

### 3. Technische Ergebnisse der Redoxpolymerisation

Es soll nun noch kurz gezeigt werden, was bei Polymerisationen mit Redoxsystemen bisher erreicht wurde. Tabelle 2 zeigt das Ausmaß der mit verschiedenen Systemen erreichten Beschleunigung der Emulsionspolymerisation von Butadien-Styrol.

Wäßrige Phase	Oxydationsmittel	Reduktionsmittel	Polym.Zeit in Stunden
alkalisch	Ammonpersulfat	—	40
„	Benzoylperoxyd	—	80
„	Benzoylperoxyd	Dioxyaceton	6
„	Benzoylperoxyd	Dioxyaceton-Fe <sup>2+</sup>	1,5
„	O <sub>2</sub>	Dioxyaceton	20
„	O <sub>2</sub>	Dioxyaceton-Fe <sup>2+</sup>	2,5
sauer	Ammonpersulfat	—	25
„	O <sub>2</sub>	Paraffinsulfinat <sup>48)</sup>	1

Tabelle 2  
Emulsionsmischpolymerisation von Buna S bei 40°, Umsatz 60%

Aber allein die sehr großen Beschleunigungseffekte würden die Bedeutung, die man diesen Ergebnissen beimessen muß, nicht rechtfertigen. Entscheidend ist die Möglichkeit, nunmehr bei wesentlich tieferen Temperaturen in technisch tragbaren Zeiten polymerisieren zu können und dabei Polymerisate mit wesentlich verbesserten Eigenschaften zu erhalten. Dies soll am Beispiel des Buna-S gezeigt werden; die Versuchsergebnisse stammen aus dem Jahre 1942. Auf entsprechende Untersuchungen

Polymerisation		Defo-Härte		Belastg. 300 % kg/cm <sup>2</sup>	Reißfestigk. kg/cm <sup>2</sup>	Reiß-Dennung	Rückprall-elastizität	Härte
Temp. °C	Zeit h	Umsatz %	Rohfell					
5	47	52	6250	5300	40	315	658	68
20	10	62	6050	9550	140	236	422	74
40	2,25	63	6000	12000	97	145	405	72
Buna S (40°)	40	60	6000	10000	100	220	500	72

Tabelle 3  
Gummitechnische Werte von Tieftemperatur-Buna S (Laufflächenmischung)

<sup>48)</sup> Dieses Beschleunigungssystem wurde von W. Becker, F. Garten, H. Logemann u. H. Murke in Leverkusen aufgefunden und eingehend bearbeitet.

von W. Becker und H. Logemann<sup>49)</sup> sei ausdrücklich hingewiesen. In Tabelle 3 sind einige gummittechnische Werte einer Laufflächenmischung von Buna-S-Polymerisaten, die mit dem Redoxsystem Benzoylperoxyd-Fe<sup>2+</sup>-pyrophosphat-Dioxyaceton erhalten wurden, im Vergleich zu gewöhnlichem Buna-S, zusammengefaßt.

Bei 5° werden Polymerisate erhalten, die wesentlich günstiger verarbeitbar sind als der übliche Buna-S; die Defo-Härte der Mischung ist niedriger als die des Rohfelles; es tritt also ein Mastikationseffekt ein, der allerdings noch nicht mit demjenigen des Naturkautschuks verglichen werden kann. Modul, Reißfestigkeit, Reißdehnung und Härte liegen sehr günstig und erreichen die Werte des Naturkautschuks. Die Kerbzähigkeit und andere Prüfwerte liegen aber noch beträchtlich unter dem Niveau des Naturkautschuks.

In USA wurde die Bedeutung dieser Verfahren 1945 sofort erkannt, und dies umsomehr, als dort in ähnlicher Richtung gearbeitet worden war, wie wir aus neueren Veröffentlichungen<sup>50)</sup> wissen. Schon Anfang 1946 wurden Versuchsanlagen in Betrieb genommen. Seit Februar 1948 wird in mehreren Großanlagen die Tieftemperaturpolymerisation durchgeführt; als Redoxsystem dient Cumolhydroperoxyd-Fe<sup>2+</sup>-pyrophosphat-Invertzucker<sup>51)</sup>. In vielen Laboratorien werden die neuen Verfahren intensiv bearbeitet, wovon laufend Veröffentlichungen Kenntnis geben.

In Deutschland ist die erste Kautschuksynthese wissenschaftlich und technisch durchgeführt worden. Auch die neuen Polymerisationsverfahren wurden zuerst in Deutschland aufgefunden.

Es sei deshalb der Hoffnung Ausdruck gegeben, daß in Deutschland über den synthetischen Kautschuk nicht nur weiterhin gearbeitet werden darf, sondern auch die erarbeiteten Ergebnisse technisch ausgenutzt werden können.

Eingeg. am 11. Dezember 1948 [A 182]

<sup>49)</sup> H. Logemann: Vortrag auf d. Tagung d. Fachgruppe für Kunststoffe u. Kautschuk in Leverkusen am 19. 10. 1948. Vgl. auch DRP.-Anm. J. 69960, 1941 (Erf. Becker u. Dennstedt).

<sup>50)</sup> J. M. Kolthoff u. Mitarb., J. Polym. Sci. 2, 41, 49, 72, 82 [1947]; ebenda 3, 400 [1948]; W. H. Shearon jr., J. P. Mc. Kenzie u. M. E. Samuels, Ind. Engng. Chem. 40, 769 [1948]. Symposium on low Temperature Rubber, Ind. Engng. Chem. 41, 1553 ff [1949].

<sup>51)</sup> E. J. Vandenberg u. C. E. Hulse, ebenda 40, 932 [1948].

## Die Bedeutung der Transaminierung im Stoffwechsel

Von Prof. Dr. K. HEYNS\*)

Aus dem Chemischen Institut der Universität Hamburg

Fortschreitende Erkenntnisse und in übergeordnete Zusammenhänge erhaltene Einblicke haben es mehr und mehr ermöglicht, ein zunächst mosaikartig zusammengesetztes Bild von den während des Lebens der Organismen ablaufenden Substanzveränderungen und ihren weitgehenden funktionellen Verknüpfungen und Regulierungen zu entwerfen. Vor allem sind die verwinkelten Vorgänge, die wir als „Stoffwechsel“ bezeichnen, in ihren Zusammenhängen unserem Verständnis wesentlich näher gerückt. Die „Transaminierung“ ist bei der Verknüpfung des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels mit dem Protein-Abbau und -Aufbau offensichtlich von besonderer Bedeutung.

### Einleitung

Im Rahmen der vielfältigen Umwandlungen, die im Stoffwechsel der tierischen und wahrscheinlich auch der pflanzlichen Organismen ablaufen, spielt die vor einem Jahrzehnt entdeckte enzymatische Übertragung von Amino-Gruppen auf bestimmte Ketosäuren eine immer deutlicher hervortretende Rolle. Diese zunächst als „Umaminierung“, später als „Transaminierung“ bezeichnete Umsetzung verläuft offensichtlich vor allem an den Verknüpfungsstellen des Abbaus, Umbaus und Aufbaus von Kohlenhydraten, Proteinen und Fetten und nimmt damit eine zentrale Stellung im sogenannten „Zwischenstoffwechsel“ ein. Es seien folgende allgemeine Ausführungen vorangestellt.

Kohlenhydrate, Proteine und Fette werden mit der jeweilig mehr oder weniger zufällig zusammengesetzten Nahrung aufgenommen, im Verdauungstrakt ihrer spezifischen Struktur durch fermentative hydrolytische Abbauvorgänge entkleidet,

und gelangen als niedermolekulare Bausteine in stetig wechselnder Menge und Zusammensetzung in das Blut bzw. zur Leber. Aus diesem, einem weitgespannten Wechsel in der Verteilung unterliegendem Stoffgemisch muß der Organismus den für die Aufrechterhaltung seines Daseins erforderlichen Anteil „assimilieren“, andere Anteile mit oder ohne energetische Nutzung ausscheiden, im übrigen aber zusätzlich zahlreiche Umbauarbeiten und Synthesen an und aus bestimmten Spaltstücken durchführen und sich hierbei umfangreicher Stoffumwandlungen bedienen.

An diesem „Stoffwechsel“ sind mannigfache verschiedene Verbindungen und Körpergruppen beteiligt, die sich mit einer großen Zahl bestimmter Einzelvorgänge in Beziehung bringen lassen, die in ihrer Gesamtheit die Äußerungen des komplexen Lebensgeschehens darstellen. Diese sich an den jeweiligen Substanzen abspielenden Umwandlungen sind vielfach miteinander gekoppelt, laufen z. T. in typischen Cyclen ab, die ihrerseits wiederum mit andersartigen Auf- und Abbaureaktionen verbunden

\*) Nach einem Vortrag vor der Chemischen Gesellschaft Hamburg am 16. Juli 1948.

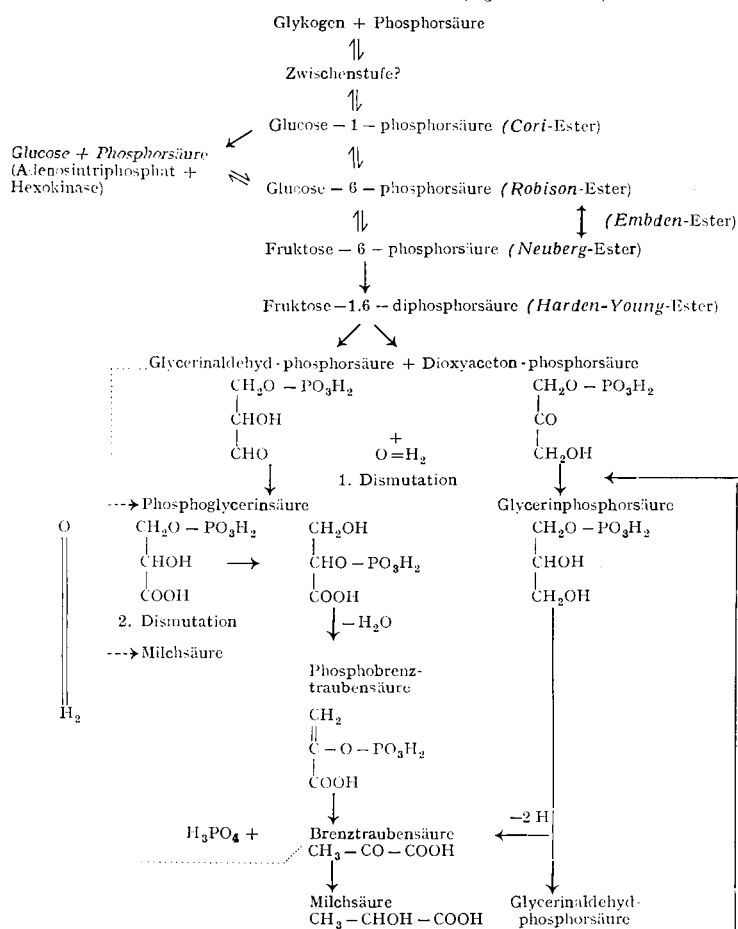
sind. Gewissermaßen kann mit dem Abbaufälle der einen Umwandlung eine andere Aufbaureaktion gekoppelt sein und gleichzeitig ablaufen. Andere sich in nächster Nachbarschaft vollziehende Umwandlungen können dabei sogar zeitweise entgegengesetzte Richtung aufweisen.

Bei diesen, nur in sehr mühsamer Einzelarbeit entwirrbaren, vielfach miteinander funktionell verkoppelten und außerdem noch hormonal und nervös (sympathicoton-dissimilatorische Leistungsphase – vagoton-assimilatorische Erholungsphase!) gesteuerten und regulierten Einzelvorgängen ist das Schicksal der mit den Aminosäuren eingebrachten Amino-Gruppen und damit das des Stickstoffs besonders interessant. Die Bedeutung dieser Vorstellungen im Hinblick auf die durch Eiweißmangel hervorgerufenen Schädigungen im Zusammenhang mit der Frage nach den Möglichkeiten des Organismus zum Aufbau oder Ersatz lebensnotwendiger Aminosäuren braucht nicht näher ausgeführt zu werden<sup>1)</sup>.

Zahlreiche physiologische Erscheinungen und klinische Erfahrungen wiesen darauf hin, daß außer direkter Verwertung der Aminosäuren beim Aufbau der Körpereiwweißsubstanz und dem Abbau von Aminosäuren unter Fixierung und Eliminierung der Amino-Gruppe im Harnstoff auch noch andere Vorgänge unter Einbeziehung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels ablaufen müssen. Es zeigte sich, daß der Proteinstoffwechsel also nicht isoliert verläuft, sondern mit dem Gesamtstoffwechsel an bestimmten Stellen zusammenfließt und gegebenenfalls im Zusammenhang damit betrachtet werden muß. Es sei daher zunächst der Hauptumwandlungsweg der Kohlenhydrate, Fette und Proteine in den Grundlinien kurz skizziert.

