

werden, welcher den Beweis zu führen versucht, dass die Eiweiss-Synthese sich hauptsächlich in der Zellkernsubstanz abspielt. Da Aminosäure-Synthese und Aminosäure-Abbau in innigster Weise miteinander verknüpft sein werden, erscheint es vom physiologischen Standpunkt sehr wahrscheinlich, dass bestimmte Zellbezirke in den verschiedenen Organen in ähnlicher Weise funktionieren.

Wir möchten endlich nochmals hervorheben, dass diese Untersuchungen mit den ursprünglichen Beobachtungen von *Weil-Malherbe* (1. c.) nicht in Widerspruch stehen, sondern diese durch eine andere Versuchstechnik erweitern.

Frl. *Frieda Nebiker* hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Basel, Physiologisch-chemisches Institut der Universität.

217. Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren
im tierischen Organismus.

5. Die antipodische Hemmung des Aminosäure-Abbaues
von S. Edlbacher und O. Wiss.

(25. X. 44.)

Als „antipodische Hemmung“ bezeichnen wir bekanntlich die Erscheinung, dass der enzymatische Abbau einer optisch aktiven Substanz durch die Gegenwart des optischen Antipoden gehemmt wird. Es wurde dieses Verhalten von einem von uns (E.) am Beispiele der Histidase¹⁾ gezeigt. Auch *E. Bamann*²⁾ hat solche Verhältnisse bei den Organproteasen entdeckt. Er konnte zeigen, dass bei Versuchen mit *d,l*-Leucylglycin die *d*-Peptidspaltung durch das entstehende *l*-Leucin blockiert wird³⁾. Gemeinsam mit *H. Baur*⁴⁾ haben wir auch über Versuche mit Peptidasen berichtet, die darauf hinweisen, dass die *l*-Leucylglycinspaltung antipodisch durch das *d*-Peptid gehemmt wird. Eine Beeinflussung der *d*-Alanin-oxydase durch *l*-Alanin ist unter den damals gewählten Versuchsbedingungen nicht erwiesen worden. In den beiden Mitteilungen über den Abbau der Aminosäuren im Gehirn⁵⁾ haben wir nun dieses Problem weiter verfolgt und konnten zeigen, dass sich auch der oxydative Abbau der Aminosäuren durch die Enzyme des Gehirnes antipodisch hemmen lässt. Wie zu erwarten war, wird diese Hemmung weitgehend durch die Konzentrationsverhältnisse der Reaktionspartner beeinflusst. So ist z. B. die Hemmung des *l*-Glutaminsäure-Abbaues nur bei hohen Substratkonzentrationen unter Messung des Sauerstoffverbrauches

¹⁾ Z. physiol. Ch. **265**, 61 (1940).

²⁾ Bioch. Z. **310**, 119 (1941) und **310**, 302 (1941).

³⁾ Naturwiss. **29**, 515 (1941).

⁴⁾ Z. physiol. Ch. **270**, 176 (1941).

⁵⁾ Helv. **27**, 1060 und 1824 (1944).

zu beobachten. In den genannten Mitteilungen brachten wir weitere Beispiele über die antipodische Hemmung zwischen den folgenden Aminosäuren beim oxydativen Abbau durch Gehirnenzyme:

l-Alanin und *d*-Alanin,
l-Valin und *d*-Valin,
l-Glutaminsäure und *d*-Alanin,
l-Leucin und *d*-Leucin,
l-Isoleucin und *d*-Isoleucin,
l-Phenylalanin und *d*-Phenylalanin,
l-Histidin und *d*-Histidin.

