

Neue Amino- und Ketosäuren in grünen Pflanzen und die Biosynthese der Aminosäuren

Von Prof. Dr. ARTTURI I. VIRTANEN, Helsinki*) Biochemisches Institut Helsinki

Der quantitativ wichtigste Syntheseweg der Pflanzen zu Aminosäuren verläuft über das Ammoniak, wenn auch dem Hydroxylamin als Zwischenprodukt der Nitrat-Reduktion eine wesentliche Rolle zu-fallen mag. Es ist gelungen, die Oxime der im Stoffwechsel zentralen α -Ketosäuren sowohl in Hefe als in grünen Pflanzen zu identifizieren. Eine unerwartete Anzahl neuer Aminosäuren wurde aus ver-schiedenen Pflanzen isoliert und strukturell aufgeklärt. Die entsprechenden neuen α -Ketosäuren wurden auch in den entsprechenden Pflanzen in den meisten Fällen gefunden, wodurch die experimentelle Be-gründung der Annahme vorhanden ist, daß diese Aminosäuren durch Transaminierung entstehen können. Die mit Hilfe moderner Untersuchungsmethoden (Austauscher, Papierchromatographie) in den letzten Jahren aus Pflanzen und Mikroorganismen isolierten Keto- und Aminosäuren werden beschrieben.

Grundlagen der Aminosäure-Synthese in Pflanzen

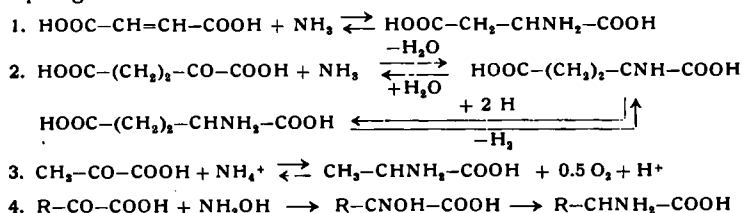
Während der letzten zwei Jahrzehnte hat unser Wissen über die Bildung der Baustoffe der Proteine, der Aminosäuren, in erster Linie dadurch eine zuverlässige Grundlage erhalten, daß Enzymssysteme entdeckt worden sind, welche sowohl bei der primären als auch bei der sekundären Synthese der Aminosäuren eine zentrale Rolle spielen. Bereits in den 1920er Jahren stellten *Quastel* und *Woelf*¹⁾ mit ruhenden *Coli*-Bakterien die Synthese von L-Asparaginsäure aus Fumarsäure und Ammoniak fest.

In unserem Laboratorium konnten wir das entsprechende Enzym, die Aspartase, aus *Pseudomonas fluorescens* in wäßriger Lösung erhalten²⁾. Das Enzym ist außerordentlich spezifisch und seine Funktion beschränkt sich ausschließlich auf die umkehrbare Reaktion:

$$\text{L-Asparaginsäure} \rightleftharpoons \text{Fumarsäure} + \text{NH}_3 \text{ (Reaktion 1).}$$

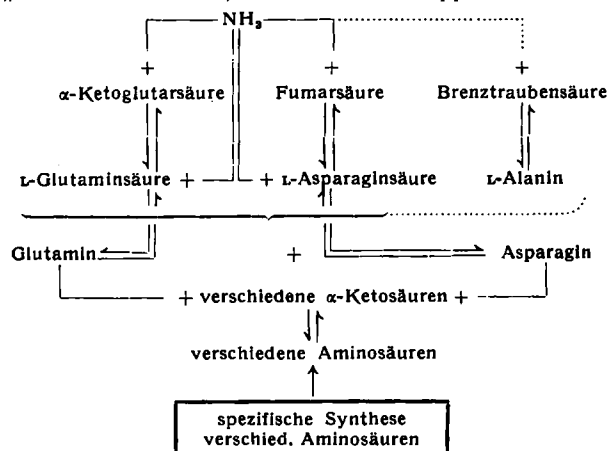
Dieses Enzym ist jedoch nicht in sämtlichen Organismen anzutreffen. Es scheint z. B. in tierischen Organismen gänzlich zu fehlen. In Mikroorganismen ist es ziemlich allgemein verbreitet und in höheren Pflanzen wird es ebenfalls angetroffen. Die in der zweiten Hälfte der 1930er Jahre von *von Euler* und *Adler*²⁾ isolierte und charakterisierte Glutaminsäure-dehydrogenase, welche die oxydative Desaminierung der L-Glutaminsäure zu α -Ketoglutarinsäure und auch die umgekehrte Reaktion, die reduktive Aminierung der α -Ketoglutarinsäure zu L-Glutaminsäure herbeiführt (Reaktion 2), hat sich in der belebten Natur als ein allgemeines Enzym erwiesen. Untersuchungen mit zahlreichen verschiedenen Organismen haben gezeigt, daß mit Ammoniumstickstoff als Stickstoff-Quelle zuerst L-Glutaminsäure in größeren Mengen gebildet wird. In ihr reichert sich bei möglichst kurzen Versuchszeiten mehr ^{15}N als in anderen Aminosäuren an, wenn ^{15}N -markierter Ammoniumstickstoff als Stickstoff-Nahrung benutzt wird. Andere Enzyme, die Aminosäuren aus Ammoniumstickstoff aufbauen können, sind nicht bekannt. Viele Umstände sprechen indessen für die Auffassung, daß auch α -Alanin aus Ammoniak und der entsprechenden Ketosäure, der Brenztraubensäure, entstehen kann (Reaktion 3). Nähere Angaben über diese Reaktion fehlen je-

doch. *Werkman*⁴⁾) ist der Ansicht, Phosphat sei an dieser Synthese beteiligt, womit die Reaktion dann andersartig als die entsprechende Biosynthese der Glutaminsäure wäre. Bei den von *Roine*⁵⁾) in unserem Laboratorium mit Stickstoff-armer *Torulopsis utilis*-Hefe ausgeführten Versuchen verlief die Synthese des Alanins aus Ammoniumstickstoff so rasch, daß es nicht leicht fällt, sie auf eine Transaminierung zwischen Glutaminsäure und Brenztraubensäure zurückzuführen.



Silver und *McElroy*⁶⁾ haben kürzlich beobachtet, daß eine *Neurospora*-Mutante, welcher die Glutaminsäure-dehydrogenase fehlt, dessen ungeachtet mit Ammoniumstickstoff gleich gut wächst wie die Mutanten, welche dieses Enzym enthalten. Die Aminosäure-Synthese aus Ammoniumstickstoff muß demnach mit normaler Geschwindigkeit auch auf anderem Wege als über die Glutaminsäure stattfinden. Ob die Synthese hierbei über Asparaginsäure oder Alanin geht, ist noch nicht bekannt. Aus Arbeiten mit Mutanten dieser Art kann man wahrscheinlich wichtigen näheren Aufschluß über die primäre Bildung der Aminosäuren in den Zellen erwarten.

Glutaminsäure und Asparaginsäure sind zweifellos „Grundaminosäuren“, deren Amino-Gruppen direkt aus



^{*)} Nach einem Vortrag auf der Tagung der Nobelpreisträger der Chemie in Lindau 10.-16. Juli 1955. Das Thema wurde schon in Vorträgen vor den Chemischen Gesellschaften in Basel, Bern und Zürich Ende April und Anfang Mai 1955 behandelt.

¹⁾ J. H. Quastel u. B. Woolf, *Biochem. J.* 20, 545 [1926]; B. Woolf, *ebenda* 23, 472 [1929].

²⁾ H. v. Euler, E. Adler u. T. Steenhoff-Eriksen, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 248, 227 [1937]; H. v. Euler, E. Adler, G. Günther u. N. Das, ebenda 234, 61 [1938]; E. Adler, V. Hellström, G. Günther u. H. v. Euler, ebenda 255, 14 [1938].

⁴) C. H. Werkman, Report Agric. Res., Ames, Iowa 1948, 171.