### Kohlenhydrat-Abbau

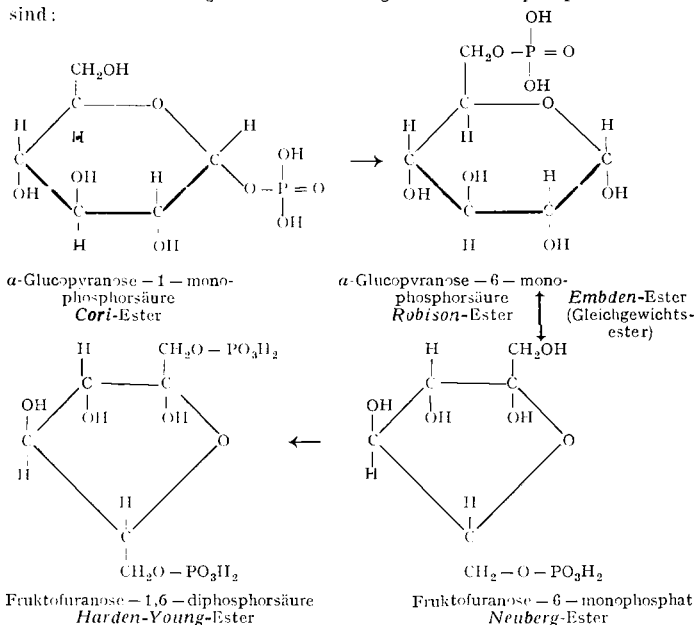
Der Abbauweg der Kohlenhydrate beginnt bei dem Grundbaustein, der Glucose (dem „Blutzucker“). Er verläuft nach den Vorstellungen von *Willstätter-Rohdewald* und der *Cori-Schule* obligatorisch über das unter dem Einfluß des Insulins deponierte Leber- oder Muskelglykogen unter Einschaltung zahlreicher Fermentsysteme, der besonderen Rolle von Phosphorylierungsvorgängen<sup>1a)</sup>, zunächst in einer anaeroben Phase bis zur Brenztraubensäure bzw. Milchsäure. (Vgl. Schema 1).



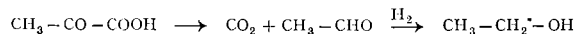
<sup>1)</sup> H.-K. Bansi, Ärztl. Wschr., Heft 17/18, 261 [1946]; vgl. ferner Med. Klinik Nr. 20, 492 [1946].

<sup>1a)</sup> Eine zusammenfassende Darstellung vgl. bei F. Lynen, Naturwiss. 30, 398 [1942].

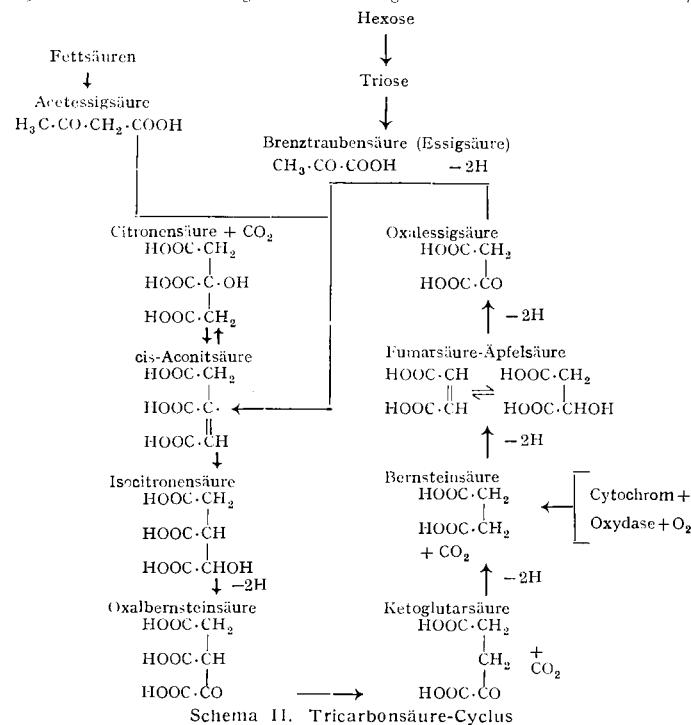
Die strukturmäßigen Zusammenhänge der Hexosephosphorsäureester sind:



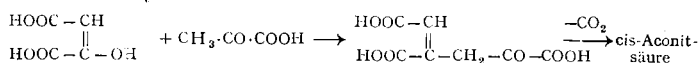
Bei der anaerob verlaufenden alkoholischen Gärung erfolgt statt der bei der Muskelglykolyse an die Brenztraubensäure anschließenden Hydrierung zu Milchsäure zunächst unter Mitwirkung von Carboxylase und deren Coferment Diphosphoanerin  $\text{CO}_2$ -Abspaltung mit nachfolgender Hydrierung zu Äthanol:



Der Hauptweg des Kohlenhydratabbaus verläuft nunmehr im Organismus weiterhin in einer aeroben Phase. Ein Teil der entstandenen Milchsäure wird durch reversibel verlaufende Teilvorgänge zur Glykogen-Re-synthese verwendet, während der andere Teil zur Deckung der erforderlichen Energie zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  „verbrannt“ wird. Dieser letztere Vorgang erfolgt unter Einschaltung des bekannten „Citronensäure-Cyclus“, den man jetzt treffender als Tri-carbonsäure-Cyclus bezeichnet, in einer von *Krebs*, *Szent-Györgyi*, *Knoop* und *Martius* erörterten Weise, entsprechend Schema II, in welchem insbesondere die für die Transaminierung wichtigen Ketosäuren Oxalessigsäure und Ketoglutaräure bemerkenswert sind<sup>2)</sup>.



Auf verschiedene neuere Modifizierungen des Cyclusbildes sei nicht eingegangen; vgl. *Ohlmeyer*<sup>3)</sup>. Es sei lediglich nochmals darauf hingewiesen, daß die Brenztraubensäure nach  $\text{CH}_3\text{--CO--COOH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HOOC--CH}_2\text{--CO--COOH}$  auch direkt Oxalessigsäure zu bilden vermag (*Wood-Werkman-Reaktion*) und offensichtlich ferner in der Lage ist, mit Enol-oxalessigsäure über Oxalomesaconsäure direkt unter  $\text{CO}_2$ -Verlust in cis-Aconitsäure überzugehen, wodurch die Citronensäure gewissermaßen „in Nebenschluß“ zum Cyclus kommen würde:



<sup>2)</sup> Vgl. auch W. Franke, diese Ztschr. 53, 589 [1940], dort weitere Original-literatur. <sup>3)</sup> Diese Ztschr. 60, 31 [1948].

Für die Kondensation mit Oxallessigsäure kommt auch die Essigsäure in Frage, die damit in grundsätzlich ähnlicher Weise im einmaligen Ablauf des Cytos bilanzmäßig in  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  übergehen kann.

Es sei darauf hingewiesen, daß die im Organismus mehrfach ablaufenden „Cyclen“ als solche keine beträchtlichen Energiemengen zu liefern vermögen, da sie zumeist aus einer Kette reversibler Umwandlungen bestehen. Es sind immer irreversible Umsetzungen, die als Quelle der energieliefernden Reaktionen anzusehen sind<sup>3a)</sup>.

Neben der anaeroben Milchsäurebildung und dem aeroben Abbau von der Brenztraubensäure aus, ist noch ein stufenweiser Abbau der Hexosen über Pentosen und Tetrosen zur Brenztraubensäure bei Anwesenheit von Sauerstoff in Betracht zu ziehen<sup>3b)</sup>. In Gegenwart von Codehydrase II wird Glucose-6-phosphat zu Phosphogluconsäure oxydiert, die dann über 2-Keto-6-phosphogluconat in-5-Phosphopentose unter  $\text{CO}_2$ -Verlust überführbar ist<sup>3c)</sup>.

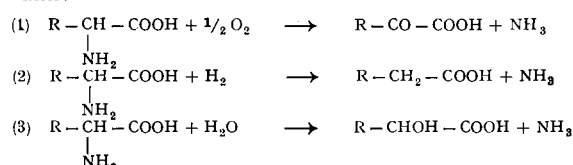
## Fett-Abbau

Der Glycerin-Anteil der Fette mündet ohne weiteres in den Kohlenhydrat-Stoffwechsel ein, nachdem erwiesen ist, daß das Glycerin zur Glykogen-Bildung befähigt ist.

Als die grundlegenden Prinzipien des Fettsäureabbaus sind die  $\beta$ -Oxydation nach Knoop sowie die Methyl-oxydation (Verkade, Flaschenträger) anzusehen, wobei vielleicht über Ketosäuren als Zwischenprodukte jedenfalls  $\text{C}_2$ -Spaltprodukte auftreten, die durch Kondensation mit Oxallessigsäure ihren weiteren oxydativen Abbau im Rahmen des Tricarbonsäure-Cyclus erfahren. Wenngleich die Natur des  $\text{C}_2$ -Spaltstückes noch nicht eindeutig erkannt ist (nachdem die hier zuerst vermutete Essigsäure fragwürdig geworden ist) und auch die Möglichkeit des Entstehens von  $\text{C}_4$ -Dicarbonsäuren nicht außer Betracht gelassen werden kann, so darf für unsere folgenden Erörterungen festgehalten werden, daß der Fettstoffwechsel eindeutig in den Kohlenhydrat-Abbau einmündet, und zwar dort, wo der anaerobe Teil abgeschlossen ist und der aerobe Vorgang beginnt.

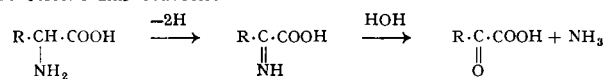
## Protein-Abbau

Auf eine vor kurzem von K. Felix<sup>4)</sup> über den Abbau der Aminosäuren im Tierkörper gegebene Darstellung sei verwiesen. Je nach Stoffwechsellaage und Bedarf können die angebotenen Aminosäuren zur Bildung von Organeisweißkörpern, Hormonen oder Fermenten Verwendung finden, während sie bei Überangebot oder mangelnder Verwertbarkeit abgebaut werden können, um den Energieinhalt nutzbar zu machen oder eine Deponierung nach Umwandlung in Fett oder Kohlenhydrat zu ermöglichen. Im letzteren Falle ist eine vorhergehende Desaminierung erforderlich, die oxydativ (1), reduktiv (2) oder hydrolytisch (3) erfolgen kann:

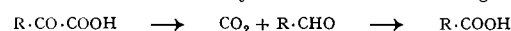


Im Stickstoff-Gleichgewicht wird als Harnstoff eine N-Menge laufend ausgeschieden, die etwa der N-Zufuhr entspricht, wobei ein Teil der  $\text{NH}_2$ -Gruppen des Harnstoffs aus der Desaminierung der unmittelbar zuvor zugeführten Bausteine der Nahrungsproteine entstammt, während ein anderer Teil aus umgesetztem Körperprotein und Zellinhalten gebildet wird.

Von den angegebenen Möglichkeiten steht die oxydative Desaminierung zweifellos im Vordergrund. Die Umwandlung erfolgt unter Vermittlung der Aminosäureoxydasen (Niere, Leber) und führt zu Ketosäuren über hypothetische Iminosäuren:



Von den Ketosäuren aus kann Decarboxylierung und nachfolgende Oxydation der entstandenen Aldehyde zu Carbonsäuren erfolgen:



die dann den normalen Weg des Fettsäure-Abbaus gehen und damit schließlich in den Tricarbonsäure-Cyclus der aeroben Kohlenhydrat-Umsetzung einmünden.

Auf verschiedenartiges Verhalten der optischen Antipoden der Aminosäuren sei nur kurz hingewiesen. Während die d-Formen nach obigem Schema durch die d-Aminosäureoxydase verändert werden, liegen für die l-Aminosäuren bei z. T. analogem Abbauweg mehrere Fermente und zuweilen bestimmte Sonderschicksale einzelner Bausteine vor (Tyrosin  $\rightarrow$  Tyramin, Histidin  $\rightarrow$  Histamin, Tyrosin  $\rightarrow$  Homogentisinsäure, Tryptophan  $\rightarrow$  Kynurensäure, Prolin  $\rightarrow$  Glutaminsäure/Ornithin usw.).

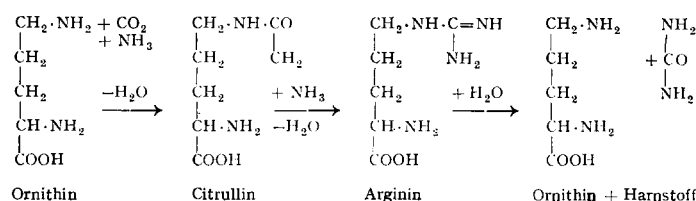
<sup>3a)</sup> H. Krebs, Encymol. 12, 88 [1947].

