

332. Über den Abbau von α -Amino- β -benzoyl-propionsäure im tierischen Organismus¹⁾

von O. Wiss und H. Fuchs.

(29. VIII. 49.)

Durch Untersuchungen von *Heidelberger*, *Abraham* und *Lepkovsky*²⁾ mit markiertem Tryptophan wurde nachgewiesen, dass Tryptophan über Kynurenin und Oxyanthranilsäure in Nicotinsäure übergeführt wird, was andere Autoren schon früher auf Grund von Ausscheidungs- und Fütterungsversuchen vermutet haben³⁾. Der genaue Mechanismus der Umwandlung ist vorläufig noch weitgehend unklar. Ebenso ist wenig bekannt über die für den Abbau verantwortlichen Enzyme. Tryptophan wird nach *Kotake*⁴⁾ durch Ringspaltung in Kynurenin übergeführt. Dieser Abbau verläuft nur unter aeroben Bedingungen im Gewebsschnittversuch. Der von *Kotake* angegebene Spaltungsmechanismus wurde durch *Butenandt*⁵⁾ modifiziert, nachdem letzterer die richtige Konstitution dieser Substanz erkannt hatte. Wir haben nachgewiesen, dass Kynurenin durch Abspaltung von Alanin abgebaut werden kann⁶⁾. Der Abbau erfolgt vermutlich so, dass die Kohlenstoffkette zwischen β - und γ -Kohlenstoffatom hydrolytisch aufgespalten wird. Es handelt sich somit um eine bisher noch nicht beschriebene, enzymatisch gesteuerte Reaktion. Sie ist von der Zellstruktur unabhängig, erfolgt auch unter anaeroben Bedingungen und ist vermutlich an die Anwesenheit von Phosphationen gebunden. Aus Ernährungsversuchen geht nun aber eindeutig hervor, dass Anthranilsäure als Vorstufe der Nicotinsäure nicht in Betracht kommt⁷⁾. Es ist deshalb anzunehmen, dass Kynurenin vor der Spaltung in Oxykynurenin übergeführt wird und erst dann die Spaltung erfolgt. Dies ist um so wahrscheinlicher, als neuerdings 3-Oxykynurenin von *Butenandt* und Mitarbeitern⁸⁾ aus *Calliphora*-Frischpuppen

¹⁾ Mit Unterstützung der *Emil-Barell*-Stiftung zur Förderung der medizinisch-wissenschaftlichen Forschung.

²⁾ *Ch. Heidelberger, E. P. Abraham* und *S. Lepkovsky*, *J. Biol. Chem.* **179**, 151 (1949).

³⁾ Vgl. zusammenfassende Darstellung: *C. A. Elvehjem* und *W. H. Krehl*, *J. Am. Med. Ass.* **135**, 279 (1947); *H. K. Mitchell, J. F. Nye* und *R. D. Owen*, *J. Biol. Chem.* **175**, 433 (1948).

⁴⁾ *Y. Kotake*, *Z. physiol. Ch.* **195**, 139 (1931).

⁵⁾ *A. Butenandt, W. Weidel, R. Weichert* und *W. von Derjugin*, *Z. physiol. Ch.* **279**, 27 (1943).

⁶⁾ *O. Wiss* und *F. Hatz*, *Helv.* **32**, 532 (1949); *O. Wiss*, *Helv.* **32**, 1694 (1949).

⁷⁾ *W. A. Krehl, L. M. Henderson, J. de la Huerga* und *C. A. Elvehjem*, *J. Biol. Chem.* **166**, 531 (1946).

⁸⁾ *A. Butenandt, W. Weidel* und *H. Schlossberger*, *Z. Naturforschg.* **4** b, 242 (1949).