In der vorliegenden Mitteilung teilen wir neue Versuche mit, welche zeigen, dass das Phänomen der antipodischen Hemmung des oxydativen Aminosäure-Abbaus sich auch bei Verwendung von Leber- und Nierengewebe beobachten lässt. Für die Auswahl der einzelnen Aminosäuren war dabei der folgende Gesichtspunkt massgebend: Beim Abbau der Monoamino-di-carbonsäuren unter Verwendung von nativen und ungereinigten Enzympräparaten findet eine weitergehende Umsetzung des gebildeten Ammoniaks statt. Daher kann diese Ammoniakbildung nicht zur Messung der Abbaugrösse verwendet werden. Es wurden daher die Untersuchungen auf Monoamino-mono-carbonsäuren beschränkt. Bei dieser Gruppe von Aminosäuren dominiert nun der Abbau der unnatürlichen *d*-Formen über den der natürlichen *l*-Antipoden sehr stark. Es wurde daher die hemmende Wirkung der *l*-Formen auf den Abbau der *d*-Formen untersucht. Die Abbauwerte der natürlichen *l*-Formen sind unter den gewählten Versuchsbedingungen viel kleiner als der hemmende Effekt auf den Abbau der *d*-Formen. Sie betragen nur ungefähr den zehnten Teil des letzteren, sodass sich die Hemmung also deutlich auswirken konnte.

Wie im experimentellen Teil gezeigt wird, liess sich die antipodische Hemmung bei Wahl von geeigneten Konzentrationen in allen untersuchten Fällen beweisen. In den Tabellen Nr. 1 und 2 sind die Verhältnisse bei Verwendung von Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Histidin beim Abbau durch Ratten-Nieren und Ratten-Leber wiedergegeben. Bei wesentlich grösseren Umsätzen als im Gehirn zeigen sie sehr eindrucksvoll die antipodische Hemmung.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen wurden neue Versuche durchgeführt, bei denen der Abbau einer *d*-Aminosäure in fallenden Konzentrationen durch eine bestimmte Konzentration einer *l*-Aminosäure gehemmt wurde. In Tabelle 3 ist ein solcher Versuch wiedergegeben, der das Paar *d*-Alanin – *l*-Phenylalanin betrifft. Man sieht aus den Zahlen, dass sowohl inbezug auf den Sauerstoffverbrauch, als auch auf die Ammoniakbildung sich der hemmende Zusatz von *l*-Phenylalanin sehr eindrucksvoll darstellen lässt.

Durchführung der Versuche.

Die Messung des Sauerstoffverbrauches und die Ammoniakbildung sowie die Herstellung des Hackbreies wurde in den früheren Mitteilungen beschrieben. Zur Bereitung der Extrakte wurden die Organe 10 Minuten lang mit feinem Seesand im Mörser verrieben. Dieser Brei wurde mit der sechsfachen Menge Phosphatpuffer ($\text{pH} = 7,0$ von 38°), bezogen auf das Organgewicht, einige Minuten extrahiert und abzentrifugiert. Pro Ansatz wurde 1 cm^3 verwendet und das Volumen mit Puffer bzw. Aminosäurelösung auf 3 cm^3 gebracht. Die angegebenen Aminosäurekonzentrationen beziehen sich auf die

Tabelle 1.

Antipodische Hemmung der Aminosäuren in Ratten-Nierenhackbrei.

Gesamtflüssigkeits-Volumen = 3 cm^3 .

Versuchsdauer betrug immer 1 Stunde.

Aminosäure	Mol.	Hackbrei cm^3	O_2 -Verbrauch mm^3	O_2 -Verbrauch abzüglich Leeratmung mm^3	Ammoniak-Bildung γ	Ammoniak-Bildung abzüglich Leerwert γ
—	—	0,5	264	—	44	—
<i>l</i> -Alanin	m/10	0,5	180	— 84	42	— 2
<i>d</i> -Alanin	m/10	0,5	1473	1209	1810	1766
<i>l</i> -Alanin +	m/10	0,5	1387	1123	1828	1784
—	—	0,5	285	—	35	—
<i>l</i> -Valin	m/10	0,5	221	— 64	58	23
<i>d</i> -Valin	m/10	0,5	703	418	975	940
<i>l</i> -Valin +	m/10	0,5	668	383	862	827
—	—	0,5	394	—	50	—
<i>l</i> -Leucin	m/11	0,5	304	— 90	92	42
<i>d</i> -Leucin	m/15	0,5	486	92	950	900
<i>l</i> -Leucin +	m/11	0,5	475	81	489	439
—	—	0,5	415	—	36	—
<i>l</i> -Isoleucin	m/10	0,5	346	— 69	94	58
<i>d</i> -Isoleucin	m/10	0,5	695	280	800	764
<i>l</i> -Isoleucin +	m/10	0,5	598	183	624	588
—	—	0,5	379	—	47	—
<i>l</i> -Phenylalanin . .	m/12	0,5	212	— 167	89	42
<i>d</i> -Phenylalanin . .	m/20	0,5	568	189	1022	975
<i>l</i> -Phenylalanin + . .	m/12	0,5	475	96	818	771
—	—	0,5	251	—	30	—
<i>l</i> -Histidin	m/5	0,5	153	— 98	28	— 2
<i>d</i> -Histidin	m/10	0,5	332	81	298	268
<i>l</i> -Histidin +	m/5	0,5	225	— 26	164	136
<i>d</i> -Histidin	m/10	0,5				