<sup>3b)</sup> F. Dickens, Biochemic. J. 32, 1645 [1938]; W. Engelhardt u. N. Sakov, Biochem. Russ. 8, 9 [1943].

<sup>3c)</sup> K. Harrison, Biochemic. J. 25, 1027 [1931]; O. Warburg u. W. Christian, Biochem. Z. 292, 287 [1937].

<sup>4)</sup> Diese Ztschr. 59, 71 [1947], weitere Literatur ebenda, s. a. Th. Wieland, diese Ztschr. 55, 147 [1942] über Desaminierung, Aminierung und Umaminierung.

Zur Harnstoff-Bildung sei der von Krebs für die Leber nachgewiesene Ornithin-Cyclus angegeben, der u. a. dafür sorgt, daß kein freies  $\text{NH}_3$  angesammelt werden kann:



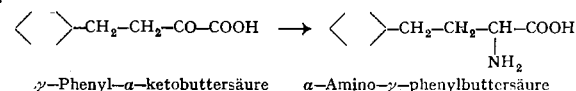
Ornithin Citrullin Arginin Ornithin + Harnstoff

Tabelle III  
Ornithin-Cyclus nach Krebs

Der Proteinabbau mündet also einerseits – abgesehen von bestimmten anderweitigen Einbauten und Sonderumwandlungen an einzelnen Bausteinen – wie der Fettstoffwechsel in den damit in einer zentralen Stellung erscheinenden Tricarbonsäure-Cyclus. Andererseits läßt er den N-haltigen Anteil seiner Bausteinmolekeln offensichtlich irreversibel im Harnstoff zur Ausscheidung gelangen.

## Auf- und Umbau der Protein-Bausteine

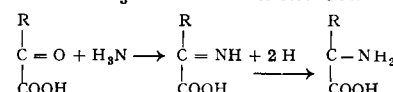
Den erörterten Abbaumechanismen gegenüber steht nunmehr die Frage nach Um- bzw. Aufbaureaktionen im Organismus, insbesondere die bereits oben aufgeworfene Feststellung, daß der Stickstoff auch andere Wege gehen kann. Bereits 1910 beobachtete Knoop u. a. die Ausscheidung von (acetylierten) Aminosäuren bei der Verfütterung bestimmter Ketosäuren<sup>5)</sup> z. B.



Im Durchströmungsversuch an der überlebenden Leber stellte dann Embden<sup>6)</sup> die Bildung von

Phenylalanin aus Phenylbrenztraubensäure  
Norleucin aus  $\alpha$ -Ketocaprinsäure  
Alanin aus Brenztraubensäure

fest, womit das Eintreten der Amino-Gruppe in organische Bindung durch „reduktive Aminierung“ als der Umkehr der oxydativen Desaminierung festgestellt worden war (das Vorhandensein von freiem  $\text{NH}_3$  war damit nicht bewiesen!):



Daß auch physiologisch derartige Aminierungen von Ketosäuren eine zentrale Rolle spielen müssen, ergab sich durch den Nachweis, daß lebenswichtige Aminosäuren (Leucin, Phenylalanin, Tryptophan) im Fütterungsgemisch durch Zufuhr der entsprechenden Ketosäuren ersetzbar sind<sup>7)</sup>.

## Transaminierung

Wir erinnern uns nunmehr, daß einige Ketosäuren im Citronensäure-Cyclus auftreten, nämlich Brenztraubensäure, Oxallessigsäure und Ketoglutarinsäure. Hier liegt nun eine wichtige Verknüpfungsstelle zwischen dem Aminosäure-Ab- bzw. -Umbau und dem Kohlenhydrat-Fettstoffwechsel, deren Vorhandensein durch die Entdeckung der Transaminierungsreaktion von Braunstein und Kritzmann 1937<sup>8)</sup> aufgeklärt wurde. Sie zeigten, daß unter der Einwirkung von Muskelbrei oder Muskel-extrakten unter bestimmten Bedingungen auf ein Gemisch von Amino-dicarbonsäuren und Brenztraubensäure und andere  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren eine „Transaminierung“ eintritt, Al-die zu anin aus Brenztraubensäure, zu Ketoglutarinsäure und Oxallessigsäure aus Glutaminsäure bzw. Asparaginsäure führt. Die weiteren Untersuchungen über diese Umwandlung, an denen außer Braunstein und Mitarbeitern besonders Cohen, Virtanen, Krebs u. a. beteiligt waren, ergaben, daß aus den Ketosäuren immer die

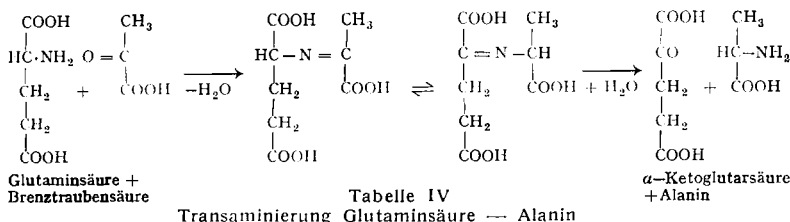
<sup>5)</sup> F. Knoop, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 71, 552 [1910]; F. Knoop u. E. Kertess, ebenda 71, 489 [1911]; vgl. auch Du Vigneaud u. Irish, J. biol. Chemistry 122, 349 [1938].

<sup>6)</sup> Biochem. Z. 29, 423 [1910], 38, 393 [1912].

<sup>7)</sup> C. P. Berg, W. C. Rose u. C. S. Marvel, J. biol. Chemistry 85, 219 [1929]; W. C. Rose, Science 86, 298 [1937].

<sup>8)</sup> Enzymologia 2, 129, 138 [1937]; Nature [London] 158, 102 [1946].

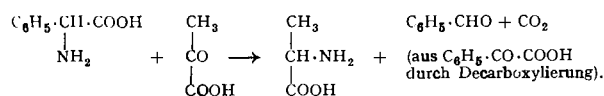
Aminosäure der I-Reihe entsteht, daß unter gewissen Bedingungen auch  $\text{NH}_3$  mit Ketoglutaräure reagieren kann, daß eine Umkehr der Reaktion möglich ist und sich ein Gleichgewicht unter den vier Reaktionspartnern einstellt:



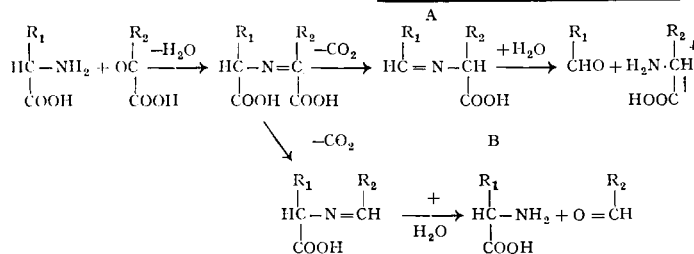
Die Reaktion wird vorstehend formuliert als Bildung einer *Schiffschen* Base, Wanderung des Wasserstoffs bei gleichzeitiger Verschiebung der Doppelbindung — es wird angenommen, daß dieser Teil der Umlagerung unter dem Einfluß des Fermentes „Aminopherase“ vor sich geht — und anschließender Hydrolyse.

### Chemische Transaminierung

Es erscheint von Interesse zunächst zu erfahren, welche Umsetzungen bei der Einwirkung von Aminosäuren auf Ketosäuren sich „in vitro“ ergeben. 1934 zeigten *Herbst und Engel*<sup>9)</sup>, daß sich in wäßriger Lösung z. B. von Phenylglycin und Brenztraubensäure beim Erwärmen eine Übertragung der Amino-Gruppe auf die Ketosäure ermöglichen läßt:

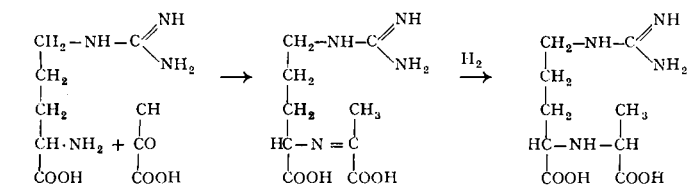


Beim weiteren Studium dieser Umsetzung<sup>10)</sup> zeigte sich, daß auch der Aldehyd der eingesetzten Ketosäure (im vorliegenden Falle Acetaldehyd) entsteht, so daß von der *Schiffschen* Base ausgehend eine Decarboxylierung und damit ein Reaktionsverlauf in zweifacher Weise möglich ist; die Reaktion wird damit folgendermaßen formuliert:



Eine derartige „chemische“ Transaminierung verläuft gut vor allem mit aromatischen Aminosäuren und Cystin, die aber gerade bei der fermentativen Transaminierung inaktiv sind, während Amino-dicarbonsäuren nur sehr träge reagieren; es liegt also ein „schlechtes Modell“ vor. Bessere, d. h. den fermentativ festgestellten Umwandlungen entsprechende Ergebnisse werden erhalten<sup>11)</sup>, wenn die Ester der Aminosäuren und der Ketosäuren in nichtwäßrigen Lösungsmitteln aufeinander einwirken. Es kann dann keine Decarboxylierung erfolgen und außerdem ist die Reaktion reversibel, führt also zu Gleichgewichten, ähnlich dem biologischen Vorgang. Neuere Untersuchungen über *Schiffsche* Basen von Aminosäuren vgl. bei *McIntire*<sup>12)</sup>.

In diesem Zusammenhang sei die Synthese des Octopins nach *Knoop und Martius* erwähnt<sup>13)</sup>, nach der aus einem Gemisch von Arginin und Brenztraubensäure durch katalytische Hydrierung der primär entstehenden *Schiffschen* Base gewissermaßen eine „Fixierung“ der letzteren erfolgt:



<sup>9)</sup> J. biol. Chemistry 107, 505 [1934].  
<sup>10)</sup> R. M. Herbst, Advances Enzymol. 4, 75 [1944]; J. Amer. Chem. Soc. 58, 2239 [1936]; E. K. Harvill u. R. M. Herbst, J. org. Chemistry 9, 21 [1944]; R. M. Herbst u. D. Shemin, J. biol. Chemistry 147, 541 [1943].  
<sup>11)</sup> S. D. Brewer u. R. M. Herbst, J. org. Chemistry 6, 867 [1941].  
<sup>12)</sup> J. Amer. chem. Soc. 69, 1377 [1947].  
<sup>13)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 254, 1 [1938], 258, 238 [1939].

### Biochemische Transaminierung

Der Mechanismus der biochemischen Transaminierung ist mit  $\alpha$ -Deuteroalanin untersucht worden<sup>14)</sup>. Bei Versuchen mit dem System  $\alpha$ -Deuteroalanin + Ketoglutaräure + Ferment ergab sich, daß der größte Teil des  $\alpha$ -Deuteriums in das Wasser übergeht und daß die entstehende Glutaminsäure kein D enthält; dies weist darauf hin, daß die Umwandlung der *Schiffschen* Base I in die Formel II (Tab. IV) unter Lösung und Dissoziation des  $\alpha$ -Wasserstoffs, Umwandlung durch elektromere Verschiebung innerhalb der Methylen-Azomethin-Brücke und endlich Anlagerung eines Protons aus dem umgebenden Wasser besteht, so daß bei diesem „Austausch“ das

Deuterium von der organischen Substanz (als Ion) abgelöst und bei der nachfolgenden Wiederanlagerung in  $\alpha$ -Stellung am Ort der neuen Aminosäuren durch H der Umgebung ersetzt wird. *Herbst und Rittenberg*<sup>15)</sup> konnten durch Isotopenversuche zeigen, daß der Vorgang bei der chemischen Transaminierung andersartig verläuft, insofern als die elektromere Verschiebung auf Kosten eines Elektrons der ionisierten Carboxyl-Gruppe der Aminosäure erfolgt, wodurch  $\text{CO}_2$  entbunden wird; der  $\alpha$ -Wasserstoff der ursprünglichen Aminosäure verbleibt im entstehenden Aldehyd, während die  $\alpha$ -Stellung der neuen Aminosäure durch ein Proton der wäßrigen Umgebung besetzt wird; es erfolgt also auch hier ein Austausch von Wasserstoff (der formelmäßig als „Wanderung“ erscheint), jedoch an anderer Stelle der *Schiffschen* Base. Chemische und fermentative Transaminierung weisen also einen abweichenden Mechanismus auf.