isoliert worden ist. Auch soll es für *Neurospora* Mutanten als Zwischenprodukt in Frage kommen¹⁾. Für die Klärung dieses Problems ist es von Bedeutung festzustellen, ob das Kynurenin-spaltende Enzym spezifisch auf diese Substanz eingestellt ist oder ob ähnliche Verbindungen analog abgebaut werden. Im folgenden wurde die α -Amino- β -benzoyl-propionsäure²⁾, die sich vom Kynurenin nur dadurch unterscheidet, dass die in Ortho-Stellung befindliche Aminogruppe fehlt, untersucht. Versuche mit dialysiertem Rattenleberextrakt zeigen, dass diese Substanz mit ähnlicher Geschwindigkeit wie das Kynurenin unter Abspaltung von Alanin zerlegt wird. Im weiteren wurde versucht, im Tierexperiment Anhaltspunkte über den Abbau zu finden. An Ratten parenteral verabreichte α -Amino- β -benzoyl-propionsäure hat einerseits eine geringe Mehrausscheidung von Alanin zur Folge, andererseits aber wird der Alaningehalt im Blut und der Nicotinsäuregehalt der Leber stark herabgesetzt. Diese letzten Beobachtungen lassen vermuten, dass durch Anhäufung von α -Amino- β -benzoyl-propionsäure eine Hemmung der Nicotinsäurebildung zustande kommt, die möglicherweise auf Konkurrenzerscheinungen zwischen Oxykynurenin und α -Amino- β -benzoyl-propionsäure um das wirksame Enzym beruht, so dass dieser Substanz gewissermassen eine Antivitaminwirkung zukäme. Diese Zusammenhänge werden sich jedoch erst im Fütterungsversuch an Mangeltieren eindeutig abklären lassen.

Experimenteller Teil.

1. Enzymversuche.

Lebern ausgewachsener Ratten werden mit Seesand homogenisiert und mit dem doppelten Volumen Phosphatpuffer von $p_H = 7,73$ versetzt. Die nach längerem Zentrifugieren erhaltene Flüssigkeit wird während 24 Stunden im Eisschrank gegen Puffer dialysiert. Pro Versuchsansatz (grosse Reagenzgläser) werden 2 cm³ des so bereiteten

Tabelle 1.

Extrakt .	1		2		3		4			
DL-Kynurenin zugesetzt .	m/150		m/150		m/150		m/150		m/300	
DL- α -Amino- β -benzoyl- propionsäure zugesetzt .		m/150		m/150		m/150		m/150		m/300
Alanin gebil- det (abz. En- zymleerwert)	m/767	m/622	m/880	m/729	m/802	m/748	m/640	m/702	m/968	m/1170

¹⁾ Zitiert nach *Butenandt*³⁾.

²⁾ Über die Darstellung der α -Amino- β -benzoyl-propionsäure wird an anderer Stelle berichtet.

³⁾ *A. Butenandt, W. Weidel und H. Schlossberger, Z. Naturforschg. 4 b, 242 (1949).*

Extraktes zugegeben. Nach Zusatz der zu untersuchenden Substanz wird das Volumen mit Puffer auf 3 cm³ ergänzt. Nach Zugabe von 1 Tropfen Oktylalkohol werden die Ansätze während 24 Stunden bei 38° gehalten und anschliessend der Alaningehalt nach einer früher beschriebenen Methode bestimmt¹⁾. Aus der vorstehenden Tabelle 1 geht hervor, dass DL-Kynurenin und DL- α -Amino- β -benzoyl-propionsäure mit ähnlicher Geschwindigkeit abgebaut werden.

2. Tierversuche.

14 männliche Ratten von ca. 70 g Gewicht werden in Stoffwechsellkäfige gesetzt. Als Futter dient eine Mischung von je 30% Casein und Fett, 25% Kohlehydrate, 5% Salzgemisch (*Mc. Collum*²⁾), 10% Hefe und 2–3 cm³ Lebertran. 7 Tieren werden zweimal täglich je 35 mg α -Amino- β -benzoyl-propionsäure in 1,7-proz. Lösung subcutan gespritzt, den Kontrolltieren die entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung. Der während 3 Tagen gesammelte Harn wird auf den Alaningehalt geprüft. Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, dass durch Verabreichung von α -Amino- β -benzoyl-propionsäure eine deutliche Mehrausscheidung von Alanin zustande kommt.

Tabelle 2.

	γ Alanin/Tagesharn							Durchschnitt
Unbehandelte Tiere.	71,8	163	212,5	116	163	116	99,5	134,5
Behandelte Tiere.	271	199	232	329	309	271	232	263
P < 0,001 *)								

*) Die Signifikanz wurde nach dem t-Test von Fisher errechnet (Statistical Methods for Research Workers, 1946).