^{b)} P. Roine, Suomalaisen Tiedeakatemian Toimituksia [Ann. Acad. Sci. Fennicae], Ser. A. II, Chem. No. 26 [1947].

^{*)} W. S. Silver u. W. D. McElroy, Arch. Biochem. Biophys. 51, 379 [1954].

Ammoniumstickstoff aufgebaut werden. Ob zu ihnen außer Alanin evtl. noch Glycin oder irgendeine andere Aminosäure gehören, ist noch unklar. Die meisten Aminosäuren werden auf alle Fälle direkt oder indirekt durch Vermittlung der „Grundaminosäuren“, also sekundär gebildet.

Neben Ammoniak ist auch die Möglichkeit besprochen worden, daß sich Hydroxylamin an der Aminosäure-Synthese, beteiligt (Reaktion 4), wenn Nitrat oder molekularer Stickstoff als Stickstoff-Nahrung dienen. Man hat jedenfalls bei gewissen Mikroorganismen festgestellt, daß bei der Reduktion des Nitrats zu Ammoniak wenigstens drei Reduktasen, die Nitrat-, Nitrit- und Hydroxylamin-Reduktase nacheinander wirksam sind, womit das Hydroxylamin als Zwischenprodukt entsteht. Es sei in dieser Hinsicht besonders auf die Befunde von Egami und Mitarbeitern⁷⁾ verwiesen. Die meisten Forscher sind der Ansicht, daß das Hydroxylamin vollständig weiterreduziert wird, und daß auch mit Nitrat als Stickstoff-Nahrung erst der Ammoniumstickstoff an der Aminosäure-Synthese teilnimmt. Mit dieser Auffassung stehen die Beobachtungen nicht in vollem Einklang, denen zufolge Hydroxylamin in Kulturen von *Azotobacter* mit Nitrat oder molekularem Stickstoff als Stickstoff-Nahrung entstehen soll. Blom⁸⁾ teilte im Beginn der 1930er Jahre mit, daß er freies Hydroxylamin in *Azotobacter*-Kulturen bei Anwendung von molekularem Stickstoff als Stickstoff-Quelle gefunden habe. Einige Jahre später beobachtete Endres⁹⁾ die Bildung von gebundenem Hydroxylamin beim Kultivieren von *Azotobacter* sowohl mit Nitrat als molekularem Stickstoff als Stickstoff-Nahrung. Dagegen fand er kein freies Hydroxylamin, dessen Bildung er auch als Zwischenprodukt ablehnte. Endres war der Ansicht, daß das „gebundene Hydroxylamin“ Oximen angehört, da aus dieser Stickstoff-Fraktion durch Säurehydrolyse und anschließende Oxydation mit Jod Nitrit entstand. Solches entsteht indessen auch aus Hydroxamsäuren, deren enzymatische Bildung aus Hydroxylamin und organischen Säuren bzw. deren Amidinen später festgestellt worden ist¹⁰⁾. Somit wird der Charakter des gebundenen Hydroxylamins durch die Bildung von Nitrit nicht gelöst.

In unserem Laboratorium wurde gebundenes Hydroxylamin sowohl in grünen Pflanzen und in *Torulopsis*-Hefe mit Nitrat als Stickstoff-Nahrung als auch als Sekretionsprodukt der geimpften Leguminosen gefunden¹¹⁾. Zusammen mit Csáky¹²⁾ beobachteten wir das rasche Erscheinen von gebundenem Hydroxylamin in gelüfteter, Nitrat-haltiger Suspension von *Torulopsis*. Nach Erreichen eines Maximums nimmt dessen Menge wieder ab (Bild 1). Demgemäß hat es den Anschein als ob eine Adaptation zur Verwertung von gebundenem oder freiem Hydroxylamin stattfindet.

Die Bestimmung des gebundenen Hydroxylamins beruht auf einem indirekten Analyseverfahren. Wir waren daher bestrebt zu ermitteln, wie das Hydroxylamin gebunden ist. Schon vor dem Kriege haben wir eine Stickstoff-Fraktion, die gebundenes Hydroxylamin enthielt, aus dem Nährboden von geimpften Erbsen mit Wurzelknöllchen isoliert. Da durch Reduktion Asparaginsäure ent-

stand¹³⁾, hätte die Fraktion damit das Oxim der Oxal-essigsäure enthalten. Später ist es uns nicht mehr gelungen entsprechende Stickstoff-Fractionen zu isolieren. Da aber die chromatographischen Verfahren heute neue Möglichkeiten bieten, ist in unserem Laboratorium erneut die Untersuchung des gebundenen Hydroxylamins in Angriff genommen worden. Zugabe von Nitrit zur gelüfteten Wassersuspension von *Torulopsis* lieferte nach etwa 25 min ein

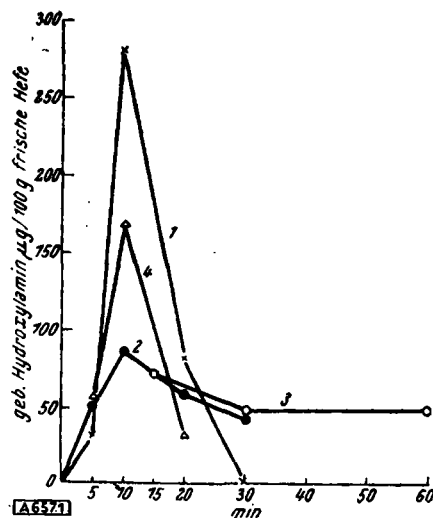


Bild 1

Bildung von gebundenem Hydroxylamin in stark belüfteter Suspension von *Torulopsis*-Hefe mit Nitrat als N-Nahrung. Kurven 1–3 mit „niedrig-N-Hefe“, Kurve 4 mit „normal-N-Hefe“

Maximum an gebundenem Hydroxylamin. Der Versuch wurde dann unterbrochen, die Hefe abzentrifugiert, in 96proz. Alkohol suspendiert, die Fettsubstanzen mit Amylalkohol entfernt und die Aminosäuren mit Dowex-50-Harz beseitigt. Da der direkte papierchromatographische Nachweis der Hydroxylamin-Verbindungen sich als schwierig erwies, wurde die NOH-Gruppe mit Natrium-Amalgam zur Amino-Gruppe reduziert. Als Kontrolle diente die gleiche Menge nichtreduzierten Extrakts. Auf diese Weise konnten wir¹⁴⁾ in *Torulopsis*-Hefe mit Nitrit als Stickstoff-Nahrung die Bildung der Oxime von Brenztraubensäure, α -Ketoglutarsäure, Oxal-essigsäure und Glyoxylsäure nachweisen (Bild 2).

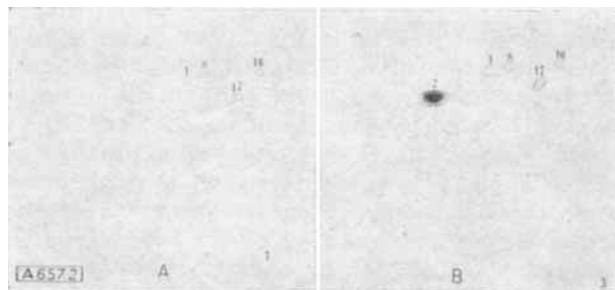


Bild 2

Zweidimensionales Papierchromatogramm von *Torulopsis utilis*-Suspension in Nitrit-haltiger Lösung. Lösungsmittel: Butanol-Essigsäure-Wasser und Phenol-Wasser in NH_3 -Atmosphäre. A: Nach Separierung der Aminosäuren und vor der Reduktion; Spuren von Aminosäuren 1, 8, 16 und 17 zurückgeblieben. B: Wie A, aber nach der Reduktion. 1 = Gly, 2 = Ala, 8 = Ser, 16 = Asp, 17 = Glu

In der Dowex-Säule verblieben nur ca. 10% des gebundenen Hydroxylamins. Diese Fraktion kann z. B. die Hydroxamsäuren der Asparagin- und Glutaminsäure ent-

⁷⁾ S. Taniguchi, H. Mitsui, J. Toyoda, T. Yamada u. F. Egami, J. Biochem. 40, 175 [1953].