Nach den vorliegenden Ergebnissen sind bisher die in Tabelle V

1) Glutaminsäure	+ Brenztraubensäure	↔	Alanin	+ Ketoglutaräure <sup>8)</sup>
2) Glutaminsäure	+ Oxalessigsäure	↔	Asparaginsäure	+ Ketoglutaräure <sup>16)</sup>
3) Asparaginsäure	+ Brenztraubensäure	↔	Alanin	+ Oxalessigsäure <sup>17)</sup>
4) Glutaminsäure	+ Ketobuttersäure	↔	Aminobuttersäure	+ Ketoglutaräure <sup>18)</sup>
5) Glutaminsäure	+ Ketovaleriansäure	↔	Valin	+ Ketoglutaräure <sup>18)</sup>
6) Glutaminsäure	+ Ketoisocaproensäure	↔	Leucin	+ Ketoglutaräure <sup>18)</sup>
7) Glutaminsäure	+ Ketomethylvaleriansäure	↔	Isoleucin	+ Ketoglutaräure <sup>18)</sup>
8) Ketoalpinsäure	+ Alanin	↔	Aminoalpinsäure	+ Brenztraubensäure <sup>19)</sup>
9) Mesoxalsäure	+ Alanin	↔	Brenztraubensäure	+ Aminomalonsäure <sup>19)</sup>
10) Mesoxalsäure	+ Glutaminsäure	↔	Ketoglutaräure	+ Aminomalonsäure <sup>16)</sup>
11) Cysteinsäure	+ Brenztraubensäure	↔	Alanin	+ Sulfobrenztraubensäure <sup>20)</sup>
12) Cysteinsäure	+ Oxalessigsäure	↔	Asparaginsäure	+ Sulfobrenztraubensäure <sup>21)</sup>
13) Cysteinsäure	+ Ketoglutaräure	↔	Glutaminsäure	+ Sulfobrenztraubensäure <sup>21)</sup>
14) Homocysteinsäure	+ Brenztraubensäure	↔	Alanin	+ Sulfoketobuttersäure <sup>19)</sup>

Tabelle V. Gesicherte enzymatische Transaminierungen

zusammengestellten durch Aminopherasen bewirkte Transaminierungsreaktionen beobachtet worden. Von diesen reversiblen, zu Gleichgewichten führenden Reaktionen sind die ersten drei am bedeutungsvollsten und besonders eingehend untersucht.

### Analytische Methodik

Hierbei ist es von besonderem methodischem Wert, über Verfahren verfügen zu können, die eine analytisch eindeutige Beurteilung der Umsetzungen ermöglichen. Die Bestimmung der Amino-dicarbonsäuren über den Amino-Stickstoff nach Ausfällung ist nur für orientierende Versuche anwendbar. Spezielle Mikromethoden sind entwickelt worden, z. B. von *Cohen* für Glutaminsäure<sup>21)</sup> und für Asparaginsäure<sup>22)</sup> durch Oxydation mit Chloramin T unter Messung des in Freiheit gesetzten  $\text{CO}_2$  oder der entstandenen Bernsteinäure. Auch auf der erschöpfenden Methylierung von Asparaginsäure und manometrischen Bestimmung der gebildeten Fumarsäure<sup>23)</sup> läßt sich eine Methode aufbauen. Die Bestimmung von Alanin kann auf verschiedene Weise erfolgen<sup>24)</sup>, z. B. durch Oxydation zu Acetaldehyd mit Isatin oder Ninhydrin und photometrische Bestimmung mit p-Oxydiphenyl, durch Oxydation mit Permanganat nach der Umwandlung in Oxyssäuren mittels Nitrit, gegebenenfalls unter Ausschaltung von Asparaginsäure und Threonin. Für Ketoglutaräure<sup>25)</sup>, Oxalessigsäure<sup>26)</sup> und Brenztraubensäure<sup>27)</sup> liegen besondere Methoden vor. Nach *Braunstein*

<sup>14)</sup> Advances Protein Chem. 1947, 6; Academic Press, New York.  
<sup>15)</sup> J. org. Chemistry 8, 380 [1943].  
<sup>16)</sup> I. Banga u. A. v. Szent Györgyi, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 245, 113 [1937]; P. P. Cohen, Chem. und Ind. 58, 652 [1939]; Biochemic. J. 33, 1478 [1939].  
<sup>17)</sup> P. P. Cohen u. G. L. Hekhuis, J. biol. Chemistry 140, 711 [1941].  
<sup>18)</sup> A. E. Braunstein, Advances in Protein Chemistry 11, 17, 1947.  
<sup>19)</sup> A. E. Braunstein, Enzymologia 7, 25 [1939]; vgl. auch Cohen, J. biol. Chemistry 136, 565 [1940], der die Bezeichnung „Transaminase“ vorschlägt.  
<sup>20)</sup> S. M. Bychkov, Biokhimiya 4, 189 [1939].  
<sup>21)</sup> Biochem. J. 33, 551 [1939]; vgl. ferner S. Darling, Acta physiol. Scand 10, 150 [1945].  
<sup>22)</sup> P. P. Cohen, J. biol. Chemistry 136, 565, 585 [1940].  
<sup>23)</sup> H. D. Dakin, ebenda 141, 945 [1942]; H. A. Krebs, D. H. Smyth u. E. A. Evans, Biochemic J. 34, 443 [1940].  
<sup>24)</sup> Cl. Fromaget u. P. Heitz, Microchim. Acta 3, 52 [1938]; A. Virtanen, T. Laine, T. Toivonen, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 266, 193 [1940].  
<sup>25)</sup> H. A. Krebs, Biochemic J. 34, 775 [1940].  
<sup>26)</sup> F. B. Straub, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 244, 105 [1936].  
<sup>27)</sup> A. E. Braunstein, Nature [London] 140, 427 [1937]; 143, 609 [1939].

und Mitarb. läßt sich Asparaginsäure auch mit Methylsulfat-Alkali in Fumarsäure und anschließend mit Zn und Phosphorsäure in Bernsteinsäure überführen<sup>28)</sup>.

### Fermentsysteme (Transaminasen)

An der Übertragung der Amino-Gruppen von Glutaminsäure und Asparaginsäure auf  $\alpha$ -Ketosäuren sind mindestens zwei Fermente beteiligt, die als Glutamin-Aminopherase und Asparagin-Aminopherase bezeichnet werden<sup>19)</sup>. Beide sind nicht mit L- oder D-Aminosäureoxydase oder mit spezifischen Dehydrogenasen identisch. Die Enzymsysteme lassen sich zellfrei darstellen und reinigen.

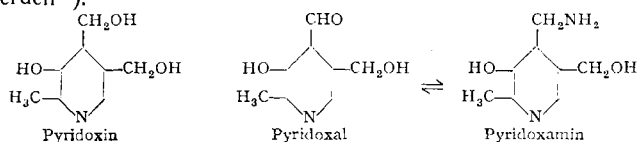
Glutamin-Aminopherase läßt sich in bester Ausbeute aus Taubenbrustmuskel isolieren, durch isoelektrische Fällung bei pH 4.5 reinigen und durch Erwärmen auf 60° von einer Ausfällung von Begleitproteinen trennen. Anreicherungen sind durch Fällung mit Ammoniumsulfatlösungen durchgeführt worden. Die klaren Lösungen sind voll wirksam. Das Ferment katalysiert die Umsetzungen zwischen Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin und Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure. Trocknen im Vakuum führt zu wirksamen Trockenprodukten, während Behandlung mit Aceton-Alkohol zur Zerstörung führt. pH-Optimum 7.5, Temperaturoptimum 40°, verträgt 20 min. bei 70°, wird bei 85° in 20 min. zu 90 % inaktiviert. Außer in Muskeln ist es in Leber und Niere, ferner in Weizenkeimlingen<sup>29)</sup> enthalten. Glutaminaminopherase ist gegenüber dem System Asparaginsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin inaktiv; kleine Mengen von Ketoglutarinsäure genügen jedoch, um als Zwischenträger zu dienen<sup>19)</sup>.

Asparagin-Aminopherase wird in bester Ausbeute aus Schweineherz-Preßsaft gewonnen; Autolyse bewirkt Selbstaktivierung. Reinigung etwa wie bei der Glutamin-Aminopherase, ferner durch Adsorption an Tonerde Cy oder  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  und Phosphatclatung bei pH 7.8. Durch Reinigung erfolgt Verlust der Aktivität gegenüber dem System Asparaginsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin; sie kann durch Zusatz gekochter Organextrakte oder von Coenzymen wiederhergestellt werden. In allen Lösungen von Asparagin-Aminopherase ist auch Glutamin-Aminopherase enthalten. Erbsenkeimlingsextrakte enthalten nur Asparaginaminopherase. Das abtrennbare, niedermolekulare und dialysierbare Coenzym der Asparagin-Aminopherase läßt sich in gekochtem Schweineherzextrakt anreichern; seine chemische Konstitution ist noch nicht bekannt. Das Coenzym ist gegen Alkali und  $\text{H}_2\text{O}_2$  beständig, wird hingegen von n-HCl bei 100° in 5–10 min. bei 20° in 60 min inaktiviert; die Asche der Extrakte ist unwirksam.

### Vitamin B<sub>6</sub>-Wirkung

Eine Beziehung zwischen der prosthetischen Komponente der transaminierenden Enzyme und dem Vitamin B<sub>6</sub> ist von Snell<sup>30)</sup> erörtert worden. Snell konnte zeigen, daß „Pseudopyridoxin“ (der aktive B<sub>6</sub>-Faktor für Milchsäurebakterien) durch Pyridoxal oder durch Pyridoxamin als dem entspr. Amin ersetzt werden kann. Er vermutet eine reversible Beziehung zwischen diesen Verbindungen und nimmt an, daß sie als Zwischensystem bei der Übertragung von NH<sub>2</sub>-Gruppen bei der biologischen Transaminierung wirksam sein könnten. Eine Umwandlung (nichtenzymatisch)

Glutaminsäure + Pyridoxal  $\rightleftharpoons$  Ketoglutarinsäure + Pyridoxamin konnte nachgewiesen werden. In diesem Zusammenhang erscheint die Feststellung bemerkenswert, daß das Ausmaß der Umsetzung Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure in Geweben von B<sub>6</sub>-Mangelratten sehr stark herabgesetzt ist und durch Behandlung der Tiere mit Pyridoxin wieder auf normale Werte gebracht werden kann. Die auf 40 % herabgesetzte ursprüngliche Transaminaseaktivität in Herz und Niere kann durch Pyridoxalphosphat-Fütterung an B<sub>6</sub>-Mangelratten wiederhergestellt werden<sup>31)</sup>.



In welchem Umfang Pyridoxin-Abkömmlinge, insbesondere phosphorylierte Derivate, als Coaminopherasen wirksam sein können ist abzuwarten; nach neueren Arbeiten erscheint das Phosphopyridoxal als prosthetische Gruppe gesichert, vgl. Green, Leloir und Nocito<sup>32)</sup>, sowie Braunstein und Mitarbeiter<sup>33)</sup>, die zunächst aus Schweineherzmuskel zwei spezifische Aminopherasen, nämlich Glutamin-Alanin-Transaminase und Glutamin-Asparagin-Transaminase, isolierten<sup>33)</sup>. Elektrophoretische

Messungen, ferner Ultrazentrifuge und Diffusionsverhalten führten zu Molekulargewichten von 180000 bzw. 60000. Für beide Enzyme konnte mittels eines Dopa-Apodecarboxylase-Versuches ein Gehalt an Phosphopyridoxal nachgewiesen werden. UV-Licht, welches Phosphopyridoxal zerstört, vernichtet auch die Aktivität der Aminopherase<sup>34)</sup>. Kritzmann und Samarina<sup>35)</sup> konnten Glutamin-Aminopherase reversibel spalten und eine partielle Reaktivierung durch gekochte Muskelextrakte oder synthetisches Phosphopyridoxal bewirken. Über ähnliche Erfahrungen an Bakterienkulturen (*Strepto. faecalis*) berichteten Lichstein, Gunsalus und Umbreit<sup>36,37)</sup>; weitere Einzelheiten vgl. bei Gale und Mitarb.<sup>38)</sup>; vgl. jedoch hierzu die Ergebnisse von Karer und Viscontin<sup>39)</sup>.

Green und Mitarbeiter<sup>32)</sup> bestreiten das Vorhandensein einer unabhängigen Asparagin-aminopherase in Schweineherzextrakten, da die erwähnte Glutamin-Alanin-Aminopherase und Glutamin-Asparaginaminopherase die Umsetzung Alanin  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure nicht durchzuführen imstande sind. Sie nehmen an, daß diese letztere Reaktion vielmehr die Summe der beiden Reaktionen Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin und Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure darstellt, so daß die Glutaminsäure nur als Überträger wirksam sein würde. Auch nach O'Kane und Gunsalus<sup>40)</sup> verhält sich ein Gemisch von Glutamin-Asparagin- und Glutamin-Alanin-Transaminase + Pyridoxalphosphat + Glutaminsäure wie Asparagin-Alanin-Transaminase. Demgemäß müßte die Asparagin-Aminopherase ein Gemisch der beiden Enzyme darstellen. Gegen die Ansicht, daß das kochbeständige Coenzym der Asparagin-Aminopherase dann die Glutaminsäure sein könnte, spricht dessen oben erwähnte Säureempfindlichkeit. Auch mit Phosphopyridoxal und Cocarboxylase ist das Coferment offenbar nicht identisch<sup>41)</sup>. Die Meinung der gesonderten Existenz einer Asparagin-Aminopherase wird zur Zeit noch aufrecht gehalten, vgl. auch<sup>42)</sup>.