Nach dreitägiger Versuchsdauer werden die Tiere getötet, die Lebern einzeln mit Seesand homogenisiert, mit dem neunfachen Volumen Wasser extrahiert und der Extrakt nach Folin mit Natriumwolframat und Schwefelsäure enteiwisst. Die Nicotinsäurebestimmung (nach Snell und Wright³⁾) mit *Lactobacillus arabinosus* 17/5 zeigt, dass durch Verabreichung von α -Amino- β -benzoyl-propionsäure eine starke Herabsetzung des Nicotinsäuregehaltes der Leber zustande kommt (Tab. 3).

Tabelle 3.

	Nicotinsäure in mg%							Durchschnitt
Unbehandelte Tiere.	8,95	11,5	8,95	8,95	7,68	10,9	—	9,48
Behandelte Tiere.	6,4	1,6	4,48	8,32	3,2	4,15	6,08	4,88
P < 0,01								

Die Bestimmung des Alaningehaltes in der Leber hat keine signifikanten Unterschiede ergeben.

Die Bestimmung des Alaningehaltes im Blut⁴⁾ zeigt hingegen eine signifikante Erniedrigung des Alaningehaltes bei Tieren, die mit α -Amino- β -benzoyl-propionsäure behandelt worden sind (Tab. 4).

¹⁾ O. Wiss, Helv. **31**, 22 (1948).

²⁾ E. V. McCollum und N. Simmonds, J. Biol. Chem. **33**, 55 (1918).

³⁾ E. E. Snell und L. D. Wright, J. Biol. Chem. **139**, 675 (1941).

⁴⁾ O. Wiss, Helv. **31**, 22 (1948).

Tabelle 4.

	Alanin in mg%							Durchschnitt
Unbehandelte Tiere.	5,84	5,84	5,10	5,10	4,86	5,10	4,73	5,22
Behandelte Tiere.	3,63	2,59	2,59	2,22	5,10	2,22	3,44	3,11
P < 0,001								

Zusammenfassung.

1. α -Amino- β -benzoyl-propionsäure wird durch Rattenleberextrakt unter Abspaltung von Alanin zerlegt.

2. Die Verabreichung von α -Amino- β -benzoyl-propionsäure an Ratten hat einerseits eine geringe Mehrausscheidung von Alanin, andererseits aber eine deutliche Herabsetzung des Alanins im Blut und der Nicotinsäure in der Leber zur Folge.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

333. Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene.

90. Mitteilung¹⁾

Die Cyclisation der Farnesylsäure

von A. Caliezi und H. Schinz.

(29. X. 49.)

In letzter Zeit wurden mehrere aliphatische Sesquiterpenverbindungen in bicyclische Isomere übergeführt, die sich vom 1,1,5,6,10-Pentamethyl-octahydronaphtalin ableiten lassen. *F. Zobrist* und *H. Schinz*²⁾ sowie kurz darauf *Y. R. Naves*³⁾ cyclisierten Farnesylidenaceton mit Phosphorsäure zu einem Gemisch von α - und β -Bicyclofarnesylidenaceton, *M. Stoll* und *A. Commarmont*⁴⁾ Farnesal über das Semicarbazon mit Phosphorsäure zu α -Bicyclofarnesal und über die *Schiff'sche* Base mit Schwefelsäure zu β -Bicyclofarnesal⁵⁾.

Wir haben nun die Farnesylsäure (II), die wir aus Farnesal (I)⁶⁾ durch Oxydation mit Silberoxyd gewannen⁷⁾, auf analoge Art cycli-

¹⁾ 89. Mitt. Helv. **32**, 2464 (1949).

³⁾ Helv. **32**, 1802 (1949).

²⁾ Helv. **32**, 1192 (1949).

⁴⁾ Helv. **32**, 1836 (1949).

⁵⁾ Aus „Sesquilavandulol“ wurde ein bicyclisches Isomeres erhalten, das sich von einem andern Pentamethyl-octahydro-naphtalin ableitet, vgl. die demnächst im Druck erscheinende Diss. von *L. Colombi*, sowie eine spätere Publikation von *L. Colombi* und *H. Schinz*.

⁶⁾ Durch Oxydation von Nerolidol (aus Cabreuva) mit Chromsäure dargestellt, *M. Stoll* und *A. Commarmont*, Helv. **32**, 1356 (1949).

⁷⁾ Die Farnesylsäure wurde bereits von *Y. R. Naves* auf gleiche Weise hergestellt, Helv. **32**, 1891 (1949).