

Über die Hemmbarkeit der Ophio-*l*-Aminosäureoxydase durch Antiserum

Von verschiedenen Autoren wird die *l*-Aminosäureoxydase in den Giften von *Bothrops jararaca*, *Crotalus terrificus* und *Vipera aspis*¹, in Gift von *Echis carinatus*² und anderen Viperiden-Giften³ als durch Antiserum nicht hemmbar beschrieben; bisweilen scheint jedoch Hemmung möglich zu sein⁴.

Lässt man im Geldiffusionstest Schlangengifte und Anti-Schlangengift-Seren reagieren, so lassen sich stets Präzipitationslinien mit *l*-Aminosäureoxydase-Aktivität nachweisen⁵, was auf Vorhandensein von präzipitierendem

Enzymantikörper schliessen lässt; fermentaktive Präzipitate lassen sich jedoch aus Lösung mit polyspezifischen Pferdeantiseren nicht gewinnen. Durch Immunisierung von Kaninchen mit gereinigter *l*-Aminosäureoxydase⁶ (Zehenballeninjektion und Verwendung von Bajol/Arlacel als Adjuvans) wurde nun monospezifisches Antiserum mit ausreichendem Titer gewonnen⁷, mit dem die Hemmbarkeit der *l*-Aminosäureoxydase in Schlangengiften quantitativ untersucht werden konnte (Ergebnisse siehe Tabelle).

Wie die Tabelle zeigt, genügt zur quantitativen Präzipitation des homologen Enzyms die geringste Antiserum-Menge, während das Ferment in den Giften verwandter Spezies grössere Mengen zur Präzipitation benötigt (Abhängigkeit vom Verwandtschaftsgrad der Spezies?). Die Hemmbarkeit der *l*-Aminosäureoxydase beträgt bei den untersuchten Viperidengiften jedoch in jedem Fall 36%; Kreuzreaktionen der *l*-Aminosäureoxydase in Giften von Tieren der Familien Elapidae und Crotalidae konnten nicht beobachtet werden.

Summary. 36% of the *l*-amino acid oxidase activity in the venom of *Vipera ammodytes* and related species has been inhibited by monospecific antiserum.

O. ZWISLER

*Behringwerke AG, Marburg, Lahn (Deutschland),
19. April 1966.*

Gift von	Binge- setzte Aktivi- tät Q ₀₂	Quantita- tive Präzi- pitation durch Antiserum (ml)	Aktivität im Über- stand	Präzi- pitat	% Hem- mung
<i>Vipera ammodytes</i> (0,1 mg)	44	0,35	0	28	36
<i>Vipera ursinii</i> (0,12 mg)	44	0,37	0	28	36
<i>Vipera lebetina</i> (0,08 mg)	44	0,41	0	28	36
<i>Bitis gabonica</i> (0,21 mg)	44	0,45	0	28	36
<i>Cerastes cerastes</i> (0,09 mg)	44	0,85	0	28	36
<i>Echis carinatus</i> (0,07 mg)	44	1,25	0	28	36

Inkubation der angegebenen Giftmenge mit gestaffelten Mengen Antiserum 1 h bei 37 °C und 4 h bei 4 °C im Endvolumen von 1,5 ml in 0,06 M Phosphatpuffer pH 7,3; Zentrifugation und dreimaliges Waschen der Überstände, Suspendieren der Präzipitate mit Vortex jr. Mixer und Bestimmung der Aktivität in den Überständen und Präzipitaten nach⁵.

¹ E. A. ZELLER, in *Advances in Enzymology* (Ed., F. F. NORD; Interscience Publishers, New York 1948), p. 476.

² S. GITTER, G. LEVI, S. KOCHWA, A. DE VRIES, JADVIGA RECHNIC und J. CASPER, *Am. J. trop. Med. Hyg.* 9, 391 (1960).

³ F. DICKGIESSER und O. ZWISLER, *Behringwerk-Mitt.* 43, 279 (1964).

⁴ F. E. RUSSELL, F. W. BUSS, M. Y. WOO und RONALDINE EVENTOV, *Toxicol.* 1, 229 (1963).

⁵ O. ZWISLER, *Behringwerk-Mitt.* 43, 293 (1964).

⁶ Aus Gift der *Vipera ammodytes*.

⁷ O. ZWISLER, *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.* 343, 178 (1965).

5-Hydroxylation of Kynurenine in Animals

We formerly reported the detection of 5-hydroxykynuramine (V) in the urine and the brain of mouse^{1,2}, and then found in 1963 a small amount of 5-hydroxykynurenine³ (IV), the precursor of 5-hydroxykynuramine³, in a human urine (a seemingly normal male adult) after treatment with a large amount of the latter.

In this paper we describe our attempt to detect 5-hydroxykynurenine in the urine of chickens and mice administered kynurenine (III) in order to establish the formation in animals of the above amine and 6-hydroxykynurenine in connection with tryptophan metabolism. Urine of 2 chickens (White Leghorn), each given orally 0.3 g of DL-kynurenine sulphate daily for 7 days, was collected for a total of 10 days during and after kynurenine administration, and then acidified with HCl to 6N and heated in a boiling water bath for 2 h in order to hydrolyse some conceivable conjugates of hydroxylated

kynurenine derivatives. After cooling, it was shaken with a mixture of *n*-butanol and benzene (1:1) to remove resinous dark-coloured product. The aqueous layer was concentrated under reduced pressure to a thick syrup and was dissolved in 0.1N HCl, and then passed through a Dowex 50W-X4 (hydrogen form) column (2 · 32 cm). In another experiment, using 96 mice of IDD-strain each weighing ca. 25 g, each animal was injected with 2.0 mg of DL-kynurenine sulphate daily for 3 days and their urine was collected for 5 days by blotting with sheets of filter paper (No. 514, Toyo-Roshi Co., Tokyo), which

¹ K. MAKINO, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 5, 481 (1961).

² K. MAKINO, Y. JOH, and F. HASEGAWA, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 6, 432 (1961/62).

³ K. MAKINO, Y. JOH, F. HASEGAWA, and H. TAKAHASHI, *Biochem. biophys. Acta* 86, 191 (1964); see also, *J. Jap. biochem. Soc. (Seikagaku)* 35, 562 (1963).