Endkonzentration des Ansatzes. Die Versuchsdauer betrug je nach der Intensität des Abbaues eine halbe oder eine Stunde. Sie wurde so kurz gewählt, damit sich die Messung bei konstanter Reaktionsgeschwindigkeit abschliessen liess. Das in mm^3 gemessene Sauerstoff-Ammoniak-Verhältnis erreicht nicht genau den theoretischen Wert von 1:2, sondern ist zugunsten des Ammoniaks verschoben. Diese relativ erhöhten Ammoniakwerte erklären sich durch die Tatsache, dass die Aminosäuren gleich zu Beginn des Versuches zugegeben wurden und nicht erst nach der Temperaturausgleichsperiode, d. h. zu Beginn der Sauerstoffmessung in den Hauptaum der Gefässe eingekippt wurden. Nach Beendigung der Sauerstoffmessung verstrich wiederum geraume Zeit, bis das Enzym in den Conway-Gefäßen durch Zusatz von Lauge inaktiviert wurde.

Tabelle 2.

Antipodische Hemmung der Aminosäuren in Ratten-Leberhackbrei.

Gesamtflüssigkeits-Volumen = 3 cm^3 .

Versuchsdauer betrug immer 1 Stunde.

Aminosäuren	Mol.	Hackbrei cm^3	O ₂ -Verbrauch mm^3	O ₂ -Verbrauch abzüglich Leeratmung mm^3	Ammoniak-Bildung γ	Ammoniak-Bildung abzüglich Leerwert γ
—	—	0,5	—	—	21	—
<i>l</i> -Alanin	m/10	0,5	—	—	29	8
<i>d</i> -Alanin	m/10	0,5	—	—	483	462
<i>l</i> -Alanin+	m/10	—	—	—	438	417
<i>d</i> -Alanin	m/10	0,5	—	—	—	—
—	—	0,5	—	—	11	—
<i>l</i> -Valin	m/10	0,5	—	—	18	7
<i>d</i> -Valin	m/10	0,5	—	—	177	166
<i>l</i> -Valin+	m/10	—	—	—	151	140
<i>d</i> -Valin	m/10	0,5	—	—	—	—
—	—	0,5	81	—	18	—
<i>l</i> -Leucin	m/11	0,5	77	— 4	27	9
<i>d</i> -Leucin	m/15	0,5	131	50	105	87
<i>l</i> -Leucin+	m/11	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Leucin	m/15	0,5	102	21	85	67
—	—	0,5	95	—	20	—
<i>l</i> -Isoleucin	m/10	0,5	96	1	29	9
<i>d</i> -Isoleucin	m/10	0,5	141	46	100	80
<i>l</i> -Isoleucin+	m/10	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Isoleucin	m/10	0,5	124	29	81	61
—	—	0,5	39	—	19	—
<i>l</i> -Phenylalanin . .	m/12	0,5	50	11	69	50
<i>d</i> -Phenylalanin . .	m/20	0,5	199	160	377	358
<i>l</i> -Phenylalanin+ . .	m/12	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Phenylalanin . .	m/20	0,5	117	78	210	191
—	—	0,5	42	—	11	—
<i>l</i> -Histidin	m/5	0,5	56	14	74	63
<i>d</i> -Histidin	m/10	0,5	93	51	77	66
<i>l</i> -Histidin+	m/5	—	—	—	—	—
<i>d</i> -Histidin	m/10	0,5	94	52	83	72

Tabelle 3.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Phenylalanin im Ratten-Nierenextrakt.

