett . . .		2,3	—
Eiweiss-Fett		7,43	+

Ergebnisse.

Aus den Durchschnittswerten aller untersuchten Tiere geht deutlich hervor, dass der Gehalt an freiem Alanin, Glutaminsäure und Asparaginsäure der Leber im Vergleich zu den Werten des Blutes (*loc. cit.*) viel höher ist.

	Alanin mg%	Glutaminsäure mg%	Asparaginsäure mg%
Blut . . .	7,19	16,42	0,805
Leber . . .	70,3	128,3	23,3

Es zeigt sich aber auch, dass zwischen Leber und Blut insofern eine Übereinstimmung besteht, als die Glutaminsäure die höchste Konzentration aufweist, die Asparaginsäure in geringster Konzentration vorliegt und auch gegenüber dem Alanin stark herabgesetzt ist.

Der Alaningehalt der Leber zeigt eine deutliche Abhängigkeit von verschiedener Ernährung.

	Alaningehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydrat- reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Leber . . .	49,4	109,0	65,5	57,7
Blut . . .	4,27	10,9	6,5	7,1

Die Gegenüberstellung der Alaninwerte für die Leber und das Blut zeigt, dass sie sich prinzipiell gleich verhalten. In beiden Fällen sind die Kohlehydratwerte gegenüber den Hungerwerten stark, gegenüber den Fett- und Eiweisswerten mässig erhöht.

Die Glutaminsäure verhält sich in Leber und Blut verschieden. Während im Blut durch Kohlehydrat- und Fettfütterung ein starker Anstieg bedingt wurde, ist der Glutaminsäuregehalt der Leber durch verschiedene Ernährung kaum beeinflussbar.

	Glutaminsäuregehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiwissreiches Futter	fettreiches Futter
Leber. . .	130,5	120,9	139,0	123,3
Blut . . .	14,4	20,1	10,9	20,3

Der Asparaginsäuregehalt wird durch verschiedene Ernährung sowohl im Blut als auch in der Leber wenig beeinflusst. In der Leber scheinen die Eiweiss- und Hungerwerte gegenüber Fett und Kohlehydrat etwas erniedrigt zu sein.

	Asparaginsäuregehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiwissreiches Futter	fettreiches Futter
Leber. . .	21,8	29,9	16,1	25,4
Blut . . .	0,68	0,84	0,9	0,8

Besprechung der Ergebnisse.

Von 19 untersuchten freien Aminosäuren¹⁾ zeigt die Glutaminsäure bzw. das Glutamin sowohl im Blut als in der Leber den höchsten Gehalt. Diese Tatsache steht in Einklang mit ihrer besonderen Stellung im Stoffwechsel als Bindeglied zwischen Eiweiss- und Kohlehydrat- und zwischen Eiweiss- und Fettstoffwechsel. Bei der Untersuchung des Blutes sind diese Beziehungen dadurch zum Ausdruck gekommen, dass bei kohlehydrat- und fettreichem Futter der Glutaminsäuregehalt stark erhöht war.

Im Gegensatz zur Glutaminsäure liegt die Asparaginsäure im Blut und in der Leber in kleinerer Konzentration vor. Verschiedene Ernährung hat geringen Einfluss auf ihren Gehalt. Kohlehydrat- und Fettkost verursachen eine mässige Erhöhung gegenüber den Eiweisswerten. Es ist deshalb zu vermuten, dass der Asparaginsäure im Vergleich zur Glutaminsäure für den Stoffwechsel eine geringere Bedeutung zukommt.

Das Alanin ist, verglichen mit den übrigen Aminosäuren, sowohl im Blut als auch in der Leber in hoher Konzentration vorhanden. Auffallend ist die eindeutige Erhöhung nach Verabreichung von Kohlehydratfutter, was vor allem in der Leber sehr deutlich wird. Es scheint somit, dass diese Aminosäure mit dem Kohlehydratstoffwechsel besonders eng verknüpft ist.

¹⁾ O. Wiss, *Helv.* **31**, 2148 (1948); **32**, 153 (1949); z. T. noch unveröffentlichte Untersuchungen.

Zusammenfassung.

1. Alanin, Glutaminsäure und Asparaginsäure liegen in der Leber in viel höherer Konzentration vor als im Blut.

2. Die Glutaminsäure zeigt mit einer Konzentration von über 100 mg% den höchsten Gehalt; sie wird durch verschiedene Ernährung kaum beeinflusst.

3. Das Alanin wird durch Kohlehydrat-Zufuhr verglichen mit den Werten anderer Ernährung um ca. 100% erhöht.

4. Die Asparaginsäure zeigt den geringsten Gehalt. Kohlehydrat- und Fettkost bewirken gegenüber den Eiweisswerten eine mässige Erhöhung.

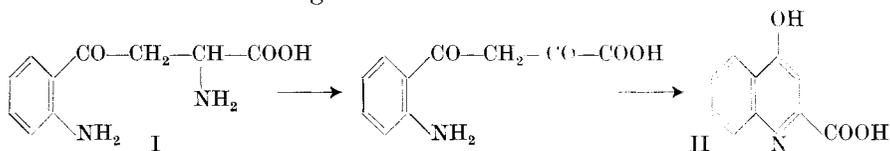
Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

67. Über den Abbau des Tryptophans zu Alanin und Anthranilsäure im tierischen Organismus

von O. Wiss und F. Hatz.

(I. II. 49.)

Die ersten Angaben über den Abbau des Tryptophans stammen von *Ellinger*¹⁾. Nach Verfütterung von Tryptophan hat er aus dem Hundeharn die Kynurensäure isoliert. Von *Kotake*²⁾ wurde das Kynurenin als Zwischenprodukt isoliert, das nach Oxydation des Tryptophans zu α -Oxytryptophan durch Ringspaltung entstehen soll. *Butenandt*³⁾ hat durch Synthese nachgewiesen, dass die von *Kotake* dem Kynurenin zugeteilte Formel nicht in allen Teilen richtig ist. Wird die neue Formel dem Kynurenin zugrunde gelegt, so kann nach *Butenandt* der biologische Abbau des Kynurenins (I) zu Kynurensäure (II) durch oxydative Desaminierung über o-Amino-benzoylbrenztraubensäure erfolgen:



¹⁾ A. *Ellinger*, Z. physiol. Ch. **43**, 325 (1904/5); A. *Ellinger* und Z. *Matsuoka*, Z. physiol. Ch. **109**, 259 (1920).

²⁾ Y. *Kotake*, Z. physiol. Ch. **195**, 139 (1931).

³⁾ A. *Butenandt*, W. *Weidel*, R. *Weichert* und W. *von Derjugin*, Z. physiol. Ch. **279**, 27 (1943).