⁸⁾ J. Blom, Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. Abt. II, 84, 60 [1931].

⁹⁾ G. Endres, Liebig's Ann. Chem. 518, 109 [1935]; G. Endres u. L. Kaufmann, ebenda 530, 184 [1937]; 535, 1 [1938].

¹⁰⁾ J. F. Speck, J. biol. Chemistry 168, 403 [1937].

¹¹⁾ A. I. Virtanen u. T. Laine, Nature [London] 141, 748 [1938]; A. I. Virtanen u. A. Arhimo, Suomen Kemistilehti B 72, 24 [1939].

¹²⁾ A. I. Virtanen u. T. Csáky, Nature [London] 161, 814 [1948].

¹³⁾ A. I. Virtanen u. T. Laine, Biochem. J. 33, 412 [1939].

¹⁴⁾ A. I. Virtanen u. N.-E. Saris, Acta Chem. Scand. 9, 337 [1955]; bzw. unpubliziert.

halten. Die Fraktion, die nur ganz minimale Mengen gebundenes Hydroxylamin enthielt, ist vorläufig nicht näher untersucht worden.

Auch in den Wurzeln junger Haferpflanzen, welche in Nitrat- und Nitrit-haltiger Nährlösung wuchsen, haben wir¹⁴⁾ die Bildung von Oximen der Glyoxylsäure, Brenztraubensäure, α -Ketoglutarinsäure, Oxalessigsäure und Oxybrenztraubensäure festgestellt (Bild 3).

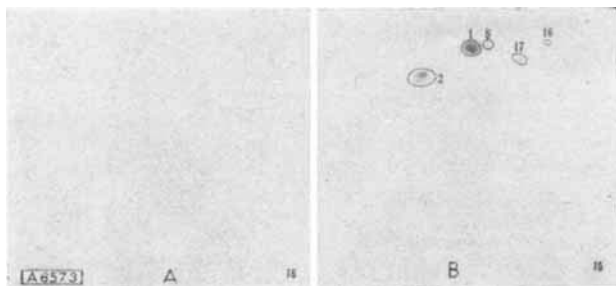
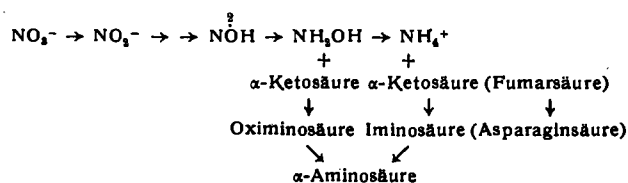


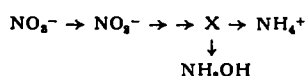
Bild 3

Zweidimensionales Papierchromatogramm von den Wurzeln junger Haferpflanzen, gewachsen in Nitrat- und Nitrit-haltiger Nährlösung. A: Nach Separierung der Aminosäuren und vor der Reduktion; Separierung vollständig. B: Wie A, aber nach der Reduktion

Diese Resultate gaben erstmalig ein klar umrissenes Bild des bei der Nitrat-Reduktion in Organismen entstehenden, sog. gebundenen Hydroxylamins. Die Mengenverhältnisse der verschiedenen Ketosäureoxime untereinander variieren je nach der Reaktionsgeschwindigkeit der verschiedenen Ketosäuren mit Hydroxylamin und den Mengen dieser Säuren in den Zellen. Bereits früher haben wir die Reaktionsgeschwindigkeit des Hydroxylamins mit den verschiedenen Ketosäuren bestimmt¹⁵⁾ und die Reaktionsgeschwindigkeit mit den zentralen α -Ketosäuren der Zellen als so hoch befunden, daß das evtl. entstehende Hydroxylamin in den Zellen sofort mit diesen Ketosäuren reagieren sollte. Der bindende Nachweis der Bildung von Ketosäureoximen stützt unsere frühere Hypothese von der Bildung der Aminosäuren mit Nitrat als Stickstoff-Nahrung:



Die Möglichkeit, daß Hydroxylamin nur ein Nebenprodukt ist, ist aber nicht ohne weiteres außer acht zu lassen, wenn auch keine Beweise dafür vorliegen.

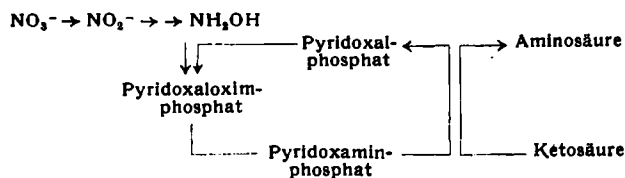


Obwohl Hydroxylamin offenbar ein Zwischenprodukt der Nitrat-Reduktion ist, führt doch der quantitativ wichtigste Weg zu Aminosäuren wahrscheinlich über Ammoniak. Darauf weist bereits die reichlichste Ansammlung von ¹⁵N in Glutaminsäure hin, wenn markiertes NH₄, NO₃ oder N₂ als Stickstoff-Nahrung für verschiedene Mikroorganismen benutzt wird¹⁶⁾. Eine solche Anreicherung würde jedoch auch dann stattfinden, wenn ein Teil, und sogar ein beträchtlicher Teil der Aminosäure-Synthese über Hydroxylamin verlief, wobei neben Glutaminsäure auf Grund der dargestellten Resultate gleichzeitig auch andere Aminosäuren gebildet würden. ¹⁵N ist ja selbst

bei der kürzesten Versuchsdauer nicht einmal annähernd ausschließlich in der Glutaminsäure sondern in sehr erheblicher Menge auch in Asparaginsäure und in zahlreichen anderen Aminosäuren, mit Ausnahme der basischen Aminosäuren, zu finden. In diesem Zusammenhang ist von besonderem Interesse die Auffassung von Nord und Mitarbeitern¹⁷⁾, wonach Nitrat in *Fusarium*-Kulturen nur bis zum Hydroxylamin reduziert wird und Brenztraubensäure als Acceptor des Hydroxylamins fungiert. Ein Oxim der Brenztraubensäure wurde jedoch experimentell nicht nachgewiesen.

Die Reduktion der Oxime in den Zellen ist noch ungeklärt. Beweise für eine solche Reduktion sind wohl vorhanden, z. B. stellte Maurer¹⁸⁾ bereits in den 1920er Jahren die Reduktion des Oxims der Brenztraubensäure zu Alanin in gärender Hefe fest, aber der Reduktionsverlauf ist auch heute noch unerforscht und die reduzierenden Enzyme sind unbekannt. Die von uns beobachtete rasche Abnahme der Ketosäureoxime nach Erreichen des Maximums deutet zwar auf eine rasche Reduktion hin, doch kann auch irgend eine andere Reaktion diese Abnahme des Oxim-stickstoffs bewirken. Yamafuji¹⁹⁾ hat vor einigen Jahren die enzymatische Reduktion der Ketosäureoxime in tierischen Geweben und auch in Grünalgen untersucht, und die entspr. Enzyme als „Oximasen“ bezeichnet, doch ist unsere Kenntnis über die Reduktion und die Natur dieser Enzyme dadurch nicht wesentlich bereichert worden. Falls es sich zeigen läßt, daß die Nitrat-assimilierenden Organismen nicht allgemein die Oxime der α -Ketosäuren reduzieren, so sind wahrscheinlich die gefundenen Oxime nicht als intermediäre Produkte der Nitrat-Assimilation anzusehen, sondern nur als in sehr kleinen Mengen entstehende Nebenprodukte.