Die Versuchsdauer betrug $\frac{1}{2}$ Stunde.

Extrakt	<i>d</i> -Alanin	<i>l</i> -Phenylalanin	O ₂ -Verbrauch mm ³	O ₂ -Verbrauch abzüglich Leeratmung mm ³	Ammoniak-Bildung γ	Ammoniakbildung abzüglich Leerwert γ
1	—	—	24	—	47	—
1	m/4	—	454	430	1211	1164
1	m/16	—	392	368	1060	1013
1	m/32	—	302	278	798	751
1	m/64	—	203	197	597	550
1	m/128	—	105	81	376	329
1	m/256	—	64	40	234	187
1	m/1024	—	29	5	115	68
1	—	m/30	13	—	77	—
1	m/4	m/30	398	385	1168	1091
1	m/16	m/30	298	285	954	877
1	m/32	m/30	226	213	750	673
1	m/64	m/30	124	111	530	453
1	m/128	m/30	85	72	328	251
1	m/256	m/30	52	39	207	130
1	m/1024	m/30	24	11	122	45

Eine Ausdehnung der in Tabelle 3 wiedergegebenen Versuchsanordnung auf andere Aminosäuren ergab prinzipiell gleiche Resultate, die in den Tabellen 4—9 in abgekürzter Form zusammengefasst sind.

Tabelle 4.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Alanin.

Versuchsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm ³ O ₂	γ NH ₃	bei Zusatz von m/7 <i>l</i> -Alanin		bei Zusatz von m/3,5 <i>l</i> -Alanin	
			mm ³ O ₂	γ NH ₃	mm ³ O ₂	γ NH ₃
m/1024	6	21	6	24	4	29
m/256	26	88	30	102	26	102
m/64	95	269	89	270	69	232
m/10	167	478	161	457	137	419
m/4	215	607	207	506	188	501

Bei m/7 *l*-Alanin-Konzentration ist die Hemmung noch nicht deutlich. Sie tritt jedoch bei m/3,5 *l*-Alanin-Konzentration in Erscheinung.

Tabelle 5.
Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Valin.
Versuchsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm ³ O ₂	γ NH ₃	bei Zusatz von m/10 <i>l</i> -Valin		bei Zusatz von m/5 <i>l</i> -Valin	
			mm ³ O ₂	γ NH ₃	mm ³ O ₂	γ NH ₃
m/1024	17	32	13	17	—1	16
m/256	44	75	30	45	16	28
m/64	144	359	83	252	62	198
m/16	273	634	189	528	160	466
m/4	321	774	248	732	250	678

Bei m/10 *l*-Valin ist die Hemmung schon deutlich, bei m/5 *l*-Valin ist sie noch deutlicher.

Tabelle 6.
Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch *l*-Histidin.
Versuchsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm ³ O ₂	γ NH ₃	bei Zusatz von m/5 <i>l</i> -Histidin	
			mm ³ O ₂	γ NH ₃
m/1024	19	50	1	27
m/256	73	264	7	160
m/64	273	838	138	591
m/16	424	1304	331	1145
m/4	472	1530	429	1420

Bei Zusatz von m/5 *l*-Histidin ist die Hemmung im Sauerstoffverbrauch sehr deutlich, beim Ammoniak schwächer.

Tabelle 7.
Vergleich der hemmenden Wirkung von *l*-Leucin und *l*-Isoleucin auf den *d*-Alanin-Abbau.
Versuchsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde.