Pyridoxalphosphat ist auch als Coenzym der Decarboxylase von Tyrosin, Lysin, Arginin und Ornithin wirksam, und zwar sowohl bei synthetischer Darstellung aus Pyridoxal und Phosphoroxylchlorid oder durch enzymatische Phosphorylierung mittels Adenosintriphosphat<sup>43–45)</sup>. Diese Decarboxylase ist im pflanzlichen und tierischen Gewebe weit verbreitet<sup>46)</sup>. Die Auffassung, daß Pyridoxal mit der Transaminierung in enger Verbindung steht, wurde weiterhin durch Untersuchungen von Bellamy, Umbreit und Gunsalus<sup>47)</sup> erwiesen, insofern als diese Autoren feststellten, daß Suspensionen von *Streptococcus faecalis* aus Pyridoxamin Decarboxylase zu bilden vermochten, wenn Brenztraubensäure zugegen war; hierbei wird eine Transaminierung von Pyridoxamin zu Pyridoxal vorangegangen sein, unter gleichzeitiger Alanin-Bildung aus  $\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$ . Die Beteiligung des Pyridoxals an der Transaminierung in irgendeiner Form muß als gesichert angesehen werden, sei es als Coenzym, als prosthetische Gruppe, als mehr oder weniger notwendiger Überträger oder lediglich als Substrat in anderen Funktionen. Das Vitamin B<sub>6</sub> nimmt offensichtlich im Proteinstoffwechsel eine ähnliche Stellung ein, wie dies im Kohlenhydratstoffwechsel durch das Vitamin B<sub>1</sub> geschieht.

### Spezifität, Kinetik und Vergiftung der Transaminierungsreaktion

Über den Einfluß von Verbindungen auf die Aminopherasen liegen zahlreiche Untersuchungen vor<sup>22, 16)</sup>. Fast völlig hemmen Chinon, Hydrochinon und Chinhydron, ferner Schwermetallionen wie  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Sg}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^+$  und  $\text{Ag}^+$  sowie auch  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ . Ohne Einfluß sind Narcotica,  $\text{H}_2\text{S}$ , Carbonyl-Reagenzien, sonstige Anionen oder Kationen, Eisen(II)-cyanid, Ascorbinsäure, Methylenblau, Arsen-Verbindungen, Halogenacetate, Urethan u. a.

<sup>34)</sup> F. Schlenk, A. Fisher u. E. E. Snell, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 67, 183 [1946].

<sup>35)</sup> Nature [London] 158, 104 [1946].

<sup>36)</sup> H. C. Lichstein, I. C. Gunsalus, W. W. Umbreit, J. biol. Chemistry 161, 311 [1945].

<sup>37)</sup> G. Baddiley u. E. F. Gale, Nature [London] 155, 127 [1945]; ferner: P. P. Cohen u. H. C. Lichstein, J. biol. Chemistry 159, 367 [1945].

<sup>38)</sup> E. F. Gale u. H. M. R. Epps, Biochem. J. 38, 250 [1944]; E. F. Gale u. H. M. R. Tomlinson, Nature [London] 158, 163 [1946].

<sup>39)</sup> Helv. Chim. Acta 30, 528 [1947].

<sup>40)</sup> J. biol. Chemistry 170, 425, 433 [1947].

<sup>41)</sup> A. E. Braunstein, M. G. Kritzmann, E. F. Gale, H. M. Tomlinson, Nature [London] 158, 102 [1946].

<sup>42)</sup> J. W. Moulder, B. Vennesland, E. A. Evans, J. biol. Chemistry 160, 305 [1945].

<sup>43)</sup> I. C. Gunsalus, W. Bellamy u. W. Umbreit, J. biol. Chemistry 155, 685 [1944].

<sup>44)</sup> W. Umbreit, W. Bellamy u. J. Gunsalus, Arch. Biochem. 7, 185 [1945].

<sup>45)</sup> W. Umbreit u. J. Gunsalus, J. biol. Chemistry 159, 339 [1945].

<sup>46)</sup> E. Gale u. H. Epps, Biochem. J. 38, 232, 250 [1944]; 39, 46, 52 [1945]; H. Blaschko, Biochem. J. 39, 76 [1945]; O. u. S. Schales, Arch. Biochem. 10, 455 [1946]; 11, 155 [1946]; J. Baddiley u. E. Gale, Nature [London] 155, 717 [1945]; E. Gale, Advances in Enzymol. 6, 1 [1946].

<sup>47)</sup> J. biol. Chemistry 160, 461 [1945].

<sup>28)</sup> A. Braunstein, V. Nemchinskaya u. G. Vilinkina, Biochim. et Biophys. Acta 1, 281 [1947].

<sup>29)</sup> H. G. Albaum u. P. P. Cohen, J. biol. Chemistry 149, 19 [1943].

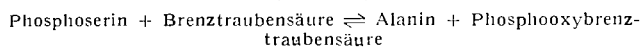
<sup>30)</sup> J. biol. Chemistry 154, 311 [1944]; 157, 425, 491 [1945]; J. Chem. Soc. 67, 194 [1945]; F. Schlenk u. E. E. Snell, J. biol. Chemistry 157, 425 [1945].

<sup>31)</sup> S. Ames, P. Sanna u. C. Elvehjem, J. biol. Chemistry 167, 135 [1947].

<sup>32)</sup> J. biol. Chemistry 161, 559 [1945]; 155, 421 [1944].

<sup>33)</sup> F. Schlenk u. A. Fisher, Arch. Biochem. 8, 337 [1945]; 12, 69, 79 [1947].

Über das Ausmaß der Beteiligung von Aminosäuren und Ketocarbonsäuren an den Transaminierungsreaktionen unterrichtet Tab. V. Eine weitere von Bychkov<sup>20)</sup> mitgeteilte Umsetzung



ist noch nicht bestätigt worden. Cohen<sup>22)</sup> konnte eine Transaminierung zwischen Phosphoserin und Oxalessigsäure oder Ketoglutarinsäure in Gegenwart von Glutamin-Aminopherase nicht beobachten.  $\alpha$ -Aminosäuren der d-Reihe,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Aminosäuren, Amine, Aldehyde, Ketone und sonstige Ketosäuren, ferner aber auch Asparagin, Glutamin, Glutathion oder Polypeptide können sich nach bisherigen Erfahrungen nicht an Transaminierungen beteiligen<sup>19, 16, 48)</sup>. Eigene Untersuchungen ergaben das gleiche Verhalten an den Ketozuckern Sorbose und Fruktose, während 2-Keto-L-gulonsäure als chemische Vorstufe der Ascorbinsäure offensichtlich z. T. verschwindet, ohne daß bisher der Nachweis des Umwandlungsproduktes gelang<sup>49)</sup>.

Was die Kinetik der Transaminierung betrifft, so verläuft die Reaktion

Glutaminsäure + Brenztraubensäure  $\rightleftharpoons$  Alanin + Ketoglutarinsäure mit gleicher Geschwindigkeit von beiden Seiten und erreicht ein Gleichgewicht bei 50%iger Umsetzung (Gleichgewichtskonstante = 1) in weniger als 10 min.<sup>8)</sup>; Lénard und Straub<sup>50)</sup> berechnen  $k = 1.43$ . Die Gleichgewichtskonstante der Umsetzung

Glutaminsäure + Oxalessigsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure + Ketoglutarinsäure beträgt 3,5; nach 30 min. ist das Gleichgewicht erreicht und enthält dann 75% Asparaginsäure und 25% Glutaminsäure<sup>22)</sup>. Die Abschätzung der freien Energie aus den Konstanten des Transaminierungsprozesses, sowie Aktivierungsenergie der Transaminierung vgl. bei S. Darling<sup>51)</sup>.

Über das Ausmaß der Transaminierung zwischen verschiedenen Aminosäuren und Ketoglutarinsäure in Muskel, Leber und Niere s. Tab. VI.

Amino-N-Donator	% Glutaminsäure aus Ketoglutarinsäure, 40–60 min, 38°		
	Taubenbrust-muskel	Kaninchen-leber	Schweine-niere
L-Asparaginsäure	49	46	55
L-Alanin	40	42	35
dl-Aminobuttersäure	10	—	—
L-Valin	9	12	15
L-Isoleucin	2	4	18
L-Leucin	3	8	10
L-Cystein	4	0	3
dl-Methionin	1	0	15
L-Phenylalanin	6	8	8
L-Tyrosin	5	—	—
L-Histidin	4	6	0
L-Arginin	0	8	19
Glykokoll, Serin	0	0	0
Tryptophan, Ornithin			
Citrullin, Lysin			
Threonin, Prolin			
Norvalin, Norleucin			
alle d-Aminosäuren	0	0	0

Tabelle VI

Transaminierung zwischen verschied. Aminosäuren und Ketoglutarinsäure in Muskel-, Leber- und Nierengewebe, nach Cohen<sup>16, 52)</sup>

Es zeigte sich ferner, daß das System, Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure sich bei weitem am raschesten und vollständigsten einstellt, während dies bei dem System Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin etwa 5 bis 10 mal langsamer erfolgt. Die Reaktionsgeschwindigkeiten erreichen bei der ersten Reaktion Werte bis zu  $Q = 450$  (Taubenbrustmuskel und Herzmuskel, siehe Tabelle VII), während für Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin  $Q = 30$  bis 45, für Asparaginsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin  $Q = 7$  bis 10 beträgt. Die nachstehenden Tabellen VII und VIII enthalten nähere Zahlenangaben:

Brustmuskel, Taube	400	Niere, Schaf	16.4
Nierenrinde, Meersch.	47	Amnion, Ratte	18.8
Testes, Ratten	60	Pankreas, Ratte	9.0
Magen, Taube	66	Milz, Meersch.	4.0
Leber, Ratte	45	Nebennierenrinden	6.6
Hirn, Meersch.	26	Nebennierenmark	2.8
Duodenum, Ratte	24	Uterus, Ratte	3.5
Retina, Schaf	19	Milz, Ratte	2.0
Lunge, Ratte	19		

Tabelle VII

Reaktion Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin (mg Glutaminsäure aus Ketoglutarinsäure pro g Trockengewebe) in verschiedenen Tierorganen<sup>53)</sup>

<sup>48)</sup> Vgl. u. a. A. Virtanen u. T. Laine, Biochemic. J. 33, 412 [1939].

<sup>49)</sup> Bisher unveröffentlichte Untersuchungen, K. Heyns u. M. Hansen.

<sup>50)</sup> Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 2, 59 [1942].

<sup>51)</sup> Nature [London] 160, 403, 838 [1947].

<sup>52)</sup> P. P. Cohen, J. biol. Chemistry 133, Proc. XX [1940].

<sup>53)</sup> P. P. Cohen, Amer. J. Physiol. 126, 467 [1939].

	Q GL-AS	Q GL-AL	Q AS-AL
Herzmuskel	425	7	7
Skelettmuskel	316	13	1
Hirn	260	2	8
Leber	245	46	10
Niere	245	3	3
Testes	150		
Lunge	51		
Milz	16		

Tabelle VIII

Aktivitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Ratte<sup>17)</sup>

Die Transaminierung Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Alanin ist so gut wie nicht vorhanden in Erythrocyten, Haut, Pankreas, Speicheldrüsen, Plazenta und Milz, während Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure doch noch recht deutlich feststellbar ist. In bösartigen Tumoren ist die Transaminierung sehr viel geringer als in normalem Gewebe; es wurde weiterhin gefunden, daß die Glutamin-Aminopherase auch in Tumoren streng spezifisch für L-Aminosäuren wirksam ist<sup>54, 55)</sup>. Auch in embryonalem Gewebe an der Katze wurden nur geringe Werte für Transaminierungsvorgänge beobachtet.

In pathologischen Zuständen erscheint die Transaminierung im übrigen wenig verändert, z. B. bei tetanischer Muskelreizung oder Degeneration des Muskels, nach Transplantation von Browne-Pearce-Tumoren, nach allgemeiner Tuberkulose oder im Hungerzustand an Kaninchen, bei alimentärer Muskeldystrophie (Vitamin E-Mangel), Leber-Veränderungen durch Vergiftung mit gelbem Phosphor oder Tetrachlorkohlenstoff (akute Leberdegeneration, Lebercirrhose u. fettige Degeneration u. a.<sup>56)</sup>. Bemerkenswert erscheint die Feststellung von Kaplansky<sup>57)</sup>, daß die Transaminierung bei hypoproteinämischen Ratten in Leber, Niere und Muskel stark herabgesetzt ist, wenn die Tiere bei einer Eiweißmangeldiät gehalten werden; nach Zufuhr einer proteinreichen Nahrung erfolgt nur sehr langsame Erholung. Eine starke Herabsetzung der Aktivität der Aminopherase in allen Organen erfolgt nach Untersuchungen von Kritzmann<sup>58)</sup> bei Tauben und Ratten, die eine B<sub>1</sub>-Mangeldiät erhielten. Bei diesen Tieren erfolgte im Gegensatz zu den Erfahrungen an hypoproteinämischen Ratten eine rasche Erholung bei Aneurin-Zufuhr.