Ganz kürzlich haben Silver und McElroy⁸⁾ sehr interessante Ergebnisse über die Reduktion von Nitrat und Nitrit bei *Neurospora*-Mutanten veröffentlicht. Da Pyridoxin in irgendeiner Weise mit der Nitrit-Reduktion verknüpft zu sein scheint, vermuten sie, daß Hydroxylamin, welches als Reduktionsprodukt des Nitrits entsteht, mit Pyridoxal-phosphat ein Oxim bildet. Dieses würde zu Pyridoxamin-phosphat reduziert, welches dann mit einer Ketosäure unter Bildung der entsprechenden Aminosäure transaminiert.



Unsere Befunde zeigen jedoch, daß Hydroxylamin mit α -Ketosäuren direkt reagiert. Ob Hydroxylamin auch mit Pyridoxalphosphat ein Oxim bildet und ob eine Bildung der Aminosäuren in oben dargestellter Weise stattfindet, ist nicht experimentell bewiesen. Die Hypothese ist aber sehr beachtenswert.

Die Möglichkeit, daß die Biosynthese der Aminosäuren auch über Ketosäureoxime verlaufen kann, führt zu der Frage, wieso zwischen den verschiedenen Aminosäuren in der Zelle ein harmonisches Verhältnis herrscht, wenn die ohne enzymatische Kontrolle vor sich gehende Bildung von Oximen zur Entstehung der Aminosäuren führt. Die Transaminierungsreaktion²⁰⁾ hat sich nun als mäch-

¹⁷⁾ J. C. Wirth u. F. F. Nord, Arch. Biochemistry 1, 143 [1942]; F. F. Nord u. R. Mull, Advances in Enzymol. 5, 165 [1945].

¹⁸⁾ K. Maurer, Biochem. Z. 189, 216 [1927].

¹⁹⁾ K. Yamafuji, Nature [London] 167, 770 [1951]; K. Yamafuji u. H. Omura, Enzymologia 15, 296 [1952].

²⁰⁾ A. E. Braunstein u. M. G. Kritzman, Nature [London] 140, 503 [1937].

¹⁴⁾ A. I. Virtanen, Suomalaisen Tiedeakademian Toimituksia [Ann. Acad. Sci. Fennicae], Ser. A. II, Chem. No. 43 [1952].

¹⁵⁾ P. W. Wilson u. R. H. Burris, Ann. Rev. Microbiol. 7, 415 [1953].

tiger Faktor bezüglich der Regelung der Mengenverhältnisse der verschiedenen Aminosäuren und Ketosäuren untereinander herausgestellt. Sie macht auch die Beteiligung solcher Aminosäuren am Stickstoff-Stoffwechsel möglich, die nicht zu den allgemein in den Zellen vorkommenden Stickstoff-Verbindungen gehören. Der mehrjährige Disput über die Frage, ob sich die Transaminierung lediglich auf einige wenige Amino- bzw. Ketosäuren beschränkt oder ob ihr eine ausgedehntere Bedeutung zukommt, hat insbesondere nach Einführung der Papierchromatographie eine geradezu überraschende Lösung gefunden. Die Reaktion hat sich als dermaßen allgemein erwiesen, daß sich ihr Wirkungsbereich sogar über die α -Aminosäuren hinaus erstreckt. Z. B. hat man festgestellt, daß sich β -Alanin und γ -Aminobuttersäure an der Transaminierung beteiligen^{21,22}). Außer der Transaminierung sind die oxydative Desaminierung und die Decarboxylierung der Aminodicarbonsäuren Reaktionen, welche die Verhältnisse der Aminosäuren untereinander beeinflussen.

Neue Ketosäuren aus Pflanzen

Das Ermessen der Bedeutung der Transaminierung im Stickstoff-Stoffwechsel der Zellen ist durch den Umstand erschwert worden, daß es bis in allerletzte Zeit nicht bekannt war, ob in den Organismen die den verschiedenen Aminosäuren entsprechenden Ketosäuren vorhanden sind. Nur die zentralen Ketosäuren: Brenztraubensäure, Oxalessigsäure und α -Ketoglutaratsäure waren im tierischen Organismus gefunden worden. Ihr Nachweis in grünen Pflanzen gelang in unserem Laboratorium gegen Ende der 1930er Jahre²³). Erst die chromatographische und speziell die papierchromatographische Methodik hat zur Entdeckung zahlreicher anderer Ketosäuren geführt. Die Versuche, diese Säuren auf dem Papierchromatogramm in Form ihrer Dinitrophenylhydrazone zu identifizieren, bestätigten zunächst lediglich das Vorhandensein der erwähnten zentralen Ketosäuren in Pflanzen²⁴). Neue Ketosäuren wurden aber vor allem deshalb nicht gefunden, weil die Hydrazone ein und derselben Ketosäure zwei Isomere und entsprechend zwei Flecken bilden, was die Feststellung mehrerer Ketosäuren gleichzeitig erschwert. Erst nachdem man dazu überging, die Ketosäurehydrazone zu den entsprechenden Aminosäuren zu reduzieren und sie selbst papierchromatographisch zu identifizieren, gelangen Nachweis und Identifizierung zahlreicher neuer Ketosäuren. *Tafel*²⁵) wies bereits 1886 nach, daß die Hydrazone mit Natriumamalgam zu ihrer Aminosäure reduziert werden, doch hat man erst etwa während der beiden letzten Jahre begonnen dieses Prinzip auf die Identifizierung der Ketosäuren in biologischer Materie anzuwenden. Wir haben die Dinitrophenylhydrazone mit Zinn und Salzsäure reduziert²⁶) und in verschiedenen Pflanzen bisher außer der regelmäßig darin vorhandenen Brenztraubensäure, Oxalessigsäure, α -Ketoglutaratsäure und Glyoxylsäure folgende neue Ketosäuren²⁷) nachweisen können (entspr. Aminosäuren):

α -Keto adipinsäure $\text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^a)$	(Aminoadipinsäure)
α -Ketopimelinsäure $\text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^b)$	(Aminopimelinsäure)

a) Keimende Erbsensaat. b) *Asplenium septentrionale*.

²¹⁾ S. P. Bessman, J. Rossen u. E. C. Layne, J. biol. Chemistry 207, 385 [1953].

²²⁾ J. K. Miettinen u. A. I. Virtanen, Acta chem. Scand. 7, 1243 [1953].

²³⁾ A. I. Virtanen u. T. Laine, Suomen Kemistilehti B 70, 35 [1937]; A. I. Virtanen u. A. A. Arhimo, Nature [London] 144, 36 [1939]; A. I. Virtanen, A. A. Arhimo, J. Sundman u. L. Jännes, J. makromolekulare Chem. 162, 716 [1943].

²⁴⁾ A. I. Virtanen, J. K. Miettinen u. H. Kunttu, Acta chem. Scand. 7, 38 [1953].

²⁵⁾ J. Tafel, Ber. dtsch. chem. Ges. 19, 2415 [1886].

²⁶⁾ M. Alfthan u. A. I. Virtanen, Acta chem. Scand. 9, 186 [1955].

²⁷⁾ A. I. Virtanen u. M. Alfthan, ebenda 8, 1720 [1954]; 9, 188 [1955].

γ -Oxy- α -ketopimelinsäure $\text{HOOC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^b)$	(Oxyaminopimelinsäure)
Lacton der γ -Oxy- α -ketopimelinsäure $\text{OC}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^b)$	(Lacton der Oxyaminopimelinsäure)
Oxybrenztraubensäure $\text{HOH}_2\text{C}\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^b)$	(Serin)
β -Oxy- α -ketobuttersäure $\text{H}_3\text{C}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^c)$	(Threonin)
γ -Oxy- α -ketobuttersäure $\text{HOH}_2\text{C}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^c)$	(Homoserin)
γ -Methyl- α -ketoglutaratsäure $\text{HOOC}\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^d)$	(Methylglutaminsäure)
γ -Oxy- γ -methyl- α -ketoglutaratsäure $\text{HOOC}\cdot\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OH})\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^d)$	(Oxymethylglutaminsäure)
γ -Oxy- α -ketoglutaratsäure $\text{HOOC}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{COOH}^e)$	(Oxyglutaminsäure)

b) *Asplenium septentrionale*

c) Preiselbeere.

d) *Phyllitis scolopendrium*.

e) Entsteht bei der Transaminierung von γ -Oxyglutaminsäure mit α -Ketoglutaratsäure (Homogenat von *Phlox* als Enzymmaterial).