<i>d</i> -Alanin-Konzentr.	mm ³ O ₂	γ NH ₃	bei Zusatz von m/40 <i>l</i> -Leucin		bei Zusatz von m/40 Isoleucin	
			mm ³ O ₂	γ NH ₃	mm ³ O ₂	γ NH ₃
m/1024	3	25	0	12	—	11
m/256	23	116	16	73	—	96
m/64	123	324	53	203	—	270
m/16	236	635	164	465	—	558
m/4	279	749	233	666	—	703

In Erweiterung mit der in der vorangehenden Abhandlung erwähnten Tatsache, dass die C-Kettenlänge den Grad der Hemmung beeinflusst, ist hier ersichtlich, dass Leucin stärker hemmt als Isoleucin.

Tabelle 8.

Hemmung des *d*-Valin-Abbaues durch *l*-Valin.
Versuchsdauer 1 Stunde.

<i>d</i> -Valin-Konzentr.	mm ³ O ₂	γ NH ₃	bei Zusatz von m/10 <i>l</i> -Valin	
			mm ³ O ₂	γ NH ₃
m/556	29	58	16	10
m/128	69	174	48	111
m/32	149	332	109	267
m/16	159	387	141	319
m/4	187	434	173	425

Tabelle 9.

Hemmung des *d*-Phenylalanin-Abbaues durch *l*-Phenylalanin.
Versuchsdauer 1 Stunde.

<i>d</i> -Phenylalanin-Konzentr.	mm ³ O ₂	γ NH ₃	bei Zusatz von m/15 <i>l</i> -Phenylalanin	
			mm ³ O ₂	γ NH ₃
m/640	16	81	33	7
m/160	42	124	34	69
m/80	52	219	49	133
m/40	109	354	75	217
m/10	204	572	132	435

Die Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch verschiedene Konzentrationen von *l*-Leucin ist nun in den beiden Figg. I und II bezüglich des Sauerstoffverbrauches und der Ammoniakbildung graphisch dargestellt. Auf die Abszisse ist der negative Logarithmus der Molarität des *d*-Alanins, auf die Ordinate der Sauerstoffverbrauch bzw. die Ammoniakbildung in gewöhnlichem Maßstabe aufgetragen. Die obersten Kurven stellen also den ungehemmten *d*-Alanin-Abbau dar. Die übrigen Kurven illustrieren den Einfluss von verschiedenen *l*-Leucinkonzentrationen.

Aus Raumersparnis bringen wir nur dieses Beispiel. Die in den Tabellen 5—9 mitgeteilten Zahlen ergeben alle die gleichen Kurven.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, dass sich die Beziehung zwischen den Abbaugrößen der *d*-Aminosäuren und den Substratkonzentrationen durch eine S-förmige Kurve ausdrücken lässt, und dass die Beeinflussung durch *l*-Aminosäuren eindeutig eine Parallelverschiebung der Kurve bewirkt. Dieses Verhalten erinnert an Beobachtungen, die von *L. Michaelis*¹⁾ und Mitarbeitern schon vor längerer Zeit am Beispiele der Saccharase gemacht wurden. Auch sie erhielten ähnliche S-Kurven. Besitzt der

¹⁾ Bioch. Z. 49, 333 (1913) und 60, 79 (1914).

Hemmungskörper eine Affinität zum Enzym, so wird dadurch die Konzentration der Enzym-Substratverbindung vermindert. Es ergibt sich in diesem Falle nach *Michaelis* eine Parallelverschiebung der Kurve.

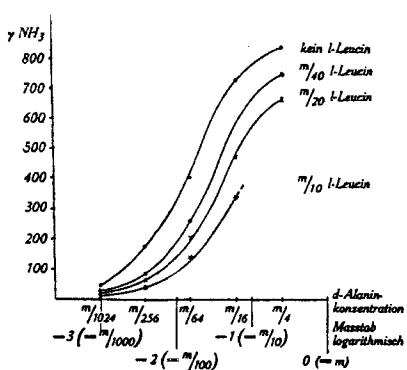


Fig. I.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch $m/10$, $m/20$ und $m/40$ *L*-Leucin in Bezug auf NH_3 -Bildung.