## Transaminierung in Pflanzen

Über Transaminierungsvorgänge in Pflanzen liegen bisher nur qualitative Kenntnisse vor; es kann jedoch kein Zweifel bestehen, daß die substantiellen und energetischen Stoffwechselbeziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Protein-Bildung, -Abbau und -Aufbau eine ähnliche zentrale Stellung im gesamten Pflanzenleben unter Einbeziehung von Assimilation, Atmung, Wachstum usw. einnehmen, wie dies im tierischen Organismus der Fall ist<sup>59)</sup>. Nachdem ähnlich wie bei den Tierversuchen festgestellt worden war, daß Glutamin- und Asparaginsäure in Tabakpflanzen nach Zufuhr von <sup>15</sup>NH<sub>4</sub>Cl einen höheren Isotopenanteil enthielten als andere Aminosäuren, erscheint die Transaminierung auch hier an zentral steuernden Zwischenstoffwechselphasen beteiligt<sup>60, 61)</sup> neben der in Pflanzen offenbar ablaufenden „reduktiven Aminierung“ von Ketosäuren. Die Anwesenheit von Aminopherase-Aktivitäten in Erbsen-, Lupinen- und Kürbissamen, ferner in Leguminosen und Gramineen ist mehrfach nachgewiesen worden<sup>62)</sup>. Eine Transaminierung in *Chlorella* konnte nicht nachgewiesen werden (Cohen), dagegen ließ sich im wachsenden Haferkeimling ein starker Anstieg der

<sup>54)</sup> A. E. Braunstein u. R. M. Azarkh, Nature [London] 144, 669 [1939]; P. P. Cohen u. G. Hekhuis, Cancer Res. 1, 620 [1941], 2, 405 [1942].

<sup>55)</sup> H. v. Euler, G. Günther, N. Forsman, Z. Krebsforsch. 49, 46 [1939]; Naturwiss. 27, 214 [1939]; H. v. Euler, H. Hellström, G. Günther, L. Elliot u. G. Elliot, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 259, 201 [1939].

<sup>56)</sup> E. D. Vyshepan, Biokhimiya 5, 271 [1940]; 8, 45 [1943]; cit. nach Braunstein, Advances Protein Chemistry 3, 22 [1947].

<sup>57)</sup> S. Kaplansky, N. Beresovskaya u. J. Shmerling, ebenda 10, 401 [1945], Zitat S. 43.

<sup>58)</sup> M. G. Kritzmann, ebenda 5, 281 [1940]; 8, 85 [1943]; 9, 379 [1944].

<sup>59)</sup> J. Wood, Amer. Rev. Biochem. 14, 665 [1945].

<sup>60)</sup> H. Vickery, G. Pucher, R. Schoenheimer u. D. Rittenberg, J. biol. Chemistry 135, 531 [1940].

<sup>61)</sup> N. Rantanen, J. biol. Chem. 163, 687 [1946]; F. Cedrangoli u. G. Carandente, Arch. sci. biol. (Ital.) 26, 369 [1940], cit. nach Chem. Abstr. 35, 7988 [1941].

<sup>62)</sup> M. G. Kritzmann, Enzymologia 5, 44 [1938]; E. Adler, N. Das, H. v. Euler u. Heyman, C. r. Trav. Lab. Carlsberg 22, 15 [1938]; Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 255, 14, 27 [1938]; F. Cedrangoli u. G. Carandente, Chem. Abstr. 37, 5424 [1943]; A. Virtanen u. T. Laine, Nature [London] 141, 748 [1938], Biochem. J. 308, 213 [1941].



Aminopherase-Aktivität (bis zu  $Q_{GL} \rightarrow AS = 900$ ) beobachten<sup>29)</sup> wobei eine direkte Beziehung zwischen Aktivitätsanstieg und Ausmaß der fortschreitenden Proteinsynthese angenommen wird. Sehr aktive Glutamin-Asparagin- und Glutamin-Alanin-Transaminasen sind kürzlich in Weizenkeimen festgestellt worden<sup>63)</sup>. Über die Verteilung der Aminopherasen-Wirkung auf die verschiedenen Pflanzenorgane ist bisher nichts bekannt geworden. Eine Schlüsselstellung der Dicarbonsäuren, der Amino-dicarbonsäure und ihrer Amide im N-Stoffwechsel der Pflanzen ist sehr wahrscheinlich.

## Transaminierung in Mikroorganismen

Die Ergebnisse der Arbeiten über die Aminopherase-Aktivität an Mikroorganismen, insbes. Hefen und Bakterien, waren zunächst widerspruchsvoll<sup>64</sup>). Neuere Untersuchungen von *Lichstein* und *Cohen* ergaben<sup>65</sup>), daß die Unsicherheiten der älteren Werte damit zusammenhängen, daß in Bakteriensuspensionen eine rasche Umsetzung der Substrate, insbesondere der Asparaginsäure, erfolgt; es war daher erforderlich, mit kurzen Umsatzzeiten in anaerober Phase zu arbeiten. Es konnte dann nachgewiesen werden, daß besonders die Transaminierung Glutaminsäure  $\rightleftharpoons$  Asparaginsäure außerordentlich rasch in allen untersuchten Bakterienarten verläuft, so in *Escherichia coli*, *B. dysenteriae* Shiga, *Azotobakter*, *Escherichia typhi*, *B. proteus*, *B. pyocyaneus*, *Staph. aureus* und *albus*, *Strept. hämolys.* und *viridans*, *Pneumococcus* Typ I u. a.

Hinsichtlich der Bildung „lebenswichtiger“ Aminosäuren aus den entsprechenden Ketosäuren liegen die Verhältnisse bei den Mikroorganismen weniger übersichtlich. *Bonner, Tatum und Beadle*<sup>66)</sup> zeigten, daß *Neurospora Isoleucin* und *Valin* im Nährmedium benötigt; das Gemisch der entsprechenden  $\alpha$ -Ketosäuren ist nicht imstande, diese Aminosäuren zu ersetzen, während andererseits jeweils eine der Ketosäuren im Gemisch mit der anderen Aminosäure volles Wachstum ermöglicht.

## Transaminierung im Zwischenstoffwechsel

Es würde hier zu weit führen, den Auswirkungen der verschlungenen Wege einzelner Stoffwechselreaktionen und -funktionen nachzugehen; auf einige im direkten Zusammenhang mit der Transaminierung und den dabei beteiligten Substanzen stehende Gesichtspunkte soll jedoch hingewiesen werden.

Die Theorie der Aminosäure-Entstehung in Leguminosen nach *Virtanen* und *Laine*<sup>67)</sup> umfaßt die Bildung von Hydroxylamin aus N<sub>2</sub> durch die symbiontischen Bakterien, dessen Kondensation mit Oxalessigsäure zu Oximinobornsteinsäure und dessen Reduktion zu Asparaginsäure, die dann durch Transaminierung eine Übertragung der Aminogruppe auf die verschiedenen Ketsäuren ermöglicht (vgl. dagegen<sup>68)</sup>. *v. Euler* und Mitarbeiter<sup>69)</sup> haben der Bildung von Iminoglutarinsäure und deren Reduktion zu Glutaminsäure mit nachfolgenden Transaminierungsreaktionen eine ähnliche Rolle zugewiesen.

Zweifellos spielt die Oxalessigsäure auch bei dem Proteinaufbau im tierischen Organismus eine besondere Rolle, etwa im Sinne der Reaktionsstufen:

1.  $\text{CH}_3\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}$   
(Wood-Werkman-Reaktion)
2. Bildung von  $\text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}$  durch Tricarbonsäure-Cyclus
3. Reduktive Aminierung z. B.:  $\text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{X}$  (Wasserstoff-Donator)  $\rightarrow \text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}(\text{NH}_2)\cdot\text{COOH} + \text{X}$
4. Anschließende Transaminierung mit Ketosäuren.

Die Schlüsselstellung der  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren und  $\alpha$ -Ketodicarbonsäuren sowie der zugehörigen Aminosäuren bei Abbau-,

Umbau- und Aufbauvorgängen, als Primärsubstanzen und Aminostickstoff-Überträger, ist damit offensichtlich. Sicherlich ist es dabei kein Zufall, daß die drei Systeme:

Brenztraubensäure – Alanin  
Oxalessigsäure – Asparaginsäure  
Ketoglutarsäure – Glutaminsäure

eine starke gegenseitige Transaminierung bewirken können, während dagegen das Ausmaß des Umsatzes mit anderen Ketsäuren gewissermaßen eine Größenordnung niedriger liegt. Die drei Ketsäuren stellen die Grundsubstanzen dar, in denen im Tricarbonsäure-Cyclus Kohlenhydrate, Fette und Proteine ineinander laufen (vgl. auch die neueren Angaben von *Kritzmann*<sup>79)</sup> über die Bildung von Aminosäuren in der überlebenden Rattenleber unter Einwirkung von Brenztraubensäure und  $\text{NH}_3$  über Oxalesssäure).

Über die Transaminierung stehen diese sechs Verbindungen in einem jederzeit in allen Richtungen durchführbaren Umwandungsverhältnis.

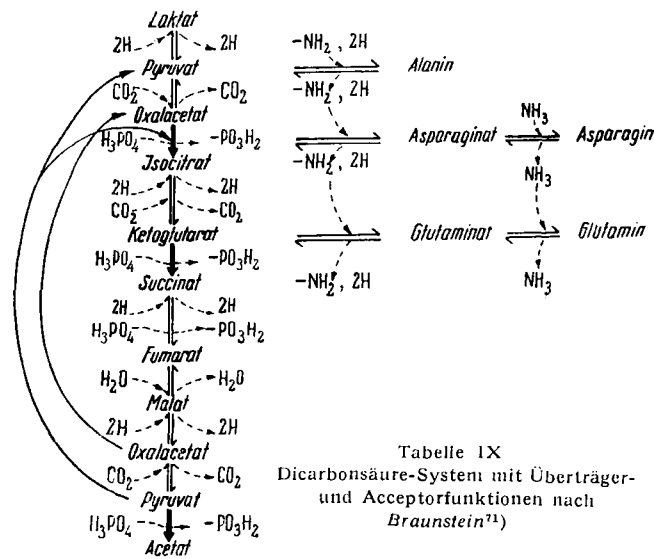


Tabelle IX  
Dicarbonsäure-System mit Überträger-  
und Acceptorfunktionen nach  
*Braunstein*<sup>71)</sup>

## Isotopen-Stoffwechselversuche

Von Bedeutung im Zusammenhang mit der zentralen Stellung der Amino-dicarbonensäuren erscheinen die Feststellungen von *Schoenheimer* und Mitarbeitern unter Verwendung von  $^{15}\text{N}$ . Sie konnten zeigen, daß ein lebhafter Austausch von Amino-Gruppen zwischen den Aminosäuren in den Gewebeproteinen der lebenden Substanz erfolgt, wie sich aus dem raschen Einbau von  $^{15}\text{N}$  ergab, der in Form von  $\text{NH}_3$  oder von d- und l-Aminosäuren zugeführt worden war. Hierbei wurde der Hauptanteil des  $^{15}\text{N}$  in der Glutaminsäure-Fraktion wiedergefunden. Gleiche Verhältnisse wurden bezüglich der Stickstoff-Verteilung nach Zufuhr isotoper N-Verbindungen in Pflanzenproteinen beobachtet<sup>(72)</sup>, sowie an *Azotobakter* nach kurzer Behandlung mit  $^{15}\text{N}_2$ <sup>(73)</sup>. Die Rolle der als Umwandlungsstufen im Kohlenhydratstoffwechsel stets zur Verfügung stehenden Oxaleissäure und Ketoglutaräure bei Aufnahme und Verteilung des Aminostickstoffs wird durch diese Isotopenuntersuchungen bestätigt<sup>(74)</sup>.

## Steuerung durch Transaminierung

Daß die Transaminierung an überlebendem Gewebe und mit Organextrakten auf andere Ketosäuren sich zahlenmäßig in geringerem Ausmaß auswirkt, braucht nicht zu bedeuten, daß *in vivo* die Verhältnisse quantitativ gleichartig sein müssen. In diesem quantitativen Unterschied kann man eine gewisse „Steuerung“ zur Anpassung der Transaminierung an die biologischen Erfordernisse sehen. Es sei ferner daran erinnert, daß lebenswichtige Aminosäuren im Nahrungsgemisch durch Verfütterung der entsprechenden Ketosäuren ersetzbar sind (*Rose* und Mitarbeiter). Es ist damit bereits gezeigt worden, daß das Ausmaß der Transaminierung *in vivo* umfangreicher erscheint als sich

<sup>63)</sup> M. Leonard u. R. Burris, J. biol. Chemistry 170, 701 [1947].