Ferner sind in unserem Laboratorium zwei Ketosäuren in pflanzlichem Material festgestellt worden, die vorläufig nicht identifiziert werden konnten. Die meisten dieser neuen Ketosäuren sind in denselben Pflanzen zu finden in denen auch die entsprechenden Aminosäuren vorkommen (s. unten). *Towers* und *Steward*²⁸), *Fowden* und *Webb*²⁹) haben der interessanten γ -Methylen-glutaminsäure entsprechende γ -Methylen- α -ketoglutaratsäure in *Tulipa* bzw. *Arachis* identifiziert. *Towers*, *Thompson* und *Steward*^{28a}) konnten auch die Ketosäure, welche Valin entspricht, in grünen Pflanzen finden. *Steward* hat mit seinen Mitarbeitern wertvolle Pionierarbeiten bezüglich des Vorkommens von Amino- und Ketosäuren in grünen Pflanzen ausgeführt.

Auf Grund dieser Befunde ist es offenbar, daß in den Pflanzen eine große Anzahl α -Ketosäuren, welche verschiedenen Aminosäuren entsprechen, vorhanden sind. Damit ist die experimentelle Begründung der Annahme gewonnen, daß die verschiedenen Aminosäuren in Organismen durch Transaminierung aus den entsprechenden Ketosäuren entstehen können. Sofern die Ketosäure „primär“, d. h. auf anderem Wege als aus der entsprechenden Aminosäure entstanden ist, wird die Ergründung ihres Bildungsmechanismus zugleich Klarheit über die Biosynthese der Aminosäure ergeben. Selbstverständlich ist es möglich, daß eine Ketosäure ausschließlich aus der entsprechenden Aminosäure durch Transaminierung oder Desaminierung entsteht. In diesem Fall ist die Ketosäure ein „sekundäres“ Produkt, dessen Anwesenheit keinerlei Aufschluß über die „primäre“ Synthese der betr. Aminosäure liefert, obwohl sich auch in diesem Fall die Aminosäure wieder aus der Ketosäure bilden kann, wenn sich die Konzentrationsverhältnisse in einer für die Aminosäure-Synthese günstigen Richtung verschieben (Bild 4). Die Gleichgewichtsbeziehungen zwischen den zahlreichen verschiedenen Keto- und Aminosäuren in den Zellen sind außerordentlich kompliziert, da sie in entscheidender Weise von der jeweiligen Konzentration dieser Säuren und von der Aktivität der verschiedenen Transaminasen abhängen. Auf die Konzentration der Proteinamino-säuren ist die Proteinsynthese von starkem Einfluß, auf die der Nicht-Proteinamino-säuren wiederum deren Verbrauch zu anderen Reaktionen, zur Desaminierung und, wenn es sich um Dicarbonsäuren handelt, zur Decarboxylierung. Auf alle Fälle hat der

²⁸⁾ G. H. N. Towers u. F. C. Steward, J. Amer. chem. Soc. 76, 1959 [1954]; L. Fowden u. J. A. Webb, Biochem. J. 59, 228 [1955].

^{28a)} G. H. N. Towers, J. F. Thompson u. F. C. Steward, J. Amer. chem. Soc. 76, 2392 [1954].

Nachweis zahlreicher neuer Ketosäuren in Pflanzen neue Perspektiven sowohl in Bezug auf den Kohlenstoff- als auf den Stickstoff-Stoffwechsel eröffnet.

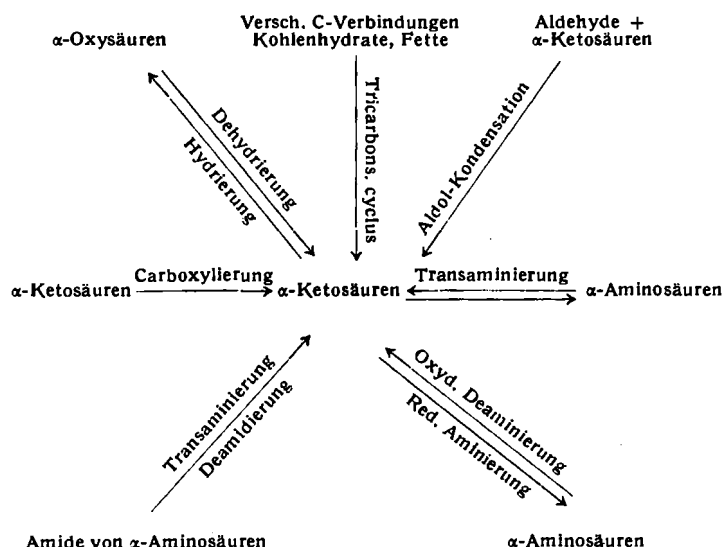


Bild 4
Wege zur Synthese von α-Ketosäuren

Neue Aminosäuren aus Pflanzen

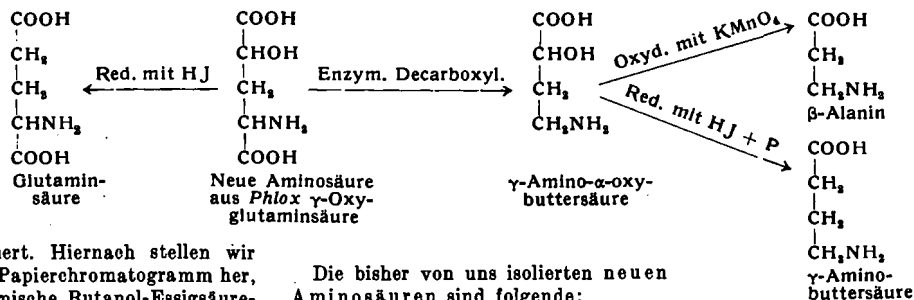
Neue Aminosäuren sind innerhalb einiger letztvergangener Jahre besonders in grünen Pflanzen in überraschender Anzahl gefunden worden. Zumeist sind es Nicht-Proteinamino-säuren, doch sind auch einige in Proteinen anzutreffende darunter. Insbesondere in höheren Pflanzen trifft man unbekannte freie Aminosäuren und zugleich oft die entsprechenden Ketosäuren unerwartet in den verschiedensten Familien und Arten.

Da in unserem Laboratorium im Verlaufe einiger Jahre etwa zehn neue Aminosäuren gefunden, isoliert und strukturell aufgeklärt worden sind, sei das angewandte Verfahren kurz umrissen. Zur Isolierung der freien Aminosäuren wird das Pflanzenmaterial homogenisiert und mit 70proz. Alkohol extrahiert. Außer den Aminosäuren gehen dabei zahlreiche andere organische Verbindungen und Mineralsalze in Lösung. Um die Aminosäuren vom größten Teil dieser Stoffe abzutrennen, lassen wir die Lösung durch Amberlite IR 120-Säule rin- nen. Die in der Säule verbliebenen Aminosäuren und überdies eine ge- wisse Menge niedermolekularer Pep- tide werden mit 1 n Ammoniak eluiert. Hiernach stellen wir von der Lösung ein zweidimensionales Papierchromatogramm her, wobei meist als Lösungsmittel die Gemische Butanol-Essigsäure- Wasser und Phenol-Wasser in NH_3 -Atmosphäre benutzt werden. Wird in dem Chromatogramm nach Ninhydrin-Behandlung irgend- ein unbekannter Fleck gefunden, so wird zuerst geprüft, ob er leicht oder schwer durch Säure hydrolysiert wird und ob er bei der Papierelektrophorese sauer, neutral oder basisch reagiert. Hand- delt es sich um eine neutrale Aminosäure, so trennen wir mit einem geeigneten Ionenaustauschharz, z. B. in der Amberlite IR-4B- Säule, die sauren Aminosäuren ab und fraktionieren dann nach Stein und Moor in der Dowex-50-Säule die in der Lösung verblie- benen Aminosäuren. Mit dieser Methode sind von Miettinen, Kari, Moisio, Alfthan und Virtanen²⁹⁾ L-Homoserin und von Virtanen und Kari^{30, 31)} die 4- und 5-Oxypiperidin-2-carboxylsäuren rein isoliert worden. Die Isolierung der beiden letzteren in reinem Zu- stand gelang auch dann, wenn sie beide in der gleichen Pflanze (*Acacia pentadena*) vorkamen. Die Isolierungen wurden dadurch bedeutend erleichtert, daß man die α-Aminosäuren mit Stickstoff- oxyden zuerst desaminieren konnte, so daß nur die stabilen, se-

kundären Aminosäuren zurückblieben. Dieses Verfahren hat sich beim Isolieren sekundärer Aminosäuren außerordentlich gut be- währt.