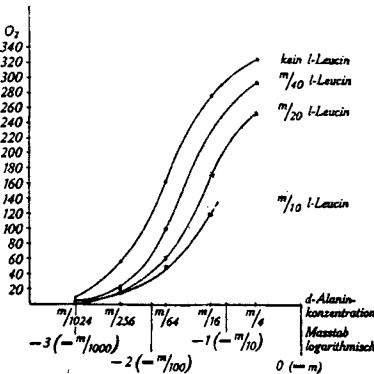


Fig. II.

Hemmung des *d*-Alanin-Abbaues durch $m/10$, $m/20$ und $m/40$ *L*-Leucin in Bezug auf O_2 -Verbrauch.

Bewirkt jedoch der Hemmungskörper nur eine Hemmung des Zerfalles der primär entstehenden Enzym-Substratverbindung, so resultieren divergierende Kurven.

Da nun in den von uns untersuchten Fällen durch Zusatz von *L*-Aminosäuren immer die Parallelverschiebung auftritt, so bildet diese Tatsache einen Hinweis, dass die *L*-Aminosäuren Affinitäten zu den *d*-Aminosäure-oxydasen besitzen.

Wir haben in den vorangehenden Mitteilungen dieser Reihe wiederholt darauf hingewiesen, dass sich die verschiedenen *d*- und *L*-Aminosäure-oxydasen teilweise ähnlich, teilweise verschieden verhalten. Es wäre verfrüht, aus dem vorliegenden Beobachtungsmaterial weiter gehende Schlüsse zu ziehen. Es müssen solche Versuche namentlich auch mit Rein-Enzymen durchgeführt werden. Die verschiedenen *L*- und *d*-Aminosäure-oxydasen müssen aber zumindest ganz ähnlich gebaute oder gleiche Komponenten enthalten, sonst könnten die von uns beschriebenen Hemmungerscheinungen nicht auftreten. Wir erinnern in diesem Zusammenhange nochmals an die von *Euler* entwickelte Vorstellung des „Enzymoid“-Begriffes, auf die in der Abhandlung mit *H. Grauer*¹⁾ schon hingewiesen wurde.

¹⁾ Helv. 27, 941 (1944).

Durch diese neuen Untersuchungen wird das Auftreten der „antipodischen Hemmung“ beim oxydativen Aminosäure-Abbau bewiesen. Sie bringt das Zustandekommen des *Abderhalden*'schen Schockphänomens dem Verständnis näher. Solange jedoch das Auftreten messbarer Quantitäten von *d*-Aminosäuren als Metabolite nicht eindeutig bewiesen ist, hat die antipodische Hemmung keine physiologische, sondern nur theoretische Bedeutung.

Frl. Frieda Nebiker hat bei den Versuchen wertvolle Hilfe geleistet.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

218. Etude critique des réactifs des cations.

12. Réactifs des cations et des anions du chrome

par P. Wenger et R. Duckert.

(Collaboratrice Mlle Y. Ruseoni.)

(26 X 44)

Nous présentons, dans ce travail, l'étude des cations et des anions du chrome, faisant suite à celle des ions d'autres éléments¹). Nous avons fait un examen approfondi des réactifs du chrome pour procéder à un choix de quelques-uns des meilleurs, en nous inspirant des mêmes principes critiques que précédemment.

Nous nous sommes basés sur la liste des réactifs établie par la Commission Internationale des Réactions et Réactifs analytiques nouveaux (Premier Rapport de la Commission) et sur les indications de la bibliographie des années 1937 – 1943.

Il nous semble utile de proposer, pour un usage pratique, des réactifs du cation Cr^{3+} aussi bien que des anions CrO_4^{2-} et $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, tous ces ions se rencontrant fréquemment dans l'analyse. Il faut noter aussi que le cation peut facilement être oxydé en anion et recherché ensuite au moyen des réactifs de ce dernier.

1. Réactifs des ions du chrome dont nous ne recommandons pas l'emploi.

Nous énumérons ci-dessous tous les réactifs que nous avons décidé d'éliminer au cours de nos recherches. Ils se répartissent en quatre groupes d'après leurs défauts caractéristiques.

¹) 11e Etude, *Helv.* **27**, 759 (1944); voir également *Helv.* **26**, 416 (1943)..