<sup>64)</sup> Vgl. auch A. C. Chibnall; Protein Metabolism in the Plant 1939, Yale Univ. Press.

<sup>65)</sup> J. biol. Chemistry 157, 85 [1945]; 159, 367 [1945]; E. Dicsfalussy, Biochem. Z. 313, 75 [1942]; E. Adler, H. Hellström, G. Günther, H. v. Euler, Hoppe-Seylers, Z. physiol. Chem. 255, 14 [1938].

<sup>66)</sup> D. Bonner, E. Tatum, G. Beadle, Arch. Biochem. 3, 71 [1944]; vgl. ferner Tatum u. a., Proc. nat. Acad. Sci. USA. 30, 30 [1944]; 31, 215 [1945].

<sup>68)</sup> D. Burk u. R. H. Burris, Amer. Rev. Biochem. 10, 587 [1941].

<sup>69</sup>) H. v. Euler, E. Adler, G. Günther, N. Das, Hoppe-Seylers, Z. physiol. Chem. 254, 61 [1938].

<sup>70)</sup> M. Kritzmann, J. biol. Chemistry 167, 77 [1947].

<sup>71)</sup> *Advances Protein Chem.* 3, 37 [1947].

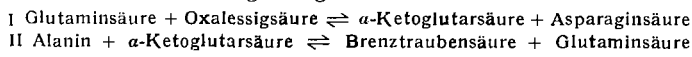
<sup>72)</sup> H. B. Vickery, G. Pucher, R. Schoenheimer, D. Rittenberg, J. biol. Chemistry 129, 793 [1939]; 135, 531 [1940].

73) R. H. Burris, ebenda 143, 509 [1942].

<sup>74)</sup> R. Schoenheimer, S. Ratner, D. Rittenberg, ebenda 130, 703 [1939].

*in vitro* nachweisen läßt; möglicherweise konnten die optimalen Bedingungen hierfür bisher nicht getroffen werden. Derartige Verhältnisse liegen beispielsweise bei der Aminosäuren-desaminierung vor, die *in vivo* im großen Umfang rasch vor sich geht, in Gewebsbreipräparaten jedoch kaum darstellbar ist.

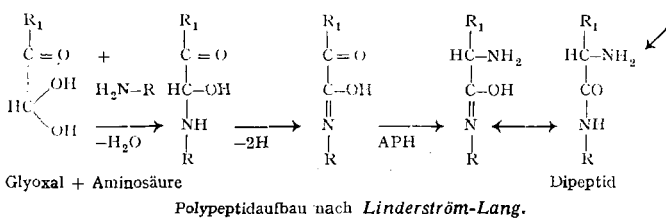
Es muß jedenfalls vermerkt werden, daß *Braunstein* und Mitarbeiter mit der Annahme des Vorhandenseins von Glutamin- und Asparaginaminopherase ursprünglich die Auffassung verbunden haben, daß als Reaktionspartner der Aminodicarbonsäuren wohl der größte Teil der am Proteinaufbau beteiligten Aminosäurebausteine bzw. deren Ketosäuren mehr oder weniger unspezifisch in Frage kommen, während *Cohen* und Mitarbeiter die Transaminierung wohl in grundsätzlich gleicher zentraler Bedeutung angenommen haben, das Ausmaß hinsichtlich der beteiligten Substrate jedoch etwa auf die folgenden rasch verlaufenden Umwandlungen begrenzten:



Die entsprechenden Transaminasen sind von *Green*, *Leloir* und *Nocito*<sup>32</sup>) aus Schweineherzmuskel abgetrennt worden. Das Enzym I soll zu etwa 1,6% in der Trockensubstanz des Herzmuskels enthalten sein, das Enzym II zu 0,12%. Nach *Schlenk* und *Fischer* soll das gereinigte Enzym I etwa 500  $\gamma$  Pyridoxal im g enthalten; Apoenzym u. prosthet. Gruppe sollen ziemlich fest miteinander verbunden sein, 60° werden 1 h ohne Aktivitätsverlust ertragen<sup>33</sup>). Natürliche Codecarboxylase, auf chemischem und biochemischem Wege erhaltenes Pyridoxalphosphat und das Pyridoxal-Derivat in erhitzter Transaminase sind in gleicher Weise säureempfindlich und wachstumsfördernd gegen *Lactobacillus casei*.

### Biologischer Protein-Aufbau

Im Zusammenhang mit der Erörterung der Übertragung von Amino-Gruppen im Eiweißaufbau sei ein Vorschlag von *Linderström-Lang*<sup>75</sup>) erwähnt, der einen anderen Mechanismus als die zumeist angenommene Umkehr der enzymatischen Hydrolyse erörtert:

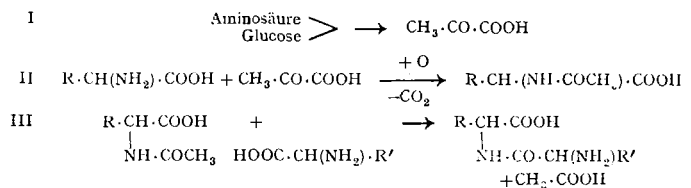


Der formelmäßige Verlauf umfaßt die Bildung einer Schiff'schen Base aus Abkömmlingen des Glyoxals und einer Aminosäure, Hydrierung des Kondensationsproduktes und anschließende Transaminierung durch Vermittlung einer Aminopherase zum Dipeptid; an dem eingezeichneten Pfeil kann sich der Vorgang dann fortlaufend wiederholen. Die Möglichkeit eines derartigen Vorganges ist in keiner Weise gesichert, erscheint jedoch erwähnenswert.

Für das tiefere Verständnis des Proteinstoffwechsels wäre naturgemäß eine genauere Kenntnis über den Aufbaumechanismus bei der biologischen Proteinsynthese von großem Wert. Nach den bisher vorliegenden Erfahrungen und Ansichten ist nicht damit zu rechnen, daß der Aufbau der Eiweißkörper aus Aminosäuren einfach unter Umkehr des enzymatisch-hydrolytischen Vorgangs bei der Proteolyse verläuft. Die Bildung der Peptid-Bindungen bei der Vereinigung von Aminosäuren ist mit Erhöhung der freien Energie verbunden, so daß eine Kopplung mit energieliefernden Umsetzungen erfolgen muß. Eine derartige Möglichkeit ließe sich mit dem obigen Schema nach *Linderström-Lang* unter Einbeziehung von Transaminierungsvorgängen durchaus vereinbaren. Es ergeben sich aber auch noch andere Möglichkeiten. Wie bereits erwähnt, findet sich  $^{15}\text{NH}_3$  in den Amino-Gruppen der Eiweißbausteine, vor allem aber in der Glutaminsäure wieder<sup>76</sup>). Wenn jedoch eine Aminosäure gefüttert wird, deren  $\text{NH}_2$ -Gruppe durch  $^{15}\text{N}$  gekennzeichnet ist, so findet sich der größte  $^{15}\text{NH}_2$ -Anteil im Anschluß daran im

Protein in der gleichen Aminosäure wieder<sup>74, 77, 78, 79</sup>); es kann also vorher nur im untergeordneten Ausmaß eine Desaminierung mit anschließender Reaminierung stattgefunden haben, da bei intermediärer Abtrennung der Amino-Gruppe eine Übertragung auf andere Keto-Gruppen und damit eine Verteilung des  $^{15}\text{N}$  hätte erfolgen müssen. In welchem Umfang hierbei vielleicht Phosphorylierungen und dadurch bewirkte Aktivierungen mit Energiegewinn durch Umsetzungen z. B. von N-Phosphorylaminosäuren beteiligt sind, ist noch nicht geklärt<sup>80</sup>), aber doch bereits wahrscheinlich gemacht worden<sup>81</sup>).

Es ist neuerdings von *Rittenberg* und *Shemin*<sup>82</sup>) auf die Möglichkeit hingewiesen worden, daß auch der bekannte Vorgang der acetylierenden Aminierung eine Beziehung zur biologischen Polypeptid-Synthese vermitteln könnte. Der letzte acetylierende Schritt in der Umwandlungsreihe  $\alpha$ -Ketosäure  $\rightarrow$   $\alpha$ -Aminosäure  $\rightarrow$   $\alpha$ -Acetylaminosäure verläuft wahrscheinlich unter Mitwirkung von Alanin, das dabei oxydativ desaminiert wird; es entsteht Brenztraubensäure, die die Acetylierung bewirkt<sup>83</sup>) (analog verläuft auch die oxydative Acetylierung von Cholin mit Brenztraubensäure nach *Baer*<sup>84</sup>) sowie die Acetylierung von Leucin und Phenylalanin nach *Bloch* und *Borek*<sup>85</sup>)). Jedenfalls ist der Organismus zur Acetylierung von  $\alpha$ -Aminosäuren mittels einer oxydativen exergonen Reaktion befähigt, wodurch sich folgendes Schema der Entstehung der Peptid-Bindung entwickeln läßt:



Hiernach wird die Peptid-Bindung bereits durch den Vorgang der Acetylierung II gebildet, während die Entstehung des Dipeptids nach III einen Austausch der Acetyl-Gruppe durch die Aminosäure-Gruppe umfaßt. – Einen weiteren Vorschlag über den Mechanismus der Entstehung der Peptidbindung machen *Cohen* und *McGilvery*<sup>81</sup>) über die Bildung von Hippursäure-Derivaten.

Im Zusammenhang mit der Frage nach dem Stoffwechsel der Körperproteine sei darauf hingewiesen, daß sich mittels der Isotopenmethode ein ständiger rascher Ab- und Aufbau der Zellproteine wahrscheinlich machen ließ; in der Rattenleber wird etwa die Hälfte des Proteins in 7 Tagen abgebaut und resynthetisiert<sup>77</sup>). Außer vollständigen hydrolytischen Spaltungen und Resynthesen kommt aber auch ein Ausbau einzelner Aminosäuren aus dem Gesamtkomplex der Makromolekel in Frage, gegebenenfalls mit anschließendem Wiedereintritt gleicher oder anderer Bausteine, so daß wenigstens das Zelleiweiß sich offensichtlich im dauernden Fluß hinsichtlich seines Substanzbestandes und -wechsels befindet.

### Transaminierung bei der Harnstoff-Bildung

Im Hinblick auf die oben erörterte Frage nach der Harnstoffentstehung unter Einschaltung des Citrullin-Cyclus nach *Krebs* sei erwähnt, daß von *Borsook* und *Dubnoff* eine rasche Umwandlung von Citrullin in Arginin unter Mitwirkung von Glutaminsäure oder Asparaginsäure in der Niere nachgewiesen werden konnte<sup>86</sup>). Beide Aminosäuren wirken hier als Donatoren für die Imino-Gruppe des Arginins und können durch Ketoglutar säure +  $\text{NH}_3$  und Oxallessigsäure +  $\text{NH}_3$ , ferner durch Ornithin, Prolin oder Oxyprolin ersetzt werden, die in Glutamin- bzw. Asparaginsäure übergehen. Transaminierung durch Vermittlung von Glutaminsäure erfolgt in Leber- und Nierenbrei bei der Bildung von Arginin aus Citrullin nach *Cohen* und *Hayano*<sup>87</sup>), wenn zugleich Adenosintriphosphat, Cytochrom c,  $\text{O}_2$  und  $\text{Mg}^{2+}$  zugegen sind.

<sup>75</sup>) *R. Schoenheimer, S. Ratner, D. Rittenberg*, ebenda 130, 703 [1939]; *D. Shemin u. D. Rittenberg*, ebenda 153, 401 [1944].

<sup>76</sup>) *S. Ratner, D. Rittenberg, A. Keston u. R. Schoenheimer*, ebenda 134, 665 [1940].

<sup>77</sup>) *C. Tesar u. D. Rittenberg*, ebenda 170, 35 [1947].

<sup>78</sup>) *F. Lipmann*, *Advances Enzymol.* 1, 99 [1941], *J. biol. Chemistry* 134, 463 [1940].

<sup>79</sup>) *P. Cohen u. R. Mc. Gilvery*, *J. biol. Chemistry* 166, 261 [1946]; 169, 119, [1947]; *W. Umbreit*, *Ann. Rev. Biochem.* 16, 119 [1947].

<sup>80</sup>) *Ann. Rev. Biochem.* 15, 248 [1946].

<sup>81</sup>) *K. Bloch u. D. Rittenberg*, *J. biol. Chemistry* 159, 45 [1945]; 155, 243 [1944].

<sup>82</sup>) *J. biol. Chemistry* 146, 391 [1942].

<sup>83</sup>) Ebenda 164, 483 [1946].