Wenn neue Amino-dicarbonsäuren von den üblichen zu trennen sind, gelingt die Fraktionierung mit einem Ionenaus- tauschharzes oft nicht. Man muß sich dann mit verschiedenen Mitteln behelfen. Die γ-Oxyglutaminsäure³²⁾ konnte aus *Phlox decussata* durch Auftrennen der die sauren Aminosäuren enthal- tenden Fraktion in der Cellulose-Säule rein isoliert werden. Die α-Aminopimelinsäure^{33, 34)}, von der wir sehr geringe Mengen in zwei so weit verschiedenen Pflanzen wie in dem kleinen Felsen- farn *Asplenium septentrionale* und in den Samen des Johannes- Brotbaumes, *Ceratonia siliqua*, gefunden haben, konnte rein iso- liert werden durch Ausschneiden der betreffenden Stelle des ein- dimensional, mit Ninhydrin nicht behandelten Papierchromato- gramms und Extrahieren des Papierstreifens mit Wasser. Die Isolierung der γ-Oxy-α-aminopimelinsäure durch Virtanen, Uk- sila und Matikkala³⁵⁾ erforderte eine besondere Methode. Diese in *Asplenium*-Arten vorkommende Amino-dicarbonsäure ist die einzige bisher bekannte Aminosäure, deren Lacton auch in der Pflanze vorhanden ist. Die Säure wurde zuerst mit den anderen Amino-dicarbonsäuren von den neutralen und basischen Amino- säuren mittels Amberlite-IR 120 befreit, die Fraktion der sauren Aminosäuren mit Salzsäure erhitzt, wobei die γ-Oxysäure gänz- lich in das Lacton überging und das neutrale Lacton dann von den sauren Aminosäuren in der Amberlite IR-4B-Säule getrennt. Das reine Lacton konnte durch Erhitzen in Natriumcarbonat-Lö- sung in die entsprechende Amino-dicarbonsäure übergeführt wer- den.

Die Strukturbestimmungen der Aminosäuren können in diesem Zusammenhang nicht ausführlich behandelt werden. Es sei auf unsere einschlägigen Veröffentlichungen verwiesen. Meist können im Laboratorium nur sehr geringe Mengen der Amino- und Ketosäuren isoliert werden, oft nur einige Milligramm. Die sehr empfindlichen papierchromatographischen Mikromethoden und oftmals auch enzymatische Methoden sind deshalb für die Struk- turbestimmungen von hohem Wert. Als Beispiel sei unsere Struk- turbestimmung der γ-Oxyglutaminsäure genannt^{32, 37)}. Durch Reduktion mit Jodwasserstoff und rotem Phosphor wurde zuerst papierchromatographisch die Bildung von Glutaminsäure be- wiesen. Um die Stellung der Hydroxyl-Gruppe festzulegen, haben wir dann die unbekannte Oxyglutaminsäure mit *E. coli* decarboxy- liert. Als Produkt der Decarboxylierung konnte papierchromato- graphisch γ-Amino-α-oxybuttersäure identifiziert werden. Ihre Oxydation mit Kaliumpermanganat in saurer Lösung ergab β- Alanin, welches auch papierchromatographisch identifiziert wurde. Die Struktur des Decarboxylierungsproduktes war somit sicher- gestellt. Mit sehr kleinen Substanzmengen gelang so die Struk- turbestimmung der γ-Oxyglutaminsäure.



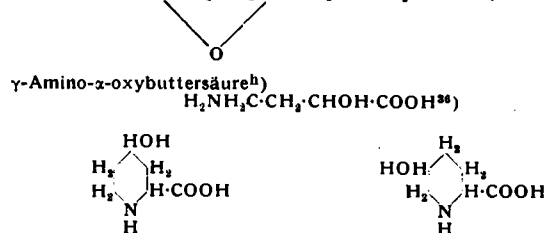
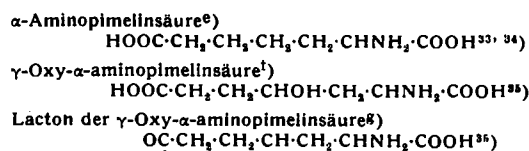
Die bisher von uns isolierten neuen Aminosäuren sind folgende:

- Homoserin^{a)} $\text{HOH}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{COOH}^{38)}$
 γ-Methylglutaminsäure^{b)} $\text{HOOC}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{COOH}^{37)}$
 γ-Oxyglutaminsäure^{c)} $\text{HOOC}-\text{CHOH}-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{COOH}^{32, 36)}$
 γ-Methyl-γ-oxyglutaminsäure^{d)} $\text{HOOC}-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2-\text{COOH}^{37, 38)}$

- a) Zuerst in Erbsenpflanzen (*Pisum*), dann in vielen anderen Pflanzen.
 b) In *Phyllitis scolopendrium*-Farn.
 c) In *Phlox decussata*.
 d) In *Phyllitis scolopendrium* (von Steward aus *Adiantum*-Farn iso- liert und als der Erste mit synthetischer γ-Methyl-γ-oxyglutamin- säure identifiziert; briefliche Mitteilung, 23. Febr. 1955).

²⁹⁾ J. K. Miettinen, S. Kari, T. Moisio, M. Alfthan u. A. I. Virtanen, Suomen Kemistilehti B 26, 26 [1953].
³⁰⁾ A. I. Virtanen u. S. Kari, Acta chem. Scand. 9, 170 [1955].
³¹⁾ A. I. Virtanen u. S. Kari, ebenda 8, 1290 [1954].

³²⁾ A. I. Virtanen u. P. K. Hietala, ebenda 9, 175 [1955].
³³⁾ A. I. Virtanen u. A.-M. Berg, ebenda 8, 1085 [1954].
³⁴⁾ A.-M. Berg u. A. I. Virtanen, Acta chem. Scand. 8, 1725 [1954].
³⁵⁾ A. I. Virtanen, E. Uksila u. E. J. Matikkala, ebenda 8, 1091 [1954].
³⁶⁾ A. I. Virtanen u. P. K. Hietala, ebenda 9, 549 [1955].
³⁷⁾ A. I. Virtanen u. A.-M. Berg, ebenda 9, 553 [1955].
³⁸⁾ N. Grobbelaar, J. K. Pollard u. F. C. Steward, Nature [London] 175, 703 [1955].



- e) In *Asplenium septentrionale*.
 f) In *Asplenium septentrionale* und in anderen *Asplenium*-Arten.
 g) Wie f).
 h) Enzymatisches Decarboxylierungsprodukt (*E. coli*) der γ -Oxyglutaminsäure; wahrscheinlich in Mikroorganismen und höheren Pflanzen.
 i) In *Acacia*-Arten, in *Albizia lophantha*.
 k) In *Acacia*-Arten, in *Rhaphis flabelliformis*.