<sup>84</sup>) Ebenda 141, 717 [1943].

<sup>85</sup>) Ebenda 166, 239, 251 [1946].

<sup>75</sup>) *Amer. Rev. Biochem.* 8, 37 [1939].

<sup>76</sup>) *G. Foster, R. Schoenheimer u. D. Rittenberg*, *J. biol. Chemistry* 127, 319 [1939].



## Bedeutung von Glutamin und Asparagin

In den meisten Proteinen liegen Glutaminsäure und Asparaginsäure in Form der Amide Glutamin und Asparagin vor. Beide Amide kommen in Pflanzenteilen auch im großen Umfang frei vor und werden in Blättern und Wurzeln zuweilen beträchtlich gestapelt. Auch in tierischen Organen bildet sich Glutamin leicht aus Glutaminsäure +  $\text{NH}_3$ . Nach Krebs<sup>90)</sup> lassen sich entsprechend hydrolysierende Enzyme Glutaminase und Asparaginase nachweisen. Auch im Blut ist Glutamin (5–10 mg%) enthalten<sup>91)</sup>. Über die biologische Bedeutung dieser Amide sind verschiedene Auffassungen geäußert worden. Nach Prianschnikow<sup>92), 93)</sup> soll das Asparagin in der Pflanze zur Entgiftung des  $\text{NH}_3$  aus dem Proteinstoffwechsel dienen, etwa entsprechend der Harnstoff-Bildung beim Tier. Es muß jedoch angenommen werden, daß die Amid-Bildung zugleich der  $\text{NH}_3$ -Bindung und Stapelung dient, um zu gegebener Zeit wieder für weitere Umsetzungen zur Verfügung zu stehen, vgl. auch Vickery und Mitarbeiter<sup>94)</sup>. Auch im tierischen Organismus scheint vor allem das Glutamin für Bindung (Detoxikation,  $\text{NH}_3$  ist ein Zellgift — „mopping up“-Funktion der angelsächsischen Literatur) und Mobilisierung von  $\text{NH}_3$  eine bedeutende Rolle zu spielen<sup>95), 96)</sup>; auch für die Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Gleichgewichtes ist das Glutamin wichtig. Im Gegensatz zu den Amino-Gruppen, die in Harnstoff, Kreatin, Harnsäure und Allantoin festgelegt sind, kann der vom Glutamin gebundene Amid- und Amino-Stickstoff für das Stoffwechselgeschehen weiterhin eingesetzt werden. Eine besondere Glutaminfunktion für die Harnstoff-Bildung ist von Leuthard<sup>97)</sup> angenommen worden, wobei eine direkte Übertragung des Amid-Stickstoffes erfolgen soll („Transamidierung“). Orström und Krebs<sup>98)</sup> konnten ferner nachweisen, daß die Synthese von Hypoxanthin als der Vorstufe der Harnsäure in der Taubenleber durch Glutamin beschleunigt wird. Eine Bildung von Hippursäure in Gegenwart von Glutamin und Benzoesäure in der Meerschweinchenleber wurde von Leuthard<sup>99)</sup> festgestellt. Auch als Wachstumsstoff für Hefen sind Glutamin und Asparagin nach Nielsen wirksam; eine Wirkung über Nicotinsäure-Bildung ist hierbei wahrscheinlich gemacht worden<sup>100)</sup>. Daß auch im Verband der Proteinmolekel die Möglichkeit gegeben erscheint, vorhandene Amid-Gruppen der Amino-dicarbonsäure-Bausteine für Umsetzungen einzusetzen, ist durch Isotopenuntersuchungen nachgewiesen worden<sup>101)</sup>.

Über die Einordnung von Glutamin und Asparagin in den Ablauf des Zwischenstoffwechsels vgl. Tab. IX.

<sup>90)</sup> Biochemic. J. 29, 1951 [1935].

<sup>91)</sup> Vgl. z. B. P. Hamilton, J. biol. Chemistry 145, 711 [1942]; 153, 397 [1945]; ferner M. M. Harris, Science 97, 382 [1943].

<sup>92)</sup> D. N. Prianschnikow, Biochem. Z. 150, 407 [1924].

<sup>93)</sup> R. M. Archibald, J. biol. Chemistry 154, 643 [1944]; 159, 693 [1945].

<sup>94)</sup> Ebenda 150, 197 [1943].

<sup>95)</sup> D. D. van Slyke, D. P. Phillips, P. B. Hamilton, R. M. Archibald, P. H. Futcher u. A. Hiller, J. biol. Chemistry 150, 481 [1943]; M. Sapirstein, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 54, 334 [1943].

<sup>96)</sup> Hoppe-Seyler, Z. physiol. Chem. 252, 238 [1938]; 265, 1 [1940]; 270, 113 [1941]; Biochem. Z. 299, 281 [1939]; Helv. Chim. Acta 25, 630 [1941].

<sup>97)</sup> Biochemic. J. 33, 990 [1939].

<sup>98)</sup> M. R. Bovarnick, J. biol. Chemistry 145, 415 [1942]; 148, 151 [1943]; 153, 1 [1944].

Steward und Street<sup>99), 100)</sup> erörtern die Funktionen von Glutamin und Asparagin im Gewebe der Kartoffelknolle im Zusammenhang mit der Transaminierung neuerdings im gleichen Sinne. Asparagin wird mehr als Reservestoff für löslichen Stickstoff angesehen, während Glutamin im größeren Umfang am zentralen Auf- und Abbau beteiligt sein soll<sup>101)</sup>.

Nachdem bereits auf den raschen Einbau von  $^{15}\text{N}$  über die Amino-Gruppe der Glutaminsäure und die Verteilung des Isotops auf den Proteinbestand des Organismus hingewiesen worden ist, erscheint von Interesse, daß ähnliche Beobachtungen auch mit Nährlösungen bzw. Fütterungen gemacht werden konnten, die Isotopen  $^{14}\text{C}$  oder  $^{14}\text{C}$  in der  $\text{COOH}$ -Gruppe von Alanin enthielten<sup>102), 103)</sup>. Ein derartiger Vorgang ist als „Transcarboxylierung“ bezeichnet worden<sup>104)</sup>, ohne daß bisher ein entsprechendes enzymatisches System isoliert werden konnte. Es muß hier doch wohl vielmehr mit der Möglichkeit eines direkten Aus- und Einbaus von Aminosäure-Bausteinen an der Proteinmolekel gerechnet werden. Über die Fixierung von radioaktivem  $\text{CO}_2$  in Glutamin- und Asparaginsäure der Leberproteine vgl. <sup>105)</sup>. Auch über eine Übertragung von Acetyl-Gruppen von Deuterioacetylaminosäuren nach der Verfütterung ist kürzlich berichtet worden<sup>106)</sup>.

## Überblick

Die vorstehend erörterte Einschaltung der Transaminierung in die „reversiblen Teilprozesse“ des Zwischenstoffwechsels an den Kreuzungsstellen der Umwandlungen an Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen erhält ihre Bedeutung nicht so sehr für den stufenweisen Substanzabbau, sondern vielmehr durch die hierüber verlaufenden zentralen Um- und Aufbaureaktionen im Rahmen der um den Stickstoff gruppierten Stoffwechselumsetzungen. Hierbei erscheinen die durch die Transaminierung vermittelten immer gegenwärtigen raschen Umwandlungsmöglichkeiten zwischen Glutaminsäure, Asparaginsäure, Alanin, Ketoglutarinsäure, Oxallessigsäure und Brenztraubensäure sowie die zwar an sich gleichartigen aber offensichtlich in anderer Weise gesteuerten Reaktionen mit anderen Systemen Ketosäure/Aminosäure und die vielfältigen damit jeweils verbundenen Kopplungen als ein besonders bedeutungsvolles Glied in der großen Anzahl funktionell miteinander verbundener Einzelvorgänge. Durch sie werden im Energiegefälle des Substanzumsatzes im Gesamtstoffwechsel zugleich bestimmte lebenswichtige Aufbauleistungen des Organismus ermöglicht. Eingeg. am 22. Oktober 1948. [A 170]

<sup>99)</sup> F. Steward u. H. Street, Plant Physiol. 21, 155 [1946].

<sup>100)</sup> F. Steward u. H. Street, Ann. Rev. Biochem. 16, 478, 483 [1947].

<sup>101)</sup> F. Steward u. C. Preston, Plant Physiol. 15, 23 [1940].

<sup>102)</sup> J. D. Frantz, R. B. Lofffield, W. W. Miller, Science 106, 544 [1947].

<sup>103)</sup> G. Ehrensvald, E. Sperberg, E. Saluste, L. Reiv u. R. Sjöfornholm, J. biol. Chemistry 169, 759–60 [1947].

<sup>104)</sup> C. Anfinsen, A. Beloff, A. Hastings u. A. Salomon, J. biol. Chemistry 168, 771 [1947].

<sup>105)</sup> K. Bloch u. D. Rittenberg, J. biol. Chemistry 169, 467 [1947]; A. Virtanen u. T. Laine, Nature [London] 167, 25 [1946]; A. Virtanen, ebenda 158, 515 [1946].

## Chemische und biologische Untersuchungen über Hexachlorcyclohexane I

Von Prof. Dr. KURT SCHWABE, Dr. HERTA SCHMIDT und Dr. RUDOLF KÜHNEMANN

Aus dem Forschungsinstitut für chemische Technologie, Meinsberg/Sa.

Es wird untersucht, unter welche Chlorierungsbedingungen aus Benzol besonders stark insektizide Hexachlorcyclohexan-Präparate erhalten werden können. Die verschiedenen Isomeren wurden rein hergestellt, ihre Löslichkeit in Benzol und Wasser untersucht und geprüft, welche Präparate die größte insektizide Wirkung zeigen.

Obwohl das Hexachlorcyclohexan schon durch Faraday<sup>1)</sup> erstmalig hergestellt wurde, sind seine Bildungsbedingungen und seine Eigenschaften verhältnismäßig wenig untersucht worden<sup>2)</sup>. Erst in neuester Zeit ist wegen seiner insektiziden Wirkung das Interesse belebt worden<sup>3)</sup>. Wie durch Slade<sup>4)</sup> gezeigt wurde, ist von den Isomeren  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  und  $\delta$ , die erstmalig von van der Linden<sup>5)</sup> isoliert und durch ihren Schmelzpunkt charakterisiert wurden, das  $\gamma$ -Isomere besonders wirksam. Es mußte daher die Frage interessieren, in welchem Umfang dieses Isomere bei der Chlorierung gebildet wird und ob es Chlorierungsbedingungen gibt, unter denen es besonders reichlich entsteht, da nach Werner noch mehr Isomere möglich sind und inzwischen bereits ein weiteres<sup>6)</sup> isoliert wurde, ob sich Chlorierungsbedingungen finden lassen, unter denen besonders insektizide Isomere entstehen. In der uns

z. Zt. zugänglichen Literatur haben wir hierüber keine näheren Angaben gefunden. Überhaupt scheinen die Mitteilungen über die Abhängigkeit der Art der Chlorierungsprodukte des Benzols von den Chlorierungs-Bedingungen recht spärlich zu sein. Wir haben daher vor einiger Zeit damit begonnen, diese Fragen zu studieren. Wenn auch die Arbeiten noch keineswegs abgeschlossen sind, so soll doch über einige Ergebnisse schon jetzt berichtet werden.

Zunächst wurde untersucht, ob bei bestimmten, möglichst einfachen Chlorierungs-Bedingungen im Laufe der Chlorierungsdauer eine Verschiebung im Isomeren-Verhältnis auftritt. Dabei bietet natürlich die gleichzeitige Bestimmung der Isomeren erhebliche Schwierigkeiten. Wenn es uns auch im Laufe der Untersuchungen gelungen ist, ein polarographisches Verfahren zur Bestimmung des  $\gamma$ -Isomeren aufzufinden<sup>7)</sup>, so waren wir doch im wesentlichen darauf angewiesen, die Produkte direkt durch ihre biologische Wirksamkeit zu charakterisieren,

<sup>1)</sup> Liebig's Ann. Chem. (2) 30, 274 [1824].

<sup>2)</sup> Matthews, J. chem. Soc. [London] 61, 11 [1892].

<sup>3)</sup> Riemschneider, Pharmazie, 2. Beih., 1. Erg.-Bd. [1947].

<sup>4)</sup> Chem. and Ind. 40, 314 [1945]; vgl. diese Ztschr. 59, 63 [1947].

<sup>5)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. 45, 231 [1912].

<sup>6)</sup> K. C. Kauer, R. B. Du Vall u. F. N. Alquist, Chem. Zbl. 1948, 1, 549; vgl. diese Ztschr. 59, 252 [1947].

<sup>7)</sup> Schwabe, Z. Naturforsch. 3b, 217 [1948], vgl. auch Analyt. Chem. 20, 737 [1948] sowie diese Ztschr. 60, 138 [1948].