Alle anderen außer der γ -Oxyglutaminsäure und dem Homoserin (s. unten) sind wenigstens vorläufig nur als freie Aminosäuren in Pflanzen angetroffen worden. Die γ -Oxyglutaminsäure findet sich in *Phlox* sowohl frei als auch im Proteinanteil. Es ist nicht unmöglich, daß irgendeine andere bis auf weiteres nur frei angetroffene Aminosäure in einem Protein gefunden werden könnte. Falls sie in einem in der Pflanze in geringer Menge vorkommenden Protein auftritt, so ist ihr Nachweis im Proteinteil schwierig.

Von den neuen Aminosäuren sind die meisten früher nie in Pflanzen oder Tierorganismen gefunden worden. Nur das Vorkommen von Homoserin wurde von *Fling* und *Horowitz*^{38a)} in einer *Neurospora*-Mutante bewiesen. Das Homoserin konnte jedoch bei dieser Arbeit nicht rein isoliert werden.

Die Lage der Flecke unserer neuen Aminosäuren im zweidimensionalen Papierchromatogramm zeigt Bild 5.

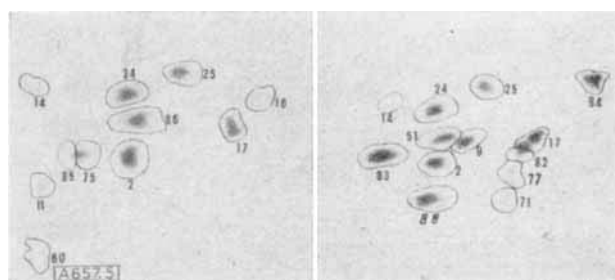


Bild 5

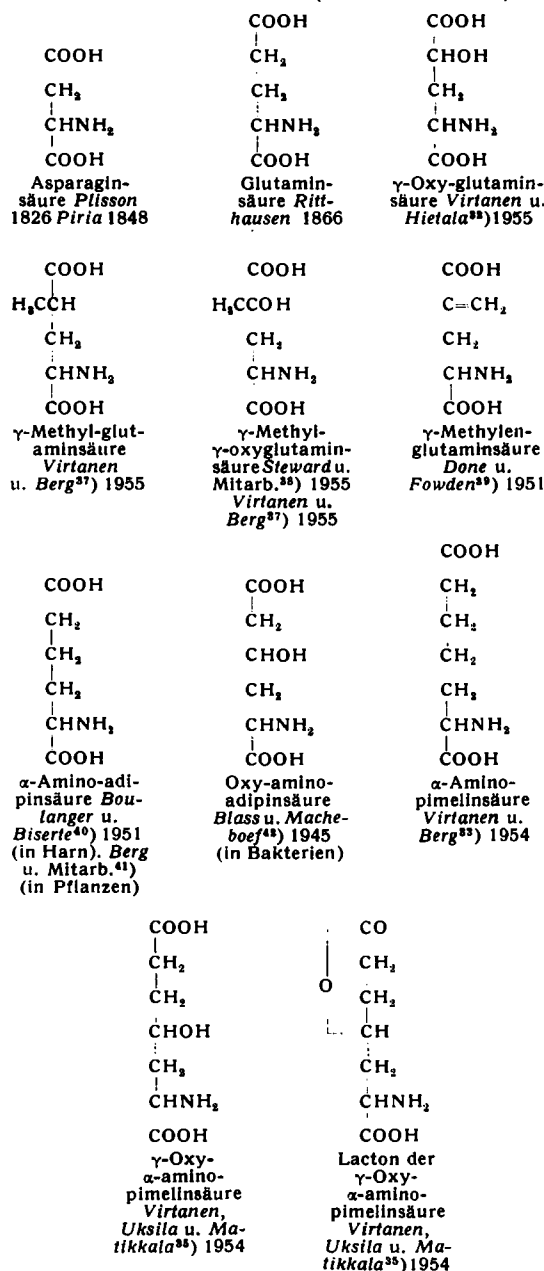
Zweidimensionales Papierchromatogramm der neuen Aminosäuren. Zur Orientierung sind mehrere früher bekannte Aminosäuren der Aminosäure-Mischung zugesetzt worden. Lösungsmittel: Butanol-Essigsäure-Wasser (63:27:10) und Phenol-Wasser in NH_3 -Atmosphäre. 2 = Ala, 11 = Pro., 14 = Arg., 16 = Asp., 17 = Glu., 24 = Glu.- NH_2 , 25 = Asp.- NH_2 , 51 = Homoserin, 60 = Pimelinsäure, 71 = α -Aminopimelinsäure, 75 = 5-Oxypimelinsäure, 77 = γ -Methylglutaminsäure, 79 = γ -Methylglutaminsäure, 82 = γ -Oxy- α -aminopimelinsäure, 84 = γ -Oxyglutaminsäure, 85 = 4-Oxypimelinsäure, 86 = α -Oxy- γ -aminobuttersäure, 88 = α -Aminosäure isoliert aus Preiselbeeren; Struktur noch nicht sichergestellt. γ -Methyl- γ -oxyglutaminsäure fehlt im Chromatogramm, sie liegt zwischen 16 und 17³⁷⁾

Die Übersicht deutet bereits an, welche unerwartete Menge neuer Aminosäuren in der Pflanzenwelt insgesamt vorhanden sein muß. Wenn wir nur einige Aminosäure-Gruppen unter Berücksichtigung der durch andere For-

^{38a)} M. Fling u. N. H. Horowitz, J. biol. Chemistry 190, 277 [1951].

scher gefundenen neuen Aminosäuren näher betrachten, erhalten wir ein anschauliches Bild von diesem Sachverhalt.

Monoamino-dicarbonsäuren (Saure Aminosäuren)



Neben die „Grundaminosäuren“ Asparagin- und Glutaminsäure sind somit in diesem Jahrzehnt acht bzw. neun neue Amino-dicarbonsäuren getreten. Von diesen kommen wenigstens γ -Oxyglutaminsäure und α -Amino-adipinsäure sowohl frei als auch in Proteinen vor.

In den Lehrbüchern der Chemie wird noch oft als Proteinaminosäure β -Oxyglutaminsäure erwähnt. Der Befund dieser Aminosäure vor mehr als 30 Jahren (*Dakin*) hat sich später nicht bestätigen lassen. Das Originalpräparat hat sich vielmehr als eine Mischung von üblichen Aminosäuren, hauptsächlich von Glutamin- und Asparaginsäure, erwiesen⁴³⁾.

³⁹⁾ J. Done u. L. Fowden, Biochem. J. 49, Proc. XX [1951]; 51, 451 [1952].

⁴⁰⁾ P. Boulanger u. G. Biserte, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 232, 1451 [1951].

⁴¹⁾ A.-M. Berg, S. Kari, M. Alfthan u. A. I. Virtanen, Acta chem. Scand. 8, 358 [1954].

⁴²⁾ J. Blass u. M. Macheboef, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 227, 313 [1945]; Helv. chim. Acta 29, 1315 [1945].

⁴³⁾ E. Work, Nature [London] 165, 74 [1950].

⁴⁴⁾ E. Work u. D. L. Dewey, J. gen. Microbiol. 9, 394 [1953]; Proc. 6 Int. Congr. Microbiol. Roma 1953.

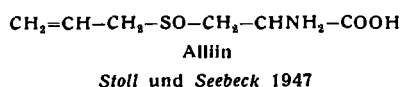
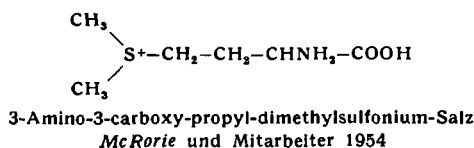
⁴⁵⁾ C. E. Dent u. D. J. Fowler, Biochem. J. 56, 54 [1954].

4- und 5-Oxypipicolsäure entstehen wahrscheinlich entsprechend aus γ - bzw. δ -Oxylysin^{50, 51}).

Andere Befunde bezüglich der freien Aminosäuren und deren Derivate

Bei den Untersuchungen von *Virtanen* und *Kari* über die freien Aminosäuren des Blütenstaubs, speziell dem leichten Blütenstaub von Windblütlern, wurden im Blütenstaub im allgemeinen viel mehr Piperidin- und Pyrrolidin-carbonsäuren angetroffen als in anderen Teilen der entsprechenden Pflanzen. Die Menge des freien Prolins ist im allgemeinen sehr hoch und Oxyprolin und Pipicolsäure, die in den Blättern der untersuchten Pflanzen (*Alnus*, *Betula*, *Corylus*, *Salix*, *Secale*, *Quercus*) garnicht vorgefunden wurden, waren zumeist im Blütenstaub anzutreffen. Es hat den Anschein, als ob sich bei der Bildung des Blütenstaubs, bei dem sich zugleich ein Trocknungsprozeß vollzieht (Trockensubstanzgehalt des Blütenstaubs $\sim 90\%$), aus Glutaminsäure Prolin und aus Lysin Pipicolsäure bilde. Die umgekehrte Reaktion wird möglich, wenn das Blütenstaubteilchen nach dem Auftreffen auf die Narbe des Blütenstempels Wasser aufnimmt.

Außer den bisher erwähnten Aminosäuren sind auch in anderen Aminosäure-Gruppen neue Entdeckungen gemacht worden. Von den neuen Schwefel-haltigen Aminosäuren ist das aus Kohl isolierte Methyl-sulfonium-Derivat des Methionins zu erwähnen (*McRorie* und Mitarbeiter⁵⁹), sowie das von *Stoll* und *Seebeck*⁶⁰ aus Knoblauch bereits 1947 isolierte und charakterisierte Alliin, das durch Einwirkung der Alliinase desaminiert wird, wobei u. a. Brenztraubensäure und Ammoniak entstehen. *Syngé* und Mitarbeiter^{60a} haben aus Kohl die dem Alliin entsprechende Methyl-Verbindung isoliert.



Das Alliin ist auch in der neuesten Aminosäure-Literatur unbeachtet geblieben, was in unserem Laboratorium unliebsam bemerkt wurde, als wir vor einigen Jahren zu ergründen versuchten, wie sich in Zwiebeln beim Zerkleinern plötzlich beträchtliche Mengen Brenztraubensäure bilden. In Zwiebeln wurde eine Schwefel-haltige Aminosäure chromatographisch festgestellt, bei deren enzymatischer Oxydation äquivalente Mengen Brenztraubensäure und Ammoniak entstanden (*Vilkkä*⁶¹). Erst dann fanden wir in der Literatur, daß *Stoll* und *Seebeck* mehrere Jahre zuvor aus Knoblauch Alliin isoliert und die Bildung der Brenztraubensäure aufgeklärt hatten.

In verschiedenartigen Antibiotica, die aus Bakterien und Actinomyceten isoliert worden sind, hat man als strukturelle Bestandteile Diaminopropionsäure, Diaminobuttersäure und Diaminocaprinsäure sowie einige Schwefel-haltige Aminosäuren gefunden.

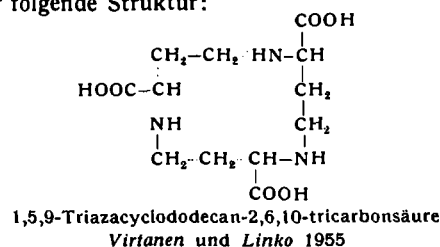
⁵⁹) R. A. *McRorie*, G. L. *Sutherland*, M. S. *Lewis*, A. D. *Barton*, M. R. *Glazener* u. W. *Shive*, J. Amer. chem. Soc. 76, 115 [1954].

⁶⁰) A. *Stoll* u. E. *Seebeck*, Experientia 3, 114 [1947]; Helv. chim. Acta 31, 189 [1948]; Scientia pharm. 18, 61 [1950].

^{60a}) R. L. M. *Syngé*, briefliche Mitteilung 1955.

⁶¹) P. *Vilkkä*, Suomen Kemistilehti B 27, 21 [1954].

Ein eigentümliches cyclisches Homoserin-Derivat haben *Linko* und *Virtanen*⁶²) in einigen Pflanzen der Familie *Liliaceae*, insbesondere in *Polygonatum*-Arten und *Convallaria* gefunden. Die bisherigen Tatsachen, welche in Übereinstimmung mit dem Infrarotspektrum stehen, sprechen für folgende Struktur:



Man kann die Verbindung somit als ein Homoserin-Derivat betrachten, das durch eigenartige Wasserabspaltung aus drei Homoserin-Molekeln entstanden ist. Offenbar muß irgendein spezifisches Enzym hinter dieser Reaktion stehen. Es ist interessant zu beobachten, daß in den Pflanzen, in welchen dieses cyclische Homoserin-Derivat vorkommt, kein freies Homoserin feststellbar ist. Es ist daher möglich, daß die Verbindung nicht direkt aus Homoserin, sondern vielleicht aus dessen Vorstufe entstanden ist.

In den Chlorophyll-haltigen Pflanzen bildet sich der Hauptteil der neuen organischen Materie der Erdkugel. Wenn wir von Seepflanzen absehen, so sind es die mehrzelligen Pflanzen, die die Erdkugel bedecken und den Hauptanteil der organischen Materie aufbauen. Die Kenntnis der Chemie und des Stoffwechsels der Pflanzen ist jedoch noch in bedauerlichem Maße mangelhaft. Die rasche Entdeckung zahlreicher neuer Keto- und Aminosäuren in Pflanzen in den letzten beiden Jahren beweist anschaulich, welch unbekannte Welt die Pflanzen uns im chemischen Sinn noch darstellen. Unsere Kenntnisse über die Entstehung, Aufgaben und Bedeutung der neuen Aminosäuren sind noch gering. Das verhältnismäßig allgemeine Vorkommen von Homoserin als freie Aminosäure in den verschiedenartigsten Pflanzen (Homoserin wurde auch in Proteinen von Preiselbeeren (Beeren und Blätter) gefunden⁶³)) ist recht interessant, da diese Aminosäure als Zwischenprodukt eine zentrale Stellung im Methionin-Stoffwechsel einnimmt und aus ihr auch Threonin gebildet werden kann. Andererseits ist die Synthese des Homoserins aus Asparaginsäure⁶⁴) über Asparagylphosphat nachgewiesen. Die Anwesenheit der γ -Oxyglutaminsäure und α -Aminoadipinsäure in Proteinen verleiht diesen schon an sich eine eigene Bedeutung. Die Piperidin-2-carbonsäuren sind, wie bereits erwähnt, eng mit dem Lysin-Stoffwechsel verbunden und möglicherweise auch mit der Synthese gewisser Alkaloide, z. B. vom Coniin-Typ. Vermutungen über die Entstehungsweise der anderen neuen Amino- und Ketsäuren und deren Zusammenhänge mit dem Stickstoff-Stoffwechsel sind möglich, doch zuverlässige Fakten unbedingt wichtiger. Schon jetzt kann man voraussehen, daß die neuen Amino- und Ketsäure-Funde außer dem Stickstoffwechsel auch hinsichtlich der Systematik, der Taxonomie und der Entwicklungsgeschichte der Pflanzen von Bedeutung sein können. Der großen Formenmannigfaltigkeit des Pflanzenreichs entspricht auch eine ähnliche Vielfalt der chemischen Zusammensetzung.

Eingeg. am 31. Mai 1955 [A 657]

⁶²) A. I. *Virtanen* u. P. *Linko*, Acta chem. Scand. 9, 551 [1955].

⁶³) M.-L. *Vähätalo* u. A. I. *Virtanen*, nicht publiziert.

⁶⁴) S. *Black* u. N. G. *Wright*, J. Amer. chem. Soc. 75, 5766 [1953].